



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΔΙΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ – ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ
ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ»

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΤΥΧΗΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΩΝ
ΔΙΑΤΑΡΑΚΤΩΝ & ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ
ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΛΩΡΙΩΣΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΩΝ
ΑΣΤΙΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ**

Αθανάσιος Σ. Μπούρας

«ΕΠΙΣΤΗΜΗ &
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ
ΥΔΑΤΙΚΩΝ
ΠΟΡΩΝ»

Αθήνα, Οκτώβριος 2011

Επιβλέπων : Λέκτορας Κ. Νουτσόπουλος

**ΘΕΜΑ : ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΤΥΧΗΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΚΤΩΝ ΚΑΙ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΛΩΡΙΩΣΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΩΝ
ΑΣΤΙΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ**



ΑΘΗΝΑ, 2011

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μετά την ολοκλήρωση αυτής της μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους με βοήθησαν κατά τη διάρκεια εκπόνησής της.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Λέκτορα κ. Κωνσταντίνο Νουτσόπουλο, που μου εμπιστεύτηκε την ανάληψη της συγκεκριμένης εργασίας. Η επιστημονική του καθοδήγηση και η διάθεσή του για συνεργασία συνέβαλαν καταλυτικά στην ολοκλήρωσή της.

Εξαιρετικά σημαντική ήταν η βοήθεια που μου πρόσφερε η υποψήφια διδάκτορας, Αντωνίου Κορνηλία και ο εργαζόμενος στο εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας Κουρής Νικόλαος, χωρίς τη βοήθεια των οποίων, η διεκπεραίωση της παρούσας εργασίας θα ήταν ιδιαίτερα δύσκολη. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους εργαζόμενους στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας για το κλίμα συνεργασίας αλλά και την άμεση βοήθειά τους, σε κάθε δυσκολία που αντιμετώπισα.

Τέλος, δεν θα μπορούσα να μην απευθυνθώ στην οικογένεια μου, στην οποία οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ, για τη συμπαράσταση και την κατανόηση που έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, ώστε να μπορέσω να ολοκληρώσω το Διεπιστημονικό – Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων».

Μπούρας Αθανάσιος

Οκτώβριος, 2011

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΙ.....	xiv
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	xvi
ABSTARCT.....	xviii
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
2.1. Triclosan (TCS).....	4
2.1.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	4
2.1.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	5
2.1.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	6
2.1.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	9
2.1.5. Βιοαποδόμηση.....	12
2.1.6. Επίδραση της χλωρίωσης στην TCS.....	14
2.1.7. Απομάκρυνση της TCS με χρήση ενεργού άνθρακα.....	19
2.2. Bisphenol A (BPA).....	20
2.2.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	20
2.2.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	20
2.2.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	22
2.2.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	26
2.2.5. Βιοαποδόμηση.....	28
2.2.6. Επίδραση της χλωρίωσης στην BPA.....	30
2.2.7. Απομάκρυνση της BPA με χρήση ενεργού άνθρακα.....	33
2.3. Nonylphenol (NP).....	36
2.3.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	36
2.3.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	37
2.3.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	38
2.3.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	40
2.3.5. Βιοαποδόμηση.....	46
2.3.6. Επίδραση της χλωρίωσης στην NP.....	50
2.3.7. Απομάκρυνση της NP με χρήση ενεργού άνθρακα.....	56
2.4. Nonylphenol ethoxylates (NPE ₁ O, NPE ₂ O).....	58
2.4.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	58
2.4.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	58
2.4.3. Εμφάνιση στο περιβάλλον.....	59
2.4.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	60
2.4.5. Βιοαποδόμηση.....	61
2.4.6. Επίδραση της χλωρίωσης στις NPE ₁₋₂ Os.....	65

2.5. Ibuprofen (IBU).....	67
2.5.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	67
2.5.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	68
2.5.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	69
2.5.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	71
2.5.5. Βιοαποδόμηση.....	76
2.5.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο IBU.....	77
2.5.7. Απομάκρυνση του IBU με χρήση ενεργού άνθρακα.....	77
2.6. Naproxen (NPX).....	80
2.6.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	80
2.6.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	80
2.6.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	82
2.6.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	83
2.6.5. Βιοαποδόμηση.....	87
2.6.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο NPX.....	90
2.6.7. Απομάκρυνση του NPX με χρήση ενεργού άνθρακα.....	94
2.7. Ketoprofen (KTP).....	98
2.7.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	98
2.7.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	99
2.7.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	101
2.7.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	102
2.7.5. Βιοαποδόμηση.....	103
2.7.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο KTP.....	104
2.7.7. Απομάκρυνση του KTP με χρήση ενεργού άνθρακα.....	104
2.8. Diclofenac.....	105
2.8.1. Χημική δομή και ιδιότητες.....	105
2.8.2. Παραγωγή και χρήσεις.....	106
2.8.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς.....	107
2.8.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση.....	109
2.8.5. Βιοαποδόμηση.....	112
2.8.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο DCF.....	113
2.8.7. Απομάκρυνση του DCF με χρήση ενεργού άνθρακα.....	115
2.9. Άλλες μέθοδοι απομάκρυνσης.....	116
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	121
3.1. Χλωρίωση δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων για απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών.....	122
3.2. Μέτρηση τοξικότητα με τη μέθοδο της βιοφωταύγειας.....	123
3.2.1. Αρχή της μεθόδου.....	124

3.2.2. Παρεμβολές.....	124
3.2.3. Αντιδραστήρια.....	125
3.2.4. Τρόποι προσδιορισμού τοξικότητας και έκφρασή της.....	126
3.2.5. Προσδιορισμός της τοξικότητας λυμάτων με το όργανο LUMISTox 300.....	129
3.2.6. Προσδιορισμός της αναχαίτισης.....	134
3.3. Πειραματική διαδικασία απομάκρυνσης ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών από τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα με χρήση ενεργού άνθρακα.....	135
3.4. Προσδιορισμός Ταχύτητας Αποξυγόνωσης (OUR).....	136
3.4.1. Γενικά.....	136
3.4.2. Πειραματικό πρωτόκολλο.....	137
3.5. Προσδιορισμός στερεών.....	138
3.5.1. Αρχή της μεθόδου.....	138
3.5.2. Προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων στερεών.....	139
3.5.3. Προσδιορισμός αιωρούμενων οργανικών στερεών.....	140
3.6. Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD).....	141
3.6.1. Γενικά.....	141
3.6.2. Αρχή της μεθόδου.....	141
3.6.3. Προσδιορισμός ολικού COD με φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός.....	144
3.6.4. Προσδιορισμός διαλυτού COD με φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός.....	144
3.7. Προσδιορισμός θολότητας.....	144
3.7.1. Γενικά.....	144
3.7.2. Αρχή της μεθόδου.....	145
3.7.3. Προσδιορισμός θολότητας με τη νεφελομετρική μέθοδο.....	145
3.8. Προσδιορισμός pH.....	146
3.9. Προσδιορισμός φαρμακευτικών ουσιών και ενδοκρινικών διαταρακτών.....	146
3.9.1. Προκατεργασία.....	146
3.9.2. Παραγωγοποίηση.....	147
3.9.3. Ανάλυση με Αέρια Χρωματογραφία - Φασματομετρία Μάζας.....	147
4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	151
4.1. Χλωρίωση δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων από την ΚΕΛΨ.....	151
4.2. Επίδραση της χλωρίωσης στην τοξικότητα του βακτηρίου <i>Vibrio fischeri</i>	166
4.3. Προσδιορισμός της τοξικότητας της NP και της BPA στη φωτοβόλο ιδιότητα του βακτηρίου <i>Vibrio fischeri</i>	172
4.4. Απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα.....	174
4.5. Προσδιορισμός τοξικότητας με μέτρηση του ρυθμού αποξυγόνωσης.....	197

4.5.1. Προσδιορισμός τοξικότητας της bisphenol A.....	197
4.5.2. Προσδιορισμός τοξικότητας του ibuprofen.....	198
4.5.3. Προσδιορισμός τοξικότητας του ketoprofen.....	199
4.5.4. Προσδιορισμός τοξικότητας του diclofenac.....	200
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	202
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	205

ΕΙΚΟΝΕΣ

Εικόνα 1.1 : Οδοί έκθεσης των φαρμακευτικών ουσιών στο περιβάλλον

Εικόνα 2.1.1: Χημική δομή του triclosan

Εικόνα 2.1.2: Μετασχηματισμός του triclosan σε περιβαλλοντικές συνθήκες

Εικόνα 2.1.3: Μηχανισμός αντίδρασης της TCS με το HOCl

Εικόνα 2.1.4: Σχηματισμός και διάσπαση των **A:** 5,6-δίχλωρο-2-(2,4-δίχλωροφαινόξυ)φαινόλης, **B:** 4,5 δίχλωρο-2-(2,4-δίχλωροφαινόξυ)φαινόλης, **C:** 4,5,6-τριχλωρο-2-(2,4-δίχλωροφαινόξυ)φαινόλης, **D:** 2,4-δίχλωροφαινόλης, **E:** 2,4,6-τριχλωροφαινόλης για τιμές pH 4,7 και 10. (Πειραματικές συνθήκες: $[TCS]_0=5,05\mu M$, $[free\ chlorine]_0=14,2\mu M$, $[NaHCO_3]=2\mu M$)

Εικόνα 2.1.5 : Φωτοχημικοί μετασχηματισμοί σε συνδυασμό με χλωρίωση που οδηγούν σε πολυχλωριωμένες διβενζο- p – διοξίνες.

Εικόνα 2.2.1 : Χημική δομή της BPA

Εικόνα 2.2.2 : Χημική δομή των BPA, πολυκαρβονικών και των εποξειδωτικών ρητινών

Εικόνα 2.2.3 : Αερόβια διάσπαση της BPA με χρήση της μεθόδου OECD 301F. Οι φιάλες A,B,C περιείχαν BPA, η φιάλη D ήταν το δείγμα ελέγχου και η φιάλη E ήταν το control δείγμα

Εικόνα 2.2.4: Αερόβια βιοαποδόμηση της BPA χρησιμοποιώντας τη μέθοδο OECD 301F. (Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις με BPA, οχτώ με τριυδρικό οξικό νάτριο ως δείγματα ελέγχου και μια με BPA και τριυδρικό οξικό νάτριο ως δείγμα ελέγχου της τοξικότητας)

Εικόνα 2.2.5 : Μεταβολή της αφθονίας της BPA και των προϊόντων της με το χρόνο χλωρίωσης

Εικόνα 2.2.6 : Συγγένεια οιστρογονικών υποδοχέων της χλωριωμένης BPA κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Εικόνα 2.2.7 : Ισόθερμες ρόφησης κατά Langmuir για την BPA για τους δυο τύπους άνθρακα S (◇) και M (Δ)

Εικόνα 2.3.1 : Χημική δομή της εννεύλοφαινόλης

Εικόνα 2.3.2 : Χημική δομή των πολυ-αιθοξυλιωμένων αλκυλοφαινολών

Εικόνα 2.3.3 : Ανάπτυξη προνυμφών πριν και μετά την προσθήκη εννεύλοφαινόλης

Εικόνα 2.3.4 : Αποδόμηση των NP_nEO σε μονάδες επεξεργασίας υγρών (Corvini et al, 2006)

Εικόνα 2.3.5 : Διαδικασία αντίδρασης μέσω υποκατάστασης του χλωρίου μεταξύ της NP και του υποχλωριώδους νατρίου και σχηματισμός των προϊόντων τους (όπου A: 4-πρότυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, B: 4-ισοαμλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη, C: 4-ισοβούτυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, D: 4-ισοπεντυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη)

Εικόνα 2.3.6 : Διάγραμμα δόσης – απόκρισης της οιστρογονικής δραστηριότητας σε χλωριωμένο υδατικό διάλυμα NP στο οποίο έχει προστεθεί καλλιέργεια ζυμών

Εικόνα 2.3.7 : Καμπύλες δόσης – απόκρισης της ανταγωνιστικής δράσης και της τοξικότητας κατά τα 10, 60 και 120 min χλωρίωσης

Εικόνα 2.3.8 : Προϊόντα χλωρίωσης όπως προσδιορίστηκαν με χρήση υγρής χρωματογραφίας, για διαφορετικές τιμές συγκέντρωσης υποχλωριώδους νατρίου σε χρόνο 3 ωρών

Εικόνα 2.4.1 : Χημική δομή των NPE_1O και NPE_2O

Εικόνα 2.4.2 : Κατανομή ενδοκρινικών μεταξύ διαλυτής και σωματιδιακής φάσης σε διάφορες φάσεις της επεξεργασίας (IN: Είσοδος λυμάτων, AE: Αερόβια επεξεργασία, SE: Δευτεροβάθμια καθίζηση, EF: Έξοδος λυμάτων)

Εικόνα 2.4.3 : Συγκριτικό διάγραμμα των ποσοστών απομάκρυνσης κατά την αερόβια επεξεργασία (AER) και κατά τη συνολική (TOT)

Εικόνα 2.4.4 : Απομάκρυνση ενδοκρινικών σε κάθε φάση επεξεργασίας

Εικόνα 2.4.5 : Ποσοστά απομάκρυνσης ενδοκρινικών ουσιών σε κάθε φάση μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων (οι τιμές των τυπικών αποκλίσεων)

Εικόνα 2.5.1 : Χημική δομή του ibuprofen

Εικόνα 2.5.2 : Δομές των δυο εναντιομερών του ibuprofen

Εικόνα 2.5.3 : Ακολουθία αντιδράσεων σύνθεσης του ibuprofen

Εικόνα 2.5.4 : Κύριες οδοί οξειδωσης του ibuprofen στον ανθρώπινο μεταβολισμό

Εικόνα 2.5.5 : Μαθηματικές σχέσεις που περιγράφουν τις ισόθερμες Langmuir και Freundlich

Εικόνα 2.5.6 : Πειραματικές ισόθερμες ρόφησης στους 30°C κατά Langmuir (διακεκομμένες γραμμές) και Freundlich (συνεχείς) (δόση ενεργού άνθρακα 10mg/15cm³ διαλύματος)

Εικόνα 2.6.1 : Χημική δομή του naproxen

Εικόνα 2.6.2 : Σύνθεση του naproxen με τη μέθοδο Syntex

Εικόνα 2.6.3 : Σύνθεση του naproxen μέσω της αντίδρασης Heck

Εικόνα 2.6.4 : Τοξική επίδραση φαρμακευτικών ουσιών σε υδάτινους οργανισμούς

Εικόνα 2.6.5 : Προϊόντα φωτοδιάσπασης του naproxen

Εικόνα 2.6.6 : Απομάκρυνση TOC κατά τη διάρκεια των πειραμάτων με τη μέθοδο Zahn-Wellens σε δείγματα λυμάτων στα οποία περιέχονταν οι φαρμακευτικές ουσίες και σε δείγματα στα οποία η ουσία προστέθηκε με τη μορφή διαλύματος στα οποία είχε διαλυθεί με τη μορφή σκόνης

Εικόνα 2.6.7 : Απομάκρυνση του naproxen κατά τη διάρκεια των πειραμάτων με τη μέθοδο Zahn-Wellens σε δείγματα λυμάτων στα οποία περιέχονταν οι φαρμακευτικές ουσίες και σε δείγματα στα οποία η ουσία προστέθηκε με τη μορφή διαλύματος στα οποία είχε διαλυθεί με τη μορφή σκόνης

Εικόνα 2.6.8 : Επίδραση του pH στη χλωρίωση του naproxen για γραμμομοριακή αναλογία naproxen/χλωρίου, 0,06:1 και θερμοκρασία $23\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Εικόνα 2.6.9 : Επίδραση της δόσης χλωρίου στη χλωρίωση του naproxen συγκεντρώσεις χλωρίου 1 ppm, 5 ppm και 10 ppm

Εικόνα 2.6.10 : Καμπύλη συμπεριφοράς του naproxen κατά μήκος του βιοαντιδραστήρα

Εικόνα 2.6.11 : Συσσώρευση βιομάζας στο βιοφίλμ του αντιδραστήρα

Εικόνα 2.6.12 : Ισόθερμες ρόφησης Freundlich για τους άνθρακες F400 (αριστερά) και CTIF (δεξιά) σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού

Εικόνα 2.6.13 : Σύγκριση δεδομένων ρόφησης για την περίπτωση λυμάτων και υπερκάθαρου νερού για τους δυο τύπους άνθρακα CTIF και F400

Εικόνα 2.7.1 : Χημική δομή του ketoprofen

Εικόνα 2.7.2 : Σχηματικό διάγραμμα του συστήματος δυο φάσεων χωρίς καταλύτη για την υδρόλυση των εστέρων του ketoprofen

Εικόνα 2.7.3 : Τοξική επίδραση φαρμακευτικών ουσιών σε υδάτινους οργανισμούς

Εικόνα 2.8.1 : Χημική δομή του diclofenac

Εικόνα 2.8.2 : Σύνθεση της 2,6 δίχλωρο-ανιλίνης

Εικόνα 2.8.3 : Διαδικασία σύνθεσης του diclofenac

Εικόνα 2.8.4 : Κύριοι μεταβολίτες του diclofenac κατά τη διάσπαση του

Εικόνα 2.8.5 : Χημική δομή των προιόντων της χλωρίωσης του diclofenac

Εικόνα 2.8.6 : Σχηματισμός παραπροϊόντων diclofenac (pH 7, Cl_2 10 mg/L, Br_2 100 mg/L). Τα αποτελέσματα στον κάθετο άξονα έχουν προκύψει από κανονικοποίηση

Εικόνα 3.1.1 : Συσκευή για την μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου τύπου HI Free chlorine ISM (όργανα HANNA)

Εικόνα 3.2.1 : LUMI Stox 300, εταιρείας Dr Lange, Γερμανίας

Εικόνα 3.2.2 : Σχηματική απεικόνιση του τρόπου παρασκευής εννέα σταδιακών αραιώσεων χωρίς G1 μέτρηση

Εικόνα 3.2.3 : Πορεία ενεργοποίησης του *Vibrio fischeri*

Εικόνα 3.2.4 : Διαδικασία για μέτρηση με G1 και χωρίς G1

Εικόνα 3.2.5 : Πρώτη φόρμα κατά την έναρξη ενός νέου τεστ τοξικότητας

Εικόνα 3.2.6 : Κανόνες διεξαγωγής των μετρήσεων

Εικόνα 3.2.7 : Εισαγωγή παραμέτρων των δειγμάτων

Εικόνα 3.2.8 : Παράθυρο που εμφανίζεται κατά την διάρκεια του τεστ

Εικόνα 3.4.1 : Οξυγονόμετρο τύπου MuLi 3410 setC της WTW

Εικόνα 3.5.1 : Φούρνοι για τον προσδιορισμό ολικών (αριστερά) και οργανικών (δεξιά) στερεών

Εικόνα 3.6.1 : Θερμοστάτης για μέτρηση COD (αριστερά) και φασματοφωτόμετρο (δεξιά)

Εικόνα 3.8.1 : Φορητό pHμετρο τύπου 315i της WTW

Εικόνα 3.9.1 : Αέριος χρωματογράφος τύπου Agilent 7890A συζευγμένο με φασματογράφο μάζας Agilent 5975C

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 2.1.1 : Τιμές τοξικότητας της TCS σε διάφορους οργανισμούς

Πίνακας 2.2.1 : Επιπτώσεις χαμηλών δόσεων σε οργανισμούς. (AR: Υποδοχείς ανδρογόνων, conA: συνένζυμο A, INF: ιντερφερόνη, PgR: υποδοχείς προγεστερόνης, DHT: διύδρο-τεστοστερόνη)

Πίνακας 2.2.2 : Τοξικότητα BPA, όπου το F αναφέρεται σε διάλυμα γλυκού νερού και το M σε αλμυρό νερό

Πίνακας 2.3.1 : Τιμές τοξικότητας και σημαντικές επιδράσεις της εννεύλοφαινόλης σε υδατικούς οργανισμούς

Πίνακας 2.3.2 : Επίδραση της 4-n-NP και της TCS στην αναπνοή της ετεροτροφικής βιομάζας, στο ρυθμό κατανάλωσης αμμωνίας και στο βακτήριο *vibrio fischeri*

Πίνακας 2.4.1 : Συγκέντρωση NPE_1O και NPE_2O σε εξερχόμενα λύματα εγκαταστάσεων και επιφανειακά νερά διαφόρων χωρών

Πίνακας 2.4.2 : Προσδιορισμός του παράγοντα βιοσυσσώρευσης των NPE_1O και NPE_2O σε υδάτινους οργανισμούς

Πίνακας 2.5.1 : Πειραματικά αποτελέσματα από τη μελέτη τοξικότητας του IBU σε δείγματα γλυκού νερού

Πίνακας 2.5.2 : Τιμές αναλογικού και κινητικού παράγοντα βιοσυγκέντρωσης για τους οργανισμούς ψαριών *Pimephales promelas* και *Ictalurus punctatus*

Πίνακας 2.6.1 : Αποτελέσματα πειραμάτων οξείας τοξικότητας. Οι τιμές είναι εκφρασμένες σε LC_{50} (mg/L) όσο αφορά την παράμετρο της θνησιμότητας για τα *T. Platyurus* και *B. Calyciflorus* και σε EC_{50} (mg/L) για την παράμετρο της αδρανοποίησης για το *C. Dubia*

Πίνακας 2.6.2 : Αποτελέσματα πειραμάτων χρόνιας τοξικότητας. Οι τιμές είναι εκφρασμένες σε EC_{50} (mg/L) για την παράμετρο της αναχαίτισης ανάπτυξης/αναπαραγωγής του πληθυσμού

Πίνακας 2.6.3 : Επίδραση της συγκέντρωσης του χλωρίου και του pH στο χρόνο διάσπασης του paroxen

Πίνακας 2.6.4 : Δόσεις ενεργού άνθρακα για την απομάκρυνση paroxen διαφορετικής αρχικής συγκέντρωσης

Πίνακας 2.8.1 : Τοξική επίδραση του diclofenac σε υδάτινους μικροοργανισμούς

Πίνακας 2.8.2 : Πειραματικές τιμές (EC_{50} , NOEC, LOEC) οξείας και χρόνιας τοξικότητας για την φαρμακευτική ουσία diclofenac, σε βακτήρια, οστρακοειδή, άλγη και ψάρια

Πίνακας 2.8.3 : Επίδραση της συγκέντρωσης του χλωρίου και του pH στο χρόνο διάσπασης του paroxen

Πίνακας 2.9.1 : Συνηθέστερες μέθοδοι προηγμένων διεργασιών οξείδωση

Πίνακας 2.9.2 : Μέθοδοι και διεργασίες για την απομάκρυνση φαρμακευτικών και ενδοκρινικών ουσιών

Πίνακας 3.1 : Πρόγραμμα εργαστηριακών μετρήσεων

Πίνακας 3.3.1 : Χαρακτηριστικά του WP7 σε σκόνη

Πίνακας 4.1.1 : Μεταβολή της συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού

Πίνακας 4.1.2 : Τιμές συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου ως προς το χρόνο

Πίνακας 4.1.3 : Τιμές θολότητας κατά τη διαδικασία χλωρίωσης

Πίνακας 4.1.4 : Τιμές pH κατά τη διαδικασία χλωρίωσης

Πίνακας 4.2.1 : Αποτελέσματα προσδιορισμού τοξικότητας των λυμάτων μέσω των πειραμάτων αναχαίτισης της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri*.

Πίνακας 4.2.2 : Αποτελέσματα προσδιορισμού συγκεντρώσεων των φαρμακευτικών και ενδοκρινικών ενώσεων που προκαλούν αναχαίτιση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri* κατά 20% και 50% ως προς το χρόνο χλωρίωσης.

Πίνακας 4.2.3 : Συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου κατά τη διάρκεια του πειράματος

Πίνακας 4.3.1 : Αποτελέσματα προσδιορισμού συγκεντρώσεων των NP και BPA που προκαλούν αναχαίτιση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri* κατά 20% και 50% μετά από 35 min χλωρίωσης.

Πίνακας 4.3.2 : Σύγκριση τιμών τοξικότητας NP και BPA σε δείγματα όπου προστέθηκαν και οι 9 εξεταζόμενες ενώσεις και σε δείγματα όπου προστέθηκαν ανά μια χωριστά.

Πίνακας 4.4.1 : Απομάκρυνση της BPA με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.2 : Απομάκρυνση της TCS με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.3 : Απομάκρυνση της NP με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.4 : Απομάκρυνση της NPE₁O με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.5 : Απομάκρυνση της NPE₂O με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.6 : Απομάκρυνση του IBU με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.7 : Απομάκρυνση του NPX με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.8 : Απομάκρυνση του KTP με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.9 : Απομάκρυνση του DCF με χρήση ενεργού άνθρακα

Πίνακας 4.4.10 : Απομάκρυνση ουσιών συγκέντρωσης 100ng/L με χρήση άνθρακα WPM 5mg/L (Snyder et al, 2006)

Πίνακας 4.4.11 : Σύγκριση τιμών απομάκρυνσης και σταθερών οκτανόλης-νερού για τις εξεταζόμενες ουσίες

Πίνακας 4.5.1 : Μεταβολή του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση της BPA

Πίνακας 4.5.2 : Συγκεντρώσεις των BPA, IBU, KTP και DCF σε δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

Διάγραμμα 3.6.1 : Καμπύλη βαθμονόμησης COD

Διάγραμμα 4.1.1 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου συναρτήσει του χρόνου

Διάγραμμα 4.1.2 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.3: Μεταβολή της συγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.4 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NP_1EO κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.5 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NPE_1O ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.6 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NP_2EO κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.7 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NPE_2O ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.8 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της TCS κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.9 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της triclosan ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.10 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της BPA κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.11 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της BPA ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.12 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του IBU κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.13 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του IBU ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.14 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του naproxen κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.15 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του naproxen ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.16 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του ketoprofen κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.17 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του ketoprofen ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.18 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του diclofenac κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.1.19 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του diclofenac ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.2.1 : Μεταβολή της EC_{50} της NP με το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.2.2 : Μεταβολή της EC_{50} της BPA με το χρόνο χλωρίωσης

Διάγραμμα 4.4.1 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της BPA, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.2 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της BPA ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.3 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για την BPA.

Διάγραμμα 4.4.4 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της TCS, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.5 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της TCS, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.6 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.7 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.8 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE_1O , ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.9 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE_1O , ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.10 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για την NPE_1O

Διάγραμμα 4.4.11 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE_2O , ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.12 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE_2O , ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.12 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για την NPE_2O

Διάγραμμα 4.4.13 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του IBU, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.14 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του IBU, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.15 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το IBU

Διάγραμμα 4.4.15 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το IBU (Mestre et al, 2007)

Διάγραμμα 4.4.16 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του NPX, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.17 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του NPX, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.18 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το NPX.

Διάγραμμα 4.4.19 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το NPX (Yu et al, 2008)

Διάγραμμα 4.4.20 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του KTP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.21 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του KTP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.22 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το KTP.

Διάγραμμα 4.4.23 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του DCF, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Διάγραμμα 4.4.24 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του DCF, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Διάγραμμα 4.4.25 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το DCF.

Διάγραμμα 4.4.26 : Απομάκρυνση των εξεταζόμενων ενώσεων από τριτοβάθμια λύματα της ΚΕΛΨ

Διάγραμμα 4.5.1 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση της BPA

Διάγραμμα 4.5.2 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση του IBU

Διάγραμμα 4.5.3 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση του KTP

Διάγραμμα 4.5.4 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση του DCF

ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΙ

4-NP-DPE : 4- εννεύλοφαινολικός- διφαινυλεθέρας

ADI : αναστολή αναερόβιας χώνευσης

APEs : πολύ-αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες

AUR : ρυθμός νιτροποίησης

BCF : παράγοντας βιοσυσσώρευσης

BPA : bisphenol-A

COD : χημικά απαιτούμενο οξυγόνο

DCF : diclofenac

DO : διαλυμένο οξυγόνο

DOC : διαλυτός οργανικός άνθρακας

EC₁₀₀ : συγκέντρωση για μέγιστη εμφάνιση αναχαίτισης

EC₅₀ : συγκέντρωση για πρόκληση αναχαίτισης κατά 50%

GC-MS : αέρια χρωματογραφία – φασματομετρία μάζας

Haas : χλωροξικά οξέα

HOCl : υποχλωριώδες οξύ

IBU : ibuprofen

IC₂₅ : συγκέντρωση για αναχαίτιση της ανάπτυξης κατά 25%

IC₅₀ : συγκέντρωση για αναχαίτιση της ανάπτυξης κατά 50%

K_F : σταθερά Freudlich

K_m : σταθερά Michaelis – Menten

K_{ow} : συντελεστής οκτανόλης - νερού

KTP : ketoprofen

LC₅₀ : συγκέντρωση για πρόκληση θανάτου του 50% των οργανισμών

LC-MS : υγρή χρωματογραφία – φασματομετρία μάζας

LOEC : συγκέντρωση για πρόκληση της μικρότερης τιμής αναχαίτισης

MBR : βιοαντδραστήρες μεμβράνης

MIC : ελάχιστη συγκέντρωση για πρόκληση αναχαίτισης

MLSS : συγκέντρωση ολικών αιωρούμενων στερεών

MLVSS : συγκέντρωση αιωρούμενων οργανικών στερεών

M-TCS : μέθυλο - triclosan

NAD⁺ : νικοτινάμιδο- αδενο- δινουκλεοτίδιο
NMR : πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός
NOEC : μέγιστη συγκέντρωση για την αποφυγή αναχαίτισης
NP : nonylphenol
NPE₁O : monoethoxylate nonylphenol
NPE₂O : diethoxylate nonylphenol
NPX : naproxen
OUR : ρυθμός αποξυγόνωσης
PAC : ενεργός άνθρακας σε σκόνη
PCPPs : φαρμακευτικά και προσωπικής φροντίδας προϊόντα
SBR : αντιδραστήρες διαλείποντος έργου
TCS : triclosan
TOC : ολικός οργανικός άνθρακας
TOX : ολικά οργανικά αλογονούχα
θ_c : χρόνος παραμονής στερεών
ΚΕΛΨ : κέντρο επεξεργασίας λυμάτων Ψυτάλλειας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, η οποία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, είναι η διερεύνηση της τύχης ενδοκρινικών διαταρακτών και φαρμακευτικών ουσιών κατά τη χλωρίωση επεξεργασμένων αστικών λυμάτων.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε χλωρίωση δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων από την ΚΕΛΨ στα οποία είχαν προστεθεί οι εξεταζόμενες ενώσεις σε επίπεδα συγκεντρώσεων παρόμοια με αυτά που ανιχνεύονται σε μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων. Πέραν της αποτελεσματικότητας της διεργασίας αυτής στην απομάκρυνση των ενώσεων, εξετάστηκαν και δυο από τις σημαντικότερες παραμέτρους που συντελούν σε αυτό, η συνολική διάρκεια της χλωρίωσης και η εξάρτηση από τη συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου. Απεδείχθη πως μέσω της διαδικασίας της χλωρίωσης η ποσοστιαία απομάκρυνση των ενώσεων είναι αρκετά ικανοποιητική και πως για αρκετές ενώσεις αποτελεί συνάρτηση των δυο εξεταζόμενων παραμέτρων.

Ακολούθησαν πειράματα με στόχο τον προσδιορισμό της τοξικότητας των χλωριωμένων δειγμάτων με τη μέθοδο της βιοφωταύγειας και συγκεκριμένα της αναχαιτίσης της φωτοβόλου ιδιότητας του βακτηρίου *vibrio fischeri*. Στα δείγματα προστέθηκαν οι προς εξέταση ουσίες, σε τιμές συγκεντρώσεων ίδιες με αυτές του πειράματος της χλωρίωσης. Διαπιστώθηκε πως τα μη χλωριωμένα δείγματα εμφάνισαν μικρή τοξικότητα η οποία πιθανώς οφείλεται στην παρουσία των προστιθέμενων ουσιών, ενώ τα χλωριωμένα δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως ιδιαίτερα τοξικά. Με βάση και τα βιβλιογραφικά δεδομένα η τοξικότητα αυτή οφείλεται στο σχηματισμό των χλωριωμένων παραγώγων. Επίσης προσδιορίστηκε η τοξικότητα των σχηματιζόμενων χλωριωμένων παραγώγων σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού, δυο εκ των εξεταζόμενων ενώσεων, της NP και της BPA, με τα αποτελέσματα να φανερώνουν μεγάλη τοξικότητα των σχηματιζόμενων ενώσεων.

Στα πλαίσια των πειραμάτων τοξικότητας, εξετάστηκαν τέσσερις ενώσεις εκ του συνόλου, με στόχο τον προσδιορισμό εκείνων των συγκεντρώσεων, οι οποίες θα προκαλούσαν τοξική επίδραση στην ετεροτροφική βιομάζα συστήματος ενεργού ιλύος. Η τοξικότητα εκφράστηκε μέσω μέτρησης του ρυθμού αποξυγόνωσης και τα αποτελέσματα έδειξαν, πως

για τις συγκεντρώσεις που παρατηρούνται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών λυμάτων δεν εμφανίζεται τοξικότητα.

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα, με στόχο τη διαπίστωση της αποτελεσματικότητας στην απομάκρυνση των εξεταζόμενων ενώσεων, μέσω προσρόφησης σε ενεργό άνθρακα. Ως δείγματα χρησιμοποιήθηκαν τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ στα οποία προστέθηκαν οι εξεταζόμενες ενώσεις σε συγκεντρώσεις ίδιες με αυτές του πειράματος της χλωρίωσης. Κατά τη διάρκεια του πειράματος αυτού μελετήθηκε ακόμη, η επίδραση στην απομάκρυνση παραμέτρων, όπως η συγκέντρωση του ενεργού άνθρακα και η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης των ουσιών. Από τα αποτελέσματα προέκυψε πως η μέθοδος αυτή είναι λιγότερο αποτελεσματική συγκριτικά με αυτή της χλωρίωσης ενώ για κάποιες από τις ενώσεις, οι εξεταζόμενες παράμετροι επηρέασαν την απομάκρυνση.

Extended abstract

The scope of this master thesis study, was to investigate the fate of endocrine disruptors and pharmaceuticals compounds during chlorination process, at treatment municipal wastewater. The study was conducted at the Sanitary Engineering Laboratory of the School of Civil Engineering, at the National Technical University of Athens.

The compounds that will be look at, are separated in two groups, endocrine disruptors and pharmaceutical compounds. At first group belong, triclosan, bisphenol-A, nonylphenol, nonylphenol mono-ethoxylate and nonylphenol di-ethoxylate and at the second one the compounds ibuprofen, naproxen, ketoprofen and diclofenac. The endocrine disruptors are tested because of their high estrogenic, androgenic and thyroid activity. The pharmaceuticals are used as, antibiotics, analgesics and antiseptics and their characteristics like polarity and the presence of acidic and basic functional groups, make them more dangerous than traditional pollutants

More precisely, the scope of this work was to determine the removal of the tested compounds, from biological treated wastewater, in order to achieve the limits of regulations for safe water supply and make them acceptable for reuse. The two methods investigated were chlorination and adsorption at activated carbon.

Chlorination experiments were carried out at secondary treated wastewater. The samples were collected from wastewater treatment plant of Psitallia and the examined compounds were spiked at concentrations levels, similar to those detected at the entrance of urban wastewater treatment plants, approximately 1µg/L. The value of the initial concentration of chlorine was 11,5 mg/L and the duration of the process was 1 hour, at 23°C and pH 8. Except the removal efficiency of process to the examined compounds, two other important parameters contributed to this were tested. The duration of process and the initial concentration of residual chlorine. Results showed, that through the process of chlorination, the percentage removal is

quite satisfactory and for several of the compounds, is a function of both examined parameters. Specifically for nonylphenol, nonylphenol mono-ethoxylate, nonylphenol di-ethoxylate, ibuprofen and naproxen was observed a decrease of initial concentration in increasing the product of, residual chlorine in the chlorination time.

Also, experiments took place in order to investigate the toxicity of endocrine disruptors and pharmaceutical compounds, and of their chlorinated derivatives, by applying the method of bioluminescence, using the bacterium *vibrio fischeri*. This bacterium is an aquatic microorganism that displays significantly greater sensitivity of the microorganisms present in wastewater treatment plants. The examined compounds were added in the samples, and their concentrations were the same as the ones we used at the experiments of chlorination. It was found that parent compounds shown very small levels of toxicity, opposed to the chlorinated derivatives which were identified as highly toxic. We also defined the toxicity of the formed chlorinated derivatives in solutions of ultra pure water. We have to mention that, for two of the examined compounds, NP and BPA, the EC₅₀ values measured to be 76,7ng/L and 27ng/L, respectively. These measurements show the high levels of toxicity that characterizes the compounds mentioned before. Also, for the formation of the chlorinated derivative two important parameters contributed. The concentration of residual chlorine and the chlorination period.

Moreover, toxicity experiments took place. In those experiments, four compounds were examined (BPA, IBU, KTP and DCF), in order to identify those concentrations that would effect in a toxic way the heterotrophic biomass of activated sludge system. The toxicity was expressed by measuring the oxygen uptake rate and the results shown that, the concentrations found in wastewater treatment plants do not show any toxicity.

Finally, experiments carried out, in order to determine the efficiency to the removal of the examined compounds, by adsorption on activated carbon. As samples, were used tertiary treated effluents, at which examined compounds were spiked to

concentrations same to those at chlorination experiments. Also coal carbon (WPM7) in powder form was added at concentrations 15 and 50 mg/L. Also, during this experiment, were studied the effects on removal, of parameters such as concentration of activated carbon and the initial concentration of the compounds. Results showed that this method is less efficient than that of chlorination, while for the compounds bisphenol-A, triclosan, nonylphenol, ibuprofen, and naproxen the tested parameters affected the removal. In addition, a correlation between removal and octanol-water constant (K_{ow}) was attempted. Increase of K_{ow} leads to increase of hydrophobicity and as a result at increase of removal. However this fact was not observed in our experiments, so hydrophobicity is not one of the main factors in the adsorption.

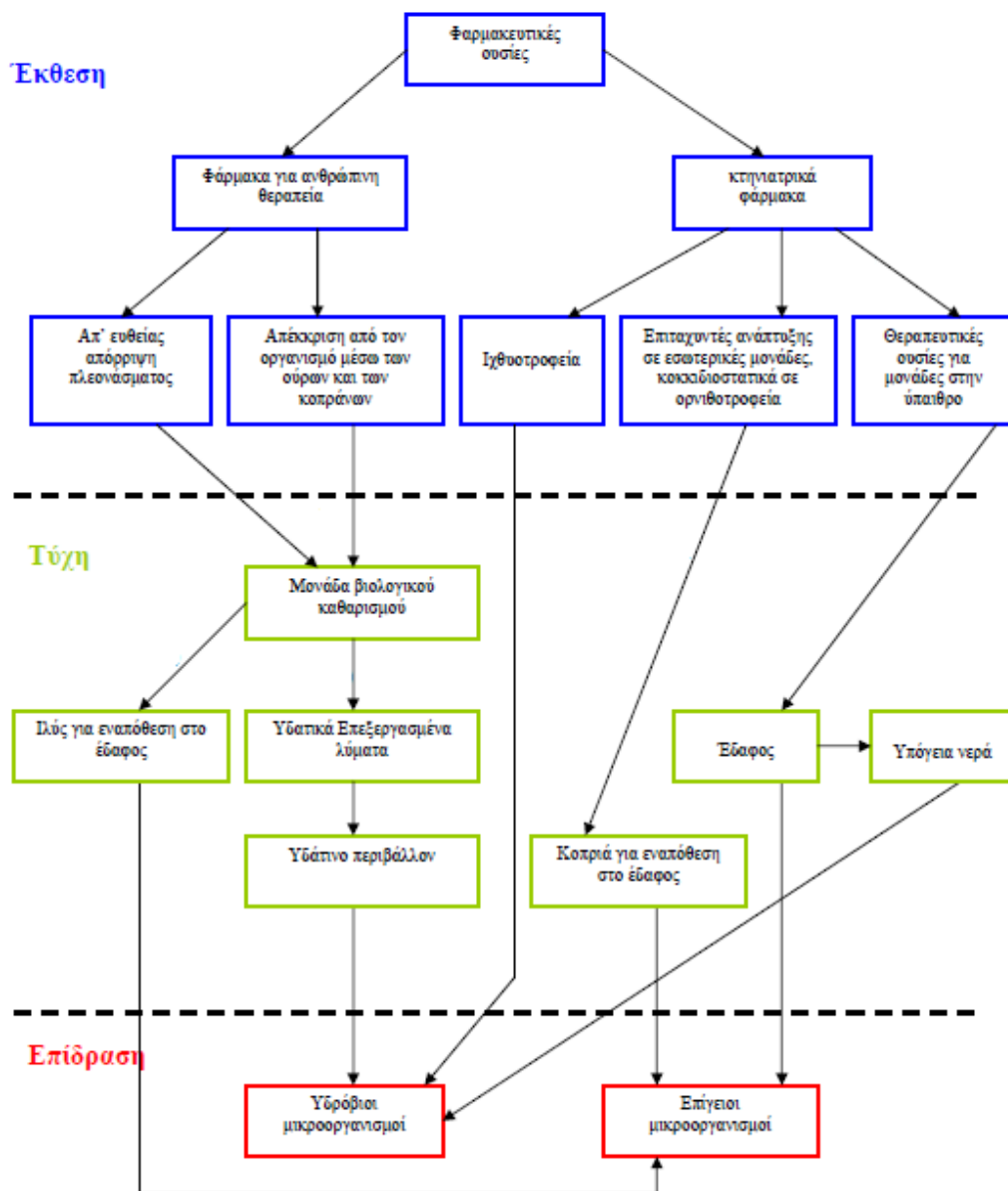
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Για περισσότερα από 70 χρόνια η επιστημονική κοινότητα έχει επισημάνει ορισμένες συνθετικές και φυσικές ενώσεις οι οποίες έχουν την ικανότητα να μιμούνται τις φυσικές ορμόνες του ενδοκρινικού συστήματος των οργανισμών. Οι ουσίες αυτές είναι πλέον γνωστές ως 'ενδοκρινικοί διαταράκτες' και συνδέονται με μια ποικιλία από δυσμενείς επιπτώσεις στους ανθρώπους και την άγρια ζωή. Πιο πρόσφατα, φαρμακευτικά προϊόντα ανιχνεύθηκαν σε επιφανειακά και υπόγεια νερά, μερικά εκ των οποίων έχουν συνδεθεί με οικολογικές επιπτώσεις ακόμα και κατά την ύπαρξη τους σε συγκεντρώσεις ιχνών. Η πλειοψηφία των ενώσεων των δύο αυτών κατηγοριών, εμφανίζουν μεγαλύτερη πολικότητα από τους παραδοσιακούς ρύπους και πολλές έχουν όξινες ή βασικές λειτουργικές ομάδες. Οι ιδιότητες αυτές, σε συνδυασμό με την εμφάνιση σε επίπεδα ιχνών (1 mg/L), έχουν δημιουργήσει μοναδικές προκλήσεις τόσο στις διαδικασίες αφαίρεσης, όσο και στην αναλυτική ανίχνευσή τους. Εκθέσεις που εμφανίζουν την παρουσία τους στο νερό έχουν προκαλέσει ανησυχία στην κοινή γνώμη και στους ρυθμιστικούς οργανισμούς. Ωστόσο, τα δεδομένα για την τύχη των ενώσεων αυτών είτε κατά την επεξεργασία πόσιμου νερού είτε κατά την επεξεργασία λυμάτων είναι περιορισμένα. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει πως η επεξεργασία που πραγματοποιείται στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων δεν είναι ικανή να οδηγήσει στην πλήρη απομάκρυνση τους.

Πιο συγκεκριμένα, οι ενδοκρινικοί διαταράκτες διαχωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες: αυτούς με οιστρογονική δράση (ενώσεις που μιμούνται ή παρεμποδίζουν τα φυσικά οιστρογόνα), με ανδρογονική δράση (ενώσεις που μιμούνται ή παρεμποδίζουν την φυσική τεστοστερόνη) και θυρεοειδική δράση (ενώσεις με άμεσες ή έμμεσες επιπτώσεις στον θυρεοειδή). Αν και η πλειοψηφία των ερευνών έχει επικεντρωθεί στις ενώσεις με οιστρογονική δραστηριότητα, ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δοθεί και στις άλλες δύο κατηγορίες καθώς η βιολογική τους σημασία μπορεί να είναι ίση ή και μεγαλύτερη.

Όσον αφορά την περίπτωση των φαρμακευτικών ουσιών, οι πρώτες ανησυχίες για πιθανές αρνητικές επιπτώσεις λόγω της εμφάνισής τους στα αστικά λύματα εκφράστηκαν κοντά στο 1970. Οι μελέτες που πραγματοποιήθηκαν απέδειξαν την ευρεία εμφάνισή τους σε επίπεδα ιχνών (ng/L) στο περιβάλλον για να ακολουθήσουν εκθέσεις οι οποίες ανέδειξαν τις πιθανές επιπτώσεις που μπορούν να προκληθούν από τις ενώσεις αυτές στα υφιστάμενα επίπεδα.

Οι ενώσεις που περιλαμβάνονται στους περιβαλλοντικούς ρύπους είναι, αντιβιοτικά, αναλγητικά, αντισηπτικά και άλλα, με τα υπάρχοντα δεδομένα να είναι ελλιπή για τις τοξικές επιδράσεις στα αναφερθέντα επίπεδα συγκεντρώσεων. Στην παρακάτω εικόνα εμφανίζεται ένα διάγραμμα ροής για την πορεία των φαρμακευτικών ουσιών στο περιβάλλον.



Εικόνα 1.1 : Οδοί έκθεσης των φαρμακευτικών ουσιών στο περιβάλλον (Halling- Sorensen et al., 1998)

1.1. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της τύχης συγκεκριμένων ενώσεων των δύο παραπάνω κατηγοριών κατά τη διεργασία της χλωρίωσης και κατά τη χρήση

ενεργού άνθρακα, σε ήδη επεξεργασμένα αστικά λύματα. Επίσης, στα πλαίσια της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκε προσπάθεια προσδιορισμού της τοξικότητας των χλωριωμένων παραγώγων των εξεταζόμενων ενώσεων αλλά και των τιμών συγκεντρώσεων για τις οποίες οι ενώσεις αυτές εμφανίζουν τοξική δράση στην ετεροτροφική βιομάζα συστημάτων ενεργού ιλύος.

1.2. Διάρθρωση της εργασίας

Η εργασία αυτή περιλαμβάνει πέραν του παρόντος κεφαλαίου της «ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ» ακόμα τέσσερα κεφάλαια.

Στο δεύτερο κεφάλαιο παρουσιάζεται το θεωρητικό υπόβαθρο και γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με το θέμα της εργασίας. Παρουσιάζονται οι χημικές ιδιότητες και η δομή των εξεταζόμενων ενώσεων, καθώς και οι τρόποι παραγωγής και χρήσης τους. Ακολουθεί αναφορά στις επιπτώσεις των ενώσεων αυτών στο περιβάλλον και τους οργανισμούς και εκτενέστερα των παραμέτρων της τοξικότητας και της βιοσυσσώρευσης. Στη συνέχεια αναλύεται η συμπεριφορά των ενώσεων αυτών, όσον αφορά τη βιοαποδόμησή, τους σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Τέλος, ακολουθούν δύο υποκεφάλαια στα οποία περιγράφεται η απομάκρυνση των ενώσεων αυτών μέσω της διεργασίας της χλωρίωσης και με χρήση ενεργού άνθρακα.

Στο τρίτο κεφάλαιο περιγράφονται η σειρά εκτέλεσης των πειραμάτων αλλά και τα πειραματικά πρωτόκολλα που ακολουθήθηκαν για την διεξαγωγή τους. Περιγράφονται επίσης οι μέθοδοι που ακολουθήθηκαν για τη διεξαγωγή των εργαστηριακών αναλύσεων.

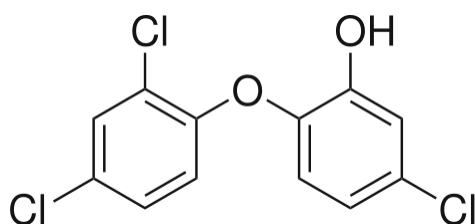
Στο τέταρτο κεφάλαιο πραγματοποιείται ανάλυση και σχολιασμός των αποτελεσμάτων των εργαστηριακών αναλύσεων, καθώς και σύγκριση τόσο μεταξύ τους όσο και με αντίστοιχα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Στο πέμπτο κεφάλαιο πραγματοποιείται σύνοψη των βασικότερων συμπερασμάτων που προέκυψαν κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων καθώς και προτάσεις για διεξαγωγή περαιτέρω έρευνας μελλοντικά.

2.1. Triclosan (TCS)

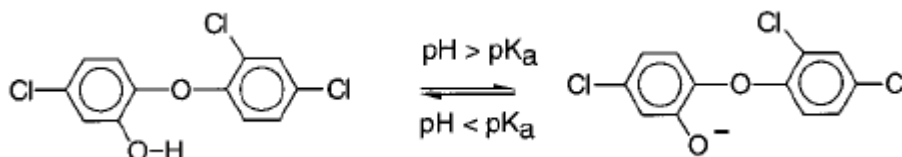
2.1.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Πρόκειται για μια πολύ- χλώρο- φαίνουξυ φαινόλη, δηλαδή ένα χλωριωμένο σύνθετο αρωματικό με λειτουργικές ομάδες αμφότερες τους αιθέρες και τις φαινόλες. Η ονομασία του κατά IUPAC είναι 5-χλώρο-2-(2,4-δichλωρο φαίνουξυ)-φαινόλη.



Εικόνα 2.1.1: Χημική δομή του triclosan (Singer et al, 2002)

Είναι μια σχετικά σταθερή, λιπόφιλη ένωση που σε κανονικές συνθήκες βρίσκεται σε στερεή κατάσταση με τη μορφή λευκής σκόνης και έχει ελαφρά αρωματική οσμή. Είναι ελαφρώς διαλυτή στο νερό (10 mg/L, 20°C) αλλά διαλυτή σε αιθανόλη, μεθανόλη, διαιθυλεθέρα και ισχυρές βάσεις όπως το υδροξείδιο του νατρίου. Έχει τιμή pKa ίση με 8.1, συνεπώς κατά την εμφάνισή της σε επιφανειακά ύδατα, όπου το pH κυμαίνεται μεταξύ 7 και 9, παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η μορφή της και ο τρόπος δράσης της. Ακόμη το γεγονός πως η μετασχηματισμένη μορφή της απορροφά την ηλιακή ακτινοβολία και διασπάται, έχει ως αποτέλεσμα τη συχνή απουσία της από τα επιφανειακά ύδατα. Επίσης η σχετικά υψηλή τιμή log K_{ow} ίση με 5,4 (4,8 για την συνήθη μορφή σε ουδέτερο pH) της πρωτονιωμένης μορφής της μπορεί να οδηγήσει σε προσρόφησης της σε σωματίδια (Singer et al, 2002).



Εικόνα 2.1.2: Μετασχηματισμός του triclosan σε περιβαλλοντικές συνθήκες (Lindstrom et al, 2002)

Μελέτες έχουν δείξει ότι το triclosan μπορεί να αντιδράσει με το νερό της βρύσης προς σχηματισμό χλωροφορμίου ή άλλων ενδιάμεσων όπως η 2,4- dichλωροφαινόλη. Ωστόσο τα περισσότερα από αυτά τα ενδιάμεσα μπορούν να μετατραπούν σε μικρό ποσοστό σε

διοξίνες, υπό την επίδραση υπερϊώδους ακτινοβολίας, μερικές εκ των οποίων όμως είναι εξαιρετικά τοξικές και ισχυροί ενδοκρινικοί διαταράκτες. Επίσης, είναι χημικά πολύ σταθερό, με αποτέλεσμα να αποβάλλεται από τους οργανισμούς πολύ αργά, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει βιοσυσσώρευση σε επικίνδυνα επίπεδα (Rule *et al*, 2005). Ακόμη, η παρουσία του στο περιβάλλον σε συνήθη επίπεδα συγκεντρώσεων πραγματοποιείται για πολύ μεγάλα χρονικά διαστήματα προκαλώντας τοξικές επιπτώσεις στους υδρόβιους μικροοργανισμούς. Επιπρόσθετα, μπορεί να αναστείλει τη φωτοσύνθεση των φυκιών τα οποία είναι υπεύθυνα για ένα μεγάλο μέρος της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας του πλανήτη (Ricart *et al*, 2010). Τέλος, κατά την επεξεργασία των λυμάτων σε συμβατικές μονάδες επεξεργασίας που λειτουργούν με συστήματα ενεργού, ιλύος ένα μέρος του triclosan απομακρύνεται, ενώ το υπόλοιπο παραμένει προσροφημένο στην παραγόμενη λάσπη και εξέρχεται από τις μονάδες επεξεργασίας (Singer *et al*, 2002 / Heidler *et al*, 2007).

2.1.2. Παραγωγή και χρήσεις

Το triclosan είναι μια αντιβακτηριδιακή και αντιμυκητιακή ουσία που χρησιμοποιείται από το 1972 σε ποικιλίες ιατρικών προϊόντων αλλά και προϊόντων οικιακής χρήσης ως συντηρητικός ή αντισηπτικός παράγοντας, όπως σαπούνια, στοματικά διαλύματα, κρέμες σώματος, απορρυπαντικά πιάτων, οδοντόκρεμες, αποσμητικά, και απολυμαντικά χεριών. Στην Ευρώπη 350 τόνοι ετησίως triclosan, εμπορικά γνωστό και ως Irgasan DP 300 ή Irgacare MP, χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακή ουσία σε πολλά προϊόντα (Singer *et al*, 2002). Στις ΗΠΑ, εκτιμάται ότι περισσότεροι από 300 τόνοι το χρόνο εναποτίθενται στα παραγόμενα λύματα γεγονός που την κατατάσσει στους 10 πρώτους οργανικούς ρυπαντές από τους συνολικά 96 που εμφανίζονται στα λύματα με εμφάνιση στο 58% των ρευμάτων των ΗΠΑ. Έχει αποδειχθεί ότι επιφέρει δραστική μείωση στη βακτηριακή μόλυνση τόσο στα χέρια όσο και σε πολλά επεξεργασμένα προϊόντα (Singer *et al*, 2002 / US Department of health). Πρόσφατη έρευνα απέδειξε ότι η χρήση, κατά την πλύση, του triclosan από ασθενείς το δέρμα των οποίων μεταφέρει τον ανθεκτικό στη μεθικιλίνη χρυσίζων σταφυλόκοκκο, σε συγκέντρωση 3% επιφέρει την από-αποικιοποίηση του μικροοργανισμού (Coia *et al*, 2006).

2.1.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

Τα περιβαλλοντικά δεδομένα για την εμφάνιση του TCS διαχωρίστηκαν σε αυτά που προέκυπταν από μονάδες επεξεργασίας λυμάτων, από αυτά υδρόβιων και χερσαίων οικοσυστημάτων. Οι συγκεντρώσεις των βιοκτόνων που έχουν παρατηρηθεί στην είσοδο μονάδων επεξεργασίας λυμάτων κυμαίνονταν από 1,86 ως 26,8 $\mu\text{g/l}$ και στην έξοδο από 0,027 ως 2,7 $\mu\text{g/l}$ (Heidler *et al*, 2007). Συνήθεις συγκεντρώσεις σε συστήματα ενεργού ιλύος, εκφρασμένες σε μονάδες ξηρού βάρους, έδειξαν υψηλότερες τιμές μεταξύ 580-14.700 $\mu\text{g/kg}$ (Singer *et al*, 2002). Όσον αφορά συγκεντρώσεις στο φυσικό υδάτινο περιβάλλον συνήθως αυτές είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης με μέγιστες τιμές να παρατηρούνται σε επιφανειακά νερά των ΗΠΑ και να είναι της τάξης του 2,3 $\mu\text{g/l}$ και από 1,6 ως 6,75 $\mu\text{g/l}$ σε ρεύματα όπου εισέρχονται πρωτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα ενώ σε ιζήματα του γλυκού νερού οι συγκεντρώσεις κυμαίνονται από 800 έως 53.000 $\mu\text{g/kg}$. Όσον αφορά τα χερσαία οικοσυστήματα τα επίπεδα της TCS στο ενδοπορικό νερό εδαφών στα οποία έχει προστεθεί τροποποιημένη λάσπη είναι από 0,201 έως 273,3 $\mu\text{g/l}$ για τιμές pH 7-9 (Chalew *et al*, 2009).

Σε συνήθεις συγκεντρώσεις το triclosan λειτουργεί ως βιοκτόνο, στοχεύοντας στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των μικροοργανισμών (Russell, 2004) ωστόσο σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις επηρεάζει κυρίως κάποια βακτήρια, αναστέλλοντας τη σύνθεση λιπαρών οξέων. Η αναστολή αυτή επιτυγχάνεται μέσω της ενζυμικής σύνδεσης του triclosan με το ένζυμο ENR γεγονός που αυξάνει τη συγγένεια του ενζύμου με το NAD^+ . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός σταθερού τριαδικού συμπλόκου το οποίο δεν είναι σε θέση να συμμετάσχει στη σύνθεση των λιπαρών οξέων, τα οποία είναι απαραίτητα για την αναπαραγωγή και τη δημιουργία των κυτταρικών μεμβρανών. Ωστόσο, οι ανθρώπινοι οργανισμοί δεν διαθέτουν το ένζυμο ENR και δεν επηρεάζονται.

Ιατρικές έρευνες έχουν δείξει ότι η έκθεση των οργανισμών σε φαινόλες άρα και στην TCS οδηγεί σε ερεθισμό του δέρματος, αλλά λόγω της ικανότητας των φαινολών να απενεργοποιούν τις αισθητήριες νευρικές απολήξεις πολλές φορές δεν εμφανίζεται πόνος. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η επαφή με TCS μπορεί να προκαλέσει φωτοαλλεργική δερματίτιδα εφόσον το δέρμα εκτεθεί στην ηλιακή ακτινοβολία. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια φάνηκε ότι η TCS μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό των ορμονών του θυρεοειδή προκαλώντας μείωση της θερμοκρασίας του σώματος και μια

γενική κατασταλτική δράση του κεντρικού νευρικού συστήματος (Glazer, 2004). Σε περιπτώσεις εσωτερικής έκθεσης ακόμη και σε μικρές ποσότητες, μπορεί να εμφανιστούν συμπτώματα όπως κρύος ιδρώτας, κυκλοφορική κατάπτωση, σπασμοί, κώμα, ακόμα και θάνατος. Η μακροχρόνια και επαναλαμβανόμενη έκθεση σε πολλά προϊόντα που περιέχουν TCS, όπως φυτοφάρμακα μπορεί να βλάψει το συκώτι, τα νεφρά, την καρδιά και τους πνεύμονες και να προκαλέσει παράλυση, στειρότητα, εγκεφαλικές αιμορραγίες, ορμονικές διαταραχές, και ανοσοποιητική καταστολή. Τέλος, λόγω της εκτεταμένης του χρήσης έχει ανιχνευθεί στο αίμα του ομφάλιου λώρου των βρεφών αλλά και στο μητρικό γάλα των θηλαζουσών μητέρων (Lark, 2004).

Ωστόσο, σε συνήθεις περιβαλλοντικές συνθήκες ο κίνδυνος από την έκθεση σε TCS είναι σχεδόν αμελητέος και σημαντικές επιδράσεις εμφανίστηκαν μόνο σε υδάτινους οργανισμούς, όπως στα ψάρια και κυρίως τα φύκια. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται μερικά από τα είδη και οι συγκεντρώσεις TCS στις οποίες εμφανίστηκαν αρνητικές επιδράσεις.

Πίνακας 2.1.1: Τιμές τοξικότητας της TCS σε διάφορους οργανισμούς (Chalew et al, 2009)

Οργανισμός	Δοκιμή	Παράμετρος	Χρόνος έκθεσης	TCS (μg/l)
Ψάρια				
<i>Pimephales promelas</i>	LC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	24h	360
			48h	270
			72h	270
			96h	260
	NOEC	Εκκόλαψη αυγών, ανάπτυξη, επιβίωση	35 days	-
<i>Oryzias latipes</i>	LC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	96h	602
	NOEC	Εκκόλαψη αυγών, ανάπτυξη, επιβίωση	21 days	156
	IC ₂₅	Εκκόλαψη αυγών, ανάπτυξη, επιβίωση	9 days	290
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	96h	-
	NOEC	Εκκόλαψη αυγών, ανάπτυξη, επιβίωση	61 days	34,1
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	96h	440
	NOEC	Οξεία τοξικότητα	96h	-
<i>Salmo gairdneri</i>	NOEC	Οξεία τοξικότητα	96h	-
	LC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	96h	-
	NOEC	Εκκόλαψη αυγών,	35 days	-

		ανάπτυξη, επιβίωση		
Καρκινοειδή				
<i>Daphnia magna</i>	EC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	48h	390
	NOEC	Ρυθμός αναπαραγωγής	21 days	40
	LOEC	Ρυθμός αναπαραγωγής	21 days	200
	NOEC	Οξεία τοξικότητα	48h	-
	LCEC	Ρυθμός αναπαραγωγής	21 days	-
	EC ₁₀₀	Οξεία τοξικότητα	48h	-
<i>Ceriodaphnia sp.</i>	NOEC	Οξεία τοξικότητα	48h	-
	EC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	48h	184,7
	EC ₁₀₀	Οξεία τοξικότητα	48h	-
	NOEC	Χρόνια τοξικότητα pH=8,5	7 days	182
	NOEC	Χρόνια τοξικότητα pH=7	7 days	6
	IC ₂₅	Χρόνια τοξικότητα	7 days	170
	NOEC	Χρόνια τοξικότητα	21 days	-
	LOEC	Χρόνια τοξικότητα	21 days	-
<i>Mysidopsis bahia</i>	EC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	96h	-
	NOEC	Ρυθμός αναπαραγωγής	28 days	-
	LOEC	Ρυθμός αναπαραγωγής	28 days	-
	EC ₅₀	Ρυθμός αναπαραγωγής	28 days	-
Άλλα				
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	NOEC	Ανάπτυξη	72h	0,5
			96h	0,69
	EC ₅₀	Ανάπτυξη	72h	2,8
			96h	1,4
		Βιομάζα	72h	0,7
<i>Selenastrum capricornutum</i>	EC ₂₅	Βιομάζα	96h	2,44
	IC ₂₅	Ανάπτυξη	96h	3,4
<i>Anabaena flos-aquae</i>	EC ₅₀	Ανάπτυξη	96h	1,6
	NOEC	Ανάπτυξη	96h	0,81
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	LOEC	Ανάπτυξη	72h	0,4
	NOEC	Ανάπτυξη	72h	0,2
	EC ₅₀	Ανάπτυξη	72h	0,53
Μικροοργανισμοί				
Ενεργός ιλύς/	EC ₅₀	Οξεία τοξικότητα	15 min	2,39·10 ⁵

ανάμικτο υγρό			5 days	1820
Νιτροποιητικά βακτήρια	MIC	Οξεία τοξικότητα	5 days	500
	NOEC	Οξεία τοξικότητα	5 days	750
<i>Escherichia coli</i>	MIC	Οξεία τοξικότητα	5 days	300
	MIC	Οξεία τοξικότητα	18 days	200-80.000
<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC	Οξεία τοξικότητα	18 days	25-4.000
<i>Proteus mirabilis</i>	MIC	Οξεία τοξικότητα	18 days	200-60.000
<i>Vibrio fischeri</i>	EC ₅₀	Ετεροτροφική δραστικότητα	5 days	38.200
	EC ₅₀	Ετεροτροφική δραστικότητα	10 days	31.500
	EC ₅₀	Ρυθμός αμμωνιοποίησης	15 days	9.970
	EC ₅₀	Αναχαίτιση βιοφωταύγειας	15 min	0,28
	LOEC	Αναχαίτιση βιοφωταύγειας	15 min	0,1
Αστικά λύματα	HA ₅₀	Οξεία τοξικότητα	15 min	-
	NOEC	ADI	16 days	-
	LOEC	ADI	16 days	-

2.1.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Οι Stasinakis *et al* (2008) σε μελέτη τους προκειμένου να υπολογίσουν την τοξικότητα της TCS πραγματοποίησαν μετρήσεις του ρυθμού αποξυγόνωσης (OUR) σε ετεροτροφικούς και αυτοτροφικούς μικροοργανισμούς αλλά και τεστ τοξικότητας συγκεκριμένα στο βακτήριο *V. Fischeri*. Όσον αφορά την ετεροτροφική βιομάζα αναστολή παρατηρήθηκε για συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν μεταξύ 5 και 50 mg/L. Συγκεκριμένα για θ_c βιομάζας 5 και 10 ημέρες, οι EC₅₀ που μετρήθηκαν ήταν 38,2 και 31,5 mg/L αντίστοιχα. Παρατηρούμε ότι με την αύξηση του χρόνου παραμονής αυξάνεται και η τοξικότητα της TCS. Σύμφωνα με τους Henriques *et al* (2005) το μέγεθος των συσσωματωμάτων της λάσπης θα μπορούσε να επηρεάσει την αναστολή που προκαλείται σε βιολογικά συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων λόγω τοξικών ενώσεων. Για να διερευνηθεί το κατά πόσον οι διαφορές στην τοξικότητα της TCS που παρατηρήθηκαν σε διάφορα θ_c ήταν λόγω της διαφοράς μεγέθους των συσσωματωμάτων έλαβαν δείγματα από τρεις διαφορετικούς SBR στους οποίους το μέγεθος των σωματιδίων ήταν προαποφασισμένο και τα συσσωματώματα για μικρούς θ_c

ήταν πολύ μεγαλύτερα. Ειδικότερα, ο όγκος των σωματίδια με μέγεθος άνω των 100 nm μειώθηκε με την αύξηση του θ_c , από 92.4% ($\theta_c=5$ ημέρες) σε 70.35% ($\theta_c=10$ ημέρες) και 57.7% ($\theta_c=15$ ημέρες). Σύμφωνα με τις παραπάνω παρατηρήσεις, η μεγαλύτερη αναστολή που λαμβάνεται σε υψηλότερες θ_c μπορεί να αποδοθεί στα μικρότερα συσσωματώματα που σχηματίζονται υπό αυτές τις συνθήκες, καθώς ένα πολύ μεγαλύτερο ποσοστό ετεροτροφικών βακτηρίων βρίσκεται σε επαφή με το ανάμικτο υγρό και λόγω της μεγαλύτερης αναλογίας επιφάνειας προς όγκο που δημιουργείται είναι πιθανό να εκτίθενται ευκολότερα στην τοξική ένωση (Henriques *et al*, 2005). Επίσης, για να διαπιστωθεί αν η αύξηση του χρόνου έκθεσης επηρεάζει την τοξικότητα επιλέχθηκαν δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις TCS 1 και 8 mg/L και μετρήθηκε η αναστολή του OUR σε χρονικό διάστημα 5 ωρών. Για την χαμηλότερη τιμή συγκέντρωσης ο χρόνος έκθεσης δεν φάνηκε να ασκεί κάποια αρνητική επίδραση ωστόσο η έκθεση στην υψηλότερη συγκέντρωση οδήγησε σε άμεση αναστολή του OUR στο 35% και παρέμεινε σχεδόν σταθερό κατά τη διάρκεια του πειράματος (32%). Αυτό σημαίνει ότι η TCS ενήργησε ακαριαία στη βακτηριακή αναπνοή (Stasinakis *et al*, 2008).

Για την εξέταση της τοξικότητας στους αυτοτροφικούς μικροοργανισμούς χρησιμοποιήθηκε βιομάζα προερχόμενη από αντιδραστήρα SBR με χρόνος παραμονής 15 ημέρες και πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις AUR με διαφορετικές συγκεντρώσεις TCS. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μετρήσεων συγκέντρωση TCS ίση με 1mg/L προκάλεσε αναστολή της νιτροποίησης κατά 19,3%. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα επίπεδα των συγκεντρώσεων αυτών δεν επέφεραν ανασταλτική δράση στις μετρήσεις OUR συνεπώς οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί είναι πιο ευαίσθητοι στην τοξικότητα της TCS, γεγονός που οφείλεται στο ότι η διαδικασία της νιτροποίησης πραγματοποιείται από δυο διαφορετικές ομάδες χημικο-αυτοτροφικών βακτηρίων ενώ η αναπνοή από μια μεγάλη ποικιλία ετεροτροφικών μικροοργανισμών. Αξίζει να αναφερθεί ότι τυπικές συγκεντρώσεις στα εισερχόμενα λύματα κυμαίνονται μεταξύ 0,5 και 30 mg/L.

Τέλος, στην ίδια μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της TCS στο βακτήριο *V. Fischeri* σε δείγματα ανάμικτου υγρού. Διαπιστώθηκε ότι η τιμή EC_{50} ίση με 0,22 mg/L, ήταν σημαντικά χαμηλότερη από αυτές που μετρήθηκαν για τα OUR και AUR φανερώνοντας έτσι μεγαλύτερη ευαισθησία στην τοξικότητα της TCS. Αξιολογώντας λοιπόν όλα τα

αποτελέσματα της μελέτης αυτής, θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε πως η τοξικότητα της TCS στους τελικούς αποδέκτες φαίνεται πιθανή (Stasinakis *et al*, 2008).

Οι Stasinakis *et al* (2007) σε άλλη μελέτη τους διαπίστωσαν ότι χωρίς την προσθήκη TCS σε πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος συνεχούς ροής, επιτυγχανόταν 84% απομάκρυνση αμμωνίας. Μόλις προστέθηκε 0,5 mg/L TCS η απομάκρυνση της αμμωνίας μειώθηκε στο 59% μέχρι και την 16^η ημέρα διάρκειας του πειράματος για να αρχίσει σταδιακά να αυξάνεται και πάλι φτάνοντας στο 67% την 28^η ημέρα και στα αρχικά επίπεδα κατά το τέλος του πειράματος 38^η ημέρα, υποδεικνύοντας έτσι το σταδιακό εγκλιματισμό των αυτοτροφικών μικροοργανισμών στη παρουσία της TCS. Σε διαφορετικό πείραμα μελετήθηκε η επίδραση 1mg/L TCS χωρίς να υπάρχει η δυνατότητα εγκλιματισμού των μικροοργανισμών. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν ότι η αφαίρεση της αμμωνίας μειώθηκε άμεσα από το 80% που ήταν αρχικά, σε ποσοστό κάτω του 50%. Το συμπέρασμα που εξήχθη είναι ότι σε αυτά τα επίπεδα συγκέντρωσης της TCS οι αυτοτροφικοί μικροοργανισμοί φαίνεται να εγκλιματίζονται γρήγορα στην κατά τα άλλα τοξική ένωση, με αποτέλεσμα την ανάκτηση της νιτροποιητικής τους ικανότητας.

Η συνεχής έκθεση στην TCS μπορεί να οδηγήσει σε βιοσυσσώρευση στους ιστούς, η οποία με τη σειρά της αποτελεί μια πιθανή οδό για τη βιομεγέθυνση στην τροφική αλυσίδα. Παθητική βιοσυσσώρευση σε φύκια έχει αποδειχθεί, αλλά η σωματική επιβάρυνση των οργανισμών που έχει ανιχνευθεί μέσω του μητρικού γάλακτος μπορεί να ερμηνευθεί με πολλούς τρόπους, πέραν της βιομεγέθυνσης. Επιπλέον, η συμπεριφορά του προϊόντων που έχουν προέλθει από μετασχηματισμό της TCS πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη καθώς, στη Σουηδία ανιχνεύθηκε στο λίπος ψαριών μέθυλο-triclosan (M-TCS) σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 0,1 έως 360 ng/g λιπιδίων. Επίσης TCS και M-TCS ανιχνεύθηκαν στους ιστούς σαλιγκαριών τα οποία αναπτύχθηκαν σε καλλιέργειες κλουβιών διάρκειας 2 εβδομάδων στα κατάντη μονάδας επεξεργασίας λυμάτων. Ο παράγοντας βιοσυσσώρευσης για την TCS, M-TCS ήταν 500 και 1200 αντίστοιχα. Δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις της TCS στο περιβάλλον αυξάνονται, θεωρείται πως τα βακτηριακά στελέχη μπορεί να προσαρμόζονται, αυξάνοντας την αντίσταση τους κατά την έκθεση αποτρέποντας έτσι φαινόμενα που παρατηρούνται σε μεγαλύτερους οργανισμούς (Chalew *et al*, 2009).

Τα εντονότερα φαινόμενα βιοσυσσώρευσης έχουν παρατηρηθεί σε φύκια τα οποία αποτελούν και το μεγαλύτερο μέρος της φυτικής βιομάζας στα υδάτινα οικοσυστήματα. Οι Coogan *et al.* μελέτησαν τη βιοσυσσώρευση της TCS και της M-TCS σε υδατικό οικοσύστημα βρισκόμενο στα κατάντη μονάδας επεξεργασίας λυμάτων και στο οποίο οι συγκεντρώσεις TCS και της M-TCS που ανιχνεύθηκαν στα άλγη ήταν κατά μέσο όρο 100 και 150 ppb και 50-90 ppb αντίστοιχα ενώ στην υδάτινη μάζα ήταν της τάξης των 0,09 ppb και 0,06 ppb αντίστοιχα. Να επισημάνουμε ότι οι σχετικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα φύκια που βρισκόταν κοντά στο σημείο εκβολής της εγκατάστασης παρά τις αυξημένες συγκεντρώσεις της υδάτινης μάζας στο σημείο αυτό οφείλονται στη μειωμένη περιεκτικότητα λιπιδίων στα άλγη εκείνης της περιοχής. Οι παράγοντες βιοσυσσώρευσης που υπολογίστηκαν αν και διέφεραν ανάλογα με τη περιοχή εξέτασης του δείγματος κατά μέσο όρο ήταν 1600 για την TCS και 1100 για την M-TCS. Γενικότερα, η συγκέντρωση λιπιδίων στα φύκια κυμαίνεται από 5 έως 70% επί ξηρού βάρους ποσοστό που εξαρτάται από το είδος και την παρουσία θρεπτικών με τις συνηθέστερες τιμές να κυμαίνονται μεταξύ 15-30%. Η ικανότητα όμως κάποιων αλγών να παράγουν τριγλυκερίδια που αποτελούν το 60% του βάρους τους και η εισαγωγή στο υδρόβιο τροφικό πλέγμα ανθεκτικών τοξικών βιοσυσσωρευσίμων ενώσεων έχει ως αποτέλεσμα την μεταφορά τους μέσω της τροφικής αλυσίδας στους ανώτερους οργανισμούς. Για παράδειγμα, το *Cladophora coelothrix*, που ανιχνεύεται εκτενώς στα άλγη της Μαύρης Θάλασσας βρέθηκε να περιέχει περίπου 23,7 mg/g ξηρού βάρους λιπίδια, με την πλειοψηφία αυτών (60,2%) να είναι τριγλυκερίδια (Coogan *et al*, 2007).

2.1.5. Βιοαποδόμηση

Όσον αφορά την απομάκρυνση της TCS από συστήματα ενεργού ιλύος, δεδομένα από διαφορετικές μονάδες επεξεργασίας έχουν δείξει ότι η TCS αφαιρείται σε σημαντικό βαθμό. Ένα στοιχείο που δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί όμως, είναι ο ρόλος της βιοαποδόμησης και της προσρόφησης στην απομάκρυνση του triclosan. Ο Singer *et al* ανέφερε ότι σε μονάδα επεξεργασίας λυμάτων στην Ελβετία σε διάρκεια μιας εβδομάδας η βιοδιάσπαση της TCS έφτασε σε ένα ποσοστό ίσο σε 79%, ενώ το 15% της ένωσης απορροφήθηκε στη λάσπη (Singer *et al*, 2002). Σε άλλη μελέτη ο Bester (2003) ανέφερε ότι σε μονάδα επεξεργασίας στη Γερμανία όπου η συγκέντρωση της TCS στα λύματα ήταν 1000 ng/L στην είσοδο της

μονάδας, σχεδόν το 30% προσροφήθηκε στη λάσπη, μόλις το 5% διέφυγε σε διαλυτή μορφή από την έξοδο της εγκατάστασης ενώ επισημαίνει πως πιθανότατα μεγάλο μέρος της εισερχόμενης με τα λύματα ποσότητας μετασχηματίστηκε σε άλλους μεταβολίτες ή δεν εντοπίστηκαν λόγω δημιουργίας ισχυρών δεσμών με τις ενώσεις της λάσπης (Bester, 2003) ενώ οι Heidler και Halden υποστήριξαν ότι το $50 \pm 19\%$ της συνολικής μάζας TCS (αρχικής συγκέντρωσης 5 $\mu\text{g/L}$) που εισέρχονταν στη μονάδα επεξεργασίας βιοσυσσωρεύτηκε στη λάσπη (Heidler *et al*, 2007). Σε αντίθεση με τα παραπάνω ο Federle *et al*, μελέτησε την τύχη της TCS σε συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας και ανέφερε ότι ξεκινώντας με αρχική συγκέντρωση TCS ίση με 10 $\mu\text{g/L}$, πάνω από το 94% των TCS βιοδιασπάστηκε και μόνο το 1.5 - 4.5% του TCS προσροφήθηκε στη λάσπη (Federle *et al*, 2002).

Οι Stasinakis *et al* (2007), σε ένα από τα πειράματά τους μελέτησαν τη βιοαποδόμηση και την προσρόφηση της TCS, σε σύστημα ενεργού ιλύος συνεχούς ροής, εργαστηριακής κλίμακας και με αρχική συγκέντρωση TCS ίση με 2 mg/L την 16^η ημέρα λειτουργίας του συστήματος υπολογίστηκε απομάκρυνση της τάξης του 96%. Για να διερευνηθεί ο μηχανισμός απομάκρυνσης καθορίστηκε η τιμή συγκέντρωσης στο ανάμικτο υγρό αλλά και στην είσοδο και την έξοδο του συστήματος καθώς και οι παροχές εισόδου και εξόδου. Εξαιτίας του ότι η TCS θεωρείται θερμοδυναμικά σταθερή, σχετικά μη πτητική και η φωτοδιάσπαση αποκλείστηκε λόγω των συνθηκών που επικρατούσαν στο πείραμα, η βιοαποδόμηση ήταν ο κύριος μηχανισμός που θα επηρέαζε το ρυθμό και το μέγεθος της απομάκρυνσης. Από τις πρώτες ακόμα ημέρες του πειράματος η απομάκρυνση ξεπερνούσε το 89% γεγονός που δείχνει πως τα ένζυμα που απαιτούνται για την βιοαποδόμηση υπήρχαν στην αερόβια φάση. Ακόμη με την πάροδο των ημερών η απομάκρυνση αυξήθηκε περισσότερο για να φτάσει στο 95% και μόνο το 4% να αφαιρείται από την έξοδο του συστήματος, ως αποτέλεσμα του εγκλιματισμού της βιομάζας στις νέες συνθήκες.

Στην ίδια μελέτη αλλά, με batch πειράματα και με αρχική συγκέντρωση TCS ίση με 1 mg/L παρατηρήθηκε ότι η TCS απομακρύνθηκε γρήγορα από τη διαλυτή φάση παρουσία βιομάζας και συγκεκριμένα κατά 93% την πρώτη μισή ώρα για να παραμείνει σε σταθερή συγκέντρωση στη διαλυτή φάση μέχρι την πάροδο 10 ωρών που ήταν και το τέλος του πειράματος. Αντίθετα, στη σωματιδιακή φάση η ποσότητα της TCS μειώθηκε σημαντικά ως αποτέλεσμα της βιοαποδόμησης και στο τέλος του πειράματος το 74% είχε απομακρυνθεί (Stasinakis *et al*, 2007).

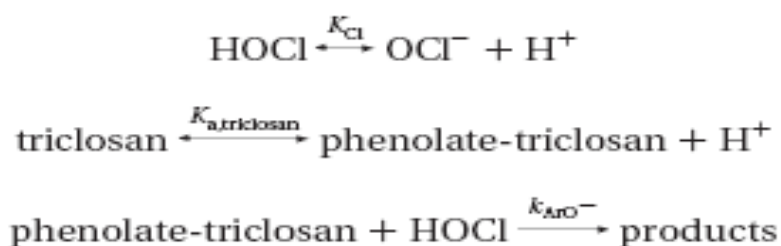
Τέλος, οι Stasinakis *et al*, (2005) σε πειράματά τους, όπου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος OECD 301F, μελέτησαν τη βιοαποδόμηση και το χρόνο ημιζωής της TCS. Για να διερευνηθεί η βιοαποδόμηση της BPA χρησιμοποιήθηκαν τρεις φιάλες που περιείχαν την υπό εξέταση ένωση σε συγκέντρωση 20 mg/L, μια φιάλη που περιείχε οξικό νάτριο γνωστής συγκέντρωσης, και μια φιάλη στην οποία είχε προστεθεί βιομάζα ώστε να ελεγχθεί η ενδογενής αναπνοή. Οι δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν δεν έδειξαν ιδιαίτερη επαναληψιμότητα καθώς στις δυο φιάλες η βιοαποδόμηση έφτασε το 40% κατά την 28^η ημέρα εντοπίζοντας μια φάση υστέρησης 20 ημερών ενώ στη τρίτη φιάλη δεν παρατηρήθηκε καθόλου βιοαποδόμηση. Το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η υψηλή τιμή αρχικής συγκέντρωσης εμφάνισε ιδιαίτερη τοξικότητα που οδήγησε στην καταστολή των μικροοργανισμών που περιέχονται σε ένα τυπικό σύστημα ενεργού ιλύος.

2.1.6. Επίδραση της χλωρίωσης στην triclosan

Το triclosan αντιδρά άμεσα με το ελεύθερο χλώριο δίνοντας μια κινητική συνολικά δεύτερης τάξης πρώτης τάξης ως προς το χλώριο και πρώτης ως προς το triclosan. Εκτός του εύρους pH από 4 - 11,5 η ακολουθούμενη κινητική παρουσίαζε ευαισθησία στην μεταβολή του pH. Κατά τη αντίδραση της TCS με υποχλωριώδες οξύ έπειτα από αναλύσεις με αέρια χρωματογραφία- φασματομετρία μάζας, ανιχνεύθηκαν τρεις χλωρο – φαίνοξυ - φαινόλες και δυο χλωροφαινόλες. Οι χλωρο – φαίνοξυ - φαινόλες περιελάμβαναν δυο μονοχλωριωμένα παράγωγα της TCS την (5,6-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη και την 4,5-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ) - φαινόλη) και ένα διχλωριωμένο παράγωγο την (4,5,6-τριχλωρο- (2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη), ως αποτέλεσμα της διαδικασίας της ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης της TCS. Όσον αφορά τις χλωροφαινόλες η 2,4 – διχλωροφαινόλη εντοπίστηκε κάτω από συνθήκες και μορφές στις οποίες πραγματοποιείται αιθερική διάσπασης της TCS ενώ η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη σχηματίστηκε μέσω ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης της 2,4 – διχλωροφαινόλης σε συνθήκες παρουσίας ελεύθερου χλωρίου. Τέλος, χλωροφόρμιο σχηματίστηκε κατά την παρουσία περίσσειας ελεύθερου χλωρίου (Rule *et al*, 2005).

Σε πειράματά τους οι Rule *et al*. (2005), έδειξαν ότι η TCS αντιδρά άμεσα με το ελεύθερο χλώριο και η κινητική της αντίδρασης είναι εξαρτώμενη του pH του διαλύματος καθώς όταν

η TCS ήταν απύσχα η απώλεια του ελεύθερου χλωρίου ήταν αμελητέα, και όταν το ελεύθερο χλώριο ήταν απών η συγκέντρωση της TCS παρέμεινε σταθερή. Επίσης ο ρυθμός αντίδρασης αυξήθηκε με την αύξηση του pH στο διάστημα τιμών από 3,5 έως 6,5 και μειώθηκε με την αύξηση της τιμής πάνω από 8. Ο μηχανισμός αυτής της αντίδρασης φαίνεται παρακάτω.

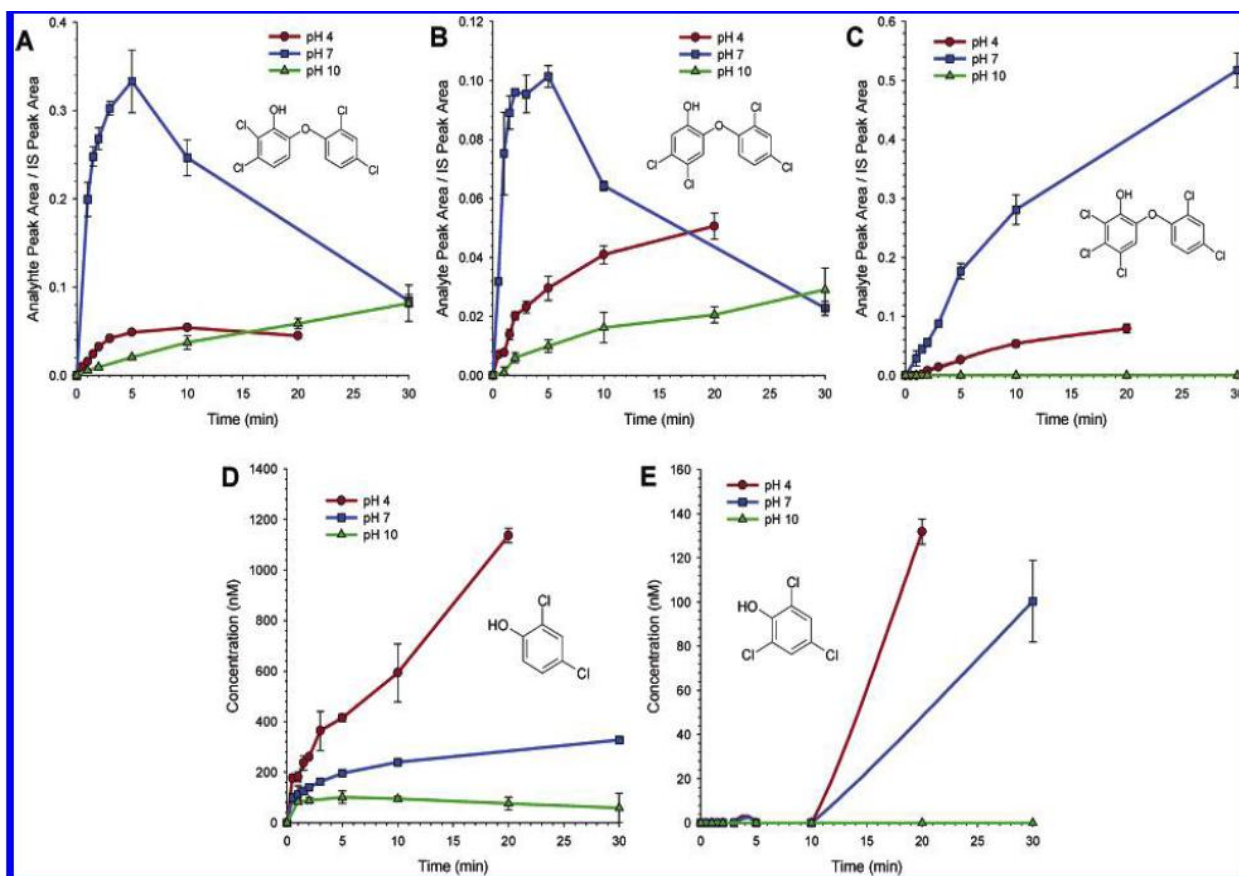


Εικόνα 2.1.3: Μηχανισμός αντίδρασης της TCS με το HOCl (Rule et al, 2005)

Το στοιχειακό χλώριο θεωρείται γενικά ισχυρότερο οξειδωτικό από το HOCl, και η παρουσία του θα μπορούσε να οδηγήσει σε ταχύτερη αντίδραση και υψηλότερα ποσοστά.

Πραγματοποιήθηκαν ακόμη πειράματα στα οποία εξετάστηκε η δραστηριότητα της 2,4-διχλωροφαινόλης με το ελεύθερο χλώριο και το αποτέλεσμα ήταν μόνο ο σχηματισμός της 2,4,6-τριχλωροφαινόλης. Εκτός των δύο αυτών προϊόντων καμία επιπλέον διχλωροφαινόλη ή τριχλωροφαινόλη δεν ανιχνεύθηκε κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Με βάση τις δομές των ενδιάμεσων Α, Β, και Γ όπως φαίνεται στην εικόνα 2.1.4 ο σχηματισμός της 2,4-διχλωροφαινόλης είναι εύλογο ότι προέκυψε από το σύστημα των 2,3 - διχλωροφαινόλης, 3,4-διχλωροφαινόλης και 2,3,4-τριχλωροφαινόλης. Δεδομένου ότι καμία από αυτές τις ενώσεις δεν εντοπίστηκαν, είναι πιθανή είτε η διάνοιξη του φαινολικού δακτυλίου της TCS πριν ή μετά την διάσπαση του αιθερικού δεσμού είτε η τόσο άμεση αντίδραση αυτών των χλωροφαινολών ώστε να μπορέσουν να ανιχνευθούν. Για να εξεταστεί το δεύτερο ενδεχόμενο διεξήχθησαν πειράματα όπου ελέγχθηκε η δραστηριότητα των ενδιάμεσων αυτών κατά την αντίδραση με ελεύθερο χλώριο θεωρώντας συνθήκες ψευδο-πρώτης τάξης με τις ενώσεις να βρίσκονται σε περίσσεια και τιμή pH 7. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν φάνηκε ότι η ταχύτητα σχηματισμού της 3,4-διχλωροφαινόλης και της 2,3,4-τριχλωροφαινόλης ήταν παρόμοιες με αυτή της 2,4-διχλωροφαινόλης στο ίδιο pH. Από την παρατήρηση αυτή συμπεραίνουμε πως αν οι δύο αυτές ενώσεις είχαν διαμορφωθεί ως ενδιάμεσα θα έπρεπε να ήταν ανιχνεύσιμες. Για την περίπτωση της 2,3-διχλωροφαινόλης αν και αντιδρά γρηγορότερα από τις προηγούμενες ήταν και πάλι πιο αργή σε σχέση με

αυτήν της TCS άρα θα έπρεπε και αυτή να έχει ανιχνευθεί. Οι παρατηρήσεις αυτές δείχνουν ότι η διάσπαση του φαινολικού δακτυλίου της TCS συμβαίνει παράλληλα ή πολύ κοντά χρονικά με τη διάσπαση του αιθερικού δεσμού του φαινολικού δακτυλίου προς σχηματισμό της 2,4-διχλωροφαινόλης (Rule *et al*, 2005).



