



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

**ΔΙΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ-ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)
"ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ"**

*Διερεύνηση της μεθόδου χλωρίωσης για την
βελτιστοποίηση της λειτουργίας των εγκαταστάσεων
επεξεργασίας λυμάτων*

Ανουςάκης Κωνσταντίνος
Χημικός Μηχανικός ΕΜΠ

Μεταπτυχιακή Εργασία η οποία υποβάλλεται για
μερική εκπλήρωση των απαιτήσεων για το
Διεπιστημονικό – Διατμηματικό Δίπλωμα
Ειδίκευσης του Δ.Π.Μ.Σ. του Ε.Μ.Π.
"Περιβάλλον και Ανάπτυξη"

Αθήνα, Ιούλιος 2012

**Περιβάλλον
και
Ανάπτυξη**

Επιβλέπων: Μαμάης Δανιήλ, Επίκουρος Καθηγητής

Επιτροπή παρακολούθησης:
Μαμάης Δανιήλ, Επίκουρος Καθηγητής
Χατζημήτρος Κίμων, Αναπληρωτής Καθηγητής
Νουτσόπουλος Κωνσταντίνος, Λέκτορας

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία με θέμα "Διερεύνηση της μεθόδου χλωρίωσης για την βελτιστοποίηση της λειτουργίας των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων" συντάχθηκε στα πλαίσια του Διεπιστημονικού – Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών 'Περιβάλλον και Ανάπτυξη' (1η Κατεύθυνση Σπουδών) της Σχολής Αγρονόμων – Τοπογράφων Μηχανικών του Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου. Η διεξαγωγή των πειραμάτων πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του Τομέα Υδατικών Πόρων και Περιβάλλοντος της Σχολής Πολιτικών Μηχανικών.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω να αποδώσω στον κ. Μαμάη Δανιήλ, επίκουρο καθηγητή της Σχολής Πολιτικών Μηχανικών, εν πρώτοις για την ανάθεση του θέματος αλλά και για την διαρκή καθοδήγηση και ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφερε συνεπώς καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας αυτής, στοιχεία τα οποία επέτρεψαν την ανάπτυξη μιας πραγματικά άριστης συνεργασίας. Θα ήθελα να εκφράσω επίσης τις θερμές μου ευχαριστίες στον Δρ. Κουρή Νικόλαο και στην Δρ. Αντωνίου Κορνηλία για την πολύτιμη συμβολή στην πραγματοποίηση των πειραματικών δοκιμών καθώς και στα λοιπά μέλη του εργαστηρίου για την σύνθεση ενός φιλικού κλίματος συνεργασίας.

Περίληψη

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας διερευνήθηκε η πιθανή πρόκληση επιδράσεων στο φυτοπλαγκτόν και ζωοπλαγκτόν λόγω έκθεσης σε οργανικά χλωροπαράγωγα τα οποία προκύπτουν ως παραπροϊόντα κατά την απολύμανση - μέσω χλωρίωσης - των αστικών λυμάτων. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες του φωτοβακτηρίου *Vibrio Fisheri* μελετώντας τις επιδράσεις κατά την έκθεση σε δείγματα χλωριωμένων λυμάτων. Οι μεταβλητές που εξετάστηκαν ήταν η αναλογία των χλωριωμένων λυμάτων και η δόση του χλωρίου η οποία εφαρμόστηκε κατά την απολύμανση. Από ποιοτικής άποψης χρησιμοποιήθηκαν δύο τύποι λυμάτων: ανάμεικτο υγρό και τελική έξοδος. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, παρατηρείται απουσία αξιόλογων επιδράσεων καθώς παρεμπόδιση στην ανάπτυξη των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων κατεγράφη μόνο στην περίπτωση έκθεσης σε περιβάλλον χλωριωμένων λυμάτων με δόση 15mgCl/gTSS και περιεκτικότητα 50% κατ' όγκο ως προς τα λύματα (παρεμπόδιση κατά 32.61%).

Η εργασία αποτελείται από πέντε βασικά μέρη. Το πρώτο μέρος περιλαμβάνει την παράθεση μίας σύντομης εισαγωγής, ενώ το δεύτερο περιλαμβάνει την βιβλιογραφική επισκόπηση του θέματος. Σε αυτό περιγράφονται οι βασικές αρχές των διαδικασιών απολύμανσης μέσω χλωρίωσης (χημικές αντιδράσεις), η περιγραφή και κατηγοριοποίηση των παραπροϊόντων, ο χαρακτηρισμός της σταθερότητάς τους και η πρόβλεψη της περιβαλλοντικής τους κατάληξης. Στο ίδιο μέρος επίσης παρουσιάζονται οι καταγεγραμμένες επιδράσεις στον άνθρωπο, στο φυτοπλαγκτόν και ζωοπλαγκτόν.

Στο τρίτο μέρος της εργασίας παρατίθεται μια σύντομη εισαγωγή στη μέθοδο της βιοφωταύγειας ως μέσο εκτίμησης της τοξικότητας λυμάτων καθώς και η περιγραφή της διαδικασίας χλωρίωσης, προετοιμασίας των δειγμάτων και λήψης των πειραματικών τιμών φωταύγειας (πειραματικό πρωτόκολλο). Στο επόμενο μέρος, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων παρεμπόδισης και παρατίθενται τα αντίστοιχα διαγράμματα παρεμπόδισης. Το πέμπτο και τελευταίο μέρος περιλαμβάνει τα βασικά συμπεράσματα τα οποία προκύπτουν τόσο από την βιβλιογραφική επισκόπηση όσο και από τις πειραματικές παρατηρήσεις.

Abstract

The present study examines the potential impact of organic chloro-derivatives, that occur as byproducts during the disinfection of domestic sewage via chlorination, on phytoplankton and zoo-plankton. More specifically, the photo-bacterium *Vibrio Fisheri* was cultivated in order to observe the impacts during its exposure to samples of chlorinated sewage. The factors studied were the proportion of the chlorinated sewage and the dose of chlorine used for the disinfection. Two types of sewage were employed; mixed liquor and final effluent. According to the experimental results, no significant impacts are observed as the only case of inhibited growth of the cultivations was found during the exposure to an environment of chlorinated sewage disinfected with a dose of 15mgCl/gTSS and 50% sewage content (percentage of inhibition 32.61%).

This dissertation is divided into five parts. The first part entails a short introduction to the subject and the second a literature review. In this review, the fundamentals of chlorine chemistry and disinfection are stated. Furthermore, the disinfection byproducts are described and categorized. The part continues with a characterization of the byproducts' stability and a prediction of their environmental fate. The impacts on human, phytoplankton and zoo-plankton are also presented in this part.

The third part of this study includes an introduction to the method of bioluminescence as a tool to predict the toxicity of sewage. Moreover, the chlorination process, the preparation of the samples and the acquisition of the bioluminescence levels (experimental protocol) are analyzed. In the next part, the experimental results regarding the inhibition of growth are presented, in parallel with the respective charts. Finally, the fifth part consists of the basic conclusions that can be drawn both from the literature review and the experimental observations.

Περιεχόμενα

Πρόλογος	2
Περίληψη	3
Abstract	4
Περιεχόμενα	5
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	11
Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση σχετικά με τα Προβλήματα Διάθεσης Χλωριωμένων Λυμάτων στους Υδάτινους Αποδέκτες	
2.1 Βασικά στοιχεία και έννοιες	14
2.1.1 Χημεία Χλωρίου	14
2.1.2 Απαίτηση σε χλώριο	18
2.1.3 Κατηγορίες χημικών αντιδράσεων	20
2.1.4. Κύριες κατηγορίες παραπροϊόντων	22
2.1.5 Νέα γενιά παραπροϊόντων	26
2.1.6 Αλογονομεθάνια	30
2.1.7 Αλογονοξικά οξέα	33
2.1.8 Αλογονοακετονιτρίλια	34
2.1.9 Αλογονοφαινόλες	35
2.1.10 Αλογονωμένες φουρανόνες	35
2.1.11 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των παραπροϊόντων	36
2.2 Περιβαλλοντική κατάληξη των παραπροϊόντων χλωρίωσης	44
2.2.1 Υδρόλυση	45
2.2.2 Φωτόλυση	47
2.2.3 Βιοαποδόμηση	49
2.2.4 Εξάτμιση	50
2.2.5 Προσρόφηση – ιζηματοποίηση	51
2.3 Επιπτώσεις στον άνθρωπο	52
2.3.1 Οδοί ανθρώπινης έκθεση στα παραπροϊόντα χλωρίωσης	52
2.3.2 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	54
2.4 Επιπτώσεις στο φυτοπλαγκτόν	62
2.4.1 Αρχικές μελέτες	63
2.4.2 Πρόσφατες μελέτες	86

2.5 Επιπτώσεις στο ζωπλαγκτόν	90
2.5.1 Τριαλογονομεθάνια	90
2.5.2 Τετραχλωράνθρακας	97
2.5.3 Χλωροαιθάνια	97
2.5.4 Χλωροαιθυλένια	100
2.5.5 Αλογονοξικά οξέα	102
2.5.6. Χλωροφαινόλες	106
2.5.7 Διχλωροβενζόλια	107
2.5.8 Χλωραμίνες	109
2.5.9 Χλωριούχο κυάνιο	112
2.5.10 Τριχλωροαιθυλένιο	114
2.5.11 Χλωροακετονιτρίλια	115
2.5.12 MX	116
2.5.13 Χλωρουρακίλη	117
2.5.14 Άλλα παράγωγα	118
2.5.15 Τοξικότητα λυμάτων	118
2.5.16 Τοξικότητα απολυμαντικού φορέα	128
Κεφάλαιο 3: Πειραματικό Πρωτόκολλο και Αναλυτικές Μέθοδοι	
3.1 Εισαγωγή	138
3.2 Μέτρηση τοξικότητας μέσω της βιοφωταύγειας	138
3.2.1 Βιοφωταύγεια	138
3.2.2 Γενικά Στοιχεία της Μεθόδου	141
3.2.3 Πειραματικό Πρωτόκολλο της Μεθόδου	142
3.3 Αναλυτικές Μέθοδοι	146
3.3.1 Μέτρηση Αιωρούμενων Στερεών	146
3.3.2 Μέτρηση Υπολειμματικού Χλωρίου	146
Κεφάλαιο 4: Παρουσίαση και Σχολιασμός Πειραματικών Αποτελεσμάτων	
4.1 Εισαγωγή	148
4.2 Αποτελέσματα πειραμάτων	148
4.2.1 Αιωρούμενα στερεά	148
4.2.2 Χλωρίωση των δειγμάτων	149
4.2.3 Προσδιορισμός της τοξικότητας λυμάτων με το όργανο LUMIStox 300	150
4.3 Σχολιασμός πειραματικών αποτελεσμάτων	156

Κεφάλαιο 5: Τελικά Συμπεράσματα	158
Βιβλιογραφία	162
Περιεχόμενα πινάκων	
Πίνακας 2.1.1. Απόδοση ως προς την παραγωγή των επιμέρους χλωρο-παραγώγων κατά την χλωρίωση.	17
Πίνακας 2.1.2. Παραπροϊόντα απολύμανσης κατά την χρήση χλωρίου, διοξειδίου του χλωρίου, χλωραμίνης και όζοντος ως απολυμαντικό φορέας.	23
Πίνακας 2.1.3. Αναλυτική καταγραφή των παραπροϊόντων χλωρίωσης.	24
Πίνακας 2.1.4. Προσφάτως ταυτοποιημένα παραπροϊόντα.	27
Πίνακας 2.2.1. Σταθερές ρυθμού ή ποσοστά βιοδιάσπασης βασικών παραπροϊόντων χλωρίωσης.	50
Πίνακας 2.2.2. Εύρη τιμών της σταθεράς Henry για τις κύριες κατηγορίες παραπροϊόντων.	51
Πίνακας 2.2.3. Συντελεστές κατανομής οκτανόλης-νερού (K_{ow}) των βασικότερων κατηγοριών παραπροϊόντων.	52
Πίνακας 2.3.1. Επιπτώσεις ανά παραπροϊόν λόγω κατανάλωσης χλωριωμένου νερού κατά την περίοδο κύησης.	60
Πίνακας 2.4.1. Φωτοσυνθετική ικανότητα κατόπιν έκθεσης σε χλώριο.	67
Πίνακας 2.4.2. Έλεγχος πιθανού σχηματισμού παραπροϊόντων χλωρίωσης υψηλής και παραμένουσας τοξικότητας.	67
Πίνακας 2.4.3. Συγκεντρώσεις υπολειμματικού χλωρίου σε δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν στα επιφανειακά ύδατα πλησίον ή επί του σημείου διάθεσης των λυμάτων στην περιοχή του San Diego.	68
Πίνακας 2.4.4. Φωτοσυνθετικοί ρυθμοί ανά βάρος χλωροφύλλης-α σε σημεία μέγιστης απόστασης 0.5 μιλίων της παράκτιας περιοχής της Νότιας Καλιφόρνια.	69
Πίνακας 2.4.5. Επίδραση της 3-χλωροφαινόλης, της 4-χλωρορεσορκίνης καθώς και του συνδυασμού αυτών επί της ανάπτυξης του είδους <i>Skeletonema</i> .	74
Πίνακας 2.4.6. Επιδράσεις του τελικού ρεύματος (επεξεργασμένων) λυμάτων στον ρυθμό ανάπτυξης του είδους <i>Anabaena affinis</i> .	77
Πίνακας 2.4.7. Επιδράσεις χλωριωμένων και μη χλωριωμένων λυμάτων στον ρυθμό	78

ανάπτυξης του είδους *Anabaena affinis*.

Πίνακας 2.4.8. Σύγκριση των επιδράσεων διαφόρων αναλογιών έκθεσης σε χλωριωμένα λύματα στα είδη *Anabaena affinis* και *Chlorella pyrenoidosa*. 79

Πίνακας 2.4.9. Σύγκριση ρυθμών ανάπτυξης των ειδών *Anabaena affinis* και *Chlorella pyrenoidosa* παρουσία παραγώγων διαφορετικών κλασμάτων μοριακών βαρών σε χλωριωμένα και μη χλωριωμένα δείγματα. 80

Πίνακας 2.4.10. Επιδράσεις αλογονωμένων αλειφατικών υδρογονανθράκων σε καλλιέργειες φυτοπλαγκτού εκφρασμένο ως % ποσοστό της καλλιέργειας αναφοράς. 81

Πίνακας 2.4.11. Επιδράσεις υποχλωριώδους νατρίου, χλωριούχου αμμωνίου, αλογοναμινών και χλωραμίνης-T εκφρασμένες ως % ποσοστό της καλλιέργειας αναφοράς. 82

Πίνακας 2.4.12. Επίπεδα $E_B C$ και $E_M C$ ορισμένων παραπροϊόντων χλωρίωσης. 85

Πίνακας 2.4.13. Τιμές LC-50 για διάφορα είδη αλγών κατά την έκθεση σε τριχλωροξικό οξύ. 88

Πίνακας 2.5.1. Επίπεδα LC-50 για τα κύρια παράγωγα της κατηγορίας των χλωροαιθανίων. 97

Πίνακας 2.5.2. Κατώτερες συγκεντρώσεις πρόκλησης παρατηρήσιμων επιδράσεων (LOEC) και συγκεντρώσεις άνευ πρόκλησης παρατηρήσιμων επιδράσεων (NOEC) για το είδος *Daphnia Magna*. 99

Πίνακας 2.5.3. Επίπεδα LC-50 λόγω έκθεσης σε ολικό τριχλωροξικό οξύ (υπό τη μορφή οξέος και του αντίστοιχου άλατος νατρίου) σε πληθυσμούς διαφόρων ειδών. 103

Πίνακας 2.5.4. Επιδράσεις (άμεση θανάτωση και μελλοντικές ανωμαλίες) στο είδος *Lymnaea*. 104

Πίνακας 2.5.5. Ποσοστά άμεσης θανάτωσης και μελλοντικές ανωμαλίες για τέσσερα επίπεδα περιεκτικότητας (X, 5X, 10X, 100X) στο είδος *Xenopus*. 106

Πίνακας 2.5.6. Τιμές οξείας τοξικότητας λόγω έκθεσης σε χλωροφαινόλες (επίπεδα LC-50). 108

Πίνακας 2.5.7. Συντελεστές βιοσυσσώρευσης για τα τρία κύρια χλωροπαράγωγα για το είδος *Bluegill*. 109

Πίνακας 2.5.8. Δεδομένα θνησιμότητας για τον υπολογισμό των επιπέδων LC-50 για μέλη ηλικίας έως 5 ημερών. 113

Πίνακας 2.5.9. Επιδράσεις σε έμβρυα του είδους *Xenopus Laevis* λόγω έκθεσης σε 114

τριχλωροαιθάνιο άνευ μεταβολικής ενεργοποίησης.	
Πίνακας 2.5.10. Επιδράσεις σε έμβρυα του είδους <i>Xenopus Laevis</i> λόγω έκθεσης σε τριχλωροαιθάνιο με μεταβολική ενεργοποίηση.	114
Πίνακας 2.5.11. Εύρη διακύμανσης των περιεκτικοτήτων και τερατογενείς επιδράσεις.	115
Πίνακας 2.5.12. Εύρη τιμών LC-50 λόγω έκθεσης του είδους <i>Bluegill (Lepomis macrochirus)</i> σε διάφορα χλωροπαράγωγα.	118
Πίνακας 2.5.13. Επιδράσεις κατά την έκθεση των ειδών <i>Hyale barbicornius</i> και <i>Oryzias Javanicus</i> σε υπολειμματικό χλώριο.	137
Πίνακας 4.2.1 Αποτελέσματα μέτρησης αιωρούμενων ολικών και πτητικών στερεών σε δείγματα ανάμικτου υγρού.	149
Πίνακας 4.2.2 Αποτελέσματα υπολογισμών εφαρμοσμένης δόσης ελεύθερου χλωρίου στα πειράματα χλωρίωσης του ανάμικτου υγρού.	149
Πίνακας 4.2.3 Αρχικά και τελικά επίπεδα (προ και μετά αποχλωρίωσης) υπολειμματικού χλωρίου.	151
Πίνακας 4.2.4 Αποτελέσματα παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων σε διάφορα επίπεδα μη χλωριωμένων λυμάτων τελικής εξόδου.	151
Πίνακας 4.2.5 Αποτελέσματα παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων σε χλωριωμένο δείγμα ανάμικτου υγρού (Δείγμα 1) και μη χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου (Δείγμα 2).	153
Πίνακας 4.2.6 Αποτελέσματα παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων σε διάφορα επίπεδα χλωριωμένων λυμάτων (δείγματα ανάμικτου υγρού ή τελικής εξόδου).	154
Περιεχόμενα Σχημάτων	
Σχήμα 2.1.1. Κατανομή του υποχλωριώδους οξέος και του αντίστοιχου ανιόντος σε υδατικά διαλύματα θερμοκρασίας 0 και 20°C ως συνάρτηση του pH του διαλύματος.	15
Σχήμα 2.1.2. Σχέση μεταξύ υπολειμματικού χλωρίου και δόσης χλωρίου για δείγματα λυμάτων.	19
Σχήμα 2.4.1. Παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης άνθρακα κατά την έκθεση φυσικών καλλιεργειών φυτοπλαγκτού σε χλώριο.	66

Περιεχόμενα εικόνων

Εικόνα 2.5.1. Σύγκριση της άμεσης θανάτωσης και των μελλοντικών ανωμαλιών σε έμβρυα μέλη του είδους <i>Lympnaea</i> .	105
Εικόνα 2.5.2. Έκθεση σε αλογονοξικά οξέα περιεκτικότητας 10X.	105
Εικόνα 2.5.3. Έκθεση σε αλογονοξικά οξέα περιεκτικότητας 50X.	105
Εικόνα 3.1.1 Πορεία ενεργοποίησης του βακτηρίου <i>Vibrio fischeri</i> .	143
Εικόνα 3.1.2 Τοποθέτηση του αιωρήματος μικροοργανισμών στις κυβέττες	144

Περιεχόμενα διαγραμμάτων

Διάγραμμα 4.2.1 Παρεμπόδιση (%) της πρώτης σειράς μετρήσεων του μη χλωριωμένου δείγματος τελικής εξόδου.	152
Διάγραμμα 4.2.2 Παρεμπόδιση (%) της δεύτερης σειράς μετρήσεων του μη χλωριωμένου δείγματος τελικής εξόδου.	152
Διάγραμμα 4.2.3 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 1 (χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού).	153
Διάγραμμα 4.2.4 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 2 (μη χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου).	154
Διάγραμμα 4.2.5 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 3 (χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού).	155
Διάγραμμα 4.2.6 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 3 (υπερ-χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού).	155
Διάγραμμα 4.2.7 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου.	156
Διάγραμμα 4.3.1 Διάγραμμα παρεμπόδισης συναρτήσει της δόσης χλωρίωσης για αραιώση 1:100.	156
Διάγραμμα 4.3.2 Διάγραμμα παρεμπόδισης συναρτήσει της δόσης χλωρίωσης για αραιώση 1:10.	156
Διάγραμμα 4.3.3 Διάγραμμα παρεμπόδισης συναρτήσει της δόσης χλωρίωσης για αραιώση 1:2.	157

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή

Η ίδρυση των πρώτων μεγάλων πόλεων στον ευρωπαϊκό χώρο επέβαλε την ανάγκη συλλογής και αποθήκευσης των όμβριων υδάτων ούτως ώστε να εξυπηρετηθούν οι απαιτήσεις για πόσιμο νερό και οικιακή κατανάλωση. Περί το 1800 αναδύονται τα πρώτα συστήματα συλλογής λυμάτων στην Ευρώπη, οι δε πρακτικές για την συστηματική επεξεργασία αυτών, αναπτύχθηκαν στις ευρωπαϊκές χώρες κατά τα τέλη του 1800 και κατά τις αρχές του επόμενου αιώνα. Την περίοδο αυτή καθίσταται σταδιακά κατανοητή η σχέση μεταξύ της διάθεσης ανεπεξέργαστων λυμάτων και της εξάπλωσης διαφόρων ασθενειών. Αρχικά θεωρείτο ότι οι ασθένειες μεταδίδονταν μέσω των οσμών και συνεπώς στις πρώτες εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων τέθηκε ως στόχος ο έλεγχος αυτών ούτως ώστε να περιοριστεί η εξάπλωση των ασθενειών. Για τον λόγο αυτό, χρησιμοποιήθηκαν ενώσεις χλωρίου ως αντιδραστήρια απόσμησης πριν ακόμα γίνει κατανοητή η απολυμαντική τους δράση. Κατά τα τέλη του 1800 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά η χλωράσβεστος (μείγμα $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, CaCl_2 και $\text{Ca}(\text{OH})_2$) σε μονάδες απόσμησης λυμάτων στο Λονδίνο. (White, 1992)

Παρά το γεγονός ότι η χρήση της χλωρασβέστου ήταν επιτυχής ως προς την αποτελεσματικότητα κατά την εφαρμογή της σε διάφορα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων, απέτυχε στο να σημειώσει ευρεία διάδοση κυρίως εξαιτίας του γεγονότος ότι ο έλεγχος της ακριβούς προστιθέμενης δόσης παρουσίαζε δυσκολίες. Επιπρόσθετα, δυσχέρειες προέκυπταν κατά την διαχείριση και αποθήκευση (εύκολη αποδόμηση λόγω μεγάλης αστάθειας), ενώ το κόστος ήταν σχετικά υψηλό. Οι Wallace και Tierman (White, 1992) ανέπτυξαν το πρώτο εμπορικά εφαρμόσιμο σύστημα χλωρίωσης το οποίο αξιοποιήθηκε τόσο στην περίπτωση των λυμάτων όσο και στην περίπτωση του πόσιμου νερού. Ακολούθησε ταχεία εξάπλωση της μεθόδου, η οποία ενισχυμένη από τον οικονομικότερο και πιο αξιόπιστο εξοπλισμό τροφοδοσίας, οδήγησε στην ανάπτυξη 2200 μονάδων, εξυπηρετώντας πληθυσμό άνω των 38 εκατομμυρίων κατοίκων στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής κατά το έτος 1958 (White, 1978).

Η εφαρμογή της απολύμανσης των λυμάτων υπέστη θεμελιώδεις αλλαγές τον Αύγουστο του 1973 κατόπιν της επίσημης ανακοίνωσης των κανονισμών σχετικά με ανώτατα επιτρεπτά όρια κολοβακτηριδίων περιττωμάτων (fecal coliforms) από την Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (United States Environmental Protecting Agency). Η μέχρι τότε λειτουργία στην συντριπτική πλειοψηφία των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων αδυνατούσε να συμμορφωθεί με το προτεινόμενο όριο των 200 κολοβακτηριδίων ανά 1000 mL και συνεπώς αναγκάστηκαν να εφαρμόσουν ένα επιπρόσθετο στάδιο απολύμανσης. Ωστόσο, τον Ιούλιο του 1976 η Υπηρεσία

Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ αποφάσισε να διαγράψει τα όρια όσον αφορά στις συγκεντρώσεις των κολοβακτηριδίων στα δευτεροβαθμώς επεξεργασμένα λύματα.