Εικόνα 2.1.4: Σχηματισμός και διάσπαση των **A:** 5,6-δίχλωρο-2-(2,4-δίχλωροφαινοξυ)φαινόλης, **B:** 4,5-δίχλωρο-2-(2,4-δίχλωροφαινοξυ)φαινόλης, **C:** 4,5,6- τριχλωρο-2-(2,4-δίχλωροφαινοξυ)φαινόλης, **D:** 2,4-δίχλωροφαινόλης, **E:** 2,4,6- τριχλωροφαινόλης για τιμές pH 4,7 και 10. (Πειραματικές συνθήκες: $[TCS]_0=5,05\mu M$, $[free\ chlorine]_0=14,2\mu M$, $[NaHCO_3]=2\mu M$) (Rule *et al*, 2005)

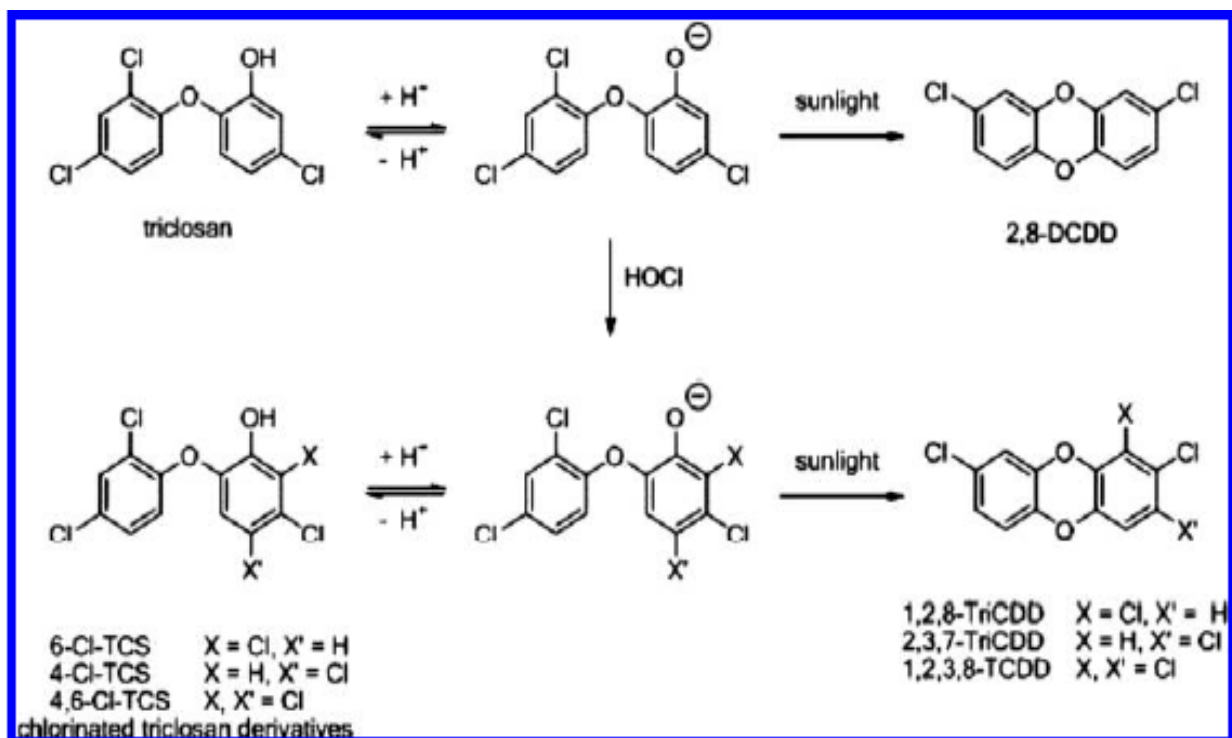
Μελέτες έχουν δείξει ότι οι χλωριωμένες φαινόλες μπορούν να λειτουργήσουν ως πρόδρομες ουσίες για το σχηματισμό χλωροφορμίου. Συγκεκριμένα για την περίπτωση της TCS διεξήχθησαν πειράματα όπου προστέθηκε περίσσεια χλωρίου σε 10πλάσια ποσότητα από τη στοιχειομετρική αναλογία και μετρήθηκε η παραγόμενη ποσότητα χλωροφορμίου για διαφορετικές τιμές pH. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το χλωροφόρμιο παράγεται ευκολότερα σε τιμές pH 5, 6, 8, και 9 δηλαδή γύρω από ουδέτερες τιμές pH και λίγο όξινες ή βασικές αποδεικνύοντας έτσι τη σημαντική επίδραση του pH. Αναφερόμενοι όμως στην ένωση TCS συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής με προηγούμενα

παρατηρήθηκε ότι στις ίδιες συνθήκες η TCS έδωσε μεγαλύτερες ποσότητες χλωροφορμίου σε σχέση με αντίστοιχες χλωριωμένες φαινόλες οδηγώντας στο συμπέρασμα πως η ομάδα στη θέση όρθο- $\text{OC}_6\text{H}_3\text{Cl}_2$ καθώς και οι μέτα- Cl λειτουργικές ομάδες της TCS ενεργοποιούνται έντονα για τον σχηματισμό χλωροφορμίου.

Συνοψίζοντας, βάσει όλων όσων προαναφέρθηκαν, σχηματισμός χλωροφορμίου από την αντίδραση της TCS με ελεύθερο χλώριο θα μπορούσε να προκύψει είτε από τη διάσπαση του φαινολικού δακτυλίου είτε από τη διάσπαση της 2,4-διχλωροφαινόλης. Για την εύρεση του κυρίαρχου μηχανισμού εξετάστηκε η παραγωγή χλωροφορμίου κατά την αντίδραση της 2,4-διχλωροφαινόλης με το ελεύθερο χλώριο σε συνθήκες παρόμοιες με εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν για την TCS. Διαπιστώθηκε ότι, η παραγόμενη ποσότητα είναι μια τάξη μεγέθους μικρότερη από τις ποσότητες χλωροφορμίου που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης της TCS με το χλώριο. Η διαπίστωση αυτή δηλώνει ότι η μείζων ποσότητα του παραγόμενου χλωροφορμίου προέρχεται από τη διάσπαση και οξείδωση του φαινολικού δακτυλίου και όχι από τις αντιδράσεις της παραγόμενης 2,4-διχλωροφαινόλης, μέσω της αιθερικής διάσπασης.

Λαμβάνοντας υπόψη πως όλα τα παραπάνω αποτελέσματα προέκυψαν από πειράματα στα οποία οι χρησιμοποιούμενες ποσότητες TCS ήταν της τάξης των mg/L (750 mg/L) και οι ποσότητες που έχουν παρατηρηθεί στα φυσικά νερά είναι της τάξης των ng/L θα μπορούσαμε να πούμε πως οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε τέτοιο περιβάλλον θα ήταν ήσσονος σημασίας. Δεν θα μπορούσε να ειπωθεί όμως το ίδιο για τις περιπτώσεις οικιακής κατανάλωσης όπου οι συγκεντρώσεις TCS είναι πολύ μεγαλύτερες σε αρκετά προϊόντα αλλά και σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων όπου συνήθως το χλώριο χρησιμοποιείται για την απολύμανση της τελικής εκροής. Πειράματα έδειξαν ότι η TCS απομακρύνεται τάχιστα μέσω της διαδικασίας της χλωρίωσης. Ωστόσο, όταν τα λύματα είναι χλωριωμένα, τα υψηλά επίπεδα αμμωνίας μπορούν να συντελέσουν αποτελεσματικά στο σχηματισμό ανόργανων και οργανικών χλωραμινών. Σε γενικές γραμμές, οι χλωραμίνες έχουν μικρότερη οξειδωτική δράση από το ελεύθερο χλώριο και αναμένεται να αντιδρούν με την TCS με πολύ βραδύτερο ρυθμό. Αυτή η χαμηλότερη δραστηριότητα των χλωραμινών θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί η TCS έχει ανιχνευθεί σε αρκετές μονάδες επεξεργασίας λυμάτων (Rule *et al*, 2005).

Όπως προαναφέρθηκε κατά την έκθεση της TCS σε χλώριο, όπως σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων ή κατά την απολύμανση πόσιμου νερού η TCS σχηματίζει κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης τα χλωριωμένα παράγωγά του 4,5-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη (4-Cl-TCS), 5,6-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη (6-Cl-TCS), και 4,5,6-τριχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη (4,6-Cl-TCS). Ένας άλλος βασικός μηχανισμός αποβολής της TCS από επιφανειακά νερά είναι και η φωτόλυση κατά την οποία έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να απομακρύνει πάνω από 80% της TCS. Ωστόσο, η φωτόλυση έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία ως παραγώγου της χλωριομένης διοξίνης, 2,8 –διχλωρο διβένζινο-*p*-διοξίνης (2,8-DCDD). Παράγωγα διοξινών όμως σχηματίζονται και από το συνδυασμό χλωρίωσης και φωτόλυσης της TCS. Συγκεκριμένα, η 4-Cl-TCS, 6-Cl-TCS, και 4,6-Cl-TCS αντιδρούν φωτοχημικά υπό την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας για να σχηματίσουν την 2,3,7-τριχλωρο διβένζινο-*p*-διοξίνη (2,3,7-TricDD), την 1,2,8- τριχλωρο διβένζινο-*p*-διοξίνη (2,3,7-TricDD) και την 1,2,3,8-τετραχλωροδιβενζο-*p*-διοξίνη (1,2,3,8 -TCDD) αντίστοιχα. Οι παραγόμενες από τα χλωριωμένα παράγωγα διοξίνες είναι δυνητικά μεγαλύτερης ανησυχίας από την 2,8-DCDD που σχηματίζεται άμεσα από την TCS, λόγω της αύξησης των υποδοχέων που προκαλούν δραστικότητα και τοξικότητα, με την μετάθεση του χλωρίου σε πλευρικές θέσεις (Buth *et al*, 2010).



Εικόνα 2.1.5 : Φωτοχημικοί μετασχηματισμοί σε συνδυασμό με χλωρίωση που οδηγούν σε πολυχλωριωμένες διβενζο- *p* – διοξίνες. (Buth *et al*, 2010)

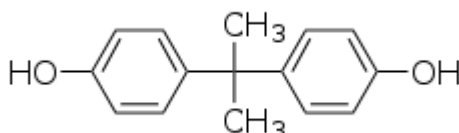
2.1.7. Απομάκρυνση της TCS με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Snyder *et al*, (2006) σε πειράματά τους αξιολόγησαν και την απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα δυο ειδών ενεργοποιημένης σκόνης και ενεργοποιημένων κόκκων. Όσον αφορά τον ενεργό άνθρακα με τη μορφή σκόνης, χρησιμοποιήθηκαν δυο εμπορικοί τύποι που ονομάζονται AC800 και WPM. Για την περίπτωση του ενεργού άνθρακα με τη μορφή σκόνης τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια δυο λίτρων τα οποία περιείχαν 1,5 λίτρα νερό βρύσης και τοποθετήθηκαν για ανάδευση σε εξαθέσιο jar tester. Ο χρόνος επαφής στο διάλυμα ήταν 4 ώρες και ακολούθησε 1 ώρα καθίζησης. Οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν ήταν 1,5 και 50 mg/L. Το υπερκείμενο υγρό συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε με φίλτρα Whatman GF/F για την απομάκρυνση υπολειμμάτων PAC. Στο διάλυμα προστέθηκαν ουσίες τελικής συγκέντρωσης 100 ng/L. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια καθαρή σχέση εξάρτησης από τη συγκέντρωση του άνθρακα και το χρόνο επαφής. Συγκεκριμένα η απομάκρυνση της TCS κατά τη χρήση PAC WPM 5 mg/L έφτασε το 89% της αρχικής συγκέντρωσης.

2.2. Bisphenol A (BPA)

2.2.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Η BPA είναι μια οργανική ένωση που διαθέτει δυο λειτουργικές φαινολικές ομάδες. Η ονομασία της κατά IUPAC είναι 4,4- διϋδροξυ-2,2 διφαινυλο προπάνιο και ο χημικός της τύπος είναι $C_{15}H_{16}O_2$.



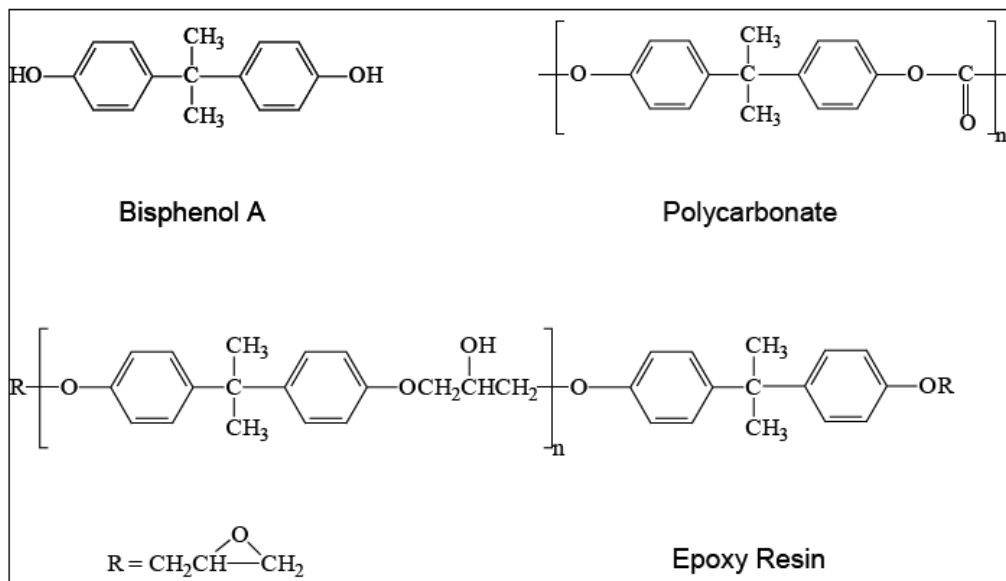
Εικόνα 2.2.1 : Χημική δομή της BPA (Fiege et al ,2002)

Το μοριακό της βάρος ισούται με 228,29 g/mol, η πυκνότητά της στους 25⁰C ισούται με 1,2 g/cm³ και το σημείο ζέσεως βρίσκεται στους 159⁰C περίπου (Fiege et al, 2002). Σε συνθήκες περιβάλλοντος βρίσκεται σε στερεή κατάσταση με λευκό ή ανοιχτό καφέ χρώμα με τη μορφή κόκκων, νιφάδων ή κρυστάλλων και η διαλυτότητά της στο νερό είναι ίση με 300 mg/L στους 25⁰C και τιμή pH περίπου στο 7. Έχει τιμή log K_{ow} ίση με 3,4 και pKa ίση με 9,9 , ενώ η σταθερά προσρόφησης της μετρήθηκε από 314 ως 1524 δείχνοντας ότι το χρώμα και τα ιζήματα είναι μέτριοι αποδέκτες της BPA που απελευθερώνεται στο έδαφος ή στα επιφανειακά ύδατα. Η πίεση ατμών στους 25⁰C ισούται με $4 \cdot 10^{-8}$ mm Hg και η σταθερά του νόμου του Henry με 10^{-10} atm·m³/mol γεγονός που υποδηλώνει ότι πρόκειται για μια οργανική ένωση με χαμηλή ικανότητα μεταβολής φάσεων σε συνθήκες περιβάλλοντος. Κατά την ανάμειξή της με το νερό υπόκειται σε βιοαποδόμηση, προσρόφηση σε αιωρούμενα στερεά και ιζήματα καθώς και φωτοδιάσπαση. Τέλος, έχει διαπιστωθεί ότι ατμοί της BPA στην ατμόσφαιρα υφίστανται φωτοοξείδωση (Staples et al, 1998).

2.2.2. Παραγωγή και χρήσεις

Η BPA είναι μια από τις πιο σημαντικές και εκτενώς παραγόμενες χημικές ουσίες στον κόσμο. Η παραγωγική ικανότητα παγκοσμίως ανερχόταν στο 1 εκατομμύριο τόνους το 1980 και πάνω από 2,2 εκατομμύρια τόνους το 2009. Το 2003, η κατανάλωση στις ΗΠΑ ήταν 856.000 τόνοι, το 72% των οποίων χρησιμοποιούνταν στην παραγωγή πολυκαρβονυλικών πλαστικών και το 21% στην παραγωγή εποξικών ρητίνων. Λιγότερο από το 5% της

παραγόμενης BPA χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές που αφορούσαν την παραγωγή τροφίμων (Gehring *et al*, 2002).



Εικόνα 2.2.2 : Χημική δομή των BPA, πολυκαρβονικών και των εποξειδικών ρητινών (Gehring *et al*, 2002).

Η παραγωγή της BPA σε βιομηχανική κλίμακα πραγματοποιείται με δυο κυρίως τρόπους. Ο πρώτος είναι μέσω διαδικασίας συμπύκνωσης της φαινόλης με ακετόνη σε όξινες συνθήκες και υψηλές θερμοκρασίες παρουσία καταλυτών ή ουσιών με καταλυτική δράση. Η παραγόμενη ακατέργαστη BPA καθαρίζεται μέσω διαδικασιών που βασίζονται στις μεθόδους απόσταξης. Το λιωμένο προϊόν διηθείται και ξηραίνεται. Παρόμοιος είναι και ο δεύτερος τρόπος παραγωγής, αλλά χρησιμοποιεί διαφορετικά είδη καταλυτών και τεχνολογία καθαρισμού που οδηγεί στην παραγωγή λιγότερων αποβλήτων. Η αποξηραμένη BPA βρίσκεται με τη μορφή κόκκων, νιφάδων ή κρυστάλλων. Τα απόβλητα που δημιουργούνται από την όλη διαδικασία έγκεινται κυρίως σε απόβλητα έκπλυσης και άλλα υγρά απόβλητα. Επίσης, BPA μπορεί να μεταφερθεί ακούσια κυρίως μέσω διάχυσης της εκπεμπόμενης σκόνης από κλειστά συστήματα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, αποθήκευσης και μεταφοράς. Το 1993 περίπου 109 τόνοι, ή αλλιώς το 0,017% της συνολικής παραγωγής των 640.000 τόνων της παραγόμενης BPA, ανιχνεύθηκαν ελεύθερα στον αέρα, στα επιφανειακά νερά και σε μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων με μια επιπλέον ποσότητα ίση με το 0,085% να ανακυκλώνεται, να οδηγείται προς υγειονομική ταφή ή να αποτεφρώνεται (Staples *et al*, 1998).

Το μεγαλύτερο μέρος της παραγόμενης BPA χρησιμοποιείται από τους κατασκευαστές ως ένα ενδιάμεσο προϊόν για την παραγωγή πολυκαρβονυλικών και εποξικών ρητινών, επιβραδυντικών φλόγας και άλλων ειδικών προϊόντων. Τα τελικά προϊόντα για την κατασκευή των οποίων χρησιμοποιείται η BPA είναι κόλλες, προστατευτικά επιχρίσματα, χρώματα με τη μορφή σκόνης, προστατευτικά τζαμιών παραθύρων, οικοδομικά υλικά, ψηφιακούς δίσκους, φακούς επαφής, σε χαρτί επιστρώσεων ή σε θερμικό, ως ενισχυτικό σε βαφές και για την ενθυσάλκωση ηλεκτρικών και ηλεκτρονικών εξαρτημάτων. Στα απόβλητα που δημιουργούνται από τη χρήση της BPA για την παραγωγή άλλων ενώσεων ή τελικών προϊόντων περιλαμβάνονται οι διαφυγές BPA κατά την αποθήκευση, εκφόρτωση, θέρμανση, καθώς και οι πετρελαιοκηλίδες από θαλάσσια ατυχήματα (Staples *et al*, 1998).

Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις της BPA σε λύματα, από μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Stasinakis *et al* (2008), σε 6 εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στον ελληνικό χώρο στις οποίες τα λύματα υφίστανται δευτεροβάθμια επεξεργασία διαπιστώθηκαν οι εξής παρατηρήσεις. Από τα 30 δείγματα εισερχόμενων και εξερχόμενων λυμάτων που συλλέχτηκαν, στα 23 δείγματα μόνο παρατηρήθηκε εμφάνιση της BPA με τη μέση συγκέντρωση στα εισερχόμενα να ανέρχεται στα 0,73 mg/L και τιμές που δεν ξεπερνούσαν τα 1,25 mg/L και μέση τιμή στα εξερχόμενα 0,15 mg/L και μέγιστη τιμή 1,1 mg/L. Για την περίπτωση του συστήματος ενεργού ιλύος η μέση συγκέντρωση ήταν περίπου 0,53 mg/L και οι παρατηρούμενες τιμές δεν ξεπέρασαν το 1,75 mg/L επαληθεύοντας έτσι τιμές που έχουν αναφερθεί από άλλα βιβλιογραφικά δεδομένα.

2.2.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

Υπάρχουν αρκετές πιθανές οδοί εισόδου της BPA στο περιβάλλον. Στις εγκαταστάσεις παραγωγής και επεξεργασίας μικρές ποσότητες απελευθερώνονται απευθείας στα επιφανειακά ύδατα και την ατμόσφαιρα μέσω επιτρεπόμενων απορρίψεων. Λόγω της δυνητικής απελευθέρωσης της BPA στο περιβάλλον εξετάστηκαν τόσο η τελική της κατάληξη όσο και οι επιπτώσεις που προκαλεί. Σε γενικές γραμμές μελέτες έδειξαν πως η BPA μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή των υδρόβιων οργανισμών με τα ψάρια να αποτελούν το πιο ευαίσθητο είδος. Αποδεικτικά στοιχεία των ενδοκρινικών διαταραχών που σχετίζονται με τα ψάρια, τα υδρόβια ασπόνδυλα, τα αμφίβια και τα

ερπετά έχουν αναφερθεί σε επίπεδα περιβαλλοντικής έκθεσης χαμηλότερα από εκείνα στα οποία εμφανίζεται οξεία τοξικότητα. Έχει αναφερθεί ένα εύρος τιμών στο οποίο ανιχνεύθηκαν οι περισσότερες ενδοκρινικές επιδράσεις, το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 1μg/L και 1mg/L. Παρά το μικρό χρόνο ημιζωής στο έδαφος, η πανταχού παρουσία της την καθιστά ένα σημαντικό ρύπο (Oehlmann *et al*, 2009).

Σε μελέτη των Staples *et al* (1998), η μέτρηση και εκτίμηση των περιβαλλοντικών συγκεντρώσεων έκθεσης σε BPA συγκρίθηκε απευθείας με τα διαθέσιμα στοιχεία τοξικότητας. Οι εντοπιζόμενες και εκτιμώμενες συγκεντρώσεις στα επιφανειακά ύδατα ήταν σε χαμηλά επίπεδα με τις περισσότερες τιμές να μην είναι ανιχνεύσιμες. Σε πρόσφατη έρευνα εντοπίστηκαν τιμές στον ποταμό Ρήνο της τάξης των 0,119 μg/L. Σε χαμηλής ροής ρεύματα των ΗΠΑ ανιχνεύθηκαν συγκεντρώσεις από 1,1E-5 μέχρι 14 μg/L με τις περισσότερες τιμές ωστόσο να είναι κάτω του 0,1 μg/L. Διαθέσιμα στοιχεία για πρόκληση οξείας και χρόνιας τοξικότητας υπάρχουν για τα φύκη και τα ασπόνδυλα του γλυκού νερού, αλλά όχι για τα θαλάσσια είδη. Από τα στοιχεία αυτά προέκυψε μικρή ένδειξη για χροניות. Επίσης από τη σύγκριση των εκτιμώμενων τιμών για χρόνια τοξικότητα με τις μετρούμενες και τις προβλεπόμενες συγκεντρώσεις προέκυψαν διαφορές περίπου 1 έως 8 τάξεις μεγέθους, μεταξύ των δεδομένων έκθεσης και των εκτιμώμενων τιμών για πρόκληση χρόνιας τοξικότητας.

Σε μελέτη τους οι Wade *et al* (2006), προσπάθησαν να προσδιορίσουν τα αποτελέσματα από την έκθεση σε μικρές ποσότητες BPA. Επιλέγονται μικρές δόσεις BPA οι οποίες να προκαλούν μεταβολές στην οιστρογονική απόκριση και όχι να επιφέρουν τοξικότητα. Οι στόχοι ήταν ιστοί και κύτταρα με οιστρογονική απόκριση και εξετάστηκε αν η BPA μπορεί να αυξήσει, αναστείλει, ή να τροποποιήσει την ενδογενή απόκριση ανάλογα με τη δράση της χημικής ουσίας. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής αλλά και άλλων συναφών μελετών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.2.1: Επιπτώσεις χαμηλών δόσεων σε οργανισμούς. (AR: Υποδοχείς ανδρογόνων, conA: συνένζυμο A, INF: ιντερφερόνη, PgR: υποδοχείς προγεστερόνης, DHT: διύδρο-τεστοστερόνη) (Wade et al, 2006)

Οργανισμός	Γένος	Τελικά σημεία	Μέσο έκθεσης	Δόσεις (ng/L)
Αρουραίος	Θ	Γονιδιακή έκφραση της προλακτίνης κατά την υπόφυση σε καρκινικά κύτταρα	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	0,23
Ποντικός	A	Βάρος προστάτη	Όργανο ως μέσο καλλιέργειας	0,05
Ποντικός	A/Θ	Ρυθμός ανάπτυξης εμβρύου	Ωοκύτταρα ως μέσο καλλιέργειας	0,684
Ποντικός	A/Θ	Εμβρυική έκθεση/ μεταγεννητική ανάπτυξη	Ωοκύτταρα ως μέσο καλλιέργειας	0,23
Αρουραίος	Θ	Κυτταρική έκκριση της προλακτίνης	Κυτταρικό μέσο	230
		Πολλαπλασιασμός κυττάρων		EC ₅₀ =2,3
Άνθρωπος	Θ	Πρόσληψη των αγγειοσυσπαστικών πυρήνων από τους υποδοχείς των ορμονών του θυρεοειδούς	Όργανο ως μέσο καλλιέργειας	230
Ποντικός	Θ	Ενεργοποίηση του CREB σε παγκρεατικά κύτταρα	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	0,23
Αρουραίος	Θ	Γλουταμινικό που προκαλείται από νευρωνική βλάβη	Όργανο ως μέσο καλλιέργειας	230
		Έκφραση των NR1/NMDA-R		0,23
		Πυκνότητα σπονδυλικής στήλης		
		Βρυώδης ανάπτυξη ινών		
Ποντικός	A	Γονιδιακή έκφραση των κυττάρων Nur77	Όργανο ως μέσο καλλιέργειας	230
Άνθρωπος	A	Πολλαπλασιασμός των κυττάρων LNCaP	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	2,3
		Ενεργοποίηση της AR		230
Άνθρωπος	Κύτταρα T47D και καρκινικά κύτταρα του μαστού	Ρύθμιση των ERα και ERβ στα T47D κύτταρα	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	230
		Ρύθμιση των ERα και ERβ στα BT20 κύτταρα		
		Διαμόρφωση της έκφρασης της PgR στα T47D κύτταρα		

Άνθρωπος	Γυναικεία κύτταρα HeLa επιμολυσμένα με AR ποντικών	Παρεμπόδιση δέσμευσης της 5α-DHT σε AR ποντικών	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	11,4
Αρουραίος	Θ	Αναστολή της αύξησης της caspase-3	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	2,3
Ποντίκια	Θ	Αναστολή του συνενζύμου A άρα και της επαγόμενης έκκρισης της IFN από μονοκύτταρα του σπλήνα	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	11,4
Αρουραίος	A	Μείωση της σύνθεσης τεστοστερόνης από τα κύτταρα Leydig	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	230
		Παραγωγή οιστραδιόλης και της αρωματικής της επίδρασης		0,0023
Στρείδια		Αποσταθεροποίηση της λυσοσωμικής μεμβράνης	Ένεση	5,7
Άνθρωπος	Γυναικεία καρκινικά κύτταρα του μαστού MC-7, MDA-MB-231 και SKBR-3	Ενδοκυτταρική αύξηση των Ca^{2+} σε MC-7 κύτταρα Ενδοκυτταρική αύξηση των Ca^{2+} σε MDA-MB-231 και SKBR-3 κύτταρα	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	23
Άνθρωπος	Ανδρικά καρκινικά LNCaP κύτταρα του προστάτη	Ενεργοποίηση της AR Ενισχυμένη DHT- τόνωση μεταγραφής Επαγωγή του ειδικού αντιγόνου του προστάτη	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	2300
Αρουραίος	Υπόφυση των καρκινικών κυττάρων	Ταχεία εισροή Ca^{2+} Απελευθέρωση προλακτίνης	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	0,00023
Βοοειδή	Πρωτοβάθμια επινεφρίδια των κυττάρων του μυελού	Σύνθεση κατεχολαμίνης Δραστηκότητα της υδροξυλάσης της τυροσίνης	Υπόστρωμα κυτταροκαλλιέργειας	2,3

2.2.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με στόχο τον προσδιορισμό της τοξικότητας στους υδρόβιους μικροοργανισμούς χρησιμοποιώντας διαφορετικά είδη τόσο σε αλμυρό όσο και σε γλυκό νερό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.2.2 : Τοξικότητα BPA, όπου το F αναφέρεται σε διάλυμα γλυκού νερού και το M σε αλμυρό νερό (Staples et al, 1998)

ΕΙΔΟΣ	F/M	ΤΥΠΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ	BPA (µg/L)
Μικροοργανισμοί				
<i>Pseudomonas putida</i>	F	18hr – EC ₁₀	10% λιγότερη ανάπτυξη	>320.000
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	F	IC ₅₀	παρεμπόδιση ανάπτυξης	54.500
Πράσινα άλγη				
<i>Selenastrum capricornutum</i>	F	96hr- EC ₅₀	Κυτταρικός αριθμός	2700
<i>Selenastrum capricornutum</i>	F	96hr- EC ₅₀	όγκος κυττάρων	3100
<i>Selenastrum capricornutum</i>	F	96hr- chronic NOEC	Αριθμός και όγκος κυττάρων	1170
<i>Selenastrum capricornutum</i>	F	96hr- EC ₅₀	Κυτταρική ανάπτυξη	2500
<i>Skeletonema costatum</i>	M	96hr- EC ₅₀	Κυτταρικός αριθμός	1000
<i>Skeletonema costatum</i>	M	96hr- EC ₅₀	Χλωροφύλλη α	1800
Ασπόνδυλα				
<i>Water flea daphnia magna</i>	F	48hr- EC ₅₀	Ακίνητοποίηση	10.000
<i>Water flea daphnia magna</i>	F	48hr- EC ₅₀	Ακίνητοποίηση	3900
<i>Water flea daphnia magna</i>	F	48hr- EC ₅₀	Ακίνητοποίηση	20.000
<i>Water flea daphnia magna</i>	F	21 days chronic flow – through NOEC	Θνησιμότητα και αναπαραγωγή	>3146
<i>Mysid shrimp Mysidopsis bahia</i>	M	96hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	1100
Ψάρια				
<i>Fathead minnow Pimephales promelas</i>	F	96hr- LC ₅₀ static	Θνησιμότητα	4700
<i>Fathead minnow Pimephales promelas</i>	F	96hr- LC ₅₀ flow through	Θνησιμότητα	4600

<i>Rainbow trout</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	F	48hr- LC ₀ - LC ₁₀₀	Θνησιμότητα	5000 – 7000
<i>Rainbow trout</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	F	96hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	3000 – 3500
<i>Rainbow trout</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	F	96hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	4000
<i>Lake Emerald Shiner</i>	F	72hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	4000 – 6000
<i>Medaka Oryzias latipes</i>	F	48hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	15.000
<i>Atlantic silverside</i> <i>Menidia menidia</i>	M	96hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	9400
<i>Sheepshead minnow</i> <i>Cyprinodon variegatus</i>	M	96hr- LC ₅₀	Θνησιμότητα	7500

Επίσης οι Gun *et al* (2002), σε προσπάθειά τους να προσδιορίσουν την τοξικότητα της BPA στο βακτήριο *E.coli* χρησιμοποίησαν ανασυνδυασμένα βιοφωτοβόλα στελέχη στα οποία είχαν προστεθεί η περιοχή του υποκινητή *recA* προερχόμενη από το βακτήριο *vibrio fischeri* με σκοπό να ανιχνευθεί η τοξικότητα που προκαλεί η BPA στα κύτταρα. Στα στελέχη αυτά παρατηρήθηκε μια ιδιαίτερη ευαισθησία στην καταστροφή του DNA εξαρτώμενη από την δόση της BPA που χρησιμοποιούνταν. Συγκεκριμένα, αναλογικά η παρεμπόδιση του ρυθμού ανάπτυξης για συγκεντρώσεις 10 ppb και 10 ppm ήταν 1/0,38.

Παράγοντες βιοσυγκέντρωσης για την BPA μετρήθηκαν και έχουν κυμανθεί από 20 ως 68 σε πείραμα όπου χρησιμοποιήθηκαν 15 µg/L. Σε μελέτη του ο Kawasaki, ανέφερε τιμές μικρότερες από 100. Επίσης η εκτιμώμενη τιμή του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης υπολογίστηκε από τον Howard μέσω της τιμής της διαλυτότητας στο νερό ή της σταθεράς K_{ow} , χρησιμοποιώντας ωστόσο τεχνικές που δε λαμβάνουν υπόψη τις μεταβολικές διαδικασίες. Η εκτιμώμενη τιμή υπολογίστηκε από 42 έως 196. Η Υπηρεσία προστασίας περιβάλλοντος των ΗΠΑ χαρακτήρισε την BPA ως χημική ουσία μη βιοσυσσωρεύσιμη καθώς ο παράγοντας που μετρήθηκε είναι μικρότερος από 1000, το οποίο είναι το ανησυχητικό όριο για την πρόκληση βιοσυσσώρευσης / βιομεγέθυνσης. Επίσης όπως πρότεινε η Gillette, ενώσεις με παράγοντα μικρότερο από 100, ταξινομούνται ως έχουσες χαμηλό δυναμικό για βιοσυγκέντρωση. Λαμβάνοντας υπόψη τις σταθερές αποσύνδεσης των 9,6 για τιμή pH 8 - που βρίσκεται στο γλυκό νερό ή κατά περίπτωση στο θαλασσινό νερό- το αναμενόμενο δυναμικό βιοσυγκέντρωσης της BPA θα ήταν μικρότερο από το προβλεπόμενο υπό όξινες συνθήκες pH (Staples *et al*, 1998).

2.2.5. Βιοαποδόμηση

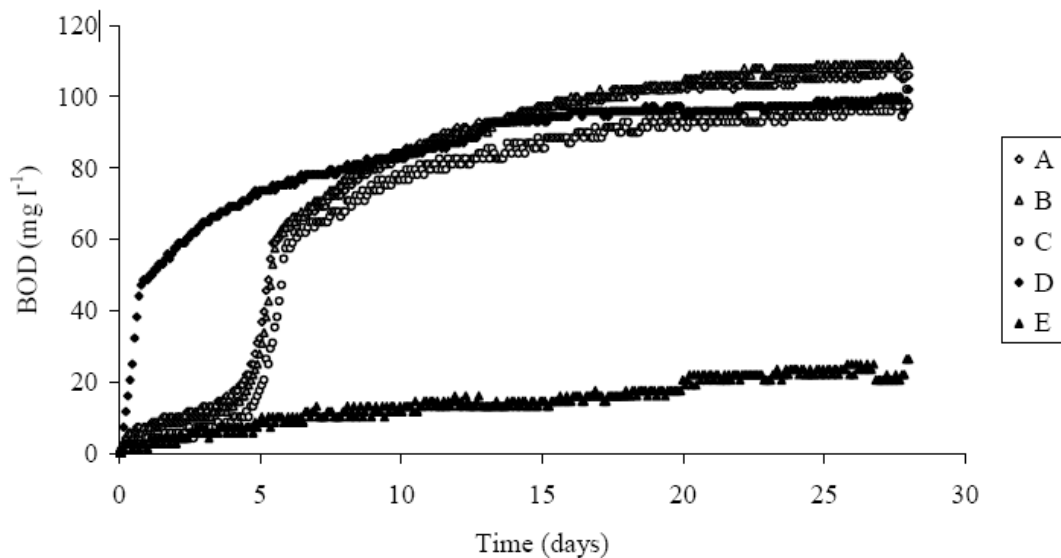
Από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η BPA βιοδιασπάται εύκολα σε βιολογικά συστήματα επεξεργασίας λυμάτων. Συγκεκριμένα οι Turner και Watkinson πραγματοποίησαν πειράματα διάρκειας 30 ημερών σε ημι-συνεχές σύστημα ενεργού ιλύος. Κατά τη δοκιμασία αυτή ακολουθήθηκε μια διαδικασία 'εισαγωγής- εξαγωγής' και μετρήθηκε η αερόβια αποδόμηση της BPA με τις τιμές να φτάνουν το 87 με 95% και την BPA να χαρακτηριστεί από τους μελετητές ως «εγγενώς» βιοδιασπώμενη (Turner and Watkinson, 1986).

Οι Matsui *et al* (1975), απέδειξαν ότι η BPA αποσυντίθεται εύκολα σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στην Ιαπωνία, αφού πρώτα γίνει 'εγκλιματισμός' του συστήματος στην BPA. Τα πειράματά τους διεξήχθησαν σε μονάδες επεξεργασίας υγρών βιομηχανικών αποβλήτων και προέκυψε 72% απομάκρυνση του COD και 57% απομάκρυνση BOD σε διάρκεια μιας ημέρας. Σε παρόμοιο πείραμα οι Furum *et al* (1990), απέδειξαν ότι με την πάροδο 30 ημερών απομακρύνθηκε το 99% της BPA και το 87,5% του COD με τους μικροβιακούς πληθυσμούς του συστήματος να έχουν εγκλιματιστεί πρώτα στην BPA από τη 14^η ημέρα. Γενικότερα σε συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων έχει αποδειχθεί ότι η BPA εμφανίζει υψηλά επίπεδα βιοαποδόμησης της τάξης του 87% και πάνω, εφόσον έχει προηγηθεί εγκλιματισμός της βιομάζας στην BPA.

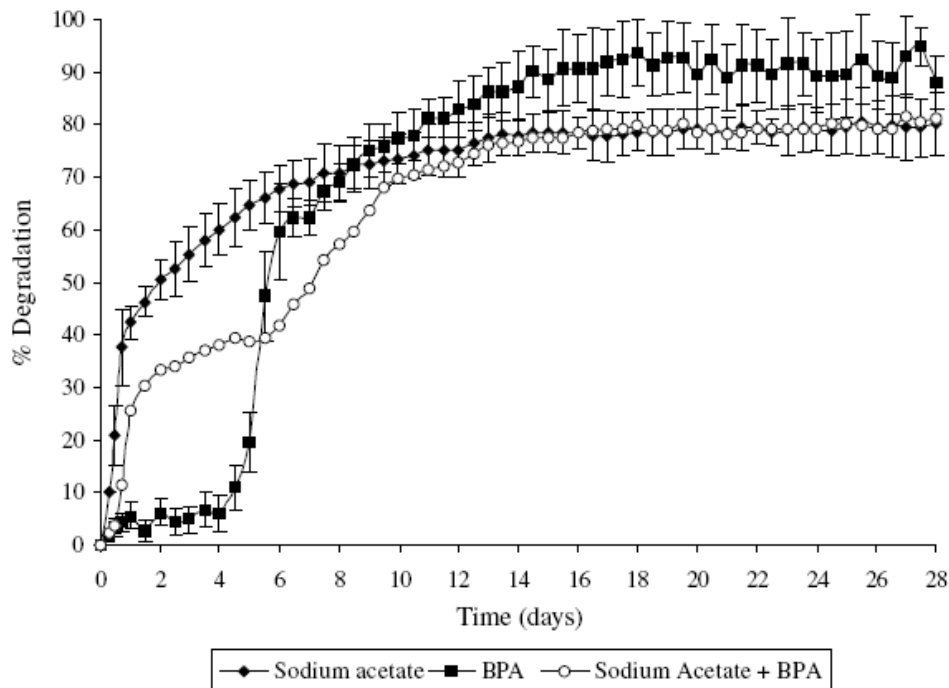
Επίσης αρκετοί ερευνητές ασχολήθηκαν με την μελέτη του τρόπου βιοαποδόμησης της BPA. Πιο συγκεκριμένα οι Lobos και Spivak χρησιμοποίησαν ένα συγκεκριμένο στέλεχος των Gram- αρνητικών βακτηρίων που ονομάζεται MV-1 και απομονώθηκε από εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων προκειμένου να προσδιορίσουν τα κύρια και δευτερεύοντα μονοπάτια βιολογικής αποδόμησης της BPA. Βρέθηκε πως η κύρια οδός έγκειται στην παραγωγή δυο μεταβολιτών της 4- ύδροξυ -ακετο φαινόνης και του 4-ύδροξυ βενζοϊκού οξέος. Οι ενώσεις αυτές αποδομούνται ταχέως σε CO₂ και νερό ή ενσωματώνονται στα βακτηριακά κύτταρα. Η δευτερεύουσα οδός έγκειται και αυτή στην παραγωγή δυο κύριων μεταβολιτών της 2,2-δι (4-υδροξυφαινυλο) 1- προπανόλης και έπειτα την μετατροπή της σε 2,3-δισ (4- υδροξυφαινυλο) 1,2- προπανοδιόλη (Lobos *et al*, 1992 / Spivak *et al*, 1994). Επιπλέον οι Lobos *et al* υπολόγισαν ότι το 60% του άνθρακα χρησιμοποιήθηκε για την

παραγωγή CO₂, το 20% διατέθηκε για την ανάπτυξη των βακτηριακών κυττάρων και το υπόλοιπο 20% σε διάφορες διαλυτές οργανικές ενώσεις (Lobos *et al*, 1992).

Οι Stasinakis *et al* (2006, 2008) σε πείραμά τους μελέτησαν τη βιοαποδόμηση και το χρόνο ημιζωής της BPA χρησιμοποιώντας την OECD 301F μέθοδο. Χρησιμοποιώντας κινητική πρώτης τάξης για να περιγραφεί η βιοαποδόμηση, ο χρόνος ημιζωής υπολογίστηκε σε $1,3 \pm 0,1$ ημέρες. Για να διερευνηθεί η βιοαποδόμηση της BPA χρησιμοποιήθηκαν τρεις φιάλες που περιείχαν την υπό εξέταση ένωση, μια φιάλη που περιείχε οξικό νάτριο γνωστής συγκέντρωσης, και μια φιάλη στην οποία είχε προστεθεί βιομάζα ώστε να ελεγχθεί η ενδογενής αναπνοή. Το οξικό νάτριο βιοδιασπάστηκε εντελώς κατά τη διάρκεια του πειράματος (28 ημέρες) και η BPA μετά από αρχική φάση υστέρησης περίπου 4,5 ημερών βιοδιασπάστηκε σε ποσοστό $87,8 \pm 6,9\%$. Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό υποβάθμισής της ανήλθε στο 10% με την πάροδο 4,5 ημερών και υπερέβη το 60% μετά από 6,3 ημέρες. Τα αποτελέσματα αυτά ταυτίζονται με τον αυστηρό 'κανόνα' περί άμεσης βιοαποδόμησης της BPA τα οποία την θέλουν να μην είναι ανθεκτική σε περιβαλλοντικές συνθήκες.



Εικόνα 2.2.3: Αερόβια διάσπαση της BPA με χρήση της μεθόδου OECD 301F. Οι φιάλες A,B,C περιείχαν BPA, η φιάλη D ήταν το δείγμα ελέγχου και η φιάλη E ήταν το control δείγμα (Stasinakis *et al*, 2006)

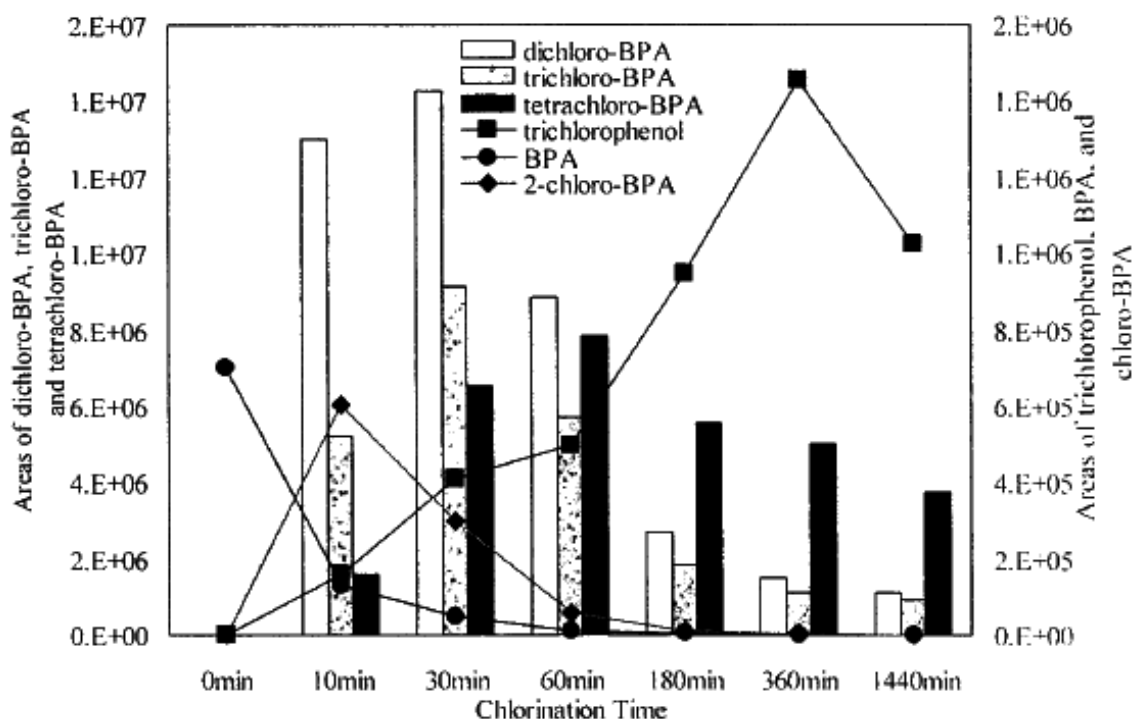


Εικόνα 2.2.4: Αερόβια βιοαποδόμηση της BPA χρησιμοποιώντας τη μέθοδο OECD 301F. (Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις με BPA, οχτώ με τριυδρικό οξικό νάτριο ως δείγματα ελέγχου και μια με BPA και τριυδρικό οξικό νάτριο ως δείγμα ελέγχου της τοξικότητας) (Stasinakis et al, 2008)

2.2.6. Επίδραση της χλωρίωσης στην BPA

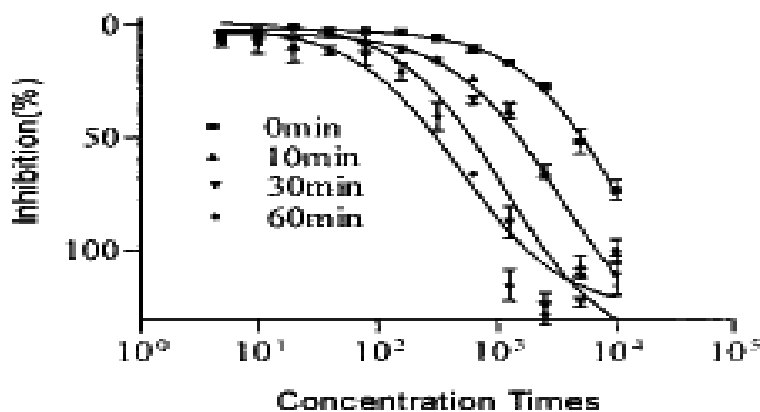
Για να εκτιμηθεί η οιστρογονική δραστηριότητα της BPA από τους Ying Hu *et al* κατά τη χλωρίωση σε υδατικό μέσο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις όπου χρησιμοποιήθηκαν 500 µg/L BPA και 1,46 mg/L υποχλωριώδους νατρίου (pH 7,5) στους 25 °C. 13 προϊόντα εμφανίστηκαν στο χλωριωμένο διάλυμα εκ των οποίων η 4-χλωρο-BPA, η 2,6'-διχλωρο-BPA, η 2,6-διχλωρο-BPA, η 2,2',6'-τριχλωρο-BPA, η 2,2',6,6'-τετράχλωρο-BPA, η τριχλωροφαινόλη, η 4-ισοπρόπυλο-2-υδροξυ-φαινόλη και έξι είδη πολυχλωριωμένων φαινοξυφαινολών (PCPPs). Για το σχηματισμό των ενώσεων αυτών προτάθηκαν τρεις κύριοι μηχανισμοί: (1) αντιδράσεις υποκατάστασης χλωρίου στον αρωματικό δακτύλιο ακολουθούμενες από αφυδάτωση ώστε να διαμορφωθεί η τελική χλωρο - υποκατεστημένη BPA, (2) αντιδράσεις υποκατάστασης χλωρίου ακολουθούμενες από διάσπαση της α-C της θετικά φορτισμένης ισοπροπυλικής ρίζας και της β' - C αρνητικά φορτισμένης βενζολικής, προς σχηματισμό της τριχλωροφαινόλης και της 4-ισοπρόπυλο- 2-υδροξυ φαινόλης και (3) το σχηματισμό των PCPPs. Αναλυτικότερα στο πείραμά τους χρησιμοποίησαν διάλυμα στο

οποίο προστέθηκαν 3,5mg BPA καθαρότητας 99% σε 7 L υπερκάθαρου νερού με το pH και τη θερμοκρασία να διατηρούνται σταθερά στο 7,5 και στους 25 °C αντίστοιχα. Δείγμα ενός λίτρου λήφθηκε πριν τη διαδικασία της χλωρίωσης ώστε να προσδιοριστεί η οιστρογονική δραστικότητα πριν την προσθήκη χλωρίου. Έπειτα προστέθηκαν 1,46 mg/L HOCl και λήφθηκαν δείγματα μετά από 10, 30, 60, 180, 360 και 1440 min και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με LC-MS και NMR. Από το πρώτο δείγμα των 10min φάνηκε πως η BPA αντέδρασε άμεσα με το υποχλωριώδες οξύ και τα χλωριωμένα προϊόντα που εμφανίστηκαν ήταν η 2,6'-διχλωρο-BPA, η 2,6-διχλωρο-BPA, η 2,2',6'-τρίχλωρο-BPA και η 2,2',6,6'-τετράχλωρο-BPA. Επίσης ανιχνεύθηκε και ποσότητα τριχλωροφαινόλης η οποία ωστόσο οφείλεται σε μετασχηματισμό κάποιου από τα προηγούμενα 4 προϊόντα. Αν και η εμφάνιση των PCPPs έχει αναφερθεί κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης φαινολών ή αλκυλοφαινολών στο νερό, η αφθονία είναι χαμηλότερη από ότι σε αυτό το πείραμα και ο σχηματισμός τους οφείλεται στην αντίδραση μεταξύ της τριχλωροφαινόλης με τη δίχλωρο-BPA και την τρίχλωρο-BPA. Από την ανάλυση του δείγματος μετά από 60min χλωρίωσης δεν ανιχνεύθηκε καθόλου μονόχλωρο- BPA ενώ οι ποσότητες των δίχλωρο-, τρίχλωρο- και τετράχλωρο- BPA μειώθηκαν. Επίσης στο χρωματογράφημα ανιχνεύθηκαν νέες ενώσεις οι οποίες αντιστοιχούσαν στα PCPPs και οι δύο βασικότερες προέρχονταν από την αντίδραση μεταξύ τρίχλωρο-BPA και τριχλωροφαινόλης και μεταξύ δυο μορίων τριχλωροφαινόλης. Επίσης διαπιστώθηκε πως μέσα στα πρώτα 10 λεπτά απομακρύνθηκε το 80% περίπου της BPA και ενώ ο σχηματισμός των παραγόμενων προϊόντων ήταν συνάρτηση του χρόνου επαφής της χλωρίωσης για την περίπτωση της τριχλωροφαινόλης φάνηκε ότι σε χρόνους άνω των 360 min αποτελούσε το κυρίαρχο προϊόν της διάσπασης. Να επισημανθεί ακόμη πως το ποσό της τριχλωροφαινόλης αυξήθηκε με το χρόνο αντίδρασης ακόμη και όταν η BPA είχε φτάσει σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο σχηματισμός της οφείλεται και σε αντιδράσεις μεταξύ των χλωριωμένων παραγώγων με το υποχλωριώδες νάτριο (Εικόνα 2.2.5).



Εικόνα 2.2.5 : Μεταβολή της αφθονίας της BPA και των προϊόντων της με το χρόνο χλωρίωσης (Ying Hu et al, 2002)

Όσον αφορά την οιστρογονική δραστηριότητα των παραγώγων της χλωρίωσης της BPA δεν υπάρχουν εκτεταμένες αναφορές, παρά μόνο για την τριχλωροφαινόλη της οποίας η δραστηριότητα ήταν πολύ μειωμένη, περίπου 1/1000 ως προς αυτήν της BPA όπως αποδείχθηκε από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε στρείδια. Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται η μεταβολή της χημικής συγγένειας των οιστρογονικών υποδοχέων συναρτήσει του χρόνου χλωρίωσης. Παρατηρούμε ότι η συγγένεια αυξάνεται με την αύξηση του χρόνου χλωρίωσης (Ying Hu et al, 2002).

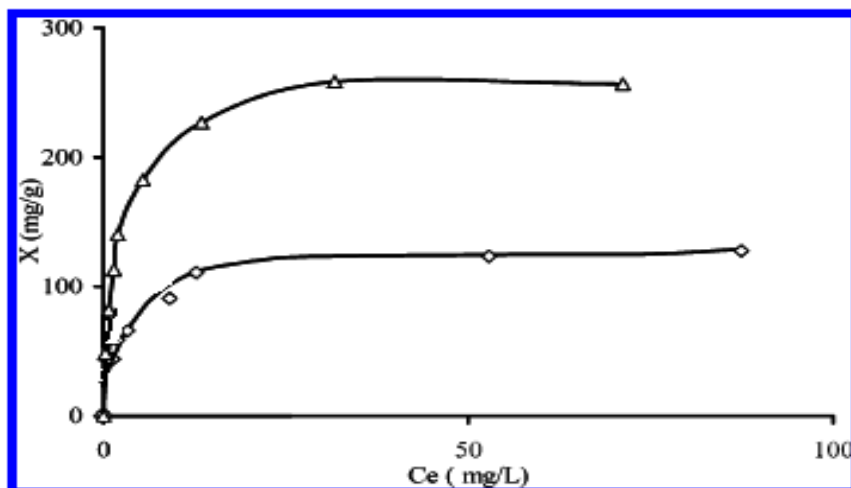


Εικόνα 2.2.6 : Συγγένεια οιστρογονικών υποδοχέων της χλωριωμένης BPA κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης (Ying Hu et al, 2002)

Σε άλλη μελέτη, οι Korshin *et al* (2006), διαπίστωσαν πως κατά τη συμβατική μέθοδο χλωρίωσης η BPA υπόκειται σε μια ραγδαία υποβάθμιση σχηματίζοντας μια σειρά χαμηλού μοριακού βάρους χλωριωμένα οργανικά είδη. Οι κυρίαρχες ενώσεις που εντοπίστηκαν ήταν χλωροξικά οξέα (Haas) αλλά το 80% των συνολικών οργανικών αλογονούχων (TOX) αποτελούνταν από μη ταυτοποιήμενες ενώσεις. Κατά την πραγματοποίηση μετρήσεων για τον υπολογισμό των TOX φάνηκε πως με τη χλωρίωση έχουμε ενσωμάτωση του χλωρίου στο οργανικό υπόστρωμα και μοριακή διάσπαση της BPA σε μικρότερα θραύσματα. Έτσι η χλωρίωση της BPA συνοδεύεται από το σχηματισμό μόνο- έως τετρα- χλωριομένων παραγώγων, τριχλωροφαινόλης, ισοπροπυλική υδροξυφαινόλης και πολυχλωριομένων φαινοξυ-φαινολών που πιθανώς σχετίζονται με την αυξημένη ενδοκρινική δραστηριότητα της χλωριωμένης BPA.

2.2.7. Απομάκρυνση της BPA με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Bautista *et al* (2005), μελέτησαν την επίδραση δύο διαφορετικών τύπων άνθρακα του εμπορίου Sorbo- Norit, 3-A-7472 (δείγμα S) και Merck, K27350518015 (δείγμα M), στην προσρόφηση και απομάκρυνση της BPA. Οι ισόθερμες ρόφησης της BPA προέκυψαν από την προσθήκη 0,1 g άνθρακα (διαμέτρου 0,5-0,8) σε δοχεία που περιείχαν διαλύματα BPA 100cm³ συγκέντρωσης 50-350 mg/L. Τα δείγματα άνθρακα οδηγήθηκαν για ξήρανση στους 110⁰C ενώ τα δοχεία που περιείχαν διαλύματα άνθρακα και BPA διατηρούνταν στους 25⁰C και σε τιμές pH 6,5-7. Μετά από 7 ημέρες μετρήθηκε η συγκέντρωση της BPA σε κάθε δοχείο. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται η ισόθερμη ρόφησης κατά Langmuir για τους δύο τύπους άνθρακα.



Εικόνα 2.2.7 : Ισόθερμες ρόφησης κατά Langmuir για την BPA για τους δυο τύπους άνθρακα S (◇) και M (Δ)(Bautista et al, 2005)

Και οι δύο τύποι άνθρακα είχαν σχετικά υψηλή ικανότητα προσρόφησης 129,6 mg/g για το δείγμα S και 263,1 mg/g για το δείγμα M, γεγονός που οφείλεται τόσο στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων όσο και στην υδρόφοβη φύση της BPA.

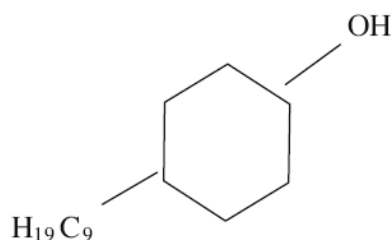
Επίσης οι Choi *et al* (2005), σε πειράματά τους χρησιμοποίησαν ενεργό άνθρακα με μορφή κόκκων, διαφορετικών όμως υλικών προέλευσης, για την απομάκρυνση της BPA. Το πρώτο είδος ενεργού άνθρακα που επιλέχθηκε είχε ως υλικό βάσης λιθάνθρακα (CB-0), το δεύτερο ξύλο (WB-0) και το τρίτο φλοιό καρύδας (CO-0). Επίσης χρησιμοποιήθηκαν ήδη χρησιμοποιημένοι ενεργοί άνθρακες (CB-2.2, CB-5.9, CO-3.1, WB-3.1) από κοντινές μονάδες επεξεργασίας λυμάτων με διάρκεια χρήσης 2,2 ως 5,9 έτη. Επίσης συλλέχθηκαν δείγματα νερού από κοντινό ποτάμι το οποίο λειτουργούσε ως αποδέκτης των εξερχόμενων λυμάτων και χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης στο πείραμα. Οι χρησιμοποιημένοι άνθρακες ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό, με τιμές pH από 6-8 και οδηγήθηκαν για ξήρανση στους 105°C. Από τη μελέτη προέκυψε πως αυτή η μέθοδος είναι κατάλληλη για την απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών με υψηλή τιμή K_{ow} . Η ισόθερμη ρόφησης προέκυψε για θερμοκρασία 25°C, χρόνο επαφής 5 ημερών και μείωση του μεγέθους κόκκων κατά 200 φορές. Σε σύστημα με στήλες διαμέτρου 20 mm η καθεμιά και ροή νερού 2 ml/min προστέθηκε BPA με συγκέντρωση 200 μg/L. Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε χρήση της ισόθερμης Freundlich. Όπως ήταν αναμενόμενο προέκυψε εξάρτηση μεταξύ της σταθεράς Freundlich (K_F) και της K_{ow} . Η σταθερά Freundlich εκφράζει την ικανότητα προσρόφησης του προσροφητικού μέσου ενώ η K_{ow} την υδροφοβικότητα της

ουσίας. Μεγαλύτερη τιμή K_{ow} σημαίνει μεγαλύτερη υδροφοβικότητα της ουσίας συνεπώς και μεγαλύτερη K_f . Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως η απομάκρυνση της BPA ήταν ικανοποιητική για όλα τα είδη πλην του WB-3.1. Επίσης οι μη χρησιμοποιημένοι άνθρακες ήταν περισσότερο αποδοτικοί από του υπόλοιπους ωστόσο και οι δύο παρουσίασαν τον ίδιο τρόπο δράσης, δηλαδή υψηλή αρχική απομάκρυνση και μείωση του ρυθμού κατά την λειτουργία, γεγονός που δηλώνει πως η BPA αφαιρέθηκε εξ αρχής με προσρόφηση. Με κριτήριο τώρα το χρόνο επαφής ώστε η συγκέντρωση στα λύματα να φτάσει στο επιθυμητό επίπεδο των 5 $\mu\text{g/L}$, ο WB-0 ήταν ο λιγότερο αποτελεσματικός και οι χρησιμοποιημένοι από το ίδιο υλικό ακατάλληλοι για απομάκρυνση BPA όπως προαναφέρθηκε. Επίσης προσδιορίστηκε ο χρόνος ώστε να ανιχνευθεί στην έξοδο του συστήματος η BPA με το μεγαλύτερο χρόνο να έχει ο C0-0 (11 ημέρες) και το μικρότερο ο CB-0 (4 ημέρες). Όπως ήταν αναμενόμενο οι χρόνοι ήταν μικρότεροι για τους χρησιμοποιημένους άνθρακες. Τέλος ο WB-3.1 εμφάνισε μικρότερη απομάκρυνση (30%) σε σχέση με τον CB-5.9 (40%). Γενικά από τα ληφθέντα αποτελέσματα προκύπτει το συμπέρασμα πως η προσρόφηση με ενεργό άνθρακα σε μορφή κόκκων θα μπορούσε να αποτελέσει μια αξιόπιστη λύση για την απομάκρυνση της BPA.

2.3. Nonylphenol (NP)

2.3.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Η εννεύλοφαινόλη είναι μια ξενοβιοτική ένωση που αποτελείται από δυο πολικές και υδρόφοβες υπομονάδες, ένα φαινολικό δακτύλιο και εννέα άτομα άνθρακα στην ανθρακική αλυσίδα στη θέση πάρα. Η ονομασία της κατά IUPAC είναι 4-(2,4-διμεθυλεπταν-3-υλο) φαινόλη και ο χημικός της τύπος είναι $C_{15}H_{24}O$.

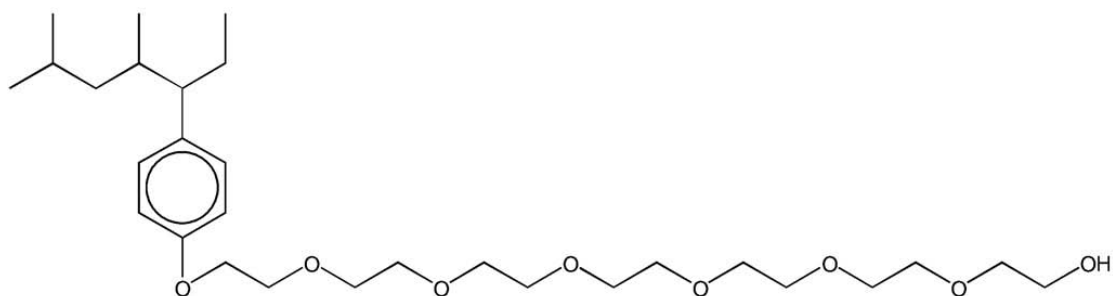


Εικόνα 2.3.1: Χημική δομή της εννεύλοφαινόλης (Kauser et al, 2008)

Το μοριακό της βάρος ισούται με 220,35 g/mol, η πυκνότητά της στους 25⁰C ισούται με 0,952 g/cm³ και το σημείο ζέσεως βρίσκεται στους 295⁰C περίπου (Fiege et al, 2000). Σε συνθήκες περιβάλλοντος βρίσκεται με τη μορφή ανοιχτού κίτρινου παχύρευστου υγρού με ιδιαίτερη οσμή, όπως όλες οι φαινολικές ενώσεις και χαμηλή διαλυτότητα στο νερό ίση με 4,9 mg/l για τιμές pH περίπου στο 7 (Brix et al, 2001). Έχει τιμή log K_{ow} ίση με 4,48 και pK_a ίση με 10,28 (Ahel et al, 1993) ενώ η κινητικότητά της είναι χαμηλή με αποτέλεσμα να μειώνεται η ικανότητά της να εξαπλώνεται στην υδατική φάση του εδάφους και των ιζημάτων (Barber et al, 1988). Η πίεση ατμών στους 25⁰C ισούται με 2,07·10⁻² Pa και η σταθερά του νόμου του Henry με 8,39·10⁻¹ Pa·m³/mol γεγονός που υποδηλώνει ότι πρόκειται για μια ημι-πτητική οργανική ένωση ικανή να εναλλάσσεται μεταξύ υγρής και αέριας φάσης. Κατά την παρουσία της στην ατμόσφαιρα μπορεί να μεταφερθεί σε υδάτινα και χερσαία οικοσυστήματα με υγρή εναπόθεση (Fries et al, 2004), ενώ η συγκέντρωσή της στο επιφανειακό στρώμα των φυσικών υδάτων μπορεί να μειωθεί λόγω φωτόλυσης που προκαλείται από το φως του ήλιου. Ωστόσο στα ιζήματα ο εκτιμώμενος χρόνος ημιζωής είναι άνω των 60 ετών (Ahel et al, 1994c).

2.3.2. Παραγωγή και χρήσεις

Η εννεύλοφαινόλη είναι μια από τις νεότερες ουσίες οι οποίες έχουν ανιχνευθεί στο περιβάλλον. Η σύνθεση της πραγματοποιήθηκε πρώτη φορά το 1940 και από τότε η χρήση της και η παραγωγή της έχουν αυξηθεί σχεδόν εκθετικά. Η ετήσια παραγωγή εννεύλοφαινόλης έφθασε τους 154.200 τόνους στις ΗΠΑ, 73.500 τόνοι στην Ευρώπη, 16.500 τόνους στην Ιαπωνία και 16.000 τόνοι στην Κίνα (Manzano *et al*, 1998). Βιομηχανικά παράγεται από την αντίδραση αλκυλίωσης της φαινόλης κάτω από συνθήκες όξινης κατάλυσης. Το τελικό τεχνητό μίγμα αποτελείται από περισσότερα από 22 ισομερή εκ των οποίων 4 είναι μονο- αλκυλοφαινόλες (Thiele *et al*, 2004). Ωστόσο, η κύρια πηγή εννεύλοφαινόλης για το περιβάλλον είναι η μικροβιακή διάσπαση των πολυ-αιθοξυλιωμένων αλκυλοφαινολών (APEs) (Giger *et al*, 2008 / Langford *et al*, 2002).



Εικόνα 2.3.2: Χημική δομή των πολυ-αιθοξυλιωμένων αλκυλοφαινολών (Giger *et al*, 2008)

Έχει παρατηρηθεί ότι κατά την αερόβια επεξεργασία λυμάτων οι μακρές πολυ-αιθοξυλιωμένες αλυσίδες κόπτονται σε μικρότερες λόγω της δράσης των αερόβιων μικροοργανισμών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια μέρους της υδροφιλικότητας, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε απορρόφηση της εννεύλοφαινόλης από τα λιπόφιλα συσσωματώματα που βρίσκονται στη λάσπη. Όσον αφορά την περίπτωση της αναερόβιας επεξεργασίας λυματολάσπης έχουν ανιχνευθεί υψηλές συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης (Giger *et al*, 2008). Ακόμη, εννεύλοφαινόλη έχει ανιχνευθεί ως παραγόμενη ουσία σε σωληνώσεις από πολυστυρένιο που χρησιμοποιούνται σε συνήθεις εργαστηριακές δραστηριότητες (Soto *et al*, 1991). Οι πολυ-αιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες αποτελούν ένα μεγάλο μέρος των (APEs). Χρησιμοποιούνται ευρέως για την παραγωγή αντιοξειδωτικών, πρόσθετων λιπαντικών, καλλυντικών αλλά και ως επιφανειοδραστικές ουσίες, σε ποικίλες βιομηχανικές διεργασίες οι οποίες περιλαμβάνουν την παραγωγή

απορρυπαντικών, γαλακτωματοποιητών, μέσω διαβροχής, μέσω διασποράς, προϊόντων οικιακής χρήσης, καθώς και σε γεωργικές και βιομηχανικές εφαρμογές (Nice *et al*, 2000).

2.3.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

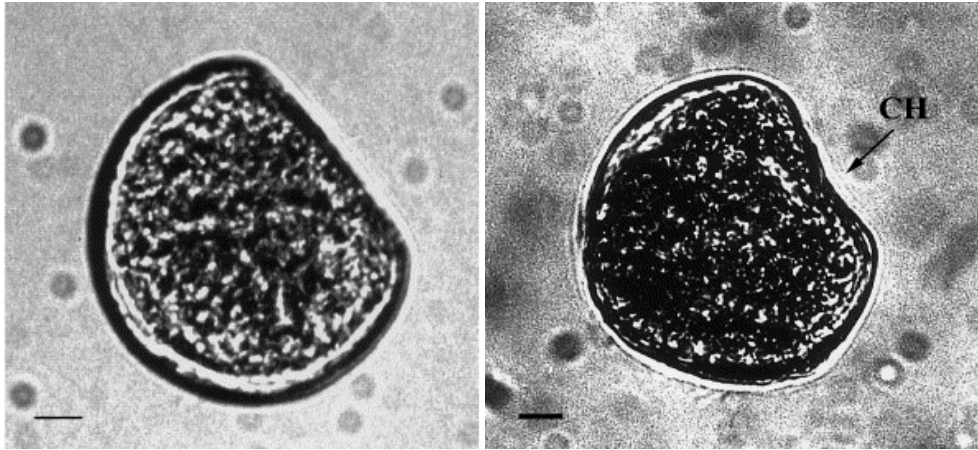
Όπως αναφέραμε και παραπάνω η εννεύλοφαινόλη είναι μια τοξική ξеноβιοτική ουσία, η οποία έχει την ικανότητα να προκαλεί ενδοκρινικές διαταραχές παρεμβαίνοντας στο ορμονικό σύστημα πολυάριθμων οργανισμών.

Ευρέως έχει ερευνηθεί η οιστρογονική επίδραση της εννεύλοφαινόλης σε διάφορα υδρόβια είδη και θεωρείται ότι προκαλεί μεταβολές στον τρόπο αναπαραγωγής των υδάτινων οργανισμών μιμούμενη τα οιστρογόνα και αυτό διότι θεωρείται πως λειτουργεί ως άμεσος επαγωγέας των οιστρογονικών υποδοχέων και επηρεάζει τη γονιδιακή έκφραση της βιτελλογενίνης, όπως αποδείχθηκε σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε πέστροφες (Flouriot *et al*, 1995). Η βιτελλογενίνη αποτελεί μια πρόδρομο πρωτεΐνη στον κρόκο του αυγού και χαρακτηρίζεται ως γλύκο-λίπο-πρωτεΐνη, καθώς έχει ιδιότητες σακχάρων, λιπών και πρωτεϊνών. Η πρωτεΐνη αυτή εκφράζεται μόνο σε θηλυκά ψάρια και είναι συνήθως αδρανής στα αρσενικά. Από In Vivo πειράματα στο σολομό του Ατλαντικού τόσο σε νεαρά όσο και σε ενήλικα στελέχη, έχει αποδειχθεί ότι ορισμένες δόσεις εννεύλοφαινόλης μπορεί να προκαλέσουν τη βιτελλογενίνη και τη zona, πρωτεΐνες του κελύφους των αυγών τους, σε ακτινοβολία (Yadete *et al*, 1999). Αυτό συμβαίνει διότι η εννεύλοφαινόλη δρα ανταγωνιστικά αναστέλλοντας τη δέσμευση της 17β-οιστραδιόλης και επίσης είναι γνωστή ως ενδοκρινικός διαταράκτης λόγω της εκθήλυνσης των αρσενικών ψαριών, όπου χρησιμοποιείται και ως βιοδείκτης της έκθεσης σε ενδοκρινικούς διαταράκτες. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τον υποδοχέα οιστρογόνων στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του μαστού (MCF-7) (Soto *et al*, 1992).

Εννεύλοφαινόλη υψηλής συγκέντρωσης επιδρά με τρόπο παρόμοιο με τα οιστρογόνα. Πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ανασυνδυασμένα στελέχη ζυμών, τα κύτταρα των οποίων κανονικά δεν περιέχουν υποδοχείς οιστρογόνων, και στα οποία προστέθηκε ένας ανθρώπινος υποδοχέας που σταδιακά ενσωματώθηκε στο χρωμόσωμα της ζύμης (Routledge *et al*, 1996).

Ακόμη βρέθηκε πως η έκθεση διαφορετικών γενεών αρουραίων σε εννεύλοφαινόλη αποτελεί λόγο δραστηριοποίησης των οιστρογόνων στους θηλυκούς αρουραίους. Η μεγέθυνση της μήτρας, που αποτελεί σημάδι ωρίμανσης στους θηλυκούς αρουραίους, επιταχύνθηκε και παράλληλα τόσο στους αρσενικούς όσο και στους θηλυκούς διαπιστώθηκε νεφρική μεταβολή. Πιο συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια του πειράματος αυτού στους αρουραίους εισήχθη μέσω της τροφής τους εννεύλοφαινόλη συγκέντρωσης 200, 650 και 2000 ppm 2 φορές εβδομαδιαία. Το αποτέλεσμα ήταν για συγκέντρωση 200 ppm να μην παρατηρηθεί καμία αρνητική επίδραση τόσο στα στελέχη του πειράματος αλλά και σε απογόνους αυτών αλλά όχι και για τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των 650, και 2000 ppm (Charin *et al*, 1999).

Μια άλλη μελέτη διερεύνησε τις επιδράσεις της εννεύλοφαινόλης σε προνύμφες του στρειδιού του Ειρηνικού (*Crassostrea gigas*). Η ανάπτυξη των προνυμφών εξετάστηκε για χρονική περίοδο 72 h σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 0,1 ppm έως 10.000 ppm. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου η προνύμφη εξελίχτηκε όπως αναμενόταν λαμβάνοντας σχήμα όπως το γράμμα της αγγλικής αλφαβήτου D. Ωστόσο υπήρξε μία αξιοσημείωτη αλλαγή στο χρόνο που χρειάστηκαν οι προνύμφες, στις οποίες είχαν προστεθεί αιθοξυλιωμένα παράγωγα, ώστε να φτάσουν στη D-μορφή σε σχέση με αυτές που αναπτυσσόταν κανονικά. Στα στελέχη όπου προστέθηκε εννεύλοφαινόλη σε συγκέντρωση 1000 ppm και 10.000 ppm επήλθε θάνατος πριν αποκτήσουν τη D-μορφή. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις της τάξης του 0,1 ppm έως 100 ppm εννεύλοφαινόλης, οι προνύμφες αναπτύχθηκαν σε D-μορφή φέροντας όμως μια 'εσοχή' σε σχέση με αυτές που είχαν φυσιολογική ανάπτυξη (Εικόνα 2.3.3). Η εμφάνιση και το μέγεθος της 'εσοχής' εμφάνιζε εξάρτηση από τη συγκέντρωση της εννεύλοφαινόλης που είχε προστεθεί με σημαντικότερη αυτή των 100 ppm. Διαπιστώθηκε επίσης, ότι η παρουσία της εννεύλοφαινόλης επηρέασε αρνητικά την ανάπτυξη του κελύφους των νυμφών επιδρώντας στο μεταβολισμό του ασβεστίου, όπως άλλωστε έχει παρατηρηθεί και σε ψάρια που εκτέθηκαν σε εννεύλοφαινόλη. Κατά την αύξηση της συγκέντρωσης μεταξύ 0,1 έως 100 ppm εμφανίστηκαν όλο και περισσότερες ανωμαλίες στα κελύφη των νυμφών (Nice *et al*, 2000).



Εικόνα 2.3.3: Ανάπτυξη προνυμφών πριν και μετά την προσθήκη εννεύλοφαινόλης (Nice et al, 2000).

Τέλος, η ικανότητα της εννεύλοφαινόλης να διαταράσσει το ενδοκρινικό σύστημα, προσδιορίζεται ως η συγκέντρωση στην οποία δεν παρατηρούνται επιπτώσεις (NOEC), και η οποία είναι συχνά πολύ υψηλότερη από τις συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης που παρατηρούνται στο περιβάλλον. Ωστόσο, αυτό δεν σημαίνει ότι η εννεύλοφαινόλη δεν επηρεάζει τους οργανισμούς, αλλά μάλλον στο περιβάλλον υπάρχουν περισσότεροι από ένας μολυσματικοί παράγοντες με τους οποίους μπορεί να αναπτύξει συνεργιστική δράση και να επηρεάσει δυσμενώς τους οργανισμούς. Για παράδειγμα στην περίπτωση των ξένο-οιστρογόνων - δηλαδή ενώσεων που δεν είναι στεροειδή, αλλά έχουν οιστρογονική δραστηριότητα - έχει αποδειχθεί σε πολλές έρευνες ότι δύο ή περισσότερες ενώσεις με ενδοκρινική διαταρακτική ικανότητα, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, μπορεί να δρουν σωρευτικά ή συνεργιστικά (Rajarakse et al, 2002).

2.3.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Εχει αποδειχθεί ότι η εννεύλοφαινόλη είναι σε θέση να παρεμβαίνει σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων με χρήση διάφορων μηχανισμών που περιλαμβάνουν:

1. Δυνατότητα πρόκλησης αναπνευστικής τοξικότητας στα κύτταρα, πιθανώς μεταβάλλοντας τη διαπερατότητα της μεμβράνης των μιτοχονδρίων. $EC_{50}=1,8 \text{ mg/L}$
2. Αρνητική επίδραση στην ενεργό μεταφορά του ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο στα μυοσκελετικά κύτταρα. $IC_{50}= 880-2420 \text{ mg / L}$.

3. Αναστολή της ανάπτυξης και διαφοροποίηση των νευρικών κυττάρων ποντικού και προκαλώντας απόπτωσή τους σε αντίθεση με άλλους ενδοκρινικούς διαταράκτες. αποτελεσματική συγκέντρωση > 660 mg / L
4. Αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων των μαστικών αδένων κατά την έκθεση τους σε συγκεντρώσεις της τάξης των 0,01 mg / ημέρα.
5. Μεταβολή των κινητικών του κυτταρικού κύκλου μετατρέποντας τις ανώριμες δομές σε ώριμες.
6. Παράγοντας τηλεμετρικές ενώσεις και χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Όλες αυτές οι παρατηρήσεις αποδεικνύουν την ικανότητα της εννεύλοφαινόλης να παρεμβαίνει με διάφορους τύπους κυττάρων και οργάνων, με διαφορετικούς τρόπους δράσης σε συγκεντρώσεις τόσο χαμηλές όπως 0,01 mg/ημέρα, τονίζοντας πως οι επιπτώσεις της εννεύλοφαινόλης είναι πολύ διαφορετικές και απρόβλεπτες, ως συνέπεια της ικανότητάς της να δρα με πολλούς μηχανισμούς.

Τα υδάτινα οικοσυστήματα έχουν μελετηθεί ευρέως και οι οργανισμοί που έχουν κατά βάση επιλεγεί για την αξιολόγηση της τοξικότητας είναι άλγη, ασπόνδυλα και ψάρια. Μερικές από τις τιμές τοξικότητας που παρατηρήθηκαν περιλαμβάνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.3.1: Τιμές τοξικότητας και σημαντικές επιδράσεις της εννεύλοφαινόλης σε υδατικούς οργανισμούς (Soares et al, 2008)

Είδος	Στάδιο ανάπτυξης οργανισμού	Εύρος τιμών τοξικότητας	
		EC ₅₀	NOEC
<i>Daphnia magna</i>	Ενήλικο	EC ₅₀	0,3 mg/L
		NOEC	0,024 mg/L
Άλγη	Ενήλικο	EC ₅₀	25 – 750 µg/L
Ασπόνδυλα	Ενήλικο	LC ₅₀	20 - 1590 µg/L
Ψάρια	Ενήλικο	LC ₅₀	130 - 1400 µg/L
Θαλάσσιοι οργανισμοί	Ενήλικο	EC ₅₀	17 - 195 µg/L
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Ενήλικο	EC ₅₀	0,5 – 0,53 mg/L
<i>Littoral zooplankton</i>	Ενήλικο	NOEC	0,001 mg/L
<i>Fundulus heteroclitus</i>	Έμβρυο	EC ₅₀	5,4 mg/L
	Νεαρές προνύμφες	EC ₅₀	0,21 mg/L
	Προνύμφες 2 εβδομάδων	EC ₅₀	0,21 mg/L

	Προνύμφες 4 εβδομάδων	EC ₅₀	0,26 mg/L
--	-----------------------	------------------	-----------

Είναι προφανές πως η επίδραση της εννεύλοφαινόλης διαφοροποιείται και παράγοντες όπως το στάδιο ανάπτυξης του οργανισμού, τα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος χώρου στον οποίο ζει ο οργανισμός αλλά και ο σχεδιασμός των συνθηκών κάτω από τις οποίες πραγματοποιείται η μελέτη διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, με αποτέλεσμα η τοξικότητα της εννεύλοφαινόλης να είναι ένα πολύπλευρο ζήτημα που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Μια μέγιστη αποδεκτή συγκέντρωση εννεύλοφαινόλης που θεωρείται ασφαλής και κάτω από την οποία αποτρέπονται τυχόν επιπτώσεις τοξικότητας σε υδρόβιους οργανισμούς είναι 10 µg/L. Ωστόσο η κατευθυντήρια γραμμή της υπηρεσίας προστασίας του περιβάλλοντος που αφορά την ποιότητα νερού στο περιβάλλον ορίζει τη συγκέντρωση της εννεύλοφαινόλης κάτω από 6,6 µg/L και 1,7 µg/L σε γλυκά και αλμυρά ύδατα, αντίστοιχα (Soares *et al*, 2008).

Όσον αφορά την εμφάνιση τοξικότητας της εννεύλοφαινόλης σε μικροοργανισμούς του εδάφους αυτή αξιολογήθηκε λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα που προέκυψαν σε νιτροποιητικά βακτήρια τα οποία αποτέλεσαν δείκτες των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων στη μικροχλωρίδα του εδάφους. Η εννεύλοφαινόλη φάνηκε να επηρεάζει την ανάπτυξη και την ικανότητα νιτροποίησης του *Azobacter sp.* σε συγκεντρώσεις μεταξύ 18,8 και 37,6 mg / kg και ως εκ τούτου αρνητικές επιπτώσεις αναμένονται μετά την εφαρμογή μολυσμένων λυμάτων σε συστήματα ενεργού ιλύος (Martensson *et al*, 1996). Ωστόσο, ο τρόπος εφαρμογής της εννεύλοφαινόλης στο έδαφος έχει σημαντική επίδραση στις τιμές τοξικότητας που μετρώνται καθώς αν η εισαγωγή της πραγματοποιήθηκε μέσω μολυσμένων λυμάτων και όχι ομοιογενώς αναμιγμένη, η μη ομοιόμορφη αυτή κατανομή της εννεύλοφαινόλης βρέθηκε να την καθιστά λιγότερο τοξική για τους μικροοργανισμούς, από ότι αν είχε αναμιχθεί ομοιόμορφα με το έδαφος, γεγονός που υποδηλώνει ότι ήταν δυσκολότερο για τα ασπόνδυλα να έρθουν σε επαφή με το μολυσματικό παράγοντα. Επίσης αποτελέσματα από την επίδραση της εννεύλοφαινόλης σε νηματοειδείς μύκητες έδειξαν πως την καθιστά τοξική σε συγκεντρώσεις της τάξης του 1,3 έως 6,2 mg/L, κυρίως εμποδίζοντας την αναπνοή τους (Karley *et al*, 1997). Επιπλέον, η εννεύλοφαινόλη έχει αποδειχθεί να είναι φυτοτοξική για 14 διαφορετικά είδη φυτών με τιμές EC₅₀ που κυμαίνονται από 11 έως 220 mg/L. Ο μεταβολισμός της εξαρτιόταν μεν από τα υπό εξέταση

είδη φυτών, αλλά αποδείχθηκε επίσης πως η αντοχή κατά την πρόσμειξη συσχετιζόταν με την ικανότητα των ειδών να σχηματίζουν μη εκχυλίσιμα υπολείμματα (Bokern *et al*, 1997).

Σημαντικά πειράματα τοξικότητας πραγματοποιήθηκαν και από τους Stasinakis *et al* (2008), κατά τα οποία χρησιμοποιήθηκε η φωταύγεια του βακτηρίου *V. fischeri* προκειμένου να ανιχνευτεί η τοξικότητα της ένωσης, απευθείας αλλά και σε δείγματα ανάμικτου υγρού, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα πρόβλεψης της τοξικότητας σε συστήματα ενεργού ιλύος αλλά και σε υδρόβιους οργανισμούς. Οι τιμές EC₅₀ που ελήφθησαν, 3,51 mg/l, ήταν σημαντικά χαμηλότερες από αυτές που ελήφθησαν στα OUR και AUR πειράματα διαπιστώνοντας έτσι την υψηλότερη ευαισθησία του *V. fischeri* σε τοξικές ουσίες. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν επίσης αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες, και αποδίδονται στη διαφορετική φύση των χρησιμοποιούμενων βιολογικών υλικών αλλά και τη διαφορετικότητα του βακτηρίου *V. fischeri* σε σύγκριση με τις ομάδες βακτηρίων που συναντώνται στα συστήματα ενεργού ιλύος. Έτσι από τις ληφθείσες τιμές των πειραμάτων φαίνεται να υπερεκτιμάται η τοξικότητα της εννεύλοφαινόλης από το βακτήριο *V. fischeri* σε σχέση με τιμές που παρατηρούνται σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, προσφέροντας ωστόσο ένα τρόπο ασφαλούς ελέγχου των λυμάτων στις διάφορες εγκαταστάσεις.

Τέλος, σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη των Stasinakis *et al* (2008), κατά τη διάρκεια πειραμάτων για τον προσδιορισμό τοξικότητας της εννεύλοφαινόλης στην ετεροτροφική βιομάζα, αναστολή της δράσης των ετεροτροφικών μικροοργανισμών παρατηρήθηκε για συγκεντρώσεις από 100 ως 1000 mg/L. Η περιοχή αυτή συγκεντρώσεων τις καθιστά ίσες ή μεγαλύτερες του ορίου διαλυτότητας (5,4 mg/l, 20°C). Η συγκέντρωση για την οποία προκλήθηκε 50% μείωση της πρόσληψης οξυγόνου από τους μικροοργανισμούς κυμαινόταν σε αρκετά υψηλά επίπεδα, από 441 έως 649 mg/l.

Πίνακας 2.3.2: Επίδραση της 4-n-NP και της TCS στην αναπνοή της ετεροτροφικής βιομάζας, στο ρυθμό κατανάλωσης αμμωνίας και στο βακτήριο *vibrio fischeri* (Stasinakis *et al*, 2008).

Εξεταζόμενη ένωση	EC ₅₀ (mg/L)				
	Αναπνοή		Νιτροποίηση		<i>Vibrio fischeri</i>
	θ _c : 5 days	θ _c : 10 days	θ _c : 15 days	θ _c : 15 days	
TCS	38,2 (35 – 41,5)	31,5 (28 – 34,5)	9,97 (8,06 - 12)	6,39 (3,76 – 7,99)	0,22 (0,18 – 0,26)
4-n-NP	441 (406 - 474)	520 (486 - 558)	649 (598 – 687)	256 (215 - 310)	3,51 (2,6 – 4,66)

Σύμφωνα με τις τιμές EC_{50} όπως αυτές εμφανίζονται στον πίνακα 2.3.2, αύξηση του θ_c οδήγησε σε μείωση της τοξικότητας. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η τοξικότητα σχετίζεται άμεσα με τη βιοδιαθεσιμότητα του κλάσματος των τοξικών ενώσεων, η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι οι αλλαγές στην ηλικία της λάσπης μπορούν ενδεχομένως να επηρεάσουν την προσρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα της εννεύλοφαινόλης. Επίσης έχει αναφερθεί ότι αύξηση στο χρόνο παραμονής καθιστά τις βακτηριακές επιφάνειες πιο υδρόφοβες (Stasinakis *et al*, 2008). Επιπλέον, ο Langford (2005b) ανέφερε ότι η αύξηση του θ_c έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης στα αιωρούμενα στερεά. Στην ίδια μελέτη αναφέρθηκε ότι η προσρόφησης της συνέβη γρήγορα, με ένα μεγάλο μέρος της να δεσμεύεται εντός 10 λεπτών (Langford *et al*, 2005b). Με βάση όλα τα παραπάνω είναι πιθανό ότι η μείωση της τοξικότητας η οποία παρατηρήθηκε σε υψηλότερες τιμές θ_c οφείλεται στην υψηλότερη ποσότητα εννεύλοφαινόλης η οποία προσροφήθηκε στα αιωρούμενα σωματίδια με αποτέλεσμα να μην καθίσταται διαθέσιμη για τους μικροοργανισμούς. Όσον αφορά το OUR χρησιμοποιείται ευρέως ως μια γρήγορη, διαγνωστική εξέταση για την αξιολόγηση της επίδρασης των διαφόρων χημικών ουσιών στην ενεργό ιλύ. Ωστόσο, λόγω της σύντομης διάρκειάς της (20 min), ο χρόνος επαφής των ενώσεων με τη βιομάζα είναι αρκετά μικρότερος από τον υδραυλικό χρόνο παραμονής που συχνά παρατηρείται σε συστήματα ενεργού ιλύος. Για να διερευνηθεί αν η αύξηση του χρόνου έκθεσης επηρεάζει την τοξικότητα, επιλέχθηκαν δύο συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης 10 και 170 mg/l και αναχαίτιση του OUR εμφανίστηκε με την πάροδο 5 ωρών. Διαπιστώθηκε ακόμη ότι για την μικρότερη τιμή συγκέντρωσης δεν παρατηρήθηκε αναστολή σε αντίθεση με την μεγαλύτερη όπου εμφανίστηκε τοξική επίδραση. Συγκεκριμένα η τοξικότητα φάνηκε να αυξάνει με την πάροδο του χρόνου έκθεσης και ενώ αρχικά παρατηρήθηκε μια αναστολή της τάξης του 21% σταδιακά έφτασε στο 49% με την πάροδο 5 ωρών. Πραγματοποιήθηκαν επίσης πειράματα τοξικότητας σε αυτοτροφική βιομάζα με μετρήσεις AUR σύμφωνα με τις οποίες για συγκέντρωση εννεύλοφαινόλης 50 mg/l παρατηρήθηκε αναστολή της τάξης του 26%. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να επισημανθεί ότι παρόμοιες συγκεντρώσεις δεν εμφάνισαν αναχαίτιση σε μετρήσεις OUR, συμπεραίνοντας έτσι ότι οι νιτροποιητικοί μικροοργανισμοί είναι πιο ευαίσθητοι στην εννεύλοφαινόλη. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι η διαδικασία της νιτροποίησης πραγματοποιείται από δυο διαφορετικές ομάδες χημικο-αυτοτροφικών βακτηρίων, ενώ η αναπνοή γίνεται από μια μεγάλη ποικιλία ετεροτροφικών

μικροοργανισμών. Στην πραγματικότητα οι συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης στα εισερχόμενα λύματα δεν ξεπερνούν τα 95 mg/l. Τιμές οι οποίες είναι σημαντικά χαμηλότερες από τις συγκεντρώσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε αναστολή του ρυθμού αναπνοής (100 mg/L, 12,3% αναστολή) και της αφαίρεσης αμμωνίας (50 mg/L, 25,7% αναστολή). Ως εκ τούτου, παρεμπόδιση των διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα σε συστήματα ενεργού ιλύος λόγω της παρουσίας της εννεύλοφαινόλης θεωρείται απίθανη (Stasinakis *et al*, 2008).