Γενικότερα, η απολύμανση των αστικών λυμάτων εξακολούθησε έως και κάποια χρόνια μετά το 1900 να τελείται με χρήση κάποιας μορφής χλωρίου. Η χλωρίωση εδραιώθηκε λόγω του σχετικά χαμηλού κόστους, της διαθεσιμότητας ποικίλων χλωροενώσεων ως απολυμαντικοί φορείς και της αποτελεσματικότητας σχετικά με την καταστροφή των παθογόνων οργανισμών. Παρά τα προαναφερθέντα πλεονεκτήματα, τα τελευταία χρόνια έχουν γεννηθεί ανησυχίες όσον αφορά στα μειονεκτήματα της χλωρίωσης. Ειδικότερα, στα μειονεκτήματα της χρήσης χλωρίου κατά την απολύμανση των λυμάτων περιλαμβάνονται τα εξής:

- το υπολειμματικό χλώριο ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις χαρακτηρίζεται ως τοξικό για τα θαλάσσια οικοσυστήματα,
- όλες οι μορφές χλωρίου παρουσιάζουν υψηλή διαβρωτικότητα και τοξικότητα και επομένως η αποθήκευση, η μεταφορά και η διαχείρισή τους εγείρει ζητήματα επικινδυνότητας τα οποία επιβάλλουν αυξημένα μέτρα προστασίας,
- το χλώριο οξειδώνει ορισμένες ενώσεις της οργανικής ύλης η οποία περιέχεται στα λύματα προς παραγωγή παραπροϊόντων αυξημένης τοξικότητας,
- τα επίπεδα των ολικών διαλυμένων στερεών εμφανίζονται αυξημένα στο ρεύμα εξόδου κατόπιν της επεξεργασίας,
- η περιεκτικότητα σε χλώριο των επεξεργασμένων λυμάτων είναι κατά κανόνα ιδιαίτερα υψηλή,
- το υπολειμματικό χλώριο παρουσιάζει περιορισμένη σταθερότητα παρουσία ενώσεων οι οποίες αντιδρούν με αυτό έστω και με αργούς ρυθμούς και επομένως η ύπαρξη των τελευταίων σε σημαντικές συγκεντρώσεις επιβάλλει την εξ αρχής εισαγωγή αυξημένων συγκεντρώσεων χλωρίου, ούτως ώστε να εξασφαλιστεί η επίτευξη αποτελεσματικής απολύμανσης,
- ορισμένα παρασιτικά είδη αναπτύσσουν ανθεκτικότητα κατά την έκθεσή τους σε χαμηλές δόσεις χλωρίου (π.χ. αυγά παρασιτικών σκωλήκων),
- οι – σε βάθος χρόνου – επιπτώσεις της διάθεσης χλωριωμένων λυμάτων στο περιβάλλον δεν είναι σαφώς εξακριβωμένες. (EPA, 1999a)

Η επιλογή του βέλτιστου απολυμαντικού μέσου συναρτάται των ακόλουθων παραμέτρων:

- ικανότητα καταστροφής των μολυσματικών φορέων υπό τυπικές συνθήκες λειτουργίας,
- εύκολη και ασφαλής διαχείριση, αποθήκευση και μεταφορά,
- απουσία τοξικών υπολειμμάτων καθώς και περιορισμένη παραγωγή επικίνδυνων παραπροϊόντων απολύμανσης,

- ανεκτό πάγιο και λειτουργικό κόστος.

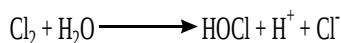
Παρά την εμφάνιση νέων εναλλακτικών μεθόδων απολύμανσης των λυμάτων, η μετατροπή των ήδη εν λειτουργία μονάδων προς υιοθέτηση αυτών έναντι της κλασσικής μεθόδου χλωρίωσης φαίνεται να είναι περιορισμένη καθώς η χλωρίωση χαρακτηρίζεται από χαμηλό πάγιο και λειτουργικό κόστος, αξιόπιστη λειτουργία και γνωστή τεχνολογία. (Singer et.al, 1988)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση σχετικά με τα Προβλήματα Διάθεσης Χλωριωμένων Λυμάτων στους Υδάτινους Αποδέκτες

2.1 Βασικά στοιχεία και έννοιες

2.1.1 Χημεία Χλωρίου

Κατά την διαλυτοποίηση του μοριακού χλωρίου στο νερό λαμβάνει χώρα η υδρόλυση αυτού σύμφωνα με την χημική αντίδραση:



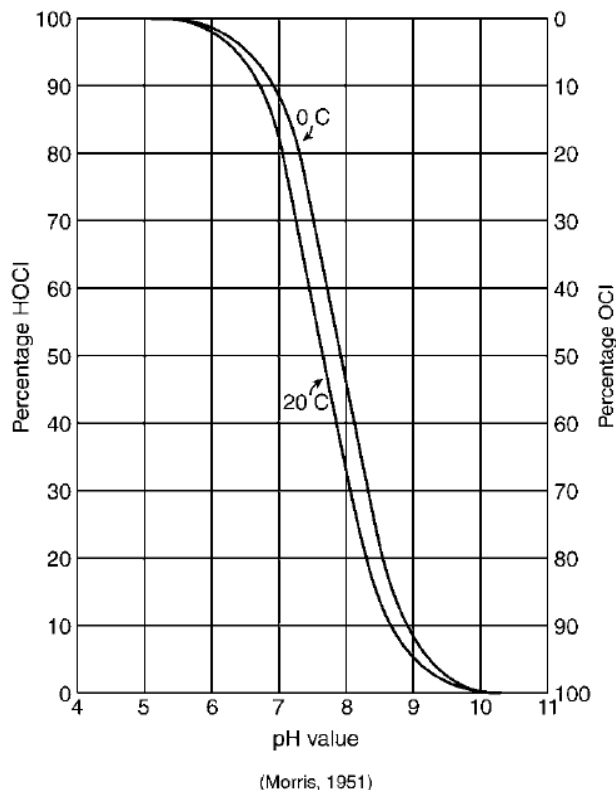
Η ανωτέρω αντίδραση χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα μεγάλη ταχύτητα καθώς επιτυγχάνεται απόδοση της τάξεως του 99% εντός μερικών δευτερολέπτων. Συνεπώς, η μελέτη της χημικής συμπεριφοράς του χλωρίου κατά τη διάλυσή του σε υδατικά διαλύματα αφορά επί της ουσίας στην παρατήρηση της χημικής συμπεριφοράς του υποχλωριώδους οξέος. (Glaze et.al, 1982)

Το υποχλωριώδες οξύ είναι ένα ασθενές οξύ το οποίο διίσταται κατά την χημική αντίδραση ισορροπίας:



Η σταθερά διάσπασης για το HOCl στους 18°C είναι $2,95 \cdot 10^{-8}$. Για διαλύματα με pH=7,5 απαντώνται περίπου ισομοριακές ποσότητες HOCl και OCl⁻. Συστηματικές πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η κινητική των αντιδράσεων του χλωρίου κατά την διαλυτοποίησή του σε υδατικά περιβάλλοντα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη. Σχετικές έρευνες έχουν συνταχθεί και δημοσιευθεί από τους Jolley (Jolley and Carpenter, 1982), Morris (Morris and McKay 1975), Carlson (Carlson and Caple 1977) και Pierce (Pierce 1978). Για αρκετές εκ των αντιδράσεων οι οποίες συνθέτουν την γενική κινητική, η παρατήρηση της επίδρασης του pH επί των ρυθμών αντίδρασης οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το υποχλωριώδες οξύ είναι το πλέον δραστικό αντιδραστήριο και εμπλέκεται άμεσα στον μηχανισμό σύνθεσης των κύριων δραστικών ενώσεων. Στο παρακάτω σχήμα (**Σχήμα 2.1.1**) παρουσιάζεται η κατανομή του υποχλωριώδους οξέος και του αντίστοιχου ανιόντος σε υδατικά διαλύματα, για διαφορετικές τιμές θερμοκρασίας και pH (WHO 1996). Το υποχλωριώδες οξύ είναι κατά 10^4 φορές δραστικότερο σε σχέση με το αντίστοιχο υποχλωριώδες ανιόν. Ωστόσο, ένας αξιόλογος αριθμός δημοσιευμένων μελετών (Carlson and Caple, 1997, Hine 1962) αποδίδει την δραστικότητα η οποία παρατηρείται στα χλωριωμένα διαλύματα στο υποχλωρονικό κατιόν (H_2OCl^+), στο χλωρονικό κατιόν

Cl⁺ και στις ελεύθερες ρίζες χλωρίου.



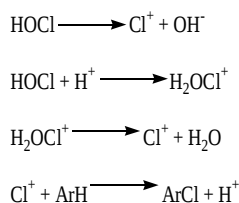
Σχήμα 2.1.1. Κατανομή του υποχλωριώδους οξέος και του αντίστοιχου ανιόντος σε υδατικά διαλύματα θερμοκρασίας 0 και 20°C ως συνάρτηση του pH του διαλύματος.

Το χλώριο αντιδρά με χουμικές ενώσεις (διαλυμένη οργανική ύλη) οι οποίες απαντώνται στα περισσότερα υδατικά περιβάλλοντα. Προϊόν των προαναφερθέντων αντιδράσεων αποτελούν διάφορα αλογονωμένα παραπροϊόντα απολύμανσης όπως τα τριαλογονομεθάνια (trihalomethanes, THMs), τα αλογονοξικά οξέα (halogenated acetic acids, HAAs), τα αλογονακετονιτρίλια (haloacetonitriles, HANs) καθώς και ενώσεις όπως η ένυδρη χλωράλη και η χλωροπικρίνη. Στα διαλυμένα οργανικά συστατικά – η αντίδραση των οποίων με το υποχλωριώδες οξύ ευθύνεται για την παραγωγή των διαφόρων οργανο-αλογονωμένων παραπροϊόντων – περιλαμβάνονται χουμικά και φουλβικά οξέα, υδρόφιλα οξέα, υδατάνθρακες, απλά καρβοξυλικά οξέα καθώς και πρωτεΐνες και αμινοξέα. Τα χουμικά και φουλβικά οξέα εκδηλώνουν αξιόλογα υψηλή δραστηριότητα παρουσία χλωρίου, ενώ οι υδατάνθρακες και τα καρβοξυλικά οξέα αντιδρούν με χαρακτηριστικά βραδείς ρυθμούς και ως εκ τούτου η συνεισφορά των τελευταίων στην παραγωγή οργανοχλωριωμένων παραγώγων δύναται να θεωρηθεί αμελητέα. Ωστόσο, ορισμένα υδρόφιλα οξέα όπως το κιτρικό ή ακόμη και κάποια απλά αμινοξέα, αντιδρούν με το χλώριο προς παραγωγή χλωροφορμίου και άλλων παραπροϊόντων και

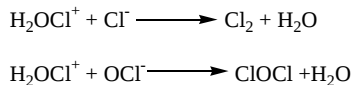
ενδεχομένως η συνεισφορά τους στο σύνολο των παραχθέντων ενώσεων να είναι σημαντική. (Amy 2000)

Κατά τους Carlson και Caple (Carlson and Caple, 1977) η σύνθεση χλωριωμένων οργανικών ενώσεων οφείλεται στην ανάπτυξη ηλεκτρονιόφιλης τάσης λόγω παρουσίας παραγωγών όπως τα κατιόντα H_2OCl^+ και Cl^+ ή δραστικών ελευθέρων ριζών. Η πρώτη κατηγορία αντιδράσεων περιλαμβάνει την παραγωγή προϊόντων μέσω αρωματικών υποκαταστάσεων ή αντιδράσεων προσθήκης, ενώ ο λιγότερο πιθανός μηχανισμός μέσω ελευθέρων ριζών ενδέχεται να λάβει χώρα παρουσία αντιδραστηρίων τα οποία καθιστούν δυνατή την παραγωγή μιας ενδιάμεσης ρίζας αυξημένης σταθερότητας.

Ο De la Mare και οι συνεργάτες του (de la Mare et.al, 1954) μελέτησαν την αλογονο-υποκατάσταση αρωματικών ενώσεων χρησιμοποιώντας διαλύματα υποχλωριώδους οξέος χαμηλών συγκεντρώσεων με παράλληλη προσθήκη υπερχλωρικού οξέος και υπερχλωρικού αργύρου (AgClO_4). Εκ των πειραματικών αποτελεσμάτων κατέστη προφανές ότι οι παρατηρούμενοι ρυθμοί αντίδρασης καθορίζονται από το στάδιο παραγωγής του Cl^+ σύμφωνα με την αλληλουχία των αντιδράσεων:



Ωστόσο, σε αλκαλικό περιβάλλον και απουσία ιόντων αργύρου η πολυπλοκότητα του συστήματος αυξάνεται σημαντικά. Τα ανιόντα OCl^- και Cl^- τα οποία επίσης παράγονται κατά την χλωρίωση υδάτων αντιδρούν προς παραγωγή νέων χλωρο-ενώσεων:

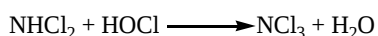
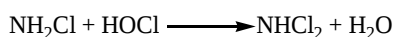
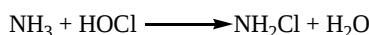


Τα προϊόντα αυτά (Cl_2 και Cl_2O) αποτελούν δραστικά απολυμαντικά μέσα. Ο Hine (Hine 1962) παρουσίασε μελέτες οι οποίες υποστήριζαν πως παρά το γεγονός ότι το υποχλωρόνιο κατιόν H_2OCl^+ παρουσιάζει πολύ πιο περιορισμένη δραστικότητα από το κατιόν χλωρονίου Cl^+ , ενδέχεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο κατά την χλωρίωση πολύ δραστικών υποστρωμάτων όπως η ανισόλη και η φαινόλη. Ωστόσο, λίγες είναι οι έρευνες οι οποίες παρουσιάζουν κάποια ολοκληρωμένη κινητική καθώς παραμένουν αρκετά σημεία αυξημένης αβεβαιότητας όσον αφορά στον μηχανισμό ο οποίος

διέπει τις διαδικασίες χλωρίωσης υδάτων.

Σε διαλύματα υψηλότερων συγκεντρώσεων χλωρίου π.χ. άνω του 1g/L (1000ppm) και για χαμηλές τιμές pH, ενδέχεται το μοριακό χλώριο να λάβει τον ρόλο ενός σημαντικού στοιχείου για το σύνολο της κινητικής. Διαλύματα αυτής της κατηγορίας φέρουν έντονο κίτρινο χρωματισμό, γεγονός το οποίο αποδίδεται στην παρουσία μοριακού χλωρίου.

Άλλα αξιόλογα δραστικά συστατικά τα οποία απαντώνται σε συστήματα χλωρίωσης υδάτινων σωμάτων είναι οι χλωραμίνες οι οποίες προκύπτουν ως προϊόν αντίδρασης της αμμωνίας και των παραγώγων της με HOCl:



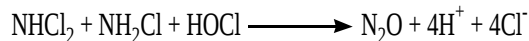
Οι μελέτες οι οποίες έχουν δημοσιευθεί επί του θέματος είναι διάφορες. Μια συνοπτική περίληψη της δραστηκότητας αυτών των ενώσεων παρουσιάστηκε από τους Kovacic και Jolley (Kovacic et.al, 1970, Jolley 1973). Ο Jolley υπολόγισε τις συγκεντρώσεις των δραστικών ενώσεων του χλωρίου βάσει των σταθερών ισορροπίας των ανάλογων αντιδράσεων. Για παράδειγμα, ένα σύστημα μελέτης με pH=7,5 το οποίο περιέχει Cl₂ και Cl⁻ σε συγκεντρώσεις 1 και 10 mg/L οδήγησε στην απόδοση ως προς τα παραγόμενα χλωροπαραγώγα που περιγράφεται στον **Πίνακα 2.1.1**.

Πίνακας 2.1.1. Απόδοση ως προς την παραγωγή των επιμέρους χλωρο-παραγώγων κατά την χλωρίωση.

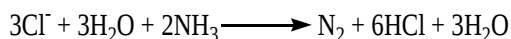
Χημική ένωση	Συγκέντρωση (mg/L) (ισοδύναμα Cl)
HOCl + OCl ⁻	0.0004
NH ₂ Cl	0.9729
NHCl ₂	0.0264
NCl ₃	ίχνη

Παρά ταύτα, αξίζει να σημειωθεί πως η ειδική δραστηκότητα της μονοχλωραμίνης είναι κατά 10⁴ φορές μικρότερη ως προς την δραστηκότητα του HOCl (Morris 1976). Επίσης, η μονοχλωραμίνη αποτελεί

ένα αποτελεσματικό αντιδραστήριο αμίνωσης το οποίο δρα ανταγωνιστικά με τις κλασσικές αντιδράσεις χλωρίωσης. Η ακόλουθη αντίδραση αποτελεί μια ενδεικτική ανταγωνιστική δράση η οποία ενδέχεται να λάβει χώρα σε υδάτινο περιβάλλον:



Οι αντιδράσεις αυτές πραγματοποιούνται όταν το ελεύθερο χλώριο (HOCl και OCl⁻) τείνει να λάβει την οκταπλάσια περίπου τιμή του βάρους του διαθέσιμου αζώτου. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι πλήρως κατανοητός, αξίζει δε να σημειωθεί ότι ενώ οι αντιδράσεις σύνθεσης χλωραμίνης παράγουν νέα – πιθανώς δραστικά – παράγωγα χλωρίωσης, η χλωρίωση στο οριακό σημείο πλήρους οξειδωσης (breakpoint chlorination) οδηγεί σε μείωση του συνόλου των δραστικών ενώσεων του χλωρίου. Ως χλωρίωση στο σημείο πλήρους οξειδωσης ορίζεται η διαδικασία χλωρίωσης κατά την οποία η προστιθέμενη ποσότητα χλωρίου είναι ίση με την στοιχειομετρικά απαιτούμενη για πλήρη μετατροπή της αμμωνίας σε άζωτο σύμφωνα με την αντίδραση:



Πρακτικά αυτού του είδους η χλωρίωση αναφέρεται στην εισαγωγή αέριου χλωρίου έως ότου αυτό ανιχνεύεται ελεύθερο με κάποια αναλυτική μέθοδο, καταδεικνύοντας την πλήρη μετατροπή της αμμωνίας σε χλωραμίνες ή άλλες μορφές. (Glaze et.al, 1982)

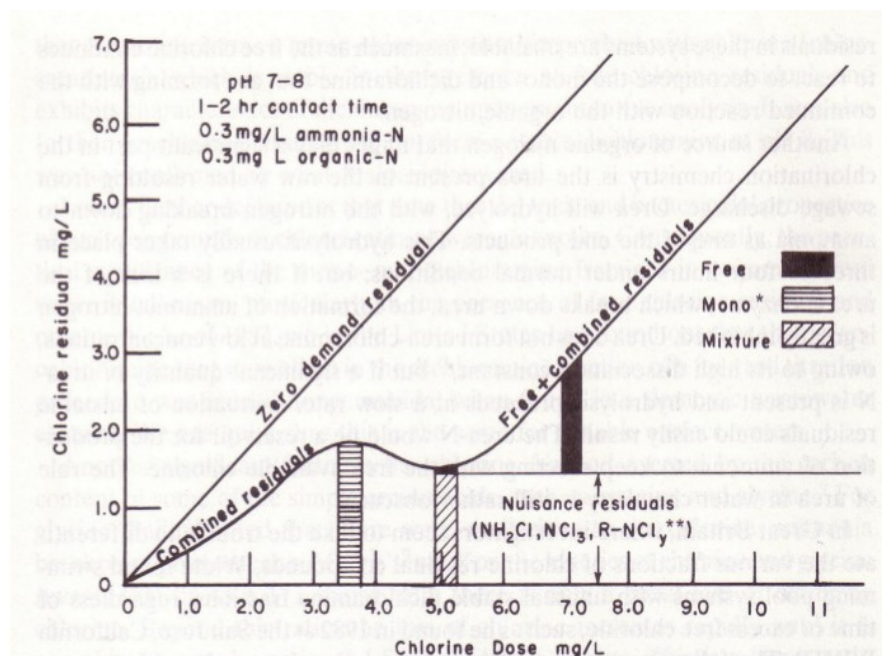
2.1.2 Απαίτηση σε χλώριο

Η απαίτηση σε χλώριο είναι η διαφορά μεταξύ της συγκέντρωσης του προστιθέμενου χλωρίου και της τελικής συγκέντρωσης και ισούται με την ποσότητα του χλωρίου η οποία προστίθεται έως το σημείο πλήρους οξειδωσης. Η διαμόρφωση της τιμής αυτής καθορίζεται από τις αντιδράσεις του χλωρίου με διάφορα συστατικά τα οποία απαντώνται στα υπό χλωρίωση ύδατα. Η απαίτηση σε χλώριο αποτελεί μια παράμετρο η οποία παρακολουθείται συνεχώς κατά την επεξεργασία των λυμάτων διότι:

- η δόση του προστιθέμενου χλωρίου θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να υπερκαλύπτει την απαίτηση σε χλώριο και να παραμένει η περίσσεια ως υπολειμματικό χλώριο. Κατ' αυτόν τον τρόπο καθίσταται εφικτός ο έλεγχος των παθογόνων και των κολοβακτηριδίων,
- εάν η απαίτηση σε χλώριο είναι αναπάντεχα υψηλή θα πρέπει να διερευνηθεί η συνολική

διεργασία αφού προηγουμένως οριστούν διακριτά στάδια ούτως ώστε να διαπιστωθεί η αιτία της υψηλής απαίτησης σε χλώριο. Εν συνεχεία, θα πρέπει να πραγματοποιηθούν οι απαραίτητες τροποποιήσεις στο 'προβληματικό' στάδιο ώστε να επιτευχθεί μείωση της απαίτησης σε χλώριο και να είναι έτσι εφικτός αφενός ο περιορισμός του κόστους και αφετέρου η ελαχιστοποίηση της παραγωγής παραπροϊόντων.

Κατά την επεξεργασία των λυμάτων, ένα μέρος της απαίτησης σε χλώριο αντιστοιχεί στην άμεση αντίδραση του χλωρίου με ενώσεις όπως το υδρόθειο, η αμμωνία, ο σίδηρος, το μαγγάνιο καθώς και ένα μέρος της οργανικής ύλης. Το υπολειμματικό χλώριο κατά κανόνα αποσυντίθεται ακολουθώντας μια διαμόρφωση εκθετικού τύπου ως προς τον χρόνο καθώς αντιδρά αργά με λιγότερο δραστικές υπολειμματικές ενώσεις, κατά κανόνα οργανικής προελεύσεως. Το ακόλουθο σχήμα (Σχήμα 2.1.2) παρουσιάζει μια τυπική καμπύλη απαίτησης σε χλώριο. (White 1992)



Σχήμα 2.1.2. Σχέση μεταξύ υπολειμματικού χλωρίου και δόσης χλωρίου για δείγματα λυμάτων.

*πρωτοταγής μονοχλωραμίνη

**οργανοχλωραμίνες $R-NCl_y$

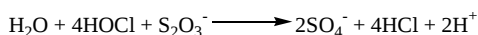
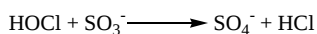
$R-NCl_y$: τιτλοδοτείται ως διχλωραμίνη

2.1.3 Κατηγορίες χημικών αντιδράσεων

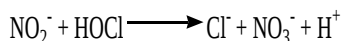
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το ελεύθερο χλώριο γενικά αντιδρά με συστατικά τα οποία περιέχονται σε υδατικά περιβάλλοντα μέσω τριών κατηγοριών αντιδράσεων:

(α) Αντιδράσεις οξειδωσης

Ορισμένες εκ των πλέον σημαντικών αντιδράσεων οξειδωσης λαμβάνουν χώρα μεταξύ χλωρίου και άλλων ανόργανων συστατικών. Ενδεικτικές αντιδράσεις αυτού του τύπου είναι οι ακόλουθες:



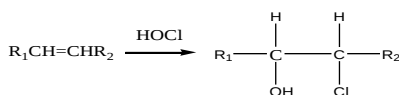
Τα θειώδη και τα θειοθειικά αντιδρούν ταχύτατα και ποσοτικά με όλες τις μορφές του διαλυμένου χλωρίου και συνεπώς συχνά χρησιμοποιούνται ως 'αποσβέστες' στις μελέτες συστημάτων χλωρίωσης. Τα νιτρώδη αντιδρούν με το διαλυμένο χλώριο προς σύνθεση νιτρικών κατά την αντίδραση:



Στα αναγωγικά μέσα τα οποία αντιδρούν με το υποχλωριώδες οξύ περιλαμβάνονται τα δισθενή κατιόντα Fe^{2+} και Mn^{2+} , το υπεροξείδιο του υδρογόνου καθώς και ορισμένες οργανικές ενώσεις. Ο ακριβής μηχανισμός αυτών των αντιδράσεων δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητός. Ωστόσο, η μεγαλύτερη ποσότητα του διαλυμένου χλωρίου καταναλώνεται μέσω αντιδράσεων οξειδωσης. (Amy 2000)

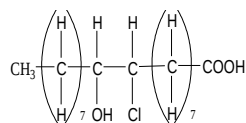
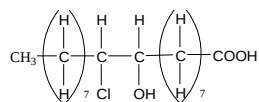
(β) Αντιδράσεις προσθήκης

Το υποχλωριώδες οξύ συμμετέχει σε αντιδράσεις προσθήκης εάν το οργανικό αντιδραστήριο περιέχει κάποιο ακόρεστο δεσμό. Αρκετά συστατικά με διπλό δεσμό ωστόσο αντιδρούν με ιδιαίτερα βραδείς ρυθμούς. Μια αξιόλογη αντίδραση προσθήκης είναι η σύνθεση χλωρο-υδρινών:



Επιπλέον, οι Carlson και Caple (Carlson and Caple 1977) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η χλωρίωση

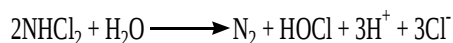
του ολεϊκού οξέος σε υδατικό περιβάλλον παράγει μέσω αντίδρασης προσθήκης μείγμα 9-χλωρο-10-υδροξυ-στεαρικό οξύ και 10-χλωρο-9-υδροξυ-στεαρικό οξύ:



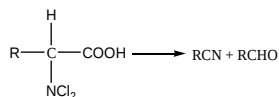
(γ) Αντιδράσεις υποκατάστασης

Το υποχλωριώδες οξύ πέραν των αντιδράσεων οι οποίες εκδηλώνονται παρουσία αμμωνίας, παρουσιάζει αξιόλογη δραστηριότητα κατά την αντίδρασή του με διάφορες οργανικές αμίνες (απομάκρυνση πρωτονίου με ταυτόχρονη δημιουργία δεσμού μεταξύ αζώτου-χλωρίου). Ο ρυθμός της αντίδρασης γενικά καθορίζεται από την ισχύ της πυρηνόφιλης τάσης του νιτρώδους υποστρώματος.

Για την πραγματοποίηση αντίδρασης μεταξύ του υποχλωριώδους οξέος και αμιδίων κατά κανόνα απαιτούνται εντονότερες συνθήκες από αυτές που επικρατούν πρακτικά σε μια τυπική μονάδα χλωρίωσης λυμάτων. Οι δεσμοί αζώτου – χλωρίου στις πλείστες των περιπτώσεων παρουσιάζουν περιορισμένη σταθερότητα σε υδατικά περιβάλλοντα. Για παράδειγμα οι δι- και τρι-χλωραμίνες αποσυντίθενται προς άζωτο και υποχλωριώδες οξύ κατά την αντίδραση:



Τα δε διχλωρο-αμινοξέα αποσυντίθενται προς νιτρίλια ή/και αλδεΐδες αναλόγως του λόγου αμινοξύ/χλώριο, του pH και άλλων παραγόντων:



Η δεύτερη και πιο σημαντική κατηγορία αντιδράσεων υποκατάστασης αφορά στην απομάκρυνση πρωτονίου κατά την θραύση ενός δεσμού άνθρακα – υδρογόνου και δημιουργία ενός δεσμού άνθρακα – χλωρίου. Αυτού του τύπου οι αντιδράσεις απαιτούν την ενεργοποίηση του αποσπώμενου πρωτονίου πριν το ουσιαστικό βήμα κατά το οποίο τελείται η υποκατάσταση. Υποστρώματα όπως ενεργοποιημένα αρωματικά συστήματα ή α, α'-δικετομεθυλενομάδες θεωρούνται απαραίτητα για την πραγματοποίηση αυτών των αντιδράσεων. Ο Soper (Soper and Smith, 1926) πρώτος μελέτησε συστηματικά αυτές τις αντιδράσεις περιγράφοντας την φαινολική υποκατάσταση παρουσία χλωρίου. Αρωματικοί υποκαταστάτες όπως υδροξυ-, αλκοξυ- και αμινο-ομάδες (ισχυροί δότες ηλεκτρονίων) χαρακτηρίζονται από την ικανότητα ενεργοποίησης του αρωματικού δακτυλίου κατά την διεργασία της χλωρίωσης.

2.1.4. Κύριες κατηγορίες παραπροϊόντων

Τα παραπροϊόντα απολύμανσης κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες (τριαλογονομεθάνια, αλογονοξικά οξέα, αλογονακετονιτρίλια, χλωροφαινόλες) οι οποίες συνθέτουν την ευρύτερη ομάδα των αλογονωμένων οργανικών παραγώγων. Αντίστοιχα ορίζεται η κατηγορία των μη-αλογονωμένων παραπροϊόντων απολύμανσης η οποία περιλαμβάνει αλδεύδες, κετοξέα, κετόνες, καρβοξυλικά οξέα, μαλεϊκά οξέα, νιτροζαμίνες, αλκανικά οξέα, βενζόλιο κ.α. Παρά το γεγονός ότι τα παραπροϊόντα χλωρίωσης έχουν λάβει την μεγαλύτερη μερίδα του ερευνητικού ενδιαφέροντος, αξίζει να σημειωθεί ότι όλες οι μέθοδοι απολύμανσης οδηγούν – σε κάποιο βαθμό – στην παραγωγή παραπροϊόντων. Η οζόνωση για παράδειγμα διαμορφώνει από ποιοτικής άποψης ένα εντελώς διαφορετικό σύνολο παραπροϊόντων απολύμανσης σε σχέση με την διεργασία της χλωρίωσης. Στον πρώτο εκ των δύο πινάκων που ακολουθούν (**Πίνακας 2.1.2**) παρουσιάζονται τα διάφορα παραπροϊόντα απολύμανσης τα οποία έχουν ανιχνευθεί κατά την χρήση του χλωρίου, του διοξειδίου του χλωρίου, της χλωραμίνης και του όζοντος ως απολυμαντικό φορέα, στον δε δεύτερο (**Πίνακας 2.1.3**) καταγράφονται αναλυτικά τα ακριβή παραπροϊόντα της χλωρίωσης.

Πίνακας 2.1.2. Παραπροϊόντα απολύμανσης κατά την χρήση χλωρίου, διοξειδίου του χλωρίου, χλωραμίνης και όζοντος ως απολυμαντικό φορέας. (Amy 2000)

Απολυμαντικός φορέας	Σημαντικά οργανοχλωριωμένα παραπροϊόντα	Σημαντικά ανόργανα παραπροϊόντα	Σημαντικά μη αλογονωμένα παραπροϊόντα
Χλώριο	τριαλογονομεθάνια αλογονοξικά οξέα αλογονακετονιτρίλια ένυδρη χλωράλη χλωροπικρίνη χλωροφαινόλες N-χλωραμίνες αλογονοφουρανόνες βρωμο-υδρίνες	χλωρικό ιόν	αλδεΰδες κυανοαλκανικά οξέα αλκανικά οξέα βενζόλιο καρβοξυλικά οξέα νιτροζαμίνες
Διοξείδιο του χλωρίου		χλωρικό ιόν χλωριώδες ιόν	απουσία σχετικών μελετών
Χλωραμίνη	αλογονακετονιτρίλια κυανιούχο χλώριο οργανικές χλωραμίνες ένυδρη χλωράλη χλωραμινοξέα αλογονοκετόνες	νιτρικό ιόν νιτρώδες ιόν χλωρικό ιόν υδραζίνη	αλδεΰδες κετόνες νιτροζαμίνες
Όζον	Βρωμοφόρμιο μονοβρωμοξικό οξύ διβρωμοξικό οξύ διβρωμοακετόνη κυανιούχο βρώμιο	Χλωρικό ιόν ιωδικό ιόν βρωμικό ιόν υπεροξείδιο του υδρογόνου HOBr εποξειδία	αλδεΰδες κετοξέα κετόνες καρβοξυλικά οξέα

Πίνακας 2.1.3. Αναλυτική καταγραφή των παραπροϊόντων χλωρίωσης. (Kranser et.al, 1989, Froese et.al, 1999)

Κατηγορία παραπροϊόντων	Παραπροϊόν	Χημικός τύπος
Τριαλογονομεθάνια (Trihalomethanes, THMs)	Χλωροφόρμιο (Chloroform)	CHCl ₃
	Βρωμοδιχλωρομεθάνιο (Bromodichloromethane)	CHCl ₂ Br
	Διβρωμοχλωρομεθάνιο (Dibromochloromethane)	CHClBr ₂
	Βρωμοφόρμιο (Bromoform)	CHBr ₃
Αλογονοξικά οξέα (Haloacetic acids, HAAs)	Μονοχλωροξικό οξύ (Monochloroacetic acid)	CH ₂ ClCOOH
	Διχλωροξικό οξύ (Dichloroacetic acid)	CHCl ₂ COOH
	Τριχλωροξικό οξύ (Trichloroacetic acid)	CCl ₃ COOH
	Βρωμοχλωροξικό οξύ (Bromochloroacetic acid)	CHBrClCOOH
	Βρωμοδιχλωροξικό οξύ (Bromodichloroacetic acid)	CBrCl ₂ COOH
	Διβρωμοχλωροξικό οξύ (Dibromochloroacetic acid)	CBr ₂ ClCOOH
	Μονοβρωμοξικό οξύ (Monobromoacetic acid)	CH ₂ BrCOOH
	Διβρωμοξικό οξύ (Dibromoacetic acid)	CHBr ₂ COOH
	Τριβρωμοξικό οξύ (Tribromoacetic acid)	CBr ₃ COOH
Αλογονοακετονιτρίλια (Haloacetonitriles, HANs)	Τριχλωρακετονιτρίλιο (Trichloroacetonitrile)	CCl ₃ CN
	Διχλωρακετονιτρίλιο (Dichloroacetonitrile)	CHCl ₂ CN
	Βρωμοχλωρακετονιτρίλιο	CHBrClCN

	(Bromochloroacetonitrile)	
	Διβρωμακετονιτρίλιο (Dibromoacetonitrile)	CHBr_2CN
Αλογονοκετόνες (Haloketones, HKs)	1,1-διχλωροακετόνη (1,1-Dichloroacetone)	$\text{CHCl}_2\text{COCH}_3$
	1,1,1-τριχλωροακετόνη (1,1,1-Trichloroacetone)	$\text{CCl}_3\text{COCH}_3$
Άλλες χλωριωμένες ενώσεις (Miscellaneous)	Ένυδρη χλωράλη (Choral hydrate)	$\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$
	Χλωροπικρίνη (Chloropicrin)	CCl_3NO_2
Κυανοαλογονίδια (Cyanogen halides)	Χλωριούχο κυάνιο (Cyanogen chloride)	ClCN
	Βρωμιούχο κυάνιο (Cyanogen bromide)	BrCN
Οξυαλογονίδια (Oxyhalides)	Χλωριώδες (Chlorite)	ClO_2^-
	Χλωρικό (Chlorate)	ClO_3^-
	Βρωμικό (Bromate)	BrO_3^-
Αλδεΰδες (Aldehydes)	Φορμαλδεΰδη ¹ (Formaldehyde)	HCHO
	Ακεταλδεΰδη ² (Acetaldehyde)	CH_3CHO
	Γλυοξάλη (Glyoxal)	OHCCHO
	Μεθυλογλυοξάλη (Methyl glyoxal)	CH_3COCHO
	Ισοβουτυραλδεΰδη ³ (Isobutyraldehyde)	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCHO}$
	Ισοβαλεραλδεΰδη ⁴ (Isovaleraldehyde)	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CHO}$

	2-μεθυλοβουτυραλδεϋδη ⁵ (2-Methylbutyraldehyde)	$(\text{CH}_3)(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CHCHO}$
	Φαινυλακεταλδεϋδη ⁶ (Phenylacetaldehyde)	$(\text{C}_6\text{H}_5)\text{CH}_2\text{CHO}$
Αλδοκετοξέα (Aldoketoacids)	Γλυοξαλικό οξύ (Glyoxalic acid)	OHCCHO
	Πυροσταφλικό οξύ (Pyruvic acid)	CH_3COCOOH
	Κετομαλονικό οξύ (Ketomalonic acid)	HOCCOCOOH
Καρβοξυλικά οξέα (Carboxylic acids)	Μυρμηκικό (Formate)	HCOO^-
	Οξικό (Acetate)	CH_3COO^-
	Οξαλικό (Oxalate)	$\text{OOC}\text{COO}^{2-}$
Χλωροφαινόλες (Chlorophenols, CPh)	Χλωροφαινόλη (Chlorophenol)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$
	Διχλωροφαινόλη (Dichlorophenols)	$\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$
	Τριχλωροφαινόλη (Trichlorophenols)	$\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_3$
Χλωροανισόλες (Chloroanisoles)	Τρίχλωροανισόλες ⁷ (Trichloroanisoles)	$\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_3\text{Cl}_3$

¹προϊόν αντίδρασης της γλυκίνης

²προϊόν αντίδρασης της αλανίνης

³προϊόν αντίδρασης της βαλίνης

⁴προϊόν αντίδρασης της λευκίνης

⁵προϊόν αντίδρασης της ισολευκίνης

⁶προϊόν αντίδρασης της φαινυλαλανίνης

⁷προϊόν βιομετατροπής τριχλωροφαινολών

2.1.5 Νέα γενιά παραπροϊόντων

Η εξέλιξη των αναλυτικών μεθόδων οι οποίες εφαρμόζονται για την μελέτη των παραπροϊόντων απολύμανσης επιφέρει μια συνεχή αύξηση του πλήθους των ενώσεων οι οποίες κατατάσσονται στις διάφορες κατηγορίες παραγώγων. Χαρακτηριστική είναι η σημαντική παράλειψη του χλωροφορμίου ως παραπροϊόν χλωρίωσης κατά τις αρχικές μελέτες καθώς οι τότε τεχνικές περιελάμβαναν την

χρησιμοποίηση χλωροφορμίου ως διαλύτη για την εκχύλιση των οργανικών παραπροϊόντων τα οποία είχαν υποστεί προσρόφηση σε ενεργό άνθρακα. Οι πιο πρόσφατες μελέτες βασίζονται στην ταυτοποίηση παραπροϊόντων μέσω εξάτμισης αυτών κατόπιν θέρμανσης του χλωριωμένου δείγματος και ακόλουθη ανάλυση με αεριοχρωματογραφία. Ωστόσο, είναι προφανές ότι η τεχνική αυτή αποκλείει την ανίχνευση παραπροϊόντων τα οποία χαρακτηρίζονται από περιορισμένη πτητικότητα καθώς και εκείνων τα οποία ταχέως διασπώνται κατά την έκθεσή τους στη θερμοκρασία θέρμανσης του δείγματος. Μόλις την τελευταία δεκαπενταετία αναπτύχθηκαν αξιόπιστες αναλυτικές μέθοδοι για την μελέτη των μη πτητικών ή θερμοευαίσθητων συστατικών. Επιπλέον, αυξημένη είναι η ευαισθησία των μεθόδων ανάλυσης και συνεπώς είναι εφικτή η ανίχνευση ενώσεων σε ίχνη, γεγονός το οποίο είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς σε τέτοιας κλίμακας συγκεντρώσεις απαντάται η πλειάδα των παραπροϊόντων απολύμανσης.

Αρκετές είναι οι ελλείψεις σχετικά με τα παραπροϊόντα τα οποία είτε παρουσιάζουν πολύ υψηλή υδατοδιαλυτότητα ή ελάχιστη πτητικότητα ή ακόμα υψηλή θερμική ευαισθησία λόγω αποσύνθεσης. Για τα αλογονωμένα παραπροϊόντα η εφαρμογή ισοζυγίων μάζας (βάσει του συνόλου των οργανικών αλογονιδίων) προτείνει πως λιγότερο από το 50% των συνολικών αλογονωμένων οργανικών έχουν ανιχνευθεί και ταυτοποιηθεί με σχετική ακρίβεια. Αναμφίβολα απαιτούνται νέες προσεγγίσεις ανάλυσης για την πλήρη εκτίμηση του εύρους των παραγόμενων παραπροϊόντων. (Hrudey 2008)

Τα σημαντικότερα εκ των παραγώγων τα οποία περιγράφηκαν για πρώτη φορά σε σχετικά πρόσφατες δημοσιεύσεις παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (**Πίνακας 2.1.4**).

Πίνακας 2.1.4. Προσφάτως ταυτοποιημένα παραπροϊόντα. (Kranser et.al, 2006, Richardson et.al, 2007)

Κατηγορία παραπροϊόντων	Παραπροϊόν
Αλογονοξέα (Haloacids)	3,3-διχλωροπροπενικό οξύ (3,3 dichloropropenoic acid)
	3-βρώμο-3-χλώρο-4-οξυπεντανικό οξύ (3-bromo-3-chloro-4-oxypentanoic acid)
Αλογονοξικά (Haloacetates)	Βρωμοχλωρομεθυλοξικό (bromochloromethylacetate)
Αλογονονιτρομεθάνια (Halo-nitromethanes)	Χλωρονιτρομεθάνιο (chloronitromethane)
	Διχλωρονιτρομεθάνιο (dichloronitromethane)

	<p>Βρωμοχλωρονιτρομεθάνιο (bromochloronitromethane)</p>
	<p>Διβρωμοχλωρονιτρομεθάνιο (dibromochloronitromethane)</p>
	<p>Βρωμοδιχλωρονιτρομεθάνιο (bromodichloronitromethane)</p>
Ιωδοτριαλογονομεθάνια (Iodo-tri halomethanes)	<p>Διχλωρο-ιωδομεθάνιο (dichloroiodomethane)</p>
	<p>Βρωμο-ιωδοχλωρομεθάνιο (bromochloroiodomethane)</p>
	<p>Δι-ιωδοχλωρομεθάνιο (chlorodiiodomethane)</p>
Άλλα αλογονομεθάνια	<p>Χλώρομεθάνιο (chloromethane)</p>
	<p>Βρωμοχλωρομεθάνιο (bromochlorometane)</p>
	<p>Τετραχλωράνθρακας (carbon tetrachloride)</p>
	<p>Τριβρωμοχλωρομεθάνιο (tribromochloromethane)</p>
Αλογονοακετονιτρίλια (Haloacetonitriles HANs)	<p>Χλωροακετονιτρίλιο (chloroacetonitrile)</p>
	<p>Βρωμοδιχλωροακετονιτρίλιο (bromodichloroacetonitrile)</p>
	<p>Διβρωμοχλωροακετονιτρίλιο (dibromochloroacetonitrile)</p>
Αλογονοκετόνες (Haloketones)	<p>Χλώροπροπανόνη (chloropropanone)</p>
	<p>1,3-διχλώροπροπανόνη (1,3-dichloropropanone)</p>
	<p>1,1,1,3-τετραχλωροπροπανόνη (1,1,1,3-tetrachloropropanone)</p>
	<p>1,1,3,3-τετραχλωροπροπανόνη</p>

	(1,1,3,3-tetrachloropropanone)
Αλογονοκετόνες (Haloketones)	1,1,3-τριχλωροπροπανάνη (1,1,3-trichloropropanone)
	1,1,1,3,3-πενταχλωροπροπανάνη (1,1,1,3,3-pentachloropropanone)
	1-βρωμο-1,1-διχλωροπροπανάνη (1-bromo-1,1-dichloropropanone)
	1-βρωμο-1,3,3-τριχλωροπροπανάνη (1-bromo-1,3,3-trichloropropanone)
	Εξαχλωροπροπανάνη (hexachloropropanone)
Αλογοναλδεΐδες (Haloaldehydes)	Χλωροακεταλδεΐδη (chloroacetaldehyde)
	Διχλωροακεταλδεΐδη (dichloroacetaldehyde)
	Βρωμοχλωροακεταλδεΐδη (bromochloroacetaldehyde)
Αλογονοαμίδια (Haloamides)	Μονοχλωροακεταμίδιο (monochloroacetamide)
	Διχλωροακεταμίδιο (dichloroacetamide)
	Τριχλωροακεταμίδιο (trichloroacetamide)
Άλλα παραπροϊόντα (miscellaneous)	1,1,1,2-τετράβρωμο-2-χλωροαιθάνιο (1,1,1,2-tetrabromo-2-chloroethane)
	1,1,2,2-τετράβρωμο-2-χλωροαιθάνιο (1,1,2,2-tetrabromo-2-chloroethane)
	Βενζυλοχλωρίδιο (benzyl chloride)
Αλδεΐδες (Aldehydes)	Χλωροακεταλδεΐδη (chloroacetaldehyde)
Αλογονωμένες φουρανόνες (Halogenated furanones)	3-χλωρο-4-διχλωρομεθυλο-5-υδροξυ-2(5H)-φουρανόνη (MX: 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H) – furanone)

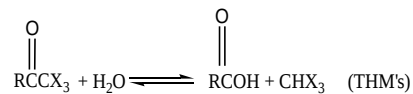
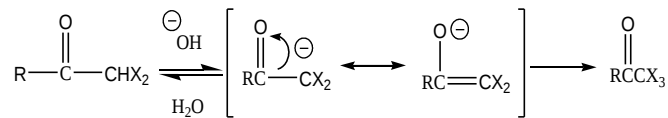
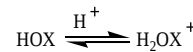
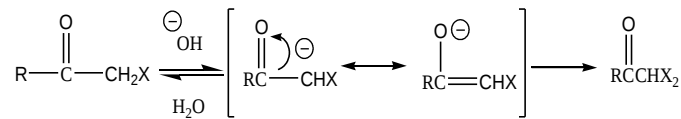
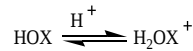
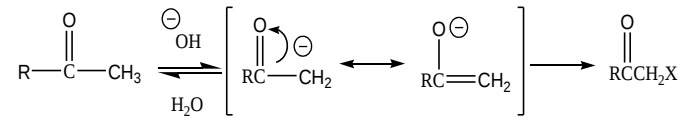
3-χλωρο-4-βρωμοχλωρομεθυλο-5-υδροξυ-2(5H)-φουρανόνη (BMX1 : 3-chloro-4-(bromochloromethyl)-5-hydroxy-2(5H) – furanone)
3-χλωρο-4-διβρωμομεθυλο-5-υδροξυ-2(5H)-φουρανόνη (BMX2 : 3-chloro-4-(dibromomethyl)-5-hydroxy-2(5H) – furanone)
(E)-2-χλωρο-3-βρωμοχλωρομεθυλο-4-οξοβουτενικό οξύ (BEMX1 : (E)-2-chloro-3-(bromochloromethyl)-4-oxobutenoic acid)
(E)-2-χλωρο-3-διβρωμομεθυλο-4-οξοβουτενικό οξύ (BEMX2 : (E)-2-chloro-3-(dibromomethyl)-4-oxobutenoic acid)
(Z)-2-χλωρο-3-διχλωρομεθυλο-4-οξοβουτενικό οξύ (ZMX : (Z)-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic acid)
(E)-2-χλωρο-3-διχλωρομεθυλο-4-οξοβουτενικό οξύ (EMX : (E)-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic acid)
3-χλωρο-4-διχλωρομεθυλο-2-(5H)-φουρανόνη (red-MX : 3-chloro-4-(dichloromethyl)-2-(5H)-furanone)
(E)-2-χλωρο-3-διχλωρομεθυλο-βουταδιενικό οξύ (ox-MX : (E)-2-chloro-3-(dichloromethyl) butenedioic acid)
2,3-διχλωρο-4-οξοβουτενικό οξύ (MCA : 2,3-dichloro-4-oxobutenoic acid)

2.1.6 Αλογονομεθάνια

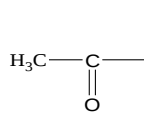
Μια ιδιαίτερα σημαντική ομάδα αντιδράσεων υποκατάστασης αντιστοιχεί στις αντιδράσεις παραγωγής αλογονοφορμίων. Ο μηχανισμός των αντιδράσεων αυτών χαρακτηρίζεται ως αρκετά πολύπλοκος. Τα υποστρώματα τα οποία οδηγούν στην παραγωγή αλογονοφορμίων είναι διάφορα και εξ αυτών αξιόλογο ενδιαφέρον παρουσιάζουν εκείνα τα οποία περιλαμβάνουν ενώσεις οι οποίες φέρουν κάποια μεθυλοκετομάδα καθώς και δομές οι οποίες εύκολα μπορούν να οξειδωθούν προς σύνθεση της προαναφερθείσας χαρακτηριστικής ομάδας (π.χ. δευτεροταγείς αλκοόλες).

Οι Morris και Baum διερεύνησαν την κλασική αλληλουχία των διαδοχικών αντιδράσεων για την παραγωγή αλογονοφορμίων (Morris and Baum, 1978). Το παρακάτω σχήμα περιλαμβάνει κάποια από τα βασικότερα χαρακτηριστικά αυτού του μηχανισμού, όπως για παράδειγμα το γεγονός ότι η αντίδραση καταλύεται με την προσθήκη βάσεων καθώς και ότι το βρώμιο και το ιώδιο ενδέχεται να αντιδράσουν με το υποχλωριώδες οξύ και να ενσωματωθούν στα τελικά αλογονοπροϊόντα. Στην ίδια ερευνητική εργασία, οι μελετητές ορίζουν έξι βασικές δομές λειτουργικών ομάδων, μέσω αντίδρασης

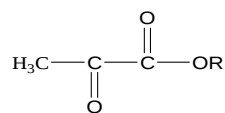
των οποίων τελικά παράγονται αλογονοφόρμια καθώς κάθε ένα από αυτά εύκολα παράγει το ενδιάμεσο καρβανιόν (Morris and Baum, 1978). Πολλές από αυτές τις ομάδες απαντώνται στις χουμικές ενώσεις οι οποίες κατά κόρον εντοπίζονται στα υδάτινα περιβάλλοντα.



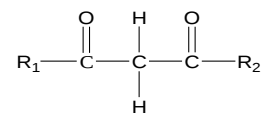
X: Cl, Br, I



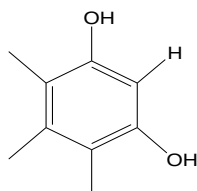
(a)



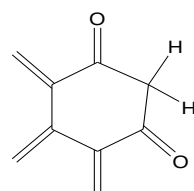
(b)



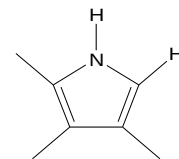
(c)



(d)



(e)



(f)

Ο Hoehn και οι συνεργάτες του (Hoehn et.al., 1978) απέδωσαν στην προσθήκη αλγών και πιο συγκεκριμένα στην χλωροφύλλη-α τις επιπλέον ποσότητες τριαλογονομεθανίων οι οποίες

παρατηρούνται κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Μέσω ταχείας ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης παράγεται το αρχικό ενδιάμεσο το οποίο εν συνεχεία διανοίγεται υπό την επίδραση βάσης προς παραγωγή του αντίστοιχου καρβανιόντος. Άλλωστε, η παραγωγή του καρβανιόντος αυξημένης σταθερότητας αποτελεί προϋπόθεση για την παραγωγή αλογονοφορμίων ή άλλων πρόδρομων ενώσεων όπως τα m-διυδρόξυ αρωματικά.

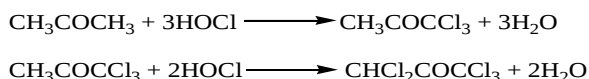
Οι αντιδράσεις παραγωγής τριαλογονομεθανίων επηρεάζονται από τα χαρακτηριστικά της οργανικής ύλης η οποία περιέχεται στα υπό χλωρίωση ύδατα. Η υδρόφοβη οργανική ύλη περιέχει σε υψηλότερα ποσοστά αρωματικές ενώσεις, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις απαντώνται τα διάφορα καρβοξυλικά οξέα. Ως προς το μέσο μοριακό βάρος, κατά κανόνα αυτό λαμβάνει μικρότερες τιμές σε σύγκριση με την υδρόφιλη οργανική ύλη. Η υδρόφοβη οργανική ύλη οδηγεί στην ανάπτυξη υψηλότερων συγκεντρώσεων πρόδρομων ενώσεων όσον αφορά στην παραγωγή τριαλογονομεθανίων. Εξαιτίας του γεγονότος αυτού, η παραγωγή τριαλογονομεθανίων εμφανίζεται ενισχυμένη σε περιβάλλοντα όπου η υδρόφοβη οργανική ύλη υπερέχει ποσοτικά της υδρόφιλης. Έναν επιπλέον παράγοντα αποτελεί ο χρόνος αλληλεπίδρασης του χλωρίου και του ρεύματος των προς απολύμανση λυμάτων. Σχετικές μελέτες διεξήγαγαν οι Liang και Singer (Liang and Singer, 2003). Εκ των γραφημάτων συγκέντρωσης χρόνου τα οποία κατασκεύασαν βάσει των πειραματικών μετρήσεων, προκύπτει ότι η κύρια ποσότητα τριαλογονομεθανίων παράγεται εντός των πρώτων δέκα ωρών αλληλεπίδρασης. Παραπροϊόντα όπως το βρωμοφόρμιο και το διβρωμοχλωρομεθάνιο ενδέχεται να παραχθούν μόνο αν τα προς απολύμανση ύδατα περιέχουν αξιόλογες ποσότητες βρωμίου. Σε αυτή την κατηγορία ανήκει το θαλασσινό νερό, η αλατότητα του οποίου κατά κανόνα αποτελεί ένδειξη υψηλών ή χαμηλών συγκεντρώσεων βρωμίου (ανάλογη διακύμανση αλατότητας - περιεκτικότητας βρωμίου).