Η βιοσυσσώρευση της εννεύλοφαινόλης έχει παρατηρηθεί σε φύκια, ψάρια και υδρόβια πτηνά που ζουν σε περιβάλλον γύρω από μολυσμένα ποτάμια (Ahef *et al*, 1994c). Τα φύκια περιείχαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης μεταξύ 1,5 και 38 mg / kg με συντελεστή βιοσυγκέντρωσης από 200 έως 10.000. Στα ψάρια, οι συγκεντρώσεις διαφοροποιούνταν μεταξύ 0,03 και 1,59 mg / kg με συντελεστή βιοσυγκέντρωσης από 13 έως 408. Τα άγλη δεν φαίνεται να είναι άμεσα υπεύθυνα με τη βασική δίοδο εισόδου της εννεύλοφαινόλης στα ψάρια. Συγκεκριμένα οι τιμές συγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης που βρέθηκαν σε αγριόπαπιες ποικίλουν από 0,03 έως 1,2 mg / kg με υψηλότερες τιμές να εμφανίζονται στο μυϊκό ιστό ενώ σε μελέτη που εκπονήθηκε σε μύδια, η εννεύλοφαινόλη δεν βρέθηκε να συσσωρεύεται σε αυτούς τους οργανισμούς, αν και τα μύδια είχαν τοποθετηθεί σε απόσταση 50 cm από τα ιζήματα, όπου η εννεύλοφαινόλη ήταν γνωστό ότι ήταν παρούσα σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (Sabik *et al*, 2003). Ένα ακόμα παράδειγμα είναι αυτό του *Pimephales promelas* όπου ο συντελεστής βιοσυγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης ήταν 245-380 μετά από 42 ημέρες έκθεσης μέσω ροής από ελεγχόμενο σύστημα στο οποίο η συγκέντρωση μεταβαλλόταν από 0,33 - 2,36 μg/L, αποδεικνύοντας ότι η μακροχρόνια έκθεση ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων μπορεί να οδηγήσει σε συσσωρευση στα ψάρια (Snyder *et al*, 2001). Η παρουσία εννεύλοφαινόλης στα ψάρια σχετίζεται συνήθως με την απόρριψη λυμάτων από εγκαταστάσεις επεξεργασίας η οποία οδηγεί σε συγκεντρώσεις μέχρι και 110 μg/kg (Rice *et al*, 2003). Η έκθεση του ανθρώπου σε εννεύλοφαινόλη είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, αλλά είναι αναμενόμενο να συμβεί μετά από επαφή του με μολυσμένο πόσιμο νερό και τρόφιμα, όπως λαχανικά, γάλα και κρέας ή κατά τη διάρκεια επαγγελματικής έκθεσης. Εννεύλοφαινόλη βρέθηκε να είναι πανταχού παρούσα στα τρόφιμα σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,1 έως 19,4 μg/kg, με μέση εκτιμώμενη ημερήσια δόση τα 7,5 μg / ημέρα για έναν ενήλικο. Ο

τρόπος μόλυνσης των τροφίμων είναι κυρίως λόγω της χρήσης καθαριστικών μέσων στις βιομηχανίες επεξεργασίας τροφίμων, λόγω των φυτοφαρμάκων και από τα υλικά συσκευασίας των τροφίμων από τα οποία θα μπορούσαν να διαφεύγουν 3-φωσφορική εννεύλοφαινόλη καθώς και άλλα παράγωγα της εννεύλοφαινόλης (Guenther *et al*, 2002). Η συμπεριφορά της εννεύλοφαινόλης στον ανθρώπινο οργανισμό μετά από ενδοφλέβια και στοματική εφαρμογή μελετήθηκε σε εθελοντές με χρήση του ισοτόπου $^{13}\text{C}_6\text{-NP}$. Μετά από έκθεση σε εννεύλοφαινόλη, ο χρόνος ημίσειας ζωής στο αίμα ήταν 2-3 h. Περίπου το 10% της NP που εφαρμόστηκε βρέθηκε στα κόπρανα και τα ούρα επισημαίνοντας ότι είχε απορροφηθεί από το γαστρεντερικό σωλήνα (Muller *et al*, 1998).

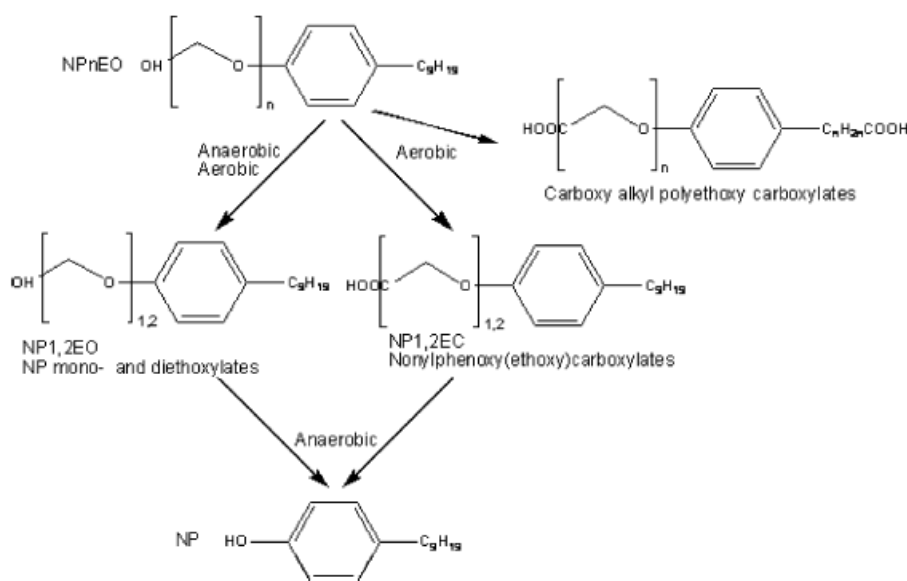
2.3.5. Βιοαποδόμηση

Ο Banat (2000), ήταν ένας εκ των πολλών οι οποίοι μελέτησαν τη συμπεριφορά της εννεύλοφαινόλης κατά τη διάρκεια αερόβιας επεξεργασίας υπό θερμοφιλικές συνθήκες σε σύστημα ενεργού ιλύος στο οποίο είχε προστεθεί γνωστή ποσότητα εννεύλοφαινόλης. Πραγματοποίησε τρία παράλληλα πειράματα σε εργαστηριακή κλίμακα χρησιμοποιώντας αντιδραστήρες διαλείποντος έργου και στους οποίους προστέθηκε εννεύλοφαινόλη σε συγκέντρωση 0, 50 και 100 mg / l. Για τις δύο μελετώμενες συγκεντρώσεις επιτεύχθηκε μείωση της τάξης του 66% με ροή αέρα να υπολογίζεται περίπου στα 16 L/h, η θερμοκρασία να βρίσκεται σε θερμοφιλικά επίπεδα, περίπου στους 60°C και η διάρκεια του πειράματος να ανέρχεται στις 10 ημέρες. Παρατηρήθηκε ότι η παρουσία της εννεύλοφαινόλης είχε μικρή επίδραση στο ρυθμό οξείδωσης της λάσπης, καθώς και στο άζωτο και το φωσφόρο που περιέχονταν σε αυτήν.

Ο Chang 2007, διερεύνησε την επίδραση διαφόρων παραγόντων στη αερόβια αποδόμηση της εννεύλοφαινόλης στην ιλύ. Αρχική συγκέντρωση εννεύλοφαινόλης ίση με 5 mg / kg της αποδομήθηκε με σταθερό ρυθμό ίσο με 0.148 και 0,224 days⁻¹ όταν ο χρόνος ημιζωής ήταν αντίστοιχα 4,7 και 3,1 ημέρες. Η βέλτιστη τιμή του pH στην ιλύ ήταν 7 και το ποσοστό αποδόμησης αυξανόταν με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Ο Hesselsøe (2001), σε πειράματά του σύγκρινε την αδρανοποίηση της εννεύλοφαινόλης σε δείγματα λυματολάσπης τα οποία είχαν προστεθεί σε χώμα υπό αερόβιες συνθήκες (ομογενοποιημένα δείγματα) αλλά και σε αδρανοποιημένη λάσπη με περιορισμένη

διαθεσιμότητα οξυγόνου (μη ομογενοποιημένα μείγματα). Η διάχυση του οξυγόνου στην λάσπη παρακολουθούταν από αισθητήρες οξυγόνου και επηρέαζε την αδρανοποίηση της εννεύλοφαινόλης. Πιο συγκεκριμένα σε ομοιογενή δείγματα λάσπης-χώματος και λάσπης-αποστειρωμένης άμμου, ο χρόνος ημιζωής ήταν παρόμοιος 3-6 ημέρες και 5-6 ημέρες αντίστοιχα. Επίσης, ανάλυση του υπολοίπου δείγματος μετά την πάροδο 38 ημερών δεν έδειξε ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης γεγονός που φανερώνει την αδρανοποίησή της. Όσον αφορά τα μη ομοιογενή δείγματα όπου λάσπη και χώμα ήρθαν σε επαφή τύπου «σάντουιτς» τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν για να περιγράψουν κυρίως την μακροπρόθεσμη αδρανοποίηση της NP. Φάνηκε ότι από την πλευρά της αδρανοποιημένης ιλύος είχαμε μείωση του πάχους της διεπιφάνειας λάσπης-χώματος από 0-0,5cm. Γνωρίζοντας ότι η NP είναι ιδιαίτερα σταθερή σε αναερόβιες συνθήκες και καθώς η διαθεσιμότητα του οξυγόνου ήταν μεγαλύτερη στην πλευρά της λάσπης μπορούμε να εξηγήσουμε τη μείωση του πάχους και κατ' επέκταση την αδρανοποίηση της NP.



Εικόνα 2.3.4: Αποδόμηση των NP_nEO σε μονάδες επεξεργασίας υγρών (Corvini et al, 2006)

Γενικότερα οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την βιοαποδόμηση της εννεύλοφαινόλης είναι

1. Η θέση και το μήκος της άλκυλο αλυσίδας

Η θέση υποκατάστασης του φαινολικού δακτυλίου από την ενολική αλυσίδα φαίνεται να είναι καθοριστική, όσον αφορά την υποβάθμιση της εννεύλοφαινόλης από το μικρόβιο *sphingomonads*. Η *S. amiense* εμφανίζει σημαντική προτίμηση για τα πάρα-ισομερή της εννεύλοφαινόλης. Για την περίπτωση *Sphingomonas sp. TTNP3*, ένα συσσωρευμένο υπόλοιπο των όρθο-ισομερών παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της χρονικής περιόδου της επώασης. Στα βακτήρια, το μήκος της άλκυλο-αλυσίδας των αλκυλοφαινολών φαίνεται να είναι αποφασιστικό κριτήριο της πορείας αποδόμησης και των εμπλεκόμενων μικροοργανισμών. Η σύνδεση ως προς τη θέση και το μήκος της άλκυλο αλυσίδας για τη βιοδιασπασιμότητα των αλκυλοφαινολών από μύκητες περιπλέκεται από διάφορους παράγοντες, όπως της αναγκαιότητας για διάκριση μεταξύ μεταβολικών βιομετατροπών και της αξιοποίησης των αλκυλοφαινολών στην ανάπτυξη των διαφόρων ενζύμων, γνωστά για την οξειδωση των αλκυλοφαινολών, της εμφάνισης διαφορετικών προτιμήσεων ως προς το υπόστρωμα και τους καταλυτικούς μηχανισμούς, και των ενδοκυτταρικών ενζύμων που συντελούν στην ενεργοποίηση της εννεύλοφαινόλης, τα οποία είναι ακόμα άγνωστα (Corvini *et al*, 2006).

2. Επίδραση της δομής της αλκυλικής αλυσίδας

Η επίδραση της δομής της αλκυλικής αλυσίδας, των ισομερών της εννεύλοφαινόλης ερευνήθηκε σε μελέτες παρουσία του μικροοργανισμού *sphingomonads*. Απεδείχθη ότι η 4-η εννεύλοφαινόλη δε μεταβολίζεται ως μια ενιαία πηγή άνθρακα τόσο από το *sphingomonas sp. TTNP3* όσο και από το *S. Xenorhaga*. Αυτά τα εκ των προτέρων απροσδόκητα αποτελέσματα μπορούν να ερμηνευθούν μέσω του μηχανισμού, όπου πρωτοβάθμια καρβοκατιονικά ενδιάμεσα της γραμμικής αλκυλικής αλυσίδας είναι απρόσμενα ενεργά. Όσον αφορά την ισομερίωση της αλκυλικής αλυσίδας, μέχρι σήμερα, καμία επίδραση στο ποσοστό βιοδιάσπασης των διαφόρων π-ισομερών δεν έχει ανιχνευτεί στο περιβάλλον. Μελέτες πάνω σε μικροβιακούς πληθυσμούς του εδάφους έδειξαν ότι τα π-ισομερή είναι ομοίως υποβαθμισμένα. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από μια

πρόσφατη αναφορά όπου περιγράφεται ο σχηματισμός των νίτρο μεταβολιτών όταν t-εννεύλοφαινόλη προστεθεί σε τροποποιημένη ιλύ στο έδαφος. Επιπλέον οι διάφοροι μηχανισμοί που ακολουθούνται, για παράδειγμα οξείδωσης της αλκυλικής αλυσίδας, συντελούν στη βιοδιάσπαση της εννεύλοφαινόλης (Corvini *et al*, 2006).

3. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοαποδόμηση της εννεύλοφαινόλης

Επειδή υψηλές συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης μπορεί να την καθιστούν τοξική για τους μικροοργανισμούς, τόσο η ποσοστιαία παρουσία της όσο και η ύπαρξη άλλων μικρορυπαντών μπορεί να επηρεάσει τη συγκέντρωσή της σε ίχνη στο περιβάλλον (Corvini *et al*, 2006). Η ανάπτυξη και επιβίωση των συμμεταβολικών βιοαποδομητών ανεξαρτήτως της εννεύλοφαινόλης θα μπορούσε να αποτελέσει μια συμφέρουσα λύση όταν η συγκέντρωσή της είναι αρκετά μικρότερη από τις τιμές K_m των ενζυμικών συστημάτων ή κάποιων συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Ωστόσο η ενζυμική συγγένεια με ξενοβιοτικές ουσίες είναι συχνά χαμηλή. Για παράδειγμα, για την καταλυτική οξείδωση της εννεύλοφαινόλης μέσω της λακκάσης από το μύκητα *ascomycete* σε δείγμα χώματος υπολογίστηκε τιμή K_m ίση με $1,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Τέτοιες υψηλές τιμές K_m θα ήταν μάλλον δυσμενείς για την αποτελεσματική απομάκρυνση της εννεύλοφαινόλης στις συγκεντρώσεις που βρίσκονται συνήθως στο νερό, οι οποίες είναι της τάξης του mg/L, χωρίς ωστόσο να ξεχνούμε πως η λακκάση μπορεί να διαφέρει ως προς τα κινητικά της χαρακτηριστικά από οργανισμό σε οργανισμό (Saito *et al*, 2003).

Ομοίως, κινητικοί περιορισμοί της δραστηριότητας της λακκάσης μπορούν να προκληθούν από χαμηλές συγκεντρώσεις εννεύλοφαινόλης όπως σε υδατικά συστήματα όπου έχουμε υποβάθμισή τους κατά τον καθαρισμό λυμάτων σε μονάδες ενεργού ιλύος καθώς επίσης και στα ιζήματα, καθώς οι μέσες συγκεντρώσεις είναι περίπου $1,5 \text{ g/kg}$ και $2,1 \text{ mg/kg}$, αντίστοιχα. Επίσης η χαμηλή βιοαποδόμηση της εννεύλοφαινόλης μπορεί να εξηγηθεί λόγω της ισχυρής της ρόφησης, όπως συμβαίνει για παράδειγμα στα ιζήματα και τα χουμικά οξέα γεγονός που θα οδηγήσει στη δραστική μείωση της βιοδιαθεσιμότητάς της. Άλλη μελέτη έδειξε ότι η 4-n-εννεύλοφαινόλη υποβαθμίστηκε σε διάστημα 40 ημερών κατά την επώασή της με οργανικό υλικό που περιείχε ιζήματα, ενώ η διακλαδισμένη παρέμεινε αδιάσπαστη, παρά τον υψηλότερο συντελεστή προσρόφησης της πρώτης. Συμπεραίνουμε λοιπόν πως η

δομή της αλκυλικής αλυσίδας επικράτησε ως προς την επίδραση της ρόφησης (Ying *et al*, 2003).

Ακόμη η υδρολυσιμότητα της εννεύλοφαινόλης είναι αυξημένη σε αλκαλικές τιμές pH όταν η εννεύλοφαινόλη είναι μη πρωτονιωμένη (pKa μεταξύ 10 και 12) και γίνεται λιγότερο απορροφήσιμη σε οργανικά υλικά και εν δυνάμει περισσότερο βιοδιαθέσιμη. Παρ' όλα αυτά, ακραίες τιμές pH, απεδείχθη ότι επιδρούν αρνητικά στην αποδόμησή της από τον *S. cloacae* και κατά πάσα πιθανότητα και στην ανάπτυξή του. Συγκεκριμένα η εννεύλοφαινόλη δεν αποδομήθηκε σε pH 9, ενώ τιμές pH 6 ή 8 οδήγησαν σε μια σχεδόν πλήρη αφαίρεσή της από αρχική συγκέντρωση 200 ppb (Corvini *et al*, 2006/ Fujii *et al*, 2003).

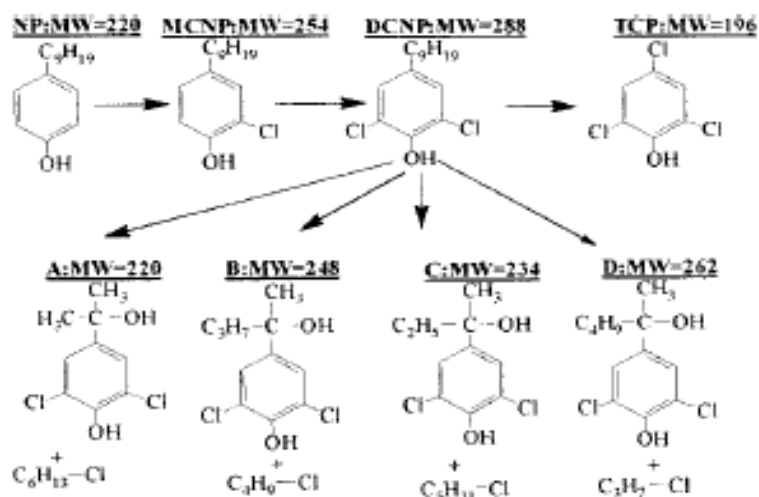
Μεταξύ των κρίσιμων παραμέτρων για τη βιοδιάσπαση της εννεύλοφαινόλης, το οξυγόνο φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντική. Ανοξικές συνθήκες οδήγησαν σε μείωση της αφαίρεσης της εννεύλοφαινόλης από σύστημα ενεργού ιλύος και ταχύτερη αδρανοποίησή της όταν πραγματοποιήθηκε διάχυση οξυγόνου στο σύστημα. Επιπλέον, η συγκέντρωση της εννεύλοφαινόλης αυξήθηκε με την αύξηση του βάθους σε αναερόβια ιζηματογενή στρώματα (Hesselsøe *et al*, 2001).

Όσον αφορά τη θερμοκρασία, τα δεδομένα είναι αρκετά ετερογενή. Μείωση της θερμοκρασίας από τους 28 στους 10°C έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την αφαίρεση της εννεύλοφαινόλης μέσω της μικροχλωρίδας σε συστήματα ενεργού ιλύος. Παρ' όλα αυτά, εμβολιασμός βιοαντιδραστήρων με ομάδες βακτηρίων προερχόμενων από Σουηδικό μολυσμένο έδαφος εμφάνισε ικανοποιητικούς ρυθμούς αφαίρεσης για θερμοκρασίες που κυμαίνονταν από 15 έως 5,5°C. Γενικά πραγματοποιήθηκαν έρευνες τα αποτελέσματα των οποίων εξαρτιόνταν από το είδος των βακτηρίων και την ικανότητα τους να διεξάγουν τέτοιου είδους αντιδράσεις σε ακραίες θερμοκρασίες (Soares *et al*, 2005b).

2.3.6. Επίδραση της χλωρίωσης στην εννεύλοφαινόλη

Οι Ying Hu *et al* (2002), μελέτησαν τη χλωρίωση της 4-NP σε υδατικό διάλυμα και με χρήση GC-MS ανιχνεύτηκαν 7 συνολικά προϊόντα, η 2-χλώρο-4-NP, η 2,6-δίχλωρο-4-NP, η τριχλωροφαινόλη, η 4-πρόπυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, η 4-ισοβούτυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, η 4-ισοαμυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη και η 4-ισοπεντυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη. Το πείραμα

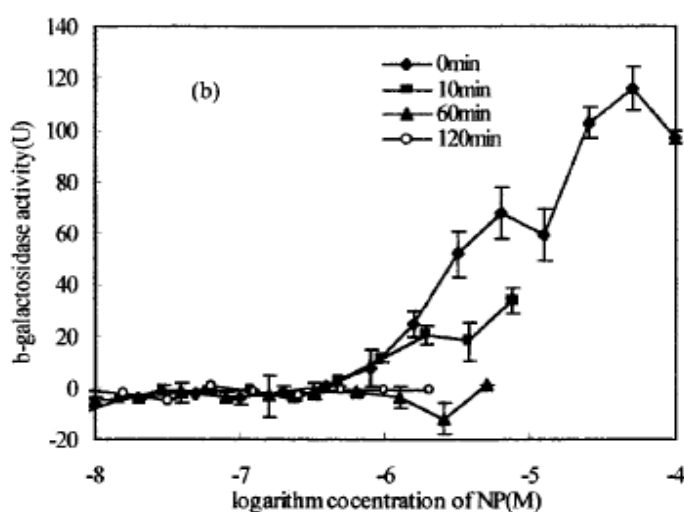
πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 2 mg/L NP σε 4 L υπερκάθαρου νερού, σε θερμοκρασία 25°C και τιμή pH 7,5. Αφαιρέθηκε μισό λίτρο από το διάλυμα πριν χλωριωθεί ώστε να μελετηθεί η οιστρογονική δραστηριότητα πριν τη χλωρίωση και στο εναπομείναν δείγμα προστέθηκε υποχλωριώδες νάτριο ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 1,3 mg/L. Έπειτα λήφθηκαν δείγματα σε 10, 60, 120, 180, 240 και 600 min αντίστοιχα. Από το πείραμα φάνηκε πως από τα πρώτα κιόλας 10 λεπτά η NP αντέδρασε με το υποχλωριώδες νάτριο δίνοντας τα πρώτα παράγωγα τα οποία ήταν η 2-χλώρο-4-NP (MCNP) και η 2,6-δίχλωρο-4-NP (DCNP). Ωστόσο με τη πάροδο μιας ώρας δεν ανιχνεύθηκε καθόλου NP αλλά ούτε και τα προηγούμενα παράγωγά της και το νέο σχηματιζόμενο προϊόν ήταν η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη (TCP) καθώς και 4 ακόμη προϊόντα σε μικρότερες ποσότητες από ότι η τριχλωροφαινόλη. Ο σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης αποδεικνύει διάσπαση του δεσμού μεταξύ του α-C και του β-C του βενζολίου. Επιπλέον από το GC-MS ανιχνεύθηκαν τέσσερις ακόμα ενώσεις σε μικρότερες ποσότητες οι οποίες έπειτα από ταυτοποίηση ήταν η 4-πρόπτυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, η 4-ισοβούτυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, η 4-ισοαμυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη και η 4-ισοπεντυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη. Οι δομές αυτές προέκυψαν πιθανώς από την διάσπαση του α-C και του β-C της ενολικής ρίζας της διχλωροφαινόλης σχηματίζοντας έτσι τα 4 προηγούμενα προϊόντα όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.3.5 : Διαδικασία αντίδρασης μέσω υποκατάστασης του χλωρίου μεταξύ της NP και του υποχλωριώδους νατρίου και σχηματισμός των προϊόντων τους (όπου A: 4-πρόπτυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, B: 4-ισοαμυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη, C: 4-ισοβούτυλο-2'-ύδροξυ-φαινόλη, D: 4-ισοπεντυλική-2'-ύδροξυ-φαινόλη) (Ying-Hu et al, 2002)

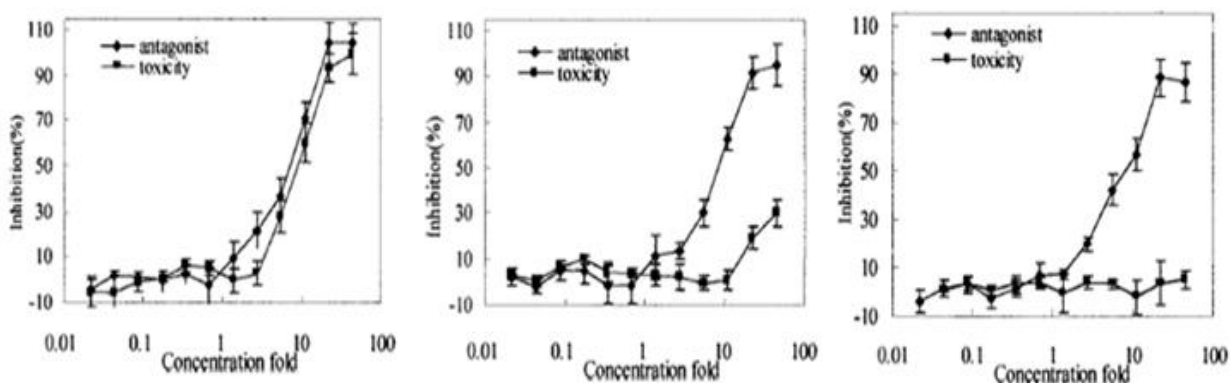
Επίσης να επισημάνουμε πως ανάλογα με το χρόνο χλωρίωσης η αναλογία των παραγόμενων προϊόντων μεταβαλλόταν. Διαπιστώθηκε λοιπόν πως η NP αντέδρασε άμεσα με το υποχλωριώδες νάτριο και το 84% περίπου αυτής είχε απομακρυνθεί από τα 10 πρώτα λεπτά της χλωρίωσης και μεταξύ των 10 και 60 λεπτών της διαδικασίας κυρίαρχες ποσοτικά ενώσεις ήταν η μονοχλωριωμένη και η διχλωριωμένη NP, ενώ ο σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης και των άλλων τεσσάρων παραγώγων πραγματοποιήθηκε μετά την πάροδο των 120 λεπτών. Να σημειωθεί πως ο σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης άρχισε να πραγματοποιείται μετά την απομάκρυνση όλης της NP. Οδηγούμαστε έτσι στο συμπέρασμα ότι η τριχλωροφαινόλη σχηματίζεται από την αντίδραση μεταξύ της διχλωροφαινόλης και του υποχλωριώδους νατρίου. Συνοψίζοντας λοιπόν τις παραπάνω παρατηρήσεις, καταλήγουμε πως η διαδικασία της χλωρίωσης περιλαμβάνει μια αντίδραση υποκατάστασης του χλωρίου ακολουθούμενη από υδρόλυση, αντιδράσεις υποκατάστασης του χλωρίου ακολουθούμενες από διάσπαση του α-C της ενολικής ρίζας και του β- C της βενζολικής και τέλος, άλλη μια αντίδραση υποκατάστασης του χλωρίου ακολουθούμενη από τη διάσπαση του α-C και του β-C της ενολικής ρίζας του μορίου της NP.

Στην ίδια μελέτη προκειμένου να διερευνηθεί η οιστρογονική δραστικότητα των παραγώγων της χλωρίωσης της NP χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα ζύμης τα οποία εκτέθηκαν σε χλωριωμένο διάλυμα NP και τα αποτελέσματα για τα δείγματα που είχαν χλωριωθεί κατά 0, 10, 60 και 120 λεπτά και τα αποτελέσματα από την δραστικότητα της β- γαλακτοζιδάσης φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.3.6 : Διάγραμμα δόσης – απόκρισης της οιστρογονικής δραστικότητας σε χλωριωμένο υδατικό διάλυμα NP στο οποίο έχει προστεθεί καλλιέργεια ζυμών (Ying-Hu et al, 2002)

Η δραστικότητα της β-γαλακτοζιδάσης που προκαλείται σε υδατικό διάλυμα χλωρίωσης για χρόνο 10 min είναι ίση με το 30% της αρχικής πριν τη χλωρίωση για υπολειμματική συγκέντρωση NP ίση με $10^{-5}M$. ενώ για χρόνο χλωρίωσης ίσο με 60 και 120 min δεν ανιχνεύθηκε δραστικότητα της β-γαλακτοζιδάσης ακόμα και για συγκεντρώσεις NP στις οποίες αναμενόταν παρουσία β-γαλακτοζιδάσης. Αυτό σημαίνει πως κάποια από τα παραγόμενα προϊόντα εμφάνιζαν ανταγωνιστική δράση ως προς τη β-γαλακτοζιδάση.

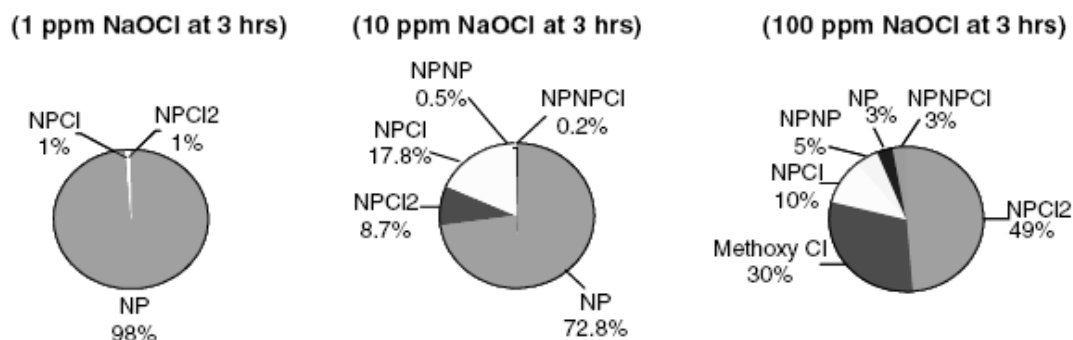


Εικόνα 2.3.7 : Καμπύλες δόσης – απόκρισης της ανταγωνιστικής δράσης και της τοξικότητας κατά τα 10, 60 και 120 min χλωρίωσης (Ying-Hu et al, 2002)

Στο παραπάνω σχήμα φαίνεται η σχέση δόσης – απόκρισης της ανταγωνιστικότητας και της τοξικότητας που εμφάνισαν τα προϊόντα κατά τη χλωρίωση της NP για χρόνους 10, 60 και 120 min. Στον άξονα ψ εμφανίζεται το ποσοστό παρεμπόδισης της δραστικότητας της β-γαλακτοζιδάσης. Οι τιμές IC_{50} της ανταγωνιστικής δραστικότητας για 10 λεπτά χλωρίωσης αντιστοιχεί σε περίπου 10-πλάσια συγκέντρωση η οποία βρίσκεται κοντά στην τιμή IC_{50} της τοξικότητας, γεγονός που δηλώνει πως η παρεμπόδιση της επαγωγικής δραστικότητας της β-γαλακτοζιδάσης προέκυψε από την τοξικότητα και όχι από την παρουσία χλωριωμένων παραγώγων στο υδατικό μέσο. Αντιθέτως, για 60 min χλωρίωσης, ενώ η τιμή IC_{50} για την εμφάνιση ανταγωνιστικής δράσης ήταν επίσης 10-πλάσια, παρατηρήθηκε παρεμπόδιση 30% σε 45-πλάσια όμως συγκέντρωση στο πείραμα τοξικότητας, συνεπώς η αναστολή της δραστικότητα αυτή τη φορά οφείλεται στην παρουσία χλωριωμένων προϊόντων. Η διαφορά αυτή οφείλεται προφανώς στα διαφορετικά ποσοστά αφθονίας της NP στα δύο διαλύματα κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης καθώς στα πρώτα 10 min παρατηρείται πληθώρα μονοχλωριωμένων παραγώγων που δεν παρατηρείται στα 60 min και αντίστροφα για τα διχλωριωμένα παράγωγα. Η ύπαρξη μονοχλωριωμένων παραγώγων στα 10 πρώτα λεπτά

έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση τοξικότητας. Τέλος να τονίσουμε πως για την περίπτωση των 120 min χλωρίωσης, παρότι τα αποτελέσματα είναι παρόμοια όσον αφορά την ανταγωνιστικότητα και την τοξικότητα με αυτά για τα 60 min, τα είδη των προϊόντων και η τα ποσοστά παρουσίας τους διαφέρουν στους δυο χρόνους χλωρίωσης (Ying-Hu *et al*, 2002).

Σε άλλη μελέτη ο Thurman (2006), προσδιόρισε τα παραγόμενα προϊόντα από τη χλωρίωση της NP σε συνάρτηση της συγκέντρωσης χλωρίου που χρησιμοποιήθηκε. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία 25⁰C και τιμή pH 7,5 ενώ για τη δημιουργία διαλύματος χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό και NP συγκέντρωσης 100 ng/L. Για τη χλωρίωση του διαλύματος χρησιμοποιήθηκε υποχλωριώδες νάτριο σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 100 ppm. Για την χαμηλότερη τιμή υποχλωριώδους νατρίου (1ppm) παρατηρήθηκε πως η αντίδραση με την NP ήταν άμεση και τα παραγόμενα προϊόντα ήταν η μονοχλωριωμένη και η διχλωριωμένη NP, με την πρώτη να υπερτερεί. Για την περίπτωση όπου προστέθηκε υποχλωριώδες νάτριο συγκέντρωσης 10ppm παρατηρήθηκαν και πάλι τα ίδια προϊόντα με τη διαφορά ότι στην περίπτωση αυτή είχαμε μετασχηματισμό της μονοχλωριωμένης NP σε διχλωριωμένη. Τέλος κατά την προσθήκη της μεγαλύτερης τιμής συγκέντρωσης παρατηρήθηκε ο σχηματισμός μιας ποικιλίας προϊόντων συμπεριλαμβανομένων δυο ισομερών του διμερούς του διφαινυλεθέρα της NP και άλλων δυο ισομερών του διφαινυλεθέρα της μονόχλωρο-NP. Οι ενώσεις αυτές σχηματίστηκαν αμέσως πριν την πάροδο 3 ωρών κατά τη χρήση συγκέντρωσης 100 ppm υποχλωριώδους νατρίου. Επίσης παρατηρήθηκε ότι ο σχηματισμός της τριχλωρο-NP υστερούσε σε σχέση με το σχηματισμό του διμερούς του αιθέρα της NP παρά τη συνεχή χλωρίωση. Το ίδιο συνέβη και για την περίπτωση του διμερούς του αιθέρα της διχλωριωμένης NP. Αυτό αποδεικνύει πως ο σχηματισμός του διφαινυλεθέρα προτιμάται από το σχηματισμό του διφαινυλεθέρα της χλωριωμένης NP. Ένας πιθανός λόγος του φαινομένου αυτού είναι πως το διμερές επηρεάζεται λιγότερο από το χλώριο και είναι λιγότερο δραστικό λόγω της αδρανοποίησης κατά το διμερισμό. Στοιχεία που επιβεβαιώνουν την υπόθεση αυτή είναι πως οι αναλογίες των ισομερών του διμερούς ήταν οι ίδιες μεταξύ χλωριωμένων και μη δειγμάτων. Τέλος, ο σχηματισμός τριμερών της NP ήταν μηδενικός. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται οι αναλογίες των προϊόντων που σχηματίστηκαν.



Εικόνα 2.3.8 : Προϊόντα χλωρίωσης όπως προσδιορίστηκαν με χρήση υγρής χρωματογραφίας, για διαφορετικές τιμές συγκέντρωσης υποχλωριώδους νατρίου σε χρόνο 3 ωρών (Thurman, 2006)

Όπως φαίνεται και από τα παραπάνω διαγράμματα τα κύρια προϊόντα που εμφανίζονται στη χαμηλότερη δόση υποχλωριώδους νατρίου είναι η μονοχλωριωμένη και η διχλωριωμένη NP και αποτελούν το 2% του συνόλου μετά από το πέρας 3 ωρών χλωρίωσης. Να τονίσουμε στο σημείο αυτό πως οι αναλογίες αυτές παρατηρούνται συνήθως σε περιπτώσεις χλωρίωσης σε βιομηχανική κλίμακα. Για συγκέντρωση 10 ppm ο σχηματισμός των προϊόντων ήταν ταχύτερος και ποσοστό σχεδόν 30% δημιουργήθηκε με τα σημαντικότερα εξ αυτών να είναι κατά σειρά 4-NPCl, 4-NPCl₂, 4-NP-DPE, 4-NPCl-DPE και ίχνη μέθοξυ- αντιδρώντων. Για την περίπτωση των 100 ppm παρατηρήθηκε διάσπαση του 97% της 4-NP και οι αναλογίες των παραγώγων που ανιχνεύτηκαν ήταν 4-NPCl₂, 4-μέθοξυ-NP, 4-NPCl, 4-NP-DPE και 4-NPCl-DPE σε φθίνουσα σειρά. Παρατηρούμε ότι η περαιτέρω χλωρίωση οδήγησε στο μετασχηματισμό της μονοχλωριωμένης NP σε διχλωριωμένη καθώς οι μέθοξυ- ενώσεις που ανιχνεύθηκαν είναι πολύ πιθανό να οφείλονται στη χρήση του διαλύματος 10% μεθανόλης που χρησιμοποιήθηκε όπως απαιτούσε η εφαρμογή της μεθόδου. Ωστόσο, η παρατήρηση αυτή είναι εξαιρετικά σημαντική καθώς, όπως έχει αποδειχθεί και σε άλλες μελέτες, η κινητική που εκφράζει τη διάσπαση της 4-NP προτείνει ταχύτερους ρυθμούς διάσπασης από τους αναμενόμενους, όπως σε περιπτώσεις λυμάτων, γεγονός που οφείλεται στο σχηματισμό μέθοξυ- αντιδρώντων στην περίπτωση πειραμάτων εργαστηριακής κλίμακας σε σχέση με επιτόπιες μελέτες σε μονάδες επεξεργασίας.

2.3.7. Απομάκρυνση της NP με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Snyder *et al* (2006), σε πειράματά τους αξιολόγησαν την απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα δυο ειδών ενεργοποιημένης σκόνης και ενεργοποιημένων κόκκων. Όσον αφορά τον ενεργό άνθρακα με τη μορφή σκόνης χρησιμοποιήθηκαν δυο εμπορικοί τύποι που ονομάζονται AC800 και WPM. Για την περίπτωση του ενεργού άνθρακα με τη μορφή σκόνης τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια δυο λίτρων τα οποία περιείχαν 1,5 λίτρα νερό βρύσης και τοποθετήθηκαν για ανάδευση σε εξαθέσιο jar tester. Ο χρόνος επαφής στο διάλυμα ήταν 4 ώρες και ακολούθησε 1 ώρα καθίζησης. Οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν ήταν 1,5 και 50 mg/L. Το υπερκείμενο υγρό συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε με φίλτρα Whatman GF/F για την απομάκρυνση υπολειμμάτων PAC. Στο διάλυμα προστέθηκαν ουσίες τελικής συγκέντρωσης 100 ng/L. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια καθαρή σχέση εξάρτησης από τη συγκέντρωση του PAC και το χρόνο επαφής. Συγκεκριμένα η απομάκρυνση της NP κατά τη χρήση PAC WPM 5 mg/L έφτασε το 52% της αρχικής συγκέντρωσης.

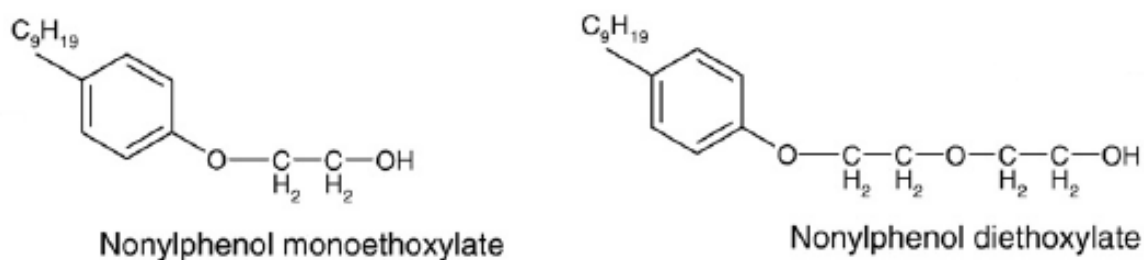
Επίσης οι Choi *et al* (2005), σε πειράματά τους χρησιμοποίησαν ενεργό άνθρακα με μορφή κόκκων, διαφορετικών όμως υλικών προέλευσης, για την απομάκρυνση της NP. Το πρώτο είδος ενεργού άνθρακα που επιλέχθηκε είχε ως υλικό βάσης λιθάνθρακα (CB-0), το δεύτερο ξύλο (WB-0) και το τρίτο φλοιό καρύδας (CO-0). Επίσης χρησιμοποιήθηκαν ήδη χρησιμοποιημένοι ενεργοί άνθρακες (CB-2.2, CB-5.9, CO-3.1, WB-3.1) από κοντινές μονάδες επεξεργασίας λυμάτων με διάρκεια χρήσης 2,2 ως 5,9 έτη. Επίσης συλλέχθηκαν δείγματα νερού από κοντινό ποτάμι το οποίο λειτουργούσε ως αποδέκτης των εξερχόμενων λυμάτων και χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης στο πείραμα. Οι χρησιμοποιημένοι άνθρακες ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό, με τιμές pH από 6-8 και οδηγήθηκαν για ξήρανση στους 105⁰C. Από τη μελέτη προέκυψε πως αυτή η μέθοδος είναι κατάλληλη για την απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών με υψηλή τιμή K_{ow} . Η ισόθερμη ρόφησης προέκυψε για θερμοκρασία 25⁰C, χρόνο επαφής 5 ημερών και μείωση του μεγέθους κόκκων 200 φορές μικρότερο. Σε σύστημα με στήλες διαμέτρου 20 mm η καθεμιά και ροή νερού 2 ml/min προστέθηκε NP με συγκέντρωση 500 μg/L. Η διάμετρος του άνθρακα ήταν 30 cm και ο χρόνος επαφής με άδεια στήλη ήταν 15 λεπτά. Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε χρήση της ισόθερμης Freundlich. Όπως ήταν αναμενόμενο προέκυψε εξάρτηση μεταξύ της σταθεράς Freundlich (K_F) και της K_{ow} . Η σταθερά Freundlich εκφράζει

την ικανότητα προσρόφησης του προσροφητικού μέσου ενώ η K_{ow} την υδροφοβικότητα της ουσίας. Μεγαλύτερη τιμή K_{ow} σημαίνει μεγαλύτερη υδροφοβικότητα της ουσίας συνεπώς και μεγαλύτερη K_f . Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως η απομάκρυνση της NP ήταν ικανοποιητική για όλα τα είδη πλην WB-3.1. Επίσης οι μη χρησιμοποιημένοι άνθρακες ήταν περισσότερο αποδοτικοί από του υπόλοιπους ωστόσο και οι δύο παρουσίασαν τον ίδιο τρόπο δράσης, δηλαδή υψηλή αρχική απομάκρυνση και μείωση του ρυθμού κατά την λειτουργία, γεγονός που δηλώνει πως η NP αφαιρέθηκε εξ αρχής με προσρόφηση. Με κριτήριο τώρα το χρόνο επαφής ώστε η συγκέντρωση στα λύματα να φτάσει στο επιθυμητό επίπεδο των 15 $\mu\text{g/L}$ ο CB-0 ήταν ο περισσότερο αποτελεσματικός και ο λιγότερο ο CO-0. Επίσης προσδιορίστηκε ο χρόνος ώστε να ανιχνευθεί στην έξοδο του συστήματος η NP με το μεγαλύτερο χρόνο να έχει ο CO-0 (29 ημέρες) και το μικρότερο ο CB-0 (11 ημέρες). Όπως ήταν αναμενόμενο οι χρόνοι ήταν μικρότεροι για τους χρησιμοποιημένους άνθρακες. Τέλος, ο ρυθμός προσθήκης έδειξε πως μικρότερες ποσότητες CO-0 και WB-0 απαιτήθηκαν για την αντιμετώπιση της NP. Συγκεκριμένα 0,026 g/d και 0,018 g/d απαιτήθηκαν για το WB-0 και το CO-0 αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές αυξήθηκαν για τους χρησιμοποιημένους άνθρακες. Γενικά από τα ληφθέντα αποτελέσματα προκύπτει το συμπέρασμα πως η προσρόφηση με ενεργό άνθρακα σε μορφή κόκκων απομάκρυνε αποτελεσματικά την NP.

2.4. Nonylphenol-1-ethoxylate (NPE₁O), nonylphenol-2-ethoxylate (NPE₂O)

2.4.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Η εννεύλοφαινόλη είναι η πιο σταθερή ένωση που προκύπτει από τη διάσπαση των αλκυλοφαινολών (APs) σε αιθοξυλιωμένες φαινόλες (APEOs). Στη συνέχεια οι πολυαιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες (NPE_nO_s) μεταβολίζονται σε μόνο-αιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη (NPE₁O) και δι-αιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη (NPE₂O).



Εικόνα 2.4.1 : Χημική δομή των NPE₁O και NPE₂O (Ying et al, 2002)

Το μοριακό βάρος της NPE₁O είναι 264,41 και η διαλυτότητά της στο νερό στους 20⁰C ίση με 3,02 mg/L. Ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης - νερού (K_{ow}) είναι ίσος με 4,17. Αντίστοιχα η NPE₂O έχει μοριακό βάρος 308,46 και η διαλυτότητά της στο νερό είναι 3,38 mg/L. Επίσης ο συντελεστής K_{ow} ισούται με 4,21. Τόσο για την NPE₁O όσο και για την NPE₂O παρατηρούμε πως η τιμές των συντελεστών K_{ow} είναι αρκετά υψηλές γεγονός που εξηγεί την υδρόφοβη φύση τους και την τάση τους για προσρόφηση στη στερεά φάση. Τέλος οι σταθερές προσρόφησης σε οργανικό άνθρακα (K_{oc}) για την NPE₁O και την NPE₂O είναι 288,403 και 151,356 (1/Kg) αντίστοιχα (Ying et al, 2002).

2.4.2. Παραγωγή και χρήσεις

Οι αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες (APEs) αποτελούν μια κατηγορία επιφανειοδραστικών ουσιών που παράγονται από την αντίδραση των APs με οξείδιο του αιθυλενίου. Κάθε μόριο APE αποτελείται από δυο μέρη την άλκυλο αλυσίδα και την αιθοξυλική ρίζα, δομή που καθιστά τις APEs διαλυτές στο νερό και βοηθά στην απομάκρυνση της βρωμιάς και των λιπών από τις λερωμένες επιφάνειες στο νερό. Οι APEs

χρησιμοποιούνται ως απορρυπαντικά, διαβρέκτες, μέσα διασποράς, γαλακτωματοποιητές, διαλύτες και διογκωτικούς παράγοντες. Είναι χρήσιμες σε διάφορες σημαντικές βιομηχανικές εφαρμογές όπως στην παραγωγή χαρτοπολτού και χαρτιού, σε κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, επιχρίσματα, γεωργικά φυτοφάρμακα, λιπαντικά και έλαια, καύσιμα, μέταλλα και πλαστικά. Οι βιομηχανικές εφαρμογές αποτελούν το 55% της αγοράς ΑΡΕ. Οι υπόλοιπες χρήσεις περιλαμβάνουν βιομηχανικά και επαγγελματικά προϊόντα καθαρισμού (30%), οικιακά προϊόντα καθαρισμού (15%), και διάφορες άλλες χρήσεις (<1%). Οι πιο σημαντικοί εμπορικά ΑΡΕs είναι οι ΟΡΕs και οι ΝΡΕΟs. Οι ΝΡΕΟs αντιπροσωπεύουν το 80% της συνολικής χρήσης των ΑΡΕs. Περίπου 500.000 τόνοι παράγονται ετησίως παγκοσμίως, 60% των οποίων καταλήγουν στο υδάτινο περιβάλλον (Ying *et al*, 2002).

2.4.3. Εμφάνιση στο περιβάλλον

Παρότι τόσο οι ΑΡΕs όσο και τα παραπροϊόντα τους ΝΡ, ΟΡ, ΝΡΕ₁₋₃Ο εμφανίζουν υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων, έχουν ανιχνευθεί σε πολλές περιπτώσεις στα εξερχόμενα λύματα εγκαταστάσεων επεξεργασίας αστικών λυμάτων. Παρότι οι ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις ποικίλλουν στις διάφορες μονάδες επεξεργασίας, όλες βρίσκονται κάτω από το ισχύον όριο ανίχνευσης που θέτει η νομοθεσία (343 µg/L). Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται ενδεικτικά οι συγκεντρώσεις σε διάφορες χώρες.

Πίνακας 2.4.1 : Συγκέντρωση ΝΡΕ₁Ο και ΝΡΕ₂Ο σε εξερχόμενα λύματα εγκαταστάσεων και επιφανειακά νερά διαφόρων χωρών (Ying *et al*, 2002)

	Χώρα	Συγκέντρωση (µg/L)	
		ΝΡΕ ₁ Ο	ΝΡΕ ₂ Ο
Εξερχόμενα λύματα	Ελβετία	30-65	47-77
	Ιταλία	2-27	
	Ιαπωνία	0,21-2,96	-
	ΗΠΑ	5,5	0,8
Επιφανειακά νερά	Ελβετία	2-20	0,8-21
	Ηνωμένο Βασίλειο	-	0,6-32
	Ιαπωνία	0,04-0,81	
	ΗΠΑ	0,06-0,6	0,07-1,2

Επίσης στον Καναδά σε 35 δείγματα που συλλέχθηκαν από επιφανειακά νερά, διαφορετικών περιοχών στο 58% αυτών ανιχνεύτηκε NPE₁O και στο 32% NPE₂O σε συγκεντρώσεις της τάξεως των µg/L. Επίσης διαπιστώθηκε πως για τα δείγματα που συλλέχθηκαν από τις ίδιες περιοχές κατά τη διάρκεια χειμερινών περιόδων οι συγκεντρώσεις ήταν αυξημένες (Ying *et al*, 2002).

Επίσης οι Stasinakis *et al* (2008), σε μελέτη τους προσδιόρισαν την παρουσία και την συμπεριφορά των NPE₁O και NPE₂O σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων στον ελληνικό χώρο. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σε 6 μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων διαφορετικού μεγέθους. Ο προσδιορισμός των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με χρήση αέριου χρωματογράφου. Οι μέσες τιμές των NPE₁O και NPE₂O στα εισερχόμενα λύματα ήταν 5,76 και 3,99 µg/L αντίστοιχα και στα εξερχόμενα 0,89 και 1,84 µg/L. Όσον αφορά την παρουσία τους στα δείγματα λάσπης η μέση τιμή των συγκεντρώσεων που ανιχνεύτηκαν ήταν 12,3 και 6,14 µg/L για την NPE₁O και NPE₂O αντίστοιχα.

2.4.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Οι Staples *et al* (1998), σε αναφορά τους προσδιόρισαν τους παράγοντες βιοσυγκέντρωσης και βιοσυσσώρευσης των NPE₁O και NPE₂O σε υδάτινους οργανισμούς. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.4.2 : Προσδιορισμός του παράγοντα βιοσυσσώρευσης των NPE₁O και NPE₂O σε υδάτινους οργανισμούς (Staples *et al*, 1998)

	Οργανισμός	BAF (L/Kg)	Παρατηρήσεις
Ψάρια			
NPE ₂ O	<i>Barbus barbus</i>	37	Μελέτη πεδίου, μυϊκός ιστός, υπολογισμός από ξηρή σε υγρή βάση υποθέτοντας 85% νερό
NPE ₁ O		19	
NPE ₂ O	<i>O. Mykiss</i>	0,8	Μελέτη πεδίου, μυϊκός ιστός, υπολογισμός από ξηρή σε υγρή βάση υποθέτοντας 85% νερό
NPE ₁ O		3	
NPE ₂ O	<i>Squalus</i>	2	Μελέτη πεδίου, μυϊκός ιστός, υπολογισμός από ξηρή σε υγρή βάση υποθέτοντας 85% νερό
NPE ₁ O	<i>Cephalus</i>	1	
Ασπόνδυλα			
NPE ₂ O	<i>Mytilus edulis</i>	100	Μελέτη πεδίου με κλουβιά μυδιών, εισαγωγή NPEs γνωστής συγκέντρωσης
NPE ₁ O		170	
Άλλα			
NPE ₂ O	<i>Cladophora</i>	23	Μελέτη πεδίου με υπολογισμό από ξηρής σε υγρή βάση υποθέτοντας 95% νερό
NPE ₁ O	<i>glomerata</i>	10	
NPE ₂ O	<i>Fontinalis</i>	3	Μελέτη πεδίου με υπολογισμό από ξηρής σε

NPE ₁ O	<i>antipyretica</i>	2	υγρή βάση υποθέτοντας 95% νερό
NPE ₂ O	<i>Potamogeton</i>	10	Μελέτη πεδίου με υπολογισμό από ξηρής σε υγρή βάση υποθέτοντας 95% νερό
NPE ₁ O	<i>crispus</i>	2	

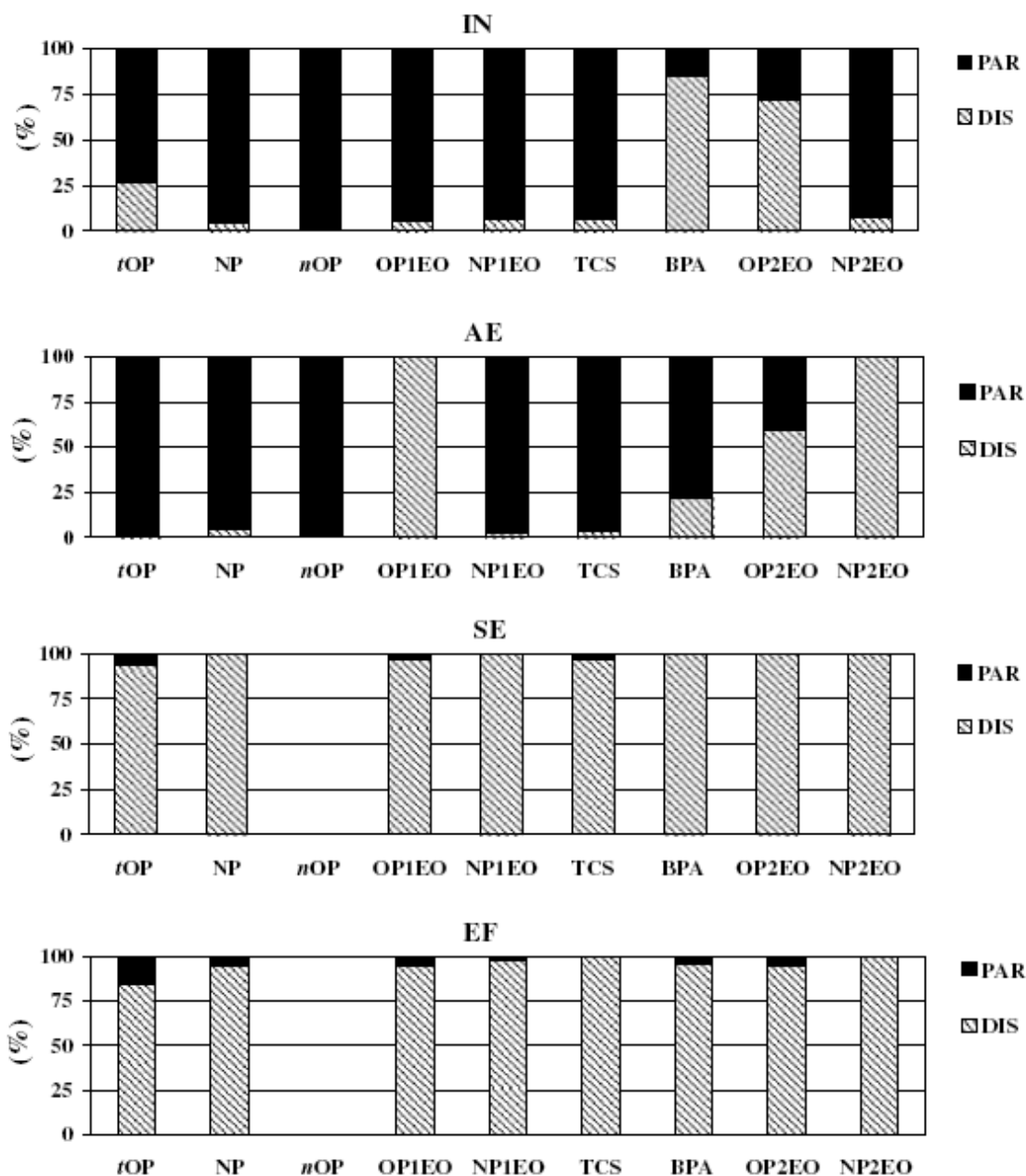
Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πως οι NPE₁₋₂Os διαθέτουν χαμηλό δυναμικό βιοσυσσώρευσης με βάση τις μετρήσεις σε οργανισμούς όπως ψάρια, ασπόνδυλα και άλγη.

2.4.5. Βιοαποδόμηση

Οι μετρούμενες τιμές απομάκρυνσης των NPE₁₋₂Os από μονάδες επεξεργασίας λυμάτων ποικίλουν από χώρα σε χώρα και ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν. Στις ΗΠΑ τα ποσοστά απομάκρυνσης κυμαίνονται από 93 ως 99%. Στην Ιαπωνία από 86 ως 99% τους φθινοπωρινούς μήνες και από 66 ως 99% τους χειμερινούς. Στην Ιταλία διαπιστώθηκαν ποσοστά απομάκρυνσης από 74 ως 98% και στην Ελβετία το μέσο ποσοστό απομάκρυνσης ήταν 74%. Οι όποιες διαφορές σε αρκετές περιπτώσεις οφείλονται και στον διαφορετικό τρόπο λειτουργίας των εγκαταστάσεων επεξεργασίας. Στις ΗΠΑ βρέθηκαν περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση των NPEOs έφτασε τα 33,7 mg/L και στην έξοδο των ίδιων εγκαταστάσεων η συγκέντρωση κυμαινόταν από 260 µg/L ως και λιγότερο των 5 µg/L (Ying *et al*, 2002).

Οι Photidou και Voutsas (2008), μελέτησαν την ύπαρξη και απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών σε συστήματα επεξεργασίας λυμάτων στον Ελληνικό χώρο, ένα εκ των οποίων δεχόταν αστικά λύματα και άλλα δύο βιομηχανικά απόβλητα κυρίως από βυρσοδεψεία και κλωστοϋφαντουργεία. Οι συγκεντρώσεις των ουσιών κατά μήκος της μονάδας επεξεργασίας εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα. Χωρίζονται σε δυο μέρη αυτές οι οποίες βρίσκονται σε διαλυτή μορφή και αυτές σε σωματιδιακή. Όσον αφορά το διαλυτό μέρος, παρότι οι NPE₁O και NPE₂O εμφανίστηκαν σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις στην είσοδο, 466-4025 ng/L και 490-2670 ng/L αντίστοιχα, η απομάκρυνσή τους ήταν σημαντική καθώς οι συγκεντρώσεις στην έξοδο ήταν σημαντικά μικρότερες της τάξης των 13-573 και 26-216 ng/L αντίστοιχως. Για την περίπτωση που οι ουσίες αυτές εμφανίστηκαν με τη σωματιδιακή μορφή οι τιμές συγκεντρώσεων στην είσοδο ανερχόταν στα 152 και 92 ng/mg για την NPE₁O και NPE₂O, αντίστοιχα. Επίσης υψηλή συγκέντρωση NPE₁O ανιχνεύθηκε σε δείγματα λάσπης (1080 ng/g) τιμή αρκετά χαμηλότερη από αυτήν του κανονισμού για

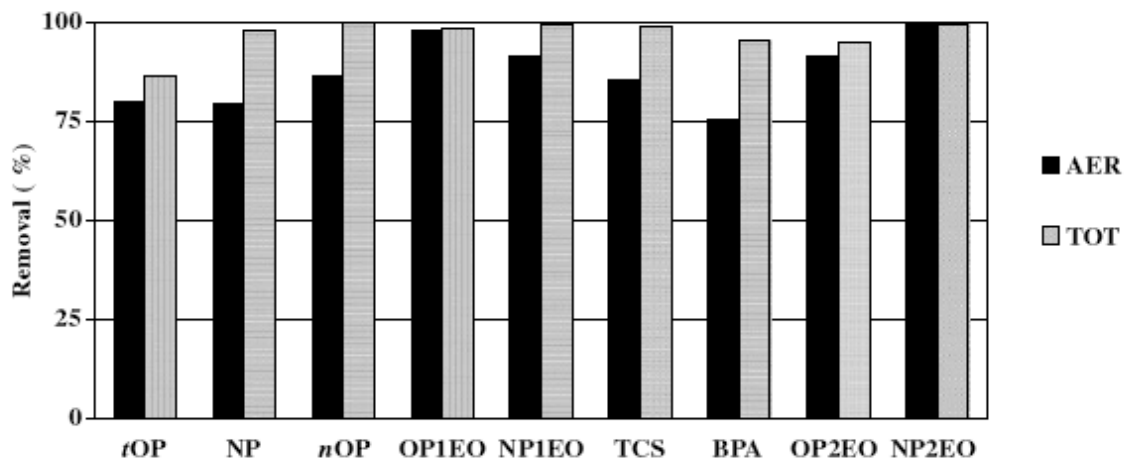
ασφαλή διάθεση σε αγροτικές δραστηριότητες (50 mg/Kg). Επίσης προσδιορίστηκε η κατανομή των μελετώμενων ουσιών στο διαλυμένο και το σωματιδιακό κλάσμα. Η κατανομή αυτή στα διάφορα στάδια επεξεργασίας παρουσιάζεται στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 2.4.2 : Κατανομή ενδοκρινικών μεταξύ διαλυτής και σωματιδιακής φάσης σε διάφορες φάσεις της επεξεργασίας (IN: Είσοδος λυμάτων, AE: Αερόβια επεξεργασία, SE: Δευτεροβάθμια καθίζηση, EF: Έξοδος λυμάτων) (Pothitou and Voutsas, 2008)

Παρατηρούμε πως για τις εξεταζόμενες ενώσεις το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών (>75%) βρέθηκε στα εισερχόμενα λύματα στα αιωρούμενα σωματίδια. Ωστόσο κατά την επεξεργασία των λυμάτων το ποσοστό που εντοπίστηκε στη διαλυτή φάση αυξήθηκε

σημαντικά για να κυριαρχήσει στη τελικά επεξεργασμένα λύματα. Το ποσοστό απομάκρυνσης των NPE_1O και NPE_2O κυμάνθηκε στο 99%, με τη μεγαλύτερη τιμή να επιτυγχάνεται στην αερόβια δεξαμενή, επισημαίνοντας έτσι τον καταλυτικό ρόλο της βιολογικής επεξεργασίας στην απομάκρυνση ενδοκρινικών ουσιών (Εικόνα 2.4.3).

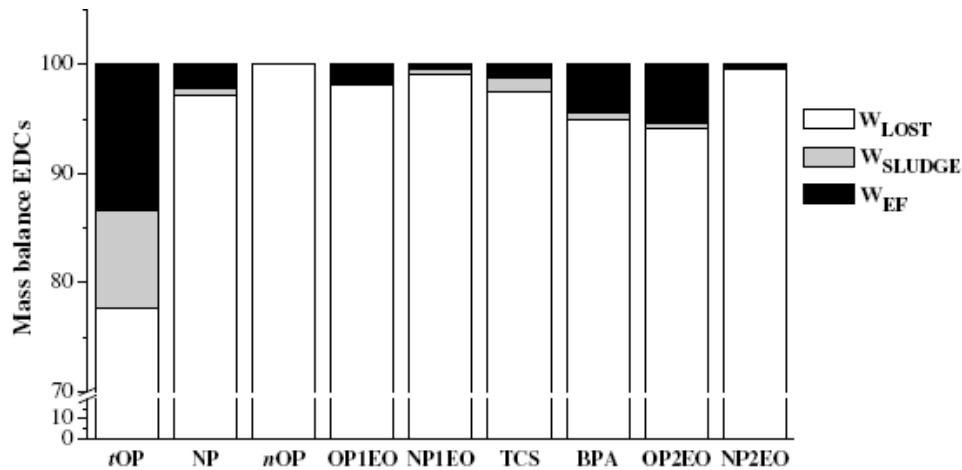


Εικόνα 2.4.3 : Συγκριτικό διάγραμμα των ποσοστών απομάκρυνσης κατά την αερόβια επεξεργασία (AER) και κατά τη συνολική (TOT) (Pothitou and Voutsas, 2008)

Οι κυρίαρχες διεργασίες για την απομάκρυνση των ενδοκρινικών και συγκεκριμένα των NPE_1O και NPE_2O είναι η ρόφηση και η βιοαποδόμηση. Στη συγκεκριμένη μελέτη προκειμένου να αξιολογηθεί η συμβολή των διεργασιών αυτών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας υπολογίστηκε το φορτίο μάζας (W_{lost}) που απομακρύνθηκε σε κάθε διεργασία, με χρήση της παρακάτω εξίσωσης.

$$W_{lost} = (Q_{in} \cdot C_{in}) - (Q_{out} \cdot C_{out}) - W_{sludge}$$

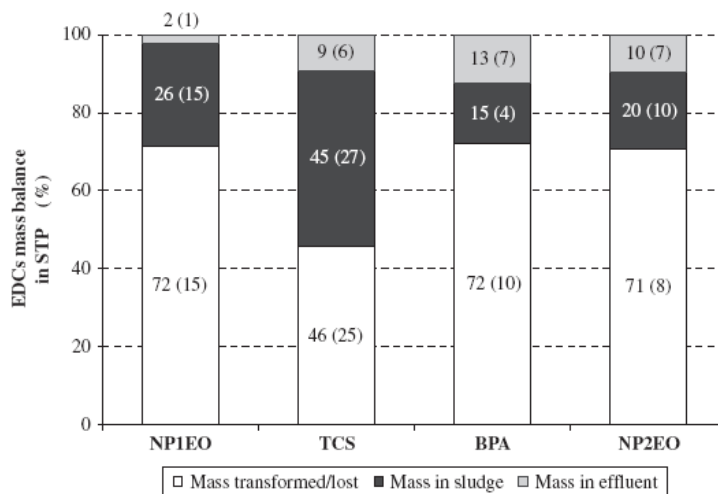
Όπου Q_{in} και Q_{out} η ροή εισόδου και εξόδου αντίστοιχα, C_{in} και C_{out} οι συγκεντρώσεις εισόδου και εξόδου αντίστοιχα και W_{sludge} η αφαιρούμενη μάζα από τη λάσπη. Τα ποσοστά απομάκρυνσης φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.4.4 : Απομάκρυνση ενδοκρινικών σε κάθε φάση επεξεργασίας (Pothitou and Voutsas, 2008)

Αν και όπως αναφέραμε οι διεργασίες της βιολογικής απομάκρυνσης είναι οι κυρίαρχες σε ένα σύστημα απομάκρυνσης η απομάκρυνση επηρεάζεται και από διάφορους άλλους παράγοντες όπως το εισερχόμενο φορτίο, ο εγκλιματισμός της βιομάζας, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (Pothitou and Voutsas, 2008).

Επιπρόσθετα οι Stasinakis *et al* (2008), σε μελέτη τους προσδιόρισαν την απομάκρυνση αρκετών ενδοκρινικών διαταρακτών μεταξύ των οποίων NPE₁O και NPE₂O σε μονάδα επεξεργασίας αστικών λυμάτων. Η ουσία με το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης αποδείχθηκε η NPE₁O με το ποσοστό να φτάνει στο 98%. Σημαντικό ποσοστό όμως εμφανίστηκε και για την NPE₂O με την τιμή να φτάνει στο 91%. Αναλυτικότερα τα ποσοστά απομάκρυνσης από κάθε φάση του συστήματος παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.4.5 : Ποσοστά απομάκρυνσης ενδοκρινικών ουσιών σε κάθε φάση μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων (οι τιμές των τυπικών αποκλίσεων) (Stasinakis *et al*, 2008)

2.4.6. Επίδραση της χλωρίωσης στις NPE₁O και NPE₂O

Σε μελέτη του ο Thurman (2006), προσδιόρισε τα παραγόμενα προϊόντα από τη χλωρίωση των NPE₁₋₂O_s σε συνάρτηση της συγκέντρωσης χλωρίου που χρησιμοποιήθηκε. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία 25⁰C και τιμή pH 7,5 ενώ για τη δημιουργία διαλύματος χρησιμοποιήθηκε υπερκάρθο νερό και NPE₁O και NPE₂O συγκέντρωσης 100 ng/L. Για τη χλωρίωση του διαλύματος χρησιμοποιήθηκε υποχλωριώδες νάτριο σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 100 ppm. Από τα πειράματα προέκυψε πως οι δύο αυτές ενώσεις ήταν δύσκολο να διασπαστούν κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης με NaOCl αλλά ίσως ήταν δυνατό να διασπαστούν με χρήση ενός ισχυρότερου διαλύματος ClO₂. Το συμπέρασμα αυτό προέκυψε καθώς κατά την ανάλυση του χρωματογραφήματος που προέκυψε από τον αέριο χρωματογράφο εμφανίστηκαν μικρές μόνο κορυφές οι οποίες αντιστοιχούσαν σε χλωριωμένα πρωτονιωμένα μόρια των NPEOs. Επίσης ούτε μονοχλωριωμένα παράγωγα της NPE₁O ούτε μέθοξυ- αντιδρώντα βρέθηκαν μετά από διάρκεια του πειράματος μιας εβδομάδας. Το γεγονός λοιπόν πως η χλωρίωση της NPE₁O δεν ήταν άμεση για χαμηλές τιμές συγκέντρωσης NaOCl και σε ουδέτερες τιμές pH μπορεί να ερμηνευθεί με δυο τρόπους. Πρώτον από τη θεώρηση πως υπάρχει πολύ μικρότερη ενεργοποίηση των *ortho* περιοχών λόγω των αίθοξυ- υποκαταστατών και δεύτερον πως υπάρχουν σημαντικές στερικές παρεμποδίσεις που οφείλονται στις αίθοξυ- ομάδες σε σχέση για παράδειγμα με τις ύδροξυλομάδες της NP. Από τρισδιάστατα μοντέλα της NPEO έχει προκύψει πως η περιστροφή άνθρακα-οξυγόνου για το σχηματισμό ομολόγων δημιουργεί μια μεγάλη ζώνη η οποία λειτουργεί ως εμπόδιο στη «επίθεση» του HOCl για την ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση του Cl.

Επίσης οι Lenz *et al* (2004), μελέτησαν την αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης των NPE₁O και NPE₂O αρχικών συγκεντρώσεων 500 - 300.000 ng/L μέσω οξειδωτικής διεργασίας όπως η χλωρίωση χρησιμοποιώντας NaOCl συγκέντρωσης 0,5 mg/L και ClO₂ συγκέντρωσης 0,4-0,6 mg/L. Τα αποτελέσματα τα οποία προέκυψαν από ανάλυση με HPLC-MS έδειξαν πως η παρουσία του ClO₂ έδειξε υψηλή αποτελεσματικότητα στην απομάκρυνση των NPE₁O και NPE₂O της τάξης του 94% και 92% αντίστοιχα, ενώ για την περίπτωση του NaOCl εμφανίστηκε οριακή μόνο μείωση.

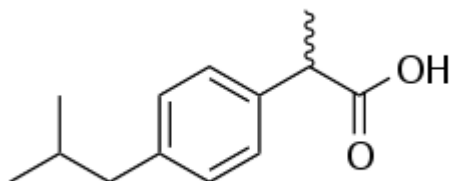
Τέλος οι Maki *et al* (1998), μελέτησαν και αυτοί την επίδραση της χλωρίωσης στα αιθοξυλιωμένα παράγωγα της NP. Η διάρκεια της χλωρίωσης ανήλθε στις 24 ώρες, η αρχική

συγκέντρωση των NPE_1O και NPE_2O ήταν 60 nM και η συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου 1 mg/L. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία 20°C, τιμή pH 7 και απουσία φωτός. Τα αποτελέσματα προέκυψαν με χρήση GC-MS και έδειξαν πως για το συνολικό χρόνο των 24 ωρών το ποσοστό απομάκρυνσης ήταν μεγαλύτερο του 90%, ενώ τα αντίστοιχα χλωριωμένα παράγωγά τους είχαν μόλις σχηματιστεί. Επίσης προκειμένου να ελέγξουν την επίδραση του pH στη διαδικασία της χλωρίωσης πραγματοποίησαν τα πειράματα διάρκειας 21 ωρών, σε διαφορετικές τιμές pH, με συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου 1 mg/L. Παρατηρήθηκε πως η απομάκρυνση των NPEOs άρχισε να μειώνεται για τιμές pH πάνω από 7. Μια ακόμη παράμετρος που εξετάστηκε ήταν η επίδραση της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου, χρησιμοποιώντας συγκεντρώσεις μεταξύ 2,5 και 10 mg/L και τιμή pH 7. Από τα αποτελέσματα προέκυψε πως αύξηση της συγκέντρωσης μείωνε την συγκέντρωση των NPE_1O και NPE_2O ενώ ο σχηματισμός των χλωριωμένων παραγώγων μεγιστοποιήθηκε και έμεινε σταθερός για τιμές συγκέντρωσης πάνω από 7,5 mg/L.

2.5. Ibuprofen (IBU)

2.5.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Το Ibuprofen είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο. Η ονομασία του κατά IUPAC είναι (RS)-2-(4-(2-μεθυλοπροπυλο) φαινυλ) προπανοϊκό οξύ και ο χημικός του τύπος είναι $C_{13}H_{18}O_2$.

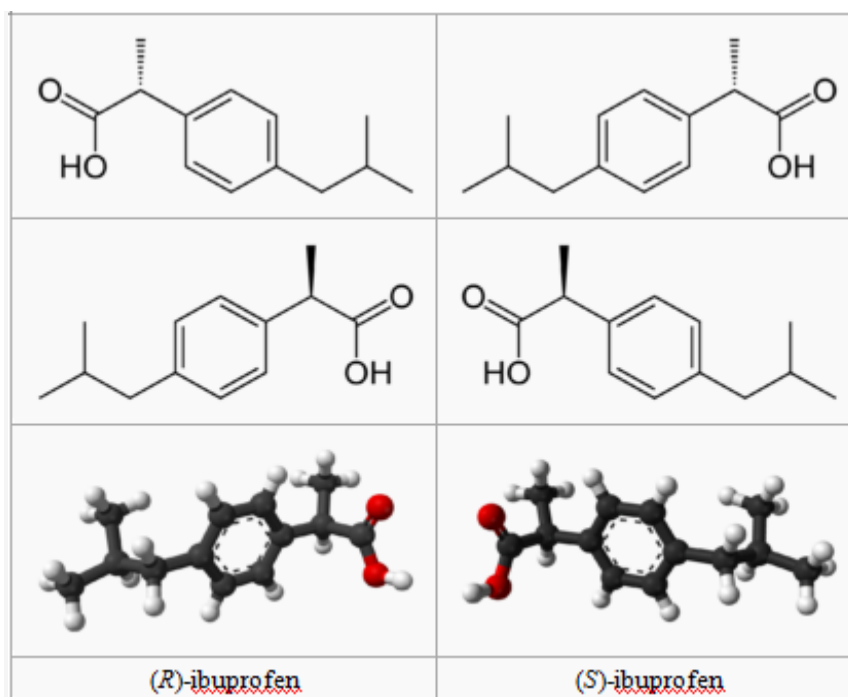


Εικόνα 2.5.1 : Χημική δομή του *ibuprofen* (Carballa *et al*, 2004)

Το μοριακό του βάρος ισούται με 206,29 g/mol και το σημείο ζέσεως βρίσκεται στους 76°C (Van Esch *et al*, 1995). Πρόκειται για μια χειρόμορφη ένωση η οποία διαθέτει ένα ασύμμετρα υποκατεστημένο άτομο άνθρακα (Buser *et al*, 1999). Η πυκνότητα του *ibuprofen* είναι 1,115 g/cm³ (Carballa *et al*, 2004) και η διαλυτότητά του στο νερό είναι πολύ χαμηλή και μικρότερη από 1 mg/ml. Ωστόσο είναι πολύ περισσότερο διαλυτό σε διαλύματα αλκοολών/νερού (Bergner *et al*, 1992). Μελέτες έχουν δείξει πως το *ibuprofen* χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα υψηλή κινητικότητα σε υδάτινο περιβάλλον καθώς έχει ανιχνευθεί σε λύματα και σε ποταμούς κοντά σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας (Buser *et al*, 1999). Σε υδάτινα όμως περιβάλλοντα, το IBU είναι ιδιαίτερα ασταθές με χρόνο ημίσειας ζωής t_{50} μικρότερο της μιας ημέρας (Ροματί *et al*, 2004). Η οξύτητά του εκφράζεται από την τιμή pK_a ίση με 4,91 ενώ η τιμή και συντελεστή κατανομής (οκτανόλης - νερού) K_{ow} ίσο με 3,72 για τιμή pH 10 (Bellona *et al*, 2005). Επίσης πρόκειται για μια φωτοευαίσθητη ένωση καθώς στο μόριό της διαθέτει μόνο ένα φαινολικό δακτύλιο και κανένα συζευγμένο με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα αδύναμο χρωμοφόρο σύστημα με πολύ μικρό φάσμα απορρόφησης το οποίο δεν φτάνει το ηλιακό φάσμα (Bergner *et al*, 1992).

2.5.2. Παραγωγή και χρήσεις

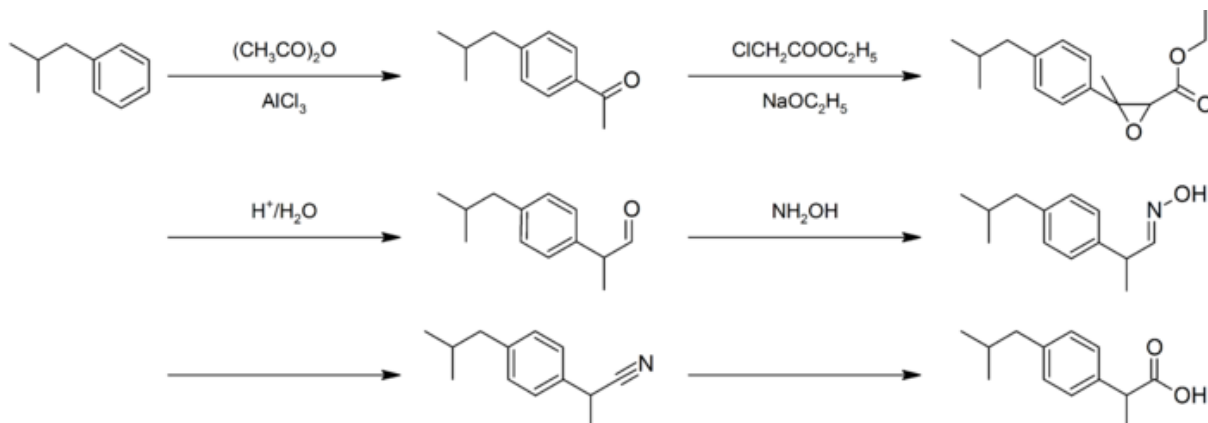
Το ibuprofen είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο που χρησιμοποιείται ευρέως και ως αναλγητικό, αντιπυρετικό φάρμακο για τη θεραπεία των ρευματικών παθήσεων, του πόνου και του πυρετού ενώ είναι και το τρίτο πιο δημοφιλές ναρκωτικό στον κόσμο. Πρόκειται για ένα μη συνταγογραφούμενο φάρμακο με σχετικά υψηλή θεραπευτική δόση (600-1200 mg/d), η παραγωγή του οποίου εκτιμάται σε αρκετές χιλιάδες τόνους ετησίως (Buser *et al*, 1999). Βιομηχανικά παράγεται ως ένα ρακεμικό μίγμα. Αποτελείται από ένα κέντρο ισομέρειας στη θέση α της προπιονικής ρίζας, συνεπώς υπάρχουν δυο πιθανά εναντιομερή τα οποία δυνητικά έχουν διαφορετικές επιπτώσεις στις βιολογικές διαδικασίες και το μεταβολισμό των οργανισμών. Πράγματι το (S)-(+)-ibuprofen βρέθηκε να είναι η πιο ενεργή μορφή από πειράματα που διεξήχθησαν τόσο in vivo όσο και in vitro. Επίσης σε περαιτέρω in vivo πειράματα διαπιστώθηκε η ύπαρξη μιας ισομεράσης η οποία μετατρέπει την (R) μορφή στο ενεργό (S) εναντιομερές (Chen *et al*, 1991).



Εικόνα 2.5.2 : Δομές των δυο εναντιομερών του ibuprofen (Chen *et al*, 1991)

Η σύνθεσή αυτής της ένωσης πραγματοποιείται σε έξι βήματα με το εναρκτήριο να είναι μια αντίδραση ακετυλίωσης Friedel-Crafts της ισοβουτυλικής βενζολικής ρίζας. Ακολουθεί η αντίδραση Darzens (αίθυλο χλώροξυ) η οποία δίνει τον α,β- έποξυ εστέρα ο οποίος με τη

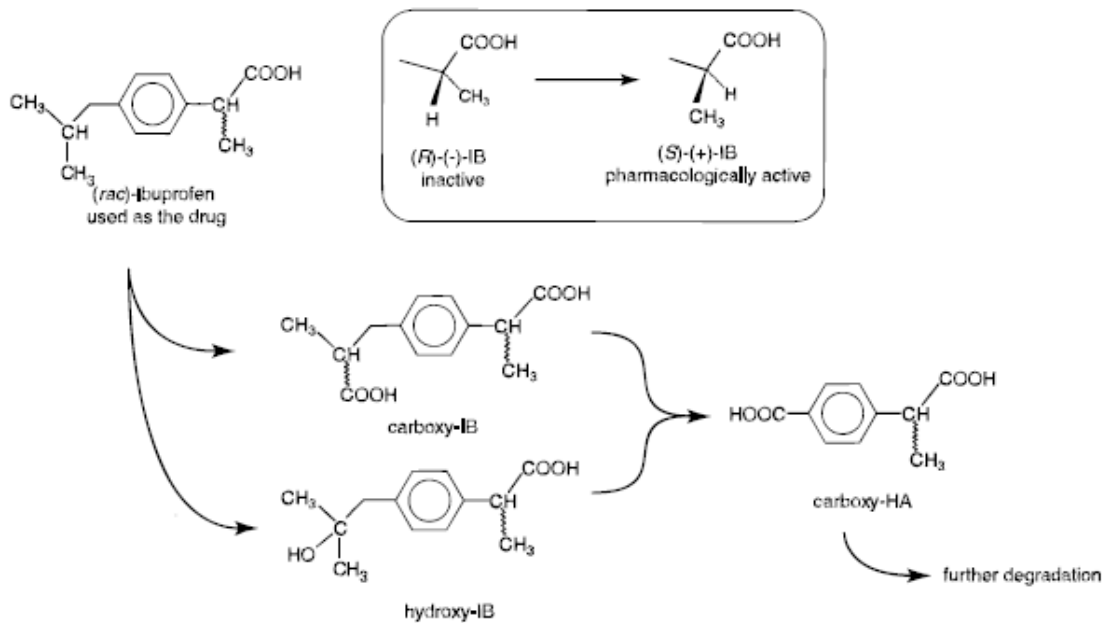
σειρά του υδρολύεται και αποκαρβοξυλιώνεται στην αντίστοιχη αλδεΐδη. Έπειτα η αντίδραση με την υδροξυλαμίνη δίνει την οξιμη η οποία μετατρέπεται στο νιτρίλιο, το οποίο τελικά υδρολύεται στο επιθυμητό οξύ (Kjonaas *et al*, 2011).



Εικόνα 2.5.3 : Ακολουθία αντιδράσεων σύνθεσης του *ibuprofen* (Kjonaas *et al*, 2011)

2.5.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως το *ibuprofen*, δρουν αναστέλλοντας τη λειτουργία του ενζύμου κυκλοοξυγενάση (COX), το οποίο μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε ποσταγλανδίνη $H_2(PGH_2)$ η οποία με τη σειρά της μετατρέπεται από άλλα ένζυμα σε άλλες ποσταγλανδίνες, οι οποίες μεσολαβούν του πόνου, των φλεγμονών, του πυρετού, και σε θρομβοξάνη- A_2 , η οποία διεγείρει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων που οδηγεί στο σχηματισμό θρόμβων στο αίμα (Rao and Knaus, 2008). Το *ibuprofen* αποβάλλεται από τους οργανισμούς σε ποσοστό 70-80% της θεραπευτικής δόσης κάθε φορά είτε με την αρχική μορφή με την οποία εισήλθε στον οργανισμό (συζευγμένη ή ελεύθερη), είτε με τη μορφή των σχηματιζόμενων μεταβολιτών του. Οι κύριοι μεταβολίτες του είναι το υδροξυ-*ibuprofen*, το κάρβοξυ-*ibuprofen* και το κάρβοξυ-υγροτροπικό οξύ (HA) οι οποίοι μεταβολίτες ως οργανικές ενώσεις είναι όλες χειρόμορφες. Για την περίπτωση του κάρβοξυ-*ibuprofen* υπάρχουν δύο διαστερομερή ζεύγη των εναντιομερών. Σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων έχουν ανιχνευθεί τόσο η μητρική ένωση όσο και οι μεταβολίτες της με τη μητρική να συναντάται κυρίως με τη μορφή (S), με αυτήν δηλαδή η οποία ανιχνεύεται στον ανθρώπινο μεταβολισμό και παρά τη διάσπαση που υφίσταται στις εγκαταστάσεις αυτές παρέμεινε ανιχνεύσιμη και σε επιφανειακά ύδατα κοντά στις εγκαταστάσεις.



Εικόνα 2.5.4 : Κύριες οδοί οξείδωσης του ibuprofen στον ανθρώπινο μεταβολισμό (Buser et al, 1999)

Σε μελέτη των Buser et al (1999), εξετάστηκε η παρουσία του ibuprofen σε ΕΕΛ και τα αποτελέσματα έδειξαν εκτός από την παρουσία του, και εμφάνιση των μεταβολιτών του και κυρίως των κάρβοξυ και ύδροξυ ibuprofen και λιγότερο του κάρβοξυ-ΗΑ. Πιο συγκεκριμένα στην είσοδο των μονάδων ανιχνεύτηκε ibuprofen σε συγκεντρώσεις από 1 - 3,3 µg/L, καθώς και οι δυο μεταβολίτες του σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Επίσης ibuprofen και οι μεταβολίτες του ανιχνεύθηκαν και στην έξοδο των μονάδων σε πολύ μικρότερες βέβαια συγκεντρώσεις της τάξης του 2 – 81 ng/L.

Καθώς οι πληροφορίες για επιδράσεις των φαρμακευτικών ρύπων στους υδρόβιους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς είναι σχετικά λίγες οι Romati et al (2004), πραγματοποίησαν μελέτη που αφορούσε την επίδραση του IBU στο κυανοβακτήριο *Synechocystis sp. PCC6803* καθώς και σε είδος επιπλεόντων υδρόβιων φυτών, το *Lemna minor FBR006*. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν κυμάνθηκαν από 1 – 1000 µg/L. Κατά τη διάρκεια της έκθεσης, 5 ημέρες, παρατηρήθηκε αύξηση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Η αύξηση αυτή υπολογίστηκε μέσω της μέσης πυκνότητας του πληθυσμού και εκφράστηκε ως ποσοστό αύξησης ως προς τον αρχικό πληθυσμό. Το μεγαλύτερο ποσοστό διαπιστώθηκε για συγκέντρωση IBU 10 µg/L (72%) και ακολούθησαν οι συγκεντρώσεις 100 µg/L (42%), 1000 µg/L (31%) και 1 µg/L (12%). Για την περίπτωση του *Lemna minor* το IBU ανέστειλε την ανάπτυξη του για χρόνο έκθεσης 7 ημερών σε όλες τις

συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν με την ισχυρότερη επίδραση να παρατηρείται για τιμή συγκέντρωσης 1000 µg/L (25%). Ωστόσο για δόση IBU 1 µg/L δεν παρατηρήθηκαν αρνητικές επιπτώσεις κατά τις 5 πρώτες ημέρες έκθεσης (4%) για να μειωθεί στο 14% μετά από 7 ημέρες έκθεσης. Επίσης συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής με άλλες που αφορούσαν οργανισμούς όπως φύκη, *Daphnia magna*, μύδια και ψάρια αποδείχθηκε η *Lemna minor* είναι ο πιο ευαίσθητος ευκαρυωτικός μικροοργανισμός στην επίδραση του IBU.