2.1.7 Αλογονοξικά οξέα

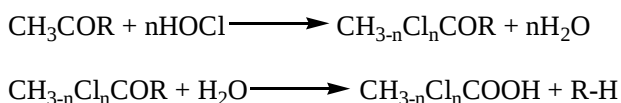
Τα αλογονοξικά οξέα φέρουν την γενική δομή των καρβοξυλικών οξέων καθώς προκύπτουν από αυτά κατά την υποκατάσταση ατόμων υδρογόνου τα οποία βρίσκονται σε α-θέση, από άτομα αλογόνων στο αρχικό μόριο του οξέος. Στα τυπικά συστήματα χλωρίωσης απαντώνται 9 διαφορετικά αλογονοξικά οξέα, έχουν δε οριστεί τρεις γενικότερες ομάδες για την κατάταξη αυτών με βάση το πλήθος των ατόμων αλογόνου τα οποία τελικά εντοπίζονται στο τελικό παραπροϊόν. Με την λογική αυτή τα 9 αλογονοξικά οξέα κατηγοριοποιούνται στις εξής ομάδες:

- μονοαλογονοξικά οξέα
- διαλογονοξικά οξέα και
- τριαλογονοξικά οξέα

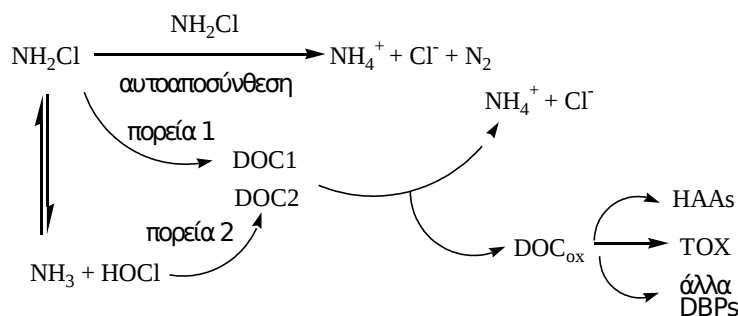
Επιπλέον, είναι δυνατή η παραγωγή αλογονοξικών οξέων κατά την αντίδραση της προπανόνης και του υποχλωριώδους οξέος κατά την αντίδραση:



Σε πρώτη φάση παράγεται τριχλωροπροπανόνη η οποία αντιδρά περαιτέρω με υποχλωριώδες νάτριο προς σύνθεση της πενταχλωροπροπανόνης. Η πενταχλωροπροπανόνη κατόπιν υδρόλυσης οδηγεί τελικά στην παραγωγή διχλωροξικού οξέος και χλωροφορμίου. Σε περιβάλλοντα τα οποία χαρακτηρίζονται από χαμηλές τιμές pH, η προπανόνη και το υποχλωριώδες οξύ ενδέχεται να οδηγήσουν στην παραγωγή τετρα-, πεντα- και εξα-χλωροπροπανόνης κατά το πρώτο στάδιο, ενώσεις οι οποίες εν συνεχεία μετατρέπονται σε μονο-, δι- και τρι- χλωροξικά οξέα. Γενικά, το κλάσμα της οργανικής ύλης το οποίο αντιστοιχεί στον γενικό τύπο $\text{CH}_3\text{-CO-R}$ (όπου R μια ομάδα που παρουσιάζει την δυνατότητα οξειδωσης) δύναται να οδηγήσει στην παραγωγή αλογονοξικών οξέων σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις:



Άλλου τύπου αντιδράσεις όπως για παράδειγμα οι αντιδράσεις απόσπασης μονοχλωραμίνης ή οξειδωσης της οργανικής ύλης λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα με τις υπόλοιπες, καθιστώντας τον συνολικό μηχανισμό αρκετά πολύπλοκο. Οι Duirk και Valentine (Duirk and Valentine, 2006) πρότειναν το εξής γενικό σχήμα:



Χλωριωμένα και βρωμιωμένα οξικά οξέα παράγονται κατά την χλωρίωση υδάτων σε ανάλογες ή ελαφρώς μικρότερες ποσότητες σε σύγκριση με τα τριαλογονομεθάνια. Επιπρόσθετα, όμοια με την

περίπτωση των τριαλογονομεθανίων, η παρουσία υδρόφοβης οργανικής ύλης συνεπάγεται την παραγωγή αλογονοξικών οξέων σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με την αντίστοιχη παραγωγή σε υποστρώματα τα οποία είναι πλούσια σε υδρόφιλη οργανική ύλη.

Βρωμιωμένα αλογονοξικά οξέα παράγονται κατά την χλωρίωση θαλασσινού νερού, κύριο δε παραπροϊόν αυτής της διεργασίας αποτελεί το διχλωροξικό οξύ, ενώ ακολουθούν τα βρωμοπαράγωγα βρωμοδιχλωροξικό οξύ και διβρωμοξικό οξύ.

2.1.8 Αλογονοακετονιτρίλια

Τα αλογονοακετονιτρίλια είναι ιδιαίτερα τοξικά, μικρού μοριακού βάρους, αζωτούχα παραπροϊόντα της απολύμανσης υδάτων και στις πλείστες των περιπτώσεων απαντώνται υπό την μορφή διαλογονιδίων. Κατόπιν της χλωρίωσης των υδάτων, τα αλογονοακετονιτρίλια παράγονται σε συγκεντρώσεις οι οποίες είναι περίπου κατά μια τάξη κατώτερες σε σχέση με τα τριαλογονομεθάνια και τα αλογονοξικά οξέα. Αξιόλογες συγκεντρώσεις αλογονοακετονιτριλίων παράγονται στις περιπτώσεις κατά τις οποίες τα χλωριωμένα ύδατα περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις οργανικών ενώσεων που περιέχουν άζωτο. Βιβλιογραφικά η παραγωγή αυτής της κατηγορίας παραπροϊόντων δεν έχει καλυφθεί σε αντίστοιχο βαθμό και σημαντικές ελλείψεις εντοπίζονται σε έρευνες, το αντικείμενο των οποίων αφορά στους παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των αλογονοακετονιτριλίων. Παρουσία ιωδίου και βρωμίου ενδέχεται να παραχθούν τα αντίστοιχα ιωδο- και βρωμο- ακετονιτρίλια.

2.1.9 Αλογονοφαινόλες

Η χλωρίωση φαινολών σε υδατικά περιβάλλοντα οδηγεί στην παραγωγή χλωροφαινολών μέσω αντιδράσεων υποκατάστασης (Agusa et.al, 2009). Πιο συγκεκριμένα, η παραγωγή των χλωροφαινολών οφείλεται στην αντίδραση ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης την οποία προκαλεί η όξινη μορφή του αλογόνου (υποχλωριώδες οξύ) στον αρωματικό δακτύλιο του φαινολικού ανιόντος (Lee and Morris, 1962, Gallard and Von Gunten, 2002, Smith et.al, 1976). Εξαιτίας του γεγονότος ότι η φαινολική ομάδα δρα ως ορθο- ή παρα- υποκαταστάτης τα κύρια προϊόντα της αντίδρασης υποκαθίστανται στις θέσεις 2, 4 και 6. Παρουσία περίσσειας χλωρίου οι φαινόλες με ραγδαίους ρυθμούς μετατρέπονται στα αντίστοιχα τριαλογονοπαράγωγα. Κατόπιν διαδοχικών προσθηκών αλογόνου, επέρχεται τελικά διάνοιξη του αρωματικού δακτυλίου οδηγώντας στη σύνθεση διαφόρων χλωριωμένων παραπροϊόντων μικρού μοριακού βάρους. Σε αυτά περιλαμβάνονται διάφορα τριαλογονομεθάνια (Boyce and Hornig 1983), αλογονοξικά οξέα (Christman et.al, 1983) και ακετονιτρίλια (Oliver 1983).

Η αντίδραση του υποβρωμιώδους οξέος παρουσία φαινολικών ανιόντων είναι πολύ ταχύτερη σε σχέση

με την αντίστοιχη αντίδραση του υποχλωριώδους οξέος (Aceroa et.al, 2005). Ως εκ τούτου, παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων βρωμιούχων επικρατεί ο σχηματισμός βρωμο-υποκατεστημένων φαινολών. Για παράδειγμα, η 2,4,6- τριβρωμοφαινόλη αποτελεί την κύρια αλογονοφαινόλη κατά την απολύμανση αστικών λυμάτων με συγκέντρωση βρωμιούχων 10 mg/L κατόπιν προσθήκης χλωρίου σε συγκέντρωση 20 mg/L (Watanabe et.al, 1984, Ventura and Rivera, 1986).

2.1.10 Αλογονωμένες φουρανόνες

Ο Fukui και οι συνεργάτες του μελέτησαν την παραγωγή της 3-χλωρο-4-διχλωρομεθυλο-5-υδροξυ-2(5H)-φουρανόνης (MX) κατά την χλωρίωση αστικών λυμάτων. Το μη πτητικό αυτό παραπροϊόν ανιχνεύθηκε αρχικά στα συστήματα χλωρίωσης πόσιμου νερού και η παραγωγή του αποδόθηκε στις χουμικές ενώσεις οι οποίες υπάρχουν στα φυσικά ύδατα. Στην περίπτωση των αστικών λυμάτων, σύμφωνα με την σχετική έρευνα η οποία συντάχθηκε από τον Fukui, η παραγωγή της MX εξακριβώθηκε μέσω αέριας χρωματογραφίας, τα αποτελέσματα της οποίας κατέδειξαν την παρουσία του ανωτέρω χλωρο-παραπροϊόντος σε συγκεντρώσεις μεταξύ 2,2 – 141,6 ng/L. Κατόπιν διαχωρισμού με υγρή χρωματογραφία, παρατηρήθηκε η παρουσία τουλάχιστον άλλων δύο παραγώγων αυτής της κατηγορίας (αλογονωμένες φουρανόνες). Επιπλέον, κατά την παρατήρηση των διαμορφούμενων συγκεντρώσεων, καθίσταται προφανές ότι η παραγωγή της MX επηρεάζεται σημαντικά από τον τύπο των υπό χλωρίωση υδάτων. (Fukui et.al, 1992)

2.1.11 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των παραπροϊόντων

Τόσο η αξιοσημείωτη έκταση της βιβλιογραφίας σχετικά με την καταγραφή των επιπέδων των χλωριωμένων οργανο-παραπροϊόντων τα οποία παράγονται κατά την απολύμανση όσο και οι διάφορες μελέτες οι οποίες εξετάζουν τις δυνατότητες ελέγχου και περιορισμού της παραγωγής αυτών των παραπροϊόντων, καθιστούν προφανές το γεγονός ότι οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την παραγωγή των παραπροϊόντων είναι πολυπληθείς. Πέραν τούτου, οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις χαρακτηρίζονται από αυξημένη πολυπλοκότητα η οποία δυσχεραίνει περαιτέρω την διεξαγωγή σαφών συμπερασμάτων. Μεταξύ των παραγόντων περιλαμβάνεται η συγκέντρωση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των πρόδρομων ενώσεων, το pH, η συγκέντρωση του χλωρίου, το επίπεδο των βρωμιούχων ιόντων, η παρουσία άλλων ενώσεων οι οποίες αυξάνουν τα επίπεδα ως προς το απαιτούμενο χλώριο (π.χ. αμμωνία), η θερμοκρασία, ο χρόνος αλληλεπίδρασης των προς απολύμανση υδάτων και του απολυμαντικού μέσου κ.α. Πέραν αυτών υπάρχει πλήθος άλλων παραγόντων οι οποίοι όμως είτε παρουσιάζουν αμελητέα επίδραση επί της παραγωγής των παραπροϊόντων ή δεν έχουν

μελετηθεί εκτενώς από βιβλιογραφικής σκοπιάς. (WHO 1996)

pH

Η επίδραση του pH στην παραγωγή τριαλογονομεθανίων έχει κατά το παρελθόν απασχολήσει διάφορους μελετητές εξαιτίας της ανίχνευσης αυτών των παραπροϊόντων και στην περίπτωση χλωρίωσης των πόσιμων υδάτων (Stevens et.al, 1976, Lange and Kawczynski, 1978, Trussell and Umphres, 1978). Σε πιο πρόσφατες μελέτες έχει περιγραφεί η επίδραση του pH στην παραγωγή διαφόρων άλλων τύπων παραπροϊόντων (Miller and Uden, 1983, Reckhow and Singer 1985).

Ο ρυθμός παραγωγής των τριαλογονομεθανίων βρέθηκε να αυξάνει κατά την αύξηση του pH (Stevens et.al, 1976). Γενικότερα, η αύξηση του pH συσχετίζεται με αύξηση της συγκέντρωσης των τριαλογονομεθανίων και μείωση της συγκέντρωσης των αλογονοξικών οξέων, των αλογονακετονιτριλίων και των αλογονοκετονών. Η συγκέντρωση του τριχλωροξικού οξέος τείνει να λάβει υψηλότερα επίπεδα σε περιβάλλοντα με τιμές pH κατώτερες του 8. Ανάλογη συμπεριφορά παρουσιάζει το διχλωροξικό οξύ. Ο Stevens (Stevens et.al, 1976) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι διαμορφούμενες συγκεντρώσεις του τριχλωροξικού οξέος λάμβαναν σημαντικά χαμηλότερες τιμές σε περιβάλλοντα με pH=9,4 σε σχέση με τις αντίστοιχες περιπτώσεις όπου το pH ρυθμίστηκε σε τιμές 5 και 7. Το τριχλωροξικό οξύ θεωρήθηκε για αυτή την σειρά πειραμάτων ως το κύριο παραπροϊόν της κατηγορίας των αλογονοξικών οξέων για τις έξι εκ των οκτώ συνολικών περιπτώσεων μελέτης.

Οι Carlson και Hardy (Carlson 1998) ανέφεραν ότι σε περιπτώσεις που το pH λάμβανε τιμές ανώτερες του 9, η παραγωγή τριαλογονομεθανίων μειώνεται κατά την περαιτέρω αύξηση του pH. Μια ενδεχόμενη εξήγηση της παρατήρησης αυτής αποτελεί η μετατροπή των διαφόρων μορφών χλωρίου από την μορφή υποχλωριώδους άλατος στη μορφή του αντίστοιχου υποχλωριώδους οξέος, γεγονός το οποίο επηρεάζει τις ταχείες αντιδράσεις παραγωγής τριαλογονομεθανίων.

Το 1991 ο μη κερδοσκοπικός οργανισμός AWWARF (American Water Works Association Research Foundation) πρότεινε την απουσία οιασδήποτε αλληλεξάρτησης μεταξύ του pH και της συγκέντρωσης των παραγόμενων τριαλογονομεθανίων για οκτώ ανεξάρτητες περιπτώσεις μελέτης. Εκ των αποτελεσμάτων των παρατηρήσεων κατέστη προφανές πως παρά το γεγονός ότι γενικά οι συγκεντρώσεις των τριαλογονομεθανίων επηρεάζονται από την τιμή του pH, υπεισέρχονται και άλλοι παράγοντες οι οποίοι επιδρούν σημαντικά κατά την διερεύνηση διαφορετικών περιπτώσεων μελέτης.

Ο Nieminski (Nieminski et.al, 1993) κατέληξε στο ότι στις μονάδες επεξεργασίας με $pH \approx 5,5$ η παραγωγή τριαλογονομεθανίων ήταν όμοια (ποσοτικά) με την παραγωγή αλογονοξικών οξέων ενώ στην περίπτωση των μονάδων που λειτουργούσαν σε τιμές pH άνω του 7, η συγκέντρωση των

τριαλογονομεθανίων λάμβανε αρκετά υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με τα αλογονοξικά οξέα.

Όσον αφορά στην παραγωγή αλογονοακετονιτριλίων, δεν έχει παρατηρηθεί ισχυρή επίδραση του pH. Μεταξύ του εύρους 7 – 8,5 οι συγκεντρώσεις των αλογονοακετονιτριλίων αυξάνουν σταδιακά κατά ένα περιορισμένο ποσοστό. Γενικότερα, η ύπαρξη τάσης προς αύξηση της συγκέντρωσης των αλογονοακετονιτριλίων κατά την αύξηση του pH είναι αναμενόμενη δεδομένου ότι αυτά τα παραπροϊόντα υφίστανται υδρόλυση η οποία καταλύεται από κάποια βάση (Reckhow and Singer 1985). Παρά ταύτα, τα συστατικά αυτά χαρακτηρίζονται από περιορισμένη σταθερότητα παρουσία ελεύθερου χλωρίου ή υπό βασικές συνθήκες. Κατά κανόνα μετά την αρχική περίοδο σχηματισμού, οι συγκεντρώσεις των αλογονοακετονιτριλίων και των αλογονοκετονών σημειώνουν μείωση. Το γεγονός αυτό υπονοεί ότι η βασικά καταλυόμενη υδρόλυση ενδεχομένως δεν αποτελεί τον κύριο μηχανισμό αντίδρασης για τις περιπτώσεις μελέτης συστημάτων χαμηλών τιμών pH.

Ο Stevens (Stevens et.al, 1989) αξιολόγησε την επίδραση του pH και του χρόνου αντίδρασης επί του σχηματισμού της ένυδρης χλωράλης. Η συγκέντρωση της τελευταίας αυξήθηκε εξελικτικά σε περιβάλλοντα με τιμές pH 5 και 7 ενώ η αντίστοιχη παραγωγή για pH=5,4 και κατόπιν το πέρασ 4 ωρών σημείωσε πτώση λόγω αποσύνθεσης.

Ρυθμοί αντίδρασης

Κατόπιν της προσθήκης χλωρίου παρατηρείται μια περίοδος ταχείας παραγωγής τριαλογονομεθανίων η οποία χρονικά αντιστοιχεί σε αδρομερή προσέγγιση, στις τέσσερις πρώτες ώρες μετά την απολύμανση. Εν συνεχεία, παρατηρείται αξιόλογη μείωση του ρυθμού παραγωγής των τριαλογονομεθανίων. Κατά πολλούς μελετητές η συγκέντρωση του χλωροφορμίου εξακολουθεί να εμφανίζει μια ελάχιστη αύξηση ακόμα και μετά την συμπλήρωση 96 ωρών υπονοώντας ότι εφόσον υπάρχουν έστω και ελάχιστες συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου, το χλωροφόρμιο εξακολουθεί να παράγεται. Τα βρωμοχλωριωμένα μεθάνια παράγονται με ταχύτερους ρυθμούς συγκριτικά με το χλωροφόρμιο. Λεπτομερή δεδομένα διαφόρων περιπτώσεων μελέτης καταδεικνύουν ότι η παραγωγή βρωμοφορμίου επιβραδύνεται μετά την συμπλήρωση 7-8 ωρών ενώ φαίνεται να διακόπτεται εντελώς κατόπιν 20 ωρών (AWWARF 1991). Όμοια κινητική φαίνεται να ακολουθεί και η παραγωγή των αλογονοξικών οξέων καθώς και για αυτή την κατηγορία παραπροϊόντων παρατηρείται μια περίοδος σύνθεσης υπό ραγδαίους ρυθμούς κατά τις πρώτες 4 – 8 ώρες, ενώ στη συνέχεια ακολουθεί μείωση του ρυθμού παραγωγής. Κατά κανόνα, για τις πλείστες των περιπτώσεων μελέτης, οι συγκεντρώσεις των χλωροξικών οξέων σημείωσαν μικρή αύξηση ακόμα και μετά την συμπλήρωση 26 ωρών ενώ η παραγωγή διβρωμοξικού οξέος πρακτικά μηδενίζεται κατόπιν 18 – 20 ωρών.

Οι Miller και Uden (Miller and Uden, 1983) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι περίπου το 90% των σχηματιζόμενων ποσοτήτων των τριαλογονομεθανίων, του τριχλωροξικού οξέος και του διχλωροξικού οξέος παράγονται εντός των πρώτων 24 ωρών. Ο Reckhow (Reckhow et.al, 1990) παρατήρησε πως παρά το γεγονός ότι τα ύδατα τα οποία περιείχαν πρόδρομες ενώσεις από διαφορετικές πηγές και συνεπώς χαρακτηρίζονταν από σημαντικές ποιοτικές διαφοροποιήσεις, οδηγούσαν μεν-όπως ήταν αναμενόμενο-στην παραγωγή οργανοχλωριωμένων παραπροϊόντων σε διαφορετικές αποδόσεις, όμως οι καμπύλες παραγωγής του χλωροφορμίου, του διχλωροξικού και του τριχλωροξικού οξέος είχαν γενικά την ίδια μορφή ανεξαρτήτως της περίπτωσης μελέτης.

Κατά ορισμένους μελετητές το διχλωροξικό οξύ θεωρείται ως ενδιάμεσο του γενικότερου μηχανισμού παραγωγής του τριχλωροξικού οξέος. Ωστόσο, σε όλες τις μελέτες οι συγκεντρώσεις και των δυο οξέων είτε αυξήθηκαν ή σταθεροποιήθηκαν κατά την περίοδο των πρώτων 96 ωρών, γεγονός το οποίο υπονοεί ότι το διχλωροξικό οξύ αποτελεί τελικό προϊόν (AWWARF 1991). Οι Carlson και Hardy (Carlson and Hardy, 1998) παρατήρησαν ότι η παραγωγή αλογονοξικών οξέων ακολουθεί ένα πρότυπο παρόμοιο με αυτό της παραγωγής τριαλογονομεθανίων. Οι ρυθμοί παραγωγής των αλογονοξικών οξέων μεγιστοποιήθηκαν εντός των πρώτων 30 λεπτών και εν συνεχεία σταθεροποιήθηκαν. Διαφορετικές τάσεις παρατηρήθηκαν όσον αφορά στις συγκεντρώσεις των αλογοακετονιτριλίων. Διερευνήθηκαν διάφορες περιπτώσεις μελέτης, δύο εκ των οποίων χαρακτηρίζονταν από παραγωγή ακετονιτριλίων η οποία ακολούθησε ραγδαίους ρυθμούς κατά τις πρώτες 8 ώρες και εν συνεχεία εξελίχθηκε αυξητικά σημειώνοντας μείωση μετά από 96 ώρες. Τα επίπεδα του διβρωμοακετονιτριλίου διατηρήθηκαν σχετικά σταθερά κατά το διάστημα των 96 ωρών, γεγονός το οποίο ισχύει και στην περίπτωση των παραγώγων βρωμοχλωροακετονιτρίλιο και διχλωροακετονιτρίλιο.

Οι περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες αναφέρονται στην παραγωγή πολύ χαμηλών επιπέδων χλωροπικρίνης (AWWARF 1991). Η μέγιστη παρατηρούμενη συγκέντρωση είναι της τάξης των 4μg/L. Η χλωροπικρίνη φαίνεται να παράγεται με ιδιαίτερα αργό ρυθμό κατά την περίοδο επώασης σε συγκεντρώσεις οι οποίες τείνουν να σταθεροποιηθούν μετά την συμπλήρωση 40 ωρών.

Θερμοκρασία

Οι ρυθμοί παραγωγής των τριαλογονομεθανίων, των αλογονοξικών οξέων, του βρωμικού ιόντος και των αλογοακετονιτριλίων φαίνεται να αυξάνουν κατά την αύξηση της θερμοκρασίας (AWWARF 1991, Siddiqui and Amy, 1993). Τα επίπεδα των αλογοακετονίων και της χλωροπικρίνης έλαβαν υψηλότερες τιμές σε περιβάλλοντα χαμηλότερων θερμοκρασιών ενώ οι συγκεντρώσεις των λοιπών παραπροϊόντων είτε παρέμειναν σταθερές ή διαφοροποιήθηκαν κατά ένα ελάχιστο ποσοστό. Τα

αποτελέσματα αυτά προτείνουν ότι σε περιβάλλοντα υψηλότερων θερμοκρασιών, επέρχεται ενίσχυση των αντιδράσεων μετατροπής των αλογονοκετονών προς άλλα παραπροϊόντα. Ο Peters (Peters et.al, 1980) παρουσίασε τα αποτελέσματα των ερευνών του σχετικά με την επίδραση της θερμοκρασίας στην παραγωγή των τριαλογονομεθανίων και σύμφωνα με αυτά υιοθετεί μια εξάρτηση τύπου Arrhenius για την σύνδεση της σταθεράς του ρυθμού αντίδρασης και της θερμοκρασίας και για ενέργειες ενεργοποίησης μεταξύ 10 – 20 KJ/mol.

Κατά τους Carlson και Hardy (Carlson and Hardy, 1998) η επίδραση της θερμοκρασίας επί της παραγωγής τριαλογονομεθανίων είναι συνάρτηση του χρόνου (ισχυρότερες επιδράσεις κατά την παρατήρηση της παραγωγής κατόπιν συμπλήρωσης μεγάλων χρονικών διαστημάτων από το στάδιο χλωρίωσης). Το γεγονός αυτό δύναται να ερμηνευθεί, καθώς τα ραγδαίως σχηματιζόμενα συστατικά παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα και παράγουν παραπροϊόντα ανεξαρτήτως της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος. Αντιθέτως, τα βραδέως παραγόμενα συστατικά προϋποθέτουν την κάλυψη υψηλότερων ενεργειών ενεργοποίησης. Η αύξηση της θερμοκρασίας μέσω της κινητικής ενέργειας καλύπτει κατά ένα ποσοστό την ενέργεια ενεργοποίησης, ενισχύοντας κατά τον τρόπο αυτό την αντίδραση.

Αλκαλικότητα

Παρά το γεγονός ότι το pH – το οποίο εξαρτάται από την αλκαλικότητα – αποτελεί έναν παράγοντα ο οποίος φέρει αυξημένη σημαντικότητα όσον αφορά στην επιρροή επί της παραγωγής των παραπροϊόντων, η αλκαλικότητα αυτή καθαυτή δεν φαίνεται να επηρεάζει άμεσα την παραγωγή των τριαλογονομεθανίων και των αλογονοξικών οξέων κατά την χλωρίωση (Andrews et.al, 1996). Οι περισσότερες εκ των δημοσιευμένων επί του θέματος μελέτες έχουν προσανατολιστεί στη διερεύνηση της επίδρασης της αλκαλικότητας στην παραγωγή βρωμικών κατά την οζόνωση, για την οποία προκύπτει ότι αυξημένη αλκαλικότητα επιφέρει αύξηση της παραγωγής των βρωμικών ιόντων (Siddiqui et.al, 1995).

Δόση απολυμαντικού μέσου

Η δόση του προστιθέμενου χλωρίου επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό την ποιότητα και τις ποσότητες των παραγόμενων προϊόντων. Τα επίπεδα των τριαλογονομεθανίων αυξάνουν κατά την αύξηση της δόσης του χλωρίου (Kavanaugh et.al, 1980). Η μαθηματική περιγραφή της εξάρτησης αυτής παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες. Οι περισσότεροι μελετητές υιοθέτησαν ένα μοντέλο γραμμικού τύπου μεταξύ της κατανάλωσης χλωρίου και της παραγωγής τριαλογονομεθανίων (Trussell and Umphres,

1978, Kavanaugh et.al, 1980). Ωστόσο, το μοντέλο πρώτης τάξης δεν έχει τύχει ευρείας αποδοχής καθώς ορισμένοι μελετητές προτείνουν ενδεχόμενη μεταβολή της τάξης της αντίδρασης κατά την πορεία του μηχανισμού.

Οι Reckhow και Singer (Reckhow and Singer, 1985) κατέληξαν στο ότι η συγκέντρωση των ενδιάμεσων παραπροϊόντων όπως το διχλωροακετονιτρίλιο και η 1,1,1-τριχλωροπροπανάνη, τα οποία σχηματίζονται κατόπιν συμπλήρωσης 72 ωρών, επηρεάζεται σημαντικά από την δόση του προστιθέμενου χλωρίου. Το διχλωροακετονιτρίλιο το οποίο ανιχνεύθηκε σε συγκεντρώσεις της τάξεως των 5μg/L για μια δόση χλωρίου 10 mg/L, δεν ήταν ανιχνεύσιμο σε δείγματα στα οποία η δόση του χλωρίου ανήλθε στα 50mg/L. Η συγκέντρωση του χλωροφορμίου έλαβε τιμές πλησίον των 150 μg/L στα δείγματα στα οποία εισήχθησαν 10 mg χλωρίου ανά L και περίπου 200 μg/L στην περίπτωση εισαγωγής 20 mg/L. Είναι συνεπώς απαραίτητη η υιοθέτηση μιας συγκεκριμένης δόσης ούτως ώστε να είναι επιτρεπτή η ακριβής εκτίμηση της κινητικής η οποία διέπει τον σχηματισμό των παραπροϊόντων.

Οργανική ύλη και απορρόφηση σε υπεριώδη ακτινοβολία μήκος κύματος 254nm

Η οργανική ύλη αποτελείται από ένα μείγμα χουμικών ενώσεων (χουμικά και φουλβικά οξέα) καθώς και από διάφορες υδρόφιλες οργανικές ενώσεις. Η παραγωγή παραπροϊόντων κατά την απολύμανση επηρεάζεται αφενός από την συνολική περιεκτικότητα των οργανικών ενώσεων και αφετέρου από την ακριβή ποιοτική σύσταση (αναλογία χουμικών/υδρόφιλων). Η οργανική ύλη περιέχει τις οργανικές πρόδρομες ενώσεις οι οποίες κατόπιν αλογόνωσης οδηγούν στην παραγωγή των παραπροϊόντων και επομένως προφανές καθίσταται το γεγονός ότι αυξημένες συγκεντρώσεις οργανικών οδηγούν σε ενισχυμένη παραγωγή παραπροϊόντων.

Διάφορες μελέτες διερευνούν την ιδέα της απομάκρυνσης της οργανικής ύλης με σκοπό τον περιορισμό της παραγωγής παραπροϊόντων. Μια τέτοια διαδικασία επηρεάζεται κυρίως από παραμέτρους όπως το μέγεθος, η δομή και η δραστητικότητα αυτού του ετερογενούς μείγματος. Τα χουμικά παρουσιάζουν μεγαλύτερη δραστητικότητα σε σύγκριση με τα φουλβικά οξέα τόσο ως προς το απαιτούμενο χλώριο όσο και ως προς την παραγωγή παραπροϊόντων. Διεργασίες όπως η προσρόφηση και η φίλτραση μέσω μεμβρανών εφαρμόζονται ευρέως για τον περιορισμό της περιεκτικότητας της οργανικής ύλης στα προς χλωρίωση ύδατα. (WHO 1996)

Παρουσία βρωμιούχων ιόντων

Η παρουσία βρωμιούχων ιόντων κατά την χλωρίωση υδάτων ενδέχεται να οδηγήσει στην παραγωγή παραπροϊόντων όπως βρωμικά ιόντα ή άλλα βρωμιωμένα οργανικά. Χαμηλά αλλά όχι ασήμαντα

επίπεδα βρωμιούχων, τα οποία αποτελούν τις αποκλειστικές πρόδρομες ενώσεις για την παραγωγή των τελικών παραπροϊόντων, απαντώνται κατά κανόνα στα θαλάσσια ύδατα και στις πλείστες των περιπτώσεων δεν απασχολούν τα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων.

Η επίδραση των βρωμιούχων επί της παραγωγής παραπροϊόντων απολύμανσης έχει διερευνηθεί για διάφορες κατηγορίες όπως για παράδειγμα τα τριαλογονομεθάνια και τα αλογονοξικά οξέα, με ενδεικτικές εκθέσεις αυτές των Cooper (Cooper et.al, 1983, 1985) και Amy (Amy et.al, 1998). Ο Rook (Rook et.al, 1978) ανέφερε ότι τα βρωμιούχα ιόντα εκδηλώνουν ισχυρότερη τάση σε σχέση με το χλωρίο όσον αφορά στη συμμετοχή τους σε αντιδράσεις υποκατάστασης με οργανικά μόρια. Επίσης, αναμενόμενη είναι η διαφοροποίηση των πρόδρομων ενώσεων ως προς την ευπάθεια τους προς σύνθεση παραγώγων βρωμίου ή χλωρίου. Το υποβρωμιώδες οξύ το οποίο προκύπτει από τα βρωμιούχα ενδέχεται να αντιδράσει παρουσία αμμωνίας προς παραγωγή βρωμαμινών (Galal-Gorchev and Morris, 1965).

Η ερευνητική ομάδα του Chang (Chang et.al, 2001) διεξήγαγε μια συστηματική μελέτη σχετικά με τον ρόλο των βρωμιούχων επί της σύνθεσης και κατανομής των τριαλογονομεθανίων και των αλογονοξικών οξέων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, ο μοριακός όγκος του προστιθέμενου χλωρίου προς την δόση των βρωμιούχων αποτελεί ιδιαίτερης σημαντικότητας παράγοντα για την παραγωγή των παραπροϊόντων χλωρίωσης. Κατά την αύξηση του λόγου Cl/Br οι συγκεντρώσεις του διβρωμοχλωρομεθανίου, του βρωμοδιχλωρομεθανίου και του χλωροφορμίου σημείωσαν αύξηση. Το βρωμοφόρμιο αποτελεί το μοναδικό παραπροϊόν το οποίο παρουσίασε περιορισμένη απόδοση κατά την αύξηση του προαναφερθέντος λόγου. Όσον αφορά στα αλογονοξικά οξέα, η παραγωγή του βρωμοχλωροξικού οξέος και – σε μικρότερη έκταση – των δι- και τρι-χλωροξικών οξέων, ενισχύθηκε κατά την αύξηση του λόγου Cl/Br. Αντιθέτως περιορισμένη ήταν η παραγωγή του διβρωμοξικού οξέος. Σύμφωνα με παρατηρήσεις των ίδιων ερευνητών, η ικανότητα αλογονοϋποκατάστασης των HOCl και HOBr προς παραγωγή τριαλογονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων, δύναται να προσεγγισθεί μέσω υιοθέτησης πιθανοτικών μοντέλων. Ανεξαρτήτως κατηγορίας παραπροϊόντος το HOBr παρουσιάζει κατά 25 φορές υψηλότερη δραστηριότητα σε σχέση με το HOCl.

Ο Hua (Hua et.al, 2006) και οι συνεργάτες του εξέτασαν για δύο ανεξάρτητες περιπτώσεις μελέτης την παραγωγή τριαλογονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων υπό την προσθήκη διαφόρων ποσοτήτων βρωμιούχων και ιωδιούχων σε συγκεντρώσεις 0 – 30 μM . Η απόδοση και των δύο κατηγοριών παραπροϊόντων αυξήθηκε κατά την αύξηση της συγκέντρωσης των βρωμιούχων στο περιβάλλον χλωρίωσης. Ωστόσο, η μεταβολή της συγκέντρωσης των βρωμιούχων δεν επηρεάζει σε αξιόλογο βαθμό την ποσότητα των συνολικών αλογονομένων οργανικών ενώσεων.

Ο Li (Li et.al, 2008) και η ερευνητική του ομάδα μελέτησαν την επίδραση των βρωμιούχων παράλληλα με την μεταβολή του pH καθώς παρατηρήθηκε ισχυρή εξάρτηση της παραγωγής και κατανομής των τριαλονομεθανίων και των αλογονοξικών οξέων από την τιμή του pH. Το μολαρικό κλάσμα του διβρωμοχλωρομεθανίου και του βρωμοδιχλωρομεθανίου παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων βρωμιούχων αυξήθηκε κατά την αύξηση του pH, η δε παραγωγή χλωροφορμίου άνευ προσθήκης βρωμιούχων σημείωσε μείωση κατά την αύξηση του pH. Ως προς την παραγωγή αλογονοξικών οξέων, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής κατέδειξαν την παραγωγή κυρίως δι- και τρι-χλωροξικού οξέος, η απόδοση των οποίων μειώθηκε κατά την αύξηση του pH.

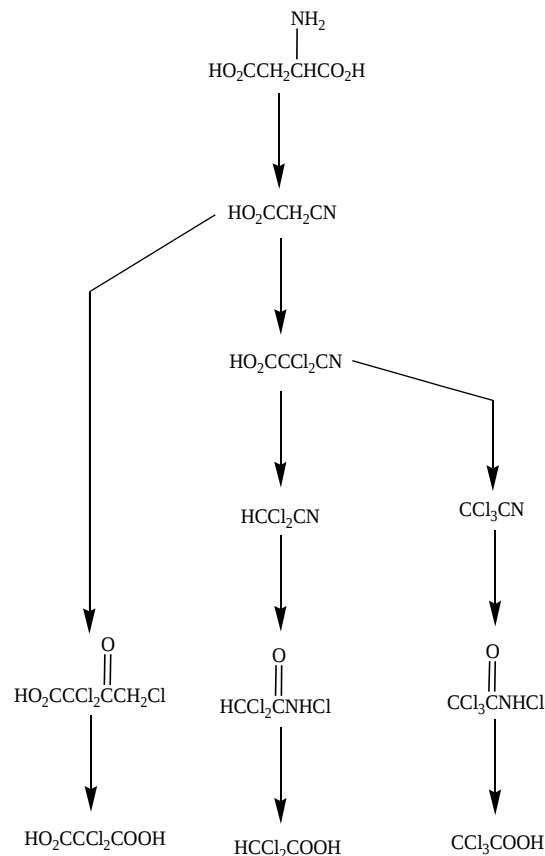
Παρουσία αμμωνίας

Η ύπαρξη αξιόλογων ποσοτήτων αμμωνίας στα προς απολύμανση ύδατα προκαλεί κατά την προσθήκη χλωρίου την παραγωγή διαφόρων παραπροϊόντων όπως π.χ. το κυανιούχο χλώριο. Σε περιπτώσεις επεξεργασίας υδάτων τα οποία φέρουν αυξημένες συγκεντρώσεις αμμωνίας αντί της χρήσης χλωρίου προτιμάται η προσθήκη διοξειδίου του χλωρίου καθώς η αμμωνία δεν αντιδρά με αυτό. Τα νιτροποιητικά βακτήρια αποτελούν σημαντικό ζήτημα κατά την χλωρίωση των υδάτων τα οποία περιέχουν αζωτούχες ενώσεις. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα στα οποία κατέληξε ο Cunliffe (Cunliffe 1991), νιτροποιητικά βακτήρια ανιχνεύθηκαν στο 64% των δειγμάτων τα οποία συλλέχθηκαν από 5 σημεία χλωρίωσης υδάτων στη Νότια Αυστραλία, ενώ το 21% των δειγμάτων αυτών περιείχαν μονοχλωραμίνη σε περιεκτικότητες άνω των 5mg/L.

Περισσότερο πρόσφατες μελέτες αναφέρουν την ανάπτυξη αυξημένης τοξικότητας κατά την χλωρίωση των λυμάτων τα οποία αρχικά περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας. Ο Sun και οι συνεργάτες του (Sun et.al, 2009) μελέτησαν την επίδραση της παρουσίας αμμωνίας επί της παραγωγής τριαλονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων κατά την χλωρίωση λυμάτων προερχόμενων από δύο ανεξάρτητες μονάδες επεξεργασίας. Σε υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας, η παραγωγή τριαλονομεθανίων και στις δύο περιπτώσεις μελέτης ήταν περιορισμένη. Ο δε βαθμός περιορισμού, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων, πιθανότατα εξαρτάται από τον λόγο Cl/N. Όσον αφορά στην παραγωγή των αλογονοξικών οξέων (βρωμοδιχλωροξικό οξύ, χλωροδιβρωμοξικό οξύ) τα αποτελέσματα παρουσίασαν ουσιαστικές διαφοροποιήσεις σε σύγκριση με την περίπτωση των τριαλονομεθανίων. Οι αποδόσεις ως προς διαλογονομένα παραπροϊόντα κυριάρχησαν καθώς αυτή η κατηγορία κατέλαβε το μεγαλύτερο κλάσμα των συνολικών αλογονοξικών οξέων (άνω του 46%) και στις δύο περιπτώσεις μελέτης.

Παρουσία Αμινοξέων

Τα αμινοξέα παράγονται κατά την αποσύνθεση της πρωτεϊνικής ύλης ή συντίθενται μέσω μικροοργανισμών από ανόργανη ύλη (Kahn and Wayman, 1964). Ο Hong και οι συνεργάτες του (Hong et.al, 2009) μελέτησαν τα αποτελέσματα της χλωρίωσης 20 αμινοξέων ως προς την παραγωγή τριαλογονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων. Πέραν της τυροσίνης και της τρυπτοφάνης, η χλωρίωση των αμινοξέων παρά τις υψηλές τιμές απαιτούμενου χλωρίου, επέφερε περιορισμένη παραγωγή τριαλογονομεθανίων. Αντιθέτως, σημαντικές διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν στην περίπτωση παραγωγής αλογονοξικών οξέων. Μια ομάδα αμινοξέων τα οποία έφεραν διακλαδώσεις στο μόριό τους σημείωσε αυξημένη παραγωγή αλογονοξικών οξέων. Εξίσου υψηλά επίπεδα απαιτούμενου χλωρίου με ταυτόχρονα ταχεία και σημαντική παραγωγή αλογονοξικών οξέων παρουσίασαν αφενός κάποια αμινοξέα τα οποία διέθεταν δακτύλιο (τρυπτοφάνη, τυροσίνη, ιστιδίνη, φαινυλαλανίνη, προλίνη) και αφετέρου δύο αμινοξέα γραμμικής δομής (ασπαρτικό οξύ και ασπαραγίνη). Στο ακόλουθο σχήμα παρουσιάζεται ο προτεινόμενος από τους Trehy και Peters (Trehy et.al, 1986, Peters et.al, 1990) μηχανισμός σχετικά με την παραγωγή αλογονοξικών οξέων κατά την χλωρίωση του ασπαρτικού οξέος.



2.2 Περιβαλλοντική κατάληξη των παραπροϊόντων χλωρίωσης

Η κατανομή των παραπροϊόντων χλωρίωσης στον τελικό αποδέκτη καθορίζεται από τους μηχανισμούς απώλειας αυτών από το υδάτινο περιβάλλον μέσω διαδικασιών όπως η υδρόλυση, η φωτόλυση, η βιοαποσύνθεση, η εξάτμιση και η προσρόφηση στην ελεύθερη επιφάνεια των αιωρούμενων στερεών. Η μελέτη αυτών των μηχανισμών συχνά πραγματοποιείται με υιοθέτηση διαφόρων μοντέλων πρόβλεψης της συμπεριφοράς των χημικών ουσιών. Η πλέον χαρακτηριστική μέθοδος αυτής της κατηγορίας είναι η μέθοδος QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship, Ποσοτική Συσχέτιση Δομής – Δραστικότητας) η οποία εκτιμά τη συμπεριφορά άγνωστων ουσιών με βάση την δομή τους και με χρήση τραπεζών δεδομένων (Hammett 1937, Taft 1952, Hansch et.al, 1991). Η μέθοδος αυτή έχει λάβει την αποδοχή της Ευρωπαϊκής Ένωσης και για την περίπτωση μελέτης των παραπροϊόντων απολύμανσης προτείνεται ένα κινητικό μοντέλο το οποίο είναι συνάρτηση ηλεκτρονιακών και στερεικών αλληλεπιδράσεων (Hansch et.al, 1995).

2.2.1 Υδρόλυση

Τριαλογονομεθάνια

Η υδρόλυση του χλωροφορμίου λαμβάνει χώρα σε περιορισμένο βαθμό σε όξινα ή ουδέτερα περιβάλλοντα. Αντίθετα, ταχεία υδρόλυση παρατηρείται υπό βασικές συνθήκες καθώς πραγματοποιείται η βασικά-καταλυόμενη αντίδραση αφαλογόνωσης προς σχηματισμό μεθανόλης και του αντίστοιχου ανιόντος αλογόνου (Shams El Din et.al, 1998). Κατά την μελέτη της σταθερότητας των αλογονωμένων μεθανίων σε θερμοκρασία 298K και ουδέτερο pH, τα μονο-, δι- και τρι-χλωρομεθάνια παρουσίασαν χρόνους ημιζωής 0.93, 704 και 3500 χρόνια αντίστοιχα (Mabey and Mill, 1978). Συνεπώς, καθίσταται προφανές ότι τα λιγότερο αλογονωμένα μεθάνια υδρολύονται ταχύτερα από τα παράγωγα τα οποία έχουν υποστεί αλογόνωση σε μεγαλύτερο βαθμό. Όσον αφορά στα βρωμοπαράγωγα, τα αποτελέσματα ως προς την ύπαρξη ταχύτερων ή βραδύτερων ρυθμών υδρόλυσης είναι αρκετά αντιφατικά. Για παράδειγμα, οι Din και Arain (Shams El Din et.al, 1998), ανέφεραν ότι η υδρόλυση του βρωμοφορμίου τελείται κατά διπλάσιο ρυθμό σε σχέση με το χλωροφόρμιο, ενώ σύμφωνα με τις εκτιμήσεις του λογισμικού Hydrowin, το οποίο αποτελεί μοντέλο πρόβλεψης της USEPA, ο χρόνος ημιζωής του βρωμοφορμίου ανέρχεται σε 6019 χρόνια (USEPA 2000). Μικρότεροι χρόνοι ημιζωής χαρακτηρίζουν τα παράγωγα διβρωμοχλωρομεθάνιο και βρωμοδιχλωρομεθάνιο (274 και 137 χρόνια αντίστοιχα). Ασυμφωνίες παρατηρούνται και στην περίπτωση μελέτης των διαλογονομεθανίων.

Αλογονοξέα

Η αποσύνθεση μέσω υδρόλυσης του τριχλωροξικού οξέος βασίζεται στην αποκαρβοξυλίωση υπό βασικές συνθήκες προς σύνθεση χλωροφορμίου και χλωριούχων ανιόντων ως τελικά προϊόντα (Verhoek 1934). Υψηλότερες θερμοκρασίες επιφέρουν επιτάχυνση του ρυθμού ενώ η μεταβολή του pH στο εύρος 6 – 9 φαίνεται να μην επιφέρει κάποια αξιόλογη μεταβολή (Zhang and Minear, 2002). Η αποσύνθεση των βρωμιωμένων τριαλογονοξικών οξέων (βρωμοδιχλωροξικό οξύ, διβρωμοχλωροξικό οξύ, τριβρωμοξικό οξύ) οδηγεί στην παραγωγή των αντίστοιχων τριαλογονομεθανίων (βρωμοδιχλωρομεθάνιο, διβρωμοχλωρομεθάνιο, βρωμοφόρμιο). Ως κύριος μηχανισμός για την διαδικασία της υδρόλυσης θεωρείται η αποκαρβοξυλίωση, ενώ ενδέχεται να λάβει χώρα πυρηνόφιλη υποκατάσταση κατά την οποία κάποια πυρηνόφιλη ομάδα (π.χ. υδροξύλιο) απομακρύνει ένα ή περισσότερα άτομα αλογόνου (Urbansky 2001). Κατά τη μελέτη της κινητικής των παραγώγων τριχλωροξικό οξύ, βρωμοδιχλωροξικό οξύ, διβρωμοχλωροξικό οξύ και τριβρωμοξικό οξύ υπολογίστηκαν σταθερές του ρυθμού υδρόλυσης ίσες με $1.32 \cdot 10^{-5}$, $4.58 \cdot 10^{-4}$, $2.58 \cdot 10^{-4}$ και $1.70 \cdot 10^{-3}/\text{hr}$ αντίστοιχα. Εκ των τιμών αυτών καθίσταται προφανές ότι τα βρωμιωμένα παράγωγα παρουσιάζουν ισχυρότερη τάση προς υδρόλυση σε σύγκριση με τα χλωροπαραγωγα (Zhang and Minear, 2002).

Αλογοναλδεΐδες

Πέραν της ένυδρης χλωράλης, οι περισσότερες τριαλογονωμένες αλδεΐδες υφίστανται υδρόλυση υπό βασικά καταλυόμενες συνθήκες (Reckhow 2000). Όμοια με την περίπτωση των αλογονοξέων, κατά την υδρόλυση των αλογοναλδεΐδων παράγονται αλογονομεθάνια ως κύριο τελικό προϊόν.

Αλογονοκετόνες

Η υδρόλυση των αλογονοκετονών λαμβάνει χώρα σε εντονότερο βαθμό σε σύγκριση με τα τριαλογονομεθάνια και τα αλογονοξικά οξέα. Η σταθερότητά τους μειώνεται κατά την αύξηση της θερμοκρασίας και τον βαθμό αλογόνωσης (Reckhow 2000, Nikolaou et.al, 2001). Οι στερικές αλληλεπιδράσεις του ατόμου του αλογόνου επιδρούν σημαντικά επί του ρυθμού αποσύνθεσης γεγονός το οποίο καθίσταται προφανές από το ότι η 1,3-διχλωροπροπανόνη παρουσίασε ταχύτερη υδρόλυση σε σύγκριση με την 1,2-διχλωροπροπανόνη με απόκλιση των δύο ρυθμών κατά μια τάξη μεγέθους (0.22 και 0.022/hr αντίστοιχα) (Reckhow 2000). Το χλωροφόρμιο αποτελεί ένα εκ των βασικών προϊόντων υδρόλυσης των αλογονοκετονών, γεγονός το οποίο υπονοεί πως ο γενικός μηχανισμός περιλαμβάνει κάποιο στάδιο σχάσης δεσμού C – C (Nikolaou et.al, 2001).

Αλογονακετονιτρίλια

Η υδρόλυση των αλογονακετονιτριλίων μελετήθηκε από τον Glezer και τους συνεργάτες του (Glezer et.al, 1999). Σύμφωνα με τις σχετικές παρατηρήσεις, η σταθερότητα των ακετονιτριλίων παρουσιάζει μείωση κατά την αύξηση του pH, της θερμοκρασίας και του βαθμού αλογονοϋποκατάστασης. Εκ των διαφόρων παραγώγων, το μονοχλωροακετονιτρίλιο παρουσιάζει την μέγιστη σταθερότητα. Γενικότερα, τα αλογονακετονιτρίλια υδρολύονται με ραγδαίους ρυθμούς εντός τριών ημερών μέσω πυρηνόφιλης ενυδάτωσης της υδροξυλομάδας με ακόλουθη σχάση του δεσμού C=N προς σύνθεση αλογονακεταμιδίων. Τα τελευταία ενδέχεται να υποστούν περαιτέρω υδρόλυση υπό βασικές συνθήκες προς παραγωγή αλογονοξικών οξέων. Τα διαλογονακετονιτρίλια μελετήθηκαν από τον Νικολάου και τους συνεργάτες του και σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραματικών παρατηρήσεών τους, η κατάταξη κατά φθίνουσα τιμή σταθεράς ρυθμού έχει ως εξής: 0.014/hr (διχλωροακετονιτρίλιο), 0.007/hr (βρωμοχλωροακετονιτρίλιο) και 0.004/hr (διβρωμοακετονιτρίλιο) (Nikolaou et.al, 2000).