Τέλος, όσον αφορά τη συμπεριφορά του IBU σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων οι Carballa *et al* (2004), μελέτησαν τη συμπεριφορά αυτή κατά μήκος ενός τέτοιου συστήματος, σε περιοχή της Ισπανίας με πληθυσμό 100.000 κατοίκους, το οποίο αποτελούνταν από προεπεξεργασία, πρωτοβάθμια επεξεργασία, δευτεροβάθμια επεξεργασία. Η πρωτοβάθμια επεξεργασία αποτελείται από δεξαμενές καθίζησης και η δευτεροβάθμια από σύστημα ενεργού ιλύος (βιολογικός αντιδραστήρας και δεξαμενή καθίζησης). Οι συγκεντρώσεις IBU που ανιχνεύθηκαν στην είσοδο κυμαινόταν από 2,6 – 5,7 µg/L τιμές που ανιχνεύονται στις περισσότερες μονάδες επεξεργασίας με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα. Παρατηρήθηκε λοιπόν πως κατά την προεπεξεργασία και το στάδιο της πρωτοβάθμιας καθίζησης δεν πραγματοποιήθηκε σημαντική απομάκρυνση γεγονός αναμενόμενο λόγω της όξινης δομής με χαμηλό συντελεστή κατανομής υγρών-στερεών που του επιτρέπει να μένει κυρίως στην υδατική φάση. Ωστόσο κατά τη διάρκεια της βιολογικής επεξεργασίας παρατηρήθηκε σημαντική απομάκρυνση της τάξης του 60 – 70% με την υπόλοιπη ποσότητα να εξέρχεται της εγκατάστασης.

2.5.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Οι Pomati *et al* (2004), πραγματοποίησαν μελέτη για την ανάλυση της τοξικότητας του IBU στο υδρόβιο φυτό *Lemna minor* και παρατήρησαν ότι μετά από έκθεση 7 ημερών διαπίστωσαν ότι η τιμή EC₅₀ για το IBU ήταν 4 mg/L. Επίσης διαπιστώθηκε πως οι μεταβολίτες του δεν είναι τοξικοί για τους εξεταζόμενους υδρόβιους οργανισμούς απεναντίας μπορεί να επιφέρουν θετικά αποτελέσματα στην ανάπτυξή τους.

Επίσης, οι Rounds *et al* (2008), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία εξετάστηκε η τοξικότητα του IBU σε μαλάκια και συγκεκριμένα σε απογυμνωμένα σαλιγκάρια του γλυκού νερού. Αρχικά προσδιορίστηκαν οι τιμές οξείας τοξικότητας σε πείραμα διάρκειας 72 ωρών, χρησιμοποιώντας διαλύματα IBU συγκέντρωσης 0,1, 1, 10 και 100 mg/L σε θερμοκρασία 20°C, pH 7,5 και συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου 8 mg/L. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως κανένα στέλεχος δεν επιβίωσε κατά την έκθεση στην μεγαλύτερη τιμή συγκέντρωσης (100 mg/L) ενώ τα ποσοστά θνησιμότητας ανήλθαν στο 40% και στο 20% για τις συγκεντρώσεις των 0,1 και 10 mg/L αντίστοιχα. Ακόμη, η τιμή LC₅₀ προέκυψε 17,1 mg/L. Ακολούθησε άλλη μια σειρά πειραμάτων, με σκοπό τον προσδιορισμό εκείνων των συγκεντρώσεων που προκαλούν χρόνια τοξικότητα. Οι συνθήκες διατηρήθηκαν οι ίδιες με αυτές της προηγούμενης σειράς με μόνη διαφοροποίηση τις τιμές συγκεντρώσεων του IBU οι οποίες ήταν 0,32, 1, 3,2 και 10 mg/L. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως με την πάροδο 21 ημερών σε κάθε τιμή συγκέντρωσης το ποσοστό του πληθυσμού που επιβίωσε ξεπερνούσε το 90%. Επιπλέον, κατά τη φάση ανάπτυξης τους δεν υπήρχαν μεταβολές στη διάμετρο του κελύφους τους και όλα τα στελέχη είχαν σχεδόν το ίδιο μέγεθος.

Πίνακας 2.5.1 : Πειραματικά αποτελέσματα από τη μελέτη τοξικότητας του IBU σε δείγματα γλυκού νερού (Rounds *et al*, 2008)

Οργανισμοί	Βιολογική παράμετρος	Εύρος έκθεσης (mg/L)	Αποτελέσματα (mg/L)
Κυανοβακτήρια (<i>Synechocystis sp. PCC6803</i>)	Ανάπτυξη	0,001 – 1	5d NOEC = 0,001
			5d LOEC = 0,01
Πράσινα άλγη (<i>Desmodesmus subspicatus</i>)	Ανάπτυξη	1 – 320	72h EC ₅ = 72,9
			72h EC ₅₀ = 342,2
Διάτομα (<i>Skeletonema costatum</i>)	Ανάπτυξη	Μη προσδιορισμένο	96h EC ₅₀ = 7,1
Μακρόφυτα (<i>Lemna gibba</i>)	Αριθμός φύλλων	0,01 - 1	7d EC ₁₀ > 1
			7d EC ₅₀ > 1
Μακρόφυτα (<i>Lemna minor</i>)	Ανάπτυξη	0,001 – 1	7d NOEC < 0,001
			7d LOEC = 0,001
Cnidaria (<i>Hydra vulgaris</i>)	Αύξηση σίτισης	0,01 - 10	72h LOEC = 0,01
Cnidaria (<i>Hydra vulgaris</i>)	Επιβίωση	0,01 - 10	72h NOEC = 10
Ασπόνδυλα (<i>Daphnia magna</i>)	Επιβίωση	Μη προσδιορισμένο	48h EC ₅₀ = 9,06
Ασπόνδυλα (<i>Daphnia</i>)	Επιβίωση	1 - 320	72h EC ₅ = 58,4

<i>magna</i>)			72h EC ₅₀ = 101,2
Ασπόνδυλα (<i>Daphnia magna</i>)	Επιβίωση	40 - 80	48h EC ₅₀ = 107,7
Ασπόνδυλα (<i>Daphnia magna</i>)	Αναπαραγωγή	10 - 160	12d NOEC < 10 12d LOEC = 10
Ασπόνδυλα (<i>Daphnia magna</i>)	Αναπαραγωγή	0,1 - 80	21d NOEC = 20
Μαλάκια (<i>Planorbis carinatus</i>)	Επιβίωση	1 - 32	72h LC ₅₀ = 17,1
Μαλάκια (<i>Planorbis carinatus</i>)	Επιβίωση	0,32 – 5,36	21d NOEC = 5,36 21d LOEC > 5,36
Μαλάκια (<i>Planorbis carinatus</i>)	Ανάπτυξη (βάρους)	0,32 – 5,36	21d NOEC = 1,02 21d LOEC = 2,43
Μαλάκια (<i>Planorbis carinatus</i>)	Αναπαραγωγή	0,32 – 5,36	21d NOEC = 2,43 21d LOEC = 5,36
Ψάρια (<i>Lepomis macrochirus</i>)	Επιβίωση	Μη προσδιορισμένο	96h LC ₅₀ = 173

Ο Cleuvers (2003), συγκεκριμένα μελέτησε την τοξικότητα του IBU στους μικροοργανισμούς *Daphnia magna*, *Desmodesmus subspicatus* και *Lemna minor*. Το εύρος συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 10 – 100 mg/L και τα τελικά αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν αδρανοποίηση της *Daphnia magna* και αναχαίτιση του μέσου ρυθμού ανάπτυξης των *Desmodesmus subspicatus* και *Lemna minor*. Για την περίπτωση της *Daphnia* χρησιμοποιήθηκαν 20 νεαρά στελέχη μικρότερα των 24 ωρών και θερμοκρασία 20°C ενώ για αυτή των αλγών τα πειράματα διεξήχθησαν σε θερμοκρασία 23°C υπό ανάδευση στις 80 rpm και υπό συνεχή ακτινοβολία (120 μEs⁻¹m⁻²). Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων που αφορούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε με μέτρηση του αριθμού των κυττάρων. Τέλος για την περίπτωση της *Lemna* τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους 25°C με τοποθετημένους λαμπτήρες φθορισμού στην κορυφή των δοχείων (100 μEs⁻¹m⁻²) χρησιμοποιώντας στελέχη με δυό ή τρία φύλλα. Ο αριθμός των φύλλων μετρήθηκε σε 0, 3, 5 και 7 ημέρες. Οι τιμές EC₅₀ που μετρήθηκαν για κάθε μικροοργανισμό ήταν 108, 315 και 22 mg/L για την *Daphnia*, το *Desmodesmus* και τη *Lemna* αντίστοιχα.

Οι Heckmann *et al* (2007), μελέτησαν την επίδραση του IBU όσον αφορά την οξεία και χρόνια τοξικότητα στη *Daphnia magna*, αλλά και τις επιπτώσεις στην ανάπτυξη, την αναπαραγωγή, την επιβίωση και την αύξηση του πληθυσμού τους. Για χρόνο έκθεσης 48 h

η τιμή αδρανοποίησης EC_{50} που μετρήθηκε ήταν 108 mg/L. Επίσης για χρόνο έκθεσης μεγαλύτερο των 8 ημερών και για συγκέντρωση 20 mg/L παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του σωματικού βάρους των στελεχών ενώ από για χρόνους μεγαλύτερους των 12 και 14 ημερών παρατηρήθηκε άυξηση και για συγκεντρώσεις 40 και 80 mg/L αντίστοιχα. Τέλος με το πέρασ 14 ημερών όλα τα στελέχη ήταν κατά 22% με 29% μεγαλύτερα σε μέγεθος. Όσον αφορά την αναπαραγωγή τους μεταβολές παρατηρήθηκαν στην καθυστέρηση έναρξης και μείωση της γονιμότητας. Η πρώτη ημέρα αναπαραγωγής καθυστέρησε κατά 11 περίπου ημέρες για συγκέντρωση IBU 20 mg/L και 12 ημέρες για συγκέντρωση 40 mg/L ενώ η αναπαραγωγική ικανότητα σταμάτησε εντελώς στα 80 mg/L. Για την περίπτωση της ικανότητας επιβίωσης δεν παρατηρήθηκε μεταβολή για συγκεντρώσεις 20 και 40 mg/L, ωστόσο σημαντικά ποσοστά θνησιμότητας παρατηρήθηκαν στα 80 mg/L. Τέλος για την περίπτωση της πληθυσμιακής μεταβολής σε όλες τις τιμές συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού αύξησης του πληθυσμού πλήν αυτής των 80 mg/L όπου ο ρυθμός εμφάνισε αρνητική τιμή λόγω της αποτυχίας για αναπαραγωγή.

Επίσης, οι La Farre *et al* (2001), πραγματοποίησαν πειράματα τοξικότητας με σκοπό τον προσδιορισμό της τοξικότητας στο βακτήριο *V. Fischeri* προσδιορίζοντας τη βιοφωταύγεια. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση δυο διαφορετικά πρωτόκολλα αυτό της Tox Alert 100 και αυτό της Microtox προσδιορίζοντας ωστόσο και στις δυο περιπτώσεις τις τιμές EC_{50} . Από τα αποτελέσματα προέκυψε διαφοροποίηση στην τιμή EC_{50} η οποία πιθανώς οφείλεται στην διαφορετικότητα των δυο μεθόδων. Έτσι η τιμή EC_{50} με βάση την Tox Alert 100 είναι 12,1 $\mu\text{g/ml}$ και 19,1 $\mu\text{g/ml}$ με τη Microtox.

Τέλος, οι Kumagai *et al* (2006), μελέτησαν την επίδραση του IBU στο ρυθμό αποξυγόνωσης στην ετεροτροφική βιομάζα συστήματος ενεργού ιλύος, χρησιμοποιώντας πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας με συγκέντρωση MLSS =2200 mg/L. Αυξάνοντας την αρχική προστιθέμενη συγκέντρωση IBU προσδιορίστηκε εκείνη η τιμή συγκέντρωσης στην οποία παρατηρήθηκε 50% αναχαίτιση του OUR (IC_{50}) και η οποία ήταν 172 mg/L. Επισημαίνεται πως υπολογίστηκαν επίσης οι τιμές συγκεντρώσεων στις οποίες παρατηρήθηκε 30% και 66% αναχαίτιση του OUR οι οποίες ήταν 140 και 210 mg/L αντίστοιχα.

Όσον αφορά την βιοσυγκέντρωση του IBU οι Brown *et al* (2007), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία προσδιόρισαν τη βιοσυγκέντρωση στο πλάσμα ψαριών και συγκεκριμένα σε πέστροφες χρησιμοποιώντας εξερχόμενα λύματα από 3 διαφορετικές μονάδες επεξεργασίας. Τα στελέχη εκτέθηκαν σε γνωστές συγκεντρώσεις του IBU και έπειτα προσδιορίστηκαν οι παράγοντες βιοσυγκέντρωσης με βάση τα αποτελέσματα που εμφανίστηκαν στο πλάσμα του αίματος αλλά και με χρήση ενός μοντέλου που βασίζεται στις σταθερές ρK_a και K_{ow} . Τα πειράματα διήρκεσαν 16 ημέρες και η θερμοκρασία των χρησιμοποιούμενων λυμάτων ήταν 12°C. Για τιμή έκθεσης λοιπόν 520 ng/ml η μετρούμενη στο πλάσμα συγκέντρωση IBU ήταν 4680 ng/ml ενώ η αναμενόμενη με βάση το μοντέλο τιμή ήταν 41000 ng/ml. Η τιμή του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης (BCF) με βάση τα πειραματικά δεδομένα ήταν 9 ενώ με βάση το μοντέλο 78. Ωστόσο στο περιβάλλον οι τιμές έκθεσης είναι πολύ χαμηλότερες.

Επίσης οι Nallani *et al* (2011), προκειμένου να προσδιορίσουν τον παράγοντα βιοσυγκέντρωσης χρησιμοποίησαν τα ψάρια *Pimephales promelas* και *Ictalurus punctatus* τα οποία εκτέθηκαν σε IBU συγκέντρωσης 250 µg/L για χρονικό διάστημα, 28 και 7 ημερών αντίστοιχα. Μετά την έκθεσή τους αφέθηκαν για 14 και 7 ημέρες αντίστοιχα, ώστε να επανέλθουν σε φυσιολογικές συνθήκες αποβάλλοντας κάποιο ποσοστό. Να επισημάνουμε πως η συγκέντρωση των 250 µg/L αποτελεί περίπου το 1/10 της συγκέντρωσης στην οποία δεν παρατηρήθηκαν αρνητικές επιδράσεις σε προηγούμενα πειράματα της ίδιας μελέτης. Επίσης για τον υπολογισμό του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης χρησιμοποιήθηκαν ιστοί και πλάσμα από τους δυο οργανισμούς και υπολογίστηκαν τόσο ο αναλογικός παράγοντας βιοσυγκέντρωσης (BCF_p), ο οποίος προκύπτει από την αναλογία της συγκέντρωσης του IBU στο εξεταζόμενο μέσο ως προς την αρχική τιμή έκθεσης, όσο και ο κινητικός παράγοντας (BCF_k) μέσω του υπολογισμού των ρυθμών πρόσληψης και αποβολής. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.5.2 : Τιμές αναλογικού και κινητικού παράγοντα βιοσυγκέντρωσης για τους οργανισμούς ψαριών *Pimephales promelas* και *Ictalurus punctatus* (Nallani *et al*, 2011)

		Μύες	Συκώτι	Βράγχια	Νεφρά	Πλάσμα
<i>Pimephales promelas</i>	BCF_p	0,69	0,69	1,09	-	-
	BCF_k	0,63	1,04	0,72	-	-
<i>Ictalurus punctatus</i>	BCF_p	0,08	0,51	0,44	0,63	1,40
	BCF_k	0,22	0,47	0,55	0,68	1,43

Παρατηρούμε πως και στους δύο οργανισμούς και σε οποιοδήποτε εξεταζόμενο όργανο ο παράγοντας δεν ξεπέρασε την τιμή 1,4.

2.5.5. Βιοαποδόμηση

Οι Buser *et al* (1999), σε προσπάθειά τους να προσδιορίσουν τη διάσπαση του ibuprofen και των μεταβολιτών του σε συστήματα ενεργού ιλύος πραγματοποίησαν πειράματα χρησιμοποιώντας λύματα εισόδου σε μονάδα επεξεργασίας και σύστημα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια φάση υστέρησης στην απομάκρυνση του ibuprofen, ακολουθούμενη από μια φάση ταχείας διάσπασης σε επίπεδα 1-3% μετά από 8 ώρες παραμονής. Επιπλέον η σύνθεση του εναντιομερούς μεταβλήθηκε με το χρόνο παραμονής. Η ταχεία και σχεδόν πλήρης διάσπαση και η αλλαγή στη σύνθεση του εναντιομερούς συνέβαλε στη βιολογική απομάκρυνση περισσότερο από άλλες διαδικασίες όπως η ρόφηση και η απορρόφηση από την ενεργό ιλύ. Επίσης παρατηρήθηκε γρηγορότερη διάσπαση της (S) ibuprofen κάτι που έρχεται να επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες ενώ από την κινητική της αποδόμησης που προσδιορίστηκε προκύπτει ότι για την πλήρη απομάκρυνση του ibuprofen απαιτούνται 6 ώρες. Ωστόσο σε ΕΕΛ όπου οι συνθήκες διαφοροποιούνται αρκετά και οι χρόνοι παραμονής είναι μικρότεροι η απομάκρυνση ενδέχεται να επηρεαστεί λιγότερο έως και καθόλου, εξηγώντας έτσι τις σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις μέχρι και 3,35 μg/L.

Σε άλλη μελέτη, οι Zwiener και Frimmel (2003), μελέτησαν τη βιοδιάσπαση του IBU σε πιλοτική μονάδα ενεργού ιλύος συνολικού όγκου 25 L. Πραγματοποίησαν πειράματα που διήρκησαν 55 h και η συγκέντρωση του IBU στην είσοδο τους συστήματος ήταν 10 μg/L. Η ροή εισόδου στο σύστημα ήταν 60 ml/min και ο χρόνος που χρειάστηκε για να επέλθουν μόνιμες συνθήκες στο σύστημα ήταν 24 h. Η απομάκρυνση του IBU ήταν άμεση με την έναρξη προσθήκης του στο σύστημα και ήταν της τάξης του 40 - 43% γεγονός που αναδεικνύει την ικανότητα του συστήματος ενεργού ιλύος να απομακρύνει την IBU χωρίς να έχει προηγηθεί κάποια φάση προσαρμογής. Επίσης υπολογίστηκε ότι η ρόφηση του IBU στη σχηματιζόμενη ιλύ ήταν μικρότερη του 5% της αρχικής ποσότητας και δεν ήταν υπεύθυνη για τη μείωση της αρχικής συγκέντρωσης.

Επίσης, οι Kumagai *et al* (2006), μελέτησαν την ικανότητα ρόφησης του IBU σε ενεργό ιλύ. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε ενεργός ιλύς προερχόμενη από πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας με συγκέντρωση MLSS =4000 mg/L όπου προστέθηκαν 2 ml IBU συγκέντρωσης 40 mg/L. Το IBU προσροφήθηκε από την ιλύ σχεδόν άμεσα και το ποσοστό ρόφησης ήταν 92% μετά από 30 min και σταθεροποιήθηκε στο 95% μετά το πέρας μιας ώρας, δείχνοντας έτσι την ύπαρξη μιας σχέσης δόσης - απόκρισης. Επίσης η προσρόφηση κορυφώθηκε για συγκέντρωση MLSS =2000 mg/L και μειώθηκε για τιμές μεγαλύτερες των 3000 mg/L και μικρότερων των 1000 mg/L δείχνοντας έτσι μια σχέση εξάρτησης και από τη συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών.

Τέλος, οι Yu *et al* (2006), πραγματοποίησαν batch πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ανάμικτο υγρό από εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών αποβλήτων, αραιωμένο 1:1000 το οποίο τοποθετήθηκε σε φιάλες υπό συνεχή αερισμό και προστέθηκε IBU σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 50 µg/L. Για όλες τις τιμές συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν παρατηρήθηκε πως ο ρυθμός διάσπασης ήταν ο ίδιος και με το πέρας 15 ημερών είχαμε πλήρη διάσπαση του IBU.

2.5.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο IBU

Οι Gibs *et al* (2007), μελέτησαν την επίδραση του υπολειμματικού χλωρίου στο IBU ως προς το χρόνο επαφής σε δείγματα πόσιμου νερού. Ο χρόνος επαφής ήταν 1,3,6,8 και 10 ημέρες, η αρχική συγκέντρωση του IBU 0,5 µg/L και η συγκέντρωση της υπολειμματικής χλωρίνης ίση με 1,2 mg/L. Για την περίπτωση του IBU παρατηρήθηκε πως κατά την αύξηση του χρόνου χλωρίωσης η συγκέντρωση της υπολειμματικής μάζας του αυξήθηκε κατά 4% χωρίς να έχουν διευκρινιστεί τα αίτια της αύξησης αυτής.

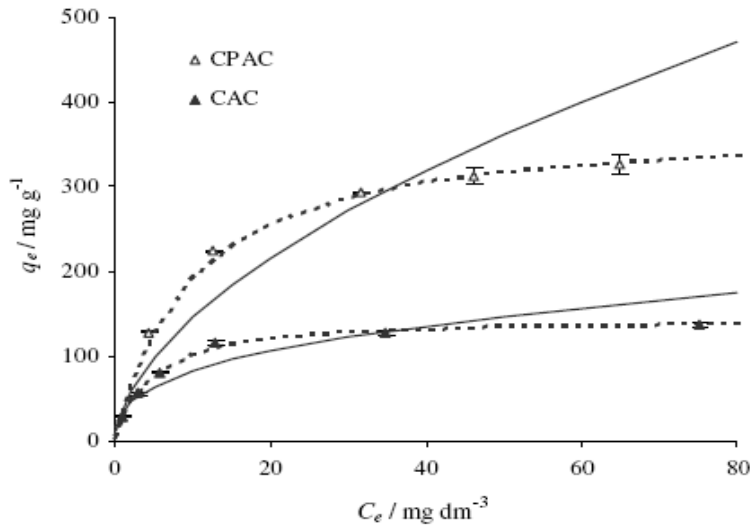
2.5.7. Απομάκρυνση του IBU με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Mestre *et al* (2007), πραγματοποίησαν πειράματα με σκοπό να προσδιορίσουν την προσρόφηση του ενεργού άνθρακα. Χρησιμοποιήθηκε σκόνη ενεργού άνθρακα δυο ειδών και υπολογίστηκε η απομάκρυνση του IBU από την υγρή φάση. Το ένα είδος προέκυψε από χημική ενεργοποίηση με K_2CO_3 (CAC) και το δεύτερο σχηματίστηκε από διαδικασία δυο

βημάτων, χημική ενεργοποίηση με K_2CO_3 ακολουθούμενη από ενεργοποίηση με χρήση ατμού (CPAC). Παρατήρησαν πως για μεταβολή της θερμοκρασίας από 25-40°C δεν επήλθε σημαντική επίδραση στην απομάκρυνση του IBU. Ωστόσο η μεταβολή της τιμής του pH εμφάνισε μεγαλύτερη επίδραση καθώς για τιμές μεταξύ 2 και 4 η απομάκρυνση έφτασε το 90% της αρχικής συγκέντρωσης, ενώ κατά την αύξησή της το ποσοστό αυτό άρχισε να μειώνεται. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως και τα δυο δείγματα είναι κατάλληλα για την απομάκρυνση του IBU, με το CPAC να εμφανίζει πλεονεκτήματα όπως υψηλό αρχικό ρυθμό προσρόφησης, υψηλή ικανότητα προσρόφησης και υψηλό βαθμό απομάκρυνσης για μια μεγάλη περιοχή τιμών pH. Επίσης φάνηκε πως η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης του άνθρακα επηρεάζει την πρόσληψη του IBU καθώς αύξηση της συγκέντρωσης προκαλεί αύξηση του ρυθμού πρόσληψης, δείχνοντας έτσι πως η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης αποτελεί την κινητήρια δύναμη για να ξεπεραστεί η αντίσταση στη μεταφορά μάζας μεταξύ της διαλυτής και της στερεής φάσης. Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται οι ισόθερμες ρόφησης κατά Langmuir και Freundlich καθώς και οι μαθηματικές σχέσεις από τις οποίες προκύπτουν, όπου η σταθερά Langmuir b αποτελεί ένα άμεσο μέτρο της συγγένειας προσρόφησης, q_m είναι η ικανότητα προσρόφησης της αντίστοιχης στοιβάδας, K_F η σταθερά Freundlich και συμβολίζει τη σχετική ικανότητα απορρόφησης του ροφητικού μέσου και $1/n$ ο παράγοντας κλίσης, που κυμαίνεται μεταξύ 0 και 1 και αντιπροσωπεύει την συγγενική προσρόφηση ή την ετερογένεια της επιφάνειας.

Isotherm	Non-linear form	Linear form	Plot
Langmuir	$q_e = \frac{bq_m C_e}{1+bC_e}$	$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{bq_m} + \frac{1}{q_m} C_e$	$\frac{C_e}{q_e}$ versus C_e
Freundlich	$q_e = K_F(C_e)^{1/n}$	$\ln(q_e) = \ln(K_F) + \frac{1}{n}\ln(C_e)$	$\ln(q_e)$ versus $\ln(C_e)$

Εικόνα 2.5.5 : Μαθηματικές σχέσεις που περιγράφουν τις ισόθερμες Langmuir και Freundlich (Mestre et al, 2007)



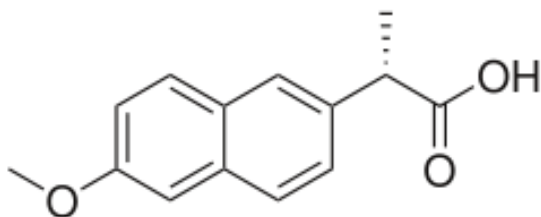
Εικόνα 2.5.6 : Πειραματικές ισόθερμες ρόφησης στους 30°C κατά Langmuir (διακεκομμένες γραμμές) και Freundlich (συνεχείς) (δόση ενεργού άνθρακα 10mg/15cm³ διαλύματος) (Snyder et al, 2006)

Επίσης, οι Snyder et al (2006), σε πειράματά τους αξιολόγησαν την απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα δυο ειδών ενεργοποιημένης σκόνης και ενεργοποιημένων κόκκων. Όσον αφορά τον ενεργό άνθρακα με τη μορφή σκόνης χρησιμοποιήθηκαν δυο εμπορικοί τύποι που ονομάζονται AC800 και WPM. Για την περίπτωση του ενεργού άνθρακα με τη μορφή σκόνης τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια δυο λίτρων τα οποία περιείχαν 1,5 λίτρα νερό βρύσης και τοποθετήθηκαν για ανάδευση σε εξαθέσιο jar tester. Ο χρόνος επαφής στο διάλυμα ήταν 4 ώρες και ακολούθησε 1 ώρα καθίζησης. Οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν ήταν 1,5 και 50 mg/L. Το υπερκείμενο υγρό συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε με φίλτρα Whatman GF/F για την απομάκρυνση υπολειμμάτων PAC. Στο διάλυμα προστέθηκαν ουσίες τελικής συγκέντρωσης 100 ng/L. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια καθαρή σχέση εξάρτησης από τη συγκέντρωση του PAC και το χρόνο επαφής. Συγκεκριμένα η απομάκρυνση του IBU κατά τη χρήση PAC WPM 5 mg/L έφτασε το 16% της αρχικής συγκέντρωσης.

2.6. Naproxen

2.6.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Το naproxen είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο. Η ονομασία του κατά IUPAC είναι (+)-(*S*)-2-(6- μέθοξυ ναφθάν -2-υλο προπανοικό οξύ και ο χημικός του τύπος είναι C₁₄H₁₄O₃.



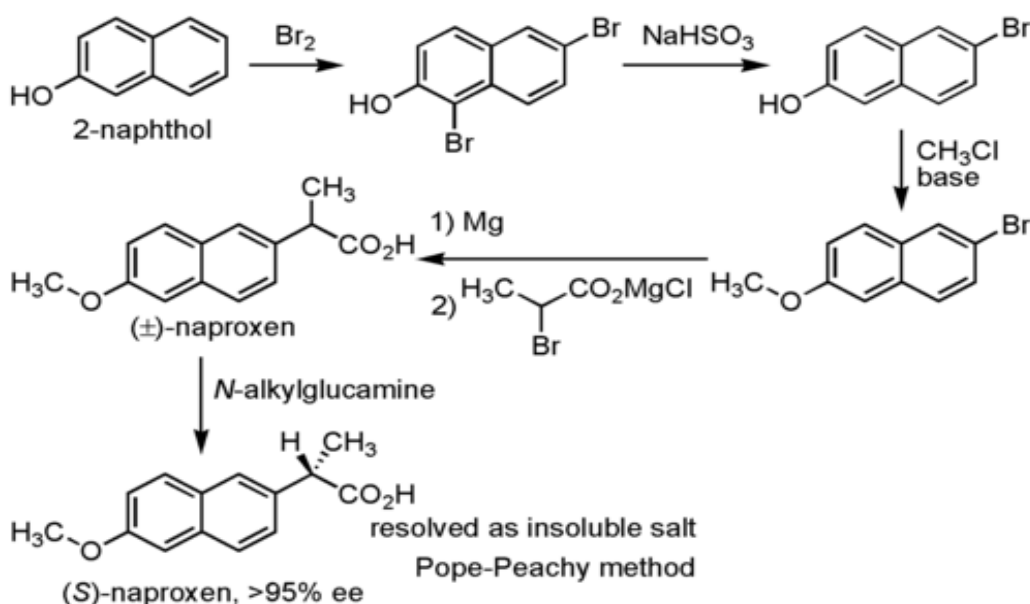
Εικόνα 2.6.1 : Χημική δομή του naproxen (Beetge et al, 2000)

Το μοριακό του βάρος ισούται με 230,26 g/mol και το σημείο ζέσεως βρίσκεται στους 156°C. Πρόκειται για μια λευκή σκόνη η οποία πρακτικά είναι αδιάλυτη στο νερό σε χαμηλές τιμές pH και διαλυτή σε υψηλές. Σε κανονικές συνθήκες η διαλυτότητά του είναι 15 mg/L και χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη σταθερότητα σε κανονικές συνθήκες, με το χρόνο ημιζωής στους οργανισμούς να κυμαίνεται 12-24 ώρες. Για την περίπτωση των υδάτων το naproxen είναι ιδιαίτερα ασταθές με χρόνο ημίσειας ζωής $t_{50\%}$ περίπου στα 42 min, σε συνθήκες καλοκαιριού (Packer et al, 2003). Σε υδάτινο περιβάλλον χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα υψηλή κινητικότητα καθώς έχει ανιχνευθεί σε περιοχές κοντά σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Η τιμή pKa ισούται με 4,2 και ο συντελεστής οκτανόλης- νερού με 3,22 (Beetge et al, 2000).

2.6.2. Παραγωγή και χρήσεις

Το *S*-naproxen αποτελεί ένα αντιφλεγμονώδες φάρμακο που χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα για την αντιμετώπιση ασθενειών και κυρίως του πόνου. Συγκεκριμένα έχει αντιπυρετικές και αναλγητικές ιδιότητες και χρησιμοποιείται συνήθως για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, μυοσκελετικών παθήσεων, δυσμηνόρροιας και της οξείας ουρικής αρθρίτιδας (www.drugbank.ca/drugs). Φαρμακευτικές ουσίες όπως το naproxen

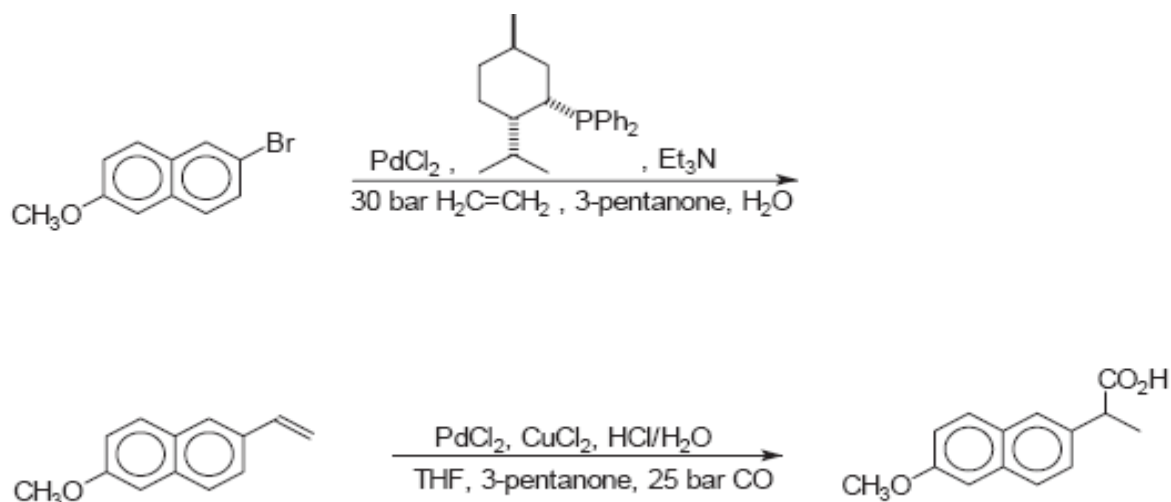
παράγονται σε ετήσια βάση σε ποσότητες που κυμαίνονται από 1 έως 10.000 τόνους. Ο βασικός τρόπος παραγωγής του είναι μέσω του σχηματισμού ενός ρακεμικού μίγματος. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι για την σύνθεση των βασικών ενδιάμεσων του *S*-naproxen. Ωστόσο, παρότι υπήρξαν κάποια καλά αποτελέσματα, κατέστη σαφές ότι η διαδικασία παραγωγής που αναπτύχθηκε από την Syntex ήταν σχεδόν η ιδανική (ανάλυση Pope Peachy) και έγκειται σε μια αποτελεσματική ρακεμοποίηση και ανακύκλωση του ανεπιθύμητου (*R*)- εναντιομερούς, με απόδοση σε *S*-naproxen μεγαλύτερη του 95% και ανάκτηση της χειρόμορφης ένωσης σε ποσοστό μεγαλύτερο του 98%. Ωστόσο το βασικότερο πρόβλημα είναι το υψηλό κόστος των πρώτων υλών. Η αντιδράσεις που πραγματοποιούνται φαίνονται στην εικόνα 2.6.2 (Blaser *et al*, 2001).



Εικόνα 2.6.2 : Σύνθεση του naproxen με τη μέθοδο Syntex (Blaser *et al*, 2001)

Επίσης, μια νεότερη μέθοδος παραγωγής του naproxen, είναι μέσω της αντίδρασης Heck, του μέθοξυναφθελινίου με αιθυλένιο, ακολουθούμενη από αντίδραση καρβονυλίωσης προς σχηματισμό naproxen. Το βρωμίδιο αποτελεί ένα βασικό ενδιάμεσο για την πραγματοποίηση της αντίδρασης, το οποίο είναι διαθέσιμο σε χαμηλή τιμή. Ένα ακόμη βασικό βήμα για την ολοκλήρωση της αντίδρασης ήταν η εύρεση ενός αρκετά δραστικού καταλύτη, με τη λύση να δίνεται μέσω της επιλογής υποκαταστατών με συγκεκριμένες ηλεκτρονιακές ιδιότητες. Η βέλτιστη λύση απεδείχθη η φωσφίνη. Επίσης λόγω της υψηλής δραστικότητας του καταλύτη είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν αναλογίες υποστρώματος/

/καταλύτη μεταξύ 2000-3000 και θερμοκρασία 95-105⁰C. Η πίεση του αιθυλενίου είναι της τάξης των 3kPa και η ολοκλήρωση της αντίδρασης διαρκεί λίγες μόνο ώρες. Με την παραπάνω διαδικασία είναι δυνατή η παραγωγή 500 τόνων ανά έτος ενώ παράλληλα σημαντικό ποσοστό του χρησιμοποιούμενου βρωμιδίου ανακυκλώνεται. Όσον αφορά το ακολουθούμενο στάδιο της καρβονυλίωσης αυτό καταλύεται από ένα μίγμα PdCl₂, CuCl₂ και HCl (De Vries *et al*, 2001).



Εικόνα 2.6.3 : Σύνθεση του naproxen μέσω της αντίδρασης Heck (De Vries *et al*, 2001)

2.6.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

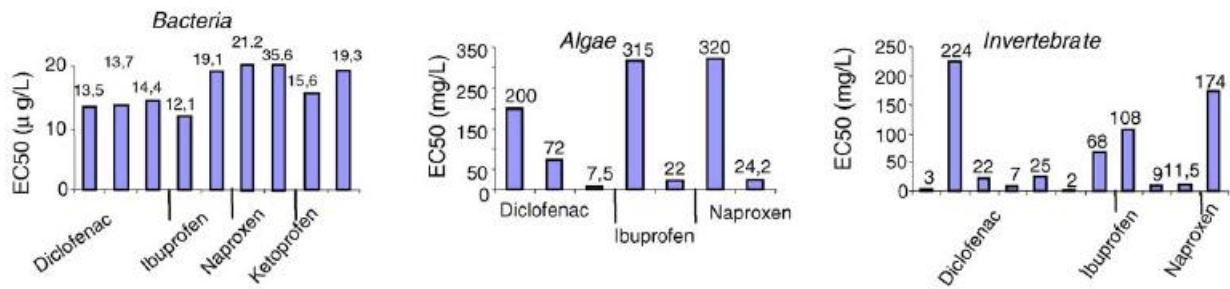
Κατάλοιπα φαρμακευτικών ουσιών αλλά και οι μεταβολίτες τους συνήθως εμφανίζονται στο υδατικό περιβάλλον σε επίπεδο ιχνών, όμως ακόμη και στα χαμηλά αυτά επίπεδα συγκέντρωσης (ng/L ή µg/L), μπορούν να προκαλέσουν αρνητικές επιδράσεις στους οργανισμούς. Από τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα το naproxen έχει ανιχνευθεί σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 273 έως 2134 ng/L με το μέσο όρο όμως αυτών να το αναφέρουν στα 1847 ng/L. Άμεση συνέπεια του γεγονότος αυτού είναι η εμφάνιση του naproxen στα επιφανειακά ύδατα ως αποτέλεσμα εκβολής των επεξεργασμένων λυμάτων σε αυτά. Οι τιμές συγκεντρώσεων που ανιχνεύθηκαν ήταν μεταξύ 68 και 266 ng/L με την πλειονότητα αυτών να κυμαίνονται γύρω από στα 260 ng/L (Hernando *et al*, 2006).

Η ευρεία χρήση των φαρμακευτικών αντιφλεγμονωδών ουσιών έχει οδηγήσει στην ανίχνευσή τους στα εξερχόμενα λύματα σε πολλές μονάδες επεξεργασίας στην Ευρώπη. Όπως ήταν αναμενόμενο οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν σε κάθε μονάδα επεξεργασίας ήταν μεγαλύτερες από αυτές που είχαν προβλεφθεί με βάση τα δεδομένα κατανάλωσης σε εθνικό επίπεδο. Επίσης, οι προβλεπόμενες τιμές ήταν ίδιας τάξης μεγέθους μεταξύ των χωρών ωστόσο οι πηγές διέφεραν σημαντικά. Εξαιρέση αποτελεί η χώρα της Γερμανίας στην οποία καθώς στην κατανάλωση φαρμάκων δεν περιλαμβάνεται η χρήση σε νοσοκομειακές μονάδες. Συγκεκριμένα, για την περίπτωση του naproxen στα εξερχόμενα λύματα ανιχνεύθηκαν συγκεντρώσεις μέχρι και 8,4 µg/L. Συνάμα, βρέθηκε πως είναι η ένωση με τη μεγαλύτερη εμφάνιση χρόνιας τοξικότητας, καθώς σε πειράματα με το οστρακόδερμο *Ceriodaphnia dubia* και το τροχόζωο *Brachionus calyciflorus* οι τιμές EC₅₀ ήταν 330 και 560 µg/L, αντίστοιχα (Christensen *et al*, 2009).

Το naproxen δρα όπως και οι περισσότερες αντιφλεγμονώδεις φαρμακευτικές ουσίες αναστέλλοντας αναστρέψιμα ή μη τη μία ή και τις δύο μορφές του ενζύμου της κυκλοοξυγενάσης (COX-1 και COX-2), οι οποίες καταλύουν τη σύνθεση διαφορετικών προσταγλανδινών από το αραχιδονικό οξύ. Οι νεότερες μορφές του naproxen δρουν πιο εκλεκτικά στην COX-2 μορφή η οποία είναι υπεύθυνη για την αντιφλεγμονώδη δράση. Γενικά οι προσταγλανδίνες έχουν μια ποικιλία ρόλων ανάλογα με την κυτταρική τους προέλευση και τα μόρια στα οποία στοχεύει η δράση τους. Εμπλέκονται σε διεργασίες όπως ο πόνος, η φλεγμονή, η ρύθμιση της ροής αίματος στα νεφρά, διεργασίες πήξης αλλά και στη σύνθεση προστατευτικών βλεννογόνων του γαστρικού (Fent *et al*, 2006).

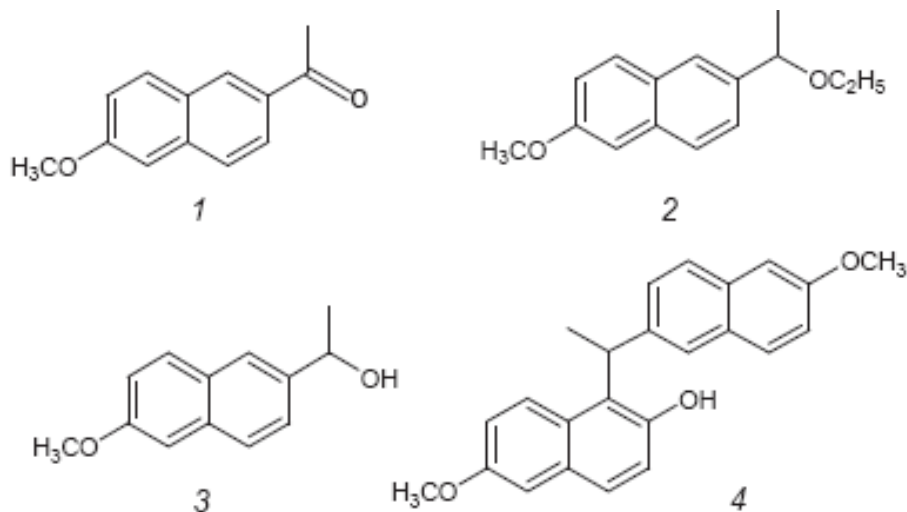
2.6.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Αρκετές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στις αρνητικές επιπτώσεις και κυρίως στην τοξική επίδραση που μπορεί να επιφέρουν οι φαρμακευτικές ενώσεις όπως το naproxen στους υδάτινους οργανισμούς. Ωστόσο τα αποτελέσματα σε αρκετές περιπτώσεις δεν φανέρωναν την ίδια ομοιογένεια ειδικά για την περίπτωση των αλγών. Οι τιμές παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα (Hernando *et al*, 2005).



Εικόνα 2.6.4 : Τοξική επίδραση φαρμακευτικών ουσιών σε υδάτινους οργανισμούς (Hernando et al, 2006)

Οι Isidori et al (2005), μελέτησαν την επίδραση του naproxen και των παραγώγων του που προέρχονται από τη φωτοδιάσπαση (Εικόνα 2.6.5) στην εμφάνιση τοξικότητας.



Εικόνα 2.6.5 : Προϊόντα φωτοδιάσπασης του naproxen

Πραγματοποιήθηκαν πειράματα οξείας τοξικότητας στο τροχόζωο *B. Calyciflorus* και σε δυο οστρακόδερμα το *C. dubia* και το *T. Platyurus* ενώ για τα πειράματα χρόνιας τοξικότητας χρησιμοποιήθηκε ένας παραγωγός, το φύκι *P. Subcapitata* και δυο καταναλωτές, το τροχόζωο *B. Calyciflorus* και το οστρακόδερμο *C. Dubia*. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 2.6.1 : Αποτελέσματα πειραμάτων οξείας τοξικότητας. Οι τιμές είναι εκφρασμένες σε LC_{50} (mg/L) όσο αφορά την παράμετρο της θνησιμότητας για τα *T. Platyurus* και *B. Calyciflorus* και σε EC_{50} (mg/L) για την παράμετρο της αδρανοποίησης για το *C. Dubia* (Isidori et al, 2005)

	<i>B. Calyciflorus</i>	<i>T. Platyurus</i>	<i>C. Dubia</i>
naproxen	62,48	84,09	66,37
1	9,45	8,23	16,70
2	11,37	5,30	10,09
3	14,46	14,01	16,49
4	4,51	11,63	6,30

Πίνακας 2.6.2 : Αποτελέσματα πειραμάτων χρόνιας τοξικότητας. Οι τιμές είναι εκφρασμένες σε EC_{50} (mg/L) για την παράμετρο της αναχαίτισης ανάπτυξης/αναπαραγωγής του πληθυσμού (Isidori et al, 2005)

	<i>P. subcapitata</i>	<i>B. Calyciflorus</i>	<i>C. Dubia</i>
naproxen	31,82	0,56	0,33
1	3,86	0,46	0,10
2	1,9	0,45	0,026
3	6,86	0,25	1,06
4	-	0,67	0,062

Από τις τιμές των παραπάνω πινάκων, παρατηρούμε πως τα προϊόντα της φωτοδιάσπασης είναι περισσότερο τοξικά από το naproxen για τους οργανισμούς που εξετάστηκαν με το παράγωγο 4 να εμφανίζει τη μεγαλύτερη δραστικότητα. Επίσης στα πειράματα χρόνιας τοξικότητας οι ενώσεις εμφάνισαν μεγαλύτερη τοξικότητα σε σχέση με αυτά της οξείας, ενώ όσο αφορά τις περιπτώσεις των καταναλωτών η δραστικότητα τους ήταν μεγάλη σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

Επιπρόσθετα, ο Cleuvers (2003), προσδιόρισε την τοξική επίδραση του naproxen σε άλγη και φυτά που συναντώνται συχνά σε υδάτινα οικοσυστήματα στα οποία εκπίπτουν λύματα από μονάδες επεξεργασίας. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η τιμή EC_{50} για την εμφάνιση χρόνιας τοξικότητας στο πράσινο άλγος (*Desmodesmus subspicatus*) και στο φυτό (*Lemna minor*). Οι τιμές που προέκυψαν ήταν 320 mg/L και 24,2 mg/L.

Τέλος, οι La Farre et al (2001), πραγματοποίησαν πειράματα τοξικότητας με σκοπό τον προσδιορισμό της τοξικότητας στο βακτήριο *V. Fischeri*, προσδιορίζοντας τη βιοφωταύγεια. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση δυο διαφορετικά πρωτόκολλα αυτό της Tox

Alert 100 και αυτό της Microtox προσδιορίζοντας ωστόσο και στις δυο περιπτώσεις τις τιμές EC_{50} . Από τα αποτελέσματα προέκυψε διαφοροποίηση στην τιμή EC_{50} η οποία πιθανώς οφείλεται στην διαφορετικότητα των δυο μεθόδων. Έτσι η τιμή EC_{50} με βάση την Tox Alert 100 είναι 21,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ και 35,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ με τη Microtox. Παρόμοια πειράματα πραγματοποίησαν οι Brun *et al* (2006), από τα οποία προσδιορίστηκε σε μετρήσεις οξείας τοξικότητας η τιμή EC_{50} για την επιβίωση σε χρόνο έκθεσης 48 ωρών και τη μείωση της βιοφωταύγειας στη *Daphnia magna* και στο *V. Fischeri*, αντίστοιχα. Οι τιμές που λήφθηκαν ήταν 32 και 451 $\mu\text{g}/\text{L}$ αντιστοίχως. Επίσης σε πειράματα χρόνιας τοξικότητας προσδιορίστηκε η τιμή EC_{25} της θνησιμότητας των απογόνων για περίοδο έκθεσης 7 ημερών και της θνησιμότητας των κυττάρων των αλγών κατά την έκθεση σε χρόνο 72 ωρών για τα είδη *Ceriodaphnia dubia* και *Selanastrum capricornutum*. Και για τις δυο περιπτώσεις η συγκέντρωση ήταν μεγαλύτερη από 32 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Οι Wang *et al* (2008), μελέτησαν τις επιπτώσεις του narroxen στους μικροοργανισμούς που περιέχονται σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος και παρατήρησαν πως για τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποίησαν 10 μM η μικρότερη και 100 μM η μεγαλύτερη, η μικροβιακή ανάπτυξη παρεμποδίστηκε. Πραγματοποίησαν batch πειράματα χρησιμοποιώντας βιομάζα την οποία διατηρούσαν σε συνθήκες αερισμού παρέχοντας οξυγόνο ώστε η συγκέντρωση στο διάλυμα να είναι 5-6 mg/L και η θερμοκρασία διατηρούνταν στους 20°C. Στα δείγματα στα οποία δεν προστέθηκε narroxen σημαντική κυτταρική ανάπτυξη παρατηρήθηκε κατά τις τρεις πρώτες ημέρες των πειραμάτων η οποία στα δείγματα όπου προστέθηκε η ουσία να εμφανίζεται αναχαίτιση της ανάπτυξης κατά 43% για όλο το εύρος των τιμών συγκεντρώσεων. Επίσης μείωση κατά 39% παρατηρήθηκε και στο OUR για συγκέντρωση narroxen 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ ενώ όσον αφορά την απομάκρυνσή του από το σύστημα αυτή δεν ήταν σημαντική.

Όσον αφορά την βιοσυγκέντρωση του narroxen, οι Brown *et al* (2007), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία προσδιόρισαν τη βιοσυγκέντρωση στο πλάσμα ψαριών και συγκεκριμένα σε πέστροφες χρησιμοποιώντας εξερχόμενα λύματα από 3 διαφορετικές μονάδες επεξεργασίας. Τα στελέχη εκτέθηκαν σε γνωστές συγκεντρώσεις του narroxen και έπειτα προσδιορίστηκαν οι παράγοντες βιοσυγκέντρωσης με βάση τα αποτελέσματα που εμφανίστηκαν στο πλάσμα του αίματος αλλά και με χρήση ενός μοντέλου που βασίζεται στις σταθερές ρK_a και K_{ow} . Τα πειράματα διήρκησαν 16 ημέρες και η θερμοκρασία των

χρησιμοποιούμενων λυμάτων ήταν 12⁰C. Για τιμή έκθεσης λοιπόν 1000 ng/ml η μετρούμενη στο πλάσμα συγκέντρωση narroxen ήταν 3640 ng/ml ενώ η αναμενόμενη με βάση το μοντέλο τιμή ήταν 24200 ng/ml. Η τιμή του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης (BCF) με βάση τα πειραματικά δεδομένα ήταν 4 ενώ με βάση το μοντέλο 24. Ωστόσο στο περιβάλλον οι τιμές έκθεσης είναι πολύ χαμηλότερες.

2.6.5. Βιοαποδόμηση

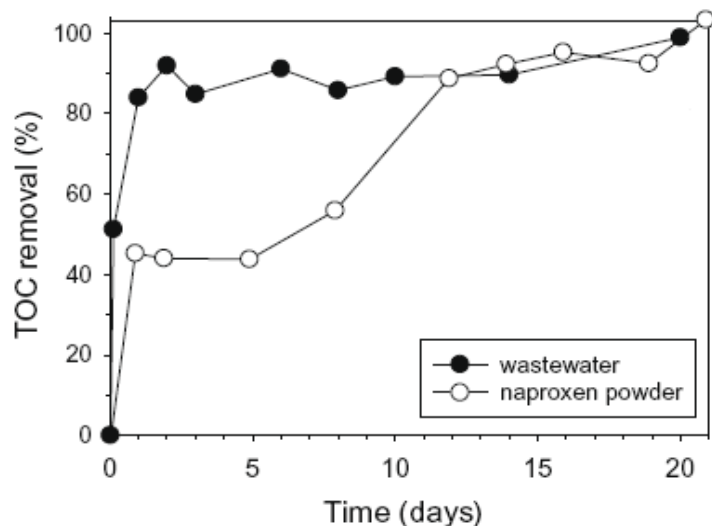
Από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι το narroxen ως ένωση είναι βιοαποδομήσιμη σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων αλλά σε ποσοστό το οποίο να το καθιστά ανιχνεύσιμο στα εξερχόμενα λύματα.

Ο McNeal (2011), χρησιμοποίησε βιομάζα από μονάδα επεξεργασίας αστικών λυμάτων και σε διάλυμα που περιείχε 10% ανάμικτο υγρό, αμμωνία και βιταμίνες προσέθεσαν narroxen συγκέντρωσης 0,4 και 1 mg/L. Παρατήρησαν πως εντός 3 και 10 ημερών αντίστοιχα το narroxen είχε διασπαστεί πλήρως.

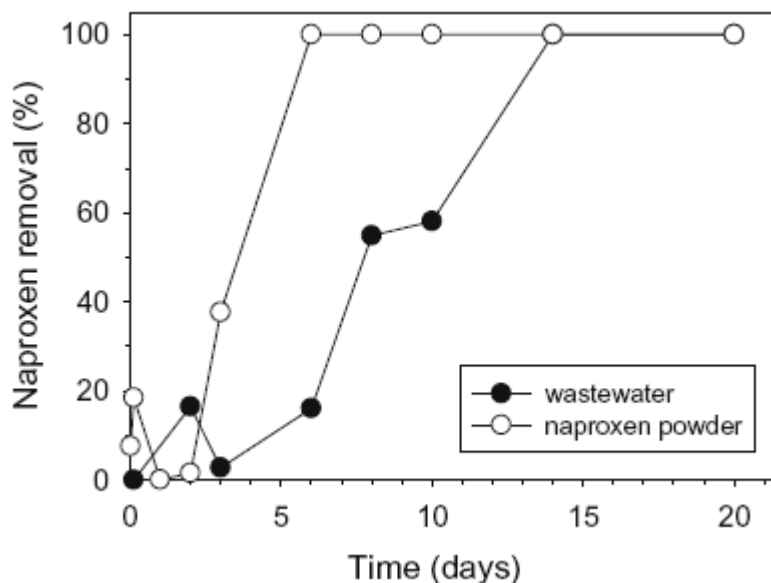
Επίσης, οι Carballa *et al* (2004), μελέτησαν τη συμπεριφορά του narroxen κατά μήκος μιας μονάδας επεξεργασίας λυμάτων, σε περιοχή της Ισπανίας με πληθυσμό 100.000 κατοίκους, το οποίο αποτελούνταν από τα στάδια της προεπεξεργασίας, πρωτοβάθμιας επεξεργασίας και δευτεροβάθμιας επεξεργασίας. Η πρωτοβάθμια επεξεργασία αποτελείται από δεξαμενές καθίζησης και η δευτεροβάθμια από σύστημα ενεργού ιλύος (βιολογικός αντιδραστήρας και δεξαμενή καθίζησης). Οι συγκεντρώσεις narroxen που ανιχνεύθηκαν στην είσοδο κυμαινόταν από 1,8 – 4,6 μg/L, τιμές που ανιχνεύονται στις περισσότερες μονάδες επεξεργασίας με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα. Παρατηρήθηκε λοιπόν πως κατά την προεπεξεργασία και το στάδιο της πρωτοβάθμιας καθίζησης δεν πραγματοποιήθηκε σημαντική απομάκρυνση γεγονός αναμενόμενο λόγω της όξινης δομής και του χαμηλού συντελεστή κατανομής υγρών-στερεών που του επιτρέπει να μένει κυρίως στην υδατική φάση. Ωστόσο κατά τη διάρκεια της βιολογικής επεξεργασίας παρατηρήθηκε σημαντική απομάκρυνση της τάξης του 40 – 55% με την υπόλοιπη ποσότητα να εξέρχεται της εγκατάστασης. Θεωρείται πως βασικός μηχανισμός της απομάκρυνσης είναι η προσρόφηση στα αιωρούμενα σωματίδια του συστήματος ενεργού ιλύος.

Ακόμη, οι Yu *et al* (2006), πραγματοποίησαν batch πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ανάμικτο υγρό από εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών αποβλήτων, αραιωμένο 1:1000 το οποίο τοποθετήθηκε σε φιάλες υπό συνεχή αερισμό και προστέθηκε naproxen σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 50 μg/L. Για την μικρότερη τιμή συγκέντρωσης παρατηρήθηκε σημαντικό ποσοστό διάσπασης μέχρι και 80% τις πρώτες 15 ημέρες με την συγκέντρωση του να σταθεροποιείται μετέπειτα στα 0,2 μg/L μέχρι το πέρας των πειραμάτων. Για την περίπτωση των 50 μg/L παρατηρήθηκε απομάκρυνση της τάξης του 90% κατά τις 20 πρώτες ημέρες από όπου και έπειτα η συγκέντρωση σταθεροποιήθηκε.

Τέλος, οι Mascolo *et al* (2010), μελέτησαν την απομάκρυνση του naproxen σε δείγματα λυμάτων καθώς και τον πιθανό εγκλιματισμό της βιομάζας στην παρουσία του φαρμάκου. Στα πειράματά τους χρησιμοποίησαν τη μέθοδο Zahn-Wellens όπως αναφέρεται στο πρωτόκολλο της Ε.Κ. C.09 του παραρτήματος V της οδηγίας 67/548/ΕΕ. Η τυποποιημένη αυτή μέθοδος χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της βιοαποδομησιμότητας υδατοδιαλυτών, μη πτητικών οργανικών ρύπων, κατά την έκθεσή τους σε υψηλές συγκεντρώσεις μικροοργανισμών. Τα δείγματα λυμάτων αραιώθηκαν όπως προβλέπεται από τη μέθοδο ώστε η αρχική συγκέντρωση σε TOC να φτάσει μια ορισμένη τιμή. Η βιομάζα λήφθηκε από κοντινή μονάδα επεξεργασίας λυμάτων και προστέθηκαν τα κατάλληλα θρεπτικά σε ογκομετρικό κύλινδρο 2 λίτρων με προσθήκη αερισμού και θερμοκρασία 20-25⁰C. Το πείραμα διήρκεσε 28 ημέρες. Η βιοαποδόμηση εκφράστηκε από την απομάκρυνση του COD και του διαλυμένου οργανικού άνθρακα (DOC) στο διήθημα. Από τα αποτελέσματα προέκυψε, όπως φαίνεται και στις παρακάτω εικόνες, πως το naproxen απομακρύνθηκε πλήρως σε διάρκεια 10 ημερών.



Εικόνα 2.6.6 : Απομάκρυνση TOC κατά τη διάρκεια των πειραμάτων με τη μέθοδο Zahn-Wellens σε δείγματα λυμάτων στα οποία περιέχονταν οι φαρμακευτικές ουσίες και σε δείγματα στα οποία η ουσία προστέθηκε με τη μορφή διαλύματος στα οποία είχε διαλυθεί με τη μορφή σκόνης



Εικόνα 2.6.7 : Απομάκρυνση του naproxen κατά τη διάρκεια των πειραμάτων με τη μέθοδο Zahn-Wellens σε δείγματα λυμάτων στα οποία περιέχονταν οι φαρμακευτικές ουσίες και σε δείγματα στα οποία η ουσία προστέθηκε με τη μορφή διαλύματος στα οποία είχε διαλυθεί με τη μορφή σκόνης (Mascolo et al, 2010)

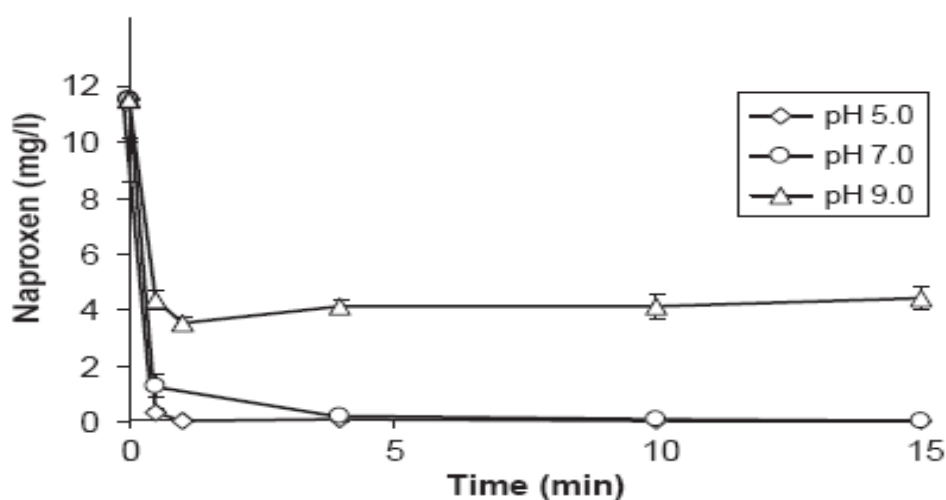
Όπως φαίνεται και από την εικόνα 2.6.7 με το πέρας 10 ημερών και τον εγκλιματισμό της βιομάζας παρατηρήθηκε πλήρης απομάκρυνση του naproxen. Όσον αφορά το δείγμα στο οποίο το naproxen προστέθηκε με τη μορφή σκόνης παρατηρήθηκε, πριν την απομάκρυνσή του, μια φάση υστέρησης, γεγονός που υποδηλώνει πως οι περιεχόμενες οργανικές

ενώσεις ήταν κατάλληλες για βιολογική επεξεργασία. Επίσης η αποδόμηση στα πραγματικά δείγματα λυμάτων πραγματοποιήθηκε με μικρότερο ρυθμό από ότι στα δείγματα όπου είχε προστεθεί μόνο το narroxen, υποδηλώνοντας έτσι πως η παρουσία άλλων οργανικών επιδρά αρνητικά στην απομάκρυνσή του.

2.6.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο narroxen

Οι Boyd *et al* (2005), πραγματοποίησαν πειράματα χλωρίωσης του narroxen με άμεσο σκοπό να προσδιορίσουν την απομάκρυνση του από την υδατική φάση αλλά και το σχηματισμό των τελικών και ενδιάμεσων προϊόντων. Δευτερεύων στόχος ήταν η μελέτη της επίδρασης του narroxen και των παραγώγων της χλωρίωσης στις αερόβιες διεργασίες. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε narroxen συγκέντρωσης 10 mg/L σε υπερκάθαρο νερό στο οποίο προστέθηκε χλώριο συγκέντρωσης 100 mg/L σε pH 6,3 και θερμοκρασία 23⁰C. Ο συνολικός χρόνος χλωρίωσης ήταν 7 ημέρες και ο προσδιορισμός των προϊόντων έγινε με χρήση υγρής χρωματογραφίας. Για τον προσδιορισμό της επίδρασης της χλωρίωσης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα narroxen 100 mg/L σε τιμές pH 5, 7 και 9. Τα αποτελέσματα προέκυψαν με χρήση αέριου χρωματογράφου. Για τη μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης χλωρίου χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις 1, 5 και 10 mg/L. Τα αποτελέσματα για τον προσδιορισμό των ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων προέκυψαν από το χρωματογράφημα και παρατηρήθηκε ότι μετά από 6 min η κορυφή που αντιστοιχούσε στο narroxen είχε εξαφανιστεί και τέσσερις νέες κορυφές είχαν σχηματιστεί. Τα νέα αυτά προϊόντα μετασχηματίστηκαν και διασπάστηκαν με αποτέλεσμα την εμφάνιση δυο μόνο ορατών κορυφών μετά το πέρας 7 ημερών και το τέλος του πειράματος. Παρατηρήθηκε ακόμη, πως τα ενδιάμεσα προϊόντα σχηματίστηκαν άμεσα κατά την πρώτη ώρα, αλλά σταδιακά απομακρύνθηκαν προς σχηματισμό σε ολοένα και μεγαλύτερο βαθμό των τελικών προϊόντων. Επίσης με το τέλος του πειράματος η αρχική ποσότητα του narroxen είχε μετατραπεί σε μια συγκεκριμένη τελική ένωση. Ένα βασικό ακόμη συμπέρασμα που προέκυψε είναι πως ναι μεν το narroxen μετασχηματίστηκε σε μια διαφορετική τελική ένωση, ωστόσο δεν αδρανοποιήθηκε. Σε συστήματα επεξεργασίας νερού και υγρών αποβλήτων όμως, τα 30 min που απαιτούνται για την μικροβιακή καταπολέμηση ίσως δεν είναι αρκετός χρόνος επαφής με το ελεύθερο χλώριο ώστε να

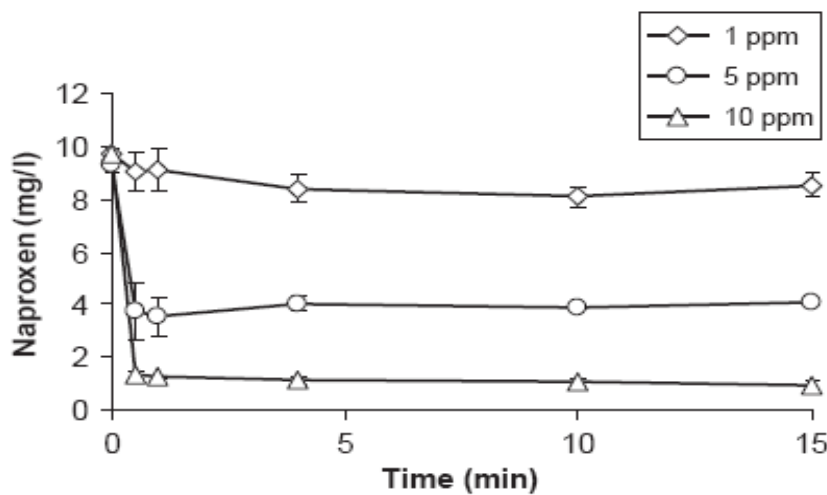
υπάρξει απομάκρυνση του naproxen. Επίσης, οι ρυθμοί αντίδρασης θα ήταν μικρότεροι και περισσότερος χρόνος θα χρειαζόταν για την ολοκλήρωση των χημικών αντιδράσεων σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις όπως σε συστήματα επεξεργασίας (1-100 µg/L naproxen και 0,5-1 mg/L χλωρίνης) με αποτέλεσμα η παρουσία του σε φυσικά ύδατα και σε μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων να είναι εμφανής. Όσον αφορά την επίδραση του pH και της δόσης χλωρίου χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα τιμών pH 5, 7 και 9 για χρόνο χλωρίωσης 15 min και τα αποτελέσματα φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.6.8 : Επίδραση του pH στη χλωρίωση του naproxen για γραμμομοριακή αναλογία naproxen/χλωρίου, 0,06:1 και θερμοκρασία $23 \pm 1^{\circ}C$.

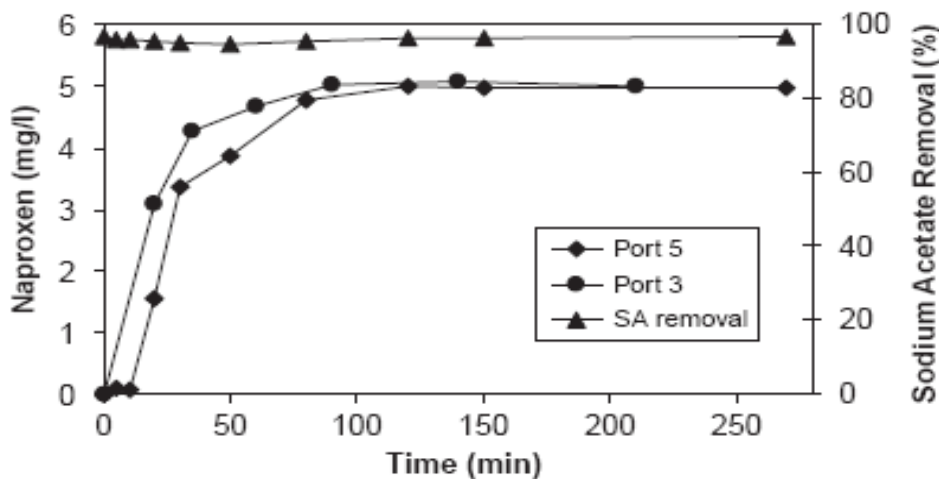
Από το διάγραμμα, παρατηρούμε πως οι αντιδράσεις μεταξύ naproxen και χλωρίου ήταν ταχείες και πλησίασαν την ολοκλήρωσή τους ακόμα και στα 30 sec. Επίσης από τα αποτελέσματα φαίνεται πως το naproxen μετασχηματίστηκε άμεσα με τα ποσοστά απομάκρυνσης να ανέρχονται στο 99,7% για τιμή pH 5, στο 99,2% για pH 7 και στο 61,5% για pH 9. Τα αυξημένα ποσοστά απομάκρυνσης στις τιμές 5 και 7 οφείλονται στη δραστικότητα του ελεύθερου χλωρίου στο εύρος αυτό τιμών, καθώς βρίσκεται με τη μορφή υποχλωριώδους οξέος η οποία ευνοεί την αντίδραση οξείδωσης με το naproxen. Για την περίπτωση υψηλών τιμών pH η κυρίαρχη μορφή χλωρίου είναι ανιόντα υποχλωριώδους, τα οποία καλούνται να αντιδράσουν με την ανιοντική μορφή του naproxen, αφού όπως αναφέραμε και παραπάνω πρόκειται για ένα ασθενές οξύ με τιμή pK_a 4,2. Η αντίδραση μεταξύ των δυο αυτών ανιοντικών μορφών είναι λιγότερο αποτελεσματική σε σύγκριση με την αντίστοιχη σε χαμηλές τιμές pH, με αποτέλεσμα η οξείδωση του naproxen να ευνοείται

σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Ακόμη σημαντικά αποτελέσματα προέκυψαν και από τη διαφορετική δοσολογία χλωρίου 1-10 mg/L. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2.6.9 ο ρυθμός και η έκταση της αντίδρασης αυξάνεται με την αύξηση της δόσης χλωρίου και συγκεκριμένα απαιτήθηκε μοριακή αναλογία παροξεν/χλωρίου μικρότερη από 3:1 για την αφαίρεση του από την υδατική φάση.



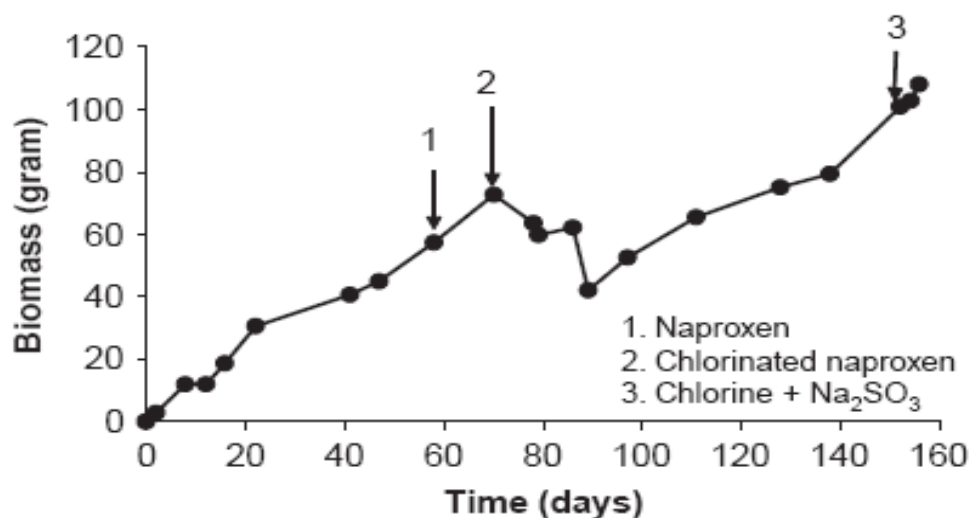
Εικόνα 2.6.9 : Επίδραση της δόσης χλωρίου στη χλωρίωση του παροξεν συγκεντρώσεις χλωρίου 1 ppm, 5 ppm και 10 ppm

Τέλος, για τη μελέτη της επίδρασης του παροξεν στις αερόβιες διεργασίες, χρησιμοποιήθηκε βιοαντιδραστήρας στον οποίο προστέθηκε παροξεν συγκέντρωσης 5 mg/L. Δείγματα συλλέχθηκαν στο μέσο (port 3) και στο τέλος (port 5) του αντιδραστήρα και τα αποτελέσματα φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.6.10 : Καμπύλη συμπεριφοράς του παροξεν κατά μήκος του βιοαντιδραστήρα

Naproxen ανιχνεύτηκε και στις δύο περιοχές μετά από χρόνο 20 λεπτών και η συγκέντρωσή της στην έξοδο του αντιδραστήρα υπολογίστηκε στο 98% της συγκέντρωσης εισόδου μετά από 80 λεπτά, από όπου και έπειτα παρέμεινε σταθερή αποδεικνύοντας πως δεν πραγματοποιείται διάσπαση στον αντιδραστήρα. Τα αποτελέσματα αυτά θεωρήθηκαν αναμενόμενα καθώς η βιομάζα δεν είχε προηγουμένως εγκλιματιστεί, όπως έχει παρατηρηθεί και σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων με μικρό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Επίσης, κατά την προσθήκη διαλύματος χλωρίου/naproxen παρατηρήθηκαν αρνητικές επιδράσεις στην ανάπτυξη της βιομάζας. Κατά την άντληση του διαλύματος διαμέσου του αντιδραστήρα για χρονικό διάστημα 3 ωρών η βιομάζα απομακρύνθηκε από το σύστημα την επόμενη ημέρα. Η συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου ήταν προαποφασισμένο να κυμαίνεται κάτω από το όριο των 0,04 mg/L. Όπως φαίνεται και στην εικόνα 2.6.11, η ποσότητα της βιομάζας μειώθηκε για διάστημα 20 ημερών μετά την προσθήκη του διαλύματος γεγονός που θεωρητικά μπορεί να οφείλεται στα προϊόντα της χλωρίωσης, στο υπολειπόμενο χλώριο ή στο θειώδες νάτριο. Για να διαπιστωθεί το πραγματικό αίτιο χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα χλωρίου και θειώδους νατρίου, χωρίς ωστόσο να διαπιστωθεί κάποια μεταβολή. Συνεπώς η αρνητική επίπτωση που προκλήθηκε από το διάλυμα οφείλεται στο σχηματισμό των ενδιάμεσων ή τελικών προϊόντων.



Εικόνα 2.6.11 : Συσσώρευση βιομάζας στο βιοφίλμ του αντιδραστήρα (Boyd et al, 2005)

Επίσης, οι Quintana *et al* (2010), μελέτησαν τη διάσπαση του παροξεν μέσω της διαδικασίας της χλωρίωσης. Σε δοχεία όγκου 22 ml προστέθηκαν 10 ml υπερκάθαρου νερού, όγκος παροξεν ώστε η τελική συγκέντρωση του διαλύματος να είναι 1 µg/L, και ποσότητα Cl₂ ώστε η συγκέντρωση στο διάλυμα να είναι 10 mg/L. Το pH ρυθμίστηκε στην ουδέτερη περιοχή (7,1) και το πείραμα διήρκεσε 24h. Από το διάλυμα αυτό λαμβανόταν δείγμα όγκου 1 ml στο οποίο προσέθεταν ασκορβικό οξύ τελικής συγκέντρωσης 0,6 mg/ml. Επίσης πραγματοποιήθηκαν και περαιτέρω πειράματα προκειμένου να προσδιοριστεί η κινητική της αντίδρασης της χλωρίωσης όπου προστέθηκε παροξεν μικρότερης συγκέντρωσης (50 µg/L) σε διάφορες τιμές συγκεντρώσεων χλωρίου 1 – 10 mg/L. Τέλος για την αναγνώριση των προϊόντων της χλωρίωσης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα υπερκάθαρου νερού με 2 µg/L συγκέντρωση παροξεν και 5 mg/L Cl₂. Όσον αφορά τη διάσπαση του παροξεν παρατηρήθηκε πλήρης διάσπαση στο χρόνο των 24 ωρών. Έπειτα σε μια προσπάθειά τους να εμβαθύνουν περισσότερο στην επίδραση της χλωρίωσης προσπάθησαν να προσδιορίσουν τους παράγοντες που επηρεάζουν τη χλωρίωση αλλά και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Οι εξεταζόμενοι παράγοντες ήταν δυο το pH και η συγκέντρωση του χλωρίου. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων αποδείχτηκε πως ο σημαντικότερος παράγοντας ήταν η συγκέντρωση του χλωρίου, καθώς αύξηση της συγκέντρωσης επιτάχυνε τη διάσπαση του παροξεν προκαλώντας μείωση του χρόνου διάσπασης του 50% του παροξεν ($t_{1/2}$) όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.6.3 : Επίδραση της συγκέντρωσης του χλωρίου και του pH στο χρόνο διάσπασης του παροξεν (Quintana *et al*, 2010)

pH	χλώριο (mg/L)	$t_{1/2}$ (min)
5,7	5,5	46,8
8,3	5,5	124
7	1	446
7	10	51,3

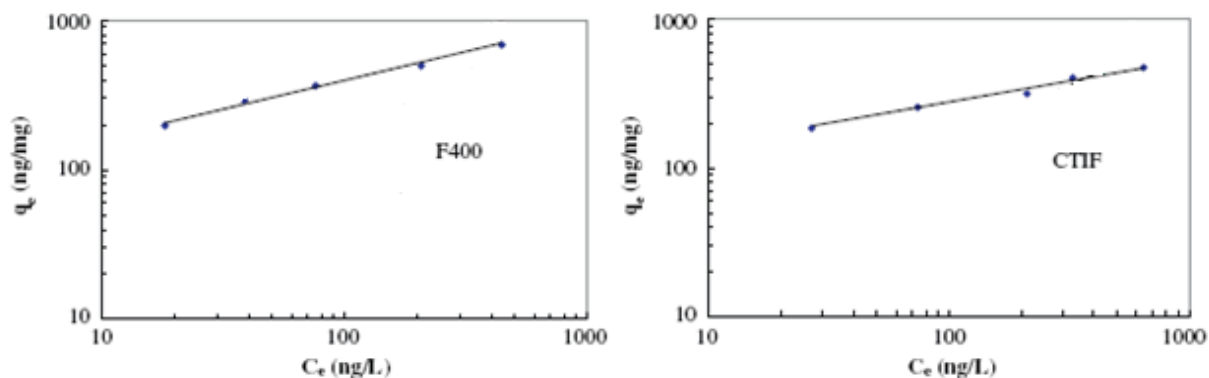
Από τα αποτελέσματα η ένωση που προέκυψε μετά τη χλωρίωση ήταν το Cl-παροξεν το οποίο σχηματίστηκε μετά από χρόνο χλωρίωσης περίπου 14min. Παρά την πλήρη διάσπαση του δεν ανιχνεύτηκαν άλλα παράγωγα ή η παραγωγή τους ήταν τόσο μικρή ώστε να μην είναι ανιχνεύσιμα.

2.6.7. Απομάκρυνση του narroxen με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Snyder *et al* (2006), σε πειράματά τους αξιολόγησαν την απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα δυο ειδών, ενεργοποιημένης σκόνης και ενεργοποιημένων κόκκων. Όσον αφορά τον ενεργό άνθρακα με τη μορφή σκόνης χρησιμοποιήθηκαν δυο εμπορικοί τύποι που ονομάζονται AC800 και WPM. Για την περίπτωση του ενεργού άνθρακα με τη μορφή σκόνης τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια δυο λίτρων τα οποία περιείχαν 1,5 λίτρα νερό βρύσης και τοποθετήθηκαν για ανάδευση σε εξαθέσιο jar tester. Ο χρόνος επαφής στο διάλυμα ήταν 4 ώρες και ακολούθησε 1 ώρα καθίζησης. Οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν ήταν 1,5 και 50 mg/L. Το υπερκείμενο υγρό συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε με φίλτρα Whatman GF/F για την απομάκρυνση υπολειμμάτων PAC. Στο διάλυμα προστέθηκαν ουσίες τελικής συγκέντρωσης 100 ng/L. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια καθαρή σχέση εξάρτησης από τη συγκέντρωση του PAC και το χρόνο επαφής. Συγκεκριμένα η απομάκρυνση του narroxen κατά τη χρήση PAC WPM 5 mg/L έφτασε το 50% της αρχικής συγκέντρωσης.

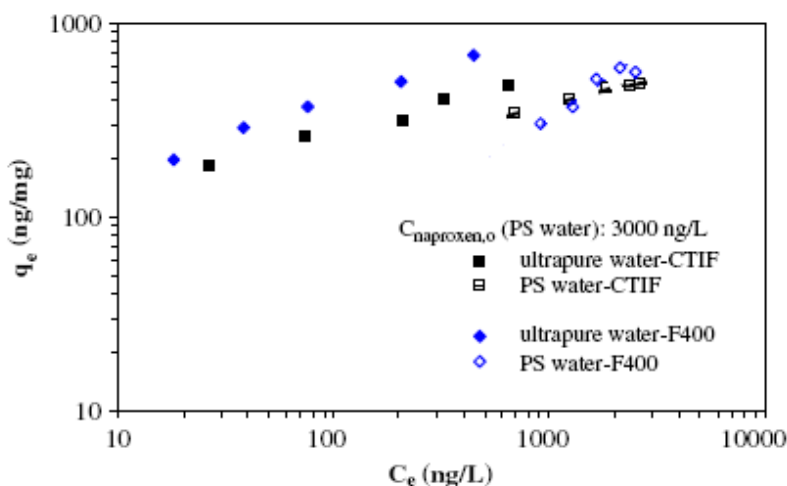
Επίσης, οι Yu *et al* (2008), μελέτησαν την προσρόφηση του narroxen σε δυο τύπους ενεργού άνθρακα κοκκώδους μορφής τον έναν με βασικό υλικό λιθάνθρακα με εμπορική ονομασία Calgon Filrasorb 400 (F400) και τον δεύτερο με υλικό βάσης φλοιό καρύδας με εμπορική ονομασία PICTACTIF TE (CTIF). Για την προετοιμασία τους ακολουθήθηκε έκπλυση με υπερκάθαρο νερό για την απομάκρυνση προσμίξεων και ακολούθως ξήρανση στους 105⁰C για 24 ώρες. Ακόμη, παρασκευάστηκε αρχικό διάλυμα narroxen με διαλύτη υπερκάθαρο νερό, συγκέντρωσης 1 mg/L. Σκοπός του πειράματος ήταν να διερευνηθεί η απομάκρυνση του narroxen σε τέτοια επίπεδα συγκεντρώσεων όπως αυτά που ανιχνεύονται στο περιβάλλον και σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων, ώστε να ικανοποιηθούν τα περιβαλλοντικά όρια που κυμαίνονται από 2-4 ng/L. Χρησιμοποιήθηκαν φιάλες 1 L στις οποίες προστέθηκε narroxen ώστε η τελική ονομαστική συγκέντρωση να είναι 1000 ng/L. Η πραγματική τιμή της συγκέντρωσης προσδιορίστηκε με GC-MS. Οι δόσεις άνθρακα που χρησιμοποιήθηκαν κυμαίνονταν μεταξύ 1 και 10mg ανά λίτρο διαλύματος, η οποία θα οδηγούσε σε ένα εύρος συγκεντρώσεων 10-800 ng/L για τις ισόθερμες σε υπερκάθαρο νερό. Οι φιάλες σφραγίστηκαν και ανακινήθηκαν στις 120 rpm, απουσία φωτός στους 23⁰C. Για την επίτευξη ισορροπίας στην προσρόφηση τα δείγματα αφέθηκαν 12 ημέρες για να συλλεχθεί έπειτα δείγμα και να διηθηθεί με φίλτρα διαμέτρου 0,149mm,

ώστε να απομακρυνθούν τα στερεά και να οδηγηθεί προς ανάλυση στο GC-MS. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται οι ισόθερμες Freundlich για τους δυο τύπους άνθρακα που χρησιμοποιήθηκαν.



Εικόνα 2.6.12 : Ισόθερμες ρόφησης Freundlich για τους άνθρακες F400 (αριστερά) και CTIF (δεξιά) σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού (Yu et al, 2008)

Από τα αποτελέσματα προέκυψε πως ο τύπος άνθρακα F400 παρουσίασε μεγαλύτερη φάση στερεών από τον CTIF, ειδικά μετά την επίτευξη ισορροπίας. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από την έξοδο μονάδας επεξεργασίας λυμάτων (PS) στα οποία προστέθηκε παροχην συγκέντρωσης 1000 ng/L και μελετήθηκε και η επίδραση των οργανικών στερεών στην προσρόφηση. Η ισόθερμες για κάθε τύπο άνθρακα φαίνονται στην παρακάτω εικόνα καθώς και η ισόθερμη για την περίπτωση υπερκάθαρου νερού.



Εικόνα 2.6.13 : Σύγκριση δεδομένων ρόφησης για την περίπτωση λυμάτων και υπερκάθαρου νερού για τους δυο τύπους άνθρακα CTIF και F400 (Yu et al, 2008)

Να επισημανθεί πως τα λύματα περιείχαν ήδη σημαντική συγκέντρωση παρροχεν, η οποία αυξάνει την τιμή της αρχικής συγκέντρωσης στα δείγματα. Ωστόσο έχει αποδειχθεί πως η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης αποτελεί συνάρτηση της ικανότητας προσρόφησης του άνθρακα, καθώς όσο μικρότερη η αρχική συγκέντρωση τόσο μικρότερη η παρατηρούμενη ικανότητα ρόφησης. Επίσης οι ισόθερμες για την περίπτωση των λυμάτων εμφάνισαν μικρότερη προσροφητική ικανότητα. Τέλος οι απαιτούμενες δόσεις άνθρακα για την απομάκρυνση του παρροχεν από εξερχόμενα λύματα σε ποσοστό 90% και την επίτευξη των επιθυμητών συγκεντρώσεων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.6.4 : Δόσεις ενεργού άνθρακα για την απομάκρυνση παρροχεν διαφορετικής αρχικής συγκέντρωσης (Yu et al, 2008)

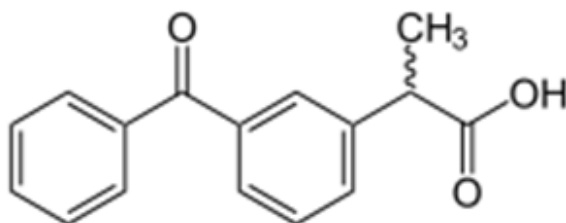
C₀ (ng/L)	CTIF (mg/L)	F400 (mg/L)
500	6,5	16
50	6	16

Παρατηρούμε πως ο τύπος άνθρακα CTIF είναι περισσότερο αποτελεσματικός από τον F400. Επίσης φάνηκε πως για την περίπτωση του F400 η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης του παρροχεν δεν επηρέασε την απαιτούμενη δόση για την επίτευξη ίδιου ποσοστού απομάκρυνσης (Yu et al, 2008).

2.7. Ketoprofen

2.7.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Το ketoprofen είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο. Η ονομασία του κατά IUPAC είναι (RS)-2-(3-βενζολο-φαίνυλο) προπανοϊκό οξύ και ο χημικός του τύπος είναι $C_{16}H_{14}O_3$.



Εικόνα 2.7.1 : Χημική δομή του ketoprofen (Kommuru et al, 1998)

Το μοριακό του βάρος ισούται με 254,28 g/mol και το σημείο ζέσεως βρίσκεται στους 94,5⁰C. Η τιμή pKa ίση με 4,45 ενώ η διαλυτότητά του εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την τιμή του pH. Σε ουδέτερο pH και θερμοκρασία δωματίου η διαλυτότητά του στο νερό ισούται με 1,42 mg/ml. Στο γαστρικό υγρό όπου επικρατούν πολύ όξινες συνθήκες η τιμή της διαλυτότητας ισούται με 0,051 mg/ml. Σε διάλυμα νερού/αιθανόλης αναλογίας 1:1 η διαλυτότητά του αυξάνεται σε 77,57 mg/ml (Kommuru et al, 1998). Ο συντελεστής οκτανόλης – νερού ισούται με 4,45 για ουδέτερες τιμές pH και 3,12 για τιμές pH κοντά στο 3 (Beetge et al, 2000). Επίσης πρόκειται για μια φωτοευαίσθητη ένωση η οποία έχει χρόνο ημιζωής 4 ώρες σε υδατικά διαλύματα και υπό την επίδραση του ηλιακού φωτός (Matamoros et al, 2009). Ο χρόνος ημιζωής του στους οργανισμούς ισούται με 1,1 – 4 ώρες. Επισημαίνουμε, πως η βιολογική δραστηριότητα του ketoprofen οφείλεται στο (S)-εναντιομερές του καθώς το (R)-εναντιομερές είναι θεραπευτικά ανενεργό. Η διαλυτότητα του ενεργού εναντιομερούς σε ουδέτερο pH και θερμοκρασία δωματίου στο νερό ισούται με 2,32 mg/ml και σε διάλυμα με οργανικό διαλύτη και νερό αναλογίας 1:1 ίση με 71,76 mg/ml. Επίσης το σημείο ζέσεως του εναντιομερούς είναι αυξημένο σε σχέση με αυτό της ρακεμικής μορφής και ανέρχεται στους 367⁰C (Kommuru et al, 1998).

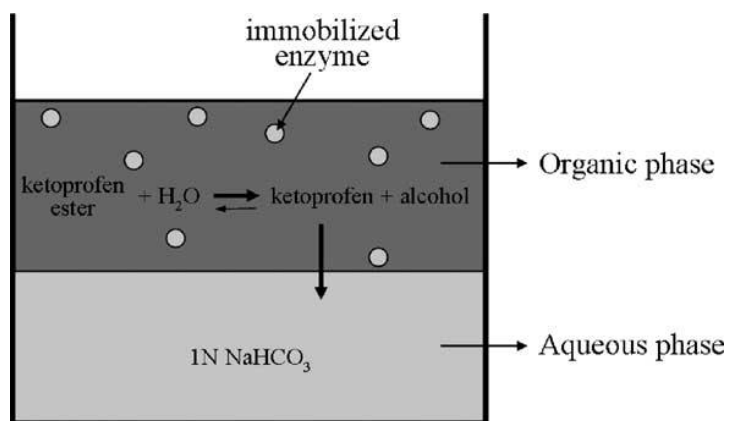
2.7.2. Παραγωγή και χρήσεις

Η πιο συχνή χρήση του ketorprofen έγκειται σε φλεγμονώδεις πόνους που συνδέονται με την αρθρίτιδα ή πόνους των δοντιών που συνδέονται με φλεγμονές των ούλων. Τοπικά το ketorprofen χρησιμοποιείται ευρέως για τη θεραπεία μυοσκελετικού πόνου (Morito *et al*, 2010).

Σύμφωνα με τους Park *et al* (1999), για την παραγωγή της οπτικά ενεργού μορφής του ketorprofen η ενζυμική διάλυση της ρακεμικής μορφής του σε οργανικό διαλύτη επιτυγχάνεται μέσω εκλεκτικής εστεροποίησης. Το φαρμακολογικά ανενεργό (R)-ketorprofen μετατρέπεται στον αντίστοιχο α-εστέρα με την ίδια μέθοδο. Η εκλεκτικότητα σε διαλύτη λιπάσης της ρακεμικής μορφής του ketorprofen εξαρτάται άμεσα από την πηγή της λιπάσης, την αλκοολική ρίζα, τον οργανικό διαλύτη και το περιεχόμενο νερό. Το ketorprofen ανήκει στην κατηγορία των εμπορικά διαθέσιμων, 2-άρυλο-προπιονικών οξέων τα οποία αποτελούν μια σημαντική κατηγορία μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών ουσιών. Η φαρμακευτική τους δραστηριότητα βασίζεται κυρίως στα (S)-εναντιομερή καθώς οι (R) αντίποδες τους είναι βιολογικά ανενεργοί. Έχει διαπιστωθεί πως υδρολυτικά ένζυμα είναι χρήσιμοι βιοκαταλύτες για την παραγωγή των ενεργών μορφών. Συγκεκριμένα οι λιπάσες χρησιμοποιούνται ευρέως για την διάλυση των 2-άρυλο-προπιονικών οξέων. Συγκεκριμένα για την παραγωγή του (S)-ketorprofen, κετοπροφαινικοί εστέρες με υψηλή εκλεκτικότητα λήφθηκαν από ρακεμικά μίγματα εστέρων μέσω εκλεκτικής υδρόλυσης ή trans εστεροποίησης χρησιμοποιώντας λιπάση από το *Mucor miehei*. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε αιθανόλη ως αλκυλο- δότης και η ενζυμική αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε άνυδρους οργανικούς διαλύτες. Συγκεκριμένα 25 mg ρακεμικής μορφής ketorprofen διαλύθηκαν σε 20 ml άνυδρου οργανικού διαλύτη που περιείχαν το ένζυμο και 23 ml αιθανόλης. Το μίγμα επωάζεται στους 37⁰C και αναδεύεται στις 250 rpm. Η αντίδραση διακόπτεται με προσθήκη απομακρύνοντας με διήθηση το ένζυμο και το διήθημα οδηγούνται προς ανάλυση με τη μέθοδο HPLC για τον προσδιορισμό της αναλογίας των εναντιομερών των εστερικών προϊόντων. Το διήθημα περιείχε τόσο ketorprofen όσο και τον αντίστοιχο εστέρα του και οδηγούνται προς ξήρανση για να εξατμιστεί και να επαναδιαλυθεί σε n-εξάνιο. Τέλος το ketorprofen εκχυλίστηκε με κορεσμένο όξινο ανθρακικό νάτριο (NaHCO₃) και η οργανική του φάση που περιείχε τον εστέρα οδηγήθηκε προς εξάτμιση για να ακολουθήσει το τελευταίο βήμα της υδρόλυσης σε διάλυμα θειικού

οξέος (H_2SO_4) 5%. Να σημειωθεί επίσης πως για την επίτευξη της καλύτερης αναλογίας εναντιομερών κατά το στάδιο της εστεροποίησης η αντίδραση πραγματοποιήθηκε δε διάφορους οργανικούς διαλύτες ο ιδανικότερος εκ των οποίων ήταν το διχλωρίδιο του αιθυλενίου (EDC).

Επίσης, οι Jin *et al* (2003), ανέπτυξαν μια μέθοδο η οποία βασίζεται στην ανάπτυξη ενός συστήματος δυο φάσεων με σκοπό την εκλεκτική υδρόλυση των εστέρων του ketoprofen. Η χρήση του βουτυλεστέρα του ketoprofen έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα αποδεικνύοντας παράλληλα πως θα μπορούσε εύκολα να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή του επιθυμητού εναντιομερούς υψηλής καθαρότητας σε βιομηχανική κλίμακα. Η ενζυμική υδρόλυση διεξαγόμενη σε ένα μέσο που αποτελείται αποκλειστικά από υπόστρωμα θεωρείται πως διαλύει το ρακεμικό μίγμα του ketoprofen σε εστέρες. Σε ένα σύστημα αποτελούμενο από δυο συστατικά το καθαρό υγρό υπόστρωμα (οργανική φάση) και το νερό (υδατική φάση) τα προϊόντα της υδρόλυσης μπορούν εύκολα να απομακρυνθούν από τα αντιδρώντα μίγματα. Σχεδιάστηκε λοιπόν σύστημα δυο φάσεων χωρίς διαλύτες με σκοπό την εκλεκτική ενζυμική υδρόλυση του ketoprofen σε εστέρες εξετάζοντας παράλληλα παραμέτρους όπως το pH της υδατικής φάσης, η θερμοκρασία, το χρησιμοποιούμενο ένζυμο, το μήκος της αλκυλικής αλυσίδας των εστέρων με σκοπό τη μεγιστοποίηση της παραγωγής. Διαπιστώθηκε επίσης πως διάλυμα 1N NaHCO_3 αποτελούσε την ιδανική υδατική φάση για την απομάκρυνση του ketoprofen ενώ η ποσότητα του χρησιμοποιούμενου ενζύμου δεν επηρέασε την παραγωγή των εναντιομερών. Ακόμη, εστέρες με μικρές αλκυλικές αλυσίδες έδωσαν υψηλότερους ρυθμούς αντίδρασης και μετατροπή σε μέσα με μικρότερα ποσά διαλύτη. Για την περίπτωση χρησιμοποίησης του προπυλεστέρα η παραγωγικότητα του συστήματος ήταν 10-100 φορές μεγαλύτερη από ότι στην περίπτωση εστεροποίησης σε οργανικά διαλύματα αλκοολών. Τέλος, η εκλεκτικότητα ως προς τα εναντιομερή σε μέσα χωρίς διαλύτες ήταν παρόμοια με εκείνη που παρατηρήθηκε κατά την εστεροποίηση σε οργανικούς διαλύτες.



Εικόνα 2.7.2 : Σχηματικό διάγραμμα του συστήματος δυο φάσεων χωρίς καταλύτη για την υδρόλυση των εστέρων του ketoprofen (Jin et al, 2003)

2.7.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

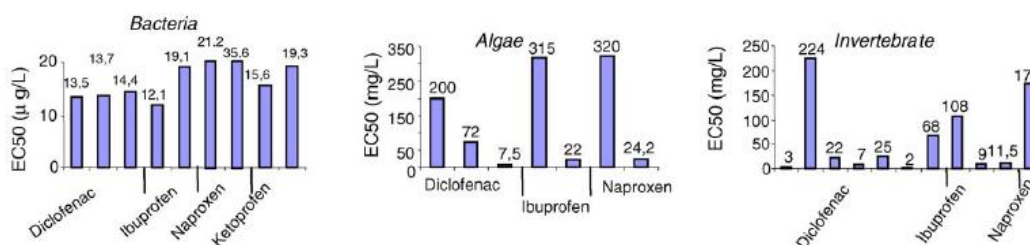
Κατά την εισαγωγή του στον οργανισμό μεταβολίζεται στο ήπαρ μέσω σύζευξης με το γλυκουρονικό οξύ και υδροξυλίωσης του βενζολικού δακτυλίου των CYP2C9 και CYP3A4. Επίσης χρησιμοποιείται για τις αντιπυρετικές, αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του αφού έχει την ικανότητα να παρεμποδίζει τα ένζυμα κυκλοοξυγενάσης 1 και 2 (COX-1 και COX-2) αντιστρεπτά μειώνοντας έτσι την παραγωγή προ- φλεγμονωδών πρόδρομων ουσιών, των προσταγλανδινών (Lemke et al, 2008).

Οι Wang et al (2008), μελέτησαν τις επιπτώσεις του ketoprofen στους μικροοργανισμούς που περιέχονται σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος χρησιμοποιώντας συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 10 ως 100 μM . Πραγματοποίησαν batch πειράματα χρησιμοποιώντας βιομάζα την οποία διατηρούσαν σε συνθήκες αερισμού παρέχοντας οξυγόνο ώστε η συγκέντρωσή του στο διάλυμα να είναι 5-6 mg/L και η θερμοκρασία διατηρούνταν στους 20°C. Στα δείγματα στα οποία δεν προστέθηκε nargoxen, σημαντική κυτταρική ανάπτυξη παρατηρήθηκε κατά τις τρεις πρώτες ημέρες των πειραμάτων ενώ σε αυτά που προστέθηκε η φαρμακευτική ουσία διαπιστώθηκε πως η μικροβιακή ανάπτυξη παρεμποδίστηκε και για τις δύο περιπτώσεις συγκεντρώσεων κατά 43% σε διάστημα 3 ημερών, ενώ σε δεύτερη σειρά πειραμάτων παρατηρήθηκε επίσης μείωση του ρυθμού αποξυγόνωσης κατά 39% για συγκέντρωση ketoprofen 10 μM . Επίσης διαπιστώθηκε πως η απομάκρυνση του ketoprofen ήταν ελάχιστη δικαιολογώντας έτσι την παρεμποδιστική δράση του έναντι της ανάπτυξης

των μικροοργανισμών είτε λόγω της ύπαρξης της μητρικής ένωσης, είτε λόγω των μεταβολιτών της που πιθανώς σχηματίσθηκαν στο σύστημα.

2.7.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Αρκετές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στις αρνητικές επιπτώσεις και κυρίως στην τοξική επίδραση που μπορεί να επιφέρουν οι φαρμακευτικές ενώσεις όπως το naproxen στους υδάτινους οργανισμούς. Ωστόσο τα αποτελέσματα σε αρκετές περιπτώσεις δεν φανέρωναν την ίδια ομοιογένεια ειδικά για την περίπτωση των αλγών. Οι τιμές παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα (Hernando *et al*, 2006).



Εικόνα 2.7.3 : Τοξική επίδραση φαρμακευτικών ουσιών σε υδάτινους οργανισμούς (Hernando *et al*, 2006)

Επίσης, οι La Farre *et al* (2001), πραγματοποίησαν πειράματα τοξικότητας με σκοπό τον προσδιορισμό της τοξικότητας στο βακτήριο *V. Fischeri*, προσδιορίζοντας τη βιοφωταύγεια. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση δυο διαφορετικά πρωτόκολλα αυτό της Tox Alert 100 και αυτό της Microtox προσδιορίζοντας ωστόσο και στις δυο περιπτώσεις τις τιμές EC₅₀. Από τα αποτελέσματα προέκυψε διαφοροποίηση στην τιμή EC₅₀ η οποία πιθανώς οφείλεται στην διαφορετικότητα των δυο μεθόδων. Έτσι η τιμή EC₅₀ με βάση την Tox Alert 100 είναι 15,6 μg/ml και 19,3 μg/ml με τη Microtox.

Όσον αφορά την βιοσυγκέντρωση του ketoprofen, οι Brown *et al* (2007), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία προσδιόρισαν τη βιοσυγκέντρωση στο πλάσμα ψαριών και συγκεκριμένα σε πέστροφες χρησιμοποιώντας εξερχόμενα λύματα από 3 διαφορετικές μονάδες επεξεργασίας. Τα στελέχη εκτέθηκαν σε γνωστές συγκεντρώσεις του ketoprofen και έπειτα προσδιορίστηκαν οι παράγοντες βιοσυγκέντρωσης με βάση τα αποτελέσματα που εμφανίστηκαν στο πλάσμα του αίματος αλλά και με χρήση ενός μοντέλου που

βασίζεται στις σταθερές pK_a και K_{ow} . Τα πειράματα διήρκησαν 16 ημέρες και η θερμοκρασία των χρησιμοποιούμενων λυμάτων ήταν $12^{\circ}C$. Για τιμή έκθεσης 490 ng/ml η μετρούμενη στο πλάσμα συγκέντρωση ήταν 60 ng/ml ενώ η αναμενόμενη με βάση το μοντέλο τιμή ήταν 10000 ng/ml . Η τιμή του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης (BCF) με βάση τα πειραματικά δεδομένα ήταν 0,1 ενώ με βάση το μοντέλο 20. Ωστόσο στο περιβάλλον οι τιμές έκθεσης είναι πολύ χαμηλότερες από αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα συνεπώς και οι ρυθμοί βιοσυσσώρευσης πολύ πιο αργοί.

2.7.5. Βιοαποδόμηση

Οι Yu *et al* (2006), πραγματοποίησαν batch πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ανάμικτο υγρό από εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών αποβλήτων, αραιωμένο 1:1000 το οποίο τοποθετήθηκε σε φιάλες υπό συνεχή αερισμό και προστέθηκε ketoprofen σε συγκέντρωση $50\text{ }\mu\text{g/L}$. Παρατηρήθηκε πως αρχικά ο ρυθμός διάσπασης ήταν αυξημένος μέχρι τις πρώτες 15 μέρες όπου είχαμε διάσπαση του 50% περίπου για να ακολουθήσει πτώση του ρυθμού και πλήρη απομάκρυνση με το πέρας 50 ημερών.

Οι Kosjek *et al* (2007), σε πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος προσδιόρισαν την απομάκρυνση φαρμακευτικών ουσιών συμπεριλαμβανομένου και του ketoprofen. Χρησιμοποίησαν τρεις αντιδραστήρες δυο εκ των οποίων τροφοδοτούσαν με διαφορετικές ποσότητες ketoprofen μια υψηλή με συγκέντρωση $0,05\text{ mg/L}$ και μια χαμηλή $0,005\text{ mg/L}$ και ο τρίτος λειτουργούσε χωρίς προσθήκη ουσιών. Το σύστημα λειτουργούσε σε θερμοκρασία $22^{\circ}C$ και $pH\ 7,5$. Στον αερόβιο αντιδραστήρα προστέθηκε ανάμικτο υγρό από μονάδα επεξεργασίας αστικών αποβλήτων και η λειτουργία του συστήματος διήρκεσε 2 χρόνια. Παρατηρήθηκε πως για την υψηλότερη συγκέντρωση η απομάκρυνση ήταν μεγαλύτερη 91,1% σε σχέση με την μικρότερη 89,6%. Συμπεραίνουμε έτσι πως οι βιοτικές/αβιοτικές διεργασίες μπορούν να απομακρύνουν μια ουσία μέχρι μια ελάχιστη τιμή συγκέντρωσης, παρά τις διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι η διάχυση διακόπτεται κάτω από μια τιμή συγκέντρωσης πιθανώς λόγω της μη αποτελεσματικής επαφής μεταξύ των μικροοργανισμών και του θρεπτικού μέσου στο οποίο είναι διαλυμένες οι ουσίες, αποτρέποντας περαιτέρω διείσδυση στα κύτταρα των μικροοργανισμών. Μια άλλη εξήγηση είναι ότι η καθιζάνουσα βιομάζα παρεμποδίζεται από την αντλία έχοντας ως αποτέλεσμα τη

διαφυγή της βιομάζας στην έξοδο. Το ποσό αυτό βιομάζας ίσως περιέχει προσροφημένη την ουσία η οποία έπειτα από την οξίνιση και διήθηση που υφίσταται επιστρέφει στην υδάτινη φάση και ανιχνεύεται στα λύματα της εξόδου. Επίσης ο υδραυλικός χρόνος παραμονής επηρεάζει άμεσα την απομάκρυνση σχεδιάστηκε αυτός να είναι το δυνατό μεγαλύτερος και συγκεκριμένα 48 ώρες με την παροχή να ανέρχεται στα 2 λίτρα ημερησίως. Τέλος, με την πάροδο έξι μηνών παρατηρήθηκε εγκλιματισμός της βιομάζας στις υπάρχουσες συνθήκες με αποτέλεσμα να μην παρατηρούνται διαφοροποιήσεις στους τρεις αντιδραστήρες.

2.7.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο ketoprofen

Οι Pinkston και Sedlak (2004), πραγματοποίησαν πειράματα με σκοπό να μελετήσουν την επίδραση της χλωρίωσης στο ketoprofen. Χρησιμοποίησαν διάλυμα που περιείχε την ουσία σε αρχική συγκέντρωση 10-20 μM και αναλογία μαζών χλωρίου/ουσίας 30:1. Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε γυάλινα δοχεία, σε θερμοκρασία $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ και για διάφορες τιμές pH από 5 ως 10. Για τον τερματισμό της διαδικασίας της χλωρίωσης προστέθηκαν 100 μL θειοθειικού νατρίου συγκέντρωσης 0,1M. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως για διάστημα χλωρίωσης 5 ημερών το ketoprofen δεν εμφάνισε σημαντική απομάκρυνση ανεξαρτήτως των τιμών pH που χρησιμοποιήθηκαν.

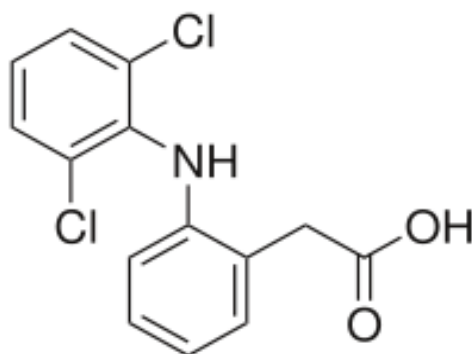
2.7.7. Απομάκρυνση του ketoprofen με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Heijman *et al* (2007), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία προσδιορίστηκε η απομάκρυνση φαρμακευτικών ουσιών όπως και το ketoprofen από επεξεργασμένα λύματα, καθώς και η επίδραση στην απομάκρυνση της οργανικής ύλης που περιέχεται στα λύματα. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε κοκκώδης ενεργός άνθρακας και στα διαλύματα προστέθηκε ketoprofen ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 2 $\mu\text{g/L}$. Χρησιμοποιήθηκαν στήλες πληρωμένες με ενεργό άνθρακα στις οποίες μετρούνταν οι συγκεντρώσεις στην είσοδο και στην έξοδο. Από τα αποτελέσματα προέκυψε απομάκρυνση του ketoprofen σε ποσοστό περίπου 25%.

2.8. Diclofenac

2.8.1. Χημική δομή και ιδιότητες

Το diclofenac είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο. Η ονομασία του κατά IUPAC είναι 2-(2-(2,6-διχλωρο φαινυλο αμινο) φαινυλ) ακετικό οξύ και ο χημικός του τύπος είναι $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$.



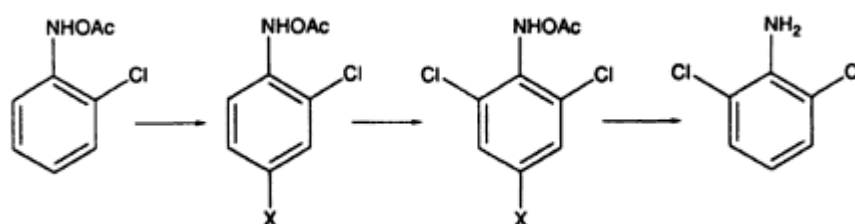
Εικόνα 2.8.1 : Χημική δομή του diclofenac (Zhang *et al*, 2008)

Το μοριακό του βάρος ισούται με 296,15 g/mol και το σημείο ζέσεως βρίσκεται στους 280°C. Η τιμή pKa είναι ίση με 4,15 και η διαλυτότητά του στο νερό ισούται με 23,73 mg/L στους 25°C. Η τιμή της σταθεράς του Henry στους 25°C είναι $4,79 \cdot 10^{-7} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ (Zhang *et al*, 2008). Επίσης ο συντελεστής οκτανόλης – νερού ισούται με 4,02 για τιμές pH κοντά στο 7 και ο χρόνος ημιζωής του στους οργανισμούς ισούται με 2 ώρες. Τέλος όπως και οι υπόλοιπες φαρμακευτικές ουσίες που μελετήθηκαν έτσι και το diclofenac εμφανίζει ιδιαίτερη φωτοευαισθησία, ακόμα και υπό την επίδραση του ηλιακού φωτός (Brown *et al*, 2007).

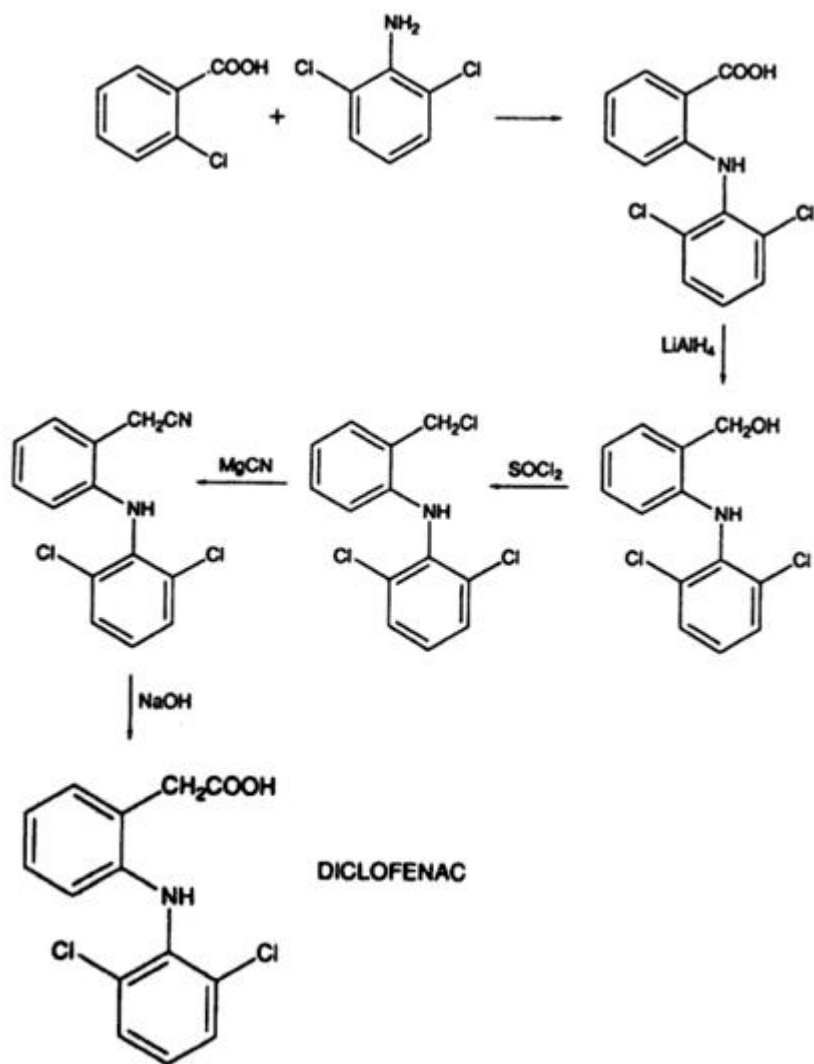
2.8.2. Τρόπος παραγωγής και χρήσεις

Το diclofenac είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση φλεγμονών και την ανακούφιση από τον πόνο. Χρησιμοποιείται ως αναλγητικό σε παθήσεις όπως η αρθρίτιδα ή οξείες βλάβες. Μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση των πόνων περιόδου και της δυσμηνόρροιας (Zhang *et al*, 2008). Ο ακριβής μηχανισμός δράσης του diclofenac δεν είναι απόλυτα γνωστός, αλλά με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα θεωρείται πως ο κύριος μηχανισμός που ευθύνεται για την αντιφλεγμονώδη, αντιπυρετική και αναλγητική δράση είναι η αναστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών, μέσω της αναστολής της κυκλοοξυγενάσης όπως συμβαίνει και με τα περισσότερα αντιφλεγμονώδη της κατηγορίας του. Επίσης φαίνεται να επιδεικνύει βακτηριοστατική δράση αναστέλλοντας τη σύνθεση του βακτηριακού DNA (Dutta *et al*, 2000).

Η παραγωγή του diclofenac γίνεται σε 6 στάδια όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα, με το χλώριο να έχει πρωταγωνιστικό ρόλο στη διαδικασία σύνθεσης καθώς απομακρύνεται κατά τη σύνθεση και εμφανίζεται στο τελικό προϊόν. Η 2,6 δίχλωρο-ανιλίνη είναι ένα από τα σημαντικότερα ενδιάμεσα καθώς ο σχηματισμός της αποτελεί από τα καλύτερα παραδείγματα έμμεσης σύνθεσης της αρωματικής χλωραμίνης, στην οποία η υποκατάσταση χλωρίου δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί με άμεση χλωρίωση (Field and Wall, 1991).



Εικόνα 2.8.2 : Σύνθεση της 2,6 δίχλωρο-ανιλίνης (Field and Wall, 1991)

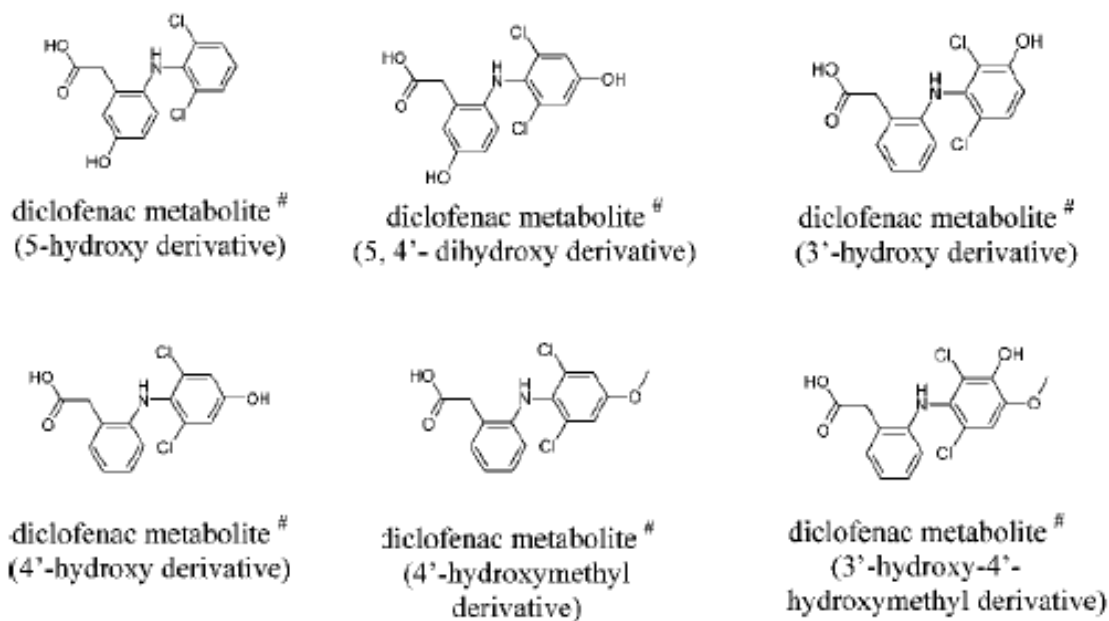


Εικόνα 2.8.3 : Διαδικασία σύνθεσης του diclofenac (Field and Wall, 1991)

2.8.3. Επιπτώσεις στο περιβάλλον και τους οργανισμούς

Ο κύριος τρόπος χορήγησης είναι με στοματική εφαρμογή και η αποβολή του από τον οργανισμό γίνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα με τον απαιτούμενο χρόνο για απομάκρυνση του 50% της εισερχόμενης ποσότητας να ανέρχεται στις 2 ώρες περίπου. Επίσης το 65% της δόσης απεκκρίνεται μέσω των ούρων με τη μορφή έξι κυρίως διαφορετικών μεταβολιτών του, με δυο εξ' αυτών να ανιχνεύονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από την μητρική ένωση του diclofenac. Ωστόσο το diclofenac είναι διαθέσιμο και σε άλλες μορφές οι οποίες χρησιμοποιούνται για δερματικές εφαρμογές, με τη μορφή σταγόνων για είσοδο από τα μάτια και με τη μορφή ένεσης. Οι μεταβολίτες που παράγονται στις περιπτώσεις αυτές είναι η ίδιοι ποιοτικά αλλά σε διαφορετικές αναλογίες.

Παρότι η στοματική εφαρμογή είναι η κύρια μορφή χορήγησης και αντιπροσωπεύει το 70% των συνολικών πωλήσεων, η δερματική εφαρμογή αρχίζει να γίνεται πιο δημοφιλής στις ανεπτυγμένες χώρες μειώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου κατά 50% περίπου, παρακάμπτοντας τη μετατροπή στο συκώτι (φαινόμενο πρώτης διόδου ή προ- συστηματικός μεταβολισμός) αυξάνοντας όμως έτσι την παρουσία του και των μεταβολιτών του στο υδάτινο περιβάλλον (Zhang *et al*, 2008).



Εικόνα 2.8.4 : Κύριοι μεταβολίτες του diclofenac κατά τη διάσπαση του (Deng *et al*, 2003)

Η ευρεία χρήση του έχει οδηγήσει στην ανίχνευσή του σε λύματα και σε επιφανειακά νερά. Έχουν αναφερθεί επίπεδα συγκέντρωσης στα λύματα που υπερβαίνουν το 1 g/L, ενώ σε συμβατικές μονάδες επεξεργασίας λυμάτων οι συγκεντρώσεις πλησιάζουν ή υπερβαίνουν το 0,1 g/L.

Το diclofenac δρα όπως και οι περισσότερες αντιφλεγμονώδεις φαρμακευτικές ουσίες αναστέλλοντας αντιστρεπτά ή μη τη μία ή και τις δύο μορφές του ενζύμου της κυκλοοξυγενάσης (COX-1 και COX-2) οι οποίες καταλύουν τη σύνθεση διαφορετικών προσταγλανδινών από το αραχιδονικό οξύ. Οι νεότερες μορφές του paroxen δρουν πιο εκλεκτικά στην COX-2 μορφή η οποία είναι υπεύθυνη για την αντιφλεγμονώδη δράση. Γενικά οι προσταγλανδίνες έχουν μια ποικιλία ρόλων ανάλογα με την κυτταρική τους προέλευση και τα μόρια στα οποία στοχεύει η δράση τους. Γενικά ωστόσο εμπλέκονται σε

διεργασίες όπως ο πόνος, η φλεγμονή, η ρύθμιση της ροής αίματος στα νεφρά, διεργασίες πήξης αλλά και στη σύνθεση προστατευτικών βλεννογόνων του γαστρικού. Πιο συγκεκριμένα στα ψάρια το επαγωγικό COX-2 ομόλογο έχει βρεθεί ότι εκφράζεται στα μακροφάγα στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) και το προϊόν της μετάφρασης του COX γονιδίου φαίνεται να έχει υψηλό ποσοστό ομολογίας 84 και 77% με τα ανθρώπινα ομόλογα της COX-1 και COX-2 αντίστοιχα. Οι προσταγλανδίνες σχηματίζονται σε ένα ευρύ φάσμα στα ασπόνδυλα και στα σπονδυλωτά. Και ενώ στα κατώτερα ασπόνδυλα, όπως τα κοράλλια η σύνθεσή τους είναι ανεξάρτητη της COX, σε αρθρώποδα και μαλάκια η δραστηριότητα της COX είναι υπεύθυνη για το σχηματισμό των προσταγλανδινών (Fent *et al*, 2006).

2.8.4. Τοξικότητα και βιοσυσσώρευση

Από τα μέχρι τώρα δεδομένα η τοξική δράση διαφέρει για κάθε φαρμακευτική ουσία ακόμα και αν αυτές ανήκουν στην ίδια κατηγορία. Ωστόσο το diclofenac φαίνεται να αποτελεί εκείνη την ένωση που εμφανίζει τη μεγαλύτερη οξεία τοξικότητα μεταξύ των αντιφλεγμονωδών φαρμάκων με τις τιμές συγκέντρωσής του να κυμαίνονται κάτω από τα 100 mg/L. Βραχυπρόθεσμα πειράματα σε άγλη και ασπόνδυλα έδειξαν πως το φυτοπλαγκτόν φανέρωσε μεγαλύτερη ευαισθησία [ελάχιστη EC_{50} (96h) =14,5 mg/L] σε σχέση με το ζωοπλαγκτόν [ελάχιστη EC_{50} (96h) =22,43 mg/L] (Fent *et al*, 2006).

Οι La Farre *et al* (2001), πραγματοποίησαν πειράματα τοξικότητας με σκοπό τον προσδιορισμό της τοξικότητας στο βακτήριο *V. Fischeri*, προσδιορίζοντας τη βιοφωταύγεια. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση δυο διαφορετικά πρωτόκολλα αυτό της Tox Alert 100 και αυτό της Microtox προσδιορίζοντας ωστόσο και στις δυο περιπτώσεις τις τιμές EC_{50} . Από τα αποτελέσματα προέκυψε διαφοροποίηση στην τιμή EC_{50} η οποία πιθανώς οφείλεται στην διαφορετικότητα των δυο μεθόδων. Έτσι η τιμή EC_{50} με βάση την Tox Alert 100 είναι 13,5 μg/ml και 13,7 μg/ml με τη Microtox.

Επίσης, οι Crane *et al* (2006), προσδιόρισαν την τοξική επίδραση φαρμακευτικών ουσιών εκ των οποίων και του diclofenac, μετρώντας τις συγκεντρώσεις στις οποίες προκαλούνται συμπτώματα χρόνιας τοξικότητας σε υδάτινους οργανισμούς. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.8.1: Τοξική επίδραση του diclofenac σε υδάτινους μικροοργανισμούς (Crane et al, 2006)

ΕΙΔΟΣ	ΕΙΔΟΣ	DIC (mg/L)
Άλγη	<i>Cyanobacteria</i>	10
	<i>Diatoms</i>	10
Πράσινα άλγη	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	72 (EC ₅₀)
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	10
Ψάρια	<i>Danio rerio</i>	4
Ασπόνδυλα	<i>Brachionus calyciflorus</i>	12,5
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	1
Χλωρίδα (duckweed)	<i>Lemna minor</i>	7,5 (EC ₅₀)

Οι Ferrari et al (2003), πραγματοποίησαν πειράματα οξείας και χρόνιας τοξικότητας προκαλούμενη από το diclofenac. Αρχικά συλλέχθηκαν δείγματα από μονάδες επεξεργασίας λυμάτων στην Ελλάδα, τη Γαλλία, την Ιταλία και τη Σουηδία. Η μέση τιμή συγκέντρωσης diclofenac στα δείγματα ήταν 0,47 µg/L. Από τα πειράματα τοξικότητας που πραγματοποίησαν, προέκυψε πως για συγκέντρωση μικρότερη των 25 µg/L δεν παρατηρήθηκαν ενδείξεις οξείας ή χρόνιας τοξικότητας. Επίσης τα πειράματα για τον προσδιορισμό της χρόνιας τοξικότητας εμφάνισαν μικρότερες συγκεντρώσεις με το λόγο συγκέντρωση οξείας/συγκέντρωση χρόνιας να κυμαίνεται περίπου στο 23. Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται τα εξεταζόμενα είδη και οι μετρούμενες συγκεντρώσεις.

Πίνακας 2.8.2 : Πειραματικές τιμές (EC₅₀, NOEC, LOEC) οξείας και χρόνιας τοξικότητας για την φαρμακευτική ουσία diclofenac, σε βακτήρια, οστρακοειδή, άλγη και ψάρια (Ferrari et al, 2003)

Τοξικότητα	Οργανισμός	Είδος	Χρόνος έκθεσης	Εξεταζόμενη παράμετρος	Μέτρηση	DCF (µg/L)
Οξεία	Βακτήριο	<i>V. fischeri</i>	30 min	Βιοφωταύγεια	EC ₅₀	11,454
	Οστρακοειδή	<i>D. magna</i>	48 h	Κινητικότητα	EC ₅₀	224,3
		<i>C. dubia</i>	48 h	Κινητικότητα	EC ₅₀	22,704
	Άλγη	<i>P. subcapitata</i>	96 h	Ανάπτυξη	NOEC	10
					LOEC	20.000
	Τροχόζωα	<i>B. calyciflorus</i>	48 h	Αναπαραγωγή	NOEC	12.500
					LOEC	25

Χρόνια	Οστρακοειδή	<i>C. dubia</i>	7 days	Αναπαραγωγή	NOEC	1.000
					LOEC	2.000
	Ψάρια (νεαρής ηλικίας)	<i>D. rerio</i>	10 days	Θνησιμότητα εμβρύων και νεογνών	NOEC	4.000
					LOEC	8.000

Εξετάζοντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν και λαμβάνοντας υπόψη ότι τα φαρμακευτικά προϊόντα είναι σχεδιασμένα ώστε να είναι βιολογικά ενεργές ουσίες, η συνεχής τους έκχυση σε υδάτινα περιβάλλοντα μέσω των λυμάτων αν και σε χαμηλές συγκεντρώσεις η διαρκής παρουσία τους απαιτεί περαιτέρω εξετάσεις περισσότερο ρεαλιστικές (βιοδείκτες, μακροχρόνια έκθεση, δοκιμές σε πολλαπλές γενιές) ώστε να εκτιμηθούν με μεγαλύτερη ακρίβεια οι κίνδυνοι.

Όσον αφορά την βιοσυγκέντρωση του diclofenac, οι Brown *et al* (2007), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία προσδιόρισαν τη βιοσυγκέντρωση στο πλάσμα ψαριών και συγκεκριμένα σε πέστροφες χρησιμοποιώντας εξερχόμενα λύματα από 3 διαφορετικές μονάδες επεξεργασίας. Τα στελέχη εκτέθηκαν σε γνωστές συγκεντρώσεις του paroxen και έπειτα προσδιορίστηκαν οι παράγοντες βιοσυγκέντρωσης με βάση τα αποτελέσματα που εμφανίστηκαν στο πλάσμα του αίματος αλλά και με χρήση ενός μοντέλου που βασίζεται στις σταθερές pK_a και K_{ow} . Τα πειράματα διήρκησαν 16 ημέρες και η θερμοκρασία των χρησιμοποιούμενων λυμάτων ήταν 12°C. Για τιμή έκθεσης λοιπόν 1000 ng/ml η μετρούμενη στο πλάσμα συγκέντρωση diclofenac ήταν 3440 ng/ml ενώ η αναμενόμενη με βάση το μοντέλο τιμή ήταν 59000 ng/ml. Η τιμή του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης (BCF) με βάση τα πειραματικά δεδομένα ήταν 7 ενώ με βάση το μοντέλο 113. Ωστόσο στο περιβάλλον οι τιμές έκθεσης είναι πολύ χαμηλότερες σε σχέση με αυτές των πειραμάτων και οι χρόνοι έκθεσης αρκετά μεγαλύτεροι.

2.8.5. Βιοαποδόμηση

Δεδομένου ότι οι περισσότερες μονάδες επεξεργασίας λυμάτων λειτουργούν με σύστημα ενεργού ιλύος, οι φαρμακευτικές ουσίες μπορούν να απομακρυνθούν με 4 βασικούς τρόπους όπως βιοαποδόμηση, προσρόφηση, αερόβια εκχύλιση και φωτοδιάσπαση. Ωστόσο έχει αποδειχθεί από πειράματα σε βιοαντιδραστήρες, πως για την επίτευξη αέριας εκχύλισης απαιτείται τιμή σταθεράς Henry μεγαλύτερη από $3 \cdot 10^{-3}$, γεγονός που στην περίπτωση του diclofenac προκαλεί περιορισμένη απομάκρυνση. Στα πειράματά τους οι Zhang *et al* (2008), χρησιμοποίησαν συμβατικά συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας καθώς και βιοαντιδραστήρες μεμβράνης (MBR) και διαλείποντος έργου (SBR). Ποσοστά απομάκρυνσης έχουν παρατηρηθεί από 0 ως 80% αλλά η πλειονότητα αυτών κυμαίνεται μεταξύ 21 και 40%. Η προσρόφηση του diclofenac στην ιλύ ήταν υπερβολικά χαμηλή με το συντελεστή κατανομής νερού/ιλύος να βρίσκεται στα 16 L/Kg_{SS}. Επίσης η βιοδιασπασιμότητά του, θεωρώντας κινητική πρώτης τάξης για τη διάσπαση του, ήταν μικρότερη από 0,1 L/Kg_{SS}/d τόσο για την περίπτωση του συστήματος ενεργού ιλύος, όσο και για τον αντιδραστήρα MBR. Συγκεκριμένα για το σύστημα ενεργού ιλύος και για αρχική συγκέντρωση 10 μg/L, βρέθηκε πως μετά από αερόβια επεξεργασία 55 ωρών η συγκέντρωσή του κυμαινόταν μεταξύ 96-99%. Τα ίδια αποτελέσματα εμφανίστηκαν και για την περίπτωση βιοαντιδραστήρα σε χρονικό διάστημα 48 ωρών. Ωστόσο, αυξημένο ποσοστό διάσπασης εμφανίστηκε σε βιοαντιδραστήρα όπου επικρατούσαν ανοξικές συνθήκες με την τελική συγκέντρωση να ανέρχεται στο 62-66% της αρχικής. Συνεπώς η αλληλουχία ανοξικών και μη, όγκων μπορεί να επηρεάσει το ποσοστό απομάκρυνσης σε μια μονάδα επεξεργασίας. Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την απομάκρυνση του diclofenac είναι η εμφάνιση όξινων συνθηκών. Έπειτα από σειρά πειραμάτων βρέθηκε πως η τιμή εκείνη του pH στην οποία παρατηρήθηκαν τα μεγαλύτερα ποσοστά προσρόφησης και διάσπασης ήταν κοντά στο 4,4.

Σε άλλη μελέτη, οι Zwiener και Frimmel (2003), μελέτησαν τη βιοδιάσπαση του diclofenac σε πιλοτική μονάδα ενεργού ιλύος συνολικού όγκου 25 L. Πραγματοποίησαν πειράματα που διήρκησαν 55 h και η συγκέντρωση του IBP στην είσοδο τους συστήματος ήταν 10 μg/L. Η ροή εισόδου στο σύστημα ήταν 60 ml/min και ο χρόνος που χρειάστηκε για να επέλθουν μόνιμες συνθήκες στο σύστημα ήταν 24 h. Παρατηρήθηκε πως το diclofenac δεν

βιοδιασπάται καθώς συγκεντρώσεις της τάξης του 94-99% της αρχικής συγκέντρωσης ανιχνεύθηκαν στο σύστημα.

Ακόμη οι Yu *et al* (2006), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ανάμικτο υγρό από εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών αποβλήτων, αραιωμένο 1:1000 το οποίο τοποθετήθηκε σε φιάλες υπό συνεχή αερισμό και προστέθηκε diclofenac σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 50 $\mu\text{g/L}$. Παρατηρήθηκε πως για την περίπτωση του 1 $\mu\text{g/L}$ αρχικής συγκέντρωσης σε 15 ημέρες απομακρύνθηκε το 30% της ουσίας για να σταθεροποιηθεί από εκεί και έπειτα στα 0,7 $\mu\text{g/L}$ μέχρι το τέλος του πειράματος. Για την συγκέντρωση των 50 $\mu\text{g/L}$ παρατηρήθηκε ποσοστό απομάκρυνσης 60% σε χρόνο 20 ημερών με σταθερό ρυθμό για να ακολουθήσει από εκεί και έπειτα μείωση του ρυθμού απομάκρυνσης και στο τέλος του πειράματος η συνολική απομάκρυνση να είναι της τάξης του 70%.

2.8.6. Επίδραση της χλωρίωσης στο diclofenac

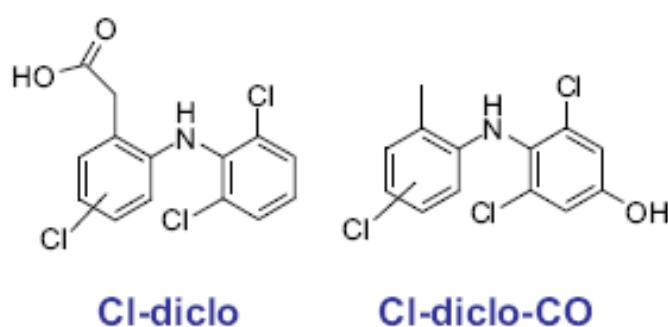
Οι Quintana *et al* (2010), μελέτησαν τη διάσπαση του diclofenac μέσω της διαδικασίας της χλωρίωσης. Σε δοχεία όγκου 22 ml προστέθηκαν 10 ml υπερκάθαρου νερού, όγκος diclofenac ώστε η τελική συγκέντρωση του διαλύματος να είναι 1 $\mu\text{g/L}$ και ποσότητα Cl_2 ώστε η συγκέντρωση στο διάλυμα να είναι 10 mg/L . Το pH ρυθμίστηκε στην ουδέτερη περιοχή (7,1) και το πείραμα διήρκεσε 24h. Από το διάλυμα αυτό λαμβανόταν δείγμα όγκου 1 ml στο οποίο προσέθεταν ασκορβικό οξύ τελικής συγκέντρωσης 0,6 mg/ml . Επίσης πραγματοποιήθηκαν και περαιτέρω πειράματα προκειμένου να προσδιοριστεί η κινητική της αντίδρασης της χλωρίωσης όπου προστέθηκε paroxen μικρότερης συγκέντρωσης (50 $\mu\text{g/L}$) σε διάφορες τιμές συγκεντρώσεων χλωρίου 1 – 10 mg/L . Τέλος για την αναγνώριση των προϊόντων της χλωρίωσης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα υπερκάθαρου νερού με 2 $\mu\text{g/L}$ συγκέντρωση diclofenac και 5 mg/L Cl_2 . Όσον αφορά τη διάσπαση του diclofenac παρατηρήθηκε πλήρης διάσπαση στο χρόνο των 24 ωρών. Έπειτα σε μια προσπάθειά τους να εμβαθύνουν περισσότερο στην επίδραση της χλωρίωσης, προσπάθησαν να προσδιορίσουν τους παράγοντες που επηρεάζουν τη χλωρίωση, αλλά και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Οι εξεταζόμενοι παράγοντες ήταν δυο, το pH και η συγκέντρωση του χλωρίου. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων αποδείχτηκε πως ο σημαντικότερος παράγοντας ήταν η τιμή του pH, καθώς μείωση αυτής κατά 2,5 μονάδες και περνώντας από

την ελαφρώς βασική περιοχή στη ελαφρώς όξινη, και για ίδια τιμή συγκέντρωσης χλωρίου, επιτεύχθηκε σημαντική μείωση του $t_{1/2}$. Αντίθετα για σταθερή τιμή pH και αύξηση της συγκέντρωσης χλωρίου κατά 10 φορές η μεταβολή ήταν αρκετά μικρότερη, όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.8.3 : Επίδραση της συγκέντρωσης του χλωρίου και του pH στο χρόνο διάσπασης του naproxen (Quintana et al, 2010)

pH	χλώριο (mg/L)	$t_{1/2}$ (min)
5,7	5,5	5,4
8,3	5,5	328,3
7	1	325,2
7	10	72,6

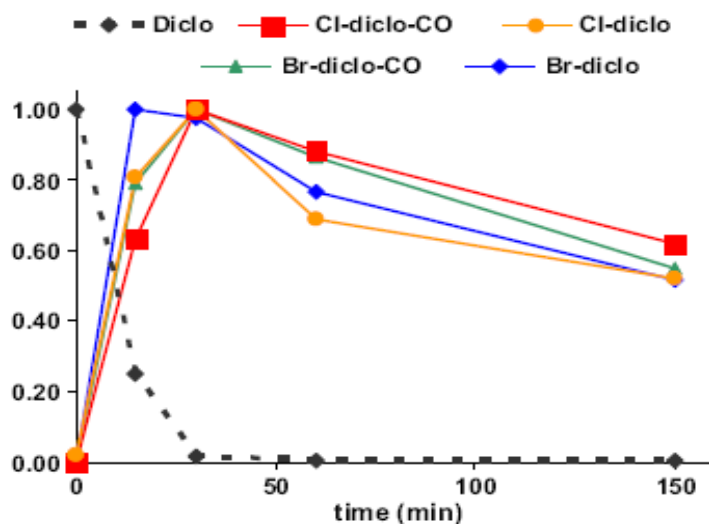
Τα προϊόντα που προέκυψαν από τη διαδικασία της χλωρίωσης για συγκέντρωση χλωρίου 2 mg/L ήταν το χλώρο - diclofenac (Cl-diclo) και το Cl-diclo-CO, τα οποία σχηματίστηκαν μετά από χρόνο αντίδρασης 15 και 17,5 min αντίστοιχα. Για την περίπτωση του Cl-diclo-CO ο εμπειρικός του τύπος αντιστοιχεί στην απώλεια μιας καρβονυλομάδας (C=O) από τα δύο μονοχλωριωμένα προϊόντα. Συγκεκριμένα πιστεύεται πως ο σχηματισμός της οφείλεται σε μια ενδιάμεση λακτόνη κατά την αποκαρβοξυλίωση και την οξείδωση του διχλωριωμένου δακτυλίου στη θέση 4. Έτσι το προϊόν που προκύπτει είναι υδροξυλιωμένο στη θέση 4 του διχλωριωμένου βενζολικού δακτυλίου. Οι δομές των δυο αυτών παραγώγων φαίνονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 2.8.5 : Χημική δομή των προϊόντων της χλωρίωσης του diclofenac (Quintana et al, 2010)

Ωστόσο, ο σχηματισμός των ενώσεων αυτών δεν εξαρτιόταν μόνο από το χρόνο αντίδρασης, αλλά ο περιοριστικός παράγοντας ήταν η συγκέντρωση της χλωρίνης στο διάλυμα. Συγκεκριμένα η συγκέντρωση του χλωρίου επηρεάζει ιδιαίτερα το σχηματισμό του Cl-diclo-CO. Η αύξηση της συγκέντρωσης οδηγεί στον ταχύτερο σχηματισμό της

χλωραμίνης, η οποία αποτελεί απαραίτητο ενδιάμεσο για την περαιτέρω υδροξυλίωση και αποκαρβοξυλίωση, αντιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό του τελικού προϊόντος. Επίσης, το pH αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό παράγοντα καθώς σχετίζεται με την αύξηση της δραστηριότητας του HOCl έναντι των ανιόντων του.



Εικόνα 2.8.6 : Σχηματισμός παραπροϊόντων diclofenac (pH 7, Cl₂ 10 mg/L, Br₂ 100 mg/L). Τα αποτελέσματα στον κάθετο άξονα έχουν προκύψει από κανονικοποίηση (Quintana et al, 2010)

2.8.7. Απομάκρυνση του diclofenac με χρήση ενεργού άνθρακα

Οι Snyder et al (2006), σε πειράματά τους αξιολόγησαν την απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα δυο ειδών ενεργοποιημένης σκόνης και ενεργοποιημένων κόκκων. Όσον αφορά τον ενεργό άνθρακα με τη μορφή σκόνης χρησιμοποιήθηκαν δυο εμπορικοί τύποι που ονομάζονται AC800 και WPM. Για την περίπτωση του ενεργού άνθρακα με τη μορφή σκόνης τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ποτήρια δυο λίτρων τα οποία περιείχαν 1,5 λίτρα νερό βρύσης και τοποθετήθηκαν για ανάδευση σε εξαθέσιο jar tester. Ο χρόνος επαφής στο διάλυμα ήταν 4 ώρες και ακολούθησε 1 ώρα καθίζησης. Οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν ήταν 1,5 και 50 mg/L. Το υπερκείμενο υγρό συλλέχθηκε και φιλτραρίστηκε με φίλτρα Whatman GF/F για την απομάκρυνση υπολειμμάτων PAC. Στο διάλυμα προστέθηκαν ουσίες τελικής συγκέντρωσης 100 ng/L. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια καθαρή σχέση εξάρτησης από τη συγκέντρωση του PAC και το χρόνο επαφής. Συγκεκριμένα η απομάκρυνση του diclofenac κατά τη χρήση PAC WPM 5 mg/L έφτασε το 40% της αρχικής συγκέντρωσης.

2.9. Μέθοδοι απομάκρυνσης ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση των φαρμακευτικών σκευασμάτων ακολουθεί μια αυξανόμενη τάση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι παγκοσμίως αυξάνονται συνεχώς τα είδη των ασθενειών που είναι ανθεκτικά σε διάφορα είδη θεραπείας. Τα φαρμακευτικά σκευάσματα καθώς και οι μεταβολίτες τους, διαμέσου των ανθρωπίνων εκκρίματων εισέρχονται στα αποχετευτικά συστήματα, στους σταθμούς επεξεργασίας λυμάτων και τελικά καταλήγουν σε επιφανειακά, υπόγεια και θαλάσσια νερά. Αυτό συμβαίνει λόγω του ότι πολλά ενεργά συστατικά αποδομούνται σε ποσοστά που δεν ικανοποιούν τα όρια των κανονισμών. Για το λόγο αυτό πολλές διαφορετικές μέθοδοι απομάκρυνσης εφαρμόζονται πέραν της επεξεργασίας που πραγματοποιείται σε συμβατικά συστήματα επεξεργασίας λυμάτων. Πέραν λοιπόν της βιολογικής απομάκρυνσης που υφίστανται σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος συχνά ακολουθεί η διαδικασία της χλωρίωσης όπως αυτή αναφέρθηκε αναλυτικά σε προηγούμενες παραγράφους. Ακόμη η επεξεργασία με ενεργό άνθρακα έχει αποδειχθεί όπως είδαμε στις προηγούμενες ενότητες ως μια αποτελεσματική μέθοδος για την αντιμετώπισή τους.

Επίσης διεργασίες που έχουν ως βάση την επιτόπια παραγωγή πολύ ισχυρών οξειδωτικών όπως η ρίζα του υδροξυλίου (OH^\bullet) τα οποία είναι εξαιρετικά δραστικά σε ένα ευρύ φάσμα οργανικών ενώσεων ανεξαρτήτως της συγκέντρωσής τους. Έτσι σε αντίθεση με πολλά άλλα οξειδωτικά οι ρίζες υδροξυλίου λιγότερο εκλεκτικές ως προς τη δράση τους δρώντας σε περισσότερες οργανικές ενώσεις σχηματίζοντας παράλληλα λιγότερο πολύπλοκα και επιβλαβή ενδιάμεσα. Τέτοιες μέθοδοι σε επαρκείς χρόνους ανάπτυξης και κατάλληλες συνθήκες μπορούν να αδρανοποιήσουν όλες τις οργανικές ενώσεις σε CO_2 , το πιο σταθερό τελικό προϊόν της χημικής οξείδωσης. Αναλυτικά κάποιες από τις μεθόδους αυτές περιγράφονται παρακάτω.

i. Οζονισμός

Το όζον (O_3) χρησιμοποιείται για την επεξεργασία νερού τόσο ως απολυμαντικό όσο και ως οξειδωτικό. Κατά τη διάρκεια του οζονισμού δυο ισχυρά οξειδωτικά το O_3 και το OH^\bullet μπορούν να οδηγήσουν στο μετασχηματισμό των ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών. Το όζον είναι ηλεκτρονιοφιλικά εκλεκτικό αντιδρώντας με αμίνες, φαινόλες και διπλούς

δεσμούς σε αλειφατικές ενώσεις ενώ το υδροξύλιο είναι λιγότερο εκλεκτικό αντιδρώντας με σταθερές ρυθμών δεύτερης τάξης (K_{HO}) της τάξης των $10^8 - 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Λόγω της εκλεκτικής φύσης του όζοντος ο μετασχηματισμός των ρύπων μπορεί να απαιτεί τη χρήση προηγμένων διεργασιών οξείδωσης όπως UV/H₂O₂, O₃/H₂O₂, ή UV/O₃ (Snyder *et al*, 2003).

ii. Υπεριώδης ακτινοβολία (UV)

Λάμπες υπεριώδους ακτινοβολίας χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μικροβιακή απολύμανση του νερού και των λυμάτων. Σε αρκετές περιπτώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση μικρορύπων. Επειδή αρκετές φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες έχουν χρωμοφόρα που απορροφούν που οδηγούν σε προσρόφηση ακτινοβολίας σε υπεριώδη μήκη κύματος υφίστανται μετατροπή κατά την έκθεση στην ακτινοβολία. Ωστόσο συνήθεις δόσεις (30 mJ/cm^2) που απαιτούνται για τη διεργασία της απολύμανσης είναι τάξεις μεγέθους χαμηλότερες από αυτές που απαιτούνται για την αντιμετώπιση μικρορύπων. Ως εκ τούτου η αντιμετώπιση των μελετώμενων ουσιών δεν θα είναι οικονομικά ανταγωνιστική ως προς τις άλλες προηγμένες μεθόδους (Snyder *et al*, 2003).

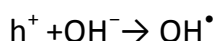
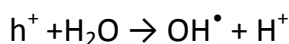
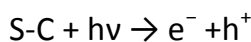
iii. Διαχωρισμός με μεμβράνες

Οι περισσότερες ενδοκρινικές και φαρμακευτικές ουσίες έχουν μοριακό μέγεθος από 150 ως 500 DaLon. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μόνο ενώσεις που συνδέονται με σωματίδια ή κολλοειδή να αφαιρούνται κατά τη διάρκεια της μικροδιήθησης και υπερδιήθησης (Snyder *et al*, 2003).

iv. Φωτοκατάλυση

Φωτοκαταλυτικές αντιδράσεις κατά την παρουσία φωτο- δημιουργούμενων πόρων των ημιαγωγών (οξειδία του Ti, Cu, Zn) έχουν αναλυθεί εκτενώς για την εξάλειψη οργανικών ουσιών σε μονάδες επεξεργασίας νερού. Η διεργασία αυτή βασίζεται στην διέγερση των ημιαγωγών μεταλλικών επιφανειών με χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας ώστε να παραχθεί ενεργό οξυγόνο στους κρυστάλλους. Η ηλεκτρονική δομή των ημιαγωγών αποτελείται από μια υψηλότερη ζώνη σθένους και μια κατώτατη ζώνη. Η ακτινοβολία της επιφάνειας των ημιαγωγών με πηγή ενέργειας μεγαλύτερη από τη διαφορά ενέργειας των δυο ζωνών,

οδηγεί στην παραγωγή ζευγών ενέργειας ηλεκτρονίων τα οποία είτε ανασυνδυάζονται για έκλυση θερμότητας είτε προσπίπτουν στην επιφάνεια του καταλύτη ώστε να αντιδράσουν με τα προσροφημένα στην επιφάνεια είδη. Το φαινόμενο αυτό περιγράφεται και από τις παρακάτω αντιδράσεις.



Η πλειοψηφία των πειραμάτων για την φωτοκαταλυτική διάσπαση των φαρμακευτικών ουσιών πραγματοποιείται με TiO_2 και εστιάζουν στην επίδραση της φωτοκατάλυσης με παράγοντες όπως η αρχική δόση της ουσίας, η δόση των ημιαγωγών, το pH και η θερμοκρασία (Ziyilan *et al*, 2011).

Έχει αποδειχθεί πως η χρήση τέτοιων μεθόδων είναι κατάλληλη για επαναχρησιμοποίηση των εξερχόμενων λυμάτων σε εφαρμογές που απαιτούν υψηλή ποιότητα επεξεργασμένου νερού όπως η αναπλήρωση υπόγειων υδάτων. Συγκεκριμένα η εφαρμογή της μεθόδου της φωτοκατάλυσης με χρήση TiO_2 μπορεί να επιτύχει σημαντικά ποσοστά απομάκρυνσης της τάξης του 95% όπως για παράδειγμα στην περίπτωση της BPA, ουσίας που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία (Belgiorno *et al*, 2007).

v. Sonolysis

Η παραγωγή ριζών υδροξυλίου στο νερό με χρήση κυμάτων υπερήχων βασίζεται στον σχηματισμό, ανάπτυξη και βίαιη διάσπαση των φυσαλίδων δημιουργώντας φαινόμενα σπηλαίωσης και προκαλώντας έτσι τοπικά πολύ ακραίες συνθήκες (5000K, 2000 atm), που οδηγούν σε πολύ υψηλές τιμές χημικής ενέργειας. Η βιβλιογραφία για υποβάθμιση φαρμακευτικών με χρήση υπερήχων είναι περιορισμένη και μόνο σε μερικές εργαστηριακές ή πραγματικές μονάδες επεξεργασίας έχουν αξιολογηθεί παράμετροι όπως η συχνότητα υπερήχων, η συγκέντρωση των ουσιών, το pH, η συγκέντρωση διαλυμένων αερίων, η ισχύς των υπερήχων και η ύπαρξη στερών καταλυτών (Ziyilan *et al*, 2011).

Στους παρακάτω πίνακες εμφανίζονται οι συνηθέστερες μέθοδοι απομάκρυνσης οργανικών ουσιών αλλά και η αποτελεσματικότητα των μεθόδων αυτών.

Πίνακας 2.9.1 : Συνηθέστερες μέθοδοι προηγμένων διεργασιών οξείδωσης (Ziylan et al, 2011)

Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης	
Φωτοχημικές	Άλλες
Οξείδωση με υπεριώδη ακτινοβολία	Οζονισμός
UV/H ₂ O ₂	Αντίδραση Fenton
UV/ O ₃	Υπέρηχοι (US)
UV/ H ₂ O ₂ /O ₃	US/ H ₂ O ₂ , US/ O ₃
UV/Υπέρηχοι	Ηλεκτροχημική οξείδωση
Φώτο-Fenton αντιδράσεις	Οξείδωση υπερκάθαρου νερού
Φωτοκατάλυση	Ιονίζουσα ακτινοβολία
Συνδυασμός sono-φώτο κατάλυσης	Ακτινοβόληση με δέσμη ηλεκτρονίων
Υπεριώδης ακτινοβολία υπό κενό	Wet-air oxidation
Μικροκύματα	Παλμικό Plasma

Πίνακας 2.9.2 : Μέθοδοι και διεργασίες για την απομάκρυνση φαρμακευτικών και ενδοκρινικών ουσιών (Snyder et al, 2003) [A : Αποδόμηση, Φ: Φωτοδιάσπαση (ηλιακή ακτινοβολία), EI: Ενεργός λύση, E: Εξαιρετικό (>90%), K: Καλό (70-90%), M: Μέτριο (40-70%), X: Χαμηλό (20-40%), κ: Κακό (<20%)]

Ομάδα	Κατηγορία	Ενεργός άνθρακας	Οζονισμός (O ₃)	UV	Cl ₂ /ClO ₂	Πήξη / Κροκίδωση	Αποσκλήρυνση / Οξειδία μετάλλων	Νανό-διήθηση	Αντίστροφη ώσμωση	Αποδόμηση (A/Φ/EI)
Ενδοκρινικοί διαταράκτες	Φυτοφάρμακα	E	X-E	E	κ-E	κ	K	K	E	E{Φ}
	Χημικά βιομηχανιών	E	M-K	E	κ	κ-X	κ-X	E	E	K-E{A}
	Στεροειδή	E	E	E	E	κ	κ-X	K	E	X-E{A}
	Μέταλλα	K	κ	κ	κ	M-K	M-K	K	E	κ{A}, E{EI}
	Ανόργανες ουσίες	κ-X	κ	κ	κ	κ	K	K	E	κ-X
	Οργανομεταλλικά	K-E	κ-E	M-K	κ-M	κ-X	κ-X	K-E	E	X-E
Φαρμακευτικές ενώσεις	Αντιβιοτικά	M-K	κ-E	M-K	κ-K	κ-X	κ-X	E	E	E{A},K-E{Φ}
	Αντικαταθλιπτικά	K-E	κ-E	M-K	κ-M	κ-X	κ-X	K-E	E	K-E
	Αντιφλεγμονώδη	E	E	E	κ-M	κ	κ-X	K-E	E	E{A}
	Ρυθμιστές λιπιδίων	E	E	M-K	κ-M	κ	κ-X	K-E	E	K{A}
	Μέσα σκιαγράφησης ακτίνων-X	K-E	κ-E	M-K	κ-M	κ-X	κ-X	K-E	E	E{A και Φ}
	Ψυχιατρικά	K-E	κ-E	M-K	κ-M	κ-X	κ-X	K-E	E	K-E
Προϊόντα προσωπικής φροντίδας	Συνθετικά αρώματα	K-E	κ-E	E	κ-M	κ-X	κ-X	K-E	E	E{A}
	Αντηλιακά	K-E	κ-E	M-K	κ-M	κ-X	κ-X	K-E	E	K-E
	Αντιμικροβιακά	K-E	κ-E	M-K	κ-M	κ-X	κ-X		E	M{Φ}
	Επιφανειοδραστικά / Απορρυπαντικά	E	M-K	M-K	κ	κ-X	κ-X	E	E	X-E{A}

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Τα πειράματα, που θα περιγραφούν σε αυτό το κεφάλαιο, πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου από τον Ιούνιο έως τον Οκτώβριο του 2011. Τα δείγματα συλλεγόταν κάθε εβδομάδα από την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της Ψυτάλλειας και φυλάσσονταν στους 4°C μέχρι τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Πρόγραμμα εργαστηριακών αναλύσεων

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι αναλύσεις, ο σκοπός τους, οι ποσότητες που προστέθηκαν, και οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν.

Ανάλυση	Σκοπός	Δείγμα	Ποσότητες	Μετρήσεις
Χλωρίωση	Προσδιορισμός απομάκρυνσης εξεταζόμενων ουσιών	Δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα, με και χωρίς την προσθήκη των ουσιών	1000 ng/L κάθε ουσίας	TSS, θολότητα, pH, COD, υπολειμματικού χλωρίου, ανάλυση με GC-MS
Τοξικότητα	Προσδιορισμός τοξικότητας χλωριωμένων δειγμάτων	Υπερκάθαρο νερό	1000 ng/L κάθε ουσίας	Προσδιορισμός EC ₅₀ και EC ₂₀
Τοξικότητα	Προσδιορισμός τοξικότητας χλωριωμένης NP	Υπερκάθαρο νερό	3300 ng/L	Προσδιορισμός EC ₅₀ και EC ₂₀
Τοξικότητα	Προσδιορισμός τοξικότητας χλωριωμένης BPA	Υπερκάθαρο νερό	1000 ng/L	Προσδιορισμός EC ₅₀ και EC ₂₀
Ενεργός άνθρακας	Προσδιορισμός απομάκρυνσης εξεταζόμενων ουσιών	Τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα, με και χωρίς την προσθήκη των ουσιών	0 – 1 μg/L κάθε ουσίας	TSS, pH, COD, ανάλυση με GC-MS
OUR	Προσδιορισμός αναχαίτισης ετεροτροφικών μ/ο κατά την παρουσία BPA	Ανάμικτο υγρό	0 – 100 mg/L BPA	TSS, VSS, pH, αναχαίτιση 50% του ρυθμού αποξυγόνωσης
OUR	Προσδιορισμός αναχαίτισης ετεροτροφικών μ/ο κατά την	Ανάμικτο υγρό	0 – 200 mg/L IBU	TSS, VSS, pH, αναχαίτιση 50% του ρυθμού αποξυγόνωσης

	παρουσία IBU			
OUR	Προσδιορισμός αναχαίτισης ετεροτροφικών μ/ο κατά την παρουσία DCF	Ανάμικτο υγρό	0 – 200 mg/L DCF	TSS, VSS, pH, αναχαίτιση 50% του ρυθμού αποξυγόνωσης
OUR	Προσδιορισμός αναχαίτισης ετεροτροφικών μ/ο κατά την παρουσία KTP	Ανάμικτο υγρό	0 – 200 mg/L KTP	TSS, VSS, pH, αναχαίτιση 50% του ρυθμού αποξυγόνωσης

Πίνακας 3.1 : Πρόγραμμα εργαστηριακών μετρήσεων

3.1. Χλωρίωση δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων για απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών

Καθαρισμός σκευών

Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιούνται πλένονται κατά σειρά με νερό βρύσης, καθαρή ακετόνη και υπερκάθαρο νερό.

Παρασκευή αραιωμένης χλωρίνης - χλωρίωση

Για την παρασκευή του διαλύματος χλωρίνης χρησιμοποιήθηκε ποσότητα χλωρίνης του εμπορίου από την οποία παρασκευάστηκε διάλυμα χλωρίνης 1000 mg/L. Η χλωρίωση πραγματοποιήθηκε σε δείγματα δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων προερχόμενα από την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της Ψυτάλλειας και στα οποία προσδιορίστηκε η τιμή pH, η τιμή ολικών αιωρούμενων στερεών, η θολότητα και η τιμή ολικού και διαλυτού COD.

Πειραματική διαδικασία

Σε όγκο δείγματος 5 L προσθέτουμε τις εξεταζόμενες ενώσεις (NP, NPE₁O, NPE₂O, TCS, BPA, IBU, NPX, KTP, DCF) συγκέντρωσης 1000 ng/L η καθεμιά και τοποθετείται σε χώρο απουσία φωτός. Τοποθετούμε όγκο 1 L σε τρία ποτήρια ζέσεως τα οποία αφήνουμε να αναδεύονται στα 200 rpm. Από το διάλυμα χλωρίνης που παρασκευάστηκε προηγουμένως, προσθέτουμε σε κάθε ποτήρι τόση ποσότητα ώστε η συγκέντρωση να ισούται με 11,5 mg/L. Από τη στιγμή της εισόδου του διαλύματος χλωρίνης τοποθετείται χρονόμετρο και λαμβάνεται δείγμα 130 ml από κάθε ποτήρι σε χρόνους 5, 10, 20, 30 και 60 min. Από τα 130 ml

δείγματος αποσπούμε 1 ml για την πραγματοποίηση μέτρησης υπολειμματικού χλωρίου και στο υπόλοιπο προσθέτουμε 1ml θειώδους νατρίου (Na_2SO_3) συγκέντρωσης 10 mg/L. Από το δείγμα αυτό τώρα αφαιρούμε 10 ml για μέτρηση της θολότητας, 2 ml για μέτρηση ολικού COD και μετρούμε την τιμή του pH. Το απομένον δείγμα διηθείται και από το διήθημα αφαιρούνται 2 ml για μέτρηση του διαλυτού COD και 100 ml προστίθενται σε κωνική φιάλη αφού πρώτα η τιμή pH ρυθμιστεί στο 2,8 τιτλοδοτώντας με υδροχλώριο (HCl , 2M). Στη συνέχεια τα δείγματα οδηγούνται προς ανάλυση στη συσκευή GC-MS.

Προσδιορισμός υπολειμματικού χλωρίου

Δείγμα όγκου 10 ml εισάγεται στην ειδική κυψελίδα του οργάνου και η ένδειξη που λαμβάνεται, πολλαπλασιασμένη με την τιμή της αραιώσης εάν έχει πραγματοποιηθεί, αντιστοιχεί στην τιμή της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή.



Εικόνα 3.1.1 : Συσκευή για την μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου τύπου HI Free chlorine ISM (όργανα HANNA)

3.2. Μέτρηση τοξικότητας με τη μέθοδο της βιοφωταύγειας

Για την μέτρηση της αναχαιτίσης του ενάλιου βακτηρίου *Vibrio fischeri*, έχουν αναπτυχθεί τρεις τρόποι:

- liquid dried βακτήρια
- freeze dried βακτήρια
- freshly prepared βακτήρια

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριο αφορά αυτήν των liquid dried βακτηρίων. Για την εκτέλεση της μεθόδου κατά DIN και ISO χρησιμοποιήθηκε όργανο μέτρησης τοξικότητας της εταιρείας Dr Lange, Γερμανίας, τύπου LUMIStox 300.

3.2.1. Αρχή της μεθόδου

Η αναχαίτιση στην εκπομπή φωτός στο είδος *Vibrio fischeri* προσδιορίζεται με μια σειρά από batch τεστ. Αυτό πραγματοποιείται με συνδυασμό συγκεκριμένων όγκων των δειγμάτων, που προορίζονται για εξέταση, με αιώρημα βακτηρίων σε κατάλληλες κυψελίδες. Μετά από ένα χρόνο επώασης κατάλληλα επιλεγμένο μετριέται η μείωση στην βιοφωταύγεια. Η αναχαιτιστική δράση του δείγματος νερού μπορεί να εκφραστεί ως τιμές EC_{20} ή EC_{50} ή ως GL μέσω μιας σειράς αραιώσεων.



Εικόνα 3.2.1 : LUMI Stox 300, εταιρείας Dr Lange, Γερμανίας

3.2.2. Παρεμβολές

Αδιάλυτες, λίγο διαλυτές ή πτητικές ουσίες ή ουσίες που αντιδρούν με το νερό αραιώσης, ή αλλάζουν την κατάστασή τους κατά την διάρκεια του τεστ, μπορούν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα ή να υποβαθμίσουν την επαναληψιμότητα της μεθόδου.

Στην περίπτωση θολών δειγμάτων ή ισχυρά χρωματισμένων δειγμάτων μπορούν να προκαλέσουν μείωση στην μετρούμενη φωταύγεια λόγω απορρόφησης ή σκέδασης του φωτός. Αυτό το σφάλμα εξισορροπείται είτε με την χρήση κυψελίδας διπλού θαλάμου είτε στα νεότερα όργανα με ειδικά ηλεκτρονικά συστήματα. Στην επόμενη παράγραφο γίνεται αναλυτική περιγραφή του προβλήματος.

Νερά με υψηλή κατανάλωση οξυγόνου μπορεί να παρουσιάζουν έλλειψη οξυγόνου (<0,5mg/L) που απαιτείται για την βιοφωταύγεια.

Οργανική ρύπανση των δειγμάτων από εύκολα βιοδιασπάσιμες ουσίες (ουρία, πεπτόνη σε ποσότητα μεγαλύτερη από 100mg/L) μπορούν να προκαλέσουν μείωση στην βιοφωταύγεια ανεξάρτητη από την παρουσία ρύπων

Συγκέντρωση αλάτων στο αρχικό δείγμα που υπερβαίνει τα 30g/L NaCl ή συστατικά άλλων ενώσεων που δίνουν ίδια οσμωτικά φαινόμενα, μπορεί να οδηγήσει μαζί με την αλατότητα που απαιτείται από το τεστ σε υπερωσμωτικά φαινόμενα. Αν το δείγμα περιέχει μεταξύ 20-50gr/L NaCl ισοδυναμία δεν πρέπει να προστεθεί αλάτι. Η τελική συγκέντρωση στα δείγματα δεν πρέπει να υπερβαίνουν την ώσμωση των 35g/L διαλύματος NaCl.

3.2.3. Αντιδραστήρια

Βακτήρια

Γένος από βακτήρια που ακτινοβολούν ανήκουν στο είδος *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Το αιώρημα βακτηριδίων που χρησιμοποιείται για την μέτρηση της τοξικότητας ετοιμάζεται από εμπορικά διαθέσιμα ξηρά αντιδραστήρια τα οποία φυλάσσονται στην κατάψυξη στους -18 ως -20°C. Τα βακτήρια αρχίζουν να ακτινοβολούν μετά την επαναφορά τους με το διάλυμα ενεργοποίησης.

Διάλυμα ενεργοποίησης

Το διάλυμα ενεργοποίησης είναι ένα διάλυμα γλυκόζης και χλωριούχου νατρίου ρυθμισμένο σε pH =7. Δευτερεύοντα συστατικά είναι MgCl₂·6H₂O, KCl, N-(2-Hydroxyethyl) piperazine-η(2-ethanesulfonic acid) (HEPES). Το διάλυμα αυτό αποθηκεύεται σε φιαλίδια στους -20°C ή μετά από τήξη στους 4-8 °C.

Το διάλυμα ενεργοποίησης και τα ενεργοποιημένα βακτήρια τοποθετούνται σε θερμοστατικά ελεγχόμενες θήκες για την διατήρηση σε θερμοκρασία 15+/-1°C. Κατά την διάρκεια του κάθε τεστ η θερμοκρασία δεν πρέπει να μεταβάλλεται περισσότερο από 0,2°C.

Δειγματοληψία

Τα δείγματα που πρόκειται να εξεταστούν θα πρέπει να φυλάσσονται σε αδρανή καθαρά δοχεία. Θα πρέπει να γεμίζονται πλήρως. Καλό είναι η ανάλυση να γίνεται όσο το δυνατόν πιο γρήγορα. Όπου είναι απαραίτητο τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-5°C στο σκοτάδι για όχι περισσότερο από 48h. Αν πρόκειται να μείνουν περισσότερο θα πρέπει να φυλάσσονται στην κατάψυξη. Για την συντήρηση των δειγμάτων δεν πρέπει να χρησιμοποιείται οποιοδήποτε χημικό. Η ρύθμιση του PH και η προσθήκη του άλατος θα πρέπει να γίνεται πριν την διεξαγωγή του τεστ.

Προετοιμασία δειγμάτων

Το pH των δειγμάτων πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 6-8,5. Αν γίνει ρύθμιση του pH αυτή μπορεί να μεταβάλλει την φύση των δειγμάτων. Ρυθμιστική ικανότητα έχει και το ίδιο το μέσο του τεστ που μπορεί να αλλάξει το pH του δείγματος θετικά. Στην περίπτωση που απαιτείται ρύθμιση του PH αυτό γίνεται είτε με HCl είτε με NaOH. Η συγκέντρωση αυτών θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε ο όγκος που θα χρησιμοποιηθεί από αυτά να μη ξεπερνά το 5% του ολικού όγκου.

3.2.4. Τρόποι προσδιορισμού τοξικότητας και έκφρασή της

Ο προσδιορισμός της τοξικότητας στα δείγματα που μελετώνται πραγματοποιείται και παρουσιάζεται με διάφορους τρόπους:

- Screening
- προσδιορισμός τιμών G_L
- προσδιορισμός τιμών EC_{20} και EC_{50}
- Κανονικοποίηση των μετρήσεων με βάση το 100(relV)

Screening

Η μέθοδος αυτή αποτελεί τον απλούστερο τρόπο προσδιορισμού της τοξικότητας σε ένα δείγμα. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σαν ποσοστό αναχαίτισης της βιοφωταύγειας σε διαλύματα δείγματος και βακτηρίων σε σχέση με ένα διάλυμα ελέγχου. Κατά την εφαρμογή αυτού γίνεται απευθείας ανάμιξη δειγμάτων (δείγματα και διάλυμα NaCl ως διάλυμα ελέγχου (control solution) με τους ενεργοποιημένους μικροοργανισμούς και ακολουθεί

επώαση για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (5,15 ή 30 λεπτά). Στην συνέχεια γίνεται μέτρηση αυτών με το τοξικόμετρο.

Προσδιορισμός τιμών G_L

Η τιμή G_L όπως αναφέρεται και στο DIN 38412 L34/341 δίνει το επίπεδο αραιώσης στο οποίο το δείγμα προκαλεί αναχαίτιση μικρότερη από 20% κατά την πραγματοποίηση του τεστ βιοφωταύγειας. Ο προσδιορισμός της τιμής αυτής γίνεται εφαρμόζοντας μια σειράς από αραιώσεις. Η πρώτη αραιώση η οποία θα δώσει τιμή αναχαίτισης μικρότερη από 20% αποτελεί και την τιμή G_L .

Προετοιμασία της σειράς αραιώσεων

Κατά την διενέργεια του τεστ βιοφωταύγειας ίση όγκοι δείγματος νερού (λύματα ή νερό διαφόρων ποιοτήτων) και διαλύματος μικροοργανισμών αναμειγνύονται με αποτέλεσμα η ελάχιστη τιμή αραιώσης να είναι η τιμή 2 (αντίστροφη τιμή του κλάσματος δείγματος) σε μια σειρά αραιώσεων. Επειδή όμως υπάρχουν περιπτώσεις που είναι αναγκαία η μελέτη της τοξικότητας των δειγμάτων κοντά στο επίπεδο μη αραιωμένου δείγματος εφαρμόζεται ένας ειδικός τύπος αραιώσης που απαιτεί την παρουσία ενός ακόμα control. Η περίπτωση αυτή αναφέρεται ως προσδιορισμός τιμής G_L με G_1 μέτρηση σε αντίθεση με την προηγούμενη περίπτωση η οποία αναφέρεται ως προσδιορισμός τιμής G_L χωρίς μέτρηση G_1

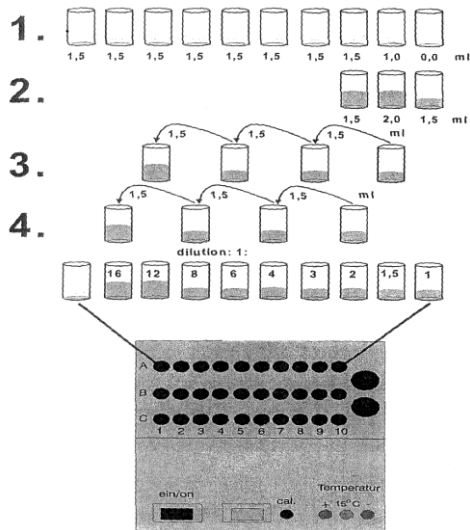
Παρασκευή σειράς εννέα σταδιακών αραιώσεων χωρίς G_1 κατά DIN38412 L34/341

Παρακάτω παρουσιάζεται σχηματικά η διαδικασία και δίνονται οι κατάλληλες επεξηγήσεις

- Εισάγεται διάλυμα 2% NaCl στις κυβέττες A1-A9 ενώ η τελευταία μένει άδεια.
- Προστίθεται δείγμα (προετοιμασμένο) στις θέσεις A8-A10 στις ποσότητες που φαίνονται στο σχήμα.
- Μεταφέρεται 1,5ml από την θέση A9 στην θέση A7. Αναμειγνύεται και μεταφέρεται στην συνέχεια 1,5ml από την θέση A7 στην A5 και ακολούθως από την A5 στην A3
- Μεταφέρεται 1,5ml από την θέση A8 στην θέση A6. Αναμειγνύεται και μεταφέρεται 1,5ml από την θέση A6 στην A4 και στην συνέχεια από την A4 στην A2.
- Η παραπάνω διαδικασία παράγει μια σειρά αραιώσεων που κυμαίνεται από μη αραιωμένο ως αραιώση 1:16. Αυτό αντιστοιχεί σε τιμές G από 2-32 στο τεστ καθώς

0,5ml από τις προηγούμενες κυβέττες αναμειγνύονται με 0,5ml αιωρήματος ενεργοποιημένων μικροοργανισμών.

- Αν γίνει στο αρχικό δείγμα αρχική αραιώση τότε αυτή μεταφέρεται αντίστοιχα σε όλες τις τιμές. Για παράδειγμα αν γίνει αρχική αραιώση 1:4 οι τιμές G θα είναι 8,12,16,24,32,48,64 κλπ



Εικόνα 3.2.2 : Σχηματική απεικόνιση του τρόπου παρασκευής εννέα σταδιακών αραιώσεων χωρίς G1 μέτρηση

Προσδιορισμός τιμών EC_{20} και EC_{50}

Οι τιμή EC (effective concentration) αντιστοιχεί στην συγκέντρωση του δείγματος η οποία προκαλεί 20% ή 50% αναχαίτιση. Για τον προσδιορισμό των τιμών αυτών απαιτούνται τουλάχιστον 3 αραιώσεις για το κάθε δείγμα και είναι δεκτές τιμές αναχαίτισης που κυμαίνονται μεταξύ 10-90%

Κανονικοποίηση των μετρήσεων με βάση το 100 (relV)

Με την επιλογή αυτή όλες οι τιμές που μετρούνται κατά την πραγματοποίηση του τεστ βιοφωταύγειας (GL, EC, LU etc) κανονικοποιούνται σχετικά με την πρώτη μέτρηση που λαμβάνεται στο τεστ. Η πρώτη μέτρηση παίρνει την τιμή 100 και όλες οι υπόλοιπες εκφράζονται σχετικά με αυτή.

3.2.5. Προσδιορισμός της τοξικότητας λυμάτων με το όργανο LUMISTox 300

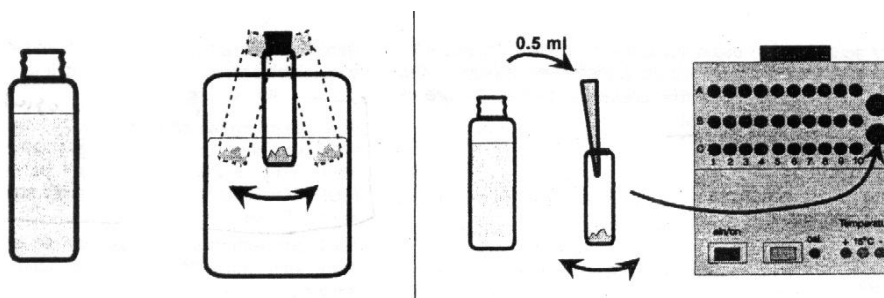
Για τη μέτρηση της τοξικότητας με την χρήση του LUMISTox 300 (Dr Lange, Γερμανία) ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα:

- Ενεργοποίηση των βακτηριδίων
- Προετοιμασία των δειγμάτων
- Καθορισμός και προετοιμασία των αραιώσεων
- Διεξαγωγή των μετρήσεων

Ενεργοποίηση των βακτηριδίων

Για την ενεργοποίηση των μικροοργανισμών οι οποίοι βρίσκονται σε φιαλίδια χρησιμοποιείται διάλυμα γλυκόζης/NaCl. Το διάλυμα αυτό βρίσκεται σε φιαλίδια τα οποία φυλάσσονται μαζί με τους μικροοργανισμούς στο -20°C . Το διάλυμα αυτό αφήνεται να ξεπαγώσει, αναδεύεται και στην συνέχεια τοποθετείται στην κατάλληλη θέση στο LUMISTherm (15°C).

Στη συνέχεια το φιαλίδιο με τους μικροοργανισμούς τοποθετείται για δύο λεπτά μέσα σε ποτήρι με νερό (θερμοκρασία περιβάλλοντος) για να ξεπαγώσουν. Μετά τα δύο λεπτά μεταφέρονται 0,5ml από το διάλυμα ενεργοποίησης στο φιαλίδιο με τους μικροοργανισμούς και ανακινείται ώστε να γίνει ομογενοποίηση. Το φιαλίδιο αυτό τοποθετείται επίσης σε κατάλληλη θέση στο LUMISTherm (15°C) για δεκαπέντε (15) λεπτά.

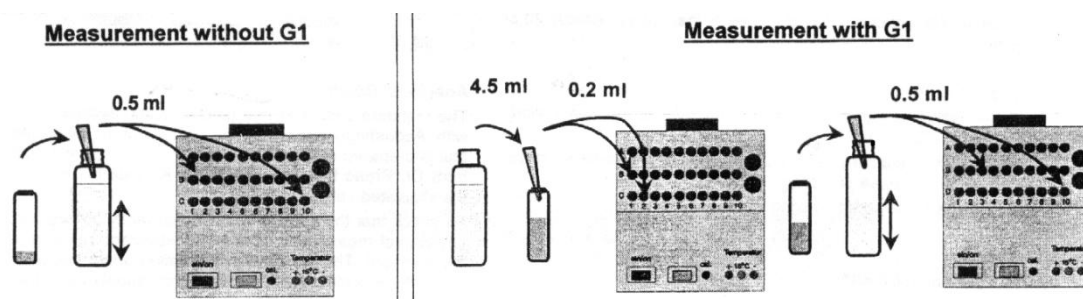


Εικόνα 3.2.3 : Πορεία ενεργοποίησης του *Vibrio fischeri*

Στη συνέχεια ανάλογα με τις αραιώσεις που έχουν προγραμματιστεί να γίνουν (αν δηλαδή θα γίνει μέτρηση με G1 ή χωρίς) ακολουθείται διαφορετική πορεία (Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.)

Αν γίνεται μέτρηση χωρίς G1 τότε το αιώρημα των μικροοργανισμών αναμειγνύεται με το υπόλοιπο διάλυμα ενεργοποίησης και μεταφέρονται κλάσματα 0,5ml σε κάθε θέση από B1 ως C10. Οι κυβέττες ρυθμίζονται θερμοστατικά για 15 λεπτά.

Αν γίνεται μέτρηση με G1 τότε μεταφέρονται αρχικά 4,5ml από το διάλυμα ενεργοποίησης στο φιαλίδιο με τους ενεργοποιημένους μικροοργανισμούς. Στην συνέχεια από το αιώρημα αυτό μεταγγίζονται 0,2ml σε κάθε κυβέττα στις θέσεις B1-C2. Τα 4,2ml που θα παραμείνουν στο φιαλίδιο αναμειγνύονται με το υπόλοιπο διάλυμα ενεργοποίησης και μεταφέρεται στις θέσεις B3-C10. Όμοια με την προηγούμενη περίπτωση οι κυβέττες παραμένουν για 15 λεπτά για θερμοστατική ρύθμιση.



Εικόνα 3.2.4 : Διαδικασία για μέτρηση με G1 και χωρίς G1

Προετοιμασία των δειγμάτων

Δείγματα με υψηλή θολότητα φιλτράρονται με ειδικά φίλτρα (πολυσουλφονικά) και όχι με φίλτρα νιτρικής κυτταρίνης ή οξικής κυτταρίνης γιατί τα τελευταία μπορούν να προκαλέσουν αναχαίτιση που δεν σχετίζεται με τα δείγματα. Ελέγχεται το PH και αν είναι αναγκαίο γίνεται ρύθμισή του στο εύρος 6-8 λαμβάνοντας βέβαια υπόψη τα σφάλματα που μπορεί να προκύψουν από μια τέτοια ρύθμιση. Στο δείγμα προστίθεται NaCl στερεό ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 2% κατ' όγκο (w/v) (αυτό επιτυγχάνεται για παράδειγμα με διάλυση 0,3g NaCl σε 15 ml δείγματος). Αν η αλατότητα υπερβαίνει τα 20g/L (τιμή αγωγιμότητας: 35mS/cm) τότε δεν πρέπει να προστίθεται επιπλέον NaCl. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε αλάτι δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 50 g/L (τιμή αγωγιμότητας: 70mS/cm).