Αλογονοιτρομεθάνια

Η χλωροπικρίνη (τριχλωρονοιτρομεθάνιο), αποτελεί το βασικό παράγωγο της κατηγορίας των αλογονοιτρομεθανίων. Στις σχετικές μελέτες σταθερότητας απαντώνται αντιφάσεις όσον αφορά στην υδρόλυσή της κατά ραγδαίους ή μη ρυθμούς. Οι αρχικές μελέτες (Castro and Belser, 1981) προτείνουν την ύπαρξη μιας ιδιαίτερα χαμηλής σταθεράς ρυθμού ($7.2 \cdot 10^{-6}$ /hr). Παρά ταύτα, περισσότερο πρόσφατες μελέτες (Croue and Reckhow, 1989) προτείνουν την υδρόλυση της χλωροπικρίνης υπό ρυθμούς ανάλογους αυτών που παρατηρούνται κατά την υδρόλυση του τριχλωροακετονιτριλίου. Το γεγονός αυτό προτείνει ότι η αφαλογόνωση δεν αποτελεί τον κύριο μηχανισμό σε περιβάλλον με ουδέτερο pH καθώς η σχάση του δεσμού C – X είναι κατά κανόνα δυσχερής.

2.2.2 Φωτόλυση

Τριαλογονομεθάνια

Η πλειοψηφία των βιβλιογραφικών μελετών σχετικά με την φωτολυτική διάσπαση των αλογονομεθανίων περιλαμβάνει παρατηρήσεις οι οποίες διεξήχθησαν υπό τεχνητό φως υπεριώδους ακτινοβολίας μήκους κύματος κάτω των 300nm. Ενδεικτική είναι η μελέτη της ερευνητικής ομάδας του Nicole (Nicole et.al, 1991), η οποία αφορά στην παρατήρηση της φωτολυτικής διάσπασης τριαλογονομεθανίων σε υδατικό περιβάλλον, υπό υπεριώδη ακτινοβολία (253nm), θερμοκρασία 20°C,

pH = 7.5 και μέγιστο χρόνο έκθεσης 30 λεπτά. Υπό αυτές τις συνθήκες παρατηρήθηκαν σημαντικές απώλειες ως προς τα παράγωγα βρωμοδιχλωρομεθάνιο, διβρωμοχλωρομεθάνιο και βρωμοφόρμιο, ενώ η διάσπαση του χλωροφορμίου πραγματοποιήθηκε κατά ποσοστά <5%. Ο γενικός μηχανισμός φωτόλυσης των τριαλογονομεθανίων θεωρείται ότι αντιστοιχεί στην αντικατάσταση των ατόμων αλογόνου από υδροξυομάδες προς παραγωγή μεθανόλης και ανιόντος αλογόνου (Castro and Belser 1981, Nicole et.al, 1991, Jones and Carpenter, 2005). Σε πιο πρόσφατες μελέτες διερευνήθηκε η φωτοδιάσπαση των τριαλογονομεθανίων υπό έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία. Στη συγκεκριμένη κατηγορία μελετών, οι ρυθμοί διάσπασης των παραγώγων βρωμοδιχλωρομεθάνιο, διβρωμοχλωρομεθάνιο και βρωμοφόρμιο έλαβαν τιμές $9.79 \cdot 10^{-2}/\text{hr}$, $1.56 \cdot 10^{-1}/\text{hr}$ και $2.10 \cdot 10^{-1}/\text{hr}$ αντίστοιχα, το δε χλωροφόρμιο παρουσίασε ελάχιστη διάσπαση ($4.5 \cdot 10^{-3}/\text{hr}$). Εκ των παρατηρήσεων αυτών τεκμαίρεται το συμπέρασμα ότι η φωτολυτική διάσπαση των τριαλογονομεθανίων εξαρτάται σε ισχυρό βαθμό από τον τύπο του αλογόνου και πιθανότατα ακολουθεί την κατάταξη $I > \text{Br} > \text{Cl} > \text{F}$.

Αλογονοξικά οξέα

Η περίπτωση φωτοδιάσπασης των αλογονοξικών οξέων μελετήθηκε και παρουσιάστηκε από τον Lifongo και τους συνεργάτες του (Lifongo and Bowden, 2004). Στις μελέτες αυτές χρησιμοποιήθηκαν λάμπες προσομοίωσης της ηλιακής ακτινοβολίας και σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραματικών παρατηρήσεων, σημειώθηκε περιορισμένη φωτοδιάσπαση των παραγώγων βρωμοχλωροξικό οξύ, διβρωμοξικό οξύ, τριχλωροξικό οξύ και τριβρωμοξικό οξύ με αντίστοιχες σταθερές ρυθμού $1.84 \cdot 10^{-4}/\text{hr}$, $6.91 \cdot 10^{-4}/\text{hr}$, $2.3 \cdot 10^{-4}/\text{hr}$ και $3.0 \cdot 10^{-3}/\text{hr}$ ενώ μηδενικά επίπεδα έλαβε η φωτοδιάσπαση στην περίπτωση των παραγώγων μονοχλωροξικό οξύ και μονοβρωμοξικό οξύ. Ο βαθμός φωτοδιάσπασης φαίνεται να εξαρτάται κυρίως από τον βαθμό βρωμίωσης και δευτερευόντως από τον αριθμό των ατόμων αλογόνου (δι-, τρι-αλογονοπαράγωγα). Όσον αφορά στον βασικό μηχανισμό, θεωρείται ότι βασικό στάδιο αποτελεί η πυρηνόφιλη σχάση του δεσμού C – X. Παράλληλα, ενδέχεται να λαμβάνει χώρα αποκαρβοξυλίωση κατά την ηλιακή έκθεση στο υδάτινο περιβάλλον. Τέλος, σημειώνεται ότι η διεργασία φωτοδιάσπασης επιταχύνεται κατά την αύξηση της θερμοκρασίας, ενώ τα βρωμιωμένα παράγωγα υφίστανται ταχύτερη διάσπαση σε σχέση με τα χλωροπαράγωγα.

Αλογονοκετόνες και Αλογονοαλδεΐδες

Η υδρόλυση των αλογονοκετονών και των αλογονοαλδεϋδών υπό την έκθεση σε υπεριώδη ή ηλιακή ακτινοβολία καλύπτεται από περιορισμένο αριθμό ερευνητικών δημοσιεύσεων. Μια εκ των ερευνών αυτών αναφέρεται στην εντυπωσιακά ραγδαία φωτοδιάσπαση της 1,1,1-τριχλωροπροπανόνης και της

ένυδρης χλωράλης κατά την έκθεση δειγμάτων σε ηλιακή ακτινοβολία (Lekkas and Nikolaou, 2004). Ωστόσο, στην ίδια ερευνητική εργασία δεν παρατηρήθηκε φωτόλυση των υπό μελέτη αλογονοκετονών. Οι ρυθμοί φωτοδιάσπασης των αλογονοαλδεϋδών ενισχύθηκαν κατά την αύξηση του βαθμού βρωμίωσης, ενώ ασθενέστερη φαίνεται να είναι η επίδραση του αριθμού των αλογόνων. Παρόμοια αποτελέσματα σημειώθηκαν για τα δι- και τρι-αλογονοπαράγωγα.

Αλογονοακετονιτρίλια

Το μη αλογονωμένο ακετονιτρίλιο παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση σε υπεριώδη ακτινοβολία μήκους κύματος <180nm και συνεπώς θεωρείται δυσχερής η φωτοδιάσπασή του υπό την επίδραση ηλιακής ακτινοβολίας. Σε σχετική μελέτη του Λέκκα και των συνεργατών του (Lekkas and Nikolaou, 2004), το μονοχλωροακετονιτρίλιο έλαβε υψηλότερες συγκεντρώσεις κατά την έκθεση των υπό μελέτη δειγμάτων σε ηλιακή ακτινοβολία, ενώ το διχλωροακετονιτρίλιο υπέστη φωτοδιάσπαση. Ο ακριβής μηχανισμός της φωτολυτικής διάσπασης των αλογονοακετονιτριλίων δεν είναι μεν πλήρως κατανοητός, θεωρείται ωστόσο ότι σε κάποιο στάδιο λαμβάνει χώρα απομάκρυνση αλογόνου καθώς η ομάδα $C\equiv N$ δεν αναμένεται να θιγεί στο φάσμα της ηλιακής ακτινοβολίας. Τα βρωμιωμένα ακετονιτρίλια παρουσιάζουν τις πλέον υψηλές σταθερές ρυθμού διάσπασης με ενδεικτικές τις περιπτώσεις των παραγώγων βρωμοχλωροακετονιτρίλιο και διβρωμοακετονιτρίλιο για τα οποία σημειώθηκαν αντίστοιχα οι τιμές $2.05 \cdot 10^{-1}/hr$ και $3.14 \cdot 10^{-1}/hr$.

Αλογονοιτρομεθάνια

Η φωτόλυση του τριχλωροιτρομεθανίου έχει μελετηθεί κατά το παρελθόν σε κρυογενικά συστήματα υπό αέρια φάση και έκθεση σε τεχνητή υπεριώδη ακτινοβολία μήκους κύματος 220 – 405nm. Για μήκος κύματος στην περιοχή των 313nm, ο χρόνος ημιζωής του τριχλωροιτρομεθανίου βρέθηκε ίσος με 300 λεπτά, ο δε προτεινόμενος μηχανισμός περιλαμβάνει σχάση του δεσμού C-N ενώ ο δεσμός C-Cl θεωρείται ότι διατηρείται άθικτος (Wade et.al, 2002). Άλλες μελέτες αναφέρουν χρόνους ημιζωής της τάξεως των 15 – 45 λεπτών για την φωτοδιάσπαση υπό υπεριώδη ακτινοβολία μήκους κύματος 190 – 400nm και θερμοκρασία 295K (Allston et.al, 1978, Wade et.al, 2000). Σε μια συγκριτική μελέτη, η χλωροπικρίνη κατά την έκθεση υδατικών διαλυμάτων αυτής σε ηλιακή ακτινοβολία παρουσίασε χρόνο ημιζωής της τάξης των τριών ημερών, διάστημα το οποίο είναι σημαντικά μεγαλύτερο σε σύγκριση με τον αντίστοιχο χρόνο ημιζωής κατά την έκθεση σε τεχνητή ακτινοβολία λάμπας υάλου χαλαζία χαμηλής πίεσης (1,3 ώρες) (Castro and Belser 1981). Διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί σχετικά με τον μηχανισμό φωτοδιάσπασης του τριχλωροιτρομεθανίου ανάλογα της παρουσίας ή μη

οξυγόνου. Συμφωνία ωστόσο παρατηρείται όσον αφορά στα τελικά προϊόντα διάσπασης. Ανεξάρτητα του προτεινόμενου μηχανισμού, στα προϊόντα περιλαμβάνονται το φωσγένιο (Cl_2CO) και το χλωριούχο νιτρωδόνιο (NOCl) (Wade et.al, 2000). Τα προϊόντα αυτά κατά την παρουσία τους σε υδατικό περιβάλλον μετατρέπονται ευχερώς σε χλωριούχα, νιτρικά και διοξείδιο του άνθρακα υπό αναερόβιες συνθήκες.

2.2.3 Βιοαποδόμηση

Στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 2.2.1**) παρουσιάζονται δεδομένα σχετικά με τις σταθερές του ρυθμού βιοδιάσπασης και τα ποσοστά βιοαποδόμησης διαφόρων παραπροϊόντων απολύμανσης. Τα τριαλογονομεθάνια, τα αλογονοξικά οξέα και τα αλογονονιτρομεθάνια παρουσιάζουν σχετικά αξιόλογη βιοδιάσπαση.

Πίνακας 2.2.1. Σταθερές ρυθμού ή ποσοστά βιοδιάσπασης βασικών παραπροϊόντων χλωρίωσης.

Παραπροϊόν	Συνθήκες	Σταθερά ρυθμού(hr^{-1}) ή Ποσοστό (%)	Πηγή
χλωροφόρμιο	ανοξικές, μεθανογενείς	$1.60 \cdot 10^{-3}$ - $2.22 \cdot 10^{-3}$	Pavelic, Nicholson (2005)
βρωμοδιχλωρομεθάνιο	Συνθήκες	$9.96 \cdot 10^{-4}$ - $3.21 \cdot 10^{-3}$	
διβρωμοχλωρομεθάνιο		$8.02 \cdot 10^{-4}$ - $2.63 \cdot 10^{-3}$	
βρωμοφόρμιο		$>2.89 \cdot 10^{-2}$	
χλωροφόρμιο	ανοξικές συνθήκες	$3.44 \cdot 10^{-4}$ - $5.45 \cdot 10^{-4}$	
βρωμοδιχλωρομεθάνιο	αναγωγής νιτρικών,	$8.25 \cdot 10^{-4}$ - $1.07 \cdot 10^{-3}$	
διβρωμοχλωρομεθάνιο	βάθος 4m	$8.25 \cdot 10^{-4}$ - $1.31 \cdot 10^{-3}$	
βρωμοφόρμιο		$2.41 \cdot 10^{-3}$ - $3.61 \cdot 10^{-3}$	
χλωροφόρμιο	ποτάμι ή λίμνη,	$1.60 \cdot 10^{-4}$	USEPA (1997)
διχλωρομεθάνιο	θερμοκρασία 20°C	$1.03 \cdot 10^{-3}$	
διβρωμομεθάνιο		$1.03 \cdot 10^{-3}$	
μονοχλωρομεθάνιο		$1.63 \cdot 10^{-3}$	
χλωροφόρμιο	βάθος 100-200m, αερόβιες-αναερόβιες συνθήκες	καμία διάσπαση	Landmeyer (2000)
αλογονοξικά οξέα	Ανοξικές	$>2.89 \cdot 10^{-2}$	Pavelic, Nicholson (2005)
διχλωροξικό οξύ	διάστημα μελέτης 12 ώρες, θερμοκρασία	75% (χλωρίωση) 60% (χλωραμίνωση)	Baribeau, Krasner (2005)
βρωμοχλωροξικό οξύ	17-22°C, χλωρίωση ή	καμία διάσπαση	
διβρωμοξικό οξύ	Χλωραμίνωση		
τριαλογονοξικά οξέα			
χλωροπικρίνη	Αερόβιες	$6.42 \cdot 10^{-3}$	Wilhelm (1997)
	Αναερόβιες	$5.33 \cdot 10^{-1}$	

2.2.4 Εξάτμιση

Η εξάτμιση αναφέρεται στην μεταφορά των πτητικών ενώσεων από την υδατική στην αέρια φάση μέσω της διεπιφάνειας των δύο φάσεων (υδάτινος αποδέκτης – ατμόσφαιρα). Ο ρυθμός απομάκρυνσης συναρτάται του συντελεστή μεταφοράς μάζας και της βαθμίδας συγκέντρωσης μεταξύ των επιφανειακών στρωμάτων αέρα και του υδάτινου περιβάλλοντος. Πρακτικά, κατά την απόρριψη χλωριωμένων λυμάτων σε μεγάλους υδατικούς αποδέκτες, η συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων είναι μηδενική και οι απώλειες λόγω εξάτμισης μπορούν να θεωρηθούν αμελητέες. Η σταθερά Henry η

οποία είναι ενδεικτική της τάσης μεταφοράς μιας διαλυμένης ουσίας από μια φάση σε μια άλλη καταδεικνύει ότι μόνο τα τριαλογονομεθάνια ενδέχεται να παρουσιάσουν αξιόλογη μείωση συγκέντρωσης λόγω εξάτμισης. Το χλωροφόρμιο φέρει την υψηλότερη σταθερά Henry ($3.67 \cdot 10^{-3} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$), τα δε εύρη για τις κύριες κατηγορίες παραπροϊόντων παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (**Πίνακας 2.2.2**).

Πίνακας 2.2.2. Εύρη τιμών της σταθεράς Henry για τις κύριες κατηγορίες παραπροϊόντων.

Κατηγορία παραπροϊόντων	Σταθερά He ($\text{atm} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$)
Τριαλογονομεθάνια	$4.35 \cdot 10^{-4}$ - $7.83 \cdot 10^{-3}$
αλογονοξικά οξέα	$8.40 \cdot 10^{-10}$ - $3.5 \cdot 10^{-7}$
Αλογονακετονιτρίλια	$4.68 \cdot 10^{-8}$ - $1.34 \cdot 10^{-6}$

2.2.5 Προσρόφηση – ιζηματοποίηση

Η απομάκρυνση των παραπροϊόντων χλωρίωσης μέσω προσρόφησης περιλαμβάνει δύο βασικά στάδια, την προσρόφηση σε κάποιο αιωρούμενο στερεό και την ακόλουθη καθίζηση του συσσωματώματος. Πιο συγκεκριμένα, τα διαλυμένα παραπροϊόντα χλωρίωσης αρχικά προσροφώνται επί της ελεύθερης επιφάνειας του οργανικού κλάσματος των αιωρούμενων στερεών σχηματίζοντας σωματίδια παραπροϊόντων. Κατόπιν τούτου, τα σωματίδια καθιζάνουν στον πυθμένα του υδάτινου αποδέκτη υπό την επίδραση βαρυτικών δυνάμεων. Το πρώτο βήμα καθορίζεται από την ισορροπία προσρόφησης (δυναμικό προσρόφησης) ενώ το δεύτερο από την κινητική ιζηματοποίησης.

Οι βασικοί παράγοντες οι οποίοι ελέγχουν την προσρόφηση είναι ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης-νερού (K_{ow}), η συγκέντρωση των ολικών αιωρούμενων στερεών (SS) καθώς και το ποσοστό το οποίο καταλαμβάνει η οργανική ύλη επί των ολικών στερεών. Οι ενώσεις με υψηλό συντελεστή κατανομής οκτανόλης-νερού παρουσιάζουν υψηλότερο δυναμικό απομάκρυνσης ιδίως υπό την προϋπόθεση ύπαρξης υψηλών συγκεντρώσεων ολικών αιωρούμενων στερεών. Στην συντριπτική πλειοψηφία τους, τα παραπροϊόντα χλωρίωσης χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερα χαμηλές τιμές συντελεστή κατανομής οκτανόλης – νερού (**Πίνακας 2.2.3**).

Πίνακας 2.2.3. Συντελεστές κατανομής οκτανόλης-νερού (K_{ow}) των βασικότερων κατηγοριών παραπροϊόντων.

Κατηγορία παραπροϊόντων	$\log K_{ow}$
τριαλογονομεθάνια	1.97 – 2.40
Αλογονοξικά οξέα	0.22 – 1.71
Αλογονακετονιτρίλια	1.30 – 2.10

2.3 Επιπτώσεις στον άνθρωπο

2.3.1 Οδοί ανθρώπινης έκθεση στα παραπροϊόντα χλωρίωσης

Η έκθεση του ανθρώπινου οργανισμού σε παραπροϊόντα χλωρίωσης είναι πιθανή μέσω διαφόρων οδών κατά την οικιακή χρήση χλωριωμένου νερού. Οι βασικοί μηχανισμοί εισόδου περιλαμβάνουν την λήψη μέσω πόσης, την δερματική έκθεση καθώς και την εισπνοή κατά την διάρκεια του μπάνιου. Η ερευνητική ομάδα του Weisel (Weisel et.al, 1999) μελέτησε τις δύο βασικές κατηγορίες παραπροϊόντων χλωρίωσης διεξάγοντας μετρήσεις αφενός στον εκπνεόμενο αέρα προς προσδιορισμό της περιεκτικότητας τριαλογονομεθανίων και αφετέρου στα ούρα προς εκτίμηση της περιεκτικότητας των αλογονοξικών οξέων. Οι αρχικές συγκεντρώσεις των τριαλογονομεθανίων στον εκπνεόμενο αέρα θεωρήθηκαν μηδενικές, ενώ η διαμόρφωση των τελικών συγκεντρώσεων φαίνεται να καθορίζεται από τον χρόνο μεταξύ μπάνιου και μέτρησης. Όσον αφορά στην περιεκτικότητα των αλογονοξικών οξέων, αυτή συνδέθηκε με τον όγκο του καταναλισκόμενου – μέσω πόσης – νερού.

Πέραν των τριών κλασσικών οδών έκθεσης, έχει διερευνηθεί η περίπτωση χρήσης χλωριωμένου νερού κατά το μαγείρεμα των τροφών. Οι Raymer και Michael (Raymer and Michael, 2010) διεξήγαγαν εργαστηριακές μετρήσεις με σκοπό την διερεύνηση πιθανής επιπρόσθετης έκθεσης σε αλογονακετονιτρίλια και αλογονοξικά οξέα λόγω κατανάλωσης βρασμένων τροφών. Εκ των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι ορισμένα παραπροϊόντα και των δύο κατηγοριών, αποδομούνται εντός των 10 πρώτων λεπτών σε συνθήκες βρασμού του νερού, ενώ άλλα παραμένουν καθώς εκδηλώνουν περιορισμένη διάσπαση. Κατά τη διαδικασία του βρασίματος ορισμένων τροφίμων παρατηρήθηκε απορρόφηση των σταθερών αλογονοξικών οξέων σε ποσοστά έως και 60%. Εκ των διαφόρων παραπροϊόντων χλωρίωσης, τα βρωμοπαράγωγα ανήκουν στην κατηγορία των ταχέως διασπόμενων καθώς στα τρόφιμα που εξετάστηκαν ανιχνεύθηκαν μηδενικές περιεκτικότητες χλωροδιβρωμοξικού οξέος και τριβρωμοξικού οξέος. Η περιεκτικότητα των χλωροπαραγώγων απεδείχθη αυξημένη μετά τον βρασμό, το δε ποσοστό απορρόφησης αποτελεί συνάρτηση του είδους του τροφίμου, του χρόνου

βρασμού και του όγκου του νερού ο οποίος χρησιμοποιείται για αυτόν τον σκοπό.

Η έλλειψη νερού για την κάλυψη των αναγκών άρδευσης καλλιεργειών στις αναπτυσσόμενες χώρες οδήγησε στην αξιοποίηση εναλλακτικών πηγών νερού. Η χρήση επεξεργασμένων λυμάτων στη γεωργία εμφανίζεται ως μια οικονομικά βιώσιμη επιλογή (Anderson 2003) και πλέον η αξιοποίηση των επεξεργασμένων λυμάτων για την κάλυψη αναγκών άρδευσης ενός μεγάλου εύρους καλλιεργειών έχει διαδοθεί σε αρκετές – ανά τον κόσμο – χώρες (Hamilton et.al, 2005). Οι ακριβέστερες προβλέψεις προτείνουν για το έτος 2001 την άρδευση συνολικών εκτάσεων της τάξης των 20 εκατομμυρίων εκταρίων γης μέσω χρήσης μερικώς αραιωμένων ή μη αραιωμένων επεξεργασμένων λυμάτων (Future Harvest 2001). Παρά το γεγονός ότι πραγματοποιήθηκαν διάφορες μελέτες τόσο ως προς την περιβαλλοντική κατάληξη του εναπομείναντος οργανικού φορτίου και των διαφόρων αλάτων όσο και ως προς την διαμορφούμενη δημόσια άποψη σχετικά με την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων για τον συγκεκριμένο σκοπό, απουσιάζει η διεξαγωγή συστηματικών μελετών προς διευκρίνιση των πιθανών επιδράσεων των παραπροϊόντων χλωρίωσης τα οποία περιέχονται στα λύματα επί της ποιότητας και της καταλληλότητας των παραγόμενων αγροτικών προϊόντων.

Η ερευνητική ομάδα του Akande (Akande et.al, 2010) διεξήγαγε μια μελέτη εστιάζοντας στις επιπτώσεις των παραπροϊόντων χλωρίωσης επί της φωτοσυνθετικής ικανότητας, της παραγωγής χλωροφύλλης και της κατανομής των τριαλογονομεθανίων στους ιστούς των φυτών. Η συγκεκριμένη έρευνα περιορίστηκε στις προαναφερθείσες επιδράσεις και δεν περιλαμβάνει στοιχεία σχετικά με πιθανές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία κατά την κατανάλωση των αγροτικών προϊόντων τα οποία παράγονται σε αυτές τις καλλιέργειες. Πέραν της μελέτης αυτής, ελάχιστα είναι τα δεδομένα σχετικά με τις επιπτώσεις των παραπροϊόντων χλωρίωσης καθώς η συντριπτική πλειοψηφία των ερευνητών εστιάζουν στις επιπτώσεις λόγω μικροβιακών/μολυσματικών φορτίων. Ο Dean (Dean and Suesst, 1985) και οι συνεργάτες του μελέτησαν σε γενικότερο επίπεδο την βιοσυσσώρευση βαρέων μετάλλων και οργανικών χλωριωμένων ενώσεων στα φυτά και στους καρπούς αυτών. Τα αποτελέσματα προτείνουν ελάχιστη απορρόφηση των οργανικών χλωροπαραγώγων μέσω του ριζικού συστήματος.

Μεταξύ των διαφόρων μέτρων εξοικονόμησης νερού, πέραν της χρήσης επεξεργασμένων λυμάτων για την άρδευση καλλιεργειών, περιλαμβάνεται η χρήση επεξεργασμένων εκροών των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων ως πόσιμο νερό. Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση της Σγκαπούρης όπου τα επεξεργασμένα λύματα, κατόπιν επιπρόσθετης επεξεργασίας με τεχνολογία μεμβρανών, χρησιμοποιήθηκαν ως πόσιμο νερό με την ονομασία 'Newater' (Watanabe et.al, 2005). Η χρήση επεξεργασμένων λυμάτων ως πόσιμο νερό αναμένεται να οδηγήσει στην παραγωγή υψηλότερων ποσοτήτων παραπροϊόντων χλωρίωσης λόγω του υψηλότερου οργανικού φορτίου, γεγονός το οποίο

επισημάνθηκε στην τελική έκθεση του 2001 του τμήματος υγείας και φροντίδας ηλικιωμένων της Αυστραλίας (Department of Health and Aged Care of Australia). Ωστόσο, λόγω των αυξανόμενων ρυθμών ζήτησης, η αξιοποίηση των επεξεργασμένων λυμάτων για την κάλυψη των αναγκών σε πόσιμο νερό αναμένεται να διαδοθεί ευρέως στο άμεσο μέλλον, οι δε νέες τεχνολογίες καθαρισμού επιτρέπουν την παραγωγή τελικού νερού το οποίο θεωρείται ανώτερης ποιότητας.