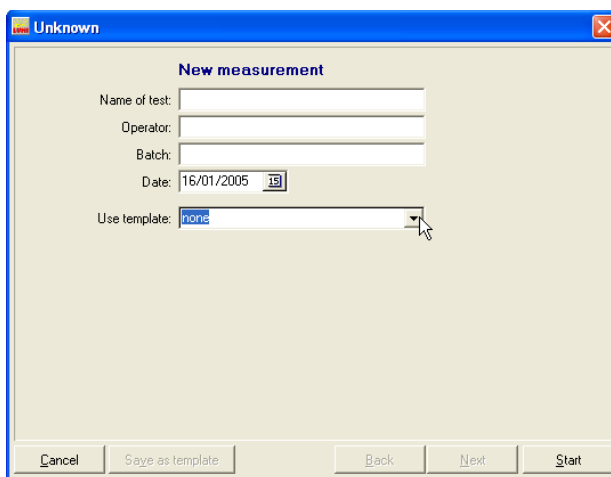
Στην περίπτωση που αναμένεται υψηλή τοξικότητα τότε θα πρέπει το δείγμα να υφίσταται αρχική αραιώση η οποία στην συνέχεια όπως θα αναφερθεί παρακάτω λαμβάνεται υπόψη.

Καθορισμός και προετοιμασία των αραιώσεων

Ανάλογα με το πόσα δείγματα θα πρέπει να αναλυθούν και την διαθεσιμότητα των αντιδραστηρίων επιλέγεται κατάλληλα και ο αριθμός των αραιώσεων. Στην περίπτωση που θα πρέπει να προσδιοριστεί τιμή GL τότε ακολουθείται τυποποιημένη σειρά αραιώσεων (θεωρία). Στην περίπτωση που στόχος είναι ο προσδιορισμός των τιμών EC₂₀ ή /και EC₅₀ η επιλογή του αριθμού των αραιώσεων διαφέρει αλλά σε κάθε περίπτωση δεν θα πρέπει ο αριθμός αυτών να είναι μικρότερος από τρεις (Απαιτούνται τρεις τουλάχιστον τιμές με αναχαίτιση από 10 ως 90% για την γραμμική παλινδρόμηση).

Διεξαγωγή των μετρήσεων

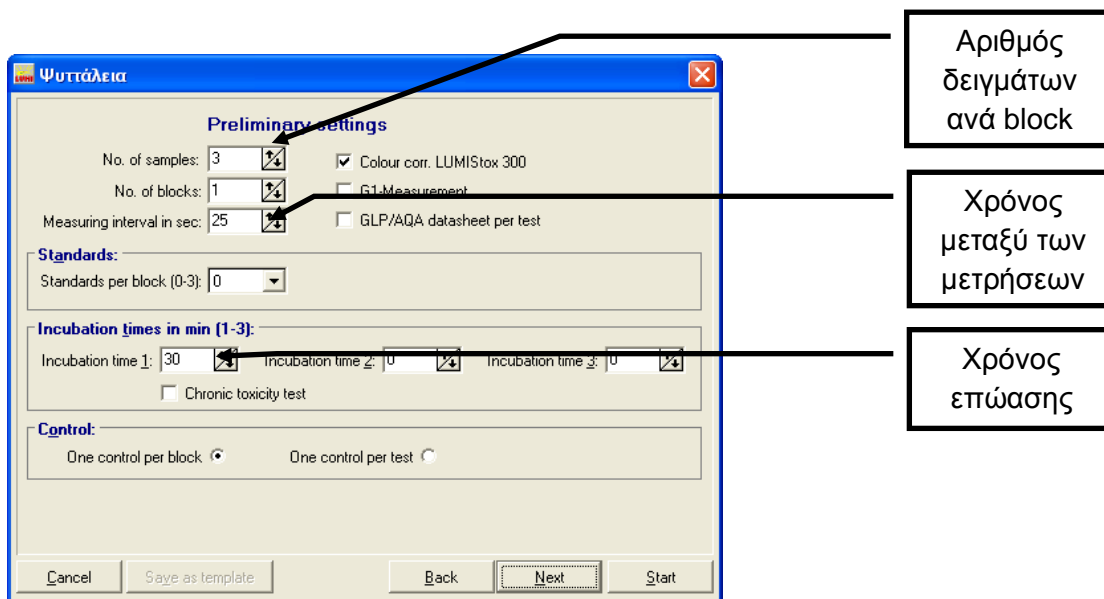
Το όργανο Lumistox 300 προσφέρει την δυνατότητα ελέγχου του τεστ τόσο από το ίδιο το όργανο όσο και μέσω κατάλληλου λογισμικού (LUMISsoft 4). Μέσω του προγράμματος η όλη διαδικασία είναι πιο φιλική προς τον χειριστή του οργάνου. Πριν την έναρξη των μετρήσεων εκτελείται το πρόγραμμα και εμφανίζεται το περιβάλλον του προγράμματος. Μέσω της επιλογής new μία νέα φόρμα εμφανίζεται στην οποία εισάγονται τα αρχικά στοιχεία.



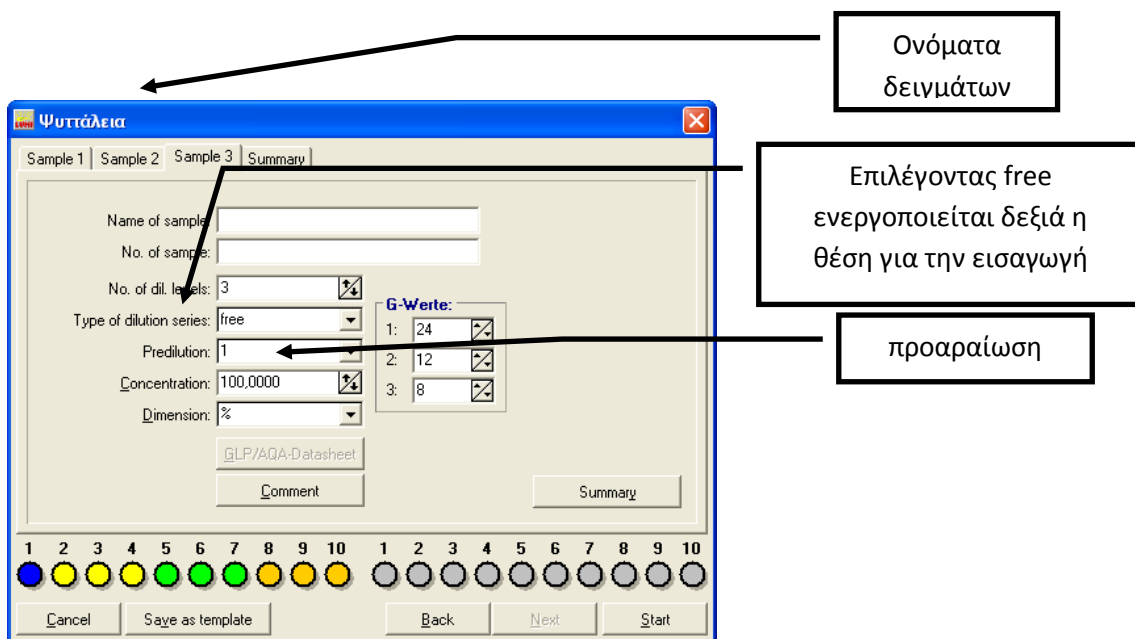
Εικόνα 3.2.5 : Πρώτη φόρμα κατά την έναρξη ενός νέου τεστ

Αφού καθορισθεί και η ημερομηνία μια δεύτερη φόρμα ενεργοποιείται στην οποία εισάγονται οι κανόνες με βάση τους οποίους θα γίνει η διεξαγωγή του τεστ (Εικόνα). Με την επιλογή next (επόμενο) εμφανίζεται μια νέα φόρμα με καρτέλες που αντιστοιχούν στο πλήθος των δειγμάτων ανά τεστ που θα αναλυθούν. Σε κάθε καρτέλα συμπληρώνονται όλα τα απαραίτητα στοιχεία που αφορούν τον χειρισμό του κάθε δείγματος. Ιδιαίτερη προσοχή

θα πρέπει να δίνεται στην περίπτωση που ακολουθείται ελεύθερη σειρά αραιώσεων. Όπως φαίνεται και στην εικόνα (Εικόνα) η μεγαλύτερη αραιώση εισάγεται στην θέση 1 κ.ο.κ.

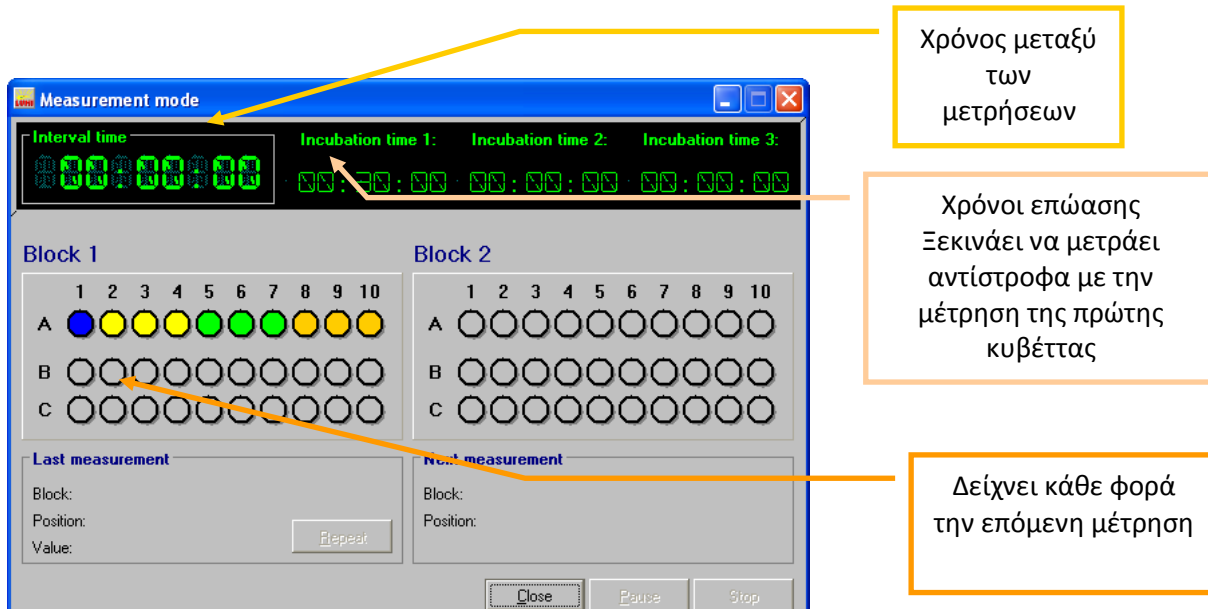


Εικόνα 3.2.6 : Κανόνες διεξαγωγής των μετρήσεων



Εικόνα 3.2.7 : Εισαγωγή παραμέτρων των δειγμάτων

Αφού συμπληρωθούν σωστά όλες οι καρτέλες τότε με την επιλογή start το πρόγραμμα συνδέεται με το όργανο και ζητάει να επιλεχθεί το Lsoft ώστε να γίνεται πλέον ο έλεγχος μέσω του υπολογιστή (χρονικά διαστήματα μετρήσεων, χρόνος επώασης, θέση δείγματος προς μέτρηση κλπ).



Εικόνα 3.2.8 : Παράθυρο που εμφανίζεται κατά την διάρκεια του τεστ

Από την στιγμή αυτή έχουν γίνει όλες οι ρυθμίσεις για την διεξαγωγή του τεστ. Τα βήματα που ακολουθούνται δίνονται παρακάτω:

Εισάγεται η κυβέττα από την θέση B1 στην θέση μέτρησης και ενεργοποιείται με την επιλογή measure η μέτρηση (με την πρώτη μέτρηση αρχίζει και να τρέχει και ο χρόνος των διαστημάτων μεταξύ των μετρήσεων και ο χρόνος επώασης). Όταν γίνει η μέτρηση η κυβέττα εξέρχεται από το όργανο, εισάγονται σε αυτή 0,5ml από την θέση A1 και στην συνέχεια τοποθετείται ξανά στην θέση B1. Μετά κατά τον ίδιο τρόπο εισάγεται από την θέση C1 η κυβέττα στο όργανο και όταν το χρονόμετρο συμπληρώσει το χρόνο που του έχει ορισθεί από τον χειριστή γίνεται η δεύτερη μέτρηση. Στην συνέχεια ακολουθείται όπως και στο B1 η ίδια διαδικασία.

Ανάλογα συνεχίζεται το τεστ και για τις άλλες θέσεις.

Όταν συμπληρωθούν όλες οι θέσεις (ουσιαστικά έχουν γίνει οι μετρήσεις της αρχικής φωταύγειας I_0) και ολοκληρωθεί και ο χρόνος επώασης, με την ίδια σειρά όπως περιγράφηκε παραπάνω τηρώντας παράλληλα και τους χρόνους μεταξύ των μετρήσεων εισάγονται οι κυβέττες στο όργανο ώστε να μετρηθεί η τιμή της φωταύγειας (I_t) αφού πλέον έχει γίνει η αλληλεπίδραση των μικροοργανισμών με το δείγμα (ή δείγματα).

3.2.6. Προσδιορισμός της αναχαίτισης

Υπολογισμός συντελεστή διόρθωσης fKt:

Στην θέση 1 του block τοποθετείται το control (διάλυμα NaCl 2%) ώστε να είναι δυνατός ο προσδιορισμός του συντελεστή διόρθωσης των αρχικών τιμών αναχαίτισης. Για τον υπολογισμό αυτού υπολογίζονται οι λόγοι των τιμών I_t/I_0 για τις θέσεις B1 και C1 αντίστοιχα και στην συνέχεια προσδιορίζεται ο μέσος όρος αυτών. Η τιμή αυτή χρειάζεται ώστε να διορθωθούν όλες οι αρχικές τιμές φωταύγειας πριν χρησιμοποιηθούν ως τιμές αναφοράς για τον προσδιορισμό της μείωσης της φωταύγειας. Ο συντελεστής διόρθωσης πολλαπλασιάζεται με τις αρχικές τιμές φωταύγειας και λαμβάνονται οι διορθωμένες τιμές οι οποίες στην συνέχεια χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της αναχαίτισης μέσω της απλής σχέσης:

$$H_t = [(I_{ct} - I_t) / I_{ct}] \cdot 100 \quad \text{όπου } (t = \text{ο χρόνος του τεστ})$$

Στην συνέχεια υπολογίζεται ο μέσος όρος των δύο αναχαίτισεων για την κάθε αραιώση και προσδιορίζεται η τιμή αναχαίτισης. Για να προσδιοριστούν οι στατιστικές τιμές EC (effective concentration) για αναχαίτισεις 20% και 50%, υπολογίζονται πρώτα οι τιμές Γάμμα για κάθε αναχαίτιση μέσω της σχέσης:

$$\Gamma = (H_{t\text{mean}} / 100 - H_{t\text{mean}})$$

Μετά από τους παραπάνω υπολογισμούς, είναι δυνατός ο υπολογισμός της ενεργού συγκέντρωσης ακολουθώντας την παρακάτω πορεία.

Θεωρώντας την τοξικότητα ως ολική παράμετρο και από τις αραιώσεις που έχουν γίνει υπολογίζεται η συγκέντρωση ως ποσοστό %. Οι αντίστοιχες αναχαίτισεις που προκλήθηκαν από την συγκεκριμένη ολική παράμετρο προσδιορίζονται οι τιμές Γ και κατασκευάζεται διάγραμμα των τιμών λογαρίθμων των τιμών συγκέντρωσης σε συνάρτηση με τους λογαρίθμους Γ. Με γραμμική παλινδρόμηση προσδιορίζονται οι συντελεστές της εξίσωσης:

$$\log Ct = b \cdot \log \Gamma + \log a$$

Έχοντας προσδιορίσει τις τιμές b, $\log a$ μπορούν να υπολογισθούν οι τιμές EC₂₀ και EC₅₀ θέτοντας ως τιμές Γ τις

$$\Gamma = 0,25 \quad \text{τότε} \quad Ct = EC_{20}$$

$$\Gamma=1 \quad \text{τότε} \quad Ct = EC_{50}$$

Θεωρητικά πλέον οι τιμές των αντίστοιχων GL είναι οι αντίστροφες τιμές των EC.

3.3. Πειραματική διαδικασία απομάκρυνσης ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών από τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα με χρήση ενεργού άνθρακα

Υλικά

Αρχικά τοποθετούμε ποσότητα ενεργού άνθρακα σε φούρνο στους 103⁰C για μια ημέρα. Την επόμενη τοποθετούμε την ίδια ποσότητα σε ξηραντήρα και παρασκευάζουμε διάλυμα 5000 mg/L ενεργού άνθρακα σε σκόνη (PAC WP7). Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα από την μονάδα επεξεργασίας λυμάτων της Ψυτάλλειας.

PAC WP7	
Επιφάνεια	900 m ³ /gr
Αριθμός ιωδίου	850 mg/gr
Υγρασία	<3%
pH	9
Πυκνότητα επί ξηρού βάρους	0,4 – 0,5 gr/cm ³

Πίνακας 3.3.1 : Χαρακτηριστικά του WP7 σε σκόνη

Πειραματική διαδικασία

Στην πρώτη σειρά πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν 5 γυάλινα ποτήρια ζέσεως 1 L στα οποία τοποθετήθηκε 500 ml δείγματος. Σε κάθε ποτήρι προστέθηκαν οι μελετώμενες ουσίες σε συγκεντρώσεις 0 (control δείγμα), 100, 300, 500 και 1000 ng/L. Αφού προστεθούν οι ουσίες λαμβάνεται δείγμα όγκου 100 ml το οποίο διηθείται και τιτλοδοτείται με HCl (2M) ώστε να αποκτήσει τιμή pH 2,8. Έπειτα σε όλα τα ποτήρια προστίθεται άνθρακας 15 mg/L, και τα διαλύματα αφήνονται για ανάδευση 60 min στα 120 rpm. Έπειτα τα δείγματα αφέθηκαν σε ηρεμία για άλλα 60 min ώστε να καθιζάνει ο άνθρακας. Συλλέγονται 100 ml υπερκείμενου για να διηθηθούν από μεμβράνες 0,45 μm ώστε να απομακρυνθούν τα στερεά και μετρήθηκαν οι τιμές θολότητας και pH. Ακολούθως το διήθημα τιτλοδοτείται με HCl (2M) ώστε να αποκτήσει τιμή pH 2,8 και τα δείγματα μαζί με τα προηγούμενα, οδηγούνται προς

ανάλυση με χρήση οργάνου GC-MS. Σε δεύτερη σειρά πειραμάτων ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τη διαφορά ότι η προστιθέμενη συγκέντρωση άνθρακα ισούται με 50 mg/L.

3.4. Προσδιορισμός Ταχύτητας Αποξυγόνωσης (OUR)

3.4.1. Γενικά

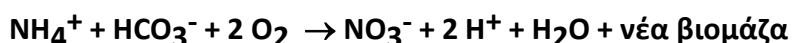
Το τεστ αποξυγόνωσης (OUR) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολλές εφαρμογές και κυρίως στη κλασματοποίηση του οργανικού φορτίου των λυμάτων, στον προσδιορισμό της μέγιστης δραστηριότητας ετεροτροφικών βακτηριδίων στην ενεργό ιλύ, στον βαθμό σταθεροποίησης της βιομάζας καθώς και στον προσδιορισμό πιθανής τοξικότητας βιομηχανικών λυμάτων σε εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών λυμάτων. Στη συνέχεια περιγράφεται η χρήση του τεστ για τον προσδιορισμό της τοξικότητας λυμάτων. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη εργαστηριακή άσκηση, με μικρές αλλαγές η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τις υπόλοιπες εφαρμογές που αναφέρθηκαν στην παραπάνω παράγραφο.

Η μέθοδος μέτρησης OUR αποσκοπεί στη μέτρηση της ταχύτητας κατανάλωσης οξυγόνου από μικροοργανισμούς για την ικανοποίηση των αναγκών της ενδογενούς αναπνοής, της οξείδωσης οργανικής ύλης από ετεροτροφικούς οργανισμούς και την οξείδωση αμμωνίας από αυτοτροφικά βακτήρια. Κατά την επεξεργασία των λυμάτων υπό αερόβιες συνθήκες οι κυριότερες αντιδράσεις που συμβάλλουν στην κατανάλωση οξυγόνου είναι οι ακόλουθες:

ετεροτροφικά βακτήρια



αυτοτροφικά βακτήρια



Στη περίπτωση τοξικότητας των λυμάτων επειδή παρατηρείται αναχαίτιση των βιολογικών διεργασιών αναμένεται μείωση του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου. Η μείωση του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου που παρατηρείται στη περίπτωση επεξεργασίας τοξικών λυμάτων σε σχέση με μη τοξικά λύματα αποτελεί τον βαθμό τοξικότητας των υπόψη λυμάτων.

Το τεστ πραγματοποιείται σε εργαστηριακούς αντιδραστήρες διακοπτόμενων κύκλων λειτουργίας (batch) όπου βιομάζα και αραιώσεις των επικινδύνων αποβλήτων με μη τοξικά λύματα αναμειγνύονται και αερίζονται. Συνήθως το τεστ αυτό χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της ταχύτητας κατανάλωσης οξυγόνου που αντιστοιχεί στην διάσπαση του οργανικού άνθρακα. Για τον λόγο αυτό προσθέτουμε thiourea για την πλήρη αναχαίτιση της νιτροποίησης ώστε η κατανάλωση οξυγόνου που παρατηρούμε να προκαλείται αποκλειστικά από ετεροτροφικά βακτήρια.

3.4.2. Πειραματικό Πρωτόκολλο

- Βιομάζα από εγκατάσταση βιολογικού καθαρισμού αστικών λυμάτων μεταφέρεται σε δοχείο όπου ρυθμίζεται η θερμοκρασία της στους 20°C περίπου και αερίζεται ώστε το διαλυμένο οξυγόνο να μην είναι χαμηλότερο των 4 mg/L. Τα ετεροτροφικά βακτηρίδια δεν είναι πολύ ευαίσθητα στο pH και το οποίο μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 7-9.
- Προσθέτουμε thiourea που να αντιστοιχεί σε 10-12 mg/L στο τελικό μείγμα βιομάζας και λυμάτων.
- Προτού αναμείξουμε τα λύματα με τη βιομάζα μετρούμε την ταχύτητα αποξυγόνωσης που αντιστοιχεί στην ενδογενή φάση ανάπτυξης των βακτηρίων.
- Στην συνέχεια αναμειγνύουμε τη βιομάζα και μη τοξικά λύματα και μετρούμε με οξυγονόμετρο την ταχύτητα αποξυγόνωσης.
- Επαναλαμβάνουμε την ανωτέρω διαδικασία προσθέτοντας βιομάζα και διάφορες αραιώσεις των τοξικών αποβλήτων με αστικά μη τοξικά λύματα. Για κάθε δόση προσδιορίζουμε τον αντίστοιχο ρυθμό αποξυγόνωσης και υπολογίζουμε τον λόγο του ρυθμού αποξυγόνωσης με τοξικά απόβλητα προς τον ρυθμό αποξυγόνωσης με μη τοξικά αστικά λύματα, που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του βαθμού τοξικότητας των τοξικών αποβλήτων (βαθμός τοξικότητας = $1 - \text{OUR}_{\text{τοξ.λυμ.}} / \text{OUR}_{\text{λυμ.}}$).
- Κατά τη διάρκεια του τεστ απαιτείται η μέτρηση των αιωρούμενων και πτητικών στερεών ώστε να είναι δυνατή η αναγωγή της ταχύτητας αποξυγόνωσης ανά γραμμάριο πτητικών στερεών (mgO₂/gVSS-hr).

Για την εκτέλεση του τεστ απαιτούνται τα κάτωθι όργανα:

- δοχεία ενός λίτρου
- μπουκάλια BOD (βιοχημικά απαιτούμενα οξυγόνο)
- οξυγονόμετρο (ηλεκτρόδιο μέτρησης συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου)
- μαγνητικός αναδευτήρας
- θερμόμετρο
- όργανο μέτρησης pH
- όργανο μέτρησης αιωρούμενων και πτητικών στερεών



Εικόνα 3.4.1 : Οξυγονόμετρο τύπου Multi 3410 setC της WTW

3.5. Προσδιορισμός στερεών

3.5.1. Αρχή της μεθόδου

Για το διαχωρισμό του νερού από τα στερεά απαιτείται εξάτμιση. Η εξάτμιση του νερού συνήθως γίνεται στους 103-105°C ή 179-181°C. Οι χαμηλότερες θερμοκρασίες συνήθως χρησιμοποιούνται όταν έχουμε δείγματα που περιέχουν οργανικές ουσίες που μπορεί να εξατμισθούν μαζί με το νερό στους 180°C. Γενικά παρατηρείται πολύ μικρή απώλεια ανόργανων στερεών στους 103°C. Μόνο κάποιες μικρές ποσότητες CO₂ μπορεί να εκλυθούν λόγω μετατροπής των όξινων ανθρακικών σε ανθρακικά. Κάποια προβλήματα παρουσιάζονται κατά τον διαχωρισμό του νερού από τα στερεά στους 103°C λόγω κάποιων ποσοτήτων νερού που δεν εξατμίζονται πλήρως λόγω παγίδευσης του νερού σε κρυστάλλους ένυδρων ανόργανων αλάτων. Σε αυτές τις περιπτώσεις προτιμάται η μέτρηση των στερεών στους 179-181°C, όπου όμως υπάρχει ο κίνδυνος απώλειας ποσοτήτων

ανθρακικού αμμωνίου. Πάντως στις περιπτώσεις προσδιορισμού των στερεών σε λύματα όπως και στην παρούσα εργασία προτιμάται ο προσδιορισμός των στερεών στους 103°C.

Για τον διαχωρισμό των στερεών μεταξύ αιωρούμενων και διαλυτών απαιτείται διύλιση. Τα φίλτρα που χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: α) φίλτρα με πόρους και β) στρωματικά φίλτρα. Τα πρώτα (πχ μεμβράνες) φέρουν πόρους συγκεκριμένης διαμέτρου (πχ 0.22, 0.45 μm) και απομακρύνουν τα σωματίδια στην επιφάνειά τους μη επιτρέποντας την διέλευση σωματιδίων διαμέτρου μεγαλύτερης της διαμέτρου των πόρων που φέρουν. Τα δεύτερα συγκρατούν τα σωματίδια κατά μήκος του στρώματος του φίλτρου, παγιδεύοντάς τα μέσα σε ένα πλέγμα από ανόργανες ίνες από τις οποίες αποτελείται το φίλτρο (πχ glass fibre filters GF/C). Συνήθως τα φίλτρα τύπου μεμβράνων και συγκεκριμένα αυτά που φέρουν πόρους διαμέτρου 0.45 μm χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό διαλυτών ενώσεων πχ διαλυτού COD, BOD, φωσφορικών. Τα στρωματικά φίλτρα (πχ GF/C φίλτρα) χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό των διαφόρων κλασμάτων των στερεών.

Η μέτρηση των αιωρούμενων στερεών στηρίζεται στην εφαρμογή της μεθόδου που προτείνεται από το Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν:

- ένας αναλυτικός ζυγός
- φούρνοι 103 °C και 550 °C
- ένας ξηραντήρας και
- φίλτρα GF/C με διάμετρο πόρων 1,2 μm

3.5.2. Προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων στερεών

Ζυγίζουμε προξηραμένο φίλτρο GF/C διαμέτρου 4,7 cm με χρήση αναλυτικού ζυγού ακριβείας. Τοποθετούμε το φίλτρο στη μονάδα διήθησης και χρησιμοποιώντας την αντλία κενού διηθούμε ποσότητα δείγματος, 50-100 ml για δείγματα πρωτοβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων και δευτεροβάθμιας εκροής και 5 ml όταν πρόκειται για ανάμικτο υγρό. Αφαιρούμε το φίλτρο με τη λαβίδα και τοποθετούμε το δείγμα στο φούρνο των 103°C για 1 hr. Με την πάροδο μιας ώρας εισάγουμε το δείγμα στον ξηραντήρα για περίπου 15 min και επαναλαμβάνουμε μέτρηση του βάρους του δείγματος

χρησιμοποιώντας τον αναλυτικό ζυγό. Η συγκέντρωση των ολικών αιωρούμενων στερεών προκύπτει από την παρακάτω σχέση:

$$TSS(mg/lt) = \frac{m_{103^{\circ}C} - m_{\text{φίλτρου}}}{V} \quad \text{όπου}$$

$m_{103^{\circ}C}$: μάζα του φίλτρου μετά τη ξήρανση στους $103^{\circ}C$ (mg)

$m_{\text{φίλτρου}}$: αρχική μάζα του προξηραμένου φίλτρου (mg)

V: ο όγκος του δείγματος (L)

3.5.3. Προσδιορισμός αιωρούμενων οργανικών στερεών

Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία που ακολουθήθηκε στην παράγραφο 3.3.2 τοποθετούμε το φίλτρο σε φούρνο $550^{\circ}C$ για 20 min με σκοπό την καύση των οργανικών στερεών. Αφαιρούμε το δείγμα από τον φούρνο και το τοποθετούμε σε ξηραντήρα. Στη συνέχεια μετρείται το βάρος του φίλτρου. Η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών υπολογίζεται από τη σχέση:

$$VSS(mg/lt) = \frac{m_{103^{\circ}C} - m_{550^{\circ}C}}{V} \quad \text{όπου}$$

$m_{550^{\circ}C}$: μάζα του φίλτρου μετά την καύση στους $550^{\circ}C$ (mg)

$m_{103^{\circ}C}$: μάζα του φίλτρου μετά τη ξήρανση στους $103^{\circ}C$ (mg)

V: ο όγκος του δείγματος (L)



Εικόνα 3.5.1 : Φούρνοι για τον προσδιορισμό ολικών (αριστερά) και οργανικών (δεξιά) στερεών

3.6. Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)

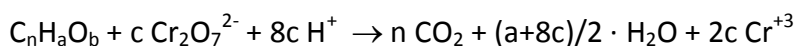
3.6.1. Γενικά

Η μέτρηση του χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (COD) χρησιμοποιείται ευρύτατα για την μέτρηση του οργανικού φορτίου που περιέχεται σε αστικά ή βιομηχανικά λύματα. Το COD ορίζεται ως η ποσότητα του διχρωμικού καλίου που καταναλώνεται για την οξείδωση των οργανικών και ανόργανων ενώσεων που περιέχονται στο δείγμα. Για συγκεντρώσεις COD μεγαλύτερες των 30-50 mg/l θεωρείται αξιόπιστη μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης των οργανικών ενώσεων στα λύματα και προτιμάται συχνά από τη μέτρηση του βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD), ιδιαίτερα στην περίπτωση τοξικών λυμάτων.

3.6.2. Αρχή της μεθόδου

Η μέτρηση του COD που έχει διάρκεια 2 περίπου ώρες, γίνεται σε έντονα όξινο περιβάλλον (50% H₂SO₄), σε θερμοκρασία 150°C και παρουσία Ag₂SO₄ που προστίθεται ως καταλύτης για την αποτελεσματικότερη οξείδωση ορισμένων οργανικών ενώσεων. Κάτω από αυτές τις συνθήκες οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται σε CO₂, H₂O, NH₄⁺¹, PO₄⁻³, SO₄⁻², και το διχρωμικό ανιόν Cr⁺⁶ (πορτοκαλί) σε χρωμικό Cr⁺³ (πράσινο). Οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται είτε είναι βιοαποικοδομήσιμες είτε όχι με αποτέλεσμα το COD να εμφανίζεται σχεδόν πάντα μεγαλύτερο από τη μέτρηση του βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) που προσδιορίζει μόνο το κλάσμα των οργανικών ενώσεων που είναι βιοδιασπάσιμο. Οι μόνες ενώσεις που παρουσιάζουν κάποιο μειωμένο ποσοστό οξείδωσης είναι πτητικά οργανικά οξέα που λόγω της πτητικότητάς τους δεν οξειδώνονται τόσο αποτελεσματικά. Για την καλύτερη οξείδωση αυτών των ενώσεων προστίθεται Ag₂SO₄.

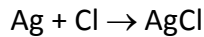
Η στοιχειομετρία της οξείδωσης του οργανικού άνθρακα κατά τον προσδιορισμό του COD δίνεται κατωτέρω:



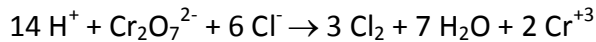
$$\text{όπου } c = 2/3 c + a/6 - b/3$$

Η ύπαρξη χλωριόντων παρεμβάλλεται στη μέτρηση του COD με δύο τρόπους:

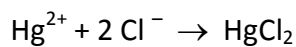
α) τα χλωριόντα δεσμεύουν τον άργυρο και ελαττώνουν έτσι την καταλυτική δράση του Ag₂SO₄ σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



β) τα χλωριόντα οξειδώνονται από το διχρωμικό σε Cl_2 , αυξάνοντας έτσι πλασματικά την τιμή του COD του δείγματος, όπως φαίνεται από την ακόλουθη αντίδραση:



Σύμφωνα με την ανωτέρω αντίδραση 1 mg Cl προκαλεί αύξηση του COD κατά 0.22 mg. Η παρεμβολή αυτή απαλείφεται με την προσθήκη HgSO_4 και την δημιουργία σύμπλοκων HgCl_2 που δεν είναι οξειδώσιμα από το διχρωμικό κάλιο:



Μετά την οξείδωση της οργανικής ύλης με το διχρωμικό ανιόν, απαιτείται η μέτρηση της υπολειπόμενης συγκέντρωσης διχρωμικού καλίου για τον υπολογισμό της ποσότητας που καταναλώθηκε. Η μέτρηση της περίσσειας του διχρωμικού καλίου γίνεται είτε φασματογραφικά. Χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός και σύμφωνα με το νόμο Beer-Lambert συσχετίζεται η απορροφητικότητα του δείγματος σε δεδομένο μήκος κύματος (620 nm) με τη συγκέντρωση του COD του δείγματος:

$$\log \frac{I_0}{I} = A = \alpha \cdot W \cdot [C] \quad \text{όπου}$$

I , η ένταση μονοχρωματικού φωτός (620nm) που διερχόταν μέσα από το δείγμα

I_0 , η ένταση μονοχρωματικού φωτός (620nm) που διερχόταν μέσα από απεσταγμένο νερό με αντιδραστήρια (blank)

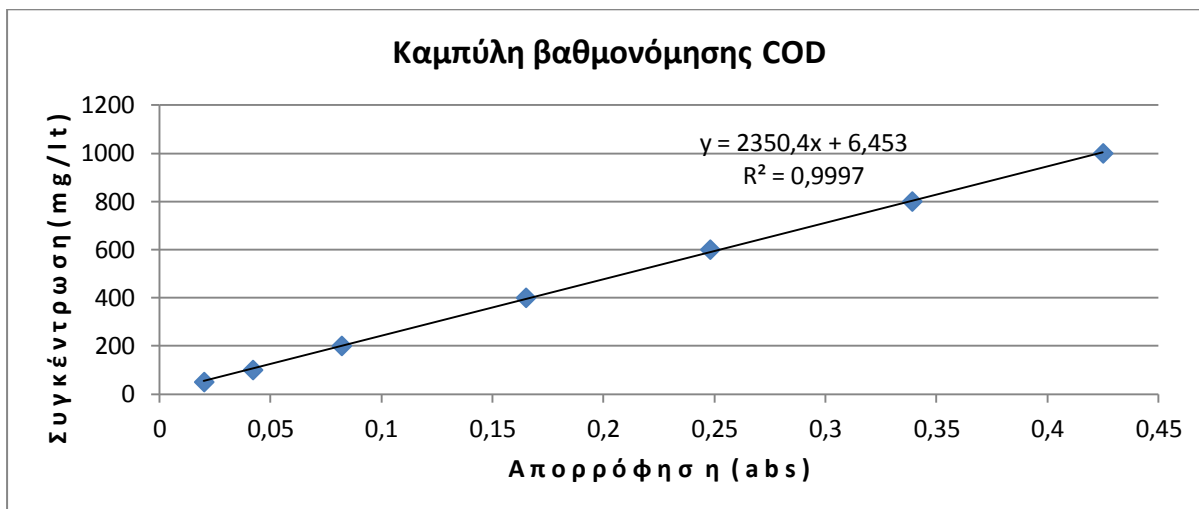
A , απορροφητικότητα δείγματος

W , μήκος δέσμης φωτός που διερχόταν διαμέσου της κυψελίδας που περιείχε το δείγμα (=1 cm για φασματοφωτόμετρο HACH DR2000)

α : σταθερά για δεδομένο διάλυμα και μήκος κύματος

Για τον προσδιορισμό της σταθεράς α , χρησιμοποιείται μια σειρά από πρότυπα γνωστής συγκέντρωσης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, έγινε η κατασκευή της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης για τη μέτρηση του COD. Τα πρότυπα κατασκευάστηκαν από οξικό οξύ αρχικής συγκέντρωσης 20000 mg/L με κατάλληλες αραιώσεις και είχαν εύρος από 50-1000 mg/L. Οι απορροφήσεις των γνωστών συγκεντρώσεων των προτύπων μετρήθηκαν, στη

συνέχεια, με φασματόμετρο ορατού φωτός. Τα αποτελέσματα φαίνονται στο παρακάτω διάγραμμα.



Διάγραμμα 3.6.1 : Καμπύλη βαθμονόμησης COD

Άρα, η καμπύλη $\psi=2350,4 \cdot x + 6,453$ χρησιμοποιήθηκε για συγκεντρώσεις COD από 50-1000 mg/L, όπου ψ η συγκέντρωση COD σε mg/L και x η μετρούμενη απορρόφηση. Η μέτρηση του ολικού και διαλυτού COD στηρίζεται στην εφαρμογή της μεθόδου που προτείνεται από το Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (Eaton *et al*, 2005).

Για τη διαδικασία χρησιμοποιούνταν:

- συσκευή χώνευσης φιαλιδίων,
- φιαλίδια COD με έτοιμα αντιδραστήρια: standard διχρωμικό κάλιο 0,1 N, πυκνό θειικό οξύ που περιέχει διαλυμένο Ag_2SO_4 και θειικό υδράργυρο $HgSO_4$ και
- φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός τύπου HACH DR 2000

3.6.3. Προσδιορισμός ολικού COD με φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός

Προσθέτουμε 2 ml δείγματος στα φιαλίδια που περιέχουν τα αντιδραστήρια και τα κλείνουμε με προσοχή. Τοποθετούμε τα φιαλίδια και ένα δείγμα απεσταγμένου νερού στη συσκευή χώνευσης, όπου θερμαίνονται στους $150^{\circ}C$, για περίπου 1.5 hr. Αφήνουμε τα δείγματα να κρυώσουν για 20 min και στη συνέχεια μετρούμε τη συγκέντρωση του COD κάθε δείγματος χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός τύπου HACH DR2000 σε μήκος κύματος ίσο με 620 nm, αφού πρώτα μηδενίσουμε με το δείγμα του αποσταμένου νερού.

3.6.4. Προσδιορισμός διαλυτού COD με φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός

Για τη μέτρηση του διαλυτού COD, το δείγμα, αρχικά, διηθούταν με τη βοήθεια αντλίας κενού, μέσα από μεμβράνη (με διάμετρο πόρων 0,45 μm) και 2 ml από το διήθημα εισάγονταν στα φιαλίδια με τα αντιδραστήρια.



Εικόνα 3.6.1 : Θερμοστάτης για μέτρηση COD (αριστερά) και φασματοφωτόμετρο (δεξιά)

3.7. Προσδιορισμός θολότητας

3.7.1. Γενικά

Η θολότητα χρησιμοποιείται ως έμμεσος τρόπος προσδιορισμού της συγκέντρωσης των αιωρούμενων στερεών ενός δείγματος. Η θολότητα του νερού και των λυμάτων οφείλεται στην παρουσία κolloειδών και αιωρούμενων σωματιδίων και συσχετίζεται άμεσα με την συγκέντρωση των αιωρούμενων σωματιδίων. Τα αιωρούμενα σωματίδια εμποδίζουν την διέλευση του φωτός μέσα από ένα διάλυμα και προκαλούν την διάθλαση της δέσμης φωτός που διαπερνά το δείγμα. Νερά με υψηλή θολότητα έχουν σημαντικά μειωμένη αισθητική αξία. Επίσης σημαντική είναι η επίδραση της θολότητας και στην απολύμανση νερού ή λυμάτων καθώς τα αιωρούμενα στερεά προσφέρουν προστασία σε παθογόνους μικροοργανισμούς που βρίσκονται μέσα σε βιοκροκίδες όπου δεν είναι εύκολο να τις διαπεράσει το απολυμαντικό μέσο.

3.7.2. Αρχή της μεθόδου

Η μέτρηση της θολότητας γίνεται νεφελομετρικά με τη χρήση ειδικού οργάνου (θολόμετρο). Κατά τη νεφελομετρική μέθοδο μετράται με τη βοήθεια φωτόμετρων, η

ένταση του φωτός που διαθλάται καθώς μια δέσμη φωτός σταθερής έντασης περνά διαμέσου του δείγματος.

3.7.3. Προσδιορισμός θολότητας με τη νεφελομετρική μέθοδο

Οι θολότητες που προσδιορίζονται σύμφωνα με τη νεφελομετρική μέθοδο (χρήση θολόμετρου) δίνονται σε Νεφελομετρικές Μονάδες Θολότητας (NTU). Γενικά τα τελευταία χρόνια έχει επικρατήσει η νεφελομετρική μέθοδος σε σχέση με άλλες όπως αυτή της οπτικής, καθώς δίνει ακριβέστερα αποτελέσματα και σε χαμηλές θολότητες αλλά και λόγω της μεγαλύτερης ευκολίας της μεθόδου. Η νεφελομετρική μέθοδος συχνά χρησιμοποιείται και ως έμμεσος τρόπος συνεχούς (on line) προσδιορισμού της συγκέντρωσης των αιωρούμενων στερεών σε διάφορες θέσεις σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων (πχ επεξεργασμένα λύματα). Στα πειράματα της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε το θολόμετρο Hach Turbidity meter. Η μέτρηση πραγματοποιείται με εισαγωγή 10 ml από το εξεταζόμενο δείγμα στην ειδική κυψελίδα που φέρει το όργανο και η ένδειξη που εμφανίζεται είναι η τιμή της θολότητας σε NTU.

3.8. Προσδιορισμός pH

Το pH μετρήθηκε με φορητό pHμετρο τύπου 315i της WTW σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.



Εικόνα 3.8.1 : Φορητό pHμετρο τύπου 315i της WTW

3.9. Προσδιορισμός φαρμακευτικών ουσιών και ενδοκρινικών διαταρακτών

3.9.1. Προκατεργασία

Για την απομόνωση των 9 υπό εξέταση ουσιών από την υγρή φάση χρησιμοποιείται η μέθοδος της εκχύλισης στερεής φάσης (SPE, Solid Phase Extraction). Για την εκχύλιση του υγρού δείγματος χρησιμοποιούνται φύσιγγες C18 (500mg-6 mL), οι οποίες προσαρμόζονται σε κατάλληλη συσκευή κενού. Οι φύσιγγες ενεργοποιούνται με τη διέλευση 6 mL οξικού αιθυλεστέρα (3 x 2 mL), 6 mL μεθανόλης (3 x 2 mL) και 6 mL υπερκάθαρου νερού (3 x 2 mL), με φυσική ροή. Έπειτα το υγρό δείγμα περνά από τις φύσιγγες με ροή ~0.5 mL/min, χρησιμοποιώντας ένα δεκαπενταπλάσιο δυναμικό κενού. Μετά την εκχύλιση γίνεται έκπλυση των φύσιγγών με 2 mL όξινου υπερκάθαρου νερού (pH = 2.5) προκειμένου να απομακρυνθούν οι όποιες προσμίξεις έχουν κατακρατηθεί και κατόπιν αφήνονται να ξηραθούν με τη βοήθεια υποπίεσης για 60 λεπτά. Έπειτα από την ξήρανση, πραγματοποιείται έκλουση των υπό εξέταση ουσιών που έχουν προσροφηθεί στις φύσιγγες με 6 mL οξικού αιθυλεστέρα (3 x 2 mL). Το έκλουσμα αποθηκεύεται σε σκουρόχρωμα φιαλίδια όγκου 15 mL και στη συνέχεια εξατμίζεται ωσότου ξηραθεί με τη βοήθεια αζώτου (N₂). Τέλος, το στερεό υπόλειμμα υποβάλλεται σε παραγωγοποίηση.

3.9.2. Παραγωγοποίηση

Η παραγωγοποίηση πραγματοποιείται με την προσθήκη 50 μL BSTFA + 1% TMCS και 10 μL πυριδίνης σε φιαλίδια χωρητικότητας 10 mL, τα οποία ανακινούνται με vortex (δονητή δοκιμαστικών σωλήνων) για 1 λεπτό. Η αντίδραση της παραγωγοποίησης εκτελείται στους 70°C για 20 λεπτά. Το παραγωγοποιημένο δείγμα αφήνεται να επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10 λεπτά και έπειτα ακολουθεί ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο.

3.9.3. Ανάλυση με Αέρια Χρωματογραφία - Φασματομετρία Μάζας

Αρχή λειτουργίας αέριου χρωματογράφου

Στην αέρια χρωματογραφία (GC- Gas Chromatography) ο διαχωρισμός των συστατικών (αέριων ή πτητικών) βασίζεται στην κατανομή τους μεταξύ ενός μη πτητικού υγρού (στατική φάση), καθηλωμένου στα τοιχώματα ανοικτών τριχοειδών στηλών, και ενός αερίου (κινητή φάση, φέρον αέριο). Ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα από τη

στήλη με διαφορετικές ταχύτητες, που εξαρτώνται από τις τάσεις ατμών των συστατικών και από τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση.

Η αέρια χρωματογραφία κατανομής βασίζεται στη θεωρία πλακών. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή (Martin και Synge, 1940), η κίνηση μιας ουσίας μέσα από τη χρωματογραφική στήλη μπορεί να θεωρηθεί ως μετακίνηση μέσω διαδοχικών θαλάμων (ζωνών) εξισορροπήσεως, που ονομάζονται θεωρητικές πλάκες. Μία θεωρητική πλάκα είναι ο απαιτούμενος όγκος της στήλης, ώστε μέσα σε αυτόν να αποκαθίσταται ισορροπία μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης. Η ισορροπία αυτή περιγράφεται από τον συντελεστή κατανομής:

$$K=C_s/C_M$$

όπου C_s και C_M είναι οι συγκεντρώσεις του συστατικού στην στατική και στην κινητή φάση αντίστοιχα.

Στήλες

Όταν μια ουσία A εισάγεται στον αεριοχρωματογράφο, παρασυρόμενη από την κινητή φάση εισέρχεται με αυτή στη στήλη. Στο θάλαμο 1, μέρος της ουσίας A διαλύεται στην υγρή φάση με ταχύτατη αποκατάσταση ισορροπίας μεταξύ των δύο φάσεων (συντελεστής K). Την επόμενη στιγμή, το μέρος της ουσίας A, που βρίσκεται στην αέρια φάση, παρασυρόμενο από το φέρον αέριο εισέρχεται στο θάλαμο 2, όπου μέρος του διαλύεται στην υγρή φάση με ταχύτατη αποκατάσταση ισορροπίας, ενώ συγχρόνως νέα αέρια φάση εισέρχεται στο θάλαμο 1, με αποκατάσταση νέας ισορροπίας. Την επόμενη στιγμή, το μέρος της ουσίας A που βρίσκεται στην αέρια φάση του θαλάμου 2, παρασυρόμενο εισέρχεται στο θάλαμο 3, με αποκατάσταση ισορροπίας σε αυτόν κ.ο.κ. στην περίπτωση μίγματος ουσιών, όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής K μιας ουσίας, τόσο βραδύτερα κινείται μέσα στη στήλη και τόσο βραδύτερα εξέρχεται από αυτήν, δηλαδή έχει μεγαλύτερο χρόνο συγκρατήσεως, t_R . Έτσι πετυχαίνεται διαχωρισμός των συστατικών, λόγω διαφορετικών συντελεστών κατανομής.

Η επιλογή του είδους της στήλης αποτελεί το πιο ουσιαστικό βήμα στην ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. Τα κύρια χαρακτηριστικά της είναι ο αριθμός θεωρητικών πλακών, το ύψος ισοδύναμο με μία θεωρητική πλάκα, η διαχωριστικότητα, η χωρητικότητα, ο απαιτούμενος χρόνος ανάλυσης.

Φέρον Αέριο

Αποτελεί την κινητή φάση και πρέπει να είναι χημικώς αδρανές έναντι του υλικού κατασκευής του μηχανήματος, του πληρωτικού υγρού της στήλης και των προς διαχωρισμό ουσιών. Η επιλογή του φέροντος αερίου γίνεται κυρίως βάσει του τύπου του ανιχνευτή, γιατί πρέπει να διαφέρει από τις διαχωριζόμενες ουσίες ως προς τουλάχιστον μία ιδιότητα όπως τη θερμική αγωγιμότητα ή την πυκνότητα στην οποία βασίζεται η λειτουργία του ανιχνευτή. Συνήθως χρησιμοποιούνται He, N₂, Ar, H₂, CO₂ με προτιμότερο το He, επειδή έχει μεγάλη θερμική αγωγιμότητα και μικρή πυκνότητα, που επιτρέπει τη χρησιμοποίηση μεγαλύτερων ταχυτήτων ροής αερίου, με αντίστοιχη μείωση του χρόνου αναλύσεως. Το φέρον αέριο μεταφέρεται από τη φιάλη όπου βρίσκεται σε πίεση 100-200 atm, μέσω ενός ρυθμιστή (μειωτήρα) πίεσεως, ο οποίος με τη βοήθεια ενδιάμεσων θαλάμων μειώνει δραστικά την πίεση στις 1 με 2 atm. Ένα ροόμετρο μέσα από το οποίο διέρχεται το αέριο μετράει με μεγάλη ακρίβεια την ταχύτητά του.

Εισαγωγή δείγματος

Το δείγμα εισάγεται στην αρχή της στήλης με μικροσύριγγα, μέσα από κατάλληλο στόμιο εισαγωγής που φράσσεται με παχύ διάφραγμα από θερμοανθεκτικό ελαστικό (septum), το οποίο επιτρέπει την είσοδο του δείγματος, αλλά όχι την έξοδο αυτού ή του φέροντος αερίου. Η εισαγωγή του δείγματος πρέπει να είναι ακαριαία, ο όγκος του ο μικρότερος δυνατός και ο χώρος εισαγωγής να θερμαίνεται υψηλότερα από τη θερμοκρασία της στήλης.

Θερμοστατούμενος Κλίβανος

Ο χώρος εισαγωγής του δείγματος και η στήλη, και σε πολλούς αέριους χρωματογράφους και ο ανιχνευτής, θερμοστατούνται, συνήθως στην περιοχή 50-300 °C, είτε όλα μαζί είτε χωριστά. Η διαχωριστικότητα αυξάνεται όταν η θερμοκρασία ελαττώνεται, μείωση όμως της θερμοκρασίας προκαλεί αύξηση του χρόνου t_R , και επομένως αύξηση του χρόνου αναλύσεως. Όταν η θερμοκρασία της στήλης διατηρείται σταθερή σε όλη τη διάρκεια της χρωματογράφησης, συχνά είναι δύσκολο να επιτευχθεί πλήρης διαχωρισμός και ανίχνευση των συστατικών ενός μίγματος όταν τα σημεία ζέσεως τους ή και οι πολικότητες τους καλύπτουν ευρείες περιοχές. Αυτό συμβαίνει γιατί οι κορυφές των πτητικότερων συστατικών (χαμηλά σημεία ζέσεως) εμφανίζονται η μία κοντά στην άλλη ή αλληλεπικαλύπτονται (μικρή διαχωριστικότητα), ενώ οι κορυφές των λιγότερο πτητικών

ουσιών, είναι μικρού ύψους, πλατιές και σε ορισμένες περιπτώσεις απέχουν τόσο πολύ μεταξύ τους (υπέρμετρη διαχωριστικότητα), ώστε ενώσεις υψηλού σημείου ζέσεως να μην ανιχνεύονται. Σε τέτοιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται η θερμοπρογραμματιζόμενη αέρια χρωματογραφία, όπου η θερμοκρασία μεταβάλλεται με βάση προκαθορισμένο πρόγραμμα.

Αρχή λειτουργίας φασματοφωτομετρίας μαζών

Όταν ηλεκτρόνια σχετικά υψηλής ενεργειακής στάθμης, προσκρούσουν σε μόρια μιας ενώσεως, που βρίσκεται σε αέρια φάση και σε συνθήκες υψηλού κενού, τα μόρια της ενώσεως μετατρέπονται σε ιόντα με θρικό, συνήθως, φορτίο. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια ηλεκτρικών πεδίων, τα παραχθέντα ιόντα ευθυγραμμίζονται σε λεπτή δέσμη. Η δέσμη διέρχεται μέσω ηλεκτρικού ή μαγνητικού πεδίου, οπότε το κάθε ιόν, ανάλογα με το λόγο μάζα/ηλεκτρικό φορτίο (m/z), αποκλίνει από την αρχική κατεύθυνση. Με κατάλληλο ανιχνευτή μπορεί να μετρηθεί το ηλεκτρικό ρεύμα, που παρέχουν τα ιόντα με διαφορετικό λόγο m/z . Το αποτέλεσμα είναι ένα διάγραμμα που δείχνει την ένταση του μετρούμενου ρεύματος (πάντοτε σε σχετικές και όχι απόλυτες μονάδες), ως συνάρτηση του λόγου m/z και ονομάζεται φάσμα μαζών της ουσίας. Επειδή τα ιόντα που παράγονται φέρουν κατά κανόνα ένα φορτίο, ο λόγος m/z αντιστοιχεί αριθμητικά με το μοριακό βάρος του ιόντος. Τα φασματόμετρα μαζών αποτελούνται από τα ακόλουθα κοινά και διακριτά τμήματα: α) Το σύστημα εισαγωγή του δείγματος, β) την πηγή ιόντων, γ) τον αναλυτή μαζών και δ) τον ανιχνευτή. Εκτός από αυτά τα τμήματα, κάθε φασματόμετρο μαζών περιλαμβάνει συστήματα δημιουργίας υψηλού κενού, καθώς και συστήματα παρουσιάσεως των φασμάτων.

Η φασματομετρία μαζών μπορεί να συνδυαστεί με την αέρια χρωματογραφία που σήμερα αποτελεί τη συνηθέστερη τεχνική για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση εξαιρετικά πολύπλοκων οργανικών ενώσεων. Το φασματόμετρο μαζών δρα ως ανιχνευτής εξαιρετικής επιλεκτικότητας για το χρωματογραφικό σύστημα. Ο αναλυτής μαζών του φασματόμετρου μαζών ρυθμίζεται έτσι, ώστε να επιτρέπει την ανίχνευση ιόντος με προκαθορισμένη τιμή m/z , οπότε πλέον το χρωματογράφημα παρέχει χρωματογραφικές κορυφές μόνο για τις ουσίες που παρέχουν το συγκεκριμένο ιόν.

Στην παρούσα εργασία η ανάλυση πραγματοποιείται με αέριο χρωματογράφο Agilent 7890A συζευγμένο με φασματογράφο μάζας Agilent 5975C. Η στήλη που χρησιμοποιείται

είναι η DB5MS (30m x 0.25 μ m x 0.32 mm) από τη Supelco, USA. Το φέρον αέριο είναι το ήλιο (99.999%) με μια σταθερή ροή 0.9 mL/min.



Εικόνα 3.9.1 : Αέριος χρωματογράφος τύπου Agilent 7890A συζευγμένος με φασματογράφο μάζας Agilent 5975C

4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

4.1 Χλωρίωση δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων από την ΚΕΛΨ

Ο σκοπός του πειράματος αυτού ήταν διττός. Αρχικά ο προσδιορισμός της απομάκρυνσης μέσω της διεργασίας της χλωρίωσης, καθώς και η επίδραση της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου κατά τη διάρκεια του πειράματος στην απομάκρυνση των 9 ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών που εξετάζουμε στην εργασία αυτή, από δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα. Στα δείγματα προστέθηκαν οι ουσίες σε συγκέντρωση 1000 ng/L και χλωρίνη του εμπορίου αρχικής συγκέντρωσης 11,5 mgCl₂/L. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 30 min και η συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου στο τέλος του πειράματος ανερχόταν στα 4,9 mg/L.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος της μεταβολής της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου σε υδατικό διάλυμα. Για το λόγο αυτό προστέθηκε η επιλεγμένη συγκέντρωση της χλωρίνης σε δείγμα υπερκάθαρου νερού και λήφθηκαν δείγματα σε διαφορετικούς χρόνους στα πλαίσια της συνολικής διάρκειας του πειράματος. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.1.1 : Μεταβολή της συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού

t (min)	0	10	20	30
C (mg/L)	11,5	10,5	11,3	10,7

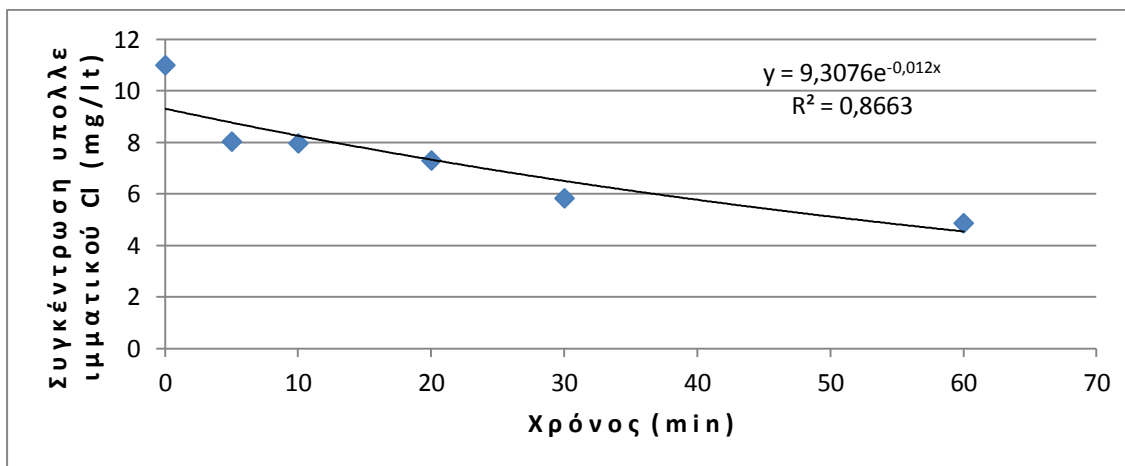
Από τις τιμές των μετρήσεων παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του χλωρίου δεν παρουσίασε ουσιαστική πτώση και παρέμεινε στα αρχικά επίπεδα. Οι όποιες αποκλίσεις παρατηρούνται στις τιμές, εμπίπτουν στα πλαίσια των πειραματικών σφαλμάτων, όπως για παράδειγμα σφάλματα που προκύπτουν από τη διαδικασία ανάδευσης του διαλύματος της χλωρίνης. Συνεπώς και για τα επόμενα πειράματα η μείωση του υπολειμματικού χλωρίου λόγω αντίδρασης με το νερό θα θεωρηθεί αμελητέα.

Στη συνέχεια το πείραμα όπως περιγράφηκε παραπάνω πραγματοποιήθηκε σε τρεις επαναλήψεις. Πρώτη μέτρηση που εξήχθη ήταν ο προσδιορισμός του υπολειμματικού χλωρίου σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.1.2 : Τιμές συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου ως προς το χρόνο

Χρόνος (min)	5	10	20	30	60
Συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου (mg/L)	8	7,9	7,3	5,8	4,9

Με χρήση των τιμών του πίνακα προκύπτει το παρακάτω διάγραμμα στο οποίο φαίνεται η συνάρτηση μεταβολής της συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου ως προς το χρόνο.



Διάγραμμα 4.1.1 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου συναρτήσει του χρόνου

Επίσης πραγματοποιήθηκε μέτρηση των ολικά αιωρούμενων στερεών τα οποία υπολογίστηκαν σε TSS =8 mg/L.

Τέλος στους δυο επόμενους πίνακες δίνονται οι τιμές θολότητας (σε μονάδες NTU) και pH, για κάθε δείγμα σε κάθε χρονική στιγμή.

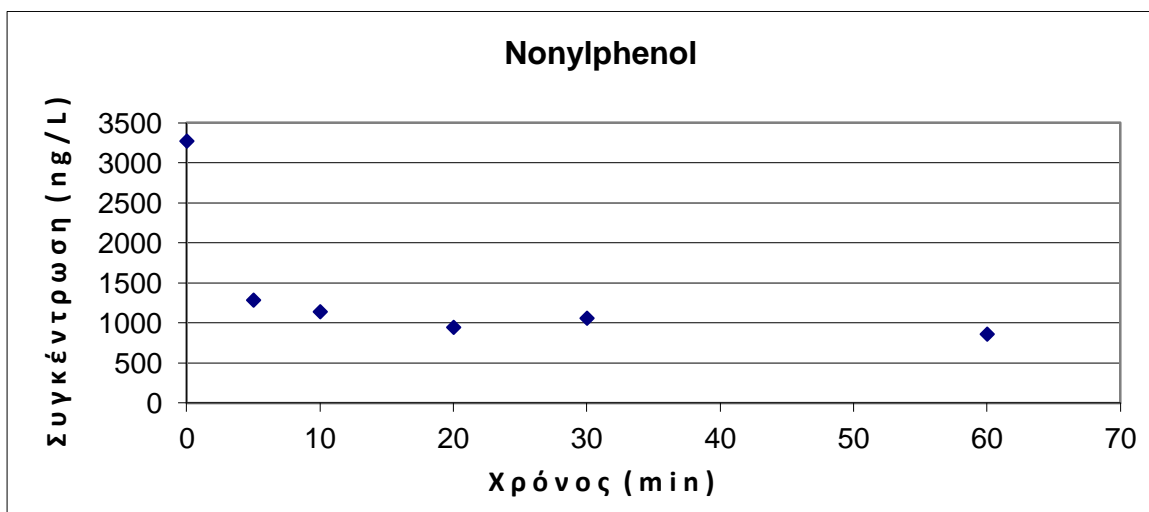
Πίνακας 4.1.3 : Τιμές θολότητας κατά τη διαδικασία χλωρίωσης

Χρόνος (min)	5	10	20	30	60
Θολότητα (NTU)	4,89	4,49	4,78	4,36	4,04

Πίνακας 4.1.4 : Τιμές pH κατά τη διαδικασία χλωρίωσης

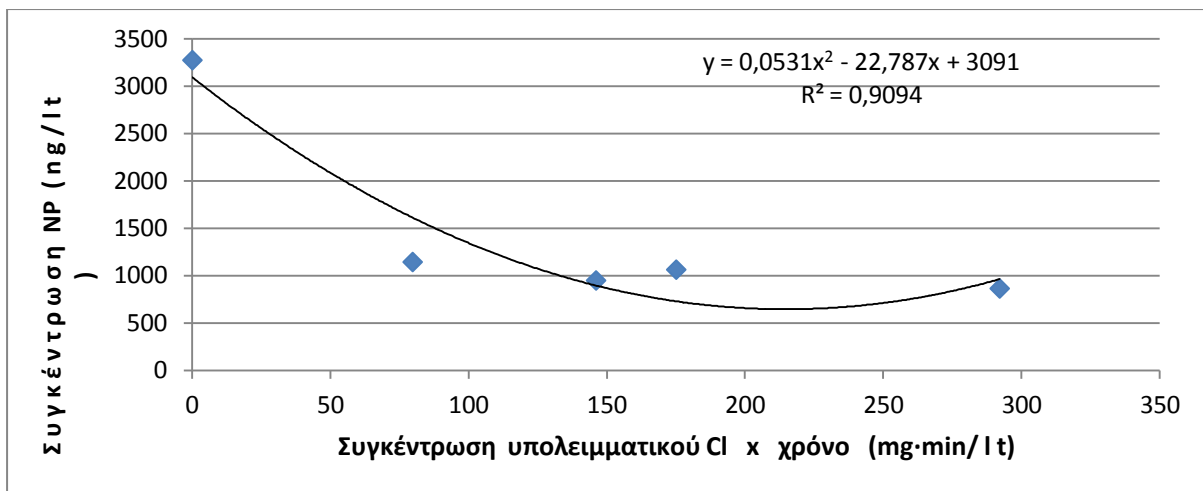
Χρόνος (min)	5	10	20	30	60
pH	8,17	8,11	8,17	8,28	8,56

Ακολούθησε μέτρηση των συλλεγόμενων δειγμάτων και ανάλυσή τους στον αέριο χρωματογράφο με σκοπό να προσδιοριστεί η συνολική απομάκρυνση της κάθε ουσίας από το διάλυμα μετά την επίδραση της χλωρίωσης. Η συγκέντρωση κάθε ουσίας σε κάθε χρονική στιγμή του πειράματος, καθώς και το συνολικό ποσοστό απομάκρυνσης της κάθε ουσίας εμφανίζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.1.2 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της εννεϋλοφαινόλης κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Παρατηρούμε πως η τιμή συγκέντρωσης της εννεϋλοφαινόλης στο δείγμα ξεπερνούσε τα 1000 ng/L γεγονός που σημαίνει πως η ουσία προϋπήρχε στο εξεταζόμενο δείγμα. Όσον αφορά την απομάκρυνση της NP από τα δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα κατά τη χλωρίωση συμπεραίνουμε πως είναι άμεση και από τα πρώτα κιόλας 5 λεπτά έχουμε απομάκρυνση της τάξης του 60% η οποία στη συνέχεια αυξάνεται με μικρότερο ρυθμό και φτάνει το 74% κατά την πάροδο μιας ώρας. Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα από αρχική συγκέντρωση 3273 ng/L καταλήγει σε 862 ng/L, δείχνοντας έτσι πως η διαδικασία της χλωρίωσης είναι μια αρκετά αποτελεσματική μέθοδος όσον αφορά την απομάκρυνσή της.

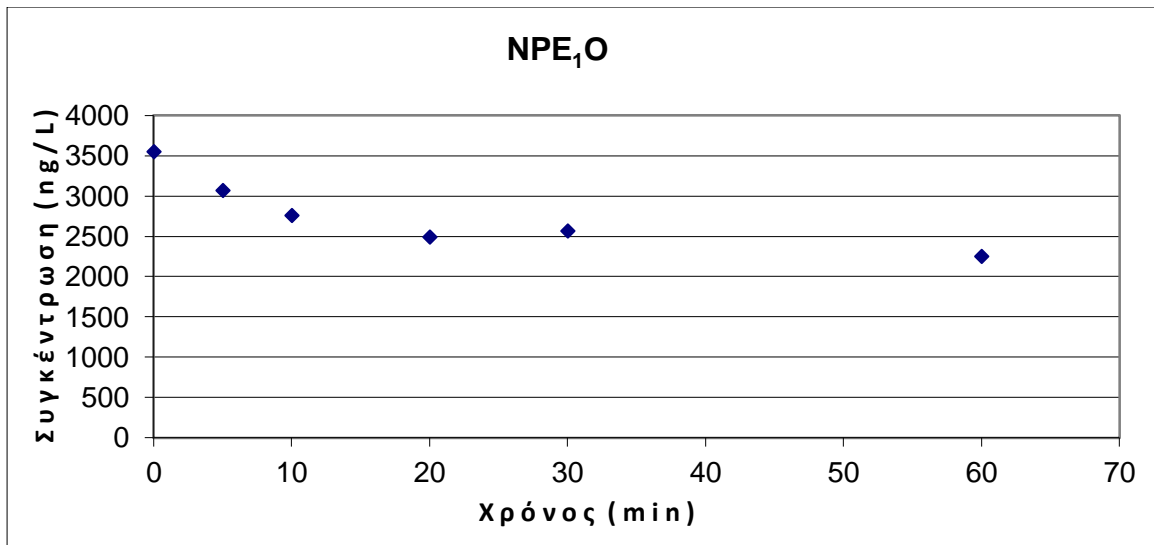


Διάγραμμα 4.1.3: Μεταβολή της συγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε πως η μεταβολή της συγκέντρωσης της εννεύλοφαινόλης και συγκεκριμένα η μείωσή της κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης εξαρτάται τόσο από την συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου όσο και από τη διάρκεια της χλωρίωσης. Η σχέση που αποδίδει την εξάρτηση αυτή είναι μια πολυωνυμική εξίσωση της μορφής $\psi = 0,0531 \cdot \chi^2 - 22,787 \cdot \chi + 3091$ ($R^2=90,94$).

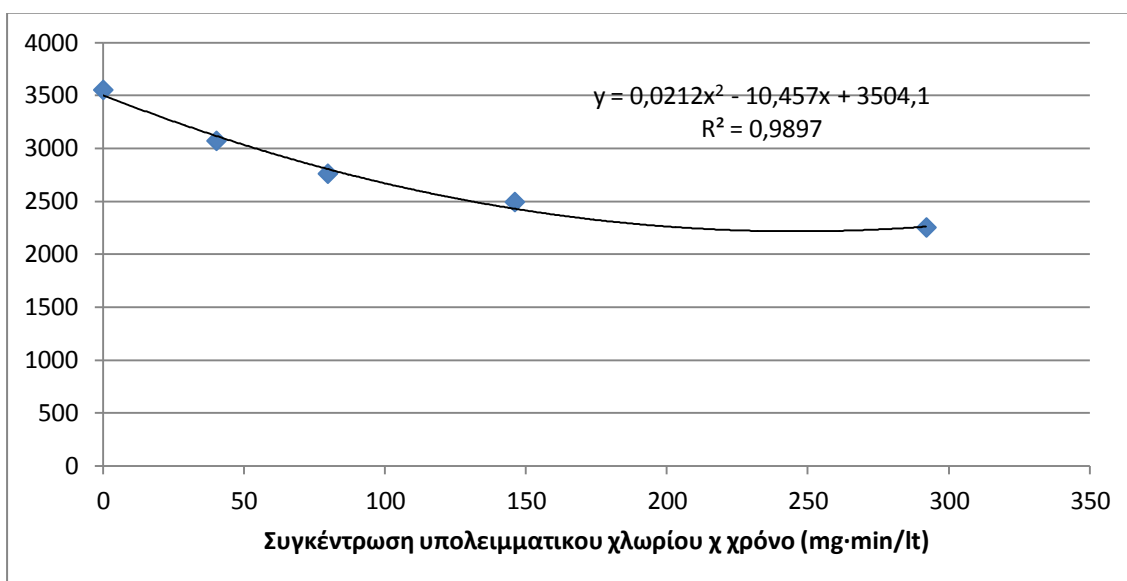
Από βιβλιογραφικά δεδομένα, σε πειράματα χλωρίωσης που πραγματοποίησαν οι Ying Hu *et al*, χρησιμοποίησαν διάλυμα με συγκέντρωση NP 500 $\mu\text{g/L}$ και 1,3 mg/L υποχλωριώδους νατρίου σε τιμή pH 7,5 και στους 25°C. Τα αποτελέσματά τους εμφάνισαν αρκετή ομοιότητα με αυτά του παρόντος πειράματος καθώς από τα πρώτα κιόλας 10 λεπτά της χλωρίωσης παρουσιάστηκε μείωση της συγκέντρωσης κατά 84% (Ying Hu *et al*, 2002). Επίσης ο Thurman πραγματοποίησε σειρές πειραμάτων όπου χρησιμοποίησε διάλυμα υπερκάρθου νερού στο οποίο προστέθηκαν 100 ng/L NP και τρεις διαφορετικές τιμές συγκεντρώσεων 1,10 και 100 ppm. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 3 ώρες και τα ποσοστά απομάκρυνσης για τις τρεις σειρές ήταν 2%, 30% και 97% αντίστοιχα (Thurman, 2006).

Ακολουθούνε τα διαγράμματα των NPE_1O και NPE_2O , ενώσεων που αποτελούν αιθοξυλιωμένα παράγωγα της εννεύλοφαινόλης.



Διάγραμμα 4.1.4 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NP_1EO κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

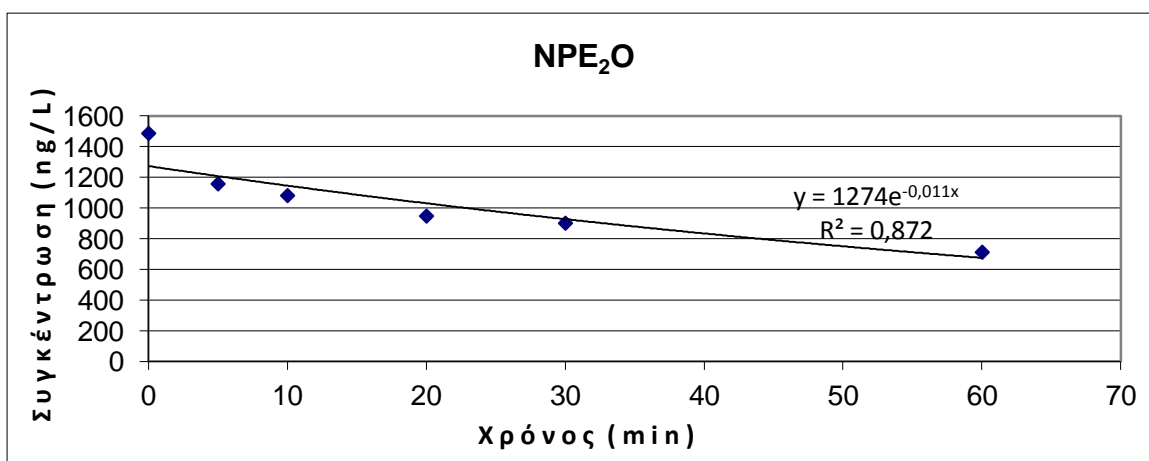
Όπως παρατηρούμε από το παραπάνω διάγραμμα η επίδραση της χλωρίωσης στην NP_1EO είναι και σε αυτήν την περίπτωση άμεση, ωστόσο η απομάκρυνσή της είναι κατά πολύ μικρότερη καθώς στα πρώτα 5 λεπτά το ποσοστό ανέρχεται στο 14% περίπου για να καταλήξει μετά το πέρας μιας ώρας στο 37%. Συγκεκριμένα από αρχική συγκέντρωση 3550 ng/L κατέληξε στα 2250 ng/L, χωρίς ωστόσο να έχει σταθεροποιηθεί γύρω από την τιμή αυτή και πιθανόν μεγαλύτερη διάρκεια στο χρόνο χλωρίωσης να μείωνε περισσότερο τη συγκέντρωσή της.



Διάγραμμα 4.1.5: Μεταβολή της συγκέντρωσης της NPE_1O ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Από το διάγραμμα 4.1.5 παρατηρούμε, όπως και για την περίπτωση της εννεϋλοφαινόλης, πως η απομάκρυνση της NP_1EO αποτελεί συνάρτηση τόσο του χρόνου χλωρίωσης αλλά και της συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου στο διάλυμα, συνάρτηση που εκφράζεται με ικανοποιητική ακρίβεια ($R^2=0,9897$) από την πολυωνυμική εξίσωση $\psi= 0,0212 \cdot \chi^2 - 10,457 \cdot \chi + 3504,1$.

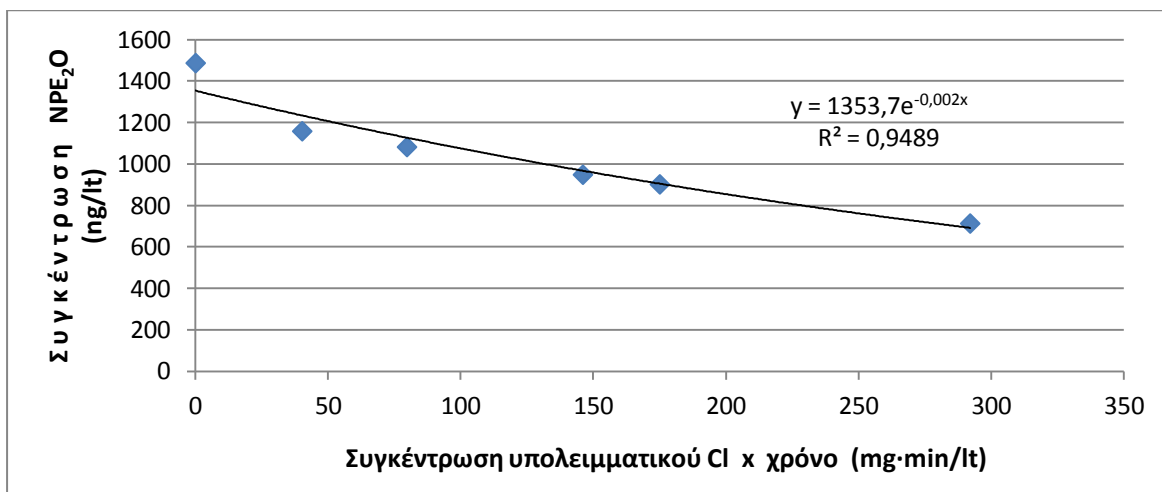
Από άλλες μελέτες και σύμφωνα με τον Thurman, σε πείραμά του στο οποίο προσέθεσε NP_1EO , συγκέντρωσης 100 ng/L, σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού και συγκέντρωση υποχλωριώδους νατρίου σε συγκεντρώσεις 1,10 και 100 ppm, προέκυψε δυσκολία στην απομάκρυνση της NP_1EO ακόμα και για διάρκεια χλωρίωσης μιας εβδομάδας (Thurman, 2006). Ωστόσο, με χρήση ισχυρότερου οξειδωτικού όπως το ClO_2 , η απομάκρυνση έφτασε το 94% (Lenz *et al*, 2004)



Διάγραμμα 4.1.6 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NP_2EO κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

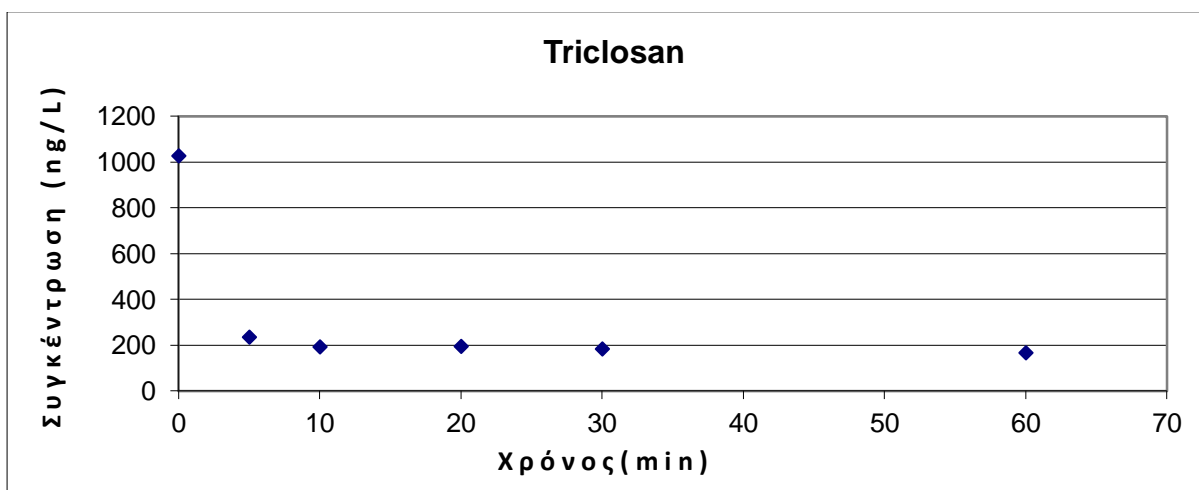
Για την περίπτωση της NP_2EO , παρατηρούμε πως η επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της στα 5 πρώτα λεπτά ήταν μικρή, καθώς απομακρύνθηκε περίπου το 20% της αρχικής ποσότητας των 1490 ng/L, για να αυξηθεί περαιτέρω η τιμή του ποσοστού αυτού και μετά από μια ώρα χλωρίωσης να έχει απομακρυνθεί το 52%, σχεδόν φτάνοντας σε μια συγκέντρωση της τάξης των 710 ng/L. Παρατηρούμε πως ο χρόνος χλωρίωσης επηρέασε την απομάκρυνση της NP_2EO και αύξηση του χρόνου αυτού θα οδηγούσε σε μεγαλύτερα ποσοστά απομάκρυνσης. Η συνάρτηση απομάκρυνσης - χρόνου όπως προκύπτει από τα παραπάνω δεδομένα ακλουθεί μια εκθετική σχέση, $\psi=1274 \cdot e^{-0,011x}$ ($R^2=0,872$). Σε πειράματά τους οι Lenz *et al*, διαπίστωσαν πως η απομάκρυνση της NP_2EO

ήταν μικρή για χρήση του NaOCl ενώ για την περίπτωση ισχυρότερων οξειδωτικών όπως το ClO₂ η απομάκρυνση ήταν της τάξης του 92%.



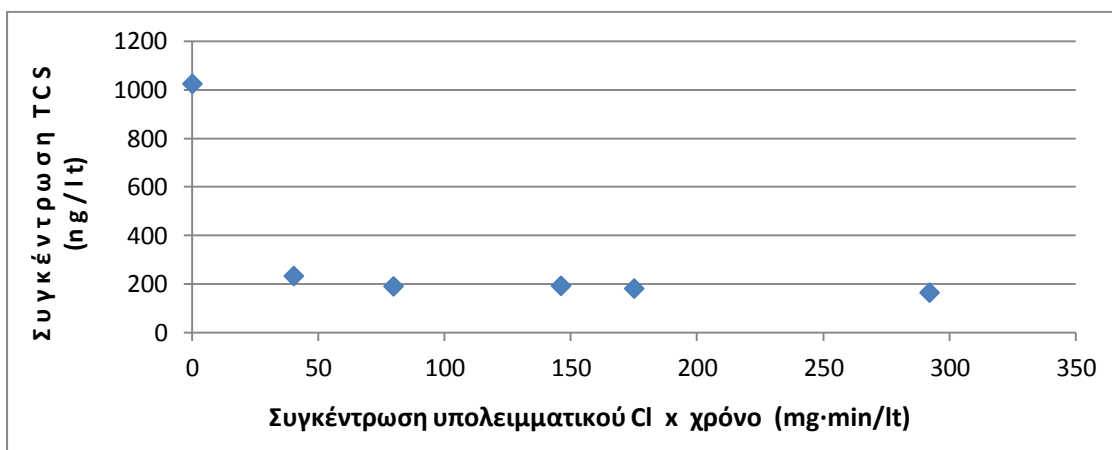
Διάγραμμα 4.1.7 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της NPE₂O ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Αντίστοιχα συμπεράσματα με αυτά που προέκυψαν για την εννεϋλοφαινόλη και την NPE₁O προέκυψαν και για την περίπτωση της NPE₂O, με τις παραμέτρους της συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου και του χρόνου να έχουν καθοριστικό ρόλο στην απομάκρυνση της. Η διαφορά σε σχέση με τις προηγούμενες περιπτώσεις είναι πως η βέλτιστη σχέση που εμφανίζει την εξάρτηση αυτή είναι μια συνάρτηση εκθετικής μορφής με εξίσωση $\psi = 1353,7 \cdot e^{-0,002 \cdot x}$.



Διάγραμμα 4.1.8 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της TCS κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

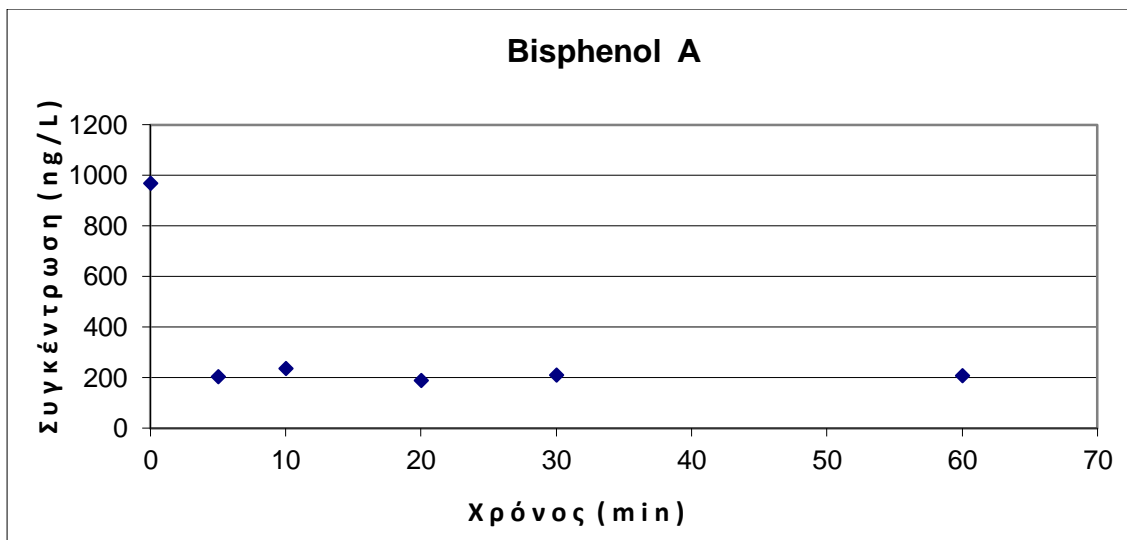
Η επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της TCS είχε καθοριστικά αποτελέσματα καθώς από τα 5 πρώτα κιόλας λεπτά παρατηρήθηκε απομάκρυνση της τάξης του 77% η οποία συνεχίστηκε με πολύ μικρότερο ρυθμό και σταθεροποιήθηκε με την πάροδο 10 λεπτών σε ποσοστό 84% περίπου. Πιο συγκεκριμένα η χλωρίωση 1030 ng/L TCS αρχικά οδήγησε στην παραμονή 170 ng/L στο τελικό δείγμα.



Διάγραμμα 4.1.9 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της triclosan ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

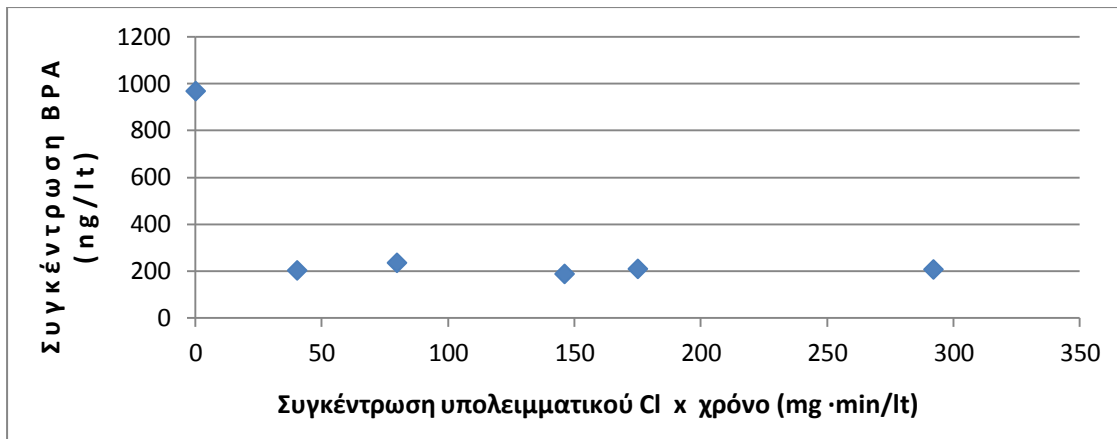
Από το διάγραμμα 4.1.9, παρατηρούμε πως η απομάκρυνση της triclosan κατά τη χλωρίωση, φαίνεται να είναι μια διεργασία σχεδόν ανεξάρτητη από το χρόνο επαφής, αλλά και ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου στο διάλυμα καθώς πραγματοποιείται μια απότομη πτώση της συγκέντρωσης της στα πρώτα λεπτά η οποία παραμένει σχεδόν σταθερή (η με ελάχιστη πτώση) μέχρι το τέλος του πειράματος.

Από τη βιβλιογραφία οι Rule *et al*, αναφέρουν πως από πειράματά τους, διαπίστωσαν πως η απομάκρυνση του triclosan ακολουθεί κινητική συνολικά δεύτερης τάξης, πρώτης τάξης ως προς το χλώριο και πρώτης ως προς το triclosan, συμπέρασμα που δεν επιβεβαιώνεται στο παρών πείραμα. Ωστόσο, ανέφεραν πως η απομάκρυνση επιτεύχθηκε σε μεγάλο ποσοστό, σε μικρό χρονικό διάστημα όπως συνέβη άλλωστε και στο πείραμα μας.



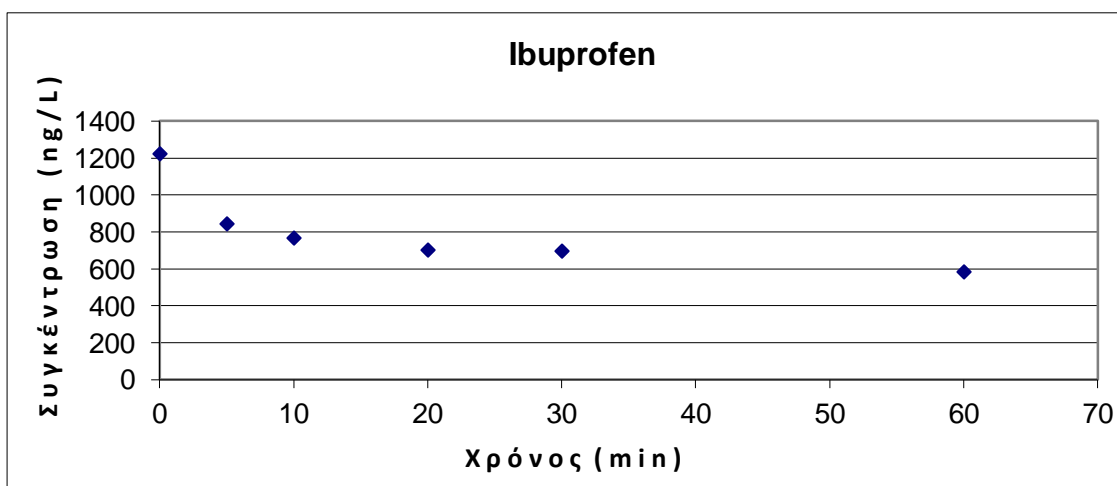
Διάγραμμα 4.1.10 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της BPA κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Για την τελευταία από τις ενδοκρινικές ουσίες που εξετάστηκαν, την BPA, από το διάγραμμα βλέπουμε πως η επίδραση της χλωρίωσης διαφέρει ως προς τις προηγούμενες ενώσεις που εξετάστηκαν, καθώς πέραν της μεγάλης απομάκρυνσης της τάξης του 80% που πραγματοποιήθηκε από τα 5 πρώτα λεπτά, το ποσοστό αυτό παρέμεινε σταθερό σε όλη τη διάρκεια του πειράματος φανερώνοντας έτσι πως η επίδραση της χλωρίωσης είναι ανεξάρτητη του χρόνου επαφής της BPA με το απολυμαντικό μέσο. Σε αντίστοιχα πειράματα οι Ying Hu *et al*, χρησιμοποίησαν διάλυμα με συγκέντρωση BPA 500 μg/L και 1,46 mg/L υποχλωριώδους νατρίου σε τιμή pH 7,5 και στους 25°C. Τα αποτελέσματά τους εμφάνισαν μεγάλη ομοιότητα με αυτά του παρόντος πειράματος καθώς από τα πρώτα κιόλας 10 λεπτά της χλωρίωσης παρουσιάστηκε μείωση της συγκέντρωσης κατά 85% και η οποία μηδενίστηκε με το πέρας των 60 λεπτών (Ying Hu *et al*, 2002). Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Korshin *et al*, οι οποίοι διαπίστωσαν ραγδαία απομάκρυνση πολύ μεγάλου ποσοστού σε μικρό χρονικό διάστημα (Korshin *et al*, 2006).