2.3.2 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Η δημοσίευση των πρώτων συστηματικών μελετών όσον αφορά στην ταυτοποίηση οργανικών παραπροϊόντων χλωρίωσης στο πόσιμο νερό χρονολογικά τοποθετείται περί το 1974 και έκτοτε (Rook 1974). Λίγα μόλις χρόνια μετά την ανίχνευση τριαλογονομεθανίων στο πόσιμο νερό, ένας αξιόλογος αριθμός μελετών προσανατολίστηκε στη διερεύνηση και στον χαρακτηρισμό των βλαβερών επιπτώσεων των παραπροϊόντων χλωρίωσης στην ανθρώπινη υγεία. Εκ του συνόλου των δημοσιευμένων μελετών, η συντριπτική πλειοψηφία δύναται να ενταχθεί σε δύο μεγάλες κατηγορίες επιδράσεων, (α) την εμφάνιση διαφόρων μορφών καρκίνου και (β) την πρόκληση αποβολών και γενετικών ανωμαλιών κατά την κύηση.

Καρκίνος

Το 1976 το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου των ΗΠΑ, δημοσίευσε τα πρώτα ευρήματα τα οποία συνέδεαν την έκθεση σε παραπροϊόντα χλωρίωσης με την εμφάνιση διαφόρων μορφών καρκίνου. Τα αποτελέσματα των πρώτων εργαστηριακών μελετών κατέδειξαν την ανάπτυξη καρκίνου σε πειραματόζωα κατά την έκθεση σε χλωροφόρμιο. Οι μελέτες που ακολούθησαν επαλήθευσαν αυτές τις υποψίες για παρόμοια αποτελέσματα κατά την έκθεση σε διάφορες άλλες οργανοχλωριωμένες ενώσεις πέραν του χλωροφορμίου όπως το διχλωροξικό οξύ και το βρωμοδιχλωρομεθάνιο (Boorman et.al, 1999). Κατόπιν των αρχικών αυτών μελετών, η ιδέα σύνδεσης της έκθεσης σε χλωριωμένα οργανικά παραπροϊόντα με την εμφάνιση καρκίνου έχει διευρυνθεί και περιλαμβάνει πλήθος μελετών οι οποίες προτείνουν την διαμόρφωση υψηλών ποσοστών καρκίνου σε άτομα που καταναλώνουν χλωριωμένο νερό. Ο Morris (Morris et.al, 1992) συνδύασε και ανέλυσε τα αποτελέσματα των σημαντικότερων μέχρι τότε μελετών σχετικά με τις περιπτώσεις εμφάνισης καρκίνου για τις οποίες θεωρήθηκε ότι οφείλονται στην έκθεση σε παραπροϊόντα απολύμανσης του νερού, χρησιμοποιώντας μια πρότυπη μέθοδο η οποία καλείται μετα-ανάλυση (meta-analysis). Μέσω της μεθόδου αυτής, ο Morris κατάφερε να συνδυάσει τα αποτελέσματα 4 έως και 8 μελετών οι οποίες είχαν δημοσιευθεί κατά το πρόσφατο παρελθόν. Οι εκτιμήσεις του θεωρήθηκαν αρκετά αξιόπιστες και σύμφωνα με αυτές παρατηρείται

αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου κατά ποσοστό 1 έως 38% για τους ακόλουθους τύπους: ουροδόχου κύστης, εγκεφάλου, μαστού, ορθού, παγκρέατος, στομάχου, νεφρού και ήπατος. Η συγκεκριμένη μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ύπαρξης ισχυρότερων συσχετίσεων (αυξημένα ποσοστά επικινδυνότητας) στην περίπτωση καρκίνου της ουροδόχου κύστης και του ορθού. Τα αποτελέσματα επίσης προτείνουν την ύπαρξη ενός εντυπωσιακά μεγάλου εύρους πιθανών επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία λόγω έκθεσης στα παραπροϊόντα απολύμανσης. Δεδομένου του μεγάλου αριθμού ατόμων τα οποία καταναλώνουν χλωριωμένο πόσιμο νερό, ο αριθμός των πιθανών κρουσμάτων εμφάνισης καρκίνου είναι σημαντικός. Οι αντίστοιχες τιμές οι οποίες προκύπτουν από την μετα-ανάλυση προτείνουν ότι 5000 περιπτώσεις καρκίνου της ουροδόχου κύστης και 8000 περιπτώσεις καρκίνου του ορθού – σε ετήσια βάση στις ΗΠΑ – αποδίδονται στην κατανάλωση χλωριωμένου νερού (Morris 1995). Μια ανάλυση της EPA η οποία ακολούθησε των προαναφερθέντων μελετών εκτιμά έναν ακόμα μεγαλύτερο αριθμό εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστης σε ετήσια βάση (άνω των 9300 περιπτώσεων).

Οι αρχικές μελέτες εκτίμησης της επικινδυνότητας εμφάνισης καρκίνου εξαιτίας έκθεσης σε παραπροϊόντα απολύμανσης δεν έλαβαν ευρεία αναγνώριση και αποδοχή καθώς κατηγορήθηκαν για διεξαγωγή προβλέψεων μέσω αυθαίρετων γενικεύσεων (Mills et.al, 1998). Ωστόσο, οι μετέπειτα μελέτες βασίστηκαν σε νέες τεχνικές αυξημένης αξιοπιστίας, περιλαμβάνοντας την αξιοποίηση δεδομένων σχετικά με την κατανάλωση πόσιμου νερού, την συχνότητα και τη διάρκεια της δερματικής έκθεσης κατά την προσωπική υγιεινή κ.α. Ακόμα και στην περίπτωση σημαντικών αποκλίσεων των αρχικών εκτιμήσεων από την πραγματικότητα, το σύνολο των δημοσιευμένων ερευνών πλέον σκιαγραφεί μια αναμφίβολα αρνητική εικόνα καθώς η πλειοψηφία των μελετών καταλήγει σε ξεκάθαρη συσχέτιση της εμφάνισης καρκίνου του ορθού, του εντέρου και της ουροδόχου κύστης λόγω έκθεσης στα γνωστά παραπροϊόντα χλωρίωσης.

Ο Cantor, επικεφαλής του Εθνικού Ινστιτούτου Καρκίνου των ΗΠΑ, παρουσίασε περιλήψεις αξιολογών ερευνών σχετικά με την εμφάνιση καρκίνου του εντέρου, του ορθού και της ουροδόχου κύστης σε ένα σχετικό άρθρο το οποίο εκδόθηκε το 1998 (Mills et.al, 1998). Εκ των μελετούμενων μορφών, ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης εμφάνισε την ισχυρότερη εξάρτηση από την έκθεση σε παραπροϊόντα χλωρίωσης καθώς 12 εκ των 13 παρατηρήσεων κατέδειξαν αυξημένη επικινδυνότητα. Βιβλιογραφικά απαντώνται μελέτες οι οποίες εστιάζουν στη διερεύνηση της πιθανής εμφάνισης καρκίνου λόγω έκθεσης σε τριαλογονομεθάνια. Τα αποτελέσματα αυτών αναφέρουν ότι σημειώνεται αυξημένη επικινδυνότητα εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστης κατά 50 – 80% στα άτομα που καταναλώνουν πόσιμο νερό με περιεκτικότητες τριαλογονομεθανίων άνω των 50ppb (Boorman et.al,

1999).

Η νέα ομάδα παραπροϊόντων MX θεωρείται ως η πλέον επικίνδυνη όσον αφορά στην πρόκληση μεταλλάξεων (IARC 1991, Boorman et.al, 1999). Το παραπροϊόν MX επιφέρει άμεσες καταστρεπτικές συνέπειες στο DNA των κυττάρων ενώ εργαστηριακές παρατηρήσεις κατέδειξαν την πρόκληση διαφόρων μορφών καρκίνου σε πειραματόζωα.

Η ερευνητική ομάδα του Tokmak (Tokmak et.al, 2004) διερεύνησε την ύπαρξη τριαλογονομεθανίων στο δίκτυο ύδρευσης της Άγκυρας. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της περιεκτικότητας των συνολικών τριαλογονομεθανίων και της συνολικής οργανικής ύλης σε δείγματα που συλλέχθηκαν από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας νερού στο Ivedik οι οποίες εξυπηρετούν το 90% των κατοίκων της πόλης. Οι συγκεντρώσεις των τριαλογονομεθανίων βρέθηκαν μεταξύ 25 – 74μg/L, 28 – 73μg/L και 25 – 110μg/L για τις δειγματοληψίες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν τον χειμώνα, την άνοιξη και το καλοκαίρι αντιστοίχως. Σε όλα τα υπό ανάλυση δείγματα, το χλωροφόρμιο κατείχε την θέση του κύριου παραπροϊόντος ενώ οι συγκεντρώσεις του βρωμοφορμίου διαμορφώθηκαν σε μηδενικά επίπεδα. Οι εκτιμήσεις της επικινδυνότητας όσον αφορά στην εμφάνιση καρκίνου κατέδειξαν ότι σε ετήσια βάση, ένας εκ των 5 εκατομμυρίων κατοίκων της Άγκυρας αναμένεται να εκδηλώσει κάποια μορφή καρκίνου η οποία αποδίδεται στην καθημερινή πόση χλωριωμένου νερού. Εκ των διαφόρων τριαλογονομεθανίων, μεγαλύτερη συνεισφορά στην εκδήλωση καρκίνου φέρει το χλωροφόρμιο το οποίο η συγκεκριμένη μελέτη θεωρεί ότι εισάγεται στον ανθρώπινο οργανισμό κυρίως μέσω πόσης και σε μικρότερο ποσοστό μέσω εισπνοής και δερματικής έκθεσης.

Ο Watanabe (Watanabe et.al, 2005) και η ερευνητική του ομάδα πραγματοποίησαν μια μελέτη αξιολόγησης της επικινδυνότητας πρόκλησης επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία όπως η εμφάνιση καρκίνου και η διάδοση μολυσματικών ασθενειών λόγω επαναχρησιμοποίησης εξευγενισμένων απονέρων των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων ως εναλλακτική πηγή πόσιμου νερού στην Φουκουσίμα, ο πληθυσμός της οποίας ανέρχεται σε 300 χιλιάδες κατοίκους. Για την εκτίμηση της επικινδυνότητας χρησιμοποιήθηκαν δείκτες ως προς τα συνολικά έτη που χάνονται (DALY, Disability Adjusted Life Years) οι οποίοι επί της ουσίας αποτελούν ένα είδος κλίμακας υποβάθμισης της ανθρώπινης υγείας. Τα αποτελέσματα δεν κατέδειξαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα καταγραφόμενα ποσοστά καρκίνων κατά την επαναχρησιμοποίηση εξευγενισμένων απονέρων αντί υπόγειων νερών.

Ο Wang (W. Wang et.al, 2007) μελέτησε την εμφάνιση καρκίνου λόγω εισόδου τριαλογονομεθανίων στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω των τριών κοινών οδών έκθεσης (πόση χλωριωμένου νερού, εισπνοή

και δερματική επαφή) στους κατοίκους του Πεκίνου. Για την διεξαγωγή των συμπερασμάτων, χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα σχετικά με τις περιεκτικότητες τριαλογονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων στο πόσιμο νερό του Πεκίνου (μικρότερες του ανώτατου επιτρεπτού ορίου σύμφωνα με την USEPA και τον ΠΟΥ). Τα αποτελέσματα κατέδειξαν την ύπαρξη υψηλότερου κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου λόγω πόσης νερού σε σύγκριση με τις άλλες δύο περιπτώσεις έκθεσης. Εκ των αποτελεσμάτων κατέστη επίσης προφανές ότι χρησιμοποιώντας χλώριο σε συνδυασμό με χλωραμίνες είναι εφικτός ο περιορισμός του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου λόγω έκθεσης σε τριαλογονομεθάνια, ενώ κατά τη χρήση όζοντος ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος τόσο λόγω των τριαλογονομεθανίων όσο και λόγω των τριαλογονοξικών οξέων.

Ο Wang και οι συνεργάτες του (G. S. Wang et.al, 2007) επικεντρώθηκαν στον υπολογισμό της σε βάθος χρόνου επικινδυνότητας εμφάνισης καρκίνου η οποία αποδίδεται στην κατανάλωση τριαλογονομεθανίων μέσω πόσης χλωριωμένου νερού, με προσδιορισμό της επιμέρους συνεισφοράς κάθε παραγώγου. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας ορίστηκαν συντελεστές για το κάθε τριαλογονοπαράγωγο και μέσω συνδυασμού αυτών με μοντέλα προσομοίωσης κατά την μέθοδο Monte Carlo, εκτιμήθηκε η επικινδυνότητα εμφάνισης καρκίνου λαμβάνοντας υπόψιν τους τρεις βασικούς τρόπους έκθεσης (πόση, εισπνοή, δερματική έκθεση). Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι μέγιστη επικινδυνότητα αντιστοιχεί στην περίπτωση εισπνοής χλωροφορμίου κατά την ατομική υγιεινή (μπάνιο, λούσιμο) και σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη αυτός ο τύπος έκθεσης θεωρήθηκε ότι κυριαρχεί στη διαμόρφωση των συνολικών επιπτώσεων. Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με την μελέτη του Jo (Jo et.al, 1990) και των συνεργατών του, οι οποίοι διερεύνησαν την είσοδο του χλωροφορμίου στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω δερματικής έκθεσης και εισπνοής κατά τη διάρκεια του μπάνιου. Τα συμπεράσματά τους βασίστηκαν σε παρατηρήσεις των διαμορφούμενων περιεκτικότητας χλωροφορμίου στον εκπνεόμενο αέρα αφενός κατόπιν ενός κανονικού μπάνιου με χλωριωμένο νερό και αφετέρου κατόπιν απλής αναπνοής σε συνθήκες όμοιες με αυτές του μπάνιου χωρίς όμως δερματική έκθεση. Η περιεκτικότητα του χλωροφορμίου στην πρώτη περίπτωση (δερματική έκθεση και εισπνοή) έλαβε τιμές 6.0 – 21.0μg/L, στη δε δεύτερη περίπτωση (απλή εισπνοή) σημειώθηκαν μετρήσεις μεταξύ 2.4 – 10.0 μg/L. Οι μετρήσεις πριν την έκθεση σε κάθε περίπτωση βρέθηκαν κατώτερες του ορίου ανίχνευσης (0.86μg/m³). Συνεπώς, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης προτείνουν παρόμοιας έκτασης συνεισφορά της έκθεσης σε χλωροφόρμιο μέσω αναπνοής και δερματικής απορρόφησης.

Για τα παράγωγα βρωμοδιχλωρομεθάνιο και διβρωμοχλωρομεθάνιο, η έκθεση μέσω εισπνοής θεωρήθηκε παρόμοια, ενώ αξιόλογη απεδείχθη η συνεισφορά της έκθεσης μέσω πόσης. Το

βρωμοφόρμιο εκδηλώνει την ελάχιστη επικινδυνότητα όσον αφορά στην πρόκληση καρκίνου, φέροντας συντελεστή ο οποίος είναι κατά δύο τάξεις μικρότερος σε σχέση με τους αντίστοιχους συντελεστές των λοιπών παραγώγων. Για το σύνολο των τεσσάρων τριαλογονομεθανίων, η δερματική έκθεση θεωρήθηκε αμελητέα σε σύγκριση με την εισπνοή και πόση. Κατά την παρατήρηση των επιπτώσεων σε διαφορετικές περιοχές της Ταϊβάν, κατέστη προφανές το συμπέρασμα ότι η αύξηση της περιεκτικότητας των συνολικών τριαλογονομεθανίων δεν συνεπάγεται κατ' ανάγκη αύξηση των περιστατικών εκδήλωσης καρκίνου.

Εκ των ανωτέρω καθίσταται προφανής η ύπαρξη συσχέτισης – σε κάποιο βαθμό – μεταξύ έκθεσης σε παραπροϊόντα χλωρίωσης και εμφάνισης καρκίνου. Παρά την συνεχή δημοσίευση μελετών που διερευνούν τη συσχέτιση αυτή, τα ερωτήματα που παραμένουν είναι πολλά. Άλλωστε, πλήθος ερευνητών επισημαίνει ότι για αρκετές κατηγορίες παραπροϊόντων δεν έχει πραγματοποιηθεί επαρκής εκτίμηση της τοξικότητας και της τάσης πρόκλησης καρκίνου.

Αποβολές και γενετικές ανωμαλίες

Οι μελέτες οι οποίες εξετάζουν τις ενδεχόμενες επιδράσεις στην εγκυμοσύνη και την πρόκληση αποβολών λόγω έκθεσης σε οργανικά χλωρο-παραπροϊόντα εμφανίζονται αρκετά χρόνια μετά τις αντίστοιχες μελέτες διερεύνησης της εκδήλωσης καρκίνου. Αξιόλογο εύρημα αυτών των μελετών αποτελεί το γεγονός ότι οι παρατηρούμενες επιδράσεις εξαρτώνται σε σημαντικό βαθμό από τον τύπο του παραπροϊόντος. Για παράδειγμα, για τα παραπροϊόντα τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των αλογονοακετονιτριλίων, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν την πιθανότητα ανάπτυξης δυσπλασιών στο καρδιαγγειακό, στο πεπτικό, στο ουροποιητικό και στο αναπαραγωγικό σύστημα των εμβρύων, ενώ η έκθεση σε παράγωγα της κατηγορίας των αλογονοξικών οξέων προκαλεί δυσλειτουργία των γεννητικών οργάνων, λόγω διαταραχών στην ομαλή παραγωγή και φυσιολογική κινητικότητα του σπέρματος, επιδράσεις στο νευρικό σύστημα, καθώς και στην ανάπτυξη του κρανίου και των χαρακτηριστικών του προσώπου (Nieuwenhijzen et.al, 2000a).

Οι περισσότερες κατηγορίες παραπροϊόντων ωστόσο στερούνται συστηματικών μελετών προσδιορισμού της επικινδυνότητας πρόκλησης διαταραχών επί της αναπαραγωγής και της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Οι επιδημιολόγοι κατά την κάλυψη του ζητήματος απόδοσης συγκεκριμένων επιπτώσεων στην υγεία σε συγκεκριμένα παράγωγα, αντιμετωπίζουν σημαντικές δυσχέρειες αφενός λόγω έκθεσης σε έναν μεγάλο αριθμό διαφορετικών παραπροϊόντων και αφετέρου εξαιτίας της απουσίας ακριβών δεδομένων σχετικά με τα επίπεδα έκθεσης, τις καταγεγραμμένες αποβολές σε επίπεδα ευρύτερων περιοχών και της ύπαρξης πιθανών διαφοροποιήσεων κατά τα επιμέρους στάδια της εγκυμοσύνης.

Παρά την σημαντικότητα των προαναφερθέντων ανασταλτικών παραγόντων, απαντάται ένας αξιόλογος αριθμός συστηματικών επιδημιολογικών μελετών από το 1992 και έκτοτε. Μια εκ των πρώτων μελετών αυτού του είδους πραγματοποιήθηκε στην Αϊόβα (Λουιζιάνα) όπου μελετήθηκε η πιθανότητα εμφάνισης αυξημένης επικινδυνότητας γεννήσεων νεκρών μωρών και μωρών με χαμηλό βάρος. Οι επιδημιολογικές μελέτες σε συνδυασμό με δοκιμές σε πειραματόζωα περιγράφουν ένα αρνητικό μοντέλο επιπτώσεων στη δημόσια υγεία λόγω έκθεσης σε αυτές τις πολύπλοκες κατηγορίες χημικών ενώσεων (Nieuwenhvijsen et.al, 2000b).

Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις του Kramer (Kramer et.al, 1992) κατά τη μελέτη 4028 εγκύων γυναικών στην περιοχή της Αϊόβας, παρατηρήθηκε γέννηση μωρών χαμηλού βάρους λόγω προβληματικής ενδομήτριας ανάπτυξης σε περιπτώσεις που η μητέρα κατανάλωνε κατά την κύηση νερό με περιεκτικότητες τριαλογονομεθανίων άνω των 10ppb. Σε αντίστοιχες μελέτες παρατήρησης 2348 περιπτώσεων στη Μασαχουσέτη, οι ερευνητές σημείωσαν αυξημένους ρυθμούς γέννησης νεκρών βρεφών, σημαντικούς αριθμούς θανάτων σε νεογέννητα ηλικίας 1 – 4 εβδομάδων, σοβαρές γενετικές δυσπλασίες καθώς και προβληματική λειτουργία του ουροποιητικού και αναπνευστικού συστήματος (Aschengrau et.al, 1993).

Εντός του διαστήματος 1985 – 1998 γεννήθηκαν περισσότερα από 81600 μωρά σε 75 πόλεις του New Jersey. Την περίοδο αυτή σημειώθηκε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης χαμηλού βάρους στα νεογνά, προβληματική λειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος καθώς και σοβαρές καρδιακές διαταραχές στις περιπτώσεις που οι μητέρες κατανάλωναν νερό με υψηλές περιεκτικότητες σε τριαλογονομεθάνια (άνω των 100ppb) (Bove et.al, 1995). Συγκεκριμένα παρατηρήθηκαν οι επιπτώσεις ανά παραπροϊόν που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.3.1**.

Την ίδια περίοδο ο Savitz (Savitz et.al, 1995) εξέτασε περίπου 1000 περιπτώσεις εγκύων στη Νότια Καλιφόρνια. Τα αποτελέσματα προτείνουν την ύπαρξη αυξημένων ρυθμών αποβολών και γέννησης νεογνών χαμηλού βάρους. Συγκεκριμένα, για την διεξαγωγή της μελέτης αυτής χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα σχετικά με τις καταγεγραμμένες αποβολές, τις πρόωρες γεννήσεις καθώς και τις γεννήσεις βρεφών μικρού βάρους. Τα δεδομένα αυτά συνδυάστηκαν με τις πηγές του πόσιμου νερού, την ποσότητα του καταναλισκόμενου νερού και τις συγκεντρώσεις των τριαλογονομεθανίων σε αυτό. Αύξηση της κατανάλωσης του χλωριωμένου πόσιμου νερού κατά τη διάρκεια της κύησης συνδέθηκε με αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης των προαναφερθέντων διαταραχών. Ωστόσο, εκ των αποτελεσμάτων συνάγεται το γενικότερο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει ισχυρή σύνδεση μεταξύ της κατανάλωσης παραπροϊόντων χλωρίωσης και πρόωρων αποβολών, γεγονός το οποίο φαίνεται να ισχύει κυρίως για τις περιπτώσεις κατανάλωσης νερού με χαμηλές περιεκτικότητες σε

τριαλογονομεθάνια.

Πίνακας 2.3.1. Επιπτώσεις ανά παραπροϊόν λόγω κατανάλωσης χλωριωμένου νερού κατά την περίοδο κύησης.

Παραπροϊόν	Επιπτώσεις
τριαλογονομεθάνια	δυσλειτουργία κεντρικού νευρικού συστήματος καθυστερημένη ενδομήτρια ανάπτυξη σοβαρές καρδιακές διαταραχές ανωμαλίες στην ανάπτυξη των χειλιών
τετραχλωράνθρακας	μικρό βάρος κατά τη γέννηση καθυστερημένη ενδομήτρια ανάπτυξη διαταραχές κατά τη γέννηση δυσλειτουργία κεντρικού νευρικού συστήματος διαταραχές νευρικού σωλήνα ανωμαλίες στην ανάπτυξη των χειλιών
τριχλωροαιθυλένιο	δυσλειτουργία κεντρικού νευρικού συστήματος διαταραχές νευρικού σωλήνα ανωμαλίες στην ανάπτυξη των χειλιών
τετραχλωροαιθυλένιο	ανωμαλίες στην ανάπτυξη των χειλιών
διχλωροαιθυλένιο	δυσλειτουργία κεντρικού νευρικού συστήματος ανωμαλίες στην ανάπτυξη των χειλιών
1,2-διχλωροαιθάνιο	σοβαρές καρδιακές διαταραχές

Ο Kanitz (Kanitz et.al, 1996) μελέτησε 676 περιπτώσεις εγκυμοσύνης στην επαρχία Λιγκούρια της Ιταλίας (548 περιπτώσεις στο δημόσιο νοσοκομείο της περιοχής Genoa και 128 περιπτώσεις στην περιοχή Chiavari) χρησιμοποιώντας δεδομένα σχετικά με την κατάσταση τόσο των βρεφών όσο και της μητέρας. Εκ των αποτελεσμάτων προέκυψε αυξημένος αριθμός εμφάνισης νεογνικού ικτέρου, μικρό βάρος, μικρό μέγεθος κρανίου (κρανιακή περίμετρος $\leq 35\text{cm}$) και περιορισμένο σωματικό μήκος ($\leq 49.5\text{cm}$), χαρακτηριστικά τα οποία αποδόθηκαν στην έκθεση της μητέρας σε παραπροϊόντα απολύμανσης λόγω κατανάλωσης χλωριωμένου νερού κατά την περίοδο της κύησης.

Ο Waller και οι συνεργάτες του (Waller et.al, 1998) μελέτησαν ένα σύνολο 5144 περιπτώσεων εγκυμοσύνης στην Καλιφόρνια με δεδομένα περιεκτικότητας σε τριαλογονομεθάνια για 78 σημεία παροχής νερού. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης ορίστηκαν μέσα επίπεδα έκθεσης των μελλουσών μητέρων σε τριαλογονομεθάνια μέσω υπολογισμού μέσω όρων στο νερό το οποίο

καταναλώθηκε κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης. Τα αποτελέσματα προτείνουν την διαμόρφωση μεγάλων πιθανοτήτων εμφάνισης αποβολών στις έγκυες οι οποίες κατανάλωναν νερό σε ποσότητες άνω των 4 ποτηριών ανά ημέρα με περιεκτικότητα σε συνολικά τριαλογονομεθάνια της τάξης των 75μg/L. Επιπλέον, η μέγιστη επικινδυνότητα αποδόθηκε στο βρωμοδιχλωρομεθάνιο.

Η ερευνητική ομάδα του Dodds (Dodds et.al, 1999) μελέτησε τα δεδομένα 49842 γεννήσεων στη Σκοτία (Νόβα) και κατέληξε σε συσχετίσεις μεταξύ έκθεσης σε τριαλογονομεθάνια και εμφάνισης αυξημένων ποσοστών γέννησης νεκρών βρεφών, χρωμοσωμικών ανωμαλιών καθώς και διαταραχών του νευρικού συστήματος. Τα αποτελέσματα αντίστοιχων μελετών στο New Jersey (μελέτη 360 περιπτώσεων) προτείνουν την διαμόρφωση διπλάσιων πιθανοτήτων ανάπτυξης ανωμαλιών του νευρικού συστήματος λόγω κατανάλωσης κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης νερού με περιεκτικότητα σε τριαλογονομεθάνια ανώτερη των 40 ppb σε σύγκριση με τις περιπτώσεις κατανάλωσης νερού με περιεκτικότητες κατώτερες των 5ppb (Klotz and Pyrch, 1999).