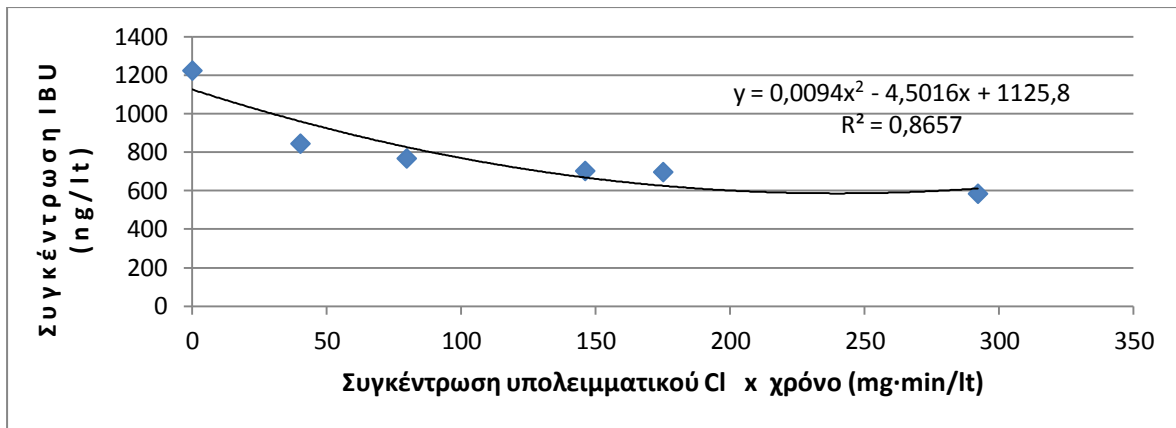
Διάγραμμα 4.1.11 : Μεταβολή της συγκέντρωσης της BPA ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Όπως και από το διάγραμμα 4.1.10, έτσι και από το διάγραμμα αυτό μπορούμε να συμπεράνουμε πως η απομάκρυνση της BPA πραγματοποιείται άμεσα και δεν επηρεάζεται ούτε από τη διάρκεια της χλωρίωσης, ούτε από τη συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου καθώς η συγκέντρωση σταθεροποιείται σε μια τιμή μέχρι και το τέλος του πειράματος.



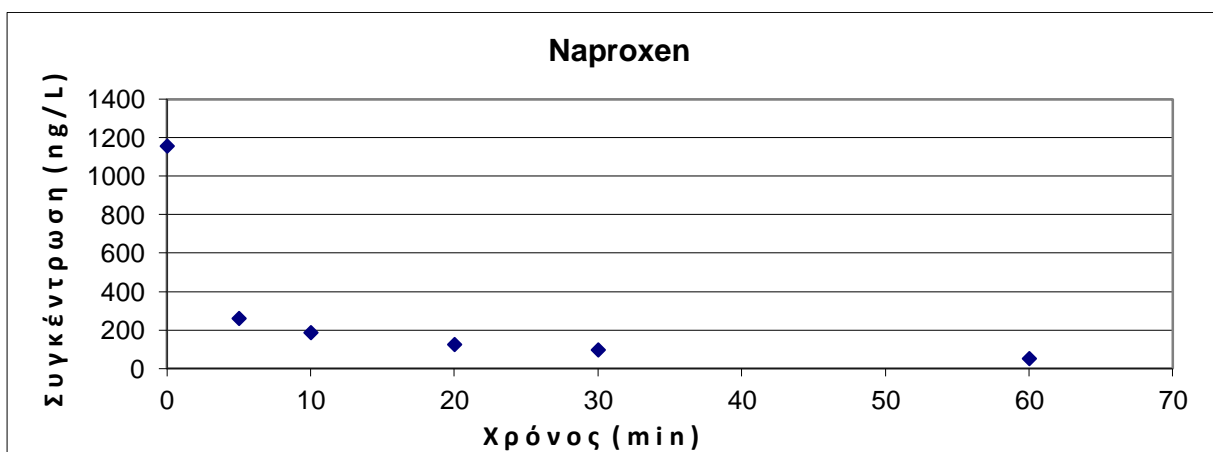
Διάγραμμα 4.1.12 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του IBU κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

Όπως και στην περίπτωση της εννεύλοφαινόλης, παρατηρούμε πως η αρχική συγκέντρωση υπερβαίνει τα 1000 ng/L που προστέθηκαν, γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη ποσότητας εξ' αρχής, στο δείγμα λυμάτων. Από τα δεδομένα του διαγράμματος τώρα προκύπτει πως η φαρμακευτική ένωση IBU απομακρύνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης και από αρχική συγκέντρωση 1230 ng/L, η απομένουσα ποσότητα με το πέρας μιας ώρας χλωρίωσης είναι 584 ng/L, με το ποσοστό απομάκρυνσης να ανέρχεται στο 52%.



Διάγραμμα 4.1.13 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του IBU ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

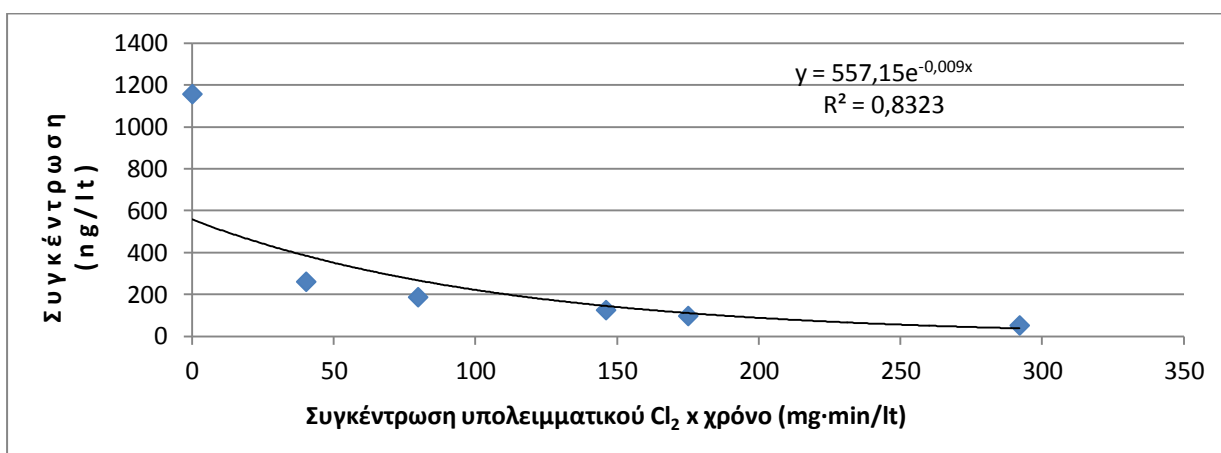
Παρατηρούμε από το διάγραμμα 4.1.13 πως η απομάκρυνση του IBU πραγματοποιείται σταδιακά με την απομάκρυνση ενός σημαντικού ποσοστού στην αρχή της αντίδρασης για να συνεχιστεί η απομάκρυνση με μικρότερο ρυθμό, δείχνοντας πως η απομάκρυνση θα μπορούσε να συνδεθεί με τη διάρκεια της χλωρίωσης αλλά και τη συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου. Η σχέση που περιγράφει την εξάρτηση αυτή είναι ένα πολυώνυμο δευτέρου βαθμού η εξίσωση του οποίου είναι $\psi = 0,0094 \cdot x^2 - 4,5016 \cdot x + 1125,8$.



Διάγραμμα 4.1.14 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του naproxen κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

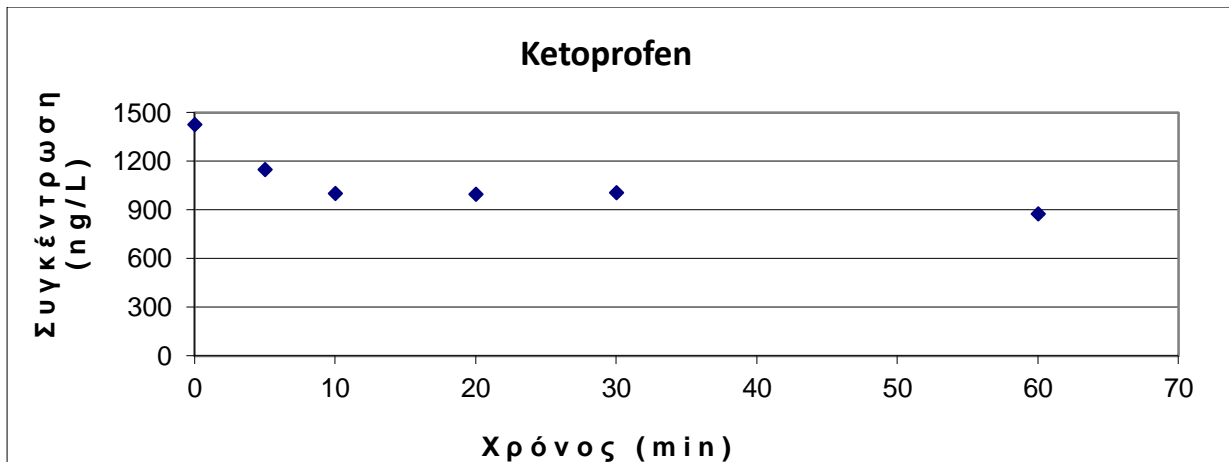
Για την περίπτωση του naproxen, παρατηρούμε πως ο χρόνος χλωρίωσης που εφαρμόστηκε στο συγκεκριμένο πείραμα ήταν αρκετός ώστε να απομακρυνθεί σχεδόν όλη η ποσότητα καθώς η αρχική συγκέντρωση 1160 ng/L μειώνεται καταλήγοντας στα 50 ng/L μόνο. Να επισημάνουμε πως το ποσοστό απομάκρυνσης είναι ιδιαίτερα μεγάλο από τα 5 πρώτα κιόλας λεπτά, καθώς αγγίζει το 80% περίπου, ενώ διάρκεια χλωρίωσης μιας ώρας προκαλεί

απομάκρυνση της τάξης του 96%. Καθίσταται λοιπόν προφανής, η ευαισθησία του *paroxen* στην επίδραση της χλωρίωσης. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από μελέτη των *Boyd et al*, οι οποίοι χρησιμοποίησαν διάλυμα υπερκάθαρου νερού με συγκέντρωση *paroxen* 10 mg/L και προσέθεσαν χλώριο σε συγκέντρωση 10 ppm σε ουδέτερες τιμές pH. Από τα 2 πρώτα λεπτά παρατηρήθηκε απομάκρυνση του *paroxen* σε ποσοστό 90% για να σταθεροποιηθεί περίπου στο 95% για διάρκεια χλωρίωσης 15 λεπτών (*Boyd et al*, 2005). Επίσης οι *Quintana et al*, πραγματοποίησαν πειράματα για την απομάκρυνση *paroxen* συγκέντρωσης 1 µg/L από διάλυμα υπερκάθαρου νερού με προσθήκη χλωρίου συγκέντρωσης 10 mg/L σε τιμή pH 7. Το πείραμα διήρκεσε 24 ώρες και η απομάκρυνσή του ήταν πλήρης, ενώ ο απαιτούμενος χρόνος για την απομάκρυνση του 50% υπολογίστηκε στα 50 min περίπου (*Quintana et al*, 2010).



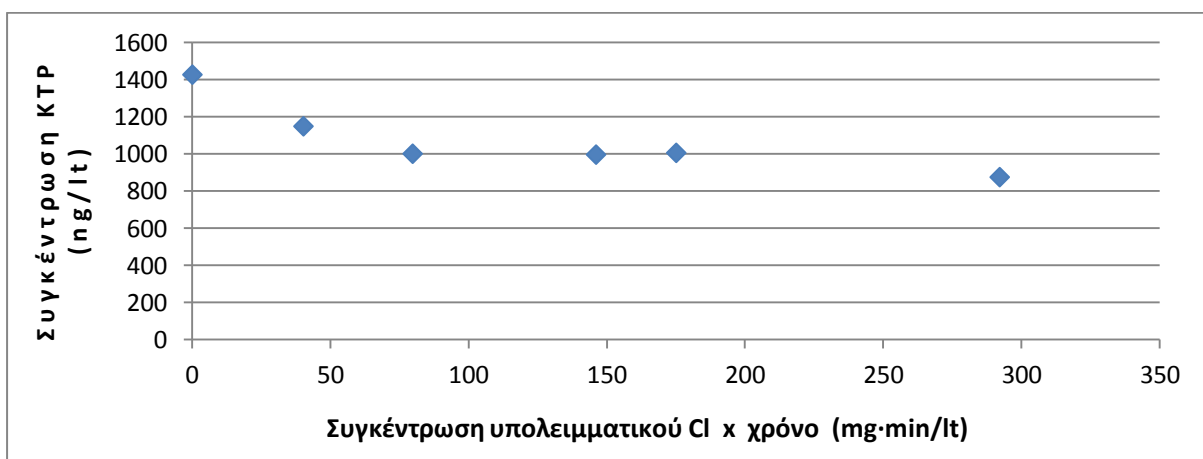
Διάγραμμα 4.1.15 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του *paroxen* ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Σύμφωνα με το διάγραμμα 4.1.15, παρατηρούμε μια απότομη απομάκρυνσή του στα πρώτα λεπτά της αντίδρασης για να μειωθεί από εκεί και έπειτα ο ρυθμός απομάκρυνσης μέχρι το πέρας του πειράματος. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με των *Boyd et al*, οι οποίοι αναφέρουν πως η ολοκλήρωση των αντιδράσεων χλωρίωσης του *paroxen* πραγματοποιείται από το πρώτο κίολας λεπτό, εξηγώντας έτσι το ποσοστό αυτό απομάκρυνσης ενώ κατά την διάρκεια αυτών των αντιδράσεων σχηματίζονται ενδιάμεσα τα οποία διατηρούν τη δραστική μορφή του *paroxen* για να μετατραπούν στη συνέχεια σε τελικά προϊόντα. Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους, η αρχική δόση του χλωρίου που χρησιμοποιείται επηρεάζει το ποσοστό απομάκρυνσης (*Boyd et al*, 2005).



Διάγραμμα 4.1.16 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του ketoprofen κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

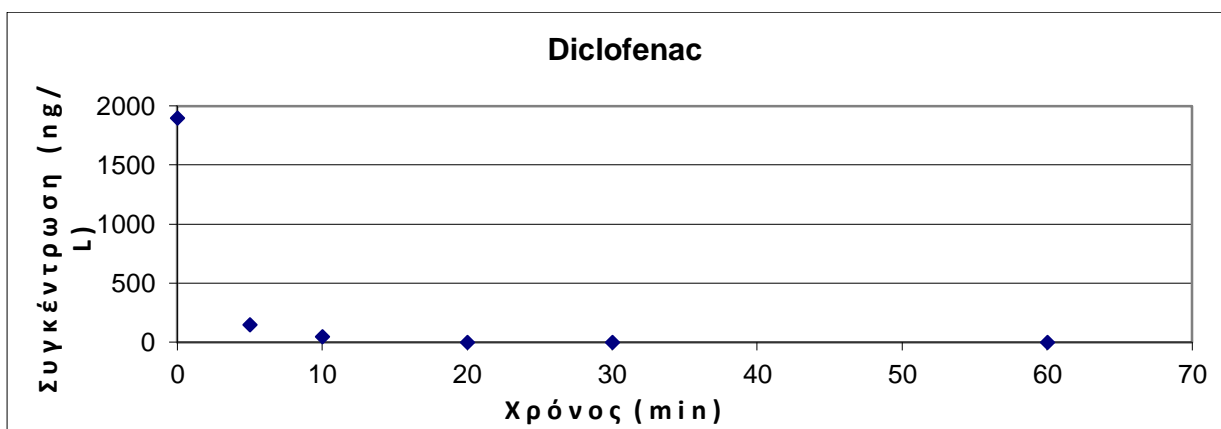
Για την περίπτωση του ketoprofen παρατηρούμε πως η αρχική τιμή συγκέντρωσης ανέρχεται στα 1400 ng/L φανερώνοντας έτσι την παρουσία του στα εξεταζόμενο δείγμα. Όσον αφορά την απομάκρυνσή του, από τα δεδομένα του διαγράμματος προκύπτει πως για διάρκεια χλωρίωσης μιας ώρας το ποσοστό απομάκρυνσης ήταν μόνο 39%, δείχνοντας έτσι πως η διεργασία της χλωρίωσης δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική για την περίπτωση του ketoprofen. Σε παραπλήσια συμπεράσματα κατέληξαν και οι Pinkston και Sedlak οι οποίοι χρησιμοποίησαν διάλυμα συγκέντρωσης 15 μM σε ketoprofen και προσέθεσαν χλώριο σε συγκέντρωση 30 φορές μεγαλύτερη. Η διαδικασία έλαβε χώρα σε τιμές pH από 5-10 και είχε διάρκεια 5 ημέρες, με το προκύπτον συμπέρασμα να είναι η μη αποτελεσματική απομάκρυνση της ουσίας (Pinkston and Sedlak, 2004).



Διάγραμμα 4.1.17 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του ketoprofen ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

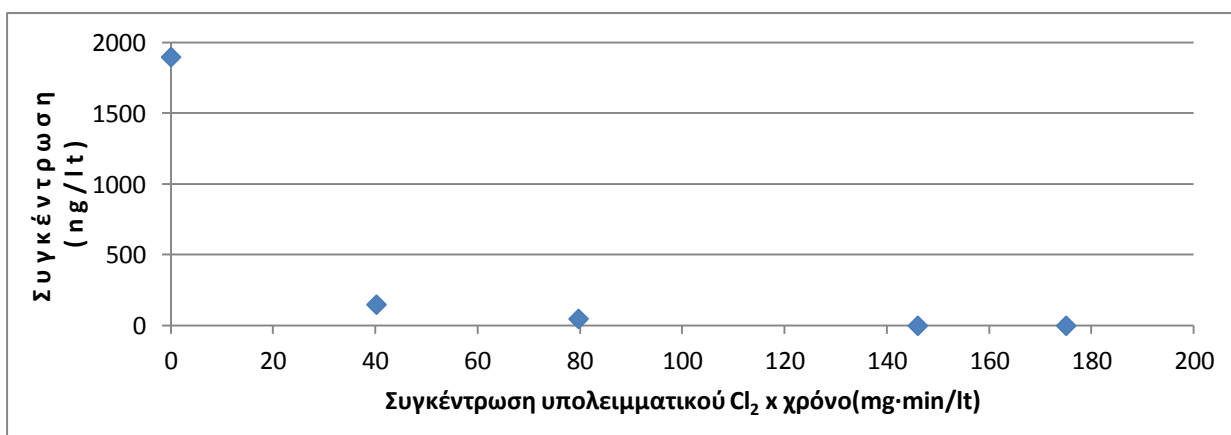
Από το διάγραμμα 4.1.17 παρατηρούμε πως πέραν του μικρού ποσοστού απομάκρυνσης του ketoprofen δεν θα μπορούσαμε να αντιστοιχήσουμε την απομάκρυνση αυτή με κάποια

σχέση που να την συνδέει είτε με τη συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου είτε με το χρονικό διάστημα της χλωρίωσης.



Διάγραμμα 4.1.18 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του diclofenac κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης

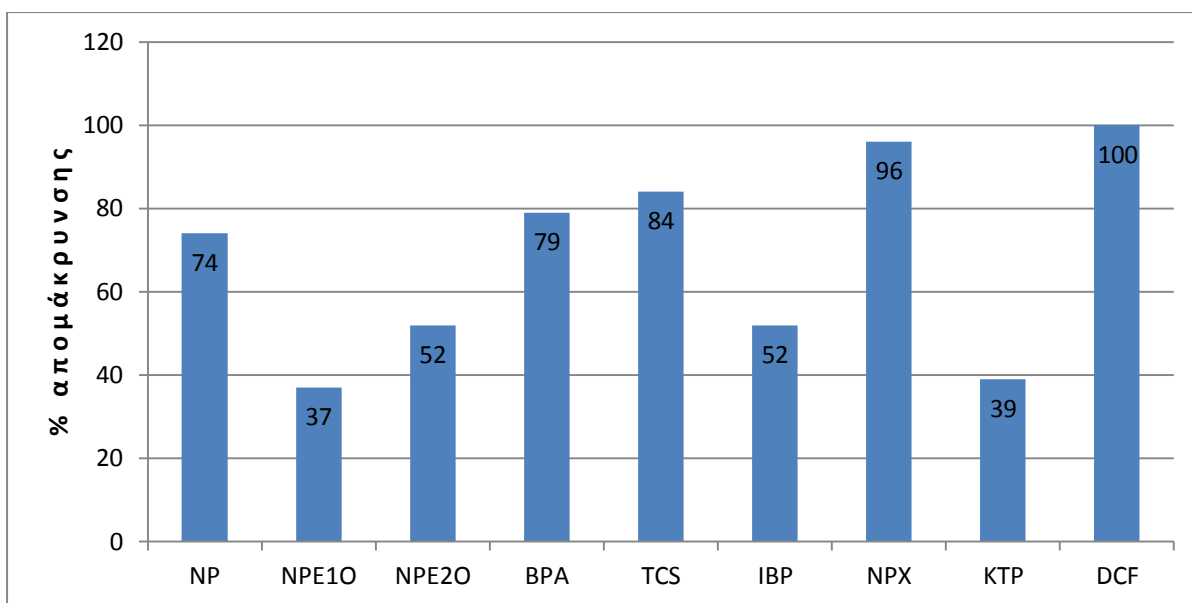
Τέλος, για την 9^η και τελευταία ένωση που εξετάζεται, γίνεται φανερό πως είναι αυτή η οποία επηρεάζεται περισσότερο όλων από τη διαδικασία της χλωρίωσης, καθώς πέραν του ιδιαίτερα σημαντικού ποσοστού απομάκρυνσης της τάξης του 92% από τα πρώτα ακόμα λεπτά, με την πάροδο 20 λεπτών έχουμε πλήρη απομάκρυνση, με τη συγκέντρωση της ένωσης να κυμαίνεται πλέον σε επίπεδα μη ανιχνεύσιμα. Να σημειώσουμε λοιπόν πως μαζί με το παροχεν είναι οι δύο ενώσεις των οποίων η παρουσία είναι δυνατόν να εξαλειφθεί κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης των δευτεροβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων. Στην πλήρη απομάκρυνση του diclofenac κατέληξαν και οι Quintana *et al*, σε πείραμα στο οποίο προσέθεσαν 1 μg/L diclofenac σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού, με συγκέντρωση χλωρίου 10 mg/L και pH στην ουδέτερη περιοχή (Quintana *et al*, 2010).



Διάγραμμα 4.1.19 : Μεταβολή της συγκέντρωσης του diclofenac ως προς το γινόμενο συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου επί το χρόνο χλωρίωσης

Η αποτελεσματικότητα της χλωρίωσης στην απομάκρυνση του diclofenac όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 4.1.19 δεν θα μπορούσε να εμφανίσει κάποια σχέση εξάρτησης από τις παραμέτρους του χρόνου ή της συγκέντρωσης του υπολειμματικού χλωρίου.

Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, στο διάγραμμα 4.1.20 εμφανίζονται τα ποσοστά απομάκρυνσης των εξεταζόμενων ενώσεων κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης χρησιμοποιώντας αρχική τιμή συγκέντρωσης χλωρίου 11,5 mgCl₂/L.



Διάγραμμα 4.1.20 : Ποσοστό απομάκρυνσης των εξεταζόμενων ουσιών για αρχική συγκέντρωση 11,5 mgCl₂/L

Από το διάγραμμα παρατηρούμε πως η οξειδωτική διεργασία της χλωρίωσης αποτελεί μια ικανοποιητική μέθοδο για την απομάκρυνση της πλειοψηφίας των εξεταζόμενων ενώσεων με 5 εκ των ενώσεων να απομακρύνονται σε ποσοστό άνω του 75% και τις υπόλοιπες να εμφανίζουν σημαντικά ποσοστά απομάκρυνσης.

4.2. Επίδραση της χλωρίωσης στην τοξικότητα του βακτηρίου *Vibrio fischeri*

Σκοπός του πειράματος είναι ο προσδιορισμός της τοξικότητας των ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών σε χλωριωμένο διάλυμα υπερκάθαρου νερού, σύμφωνα με την κατά DIN και ISO (ISO 11348, DIN 38412 L34/L341) μέθοδο μέτρησης της αναχαίτισης της φωταύγειας του βακτηρίου *Vibrio fischeri*. Η μέθοδος βασίζεται στον προσδιορισμό της μείωσης της φωταύγειας σε καλλιέργειες του βακτηρίου *Vibrio fischeri* κατά την επαφή του με την υπό διερεύνηση τοξική ουσία. Η τοξικότητα ενός δείγματος εκφράζεται μέσω των παραμέτρων GL_{20} και GL_{50} που αποτελούν τις αραιώσεις του δείγματος που προκαλούν μείωση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri* κατά 20% και 50% αντίστοιχα. Συνήθως, ιδιαίτερα τοξικά διαλύματα θεωρούνται αυτά που η απαιτούμενη αραιώση τους υπερβαίνει το 1:100 για μείωση της φωταύγειας λιγότερο από 20% (GL_{20}), μέτρια τοξικά όταν η απαιτούμενη αραιώση για την GL_{20} κυμαίνεται μεταξύ 1:10 - 1:100 και λίγο τοξικά τα διαλύματα στα οποία απαιτείται αραιώση μικρότερη του 1:10 (Wang *et al*, 2002). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων τοξικότητας δίνονται στο πίνακα που ακολουθεί. Οι θεωρητικές τιμές GL_{20} και GL_{50} προκύπτουν αντίστοιχα από τις τιμές των EC_{20} και EC_{50} που υπολογίστηκαν κατά τη συνολική παρουσία των ενώσεων στο διάλυμα. Θεωρούμε επίσης πως η παρουσία του χλωρίου δεν προσδίδει περαιτέρω τοξικότητα στο εξεταζόμενο δείγμα.

Πίνακας 4.2.1 : Αποτελέσματα προσδιορισμού τοξικότητας των λυμάτων μέσω των πειραμάτων αναχαίτισης της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri*.

Χρόνος χλωρίωσης (min)	GL (1/αραίωση)	% αναχαίτισης	GL_{20}	GL_{50}
0	2	21,98	2	-
4	2	91,83	58	16
	4	78,22		
	10	67,83		
8	2	91,67	284	47
	4	87,13		
	10	76,31		
15	2	91,99	227	41
	40	50,45		
18	4	88,37	203	40
	10	75,65		

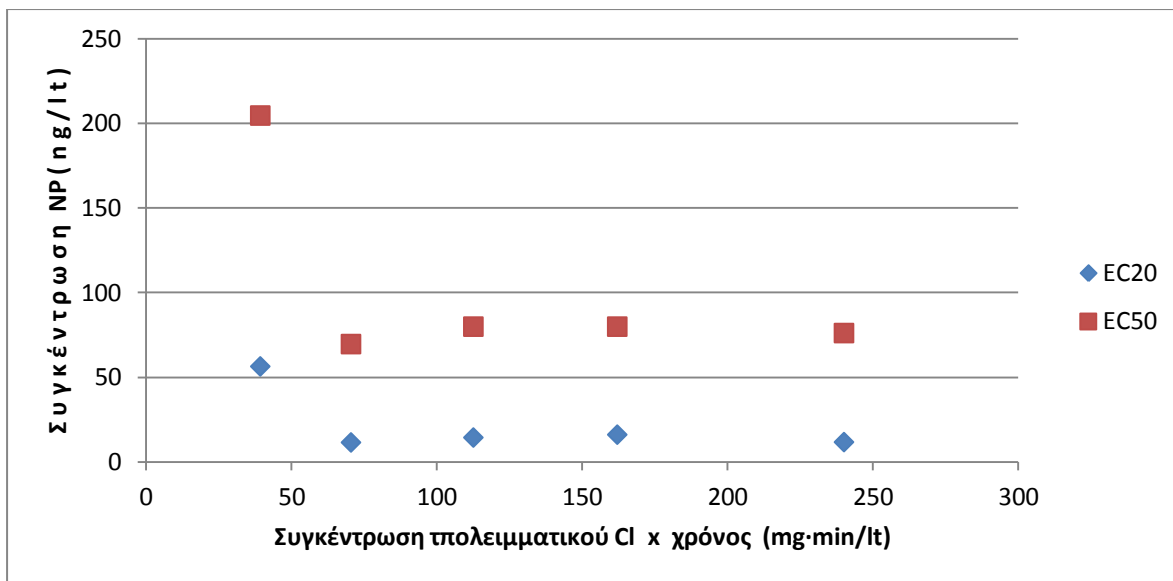
	20	65,75		
	40	50,49		
30	4	84,96	280	43
	10	75,75		
	20	63,58		
	40	51,18		

Στον παραπάνω πίνακα αναφέρονται οι απαιτούμενες αραιώσεις για αναχαίτιση του *Vibrio fischeri* κατά 20% και 50%, GL_{20} και GL_{50} , αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές είναι θεωρητικές και προκύπτουν από τις τιμές EC_{20} και EC_{50} , οι οποίες προσδιορίζονται από γραμμική παλινδρόμηση των λογαρίθμων των τιμών της συνάρτησης Γ και της αντίστοιχης συγκέντρωσης. Ο τρόπος υπολογισμού των τελευταίων παρουσιάζεται στο κεφάλαιο 3, §3.2.6. Όπως φαίνεται στον πίνακα, το βακτήριο *Vibrio fischeri* εμφανίζει σημαντικά μεγαλύτερη ευαισθησία κατά τη χλωρίωση και απαιτεί σημαντικές αραιώσεις που κυμαίνονται εκτός ελάχιστων εξαιρέσεων πάνω από 1/200 για μείωση του ποσοστού αναχαίτισης σε επίπεδα κάτω του 20%. Ενώ λοιπόν το διάλυμα με τις προστιθέμενες ουσίες, των οποίων οι συγκεντρώσεις παρουσιάζονται στον πίνακα 4.2.2, πριν τη χλωρίωση εμφάνιζε ιδιαίτερα μικρή τοξικότητα η οποία πολύ πιθανό να οφειλόταν και στην προσθήκη των ενώσεων, με την έναρξη της διαδικασίας της χλωρίωσης και κατά τη διάρκεια των 4 πρώτων λεπτών το μέγεθος της απαιτούμενης αραιώσης σχεδόν 30πλασιάστηκε καθιστώντας έτσι το δείγμα μέτρια τοξικό, για να αυξηθεί με το πέρασ των 8 λεπτών κατά περισσότερο από 100 φορές ως προς την αρχική τιμή η απαιτούμενη τιμή αραιώσης, γεγονός που καθιστά πλέον το δείγμα ως ιδιαίτερα τοξικό. Μέσω του παραπάνω πίνακα και των αραιώσεων που προκύπτουν μπορούμε να προσδιορίσουμε τις συγκεντρώσεις της κάθε ένωσης στις οποίες παρατηρήθηκαν οι τιμές τοξικότητας EC_{20} και EC_{50} .

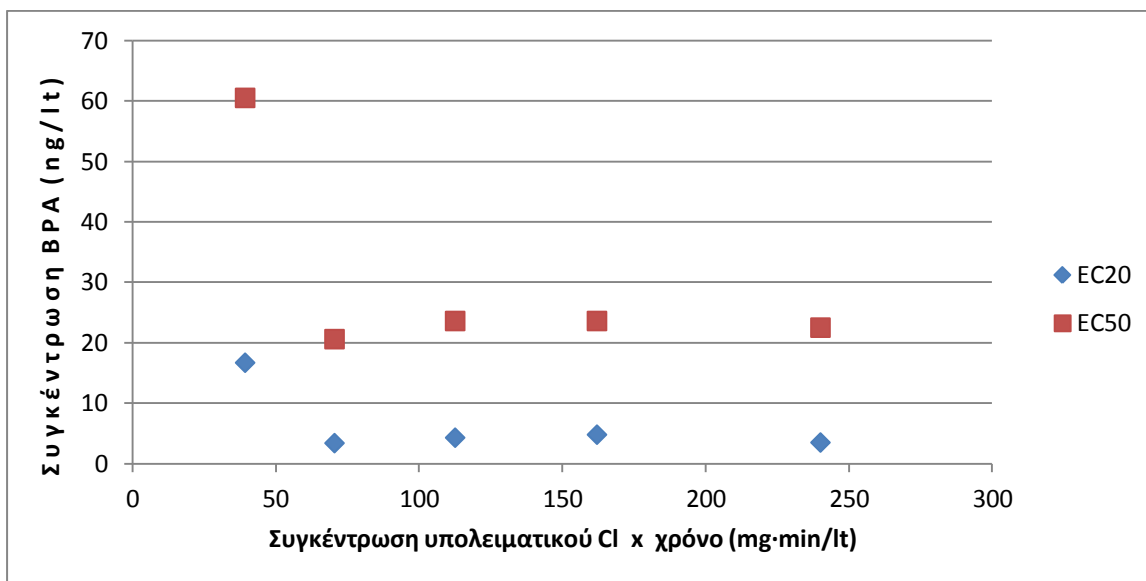
Πίνακας 4.2.2 : Αποτελέσματα προσδιορισμού συγκεντρώσεων των φαρμακευτικών και ενδοκρινικών ενώσεων που προκαλούν αναχαίτιση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri* κατά 20% και 50% ως προς το χρόνο χλωρίωσης.

Χρόνος χλωρίωσης (min)	Συγκεντρώσεις (ng/l)								
	GL	NP	NP ₁ EO	NP ₂ EO	TCS	BPA	IBU	NPX	DCF
0	GL ₂₀	1636	1775	744	512	484	612	578	949
4	GL ₂₀	56,4	61,2	26,7	17,7	16,7	21,1	19,9	32,7
	GL ₅₀	204,6	221,9	93	64,1	60,5	76,5	72,3	118,6
8	GL ₂₀	11,5	12,5	5,2	3,6	3,4	4,3	4,1	6,7
	GL ₅₀	69,6	75,5	31,7	21,8	20,6	26	24,6	40,4
15	GL ₂₀	14,4	15,6	6,6	4,5	4,3	5,4	5,1	8,4
	GL ₅₀	79,9	86,6	36,3	25	23,6	29,9	28,2	46,3
18	GL ₂₀	16,1	17,5	7,3	5,1	4,8	6	5,7	9,3
	GL ₅₀	79,9	86,6	36,3	25	23,6	29,9	28,2	46,3
30	GL ₂₀	11,7	12,7	5,3	3,7	3,5	4,4	4,1	6,8
	GL ₅₀	76,1	82,6	34,6	23,8	22,5	28,5	26,9	44,1

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πως από τη στιγμή της χλωρίωσης και έπειτα η τιμή της συγκέντρωσης κάθε ουσίας στην οποία προκαλούνταν 20% αναχαίτιση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri* συνεχώς μειωνόταν. Συγκεκριμένα η μείωση ήταν άμεσα εμφανής από τα πρώτα 4 λεπτά της χλωρίωσης και συνεχίστηκε με μικρότερο ρυθμό μέχρι τα 8 λεπτά από όπου και μετέπειτα σταθεροποιήθηκε γύρω από μια συγκεκριμένη τιμή μέχρι και το τέλος του πειράματος. Όσον αφορά τις τιμές στις οποίες παρατηρείται 50% αναχαίτιση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri*, μέχρι τα πρώτα 8 λεπτά παρατηρείται το ίδιο φαινόμενο όπως και στην περίπτωση του 20%, ως προς το ρυθμό πτώσης της συγκέντρωσης, με τις τιμές αυτές να σταθεροποιούνται στη συνέχεια και προφανώς, να είναι μεγαλύτερες από αυτές που αφορούσαν το 20% της αναχαίτισης. Ωστόσο οι αποκλίσεις αυτή τη φορά μεταξύ τους είναι μικρότερες γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί πέραν των πειραματικών σφαλμάτων και στη μικρότερη ακρίβεια που απαιτείται λόγω της ευαισθησίας του βακτηρίου για να προκληθεί ένα σημαντικό ποσοστό, όπως αυτό της τάξης του 50%, αναχαίτισης της ικανότητάς του. Τα αποτελέσματα αυτά εμφανίζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



Διάγραμμα 4.2.1 : Μεταβολή της EC_{50} της NP με το χρόνο χλωρίωσης



Διάγραμμα 4.2.2 : Μεταβολή της EC_{50} της BPA με το χρόνο χλωρίωσης

Ένας λόγος για τον οποίο παρατηρείται αύξηση της τοξικότητας με την αύξηση του χρόνου χλωρίωσης, είναι ο σχηματισμός παραγώγων - μεταβολιτών των ενώσεων αυτών με το διαλυμένο χλώριο, οι οποίες είναι πιο τοξικές σε σχέση με τις αρχικές. Παρακάτω θα εξετάσουμε τις ενώσεις χωριστά ως προς τα προϊόντα χλωρίωσης που πιθανόν προκύπτουν κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης σε χρονικό διάστημα μιας ώρας. Ωστόσο σημαντικό θα ήταν να λάβουμε υπόψη τη συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου σε κάθε στιγμή του πειράματος. Οι τιμές φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.2.3 : Συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου κατά τη διάρκεια του πειράματος

t(min)	0	4	8	15	18	30
Cl (mg/L)	10	9,8	8,8	7,5	9	8

Ξεκινώντας με την περίπτωση του triclosan, οι Rule *et al*, διαπίστωσαν πως σε χρόνο 30 min οι σχηματιζόμενες ενώσεις ήταν τρεις χλωρο – φαίνοξυ - φαινόλες και δυο χλωροφαινόλες. Οι χλωρο – φαίνοξυ - φαινόλες περιελάμβαναν δυο μονοχλωριωμένα παράγωγα της TCS την (5,6-δichλωρο-2-(2,4-δichλωροφαινοξυ) φαινόλη και την 4,5-δichλωρο-2-(2,4-δichλωροφαινοξυ) - φαινόλη) και ένα dichλωριωμένο παράγωγο την (4,5,6-τριχλωρο- (2,4-δichλωροφαινοξυ) φαινόλη), ως αποτέλεσμα της διαδικασίας της ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης της TCS. Όσον αφορά τις χλωροφαινόλες η 2,4 – dichλωροφαινόλη εντοπίστηκε κάτω από συνθήκες και μορφές στις οποίες πραγματοποιείται αιθερική διάσπασης της TCS ενώ η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη σχηματίστηκε μέσω ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης της 2,4 – dichλωροφαινόλης σε συνθήκες παρουσίας ελεύθερου χλωρίου. Τέλος, χλωροφόρμιο σχηματίστηκε κατά την παρουσία περίσσειας ελεύθερου χλωρίου. Συγκεκριμένα οι δυο πρώτες ενώσεις σχηματίστηκαν στα πρώτα 5 λεπτά και μετά άρχισαν να διασπώνται. Η τρίτη και τέταρτη ένωση άρχισαν να σχηματίζονται με την έναρξη της διαδικασίας, ωστόσο η διάσπαση των δυο πρώτων μετά τα 10 πρώτα λεπτά, οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού σχηματισμού τους (Rule *et al*, 2005). Με δεδομένη λοιπόν την ύπαρξη υπολειμματικού χλωρίου στο πείραμά μας είναι πολύ πιθανό να σχηματίστηκαν τόσο η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη όσο και το χλωροφόρμιο, επιδρώντας έτσι στην αύξηση της τοξικότητας με τον τρόπο που αναφέρθηκε παραπάνω.

Συνεχίζοντας με την BPA, οι Ying Hu *et al* (2002), μελέτησαν το σχηματισμό προϊόντων κατά τη διάρκεια της χλωρίωσής της. Παρατήρησαν πως στα 10 πρώτα λεπτά οι ενώσεις που σχηματίστηκαν ήταν η 2,6'-δichλωρο-BPA, η 2,6-dichλωρο-BPA, η 2,2',6'-τριχλωρο-BPA και η 2,2',6,6'-τετράχλωρο-BPA. Με την πάροδο όμως 60 λεπτών στο δείγμα δεν ανιχνεύτηκε καθόλου μονόχλωρο- BPA ενώ οι ποσότητες των dichλωρο-, τρίχλωρο- και τετράχλωρο- BPA μειώθηκαν για να εμφανιστούν νέες ενώσεις, όπως μερικά είδη πολυχλωριωμένων φαινοξυ-φαινολών (PCPPs) και ποσότητα τριχλωροφαινόλης (Ying Hu *et al*, 2002). Με βάση τα δεδομένα αυτά παρατηρούμε πως η διάρκεια του πειράματός μας αρκούσε για την επίτευξη του σχηματισμού ποσοτήτων των προϊόντων αυτών.

Επίσης, οι Ying Hu *et al*, πραγματοποίησαν παρόμοια μελέτη και για τη περίπτωση της NP χρησιμοποιώντας υποχλωριώδες νάτριο συγκέντρωσης 1,3 mg/L. Διαπίστωσαν πως από τα πρώτα κιόλας 10 λεπτά, η NP αντέδρασε δίνοντας τα πρώτα παράγωγα τα οποία ήταν η 2-χλώρο-4-NP (MCNP) και η 2,6-δichλώρο-4-NP (DCNP). Με την πάροδο όμως μιας ώρας, όσο δηλαδή διήρκεσε το πείραμά μας, τόσο η NP όσο και τα παράγωγα αυτά είχαν εξαλειφθεί και το βασικό σχηματιζόμενο προϊόν ήταν η 2,4,6- τριχλωροφαινόλη.

Όσον αφορά την περίπτωση του naroxen, οι Quintana *et al* (2010), σε μελέτη τους διαπίστωσαν πως με την πάροδο 15 λεπτών και μέχρι το τέλος του πειράματος (24 ώρες), το προϊόν που σχηματίστηκε στη συντριπτική πλειοψηφία είναι το Cl-naroxen.

Ακόμη, οι Quintana *et al*, προσδιόρισαν και τα προϊόντα χλωρίωσης του diclofenac. Παρατήρησαν πως με την πάροδο 15 και 17,5 min τα προϊόντα που σχηματίστηκαν ήταν το χλώρο - diclofenac (Cl-diclo) και το Cl-diclo-CO. Να επισημάνουμε πως η αύξηση της συγκέντρωσης του χλωρίου οδηγεί στον ταχύτερο σχηματισμό χλωραμινών που αποτελούν με τη σειρά τους ενδιάμεσα για το σχηματισμό του Cl-diclo-CO (Quintana *et al*, 2010).

Για τις περιπτώσεις των NPEOs, ketoprofen και του ibuprofen δεν υπάρχουν στοιχεία για τα σχηματιζόμενα προϊόντα κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης. Συνεπώς με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω οι ενώσεις αυτές, είναι εκείνες που προσδίδουν τοξικότητα, η καθεμιά σε διαφορετικό βαθμό. Προκειμένου τώρα να προσδιοριστεί ο βαθμός επίδρασης της καθεμιάς αλλά και η ύπαρξη τυχόν αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους, δεν υπάρχουν τα απαραίτητα στοιχεία για να το επιβεβαιώσουν ή να το αποκλείσουν.

4.3. Προσδιορισμός της τοξικότητας της NP και της BPA στη φωτοβόλο ιδιότητα του βακτηρίου *Vibrio fischeri*

Σε υπερκάθαρο νερό προστέθηκε ποσότητα των ενώσεων ώστε να προκύψουν τελικά διαλύματα NP και BPA συγκέντρωσης 3,3 μg/L και 1 μg/L αντίστοιχα. Τα δείγματα αυτά χλωρίωθηκαν χρησιμοποιώντας διάλυμα χλωρίνης του εμπορίου αρχικής συγκέντρωσης 10 mg/L και η διαδικασία διήρκεσε 35 min. Έπειτα μετρήθηκε η επίδραση της τοξικότητας των δειγμάτων αυτών στο βακτήριο *Vibrio fischeri*. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.3.1 : Αποτελέσματα προσδιορισμού συγκεντρώσεων των NP και BPA που προκαλούν αναχαίτιση της φωτοβόλου ιδιότητας του *Vibrio fischeri* κατά 20% και 50% μετά από 35 min χλωρίωσης.

Χημική ένωση	GL (1/αραίωση)	% αναχαίτισης	GL ₂₀	GL ₅₀	EC ₂₀ (ng/L)	EC ₅₀ (ng/L)
NP	2	92,27	199	43	16,6	76,7
	10	77,84				
	50	43,49				
	100	28,25				
BPA	2	94	178	37	5,6	27
	10	79,65				
	50	44,26				
	100	33,1				

Συγκρίνοντας βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν την επίδραση της NP στο *V. Fischeri* σε δείγματα ανάμικτου υγρού, η τιμή EC₅₀ που υπολογίστηκε ήταν 3,51 mg/L (Stasinakis *et al*, 2008). Η διαφορά αυτή σε σχέση με την τιμή που υπολογίστηκε στην παρούσα εργασία (76,7 ng/L) αντικατοπτρίζει το μέγεθος της τοξικής δράσης των σχηματιζόμενων παραγώγων της χλωρίωσης στο συγκεκριμένο βακτήριο, λαμβάνοντας υπόψη παράλληλα την παρουσία του ανάμικτου υγρού ως διαλύτη.

Επίσης από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πως η BPA είναι περισσότερο τοξική από την NP και οι συγκεντρώσεις στις οποίες προκαλείται 20% και 50% αναχαίτιση είναι σχεδόν τριπλάσιες για την NP. Επίσης όπως φαίνεται από τον πίνακα 4.3.2, συγκρίνοντας τις τιμές

του πίνακα 4.3.1 με τις αντίστοιχες του πίνακα 4.2.2, παρατηρούμε πως για τον ίδιο χρόνο χλωρίωσης και για ίδια τιμή συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου, οι τιμές είναι παραπλήσιες, γεγονός που αποδεικνύει πως η συνολική παρουσία των ενώσεων στο διάλυμα δεν επηρεάζει την δραστικότητα των δυο αυτών ενώσεων. Οι τιμές αυτές φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.3.2 : Σύγκριση τιμών τοξικότητας NP και BPA σε δείγματα όπου προστέθηκαν και οι 9 εξεταζόμενες ενώσεις και σε δείγματα όπου προστέθηκαν ανά μια χωριστά.

	Χημική ένωση	Προσθήκη του συνόλου των ενώσεων	Προσθήκη κάθε ένωσης χωριστά
EC ₂₀ (ng/L)	NP	11,7	16,6
EC ₅₀ (ng/L)		76,1	76,7
EC ₂₀ (ng/L)	BPA	3,5	5,6
EC ₅₀ (ng/L)		22,5	27

Τέλος, με δεδομένο ότι οι αρχικές συγκεντρώσεις των NP και BPA ήταν οι ίδιες και στα δυο πειράματα των παραγράφων 4.2 και 4.3 συγκρίνοντας τις τιμές αραιώσεων που απαιτήθηκαν για να φτάσουμε στην τιμή EC₅₀ μετά από χρόνο 30 λεπτών, παρατηρούμε πως για την περίπτωση της NP η τιμή αυτή είναι η ίδια γεγονός που προσδιορίζει την αυξημένη συμμετοχή των χλωριωμένων παραγώγων της NP στην εμφάνιση τοξικότητας.

4.4. Απομάκρυνση ενδοκρινικών και φαρμακευτικών ουσιών με χρήση ενεργού άνθρακα

Σκοπός του παρόντος πειράματος, είναι η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του ενεργού άνθρακα στην απομάκρυνση των εξεταζόμενων ενδοκρινικών διαταρακτών και φαρμακευτικών ουσιών από τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ. Επίσης εξετάστηκαν όσο ήταν δυνατό, η επίδραση δυο παραμέτρων στην απομάκρυνση τους, αυτή της συγκέντρωσης του ενεργού άνθρακα και της αρχικής συγκέντρωσης των εξεταζόμενων ουσιών. Επιχειρήθηκε επίσης η δημιουργία των ισόθερμων ρόφησης κατά Freundlich ή Langmuir, ως ένα μέσο για την ακριβέστερη ανάλυση του βαθμού απομάκρυνσης, όπου βέβαια αυτό κατέστη εφικτό. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε θερμοκρασία $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ και τιμή pH $7,5 \pm 0,2$. Πριν συνεχίσουμε με την ανάλυση των πειραματικών αποτελεσμάτων για κάθε ένωση χωριστά, θα ήταν σκόπιμη, μια σύντομη βιβλιογραφική αναφορά στην διαδικασία προσρόφησης με χρήση ενεργού άνθρακα.

Η προσροφητική ικανότητα του άνθρακα εξαρτάται τόσο από το είδος του αλλά και από το διάλυμα στο οποίο προστίθεται. Ο βαθμός στον οποίο θα πραγματοποιηθεί η ρόφηση και οι προκύπτουσες σχέσεις ισορροπίας έχουν συσχετιστεί μέσω της εμπειρικής σχέσης Freundlich και της θεωρητικής Langmuir.

Η εξίσωση Freundlich έχει τη μορφή:

$$q_e = K \cdot C_e^{1/n}$$

Πολλές φορές η παραπάνω εξίσωση χρησιμοποιείται με τη γραμμικοποιημένη μορφή της:

$$\log q_e = \log K + 1/n \cdot \log C_e \quad \text{όπου}$$

K, σταθερά που εκφράζει την προσροφητική ικανότητα του στερεού, $(\text{ng}^{1-1/n} \cdot \text{L}^{1/n}/\text{mg})$

n, σταθερά προσρόφησης

q_e , προσροφημένη μάζα ανά μονάδα μάζας προσροφητή, ng/mg

C_e , η συγκέντρωση της απομένουσας διαλυμένης ουσίας, ng/L (Eckfelder *et al*, 2000)

Για μεγάλες τιμές n, το $1/n$ γίνεται μικρό και συνεπώς το q_e γίνεται ανεξάρτητο της συγκέντρωσης C_e . Η ισόθερμη καμπύλη (q_e , C_e) γίνεται οριζόντια και η προσρόφηση ονομάζεται μη αντιστρεπτή. Όταν το $1/n$ λαμβάνει μεγάλες τιμές ο δεσμός προσρόφησης είναι ασθενής και το q_e εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την τιμή του C_e . Η σταθερά K δείχνει τη δυναμικότητα του προσροφητικού για τη συγκεκριμένη ουσία. Η

γραμμικοποιημένη εξίσωση δεν ισχύει για οποιαδήποτε τιμή του C_e . Η τιμή του q_e αυξάνει με την αύξηση της C_e , αλλά όταν το q_e λάβει την τιμή κορεσμού, περαιτέρω αύξηση του C_e δεν έχει την ίδια επίπτωση στην τιμή του q_e (Λέκκας, 1996).

Η εξίσωση του Langmuir παριστάνεται από την εξίσωση

$$q_e = \frac{a \cdot b \cdot C_e}{(1 + a \cdot C_e)}$$

όπου:

q_e , η ποσότητα της ουσίας που προσροφήθηκε ανά μονάδα βάρους του προσροφητικού μέσου στην κατάσταση ισορροπίας (ng/mg)

C_e , η υπολειμματική συγκέντρωση της ουσίας στο διάλυμα στην κατάσταση ισορροπίας (ng/l)

b , η μέγιστη ποσότητα της ουσίας ανά μονάδα βάρους προσροφητικού μέσου για το σχηματισμό ενός πλήρους μονομοριακού στρώματος στο προσροφητικό μέσο

a , σταθερά εξαρτώμενη από τη φύση της ουσίας και τη θερμοκρασία (Metcalf & Eddy, 2003)

Bisphenol A

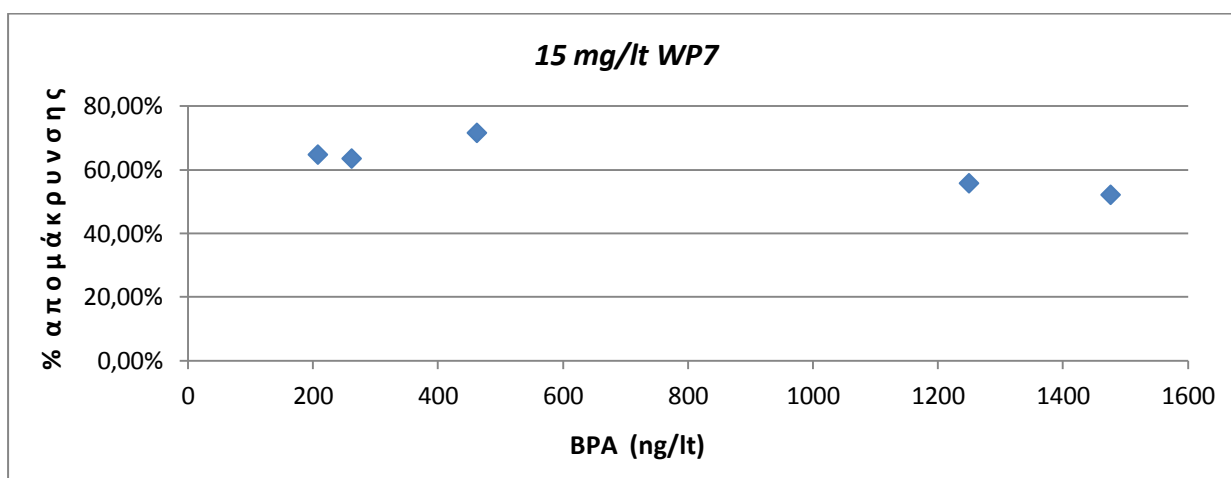
Ξεκινώντας με τον ενδοκρινικό διαταράκτη BPA, στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται οι τιμές συγκεντρώσεων πριν και μετά την προσθήκη ενεργού άνθρακα (ng/L), ο λόγος της προσροφημένης ποσότητας σε ng ανά mg προσροφητή (q_e) καθώς και ο βαθμός απομάκρυνσης που επιτυγχάνεται στην κάθε περίπτωση. Όσον αφορά το συμβολισμό των δειγμάτων ο πρώτος όρος αναφέρεται στην τιμή της προστιθέμενης συγκέντρωσης, ο δεύτερος στην τιμή συγκέντρωσης του ενεργού άνθρακα, η ένδειξη PAC στην προσθήκη ενεργού άνθρακα και η NS αφορά δείγματα στα οποία δεν έχει προστεθεί συγκέντρωση ουσίας. Ανάλογοι πίνακες θα ακολουθήσουν και για τις υπόλοιπες υπό εξέταση ενώσεις.

Πίνακας 4.4.1 : Απομάκρυνση της BPA με χρήση ενεργού άνθρακα

Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q_e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	1475,7		
NS_PAC	705,8	51,3	52,17%
1200_15	2825,8		
1200_15_PAC	1249,1	105,1	55,79%

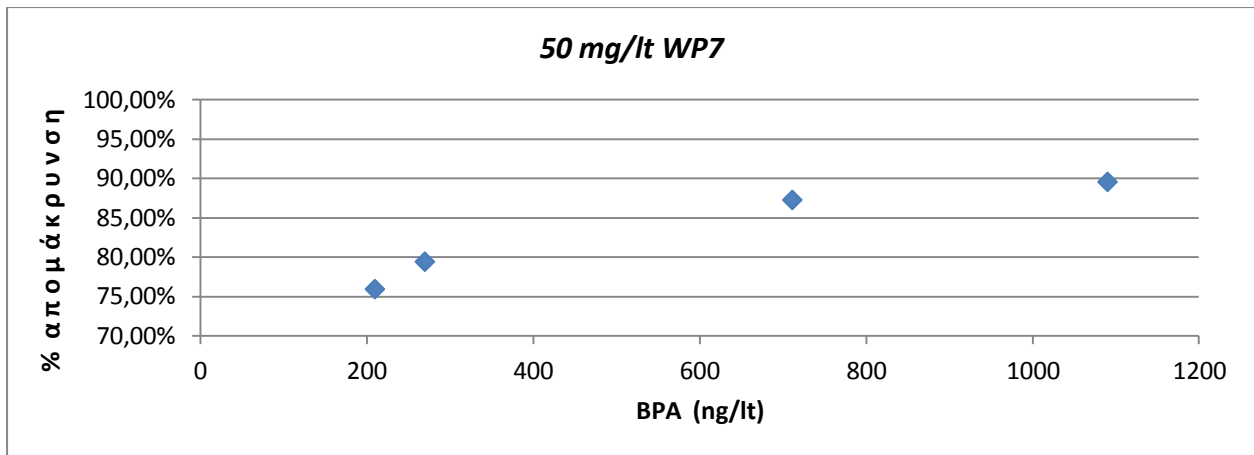
1000_50	1089,7		
1000_50_PAC	113,7	19,5	89,57%
100_15	207,4		
100_15_PAC	73,0	8,9	64,81%
100_50	209,3		
100_50_PAC	50,4	3,2	75,94%
300_15	261,5		
300_15_PAC	95,3	11,2	63,57%
300_50	269,3		
300_50_PAC	55,4	4,3	79,42%
500_15	461,9		
500_15_PAC	130,9	22,1	71,64%
500_50	710,9		
500_50_PAC	90,5	12,4	87,27%

Ακολούθως παρουσιάζονται διαγράμματα στα οποία εμφανίζεται η μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της ένωσης ως προς την τιμή της αρχικής συγκέντρωσης, για συγκεκριμένη τιμή συγκέντρωσης ενεργού άνθρακα.



Διάγραμμα 4.4.1 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της BPA, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

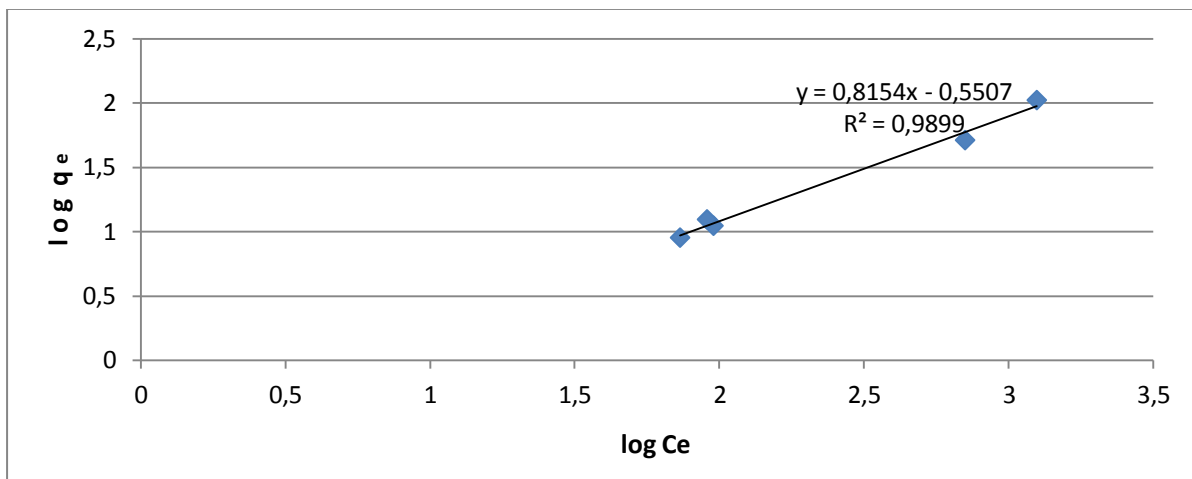
Από το διάγραμμα 4.4.1 πως για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα ίση με 15mg/L η απομάκρυνση κυμάνθηκε στο 60% περίπου για διάστημα τιμών συγκέντρωσης από 200 ως 1500 ng/L, διαπιστώνοντας έτσι πως η τιμή αρχικής συγκέντρωσης της ουσίας δεν επηρέασε το ποσοστό απομάκρυνσης.



Διάγραμμα 4.4.2 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της BPA ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Σε αντίθεση με την προηγούμενη περίπτωση, για τιμή συγκέντρωσης 50 mg/L παρατηρείται μια σταδιακή αύξηση της απομάκρυνσης από 75% για συγκέντρωση 200 mg/L, σε 90% για συγκέντρωση 1100 mg/L. Όπως ήταν αναμενόμενο η απομάκρυνση που επιτυγχάνεται στην περίπτωση αυτή είναι μεγαλύτερη από εκείνη για συγκέντρωση άνθρακα 15 mg/L.

Επίσης, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα, η ισόθερμη Freundlich είναι αυτή η οποία ανταποκρίνεται καλύτερα στα πειραματικά δεδομένα.



Διάγραμμα 4.4.3 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για την BPA.

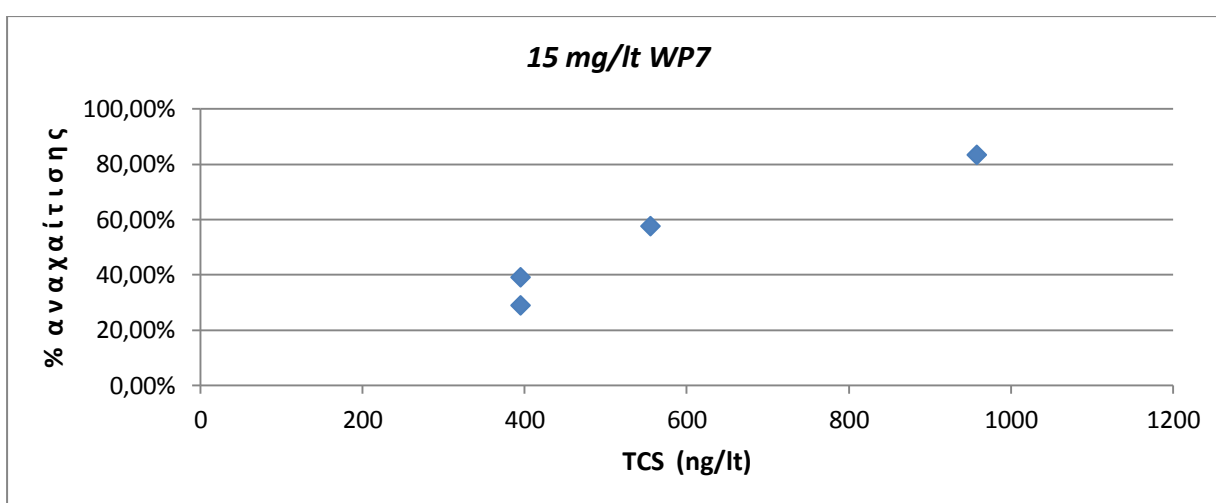
Οι τιμές των σταθερών K και n προσδιορίστηκαν και είναι ίσες με 0,28 και 1,23 αντίστοιχα. Με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα οι Bautista *et al* (2005), υπολόγισαν την ισόθερμη κατά Langmuir και υπολογίζοντας τις σταθερές της εξίσωσης εκείνης βρήκαν υψηλή ικανότητα ρόφησης από 129,6 mg/g ως 263,1 mg/g, γεγονός που οφείλεται και στα υδροφοβικά χαρακτηριστικά της BPA.

Triclosan

Ο δεύτερος ενδοκρινικός διαταράκτης που εξετάστηκε ήταν η TCS με τα αποτελέσματα, όπως προέκυψαν από την ανάλυση με GC—MS, να παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα. Βάση των αποτελεσμάτων αυτών θα προκύψουν τα διαγράμματα απομάκρυνσης/αρχικής συγκέντρωσης, για τις δυο συγκεντρώσεις άνθρακα που χρησιμοποιήθηκαν.

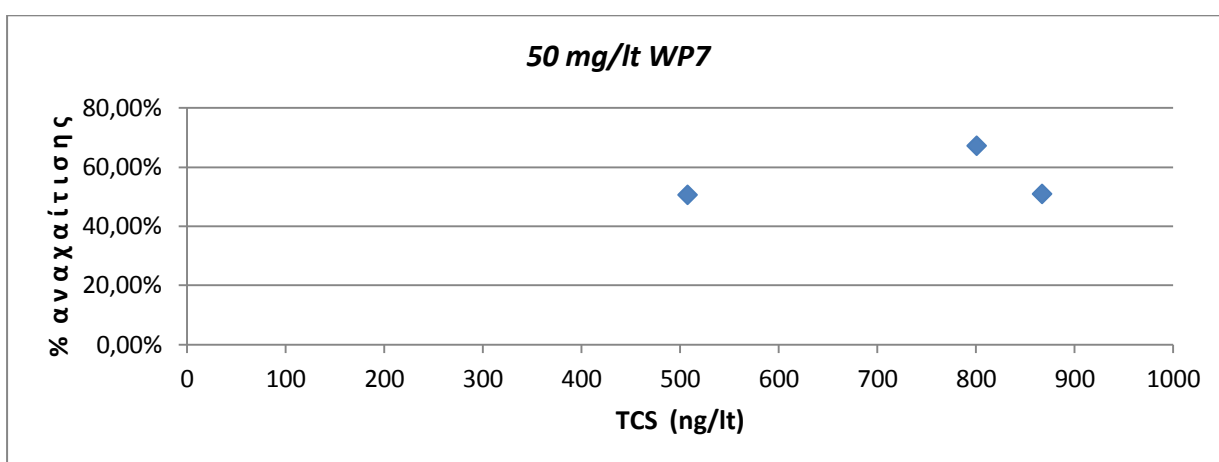
Πίνακας 4.4.2 : Απομάκρυνση της TCS με χρήση ενεργού άνθρακα

Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q_e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	36,5		
NS_PAC	0	2,4	100,00%
SP1200	957,5		
1200_15_PAC	159,6	53,2	83,33%
1000_50	866,9		
1000_50_PAC	425,3	8,8	50,94%
100_15	554,9		
100_15_PAC	394,6	10,7	28,89%
100_50	505,4		
100_50_PAC	464,0	0,8	8,20%
300_15	530,0		
300_15_PAC	323,0	13,8	39,05%
300_50	507,4		
300_50_PAC	250,6	5,1	50,62%
500_15	782,9		
500_15_PAC	332,4	30,0	57,55%
500_50	800,6		
500_50_PAC	262,4	10,8	67,23%



Διάγραμμα 4.4.4 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της TCS, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε πως το ποσοστό απομάκρυνσης εμφανίζει την υψηλότερη τιμή του (80%) για συγκέντρωση TCS περίπου 1000 ng/L. Η τιμή αυτή όμως απομάκρυνσης δεν επιτεύχθηκε για όλες τις εξεταζόμενες τιμές συγκεντρώσεων. Για τιμές συγκέντρωσης 400 ng/L παρατηρήθηκε το ελάχιστο ποσοστό απομάκρυνσης της τάξης του 35% το οποίο αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης για να φτάσει στο 80%. Συμπεραίνουμε λοιπόν πως η αρχική τιμή συγκέντρωσης επηρεάζει το ποσοστό απομάκρυνσης, δείχνοντας έτσι πως αποτελεί την κινητήρια δύναμη για να ξεπεραστεί η αντίσταση στη μεταφορά μάζας μεταξύ της διαλυτής και της στερεής φάσης.



Διάγραμμα 4.4.5 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της TCS, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Για την περίπτωση συγκέντρωσης 50 mg/L ενεργού άνθρακα, παρατηρούμε πως η σχέση εξάρτησης που διαπιστώθηκε στο προηγούμενο διάγραμμα δεν επαληθεύεται, και για συγκεντρώσεις μεταξύ 500 και 900 ng/L, η απομάκρυνση κυμαίνεται σε ένα σταθερό ποσοστό της τάξης του 60%.

Όσον αφορά την εξαγωγή της κινητικής προσρόφησης της TCS στον ενεργό άνθρακα, δεν ακολουθείται κάποια από τις εξεταζόμενες ισόθερμες Freundlich ή Langmuir, όπως αποδεικνύεται από τα υπάρχοντα δεδομένα.

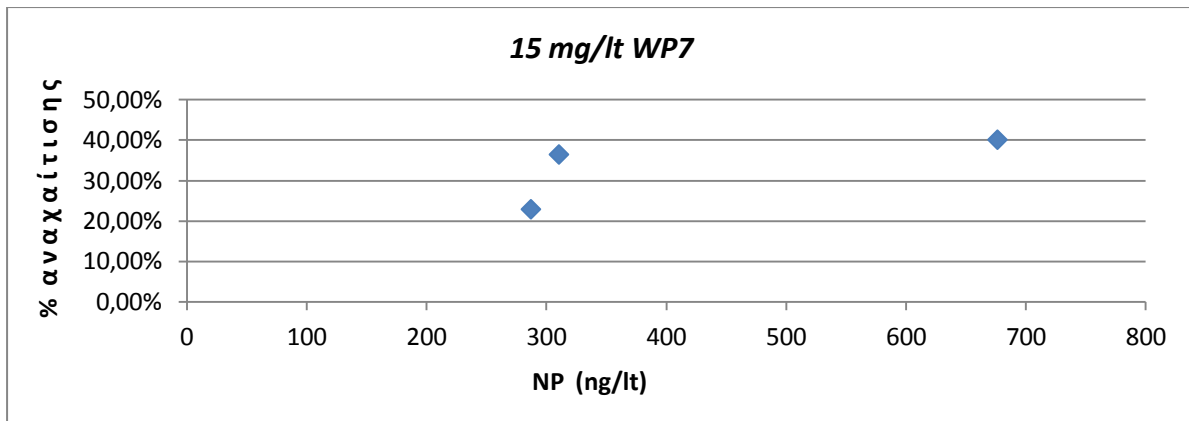
Nonylphenol

Η εννεϋλοφαινόλη αποτελεί μια από τις εκτενέστερα μελετημένες ενώσεις, λόγω του ευρέως φάσματος επιπτώσεων που προκαλεί η εμφάνισή της στο περιβάλλον. Η κρισιμότητα της παρουσίας της προκύπτει και από την πρόσφατη ΚΥΑ 145/116/ της 8-3-20011 με θέμα «Καθορισμός μέτρων, όρων και διαδικασιών για επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων και άλλες διατάξεις», σύμφωνα με την οποία για την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων αστικών λυμάτων, από εγκαταστάσεις που εξυπηρετούν ισοδύναμο πληθυσμό μεγαλύτερο από 100.000 κατοίκους, θα πρέπει η συγκέντρωση της εννεϋλοφαινόλης να είναι μικρότερη των 2 μg/L. Όπως παρατηρούμε από τον πίνακα 4.4.3, η ύπαρξή της στα εξεταζόμενα δείγματα ανερχόταν σε 1,8μg/L, τιμή συγκέντρωσης που ικανοποιεί τα υφιστάμενα όρια.

Πίνακας 4.4.3 : Απομάκρυνση της NP με χρήση ενεργού άνθρακα

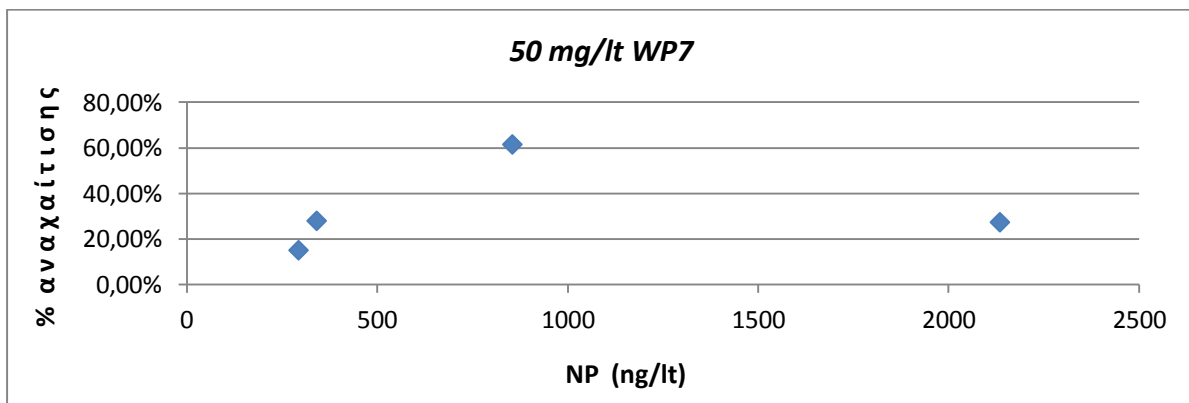
Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q _e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	1829,2		
NS_PAC	1812,4	1,1	0,92%
SP1200	2845,8		
1200_15_PAC	2706,6	9,3	4,89%
1000_50	2134,0		
1000_50_PAC	1549,2	11,7	27,40%
100_15	286,7		
100_15_PAC	221,1	4,4	22,91%
100_50	339,9		
100_50_PAC	244,7	1,9	28,02%
300_15	310,1		
300_15_PAC	197,1	7,5	36,46%
300_50	292,3		
300_50_PAC	248,1	0,9	15,12%
500_15	676,0		
500_15_PAC	404,8	18,1	40,12%
500_50	853,7		
500_50_PAC	328,4	10,5	61,53%

Στα παρακάτω διαγράμματα εμφανίζεται η απομάκρυνσή της κατά τη χρήση ενεργού άνθρακα συγκεντρώσεων 15 και 50 mg/L, καθώς και η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης.



Διάγραμμα 4.4.6 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Από το διάγραμμα 4.4.6 παρατηρούμε πως η απομάκρυνση της NP αποτέλεσε συνάρτηση της αρχικής συγκέντρωσης που προστέθηκε καθώς για τιμή συγκέντρωσης 300 ng/L το ποσοστό απομάκρυνσης προσδιορίστηκε στο 20% περίπου, ενώ για αύξησή της συγκέντρωσης στα 700 ng/L το ποσοστό ανήλθε στο 40%.



Διάγραμμα 4.4.7 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Από το διάγραμμα 4.4.7 παρατηρούμε πως η εξάρτηση της απομάκρυνσης από την αρχική συγκέντρωση δεν είναι ξεκάθαρη. Παρατηρείται μια μέγιστη τιμή απομάκρυνσης στην τιμή των 800 ng/L, τιμή στην οποία παρατηρήθηκε μέγιστη απομάκρυνση και στην περίπτωση των 15 mg/L ενεργού άνθρακα. Ωστόσο με δεδομένο πως οι τιμές συγκέντρωσής της στα λύματα κυμαίνονται στα 1800 ng/L, η τιμή απομάκρυνσής της θα πρέπει να θεωρηθεί, και για λόγους ασφάλειας, σε επίπεδα της τάξης του 30%.

Ένα άλλο στοιχείο που προκύπτει από τη σύγκριση των δυο διαγραμμάτων είναι η μη μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης κατά την αύξηση της συγκέντρωσης ενεργού άνθρακα από 15 σε 50 mg/L.

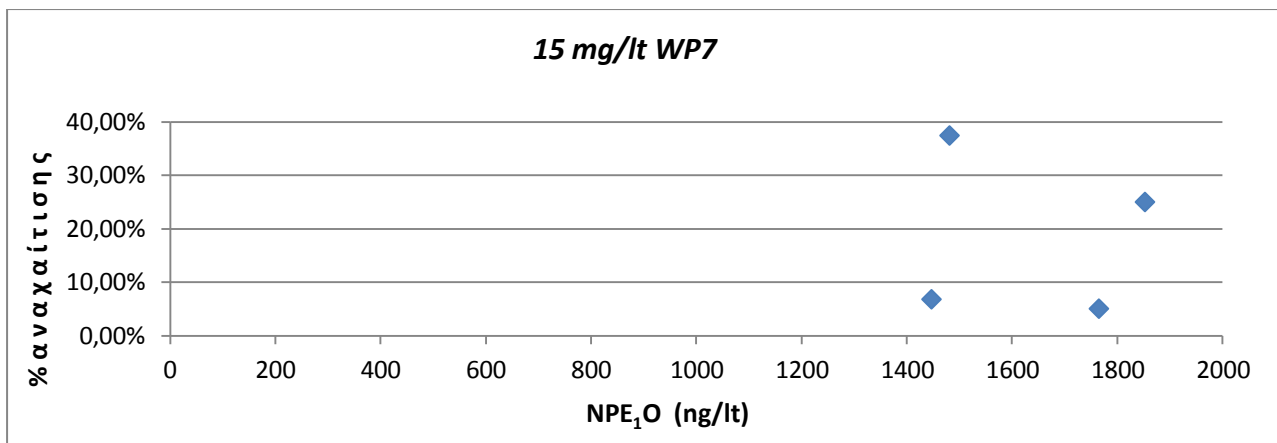
Τέλος τα αποτελέσματα που προέκυψαν για την NP φαίνεται να μην προσομοιώνουν την προσρόφησης της στον άνθρακα, ούτε με την ισόθερμη Langmuir ούτε με την Freundlich.

Nonylphenol monoethoxylate

Από τον πίνακα 4.4.4 παρατηρούμε πως το μονο-αιθοξυλιωμένο παράγωγο της NP εμφανίστηκε στα λύματα σε ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις.

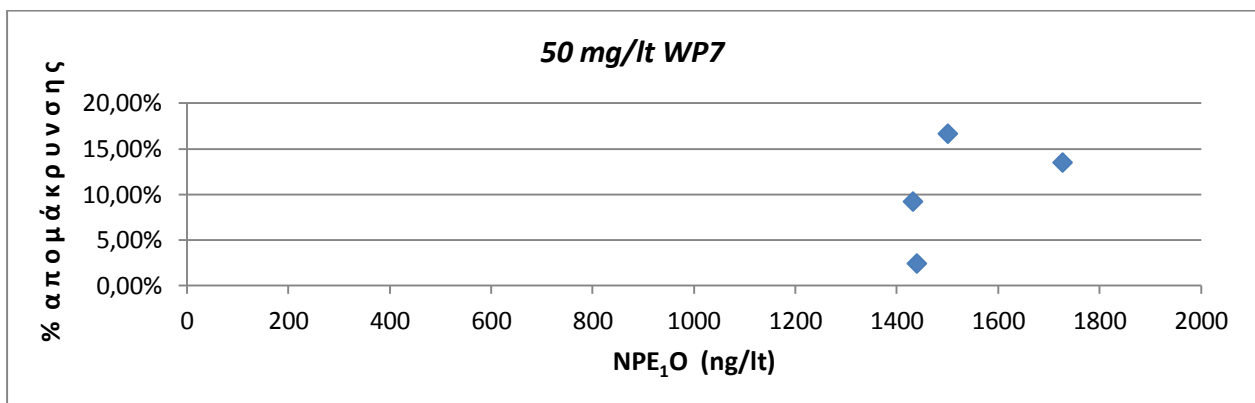
Πίνακας 4.4.4 : Απομάκρυνση της NPE₁O με χρήση ενεργού άνθρακα

Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q _e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	1480,8		
NS_PAC	925,8	37,0	37,48%
SP1200	2419,5		
1200_15_PAC	2390,4	1,9	1,20%
1000_50	1439,0		
1000_50_PAC	1404,0	0,7	2,43%
100_15	1764,7		
100_15_PAC	1675,3	5,9	5,06%
100_50	1726,4		
100_50_PAC	1493,3	4,7	13,50%
300_15	1446,6		
300_15_PAC	1347,9	6,6	6,82%
300_50	1431,4		
300_50_PAC	1299,4	2,6	9,22%
500_15	1852,3		
500_15_PAC	1388,5	30,9	25,04%
500_50	1500,1		
500_50_PAC	1250,1	5,0	16,67%



Διάγραμμα 4.4.8 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE₁O, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Από το διάγραμμα 4.4.8 συμπεραίνουμε πως η απομάκρυνση της NPE₁O με χρήση της συγκεκριμένης συγκέντρωσης δεν είναι αποτελεσματική, καθώς μια μέση τιμή απομάκρυνσης για αρχική συγκέντρωση της τάξης των 1600 ng/L κυμαίνεται στο 25%.

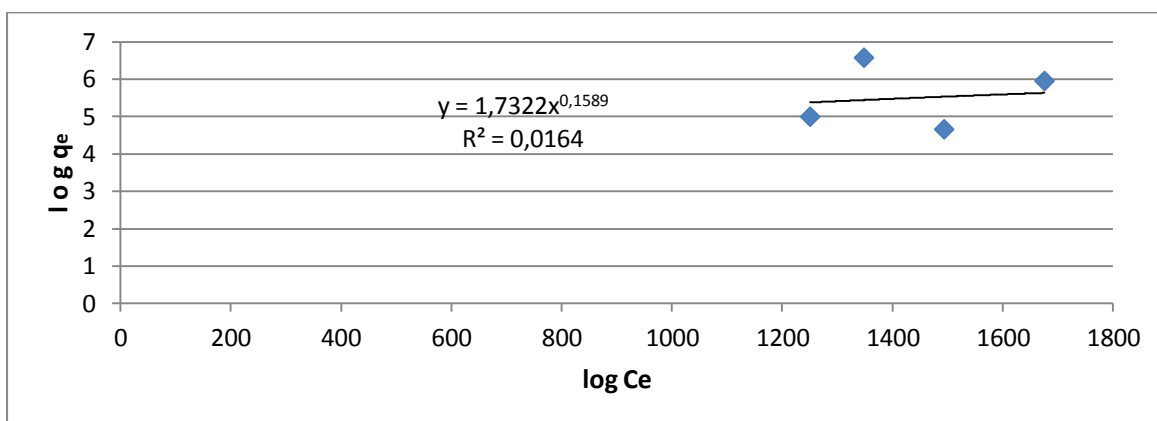


Διάγραμμα 4.4.9 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE₁O, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Όπως και στο προηγούμενο διάγραμμα έτσι και εδώ παρατηρούμε πως η απομάκρυνση της NPE₁O είναι ανεξάρτητη από την τιμή της αρχικής συγκέντρωσης και πως η αποτελεσματικότητα στην απομάκρυνση δεν μεταβλήθηκε ούτε κατά την αύξηση της συγκέντρωσης ενεργού άνθρακα.

Τέλος, από τα πειραματικά δεδομένα θα μπορούσαμε να πούμε πως κινητική ρόφησης για την NPE₁O ακολουθεί την ισόθερμη τύπου Freundlich. Οι σταθερές K και n όπως προκύπτουν από την εξίσωση είναι 1,73 και 6,29 αντίστοιχα. Επίσης από την κλίση της ως

προς τον άξονα της συγκέντρωσης δείχνει πως θεωρητικά η προσρόφηση της NPE₁O είναι μια μη αντιστρεπτή διεργασία.



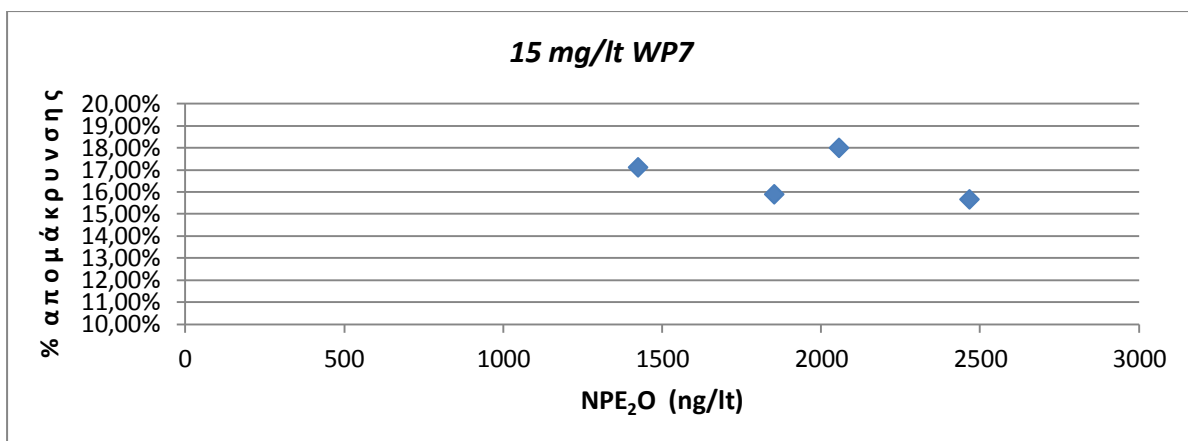
Διάγραμμα 4.4.10 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για την NPE₁O

Nonylphenol diethoxylate

Όπως και για τις περιπτώσεις της NP και της NPE₁O, έτσι και για την περίπτωση της NPE₂O, όπως φαίνεται στον πίνακα 4.4.5, η συγκέντρωση της NPE₂O στα λύματα είναι αρκετά μεγάλη.

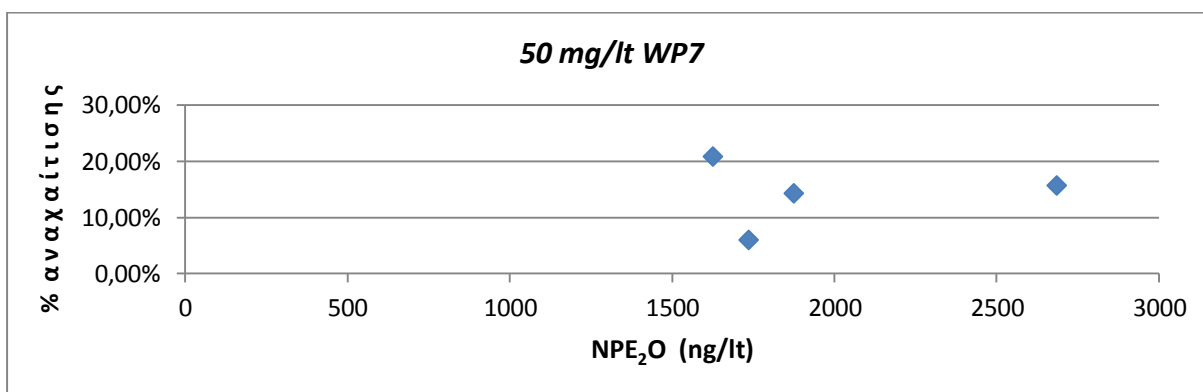
Πίνακας 4.4.5 : Απομάκρυνση της NPE₂O με χρήση ενεργού άνθρακα

Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q _e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	1423,3		
NS_PAC	1179,7	16,2	17,12%
SP1200	2465,9		
1200_15_PAC	2079,6	25,8	15,66%
1000_50	2683,9		
1000_50_PAC	2262,6	8,4	15,70%
100_15	2055,5		
100_15_PAC	1685,5	24,7	18,00%
100_50	1734,9		
100_50_PAC	1630,8	2,1	6,00%
300_15	1776,9		
300_15_PAC	1804,0	-	-
300_50	1624,6		
300_50_PAC	1285,8	6,8	20,86%
500_15	1851,7		
500_15_PAC	1557,4	19,6	15,89%
500_50	1873,9		
500_50_PAC	1605,9	5,4	14,30%



Διάγραμμα 4.4.11 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE_2O , ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

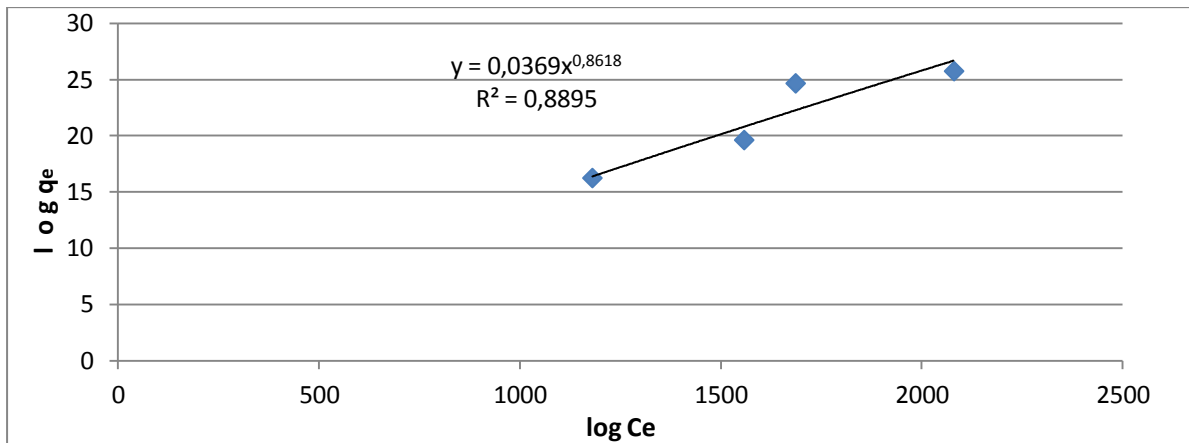
Από τα διάγραμμα 4.4.11 συμπεραίνουμε πως η απομάκρυνση της NPE_2O είναι ιδιαίτερα χαμηλή της τάξης του 16%, σε εύρος συγκεντρώσεων 1500 ως 2500 ng/L, και επίσης πως η αρχική συγκέντρωση της NPE_2O δεν επηρεάζει καθόλου την απομάκρυνσή της.



Διάγραμμα 4.4.12 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης της NPE_2O , ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής της, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Παρόμοια συμπεράσματα με αυτά του διαγράμματος 4.4.11, προκύπτουν και από το διάγραμμα 4.4.12 επιβεβαιώνοντας πως η χρήση ενεργού άνθρακα είναι μια μη αποτελεσματική μέθοδος για την απομάκρυνση της NPE_2O , αφού παρά την αύξηση της συγκέντρωσης του άνθρακα η ποσοστιαία απομάκρυνση παρέμεινε στα ίδια επίπεδα και ανεξάρτητη από την τιμή συγκέντρωσης της ένωσης.

Τέλος, χρησιμοποιώντας τα υπάρχοντα αποτελέσματα η κινητική προσρόφησής της φαίνεται να ακολουθεί την ισόθερμη κατά Freundlich. Οι τιμές των σταθερών K και n όπως προκύπτουν από το επόμενο διάγραμμα ισούνται με 0,037 και 1,16 αντίστοιχα.



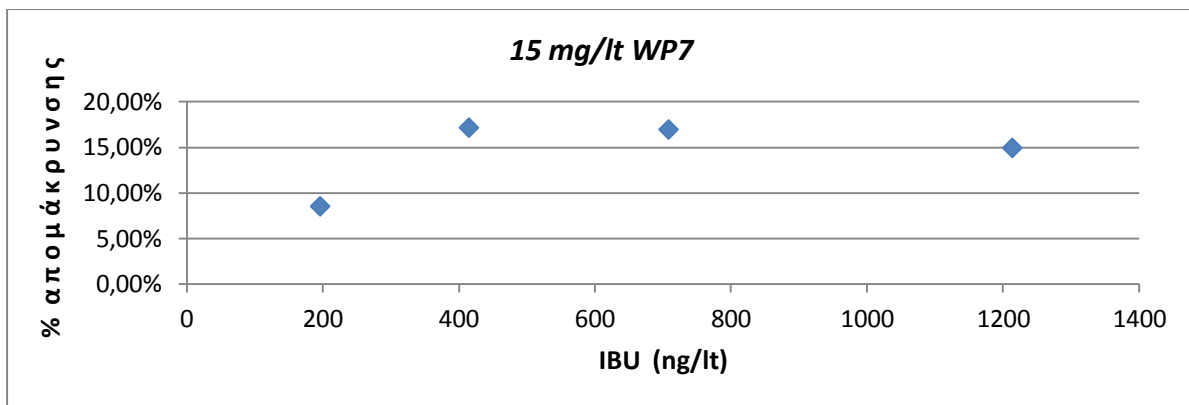
Διάγραμμα 4.4.12 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για την NPE₂O

Ibuprofen

Αρχίζοντας από το IBU, στη συνέχεια θα μελετηθούν οι τέσσερις εναπομείναντες φαρμακευτικές ουσίες. Όπως φαίνεται από τον πίνακα 4.4.6, τα επίπεδα συγκέντρωσης του IBU στα προς εξέταση δείγματα βρισκόταν κάτω από το όριο ανίχνευσης του οργάνου GC-MS.

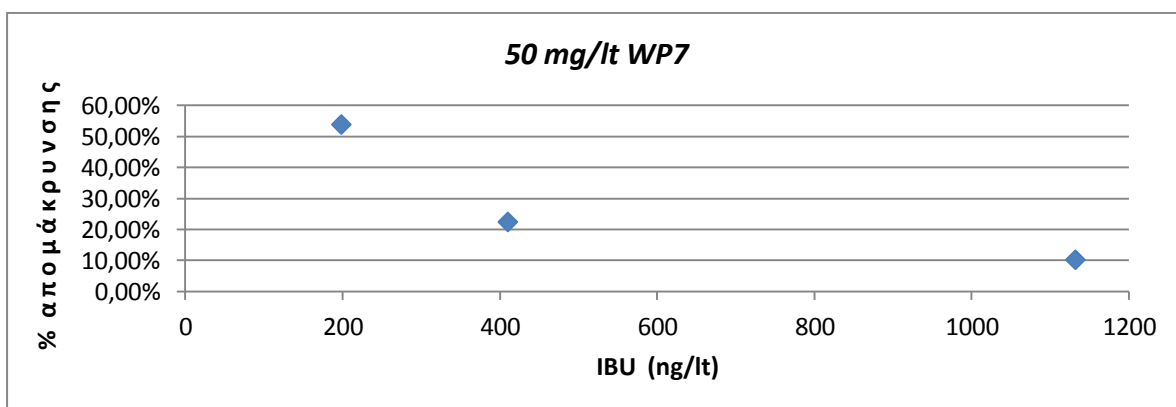
Πίνακας 4.4.6 : Απομάκρυνση του IBU με χρήση ενεργού άνθρακα

Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q _e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	n.d.		
NS_PAC	n.d.	0	0,00%
SP1200	1213,3		
1200_15_PAC	1032,0	12,1	14,94%
1000_50	1131,5		
1000_50_PAC	1015,2	2,3	10,27%
100_15	195,4		
100_15_PAC	178,7	1,1	8,54%
100_50	198,1		
100_50_PAC	91,3	2,1	53,89%
300_15	414,2		
300_15_PAC	343,1	4,7	17,16%
300_50	409,8		
300_50_PAC	317,7	1,8	22,48%
500_15	707,7		
500_15_PAC	587,7	8,0	16,96%
500_50	1234,4		
500_50_PAC	403,7	16,6	67,30%



Διάγραμμα 4.4.13 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του IBU, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

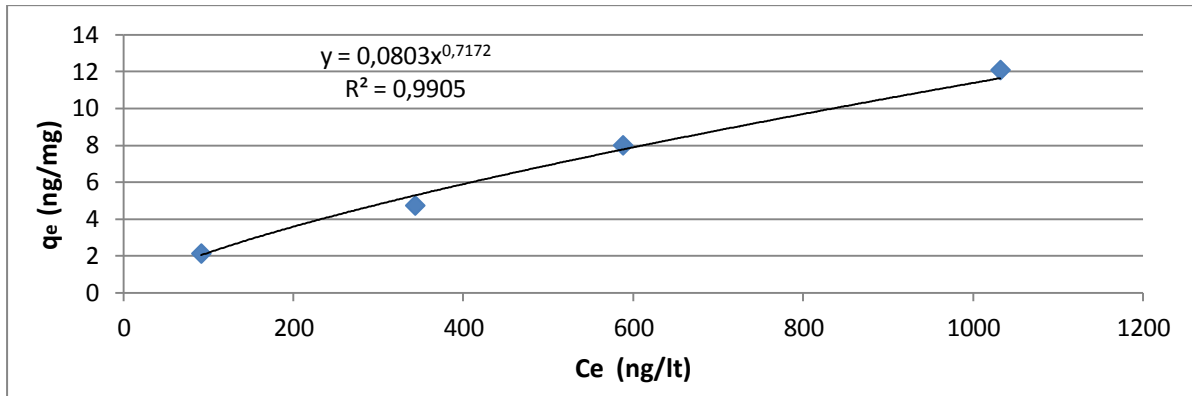
Από το διάγραμμα 4.4.13 παρατηρούμε πως η απομάκρυνση του IBU, για συγκεντρώσεις 200 ως 1200 ng/L, κυμάνθηκε σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα (15%) και ήταν ανεξάρτητη της τιμής αρχικής συγκέντρωσης.



Διάγραμμα 4.4.14 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του IBU, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα του διαγράμματος 4.4.14 από τα οποία προκύπτει πως αύξηση της συγκέντρωσης του ενεργού επέφερε αύξηση της απομάκρυνσης ακόμα και στο 55% για χαμηλές τιμές συγκέντρωσης IBU, ωστόσο αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης οδήγησε σε μεγάλη μείωση φτάνοντας στα επίπεδα που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο διάγραμμα, 20% απομάκρυνση για συγκέντρωση 400 ng/L.

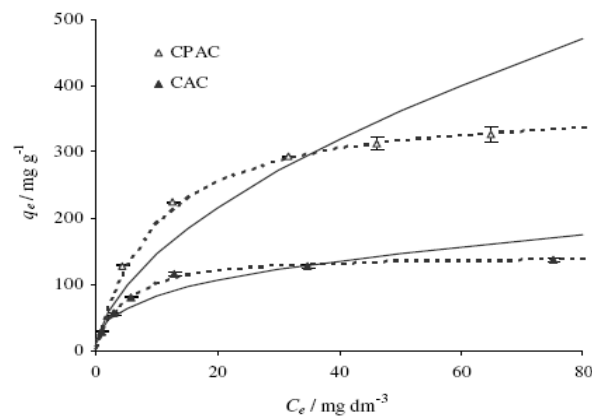
Όσον αφορά την εύρεση της κινητικής που ακολουθεί η προσρόφηση του IBU, όπως θα παρατηρήσουμε και στη συνέχεια, το σύνολο των φαρμακευτικών, συνεπώς και το IBU, προσροφούνται με κινητική η οποία περιγράφεται όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα από την εξίσωση Freundlich.



Διάγραμμα 4.4.15 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το IBU

Οι τιμές των σταθερών K και n όπως προέκυψαν από την εξίσωση του διαγράμματος είναι 0,08 και 1,39 αντίστοιχα.

Επίσης οι Mestre *et al* (2007), σε πειράματά τους προσδιόρισαν τις ισόθερμες ρόφησης όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα στους 30°C χρησιμοποιώντας συγκέντρωση άνθρακα 10mg/15cm³ και αρχικές συγκεντρώσεις IBU 20, 40 και 60 mg/L.



Διάγραμμα 4.4.15 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το IBU (Mestre *et al*, 2007)

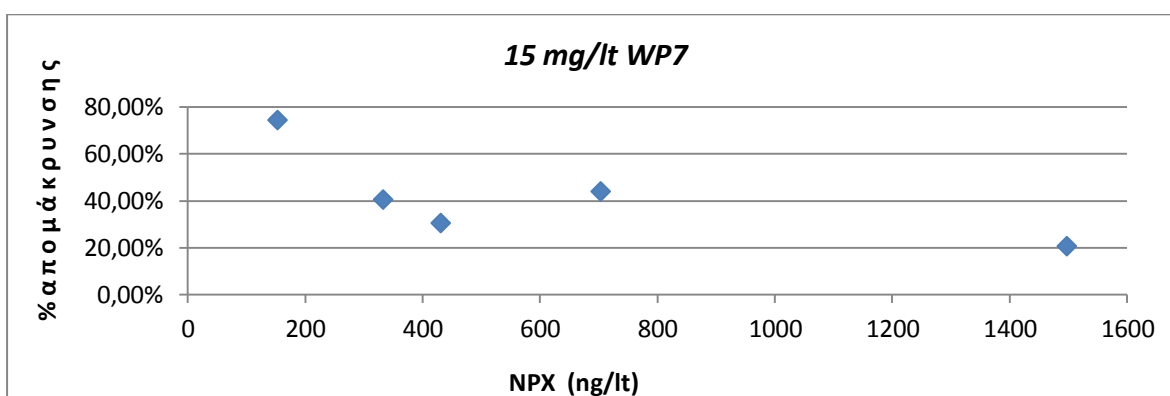
Οι τιμές K και 1/n που προέκυψαν ήταν 36,6 και 0,356 για την περίπτωση του CAC, 40,5 και 0,56 για το CPAC αντίστοιχα. Οι μονάδες του K σε mg^{1-1/n} · L^{1/n}/g.

Naproxen

Από τον πίνακα 4.4.7 φαίνεται πως η παρουσία του NPX στα τριτοβάθμια λύματα ήταν σχετικά μικρή, περίπου 150 με 200 ng/L.

Πίνακας 4.4.7 : Απομάκρυνση του NPX με χρήση ενεργού άνθρακα

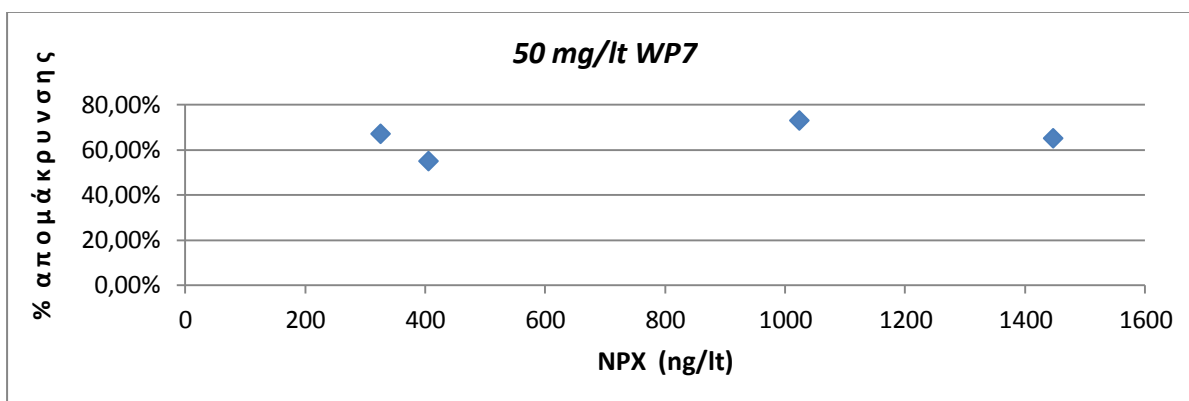
Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	q _e (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	152,1		
NS_PAC	38,9	7,5	74,43%
SP1200	1496,9		
1200_15_PAC	1188,9	20,5	20,58%
1000_50	1446,4		
1000_50_PAC	504,9	18,8	65,09%
100_15	331,9		
100_15_PAC	197,6	8,9	40,50%
100_50	325,1		
100_50_PAC	107,1	4,4	67,06%
300_15	430,2		
300_15_PAC	299,1	8,8	30,47%
300_50	404,9		
300_50_PAC	182,4	4,5	54,95%
500_15	702,7		
500_15_PAC	393,8	20,6	43,97%
500_50	1023,2		
500_50_PAC	276,6	14,9	72,97%



Διάγραμμα 4.4.16 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του NPX, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

Από το διάγραμμα 4.4.16 συμπεραίνουμε πως η απομάκρυνση του NPX, χρησιμοποιώντας ενεργό άνθρακα WPM7 συγκέντρωσης 15 mg/L εμφάνισε ιδιαίτερη εξάρτηση από την τιμή της αρχικής συγκέντρωσης. Συγκεκριμένα το ποσοστό απομάκρυνσης άγγιξε και το

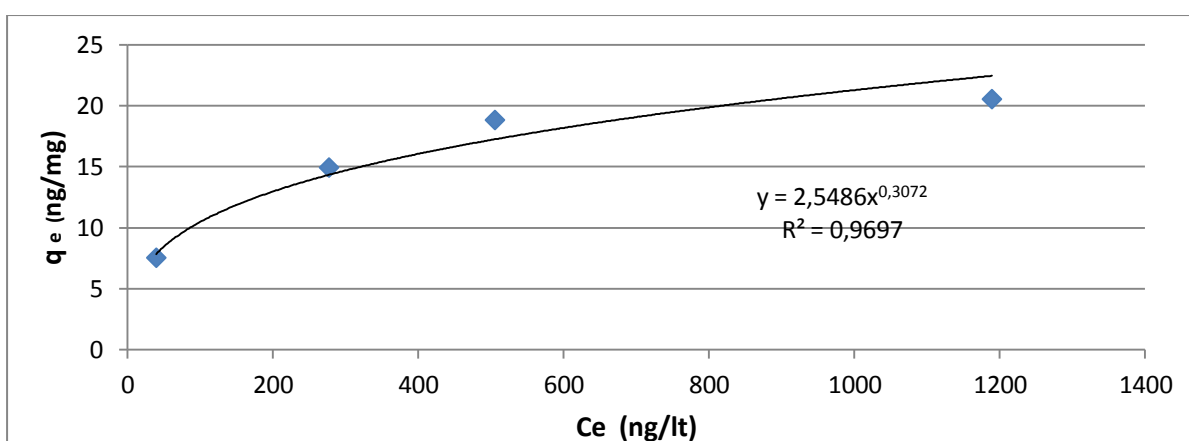
80% για τιμή συγκέντρωσης 200 ng/L, για να μειωθεί στο 40% κατά το διπλασιασμό της συγκέντρωσης και να φτάσει τελικά σε ποσοστό 20% για συγκέντρωση 1500 ng/L.



Διάγραμμα 4.4.17 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του NPX, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του άνθρακα σε 50 mg/L, όπως φαίνεται και από το διάγραμμα 4.4.17 η εξάρτηση απομάκρυνσης/ αρχικής συγκέντρωσης έπαψε να ισχύει, με τα ποσοστά απομάκρυνσης ωστόσο, να διατηρούνται σε υψηλά επίπεδα (65%).

Επίσης όπως και στην περίπτωση του IBU έτσι και για το NPX, από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε πως η εξίσωση Freundlich είναι αυτή που παριστάνει καλύτερα την κινητική ρόφησης όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα.

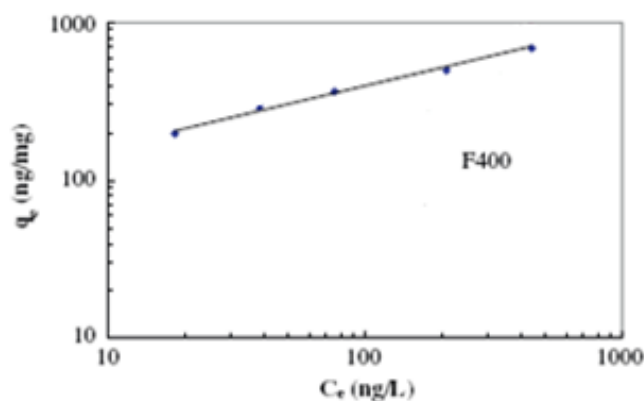


Διάγραμμα 4.4.18 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το NPX.

Οι σταθερές της εξίσωσης K και n όπως προσδιορίστηκαν από την εξίσωση του διαγράμματος 4.4.18 είναι 2,55 και 3,26 αντίστοιχα.

Οι Yu *et al* (2008), μελέτησαν την προσρόφηση του naproxen σε ενεργό άνθρακα που είχε ως βασικό του υλικό το λιθάνθρακα (F400). Η συγκέντρωση του naproxen που προστέθηκε

ήταν 1000 ng/L σε διάλυμα υπερκάθαρου νερού. Τα δείγματα αφέθηκαν για διάστημα 12 ωρών ώστε να επέλθει ισορροπία σε θερμοκρασία 23°C. Στο παρακάτω διάγραμμα εμφανίζεται η ισόθερμη κατά Freundlich οι σταθερές της οποίας υπολογίστηκαν σε $K=73,15$ (ng/mg)(L/ng)^{0,37} και $1/n=0,37$.



Διάγραμμα 4.4.19 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το NPX (Yu et al, 2008)

Παρατηρούμε πως η σταθερά K ήταν πολύ μικρότερη στο πείραμά μας γεγονός που μπορεί να οφείλεται τόσο στο διαφορετικό είδος άνθρακα που χρησιμοποιήθηκε αλλά κυρίως στο διαφορετικό διαλύτη, τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα αντί υπερκάθαρου νερού.

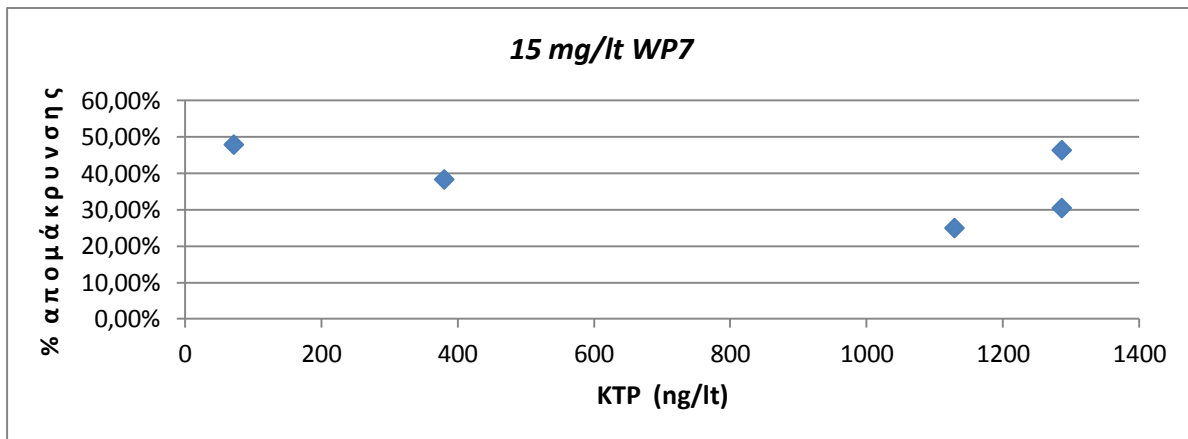
Ketoprofen

Από τα αποτελέσματα του GC-MS για το KTP, όπως φαίνεται και στον πίνακα 4.4.8, οι συγκεντρώσεις που ανιχνεύθηκαν στα τριτοβάθμια λύματα ,ήταν παρόμοιες με αυτές του NPX, περίπου δηλαδή 100 ng/L.

Πίνακας 4.4.8 : Απομάκρυνση του KTP με χρήση ενεργού άνθρακα

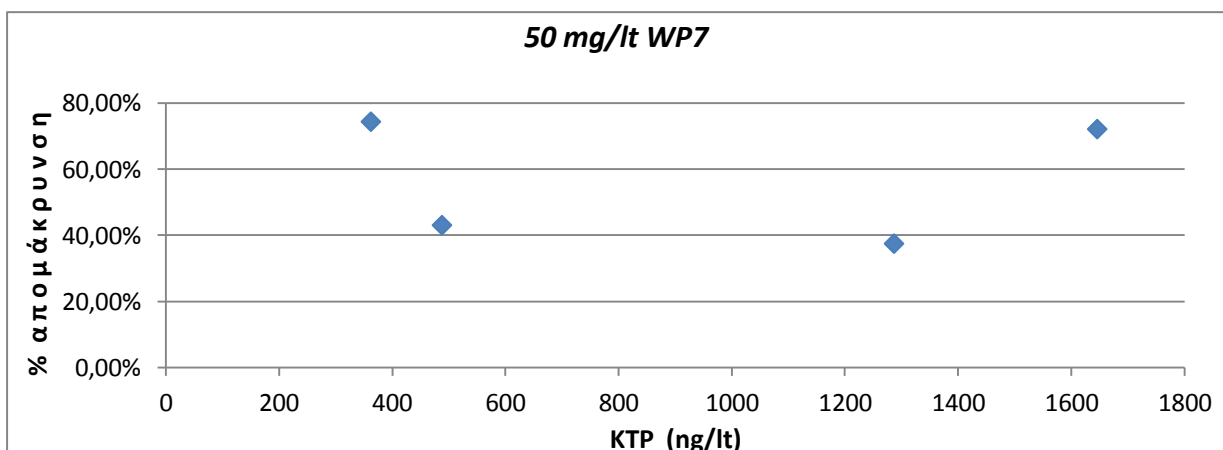
Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	qe (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	70,8		
NS_PAC	36,9	2,3	47,93%
SP1200	1128,7		
1200_15_PAC	846,3	18,8	25,02%
1000_50	1286,2		
1000_50_PAC	803,1	9,7	37,56%
100_15	379,7		
100_15_PAC	203,5	11,7	46,41%
100_50	361,5		
100_50_PAC	92,5	5,4	74,41%

300_15	539,1		
300_15_PAC	374,6	10,9	30,51%
300_50	487,2		
300_50_PAC	277,0	4,2	43,14%
500_15	1027,3		
500_15_PAC	633,2	26,3	38,36%
500_50	1645,4		
500_50_PAC	457,9	23,8	72,17%



Διάγραμμα 4.4.20 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του KTP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

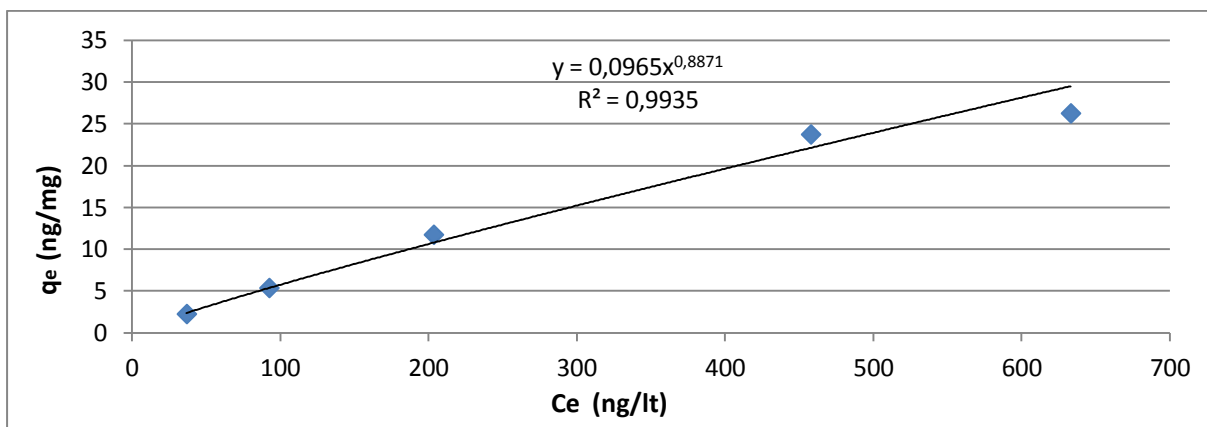
Παρατηρώντας τα δεδομένα του διαγράμματος 4.4.20, μπορούμε να συμπεράνουμε πως η απομάκρυνση του KTP είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσής του με τη μέση τιμή της να προσδιορίζεται στο 40% περίπου.



Διάγραμμα 4.4.21 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του KTP, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του ενεργού άνθρακα με τη μόνη διαφορά την αύξηση του μέσου ποσοστού απομάκρυνσης κατά 20% περίπου.

Η κινητική προσρόφησης του KTP ακολουθεί και αυτή την ισόθερμη Freundlich με την εξίσωση που φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα. Με βάση την εξίσωση αυτή, οι σταθερές K και n είναι ίσες με 0,0965 και 1,13.



Διάγραμμα 4.4.22 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το KTP.

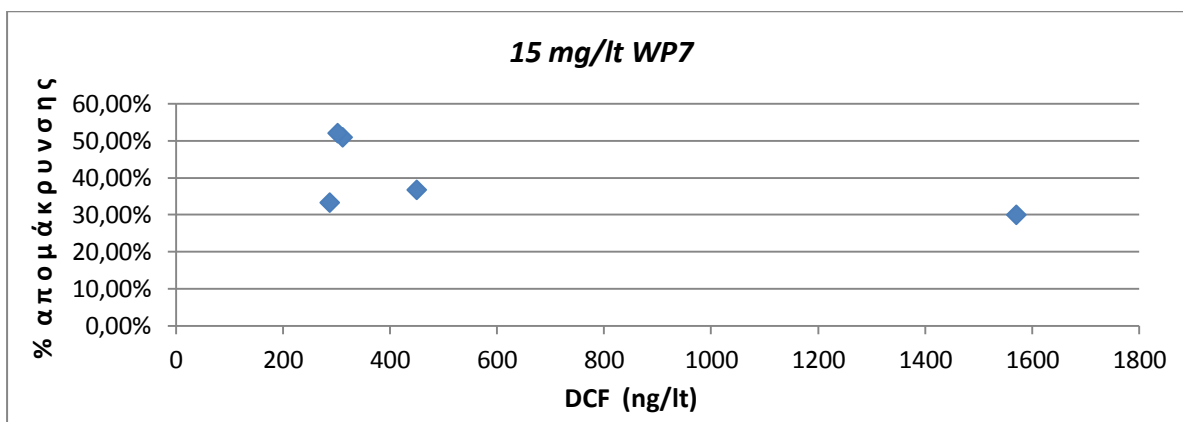
Diclofenac

Τέλος, το DCF ήταν εκείνη η φαρμακευτική ουσία η οποία ανιχνεύθηκε με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στα τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα (300 ng/L).

Πίνακας 4.4.9 : Απομάκρυνση του DCF με χρήση ενεργού άνθρακα

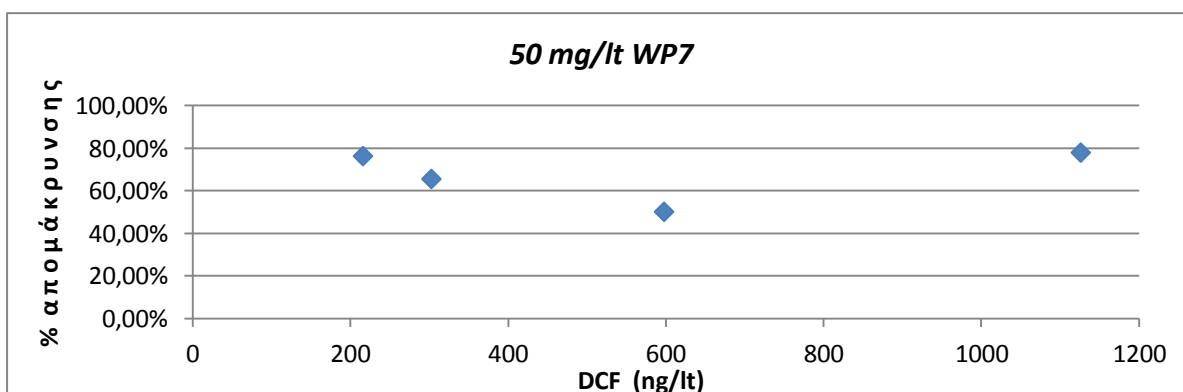
Δείγμα	Συγκέντρωση (ng/L)	qe (ng/mg)	% απομάκρυνσης
NS	310,6		
NS_PAC	152,3	10,6	50,98%
SP1200	1570,1		
1200_15_PAC	1099,0	31,4	30,00%
1000_50	1125,8		
1000_50_PAC	247,4	17,6	78,02%
100_15	286,4		
100_15_PAC	191,0	6,4	33,31%
100_50	215,3		
100_50_PAC	50,9	3,3	76,38%
300_15	301,2		
300_15_PAC	144,2	10,5	52,10%
300_50	302,1		
300_50_PAC	103,8	3,9	65,63%
500_15	449,1		

500_15_PAC	284,0	11,0	36,76%
500_50	597,2		
500_50_PAC	297,4	6,0	50,20%



Διάγραμμα 4.4.23 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του DCF, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 15 mg/L

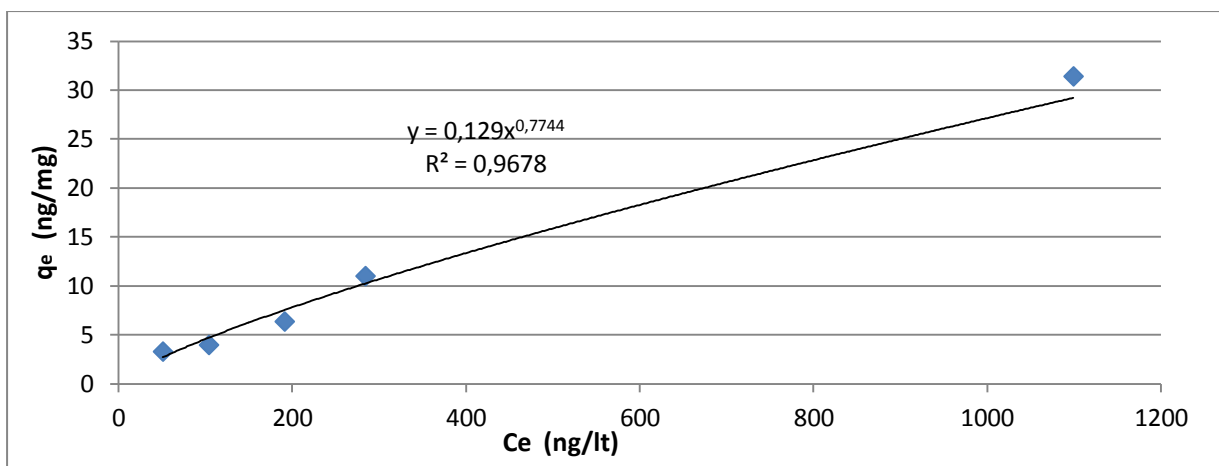
Κλείνοντας, όπως φαίνεται από το διάγραμμα 4.4.23, για την τελευταία από τις εξεταζόμενες ουσίες, η παράμετρος της τιμής της αρχικής συγκέντρωσης δεν επηρέασε το βαθμό απομάκρυνσής της, για τη συγκεκριμένη συγκέντρωση ενεργού άνθρακα. Το ποσοστό απομάκρυνσης κυμάνθηκε περίπου στο 40% της αρχικής ποσότητας.



Διάγραμμα 4.4.24 : Μεταβολή του ποσοστού απομάκρυνσης του DCF, ως προς την αρχική τιμή συγκέντρωσής του, για συγκέντρωση ενεργού άνθρακα 50 mg/L

Ανάλογα αποτελέσματα προκύπτουν και από το παραπάνω διάγραμμα με τη μόνη διαφορά που παρατηρείται να έγκειται στον αυξημένο βαθμό απομάκρυνσης (70%), που επιτεύχθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης ενεργού άνθρακα.

Τέλος, για την περίπτωση του diclofenac η ισόθερμη κατά Freundlich είναι αυτή που αναπαριστά καλύτερα την κινητική προσρόφησης του με τις σταθερές K και n για την περίπτωση αυτή είναι 0,13 και 1,29 αντίστοιχα.



Διάγραμμα 4.4.25 : Ισόθερμη ρόφησης κατά Freundlich για το DCF.

Σύμφωνα τώρα με βιβλιογραφικά δεδομένα οι Snyder *et al* (2006), πραγματοποίησαν πειράματα στα οποία χρησιμοποίησαν άνθρακα WPM συγκέντρωσης 5 mg/L, σε διάλυμα νερού βρύσης στο οποίο προστέθηκαν μερικές από τις εξεταζόμενες ουσίες σε συγκέντρωση 100 ng/L. Ο χρόνος επαφής στο διάλυμα ήταν 4 ώρες υπό ανάδευση ενώ ακολούθησε και μια ώρα καθίζηση. Τα αποτελέσματα απομάκρυνσης των ουσιών εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα ως ποσοστά απομάκρυνσης επί της αρχικής συγκέντρωσης.

Πίνακας 4.4.10 : Απομάκρυνση ουσιών συγκέντρωσης 100ng/L με χρήση άνθρακα WP7 5mg/L (Snyder *et al*, 2006)

Ουσία	TCS	NP	IBU	NPX	DCF
Απομάκρυνση (%)	89	52	16	50	40

Τα αποτελέσματα του πίνακα 4.4.10 θα μπορούσαν να συγκριθούν με τα αντίστοιχα του πειράματός μας στις περιπτώσεις όπου προστέθηκαν 1000 ng/L της κάθε ένωσης και 50 mg/L ενεργού άνθρακα. Η ποσοστιαίες απομακρύνσεις στην περίπτωση αυτή για τις TCS, NP, IBU, NPX και DCF είναι 60%, 30%, 10%, 65% και 70% αντίστοιχα.

Επίσης, γνωρίζοντας από τη βιβλιογραφία τις σταθερές K_{ow} αλλά και τα ποσοστά απομάκρυνσης που επιτυγχάνονται για κάθε ένωση θα μπορούσαμε να παρατηρήσουμε τη μεταξύ τους σχέση. Όπως είναι γνωστό η σταθερά Freundlich εκφράζει την ικανότητα προσρόφησης του προσροφητικού μέσου, ενώ η K_{ow} την υδροφοβικότητα της ουσίας. Μεγαλύτερη τιμή K_{ow} σημαίνει μεγαλύτερη υδροφοβικότητα της ουσίας, συνεπώς μεγαλύτερη K_F , άρα μεγαλύτερη απομάκρυνση. Στον πίνακα 4.4.11 παρατίθενται τα

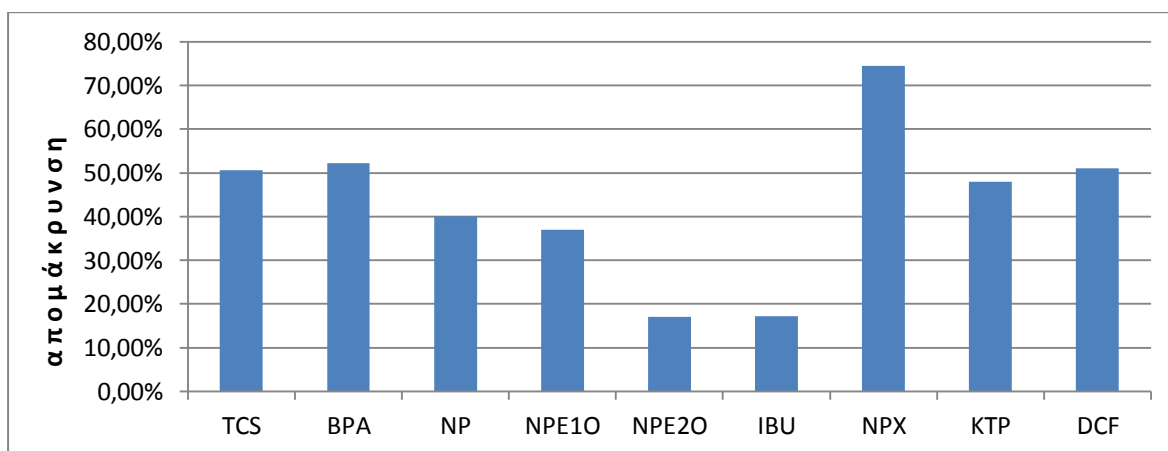
αποτελέσματα για συγκέντρωση άνθρακα 15 mg/L και συγκεντρώσεις των εξεταζόμενων ενώσεων, όπως ανιχνεύθηκαν στο τριτοβάθμια λύματα.

Πίνακας 4.4.11 : Σύγκριση τιμών απομάκρυνσης και σταθερών οκτανόλης-νερού για τις εξεταζόμενες ουσίες

Ένωση	BPA	TCS	NP	NPE ₁ O	NPE ₂ O	IBU	NPX	KTP	DCF
logK _{ow}	3,4	4,8	4,48	4,17	4,21	3,72	3,22	4,45	4,02
% απομάκρυνσης	52	30	40	37	17	15	74	48	51

Με βάση τα αποτελέσματα του πίνακα, θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε πως η επίδραση του συντελεστή οκτανόλης νερού δεν μπορεί να αποτελεί το βασικό κριτήριο στην προσρόφηση των ενώσεων αυτών, καθώς περιπτώσεις ενώσεων με μικρότερο συντελεστή K_{ow} εμφάνισαν μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης και αντίστροφα.

Συνοψίζοντας από το παρακάτω διάγραμμα θα μπορούσαμε να λάβουμε μια καλύτερη εικόνα της απομάκρυνσης που επιτυγχάνεται στις εξεταζόμενες ουσίες, για τιμές συγκεντρώσεων που ανιχνεύονται στα τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ.



Διάγραμμα 4.4.26 : Απομάκρυνση των εξεταζόμενων ενώσεων από τριτοβάθμια λύματα της ΚΕΛΨ

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε πως με εξαίρεση την περίπτωση του NPX, τα ποσοστά απομάκρυνσης που επιτεύχθηκαν με τη μέθοδο αυτή δεν ήταν ιδιαίτερα σημαντικά δείχνοντας έτσι πως η αποτελεσματικότητα της μεθόδου στην περίπτωση αυτή δεν είναι αρκετά ικανοποιητική.

4.5. Προσδιορισμός τοξικότητας με μέτρηση του ρυθμού αποξυγόνωσης

Στα πλαίσια της διερεύνησης της τοξικότητας τεσσάρων εκ των εξεταζόμενων ενώσεων στα ετεροτροφικά βακτήρια συστήματος ενεργού ιλύος, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της μέτρησης της ταχύτητας αποξυγόνωσης (OUR). Για κάθε σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν δυο επαναλήψεις ενώ μετρούνταν η θερμοκρασία, το pH, τα ολικά και οργανικά αιωρούμενα στερεά. Να επισημάνουμε πως σε όλα τα διαλύματα των εξεταζόμενων ουσιών περιεχόταν μεθανόλη 0,01% v/v.

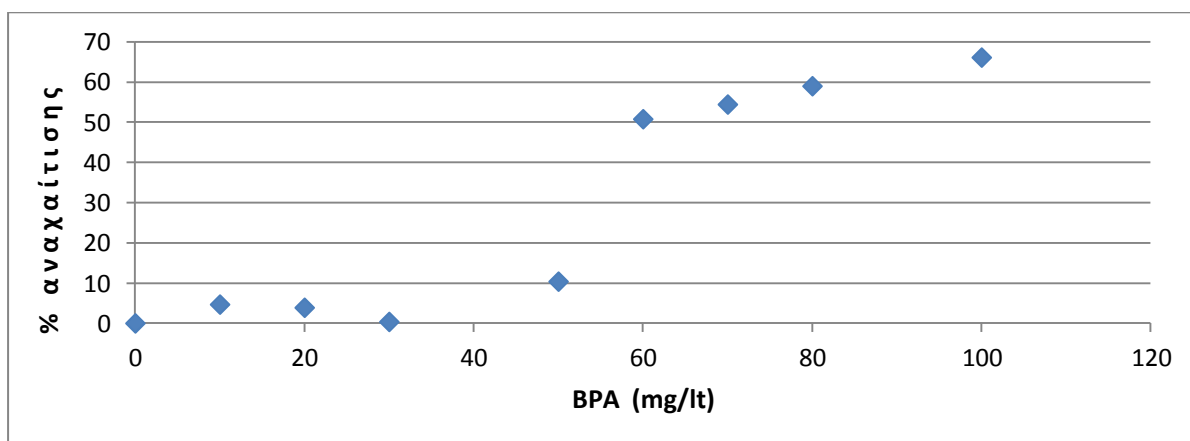
4.5.1. Προσδιορισμός τοξικότητας της bisphenol A

Σε δείγματα ανάμικτου υγρού όγκου 400 ml προστέθηκε όγκος διαλύματος BPA, από διάλυμα αρχικής συγκέντρωσης 1000 mg/L, ώστε οι τελικές συγκεντρώσεις στα δείγματα να κυμαίνονται από 10 – 100 mg/L. Επίσης χρησιμοποιήθηκε ένα δείγμα με μηδενική συγκέντρωση BPA (control δείγμα). Η θερμοκρασία των δειγμάτων ήταν $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ και το pH $7,8\pm 0,2$. Στον παρακάτω πίνακα εμφανίζονται οι ρυθμοί κατανάλωσης οξυγόνου για κάθε τιμή συγκέντρωσης καθώς και η συγκέντρωση στερεών.

Πίνακας 4.5.1 : Μεταβολή του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση της BPA

Συγκέντρωση (mg/L)	control	10	20	30	50	60	70	80	100
Ρυθμός (mg O ₂ /gr VSS/h)	14,6	13,9	14,1	14,6	13,1	7,2	6,7	6,0	5,0
MLVSS (mg/L)	2240	2040	2100	2100	2060	1900	2160	2100	1960

Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται το ποσοστό αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης συναρτήσει της συγκέντρωσης της BPA.



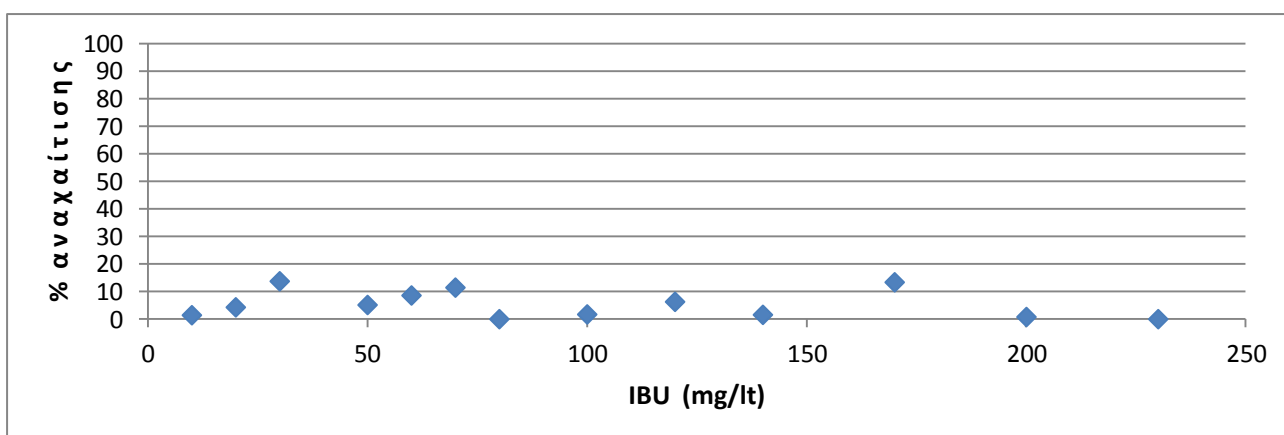
Διάγραμμα 4.5.1 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση της BPA

Από το διάγραμμα 4.4.1 παρατηρούμε πως συγκέντρωση BPA μέχρι και 50 mg/L δεν προκάλεσε αναχαίτιση του ρυθμού αποξυγόνωσης. Ωστόσο για τιμές από 60 ως 100 mg/L παρατηρήθηκε μια γραμμική αύξηση του ποσοστού αναχαίτισης από 50 ως 66% περίπου. Πιο συγκεκριμένα η τιμή συγκέντρωσης στην οποία παρατηρήθηκε αναχαίτιση του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου κατά 50% (EC₅₀) ανέρχεται στα 58 mg/L.

Επίσης πραγματοποιήθηκε πείραμα το οποίο είχε ως σκοπό την εξέταση του ενδεχομένου εμφάνισης τοξικότητας με αύξηση του χρόνου επαφής της BPA με τη βιομάζα. Για το λόγο αυτό προστέθηκε BPA συγκέντρωσης 50 mg/L και αφέθηκε σε επαφή με το δείγμα για διάρκεια 24 ωρών στις ίδιες συνθήκες αερισμού και τροφοδοσίας με τα προηγούμενα πειράματα. Το αποτέλεσμα ήταν η μη εμφάνιση ουσιαστικής αναχαίτισης (10%) όπως και στην προηγούμενη περίπτωση μετρήσεων, αποδεικνύοντας έτσι πως ο χρόνος επαφής δεν ασκεί επίδραση στους ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς.

4.5.2. Προσδιορισμός τοξικότητας του ibuprofen

Για τη διαπίστωση πιθανής τοξικής επίδρασης του IBU στην ετεροτροφική βιομάζα προστέθηκαν συγκεντρώσεις από 0 έως 230 mg/L. Για κάθε τιμή συγκέντρωσης πραγματοποιήθηκαν δυο επαναλήψεις. Το pH και η θερμοκρασία κυμαινόταν σε τιμές $7,5 \pm 0,2$ και $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως οι εξεταζόμενες συγκεντρώσεις, δεν επηρέασαν το ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου των ετεροτροφικών βακτηρίων. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο παρακάτω διάγραμμα. Για κάθε τιμή συγκέντρωσης εμφανίζεται ο μέσος όρος των ρυθμών των δυο επαναλήψεων.

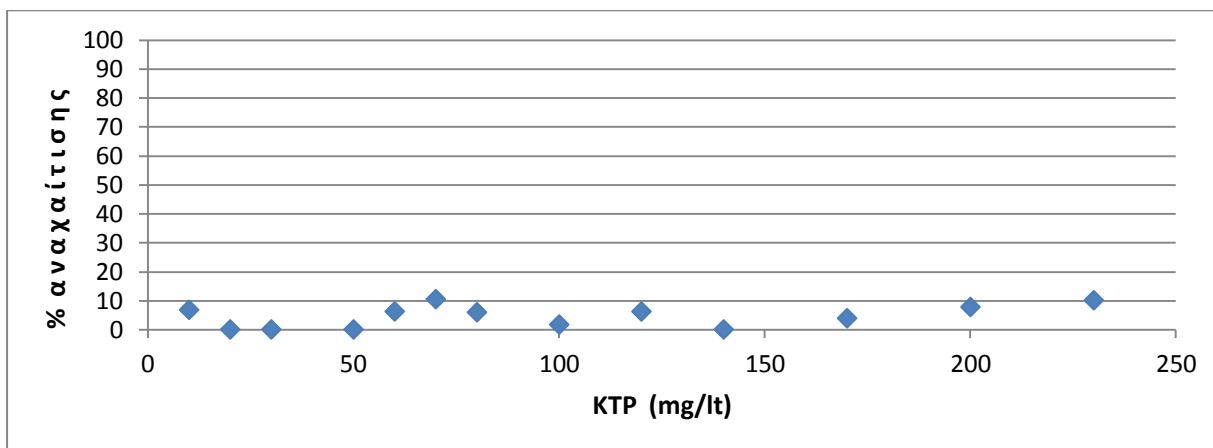


Διάγραμμα 4.5.2 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση του IBU

Με βάση τη βιβλιογραφία, οι Kumagai *et al* (2006), μελέτησαν την επίδραση του IBU στο ρυθμό αποξυγόνωσης στην ετεροτροφική βιομάζα συστήματος ενεργού ιλύος, χρησιμοποιώντας πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας, με συγκέντρωση MLSS =2200 mg/L. Αυξάνοντας την αρχική προστιθέμενη συγκέντρωση IBU προσδιορίστηκε εκείνη η τιμή συγκέντρωσης στην οποία παρατηρήθηκε 50% αναχαίτιση του OUR και η οποία ήταν 172 mg/L. Επίσης, υπολογίστηκαν οι τιμές συγκεντρώσεων στις οποίες παρατηρήθηκε 30% και 66% αναχαίτιση του OUR, οι οποίες ήταν 140 και 210 mg/L αντίστοιχα.

4.5.3. Προσδιορισμός τοξικότητας του KTP

Όπως και στην περίπτωση του IBU, έτσι και στο παρόν πείραμα προστέθηκαν συγκεντρώσεις KTP από 0 έως 230 mg/L. Για κάθε συγκέντρωση πραγματοποιήθηκαν δυο επαναλήψεις. Το pH και η θερμοκρασία κυμαινόταν σε τιμές $7,7\pm 0,2$ και $20,8\pm 1^{\circ}\text{C}$ αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως οι εξεταζόμενες συγκεντρώσεις δεν επηρέασαν το ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου των ετεροτροφικών βακτηρίων. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο παρακάτω διάγραμμα. Για κάθε τιμή συγκέντρωσης εμφανίζεται ο μέσος όρος των ρυθμών των δυο επαναλήψεων.

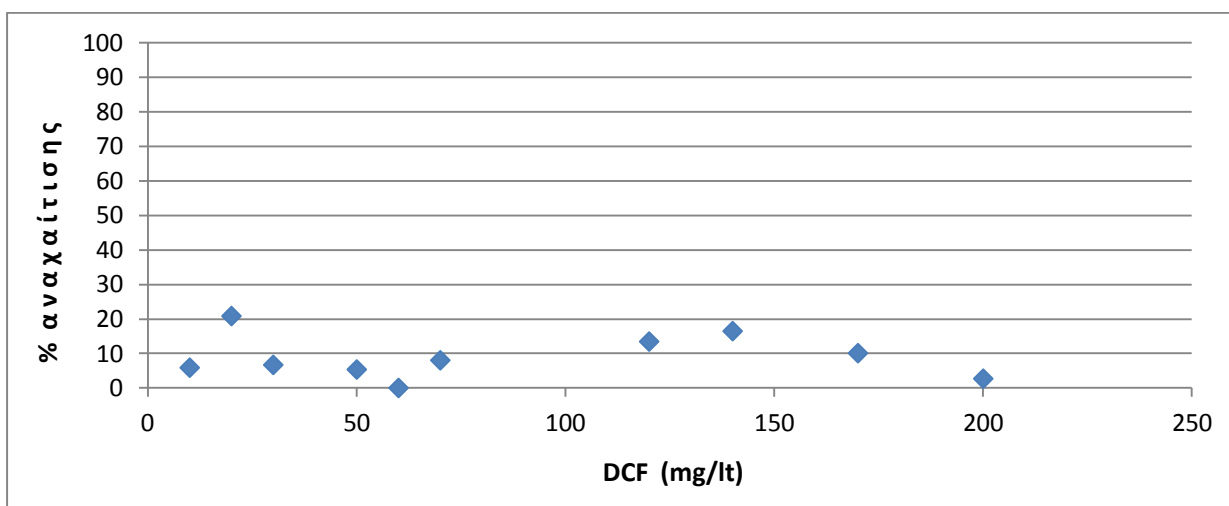


Διάγραμμα 4.5.3 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση του KTP

Συγκρίνοντας με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, οι Wang *et al* (2008), παρατήρησαν μείωση του ρυθμού αποξυγόνωσης κατά 39% για συγκέντρωση ketoprofen 10 μM . Ωστόσο σε δείγματα που περιείχαν αιθανόλη 0,02% v/v δεν παρατηρήθηκε αναχαίτιση ακόμα και για συγκέντρωση 100Mμ.

4.5.4. Προσδιορισμός τοξικότητας του DCF

Η τελευταία από τις ενώσεις για τις οποίες εξετάστηκε η εμφάνιση τοξικότητας μέσω μέτρησης του ρυθμού αποξυγόνωσης είναι το DCF. Κατά τη διάρκεια των περαμάτων προστέθηκαν συγκεντρώσεις από 0 ως 200 mg/L και πραγματοποιήθηκαν για κάθε συγκέντρωση δυο επαναλήψεις. Το pH και η θερμοκρασία κυμαινόταν σε τιμές $7,8 \pm 0,2$ και $20,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα φάνηκε, όπως και στις δυο προηγούμενες περιπτώσεις, πως οι εξεταζόμενες συγκεντρώσεις δεν επηρέασαν το ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου των ετεροτροφικών βακτηρίων. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο παρακάτω διάγραμμα. Για κάθε τιμή συγκέντρωσης εμφανίζεται ο μέσος όρος των ρυθμών των δυο επαναλήψεων.



Διάγραμμα 4.5.4 : Μεταβολή του ποσοστού αναχαίτισης του ρυθμού αποξυγόνωσης ως προς τη συγκέντρωση του DCF

Συγκρίνοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, φαίνεται πως ο ενδοκρινικός διαταράκτης BPA εμφανίζει μεγαλύτερη δραστηριότητα, ως προς την εμφάνιση τοξικότητας, σε σχέση με τις τρεις άλλες φαρμακευτικές ουσίες. Ωστόσο, ουσιαστική επίδραση των ενώσεων αυτών στην ετεροτροφική βιομάζα των συστήματος ενεργού ιλύος δεν παρατηρείται για καμιά από τις εξεταζόμενες ενώσεις καθώς τα επίπεδα των συγκεντρώσεών τους, όπως έχουν ανιχνευτεί σε δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ, έπειτα από ανάλυση με αέριο χρωματογράφο – φασματόμετρο μάζας, κυμαίνονται σε επίπεδα της τάξης των ng/L. Αναλυτικότερα οι συγκεντρώσεις τους εμφανίζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 4.5.2 : Συγκεντρώσεις των BPA, IBU, KTP και DCF σε δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ.

Ένωση	BPA	IBU	KTP	DCF
Συγκέντρωση (ng/L)	100	220	430	900

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, εξήχθησαν σημαντικά συμπεράσματα όσων αφορά την συμπεριφορά των εξεταζόμενων ενδοκρινικών διαταρακτών και φαρμακευτικών ενώσεων σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, τα οποία θα μπορούσαν με τη σειρά τους να χρησιμοποιηθούν ως δεδομένα για περαιτέρω έρευνα.

Πιο συγκεκριμένα για τις δύο μεθόδους απομάκρυνσης που εξετάστηκαν, χλωρίωση και προσρόφηση με ενεργό άνθρακα αλλά και από τα πειράματα τοξικότητας που πραγματοποιήθηκαν μπορούμε να συμπεράνουμε τα παρακάτω.

- Από τα πειράματα χλωρίωσης φάνηκε, πως η οξειδωτική αυτή διεργασία θα μπορούσε να αποτελέσει μια αποτελεσματική μέθοδο για την απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών και φαρμακευτικών ουσιών, από μονάδες επεξεργασίας αστικών αποβλήτων. Επίσης, προέκυψε το συμπέρασμα, πως τόσο ο χρόνος χλωρίωσης όσο και η συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου, αποτέλεσαν δυο σημαντικές παραμέτρους στην απομάκρυνση της πλειοψηφίας των ουσιών, παρότι το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης επιτυγχανόταν άμεσα από τα 5 πρώτα κιόλας λεπτά. Εξαιρεση αποτέλεσαν οι ενδοκρινικές triclosan και bisphenol A, και οι φαρμακευτικές ketoprofen και diclofenac, για τις περιπτώσεις των οποίων, η χλωρίωση συνέβαλε σε ένα σημαντικό ποσοστό απομάκρυνσης από τα αρχικά λεπτά και το οποίο παρέμεινε σταθερό με το πέρας του χρόνου. Ειδικότερα για την περίπτωση της εννεύλοφαινόλης η παρουσία της οποίας έχει ιδιαίτερο ρόλο στη δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης όπως άλλωστε φάνηκε και από την πρόσφατη Κοινή Υπουργική Απόφαση (ΚΥΑ 145/116) στις 8/3/2011 περί καθορισμού μέτρων, όρων και διαδικασιών για επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων, σύμφωνα με την οποία για την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων αστικών λυμάτων, από εγκαταστάσεις που εξυπηρετούν ισοδύναμο πληθυσμό μεγαλύτερο από 100.000 κατοίκους, θα πρέπει η συγκέντρωση της εννεύλοφαινόλης να είναι μικρότερη των 2 $\mu\text{g}/\text{L}$. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου της χλωρίωσης, με συγκέντρωση χλωρίου 11,5 mgCl_2/L και διάρκεια μιας ώρας, επιτεύχθηκε μείωση της συγκέντρωσης από 3,3 $\mu\text{g}/\text{L}$ σε 0,9 $\mu\text{g}/\text{L}$. Από τα αποτελέσματα της μελέτης, η συγκέντρωση της εννεύλοφαινόλης σε δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα της ΚΕΛΨ προσδιορίστηκε στα 1,8 $\mu\text{g}/\text{L}$, συνεπώς η εφαρμογή

της χλωρίωσης απευθείας στη έξοδο συστήματος ενεργού ιλύος της ΚΕΛΨ, θα αποτελούσε μια ασφαλή λύση όσον αφορά την απομάκρυνση της εννεύλοφαινόλης, ικανοποιώντας τα όρια της ισχύουσας νομοθεσίας περί επαναχρησιμοποίησης επεξεργασμένων λυμάτων.

Μελλοντικές μελέτες θα μπορούσαν να στοχεύσουν στην εξαγωγή συμπερασμάτων που θα αφορούσαν την επίδραση της αρχικής τιμής συγκέντρωσης χλωρίνης, αλλά και τη μεταβολή κρίσιμων συνθηκών, όπως το pH, στη συνολική απομάκρυνση των ουσιών.

- Όσον αφορά τον προσδιορισμό της τοξικότητας των ενδοκρινικών διαταρακτών και φαρμακευτικών ουσιών στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε το βακτήριο *Vibrio fischeri*, καθώς πρόκειται για ένα υδάτινο μικροοργανισμό με ευαισθησία πολύ μεγαλύτερη από τους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος, αξιοποιώντας έτσι την ευαισθησία του ως ένα κριτήριο ασφάλειας για την πρόκληση τοξικότητας. Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως η παρουσία των ενώσεων στα λύματα στις συγκεντρώσεις που ανιχνεύθηκαν δεν αποτελούν πρόβλημα ως προς την εμφάνιση τοξικότητας. Ωστόσο τα σχηματιζόμενα παράγωγα των ενώσεων αυτών κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης εμφανίζουν ιδιαίτερα τοξική δράση δημιουργώντας έτσι ένα σημαντικό πρόβλημα για την εφαρμογή της μεθόδου της χλωρίωσης. Πιο συγκεκριμένα ενώ οι μητρικές ενώσεις εμφάνισαν 20% αναχαίτιση της φωταύγειας σε συγκεντρώσεις μισές αυτών που εξετάστηκαν, για την εμφάνιση του ίδιου ποσοστού αναχαίτισης χλωρίωσης απαιτήθηκε αραίωση του διαλύματος που περιείχε τις χλωριωμένες ενώσεις κατά 200 φορές περίπου. Επίσης, κατά την εξέταση της τοξικότητας των χλωριωμένων παραγώγων της NP και της BPA χωριστά, διαπιστώθηκε πως η συμβολή τους ήταν ιδιαίτερα μεγάλη, συγκρινόμενη με την τοξικότητα που προκλήθηκε από το σύνολο των χλωριωμένων παραγώγων των ενώσεων.

Στα πλαίσια των πειραμάτων τοξικότητας πραγματοποιήθηκαν πειράματα με σκοπό τη διερεύνηση της τοξικής επίδρασης, τεσσάρων εκ των εξεταζόμενων ενώσεων, της BPA, του IBU, του KTP και του DCF, στην ετεροτροφική βιομάζα συστήματος ενεργού ιλύος, μέσω μέτρησης του ρυθμού αποξυγόνωσης (OUR). Από τα αποτελέσματα προέκυψε πως οι φαρμακευτικές ουσίες δεν εμφάνισαν τοξική δράση ακόμα και για συγκεντρώσεις μέχρι 200 mg/L, ενώ ο ενδοκρινικός διαταράκτης BPA εμφάνισε 50%

αναχαίτιση στο ρυθμό αποξυγόνωσης για συγκέντρωση 58 mg/L. Ωστόσο για τις συγκεντρώσεις των ενώσεων που έχουν ανιχνευθεί ακόμα και στις χειρότερες περιπτώσεις (μg/L), μπορούμε να συμπεραίνουμε πως η παρουσία τους σε μονάδες επεξεργασίας δεν επηρεάζει τη δράση των ετεροτροφικών μικροοργανισμών.

Μελλοντικά, πειράματα τοξικότητας και για καθεμιά από τις υπόλοιπες ενώσεις θα οδηγούσαν σε μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για τη συμβολή της κάθε ένωσης στην εμφάνιση τοξικότητας, συμπεραίνοντας έτσι και αν η τοξικότητα του διαλύματος του συνόλου των ενώσεων οφείλεται στα παράγωγα της κάθε ένωσης ή αν προκύπτει και συνεργιστική δράση μεταξύ των σχηματιζόμενων παραγώγων.

- Τέλος, η χρήση ενεργού άνθρακα σε μορφή σκόνης (WPM7 συγκέντρωσης 15 και 50 mg/L), για την απομάκρυνση των εξεταζόμενων ενώσεων από τριτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα, απεδείχθη πως δεν αποτελεί μια αρκετά αποτελεσματική μέθοδο. Αύξηση της συγκέντρωσης του ενεργού άνθρακα συντέλεσε στην αύξηση του βαθμού απομάκρυνσης χωρίς ωστόσο να επιτυγχάνονται σημαντικά ποσοστά. Επίσης η τιμή της συγκέντρωσης των ενώσεων φάνηκε να επηρεάζει το ποσοστό απομάκρυνσης σε αρκετές ενώσεις (NP, TCS, NPX, KTP). Αναφερόμενοι ξανά στην περίπτωση της εννεύλοφαινόλης, η οποία αποτελεί και κριτήριο για επικείμενη επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων λυμάτων, η προσρόφησης της στον ενεργό άνθρακα οδήγησε σε 40% μείωση της αρχικής συγκέντρωσης που ανιχνεύθηκε στα τριτοβάθμια λύματα, με την τελική συγκέντρωσή της να είναι 1 μg/L. Ωστόσο ένας συνδυασμός των δυο μεθόδων που εξετάστηκαν, με τη χλωρίωση να εφαρμόζεται στα δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα και να ακολουθεί η προσρόφηση με χρήση ενεργού άνθρακα, θα μπορούσε να επιφέρει εξαιρετικά αποτελέσματα στην απομάκρυνση των ενώσεων αυτών, καθιστώντας τα πολύ καταλληλότερα για επαναχρησιμοποίηση.

Επίσης, πειράματα στα οποία θα μεταβαλλόταν παράμετροι όπως το pH ή και το είδος του ενεργού άνθρακα που χρησιμοποιείται, θα μπορούσαν να διενεργηθούν στο μέλλον καθιστώντας τη μέθοδο περισσότερο αποτελεσματική.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- Ahel M., Giger W., 1993, Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates between water and organic-solvents, *Chemosphere*, 26 : 1471–8.
- Ahel M., Scully F.E., Hoigne J., Giger W., 1994c, Photochemical degradation of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in natural-waters, *Chemosphere*, 28 : 1361–8.
- Banat F.A., Prechtel S., Bischof F., 2000, Aerobic thermophilic treatment of sewage sludge contaminated with 4-nonylphenol, *Chemosphere*, 41, 297–302.
- Barber L.B., Thurman E.M., Schroeder M.P., Leblanc D.R., 1988, Long-term fate of organic micropollutants in sewage-contaminated groundwater, *Environmental Science Technology*, 22 : 205–11.
- Bautista-Toledo I., Ferro-Garcia M., Rivera-Utrilla J., Moreno-Castilla C., Vegas-Fernandez F., 2005, Bisphenol A Removal from Water by Activated Carbon. Effects of Carbon Characteristics and Solution Chemistry, *Environ. Sci. Technol.*, 39 : 6246-6250.
- Beetge E., Plessis J., Muller D., Goosen C., van Rensburg F., 2000, The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption, *International Journal of Pharmaceutics*, 193 : 261–264.
- Belgiorno V., Rizzo L., Fatta D., Della Rocca C., Lofrano G., Nikolaou A., Naddeo V., Meric S., 2007, Review on endocrine disrupting-emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse, *Desalination*, 215 : 166–176
- Bellona C., Drewes J., 2005, The role of membrane surface charge and solute physicochemical properties in the rejection of organic acids by NF membranes, *Journal of Membrane Science*, 249 : 227–234.
- Bergner T., Przybilla B., 1992, "Photosensitization caused by ibuprofen", *J. Am. Acad. Dermatol.*, 26 (1): 114–6.

- Bester K., 2003, Triclosan in a sewage treatment process-balances and monitoring data, *Water Research*, 37, 3891–3896.
- Blaser H., Spindler F., Studer M., 2011, Enantioselective catalysis in fine chemicals production, *Applied Catalysis A: General*, 221 : 119–143.
- Bokern M., Harms H.H., 1997, Toxicity and metabolism of 4-n-nonylphenol in cell suspension cultures of different plant species, *Environ Sci. Technol.*, 31 : 1849–54.
- Boyd G., Zhang S., Grimm D., 2005, Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes, *Water Research*, 39 : 668–676.
- Brix R., Hvidt S., Carlsen L., 2001, Solubility of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates, on the possible role of micelles, *Chemosphere*, 44 : 759–63.
- Brown J., Paxeus N., Forlin L., Larsson J., 2007, Variations in bioconcentration of human pharmaceuticals from sewage effluents into fish blood plasma, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24 : 267–274.
- Brun G., Bernier M., Losier R., Doe K., Jackman P., Lee H., 2006, Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 25, No. 8, pp. 2163–2176.
- Buser H., Poiger T., Muller M., 1999, Occurrence and Environmental Behavior of the Chiral Pharmaceutical Drug Ibuprofen in Surface Waters and in Wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, 33 : 2529-2535.
- Buth J., Steen P., Sueper C., Blumentritt D., Vikesland P., Arnold W., McNeill K., 2010, Dioxin Photoproducts of Triclosan and Its Chlorinated Derivatives in Sediment Cores, *Environ. Sci. Technol.*, 44 : 4545–4551.
- Carballa M, Omila F., Lema J., Liompart M., Garcia-Jares C., Rodriguez I., Gomez M., Ternes T., 2004, Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant, *Water Research*, 38: 2918–2926.

- Chalew T., Halden R., 2009, Environmental exposure of aquatic and terrestrial biota to triclosan and triclocarban, *journal of the American water resources association*, Vol. 45, No. 1.
- Chang B.V., Chiang B.W., Yuan S.Y., 2007, Biodegradation of nonylphenol in soil, *Chemosphere*, 66 (10) : 1857–1862.
- Chapin R.E., Delaney J., Wang Y., Lanning L., Davis B., Collins B., Mintz N., Wolfe G., 1999, The effects of 4-nonylphenol in rats: a multigeneration reproduction study, *Toxicological Sciences*, 52 : 80–91.
- Chen S., Shieh R., Lu H., Harriman S., Chen Y., 1991, "Metabolic stereoisomeric inversion of ibuprofen in mammals", *Biochim Biophys Acta*, 1078 (3): 411–7.
- Choi K., Kim S., Kim C., Kim Se., 2005, Effects of activated carbon types and service life on removal of endocrine disrupting chemicals: amitrol, nonylphenol, and bisphenol-A, *Chemosphere*, 58 : 1535–1545.
- Christensen A., Markussen B., Baun A., Halling-Sorensen B., 2009, Probabilistic environmental risk characterization of pharmaceuticals in sewage treatment plant discharges, *Chemosphere*, 77 : 351–358.
- Cleuvers M., 2003, Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects, *Toxicology Letters*, 142 : 185-194.
- Coia J.E., Duckworth G.J., Edwards D.I., et al, 2006, Guidelines for the control and prevention of methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities, *J. Hosp. Infect.* 63 Suppl. 1 : S1–44.
- Coogan M., Edziyie R., La Point T., Venables B., 2007, Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream, *Chemosphere*, 67 : 1911–1918.
- Corvini P. F. X., Schäffer A., Schlosser D., 2006, Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—our evolving view, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 72 : 223-243.

- Crane M., Watts C., Boucard T., 2006, Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals, *Science of the Total Environment*, 367 : 23–41.
- De Vries J., 2001, The Heck reaction in the production of fine chemicals, *Can. J. Chem.*, 79: 1086–1092.
- Deng A., Himmelsbach M., Zhizhu Q., Frey S., Sengl M., Buchberger W., Hardniessner R., Marknopp D., 2003, Residue Analysis of the Pharmaceutical Diclofenac in Different Water Types Using ELISA and GC-MS, *Environ. Sci. Technol.*, 37 : 3422-3429.
- Dutta K., Annadurai S., Mazumdar K., Dastidar G., Kristiansen E., Molnar J., Martins M., Amaral L., 2000, "The anti-bacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA synthesis", *Int. J. Antimicrob. Agents*, 14 (3) : 249–51.
- Eaton A., Clesceri L., Rice E., Greenberg A., 2005, Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 21st edition.
- Eckenfelder W., 2000, Industrial water pollution control, Mc Graw Hill, *Environmental engineering series*, p. 417-421.
- Federle T.W., Kaiser S.K., Nuck B.A., 2002, Fate and effects of triclosan in activated sludge, *Environ. Toxicol. Chem.*, 21 : 1330– 1337.
- Fent K., Weston A., Caminad D., 2006, Ecotoxicology of human pharmaceuticals, *Aquatic Toxicology*, 76 : 122–159.
- Ferrari B., Paxeus N., Lo Giudice R., Pollio A., Garric J., 2003, Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55 : 359–370.
- Fiege H., Voges H., Hamamoto T., Umemura S., Iwata T., Miki H., Fujita Y., Buysch HJ., Garbe D., Paulus W., 2002, Phenol Derivatives, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim: Wiley-VCH.
- Fiege H., Voges H-W., Hamamoto T., Umemura S., Iwata T., Miki H., et al., 2000, Phenol derivatives, *Ullmann's Encyclopaedia of Industrial Chemistry*, John-Wileyand Sons Inc.

- Field P.G.S., Wall K., 1991, The role of chlorine in organic intermediates, p. 52-54.
- Flouriou G., Pakdel F., Ducouret B., Valotaire Y., 1995, Influence of xenobiotics on rainbow trout liver estrogen receptor and vitellogenin gene expression, *Journal of Molecular Endocrinology*, 15 (2) : 143–151.
- Fries E, Puttmann W. Occurrence of 4-nonylphenol in rain and snow, 2004, *Atmos. Environ.*, 38 : 2013–6.
- Fujii K., Yamamoto R., Tanaka T., Hirakawa T., Kikuchi S., 2003, Potential of a new biotreatment: *Sphingomonas cloacae* S-3T degrades nonylphenol in industrial wastewater, *Ind. Microbiol. Biotech.*, 30 : 531–535.
- Furum L., Boqing L., Zheyong S., Zheng L., Yayan Y., Yurong X., 1990, Treatment of Wastewater Containing Bisphenol A, *Water Treatment*, 5 : 105- 124.
- Gehring M., Tennhardt L., Vogel D., WeLin D., Bilitewski B., 2002, Sources of Bisphenol A in Wastewater and Sewage Sludge, *Institute of Waste Management and Contaminated Site Treatment*.
- Gibs J., Stackelberg P., Furlong E., Meyer M., Zaugg S., Lippincott R., 2007, Persistence of pharmaceuticals and other organic compounds in chlorinated drinking water as a function of time, *Science of the Total Environment* 373 : 240–249.
- Giger W, Brunner P.H., Schaffner C., 1984, Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants, *Science* 225, (4662) : 623–625.
- Glazer A., 2004, The ubiquitous triclosan, a common antibacterial agent exposed. *Pesticides and You*, Vol. 24, No. 3.
- Gu M., Min J., Kim E., 2002, Toxicity monitoring and classification of endocrine disrupting chemicals (EDCs) using recombinant bioluminescent bacteria, *Chemosphere*, 46: 289-294.
- Guenther K., Heinke V., Thiele B., Kleist E., Prast H., Raecker T., 2002, Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food, *Environ. Sci. Technol.*, 36 : 1676–80.

- Halling-Sorensen B., Nielsen N., Lanzky P., Ingerslev F., Holen-Liitzhofl H., Jorgensen S., 1998, Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment - A Review, *Chemosphere*, Vol. 36, No. 2 , pp. 357-393
- Heath R.J., Rubin J.R., Holland D.R., Zhang E., Snow M.E., Rock C.O., 1999, "Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis". *J. Biol. Chem.*, 274 (16) : 11110-4.
- Heckmann L.H., Callaghan A., Hooper H., Connon R., Hutchinson T., Maund S., Sibly R., 2007, Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics, *Toxicology Letters*, 172 : 137-145.
- Heidler J., Halden R.U., 2007, "Mass balance assessment of triclosan removal during conventional sewage treatment", *Chemosphere*, 66 (2) : 362-369.
- Heijman S., Verliefe A., Cornelissen E., Amy G., van Dijk J., 2007, Influence of natural organic matter (NOM) fouling on the removal of pharmaceuticals by nanofiltration and activated carbon filtration, *Water Science & Technology, Water Supply*, Vol 7, No 4, pp 17-23.
- Henriques I.D.S., Holbrook R.D., Kelly R.T., Love N.G., 2005, The impact of floc size on respiration inhibition by soluble toxicants-A comparative investigation, *Water Res.*, 39 : 2559-2568.
- Hernando M., Mezcua M., Fernandez-Alba A., Barcelo D., 2006, Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments, *Talanta*, 69 : 334-342.
- Hesselsøe M., Jensen D., Skals K., Olesen T., Moldrup P., Roslev P., Krog - Mortensen G., Henriksen K., 2001, Degradation of 4-nonylphenol in homogeneous and non homogeneous mixtures of soil and sewage sludge, *Environ Science Technology*, 35 : 3695-3700.
- Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Parrella A., Previtiera L., Rubino M., 2005, Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products, *Science of the Total Environment*, 348 : 93- 101.

- Jin J., Lee S., Lee S.B., 2003, Enzymatic production of enantiopure ketoprofen in a solvent-free two-phase system, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 26 : 209–216.
- Karley A.J., Powell S.I., Davies J.M., 1997, Effect of nonylphenol on growth of *Neurospora crassa* and *Candida albicans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63 : 1312–7.
- Kauser Jahan, Raúl Ordóñez, Ravi Ramachandran, Shira Balzer, Michael Stern, 2008, Modeling Biodegradation of Nonylphenol, *Water Air Soil Pollution Focus*, 8 : 395–404.
- Kjonaas R., Williams P., Counce D., Crawley L., 2011, Synthesis of Ibuprofen in the Introductory Organic Laboratory, *J. Chem. Educ.*, 88 (6), pp 825–828.
- Kommuru T., Khan M., Reddy I., 1998, Racemate and Enantiomers of Ketoprofen: Phase Diagram, Thermodynamic Studies, Skin Permeability and Use of Chiral Permeation Enhancers, Contribution from Division of Basic Pharmaceutical Sciences, *College of Pharmacy and Health Sciences*, Northeast Louisiana University, Monroe, Louisiana 71209.
- Korshin G., Kim J., Gan L., 2006, Comparative study of reactions of endocrine disruptors bisphenol A and diethylstilbestrol in electrochemical treatment and chlorination, *Water research*, 40 : 1070 – 1078.
- Kosjek T., Heath E., Kompare B., 2007, Removal of pharmaceutical residues in a pilot wastewater treatment plant, *Anal Bioanal. Chem.*, 387 : 1379–1387.
- Kumagai T., Inoue T., Mihara Y., Ebina K., Yokota K., 2006, Influences of Drugs on the Oxygen Uptake Rate and Biosorption of Activated Sludge, *Biol. Pharm. Bull.*, 29 (1) : 183–186.
- La Farre M., Ferrer I., Ginebred A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M., Barcelo D., 2001, Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*, *Journal of Chromatography A*, 938 : 187–197.
- Langford K.H., Lester J.N., 2002, Fate and behaviour of endocrine disrupters in wastewater treatment processes. In: Brikett JW, Lester JN, editors, *Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes*. Boca Raton, USA: CRC Press Inc.

- Langford K.H., Scrimshaw M.D., Birkett J.W., Lester J.N., 2005b, The partitioning of alkylphenolic surfactants and polybrominated diphenylether flame retardants in activated sludge batch experiments, *Chemosphere*, 61 : 1221–1230.
- Lark S, June 2004, MD., Triclosan, *The Lark Letter*, (877-437-5275), 11 (6).
- Lemke L., Williams A., Roche F., Zito W., 2008, Foyes *Principles of Medical Chemistry*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Lenz K., Beck V., Fuerhacker M., 2004, Behaviour of bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-NP) and 4-nonylphenol ethoxylates (4-NP₁EO, 4-NP₂EO) in oxidative water treatment processes, *Water Sci. Technol.*, 50 (5) : 141-7.
- Lindstrom A., Buerge I., Poiger T., Bergqvist P.A., Muller M., Buser H.R., 2002, Occurrence and Environmental Behavior of the Bactericide Triclosan and Its Methyl Derivative in Surface Waters and in Wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, 3 : 2322-2329.
- Lobos, J.H., Leib T.K., Su T.M., 1992, Biodegradation of Bisphenol A and Other bisphenols by a Gram-Negative Aerobic Bacteria. *Applied and Environ Micro.* 58, (6) : 1823- 1831.
- Maki H., Okamura H., Aouama I., Fujita M., 1998, Halogenation and toxicity of the biodegradation products of a nonionic surfactant, nonylphenol ethoxylate, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 4, pp. 650–654.
- Manzano M.A., Perales J.A., Sales D., Quiroga J.M., 1998, Effect of concentration on the biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate in river water, *Bull Environ Contam. Toxicol.*, 61 : 489–96.
- Martensson A.M., Torstensson L., 1996, Monitoring sewage sludge using heterotrophic nitrogen fixing microorganisms, *Soil Biol. Biochem.*, 28 : 1621–30.
- Mascolo G., Balest L., Cassano D., Laera G., Lopez A., Pollice A., Salerno C., 2010, Biodegradability of pharmaceutical industrial wastewater and formation of recalcitrant organic compounds during aerobic biological treatment, *Bioresource Technology*, 101 : 2585–2591.

- Matamoros V., Duhec A., Albaigés J., Bayona J., 2009, Photodegradation of Carbamazepine, Ibuprofen, Ketoprofen and 17 α -Ethinylestradiol in Fresh and Seawater, *Water Air Soil Pollut*, 196 : 161–168.
- Matsui S., Murakami T., Sasaki T., Hirose Y., Iguma Y., 1975, Activated Sludge Degradability of organic Substances in the Wastewater of the Kashima Petroleum and Petrochemical Industrial Complex in Japan, *Progress in Water Technology*, 7(3/4) : 645-659.
- Mc Neal W., 2011, Trace Contaminant Degradation by Wastewater Organisms, *McNair Program*, University of Washington, vol. x, 149-157.
- Mestre A.S., Pires J., Nogueira J.M.F., Carvalho A.P., 2007, Activated carbons for the adsorption of ibuprofen, *Carbon*, 45 : 1979–1988.
- Metcalf & Eddy, 2003, Wastewater Engineering Treatment and Reuse, *Mc Graw Hill*, p 1144.
- Morito S., Hara T., Yamazaki K., Ju J., Yagishita Y., Mochizuki K., Tsuji T., 2010, "Ketoprofen Absorption by Muscle and Tendon after Topical or Oral Administration in Patients Undergoing Anterior Cruciate Ligament Reconstruction", *AAPS Pharm. Sci. Tech*, 11 (1): 154–8.
- Muller S., Schmid P., Schlatter C., 1998, Pharmacokinetic behavior of 4-nonylphenol in humans, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 5 : 257–65.
- Nallani G., Paulos P., Constantine L., Venables B., Huggett D., 2011, Bioconcentration of ibuprofen in fathead minnow (*Pimephales promelas*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*), *Chemosphere*, 84 : 1371–1377.
- Nice H.E., Thorndyke M.C., Morrill D., Steele S., Crane M., 2000, Development of *Crassostrea gigas* larvae is affected by 4-nonylphenol, *Marine Pollution Bulletin* 40, (6) : 491–496.
- Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U., Kloas W., Jagnytch O., Lutz I., Kusk O., Wollenberger L., Santos M., et al., 2009, "A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife", *Biological sciences* 364, (1526) : 2047–2062.

- Packer J., Werner J., Latch D., Mc Neill K., Arnold W., 2003, Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen, *Aquat. Sci.*, 65 : 342–351.
- Park H., Choi W., HOI, Huh E., Lee Z., Choi C., 1999, Production of Optically Active Ketoprofen by Direct Enzymatic Esterification, *Journal of bioscience and bioengineering*, Vol. 87, No. 4, 545-547.
- Pinkston K., Sedlak D., 2004, Transformation of Aromatic Ether and Amine-Containing Pharmaceuticals during Chlorine Disinfection, *Environ. Sci. Technol.*, 38 : 4019-4025.
- Pomati F., Netting A., Calamari D., Neilan B., 2004, Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*, *Aquatic Toxicology*, 67 : 387- 396.
- Pothitou P., Voutsas D., 2008, Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece, *Chemosphere*, 73 : 1716–1723.
- Pounds N., Maclean S., Webley M., Pascoe D., Hutchinson T., 2008, Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda Planorbidae), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70 : 47–52.
- Quintana J., Rodil R., Lopez-Mahia P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodriguez P., 2010, Investigating the chlorination of acidic pharmaceuticals and by-product formation aided by an experimental design methodology, *water research*, 44 : 243 – 255.
- Rajapakse N., Silva E., Kortenkamp A., 2002, Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action, *Environ. Health Perspect.*, 110 : 917–21.
- Rao P, Knaus E., 2008, "Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond", *J Pharm Pharm Sci* 11, (2) : 81–110.
- Ricart M., Guasch H., Alberch M., *et al.*, November 2010, Triclosan persistence through wastewater treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms, *Aquat. Toxicol.* 100, (4) : 346–53.

- Rice C.P., Schmitz-Afonso I., Loyo-Rosales J.E., Link E., Thoma R., Fay L., et al., 2003, Alkylphenol and alkylphenol-ethoxylates in carp, water, and sediment from the Cuyahoga River Ohio, *Environ Sci. Technol.*, 37 : 3747–54.
- Routledge E.J., Sumpter J.P., 1996, Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, (3) : 241–248.
- Rule K.L., Ebbett V.R., Vikesland P.J., 2005, "Formation of chloroform and chlorinated organics by free-chlorine-mediated oxidation of triclosan". *Environ. Sci. Technol.* 39, (9) : 3176–85.
- Russell A.D., 2004, "Whither triclosan?", *J. Antimicrob. Chemother.* 53, (5) : 693–5.
- Sabik H., Gagne F., Blaise C., Marcogliese D.J., Jeannot R., 2003, Occurrence of alkylphenol polyethoxylates in the St. Lawrence River and their bioconcentration by mussels (*Elliptio complanata*), *Chemosphere*, 51 : 349–56.
- Saito T., Hong P., Kato K., Okazaki M., Inagaki H., Maeda S., Yokogawa Y., 2003, Purification and characterization of an extracellular laccase of a fungus (family *Chaetomiaceae*) isolated from soil, *Enzyme Microb. Technol.*, 33 : 520–526.
- Singer H., Muller S., Tixier C., Pillonel L., 2002, "Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments", *Environ Sci Technol.* 36, (23) : 4998–5004.
- Snyder S., Adham S., Redding A., Cannon F., De Carolis J., Oppenheimer J., Wert E., Yoon Y., 2006, Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals, *Desalination*, 202 : 156–181.
- Snyder S.A., Keith T.L., Pierens S.L., Snyder E.M., Giesy J.P., 2001, Bioconcentration of nonylphenol in fathead minnows (*Pimephales promelas*), *Chemosphere*, 44 : 1697–702.
- Snyder S., Westerhoff P., Yoon Y., Sedlak D., 2003, Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in Water: Implications for the Water Industry, *Environmental engineering science*, Volume 20, Number 5.

- Soares A., Murto M., Guieysse B., Mattiasson B., 2005b, Biodegradation of nonylphenol in a continuous bioreactor at low temperatures and effects on the microbial population, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69, (5) : 597–606.
- Soares A., Guieysse B., Jefferson B., Cartmell E., Lester J.N., 2008, Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters, *Environment International*, 34 : 1033–1049.
- Soto A.M., Justicia H., Wray J.W., Sonnenschein C., 1991, p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene, *Environmental Health Perspectives*, 92 : 167–173.
- Soto A.M., Lin T.-M., Justicia H., Silvia R.M., Sonnenschein C., 1992, An “in cuLure” bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E-screen), *Advances in Modern Environmental Toxicology*, 295–309.
- Spivack J., Leib T.K., Lobos J.H., 1994, Novel Pathway for Bacterial Metabolism of Bisphenol A., *J. Biological Chemistry* 269, (1) : 7323-7329.
- Staples C, Dorn P, Klecka G, O’Block S., Harris L., 1998, A review of the environmental fate, effects and exposures of bisphenol A, *Chemosphere*, Vol. 36, No. 10, pp. 2149-2173.
- Staples C., Weeks J., Hall J., Naylor C., 1998, Evaluation of aquatic toxicity and bioaccumulation of C8- and C9- alkylphenol ethoxylates, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 12, pp. 2470–2480.
- Stasinakis A, Mamais D, Gatidou G., Thomaidis N. and Lekkas T, 2008, Occurrence and fate of endocrine disruptors in Greek sewage treatment plants, *Water research*, 42 : 1796 – 1804.
- Stasinakis A, Mamais D, Petalas A, Thomaidis N. and Lekkas T, 2006, Evaluation of endocrine disruptors biodegradability using respirometric tests.
- Stasinakis A., Mamais D., Petalas A., Thomaidis N., 2008, Application of the OECD 301F respirometric test for the biodegradability assessment of various potential endocrine disrupting chemicals, *Bioresource Technology*, 99 : 3458–3467.

- Stasinakis A., Mamais D., Thomaidis N., Danika E., Gatidou G., Lekkas T., 2008, Inhibitory effect of triclosan and nonylphenol on respiration rates and ammonia removal in activated sludge systems, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70 : 199–206.
- Stasinakis A., Petalas A., Mamais D., Thomaidis N., Gatidou G., Lekkas T., 2007, Investigation of triclosan fate and toxicity in continuous-flow activated sludge systems, *Chemosphere*, 68 : 375–381.
- Thiele B, Heinke V, Kleist E, Guenther K., 2004, Contribution to the structural elucidation of 10 isomers of technical p-nonylphenol, *Environmental Science Technology*, 38 : 3405–11.
- Thurman M., 2006, Accurate-mass identification of chlorinated and brominated products of 4-nonylphenol, nonylphenol dimers, and other endocrine disrupters, *J. Mass Spectrom.*, 41 : 1287–1297.
- Turner S.J. and Watkinson R.J., 1986, Diphenylol propane: An Assessment of Inherent Biodegradability, *Shell Group Research Report. SBGR86.161*, Sittingbourne Research Centre, Kent, England.
- Van Esch A., Van Steensel-Moll A., Steyerberg W., Offringa M., Habbema D., Derksen-Lubsen G., 1995, "Antipyretic efficacy of ibuprofen and acetaminophen in children with febrile seizures", *Arch Pediatr Adolesc Med* 149, (6) : 632–7.
- Wang C., Yediler A., Lienert D., Wang Z., Kettrup A., (2002) "Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria *Vibrio fischeri*", *Chemosphere*, 46 : 339-34.
- Wang S., Holzem R., Gunsch C., 2008, Effects of Pharmaceutically Active Compounds on a Mixed Microbial Community Originating from a Municipal Wastewater Treatment Plant, *Environ. Sci. Technol.*, 42 : 1091–1095.
- Welshons W., Nagel S., Vom Saal F., 2006, Large Effects from Small Exposures III, Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure, *Endocrinology* 147, (6) : 56–69.

- Yadette F., Arukwe A., Goksoyr A., Male R., 1999, Induction of hepatic estrogen receptor in juvenile Atlantic salmon in vivo by the environmental estrogen, 4-nonylphenol, *The Science of the Total Environment*, 233 : (1–3) : 201–210.
- Ying G., Williams B., Kookana R., 2002, Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates — a review, *Environment International*, 28 : 215– 226.
- Ying G.G., Kookana R.S., Dillon P., 2003, Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. *Water Research* 37: 3785–3791.
- Ying Hu J., Aizawa T., Ookubo S., 2002, Products of Aqueous Chlorination of Bisphenol A and Their Estrogenic Activity, *Environ. Sci. Technol.*, 36 : 1980 - 1987.
- Ying-Hu J., Xie G-H., Aizawa T., 2002, Products of aqueous chlorination of 4-nonylphenol and their estrogenic activity, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 21, No. 10, pp. 2034–2039.
- Yu J., Bouwer E., Coelhan M., 2006, Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent, *agricultural water management*, 86 : 72 – 80.
- Yu Z., Peldszus S., Huck P., 2008, Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound—Naproxen, carbamazepine and nonylphenol, on activated carbon, *Water research*, 42 : 2873 – 2882.
- Zhang Y., Geilen S.U., Gal C., 2008, Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies, *Chemosphere*, 73 : 1151–1161.
- Ziylan A., Ince N., 2011, The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes, *Journal of Hazardous Materials*, 187 : 24–36.
- Zwiener C., Frimmel F., 2003, Short-term tests with a pilot sewage plant and biofilm reactors for the biological degradation of the pharmaceutical compounds clofibric acid, ibuprofen, and diclofenac, *The Science of the Total Environment*, 309 : 201–211.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Λέκκας Θ., 1996, Περιβαλλοντική Μηχανική Ι, Διαχείριση Υδατικών Πόρων, *Technograph*,
Αθήνα, σελ 507.

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00788>

<http://householdproducts.nlm.nih.gov>, Triclosan at Household Products Database, U.S.
Department of Health and Human Services and Record in the Household Products
Database of NLM.