Ο Bove και η ερευνητική του ομάδα (Bove et.al, 2002) δημοσίευσε μια περίληψη 14 προηγούμενων μελετών σχετικά με τις επιπτώσεις στην υγεία λόγω έκθεσης σε παραπροϊόντα χλωρίωσης καθώς και 5 μελετών σχετικά με τις επιπτώσεις διαφόρων οργανικών χλωριωμένων διαλυτών όπως το τριχλωροαιθυλένιο. Τα δεδομένα εξετάστηκαν υπό το πρίσμα της πρόκλησης διαταραχών κατά την διάρκεια της κύησης και της γέννας. Συγκεκριμένα, ο Bove μελέτησε τις περιπτώσεις καθυστερημένης ενδομήτριας ανάπτυξης, χαμηλού βάρους γέννησης, πρόωρης γέννας, επιπλοκών κατά τον τοκετό και θανάτων εμβρύων. Λόγω ετερογενειών στις επιμέρους μελέτες σχετικά με τον χαρακτηρισμό των αποτελεσμάτων, την αξιολόγηση και κατηγοριοποίηση των παραπροϊόντων έκθεσης και τα επίπεδα των μειγμάτων των μολυντών, διεξήχθη ποιοτική μόνο εκτίμηση των συγκριτικών αποτελεσμάτων. Ο κύριος ανασχετικός παράγοντας για την διεξαγωγή ποσοτικών εκτιμήσεων αφορά στην έκθεση σε διαφορετικής ποιότητας νερό και στη μερική μελέτη, συγκεκριμένων μόνο παραπροϊόντων σε ορισμένες έρευνες. Οι μελέτες σχετικά με την έκθεση σε τριαλογονομεθάνια προτείνουν σημαντικές επιδράσεις για την εκδήλωση καθυστερημένης ενδομήτριας ανάπτυξης, διαταραχές του νευρικού σωλήνα και πρόωρες αποβολές.

Η ερευνητική ομάδα του Porter (Porter et.al, 2005) διερεύνησε την έκταση κατά την οποία η κατηγορία των 4 τριαλογονομεθανίων και των 5 αλογονοξικών οξέων μπορεί να συσχετιστεί με εκδήλωση αυξημένου κινδύνου ενδομήτριων διαταραχών ανάπτυξης σε τέσσερις περιοχές της πολιτείας Maryland των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής για το χρονικό διάστημα 1998 – 2002. Η έκθεση των εγκύων σε κάθε μια εκ των δύο εξεταζόμενων κατηγοριών παραπροϊόντων αξιολογήθηκε ανά εξάμηνο καθώς και για το σύνολο της περιόδου κύησης. Κατά το διάστημα αυτό, ο αριθμός των

πιθανών περιπτώσεων μελέτης διαμορφώθηκε στις 18,800 γεννήσεις. Εξ αυτών αποκλείστηκαν 713 περιπτώσεις λόγω πολύδυμων κυήσεων καθώς και 101 περιπτώσεις των οποίων το διάστημα κύησης ήταν εκτός του εύρους 25 – 42 εβδομάδων. Οι μελετητές δεν κατέληξαν στην πρόταση μιας συνεκτικής, στατιστικά αξιοσημείωτης επίδρασης όσον αφορά στις διαταραχές κατά την ενδομήτρια ανάπτυξη. Επίσης, δεν κατέληξαν στον προσδιορισμό κάποιου μοντέλου δόσης – απόκρισης. Παρά ταύτα, αναφέρουν την ύπαρξη ελαφρώς υψηλότερης επικινδυνότητας όσον αφορά σε διαταραχές της ενδομήτριας ανάπτυξης κατά το 2ο και 3ο τρίμηνο κύησης κυρίως λόγω έκθεσης σε αλογονοξικά οξέα και σε μικρότερο βαθμό λόγω έκθεσης σε τριαλογονομεθάνια. Παρά το γεγονός ότι το 3ο τρίμηνο αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο της ανάπτυξης του εμβρύου (τετραπλασιασμός του βάρους), θεωρείται ότι διαταραχές λόγω έκθεσης σε παραπροϊόντα χλωρίωσης κατά τα δύο πρώτα τρίμηνα ενδέχεται να προκαλέσουν μελλοντικές επιδράσεις κατά τους τελευταίους μήνες λόγω διαταραχών στην κυτταρική διαίρεση. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται και από τον Wright (Wright et.al, 2003) ο οποίος κατέληξε στην ύπαρξη συσχετίσεων μεταξύ της έκθεσης σε υψηλά επίπεδα τριαλογονομεθανίων κατά τα δύο τελευταία τρίμηνα και της διαμόρφωσης μικρού τελικού βάρους κατά τη γέννηση, λόγω διαταραγμένης ενδομήτριας ανάπτυξης κατά το τρίτο τρίμηνο.

Ο Yang (Yang et.al, 2007) διεξήγαγε μελέτες προσδιορισμού των επιπτώσεων έκθεσης σε τριαλογονομεθάνια όσον αφορά στον κίνδυνο διαμόρφωσης μικρού βάρους κατά τη γέννηση, μικρού βάρους κατά τους τελευταίους μήνες λόγω διαταραγμένης ενδομήτριας ανάπτυξης καθώς και πρόωρης γέννησης. Η ερευνητική ομάδα αξιοποίησε δεδομένα σχετικά με την περιεκτικότητα των τριαλογονομεθανίων σε 65 σημεία παροχής νερού στην Ταϊβάν κατά την περίοδο 01/01-31/12/2002. Τα δεδομένα αυτά συνδυάστηκαν με πλήρη δεδομένα σχετικά με την ηλικία της μητέρας, το βάρος κατά τη γέννηση και το φύλο του βρέφους. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ασθενή συσχέτιση των καταγεγραμμένων διαταραχών με την κατανάλωση χλωριωμένου νερού, γεγονός το οποίο μπορεί να ερμηνευθεί από τα σχετικά χαμηλά επίπεδα τριαλογονομεθανίων στο νερό ύδρευσης της Ταϊβάν.

2.4 Επιπτώσεις στο φυτοπλαγκτόν

Το φυτοπλαγκτόν αποτελεί ένα μείζονος σημασίας μέρος των οργανισμών των θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Αυτή η κατηγορία οργανισμών συμμετέχει θετικά στην κατανομή του οξυγόνου μέσω της φωτοσυνθετικής τους δραστηριότητας. Η επιβολή τάσεων ανάσχεσης της ομαλής ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού το οποίο αποτελεί τη βάση της τροφικής πυραμίδας αναμένεται να επιφέρει σημαντικές επιπτώσεις στο σύνολο των οργανισμών οι οποίοι συνθέτουν το οικοσύστημα. Η παρουσία

αξιόλογων ποσοτήτων χλωρίου και των αντίστοιχων παραπροϊόντων του στα υδάτινα οικοσυστήματα οφείλεται στις πλείστες των περιπτώσεων αφενός στη διάθεση χλωριωμένων λυμάτων και αφετέρου στην απόρριψη χλωριωμένων ρευμάτων θαλασσινού νερού τα οποία χρησιμοποιούνται ως ψυκτικά μέσα (κυρίως σε μονάδες παραγωγής ενέργειας). Λόγω του γεγονότος αυτού, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στην μελέτη των επιπτώσεων οι οποίες επιφέρονται στο φυτοπλαγκτόν των υδάτινων αποδεκτών εξαιτίας των δύο αυτών δραστηριοτήτων και ιδίως της δεύτερης.

Το χλώριο το οποίο χρησιμοποιείται στις μονάδες παραγωγής ενέργειας για την αποφυγή της – σε βάθος χρόνου – αναμενόμενης απόφραξης λόγω ανάπτυξης γλοιώδους μάζας στα συστήματα ψύξης, ενδέχεται να επιφέρει μεταβλητής σημαντικότητας επιπτώσεις στην ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού στα σημεία διάθεσης αυτών των χλωριωμένων ρευμάτων. Η περιεκτικότητα του χλωρίου στο σημείο προσθήκης λαμβάνει τιμές της τάξης του 1ppm και συνεπώς αρκετά χαμηλότερες τιμές περιεκτικότητας σημειώνονται στον τελικό αποδέκτη λόγω αραίωσης, εξάτμισης, κατανάλωσης εξαιτίας της πραγματοποίησης διαφόρων χημικών αντιδράσεων προς παραγωγή παραπροϊόντων καθώς και της φωτοχημικής του διάσπασης (Brungs 1973). Παρά ταύτα, οι επιπτώσεις του χλωρίου στην ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού και ο περιορισμός της φωτοσυνθετικής ικανότητας έχουν μελετηθεί ήδη από τις αρχές τις δεκαετίας του '70 σε διάφορα συστήματα γλυκών νερών (Brook and Baker, 1972), νερών εκβολών (Hamilton et.al, 1970, Morgan and Stross, 1969) καθώς και στα θαλάσσια οικοσυστήματα (Carpenter et.al, 1972). Κατά την χρήση χλωρίου στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων δεν αναμένεται γενικά η παρατήρηση αντίστοιχης σημαντικότητας επιδράσεων επί της ανάπτυξης του φυσικού φυτοπλαγκτού ή περιορισμός της ικανότητας φωτοσύνθεσης σε σύγκριση με τις μονάδες παραγωγής ενέργειας (SCCWRP 1973, Thomas et.al, 1974) καθώς στις πλείστες των περιπτώσεων περιλαμβάνονται συστήματα διάχυσης, μέσω των οποίων είναι εφικτή η επίτευξη άμεσης αραίωσης κατά 100 – 200 φορές. Επομένως, ακόμα και στην περίπτωση απόρριψης ρευμάτων τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλές περιεκτικότητες (της τάξης των μερικών ppm), επέρχεται αραίωση σε αμελητέα επίπεδα. Το γεγονός αυτό δικαιολογεί την επικράτηση της τάσης προς μελέτη των επιπτώσεων λόγω απόρριψης ψυκτικών ρευμάτων σε σύγκριση με την περίπτωση των επεξεργασμένων λυμάτων. Σε κάθε περίπτωση, τα παραπροϊόντα είναι κοινά και επομένως αναμένονται όμοιες επιδράσεις ανεξαρτήτως της ακριβούς προέλευσης του χλωρίου και των παραπροϊόντων του.

2.4.1 Αρχικές μελέτες

Οι αρχικές μελέτες στράφηκαν στην διερεύνηση των επιδράσεων του χλωρίου (ως ολικό

υπολειμματικό χλώριο) χωρίς την διεξαγωγή πειραμάτων τα οποία θα διευκρίνιζαν ειδικότερες επιδράσεις οφειλόμενες στην παρουσία των παραπροϊόντων. Μια εκ των πρώτων μελετών αυτής της κατηγορίας αποτελεί η εργασία της ερευνητικής ομάδας του Hirayama (Hirayama and Hirano, 1970) η οποία μελέτησε τις άμεσες επιδράσεις στα είδη *Chlamidomonas* sp και *Skeletonema costatum* κατά την έκθεση σε χλώριο. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης, πραγματοποιήθηκε εισαγωγή μιας πυκνής καλλιέργειας του είδους *Chlamidomonas* sp σε περιβάλλον ανάπτυξης το οποίο περιείχε χλώριο σε διάφορες περιεκτικότητες (προσθήκη υποχλωριώδους νατρίου) και υπό συγκεκριμένους χρόνους ωρίμανσης. Εκ των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι το συγκεκριμένο είδος κατά την έκθεσή του σε περιβάλλον χλωρίου περιεκτικότητας άνω των 1.5ppm παρουσιάζει χρονική υστέρηση στην ανάπτυξη καθώς δεν παρατηρήθηκε αύξηση για αρκετές μέρες κατόπιν της έκθεσης. Ωστόσο, η παρουσία χλωρίου ακόμη και σε περιεκτικότητες της τάξης των 20ppm δεν επέφερε σε καμία περίπτωση ολική καταστροφή αυτού του είδους καθώς παρατηρήθηκε ανάκαμψη της ικανότητας πολλαπλασιασμού των κυττάρων μετά την συμπλήρωση 9 ημερών από την έκθεση σε χλώριο. Οι παρατηρήσεις κατά την έκθεση των καλλιεργειών σε πολύ χαμηλές περιεκτικότητες χλωρίου χαρακτηρίζονται από ευρεία κατανομή τιμών με αξιοσημείωτες αποκλίσεις όσον αφορά στα αποτελέσματα των μετρήσεων κατά τα πρώτα 5 και 10 λεπτά. Η ασυμφωνία αυτή αποδίδεται κατά τους μελετητές στην διαφορετική φυσιολογία των διαφόρων στελεχών του είδους *Chlamidomonas* sp. Οι καλλιέργειες του είδους *Skeletonema costatum* οι οποίες μελετήθηκαν ρυθμίστηκαν ούτως ώστε οι συνθήκες ανάπτυξης να είναι όμοιες με αυτές για το είδος *Chlamidomonas* sp. Εκ των αποτελεσμάτων συνάγεται το συμπέρασμα ότι το είδος *Skeletonema costatum* παρουσιάζει υψηλότερη ευαισθησία κατά την έκθεση σε περιβάλλον χλωρίου σε σχέση με το είδος *Chlamidomonas* sp. Σε περιβάλλον περιεκτικότητας χλωρίου άνω των 2ppm η καλλιέργεια του είδους *Skeletonema costatum* επλήγη σε τέτοιο βαθμό που η ανάπτυξη δεν επανεμφανίστηκε ακόμα και μετά την συμπλήρωση 30 ημερών.

Οι Brook και Baker (Brook and Baker 1972) ανέφεραν ότι η ύπαρξη χλωρίου σε περιεκτικότητα 0.32mL/L έπληξε την φωτοσυνθετική ικανότητα και την αναπνοή του φυτοπλαγκτού γλυκών νερών κατά ποσοστό 50%. Ο Carpenter και οι συνεργάτες του (Carpenter et.al, 1972) μελέτησαν την παραγωγικότητα καλλιεργειών φυτοπλαγκτού κατά την έκθεση σε 8 επίπεδα περιεκτικότητας χλωρίου. Τα αποτελέσματα προτείνουν μείωση της παραγωγικότητας κατά ποσοστό 79% στην περίπτωση του χαμηλότερου επιπέδου (0.1 ppm χλωρίου), το δε αντίστοιχο ποσοστό όσον αφορά το υψηλότερο επίπεδο (1.2 ppm) ανήλθε σε 83%.

Ο Brungs (Brungs 1976) παρουσίασε μια σύνοψη των έως τότε βιβλιογραφικών εργασιών σχετικά με την τοξικότητα του ολικού υπολειμματικού χλωρίου στους θαλάσσιους οργανισμούς κατά τη διάθεση

χλωριωμένων ψυκτικών ρευμάτων και επεξεργασμένων λυμάτων. Οι σημαντικότερες παρατηρήσεις του βάσει των προηγούμενων μελετών αφορούν στα εξής:

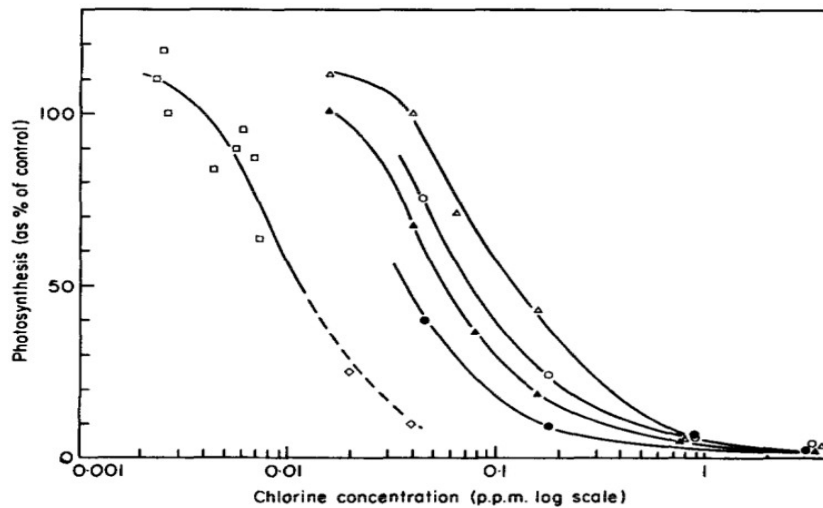
- το ολικό υπολειμματικό χλώριο είναι θανατηφόρο για ορισμένα είδη θαλάσσιων οργανισμών ακόμα και σε περιεκτικότητες κατώτερες του αναλυτικού ορίου ανίχνευσης
- η αποχλωρίωση των ρευμάτων πριν την τελική διάθεση φαίνεται να αναιρεί τις σφοδρές επιδράσεις στους θαλάσσιους οργανισμούς
- Η τοξικότητα λόγω ύπαρξης του ολικού υπολειμματικού χλωρίου είναι ανεξάρτητη του τύπου των χλωριωμένων υδάτων (θαλασσινό νερό ή λύματα)

Ο Brungs επίσης τονίζει στην εργασία αυτή την σημαντικότητα διεξαγωγής περαιτέρω μελετών για την διερεύνηση των επιπτώσεων εξαιτίας της παραγωγής οργανοχλωριωμένων παραπροϊόντων. Η πλέον σημαντική μελέτη επί της εκτίμησης της τοξικότητας των παραπροϊόντων χλωρίωσης παρουσιάστηκε το 1976 από την ερευνητική ομάδα του Erphey (Erphey et.al, 1976). Η ομάδα αυτή εξέτασε δύο περιπτώσεις διάθεσης χλωριωμένων ρευμάτων, προερχόμενων αφενός από μια μονάδα επεξεργασίας λυμάτων και αφετέρου από μια μονάδα παραγωγής ενέργειας πραγματοποιώντας εργαστηριακές μετρήσεις και μετρήσεις πεδίου.

Εργαστηριακές μετρήσεις

Στα πλαίσια του μέρους των εργαστηριακών μετρήσεων ελήφθησαν φυσικά δείγματα θαλασσινού νερού από την περιοχή Scripps Pier του San Diego τα οποία μεταφέρθηκαν άμεσα στο εργαστήριο ανάλυσης. Στα δείγματα αυτά προστέθηκε χλώριο υπό τη μορφή υποχλωριώδους νατρίου σε διάφορες περιεκτικότητες ούτως ώστε να διερευνηθεί μια ικανοποιητικού εύρους κλίμακα περιεκτικότητας. Στα υπό μελέτη δείγματα προστέθηκε ^{14}C υπό την μορφή ανθρακικών ιόντων. Τα δείγματα κατόπιν πλήρους ανάδευσης αφέθηκαν προς ανάπτυξη για διάφορα χρονικά διαστήματα. Η προσθήκη αμμωνίας σε συγκέντρωση $30\mu\text{M}$ επέφερε μεγαλύτερης έκτασης αναστολή σε σύγκριση με τις παρατηρούμενες παρεμποδίσεις άνευ προσθήκης. Το γεγονός αυτό σύμφωνα με τους μελετητές αποδίδεται πιθανότατα στο ότι η παραμένουσα ποσότητα υπολειμματικού χλωρίου είναι μεγαλύτερη. Η θεώρηση αυτή είναι αποδεκτή υπό την προϋπόθεση ότι οι χλωραμίνες εκδηλώνουν παρόμοια ισχύς παρεμπόδιση σε σχέση με το ελεύθερο χλώριο και τις λοιπές μορφές υπολειμματικού χλωρίου. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων για χρόνους ανάπτυξης 2 – 4 ώρες προτείνουν ότι η φωτοσύνθεση μειώνεται κατά ποσοστό 50% κατόπιν προσθήκης χλωρίου σε ποσότητες οι οποίες διαμορφώνουν αρχικές περιεκτικότητες της τάξης του 0.1ppm (απουσία αμμωνίας) και 0.06ppm (παρουσία αμμωνίας σε συγκέντρωση $30\mu\text{M}$). Κατά την μελέτη του συστήματος κατόπιν 24 ωρών ωρίμανσης,

παρατηρήθηκε περιορισμός της ανάπτυξης κατά ποσοστό 50% υπό περιεκτικότητες χλωρίου της τάξης του 0.01ppm (Σχήμα 2.4.1). Εκ του Σχήματος 2.4.1 συνάγεται το συμπέρασμα ότι η παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης ενισχύεται – για σταθερή αρχική ποσότητα χλωρίου – κατά την αύξηση του χρόνου έκθεσης του φυτοπλαγκτού στο περιβάλλον χλωρίου, γεγονός το οποίο επαληθεύεται και από τις αυξημένες συγκεντρώσεις οι οποίες απαιτούνται για την επίτευξη σημαντικής μείωσης της ανάπτυξης εντός περιορισμένου χρονικού διαστήματος (λεπτά ή δευτερόλεπτα) (Hegre 1971).



Σχήμα 2.4.1. Παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης άνθρακα κατά την έκθεση φυσικών καλλιεργειών φυτοπλαγκτού σε χλώριο. ▲, ● τετράωρη ωρίμανση παρουσία 30μM αμμωνιακών, Δ, ○ τετράωρη ωρίμανση απουσία αμμωνιακών, □ 24-ωρη ωρίμανση, ◇ 24-ωρη ωρίμανση δειγμάτων της περιοχής San Onofre.

Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων, οι ερευνητές προσέθεσαν χλώριο (διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου) σε θαλασσινό νερό κατόπιν φίλτρανσης, διαμορφώνοντας περιεκτικότητες 0.2 και 1ppm υπό διάφορους χρόνους ωρίμανσης. Εν συνεχεία, προσέθεσαν εκ νέου θαλασσινό νερό (άνευ φίλτρανσης) το οποίο περιείχε φυσικό φυτοπλαγκτόν. Το υπολειμματικό χλώριο μετρήθηκε την στιγμή της ανάμειξης καθώς και κατόπιν συμπλήρωσης 24 ωρών με χρήση ορθοτολιδίνης. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων συνοψίζονται ως εξής:

(α) δεν παρατηρήθηκε ανάκαμψη της φωτοσυνθετικής ικανότητας κατόπιν έκθεσης στο περιβάλλον χλωρίου (**Πίνακας 2.4.1**),

(β) τα δείγματα τα οποία αφέθηκαν προς ωρίμανση για αρκετά μεγάλα χρονικά διαστήματα ώστε τελικά να μην ανιχνεύεται ελεύθερο χλώριο, εξακολουθούσαν να εμφανίζουν μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας (**Πίνακας 2.4.1**).

Σε μια τελευταία σειρά πειραμάτων διερευνήθηκε η περίπτωση των παραπροϊόντων χλωρίωσης και η τοξικότητά τους επί της φωτοσυνθετικής ανάπτυξης σε βάθος χρόνου, χρησιμοποιώντας

ποτενσιομετρικές μεθόδους ανάλυσης για τον προσδιορισμό του υπολειμματικού χλωρίου. Στην περίπτωση αυτή, επιτράπη ωρίμανση του χλωριωμένου θαλασσινού νερού κατόπιν φίλτρανσης έως ότου οι μετρούμενες τιμές ελεύθερου χλωρίου λάβουν τιμές κατώτερες του ορίου ανίχνευσης (0.003ppm). Στο σημείο αυτό όπου θεωρητικά στο μείγμα περιέχονται μόνον τα παραπροϊόντα χλωρίωσης ενώ το χλώριο αυτό καθαυτό απουσιάζει, οι μελετητές προσέθεσαν καλλιέργειες φυσικού φυτοπλαγκτού. Οι παρατηρήσεις κατέστησαν προφανές ότι δεν επιφέρονται ουσιαστικά ποσοστά περιορισμού της ανάπτυξης (Πίνακας 2.4.2).

Πίνακας 2.4.1. Φωτοσυνθετική ικανότητα κατόπιν έκθεσης σε χλώριο.

Χρόνος (min)	Συγκέντρωση χλωρίου (ppm)			Ρυθμός φωτοσύνθεσης* (% ποσοστό)
	Δείγμα κατόπιν φίλτρανσης	Κατόπιν ανάμειξης	Κατόπιν 24ωρης ωρίμανσης	
0	0.20	0.10	<0.005	14
	1.00	0.50	<0.15	8
15	0.086	0.04	<0.002	32
	0.54	0.27	<0.012	13
60	0.03	0.015	<0.001	41
	0.42	0.21	<0.010	11
Άνευ προσθήκης	-	-	-	100

*% ποσοστό του ρυθμού αναφοράς κατόπιν 24ωρης ωρίμανσης

Πίνακας 2.4.2. Έλεγχος πιθανού σχηματισμού παραπροϊόντων χλωρίωσης υψηλής και παραμένουσας τοξικότητας.

Ποτενσιομετρική ανίχνευση (mV)	Περιεκτικότητα (ppb)	Υπολειμματικό χλώριο (ppb), [ποτεν/κή ανίχνευση (mV)]		Ρυθμος φωτοσύνθεσης (% ρυθμού αναφοράς)	
		24 ώρες	5 ημέρες	24 ώρες	5 ημέρες
330	0	4 [348]	6 [355]	100	100
376	20	6 [356]	ΔΠ	95	ΔΠ
393	50	7 [357]	3 [341]	87	99
402	100	6 [354]	2 [339]	89	110
415	200	8 [358]	3 [340]	64	119
433	500	76 [399]	4 [349]	40	83

ΔΠ: δεν προσδιορίστηκε

Μετρήσεις πεδίου

Οι μετρήσεις πεδίου της μελέτης αυτής πραγματοποιήθηκαν στις 6 Νοεμβρίου 1974 και τα δείγματα αναλύθηκαν με εφαρμογή ποτενσιομετρικών τεχνικών προς προσδιορισμό της περιεκτικότητας του χλωρίου. Η δειγματοληψία περιορίστηκε σε δύο σημεία, ένα σημείο πλησίον της περιοχής απόρριψης των επεξεργασμένων λυμάτων των μονάδων επεξεργασίας του San Diego και ένα δεύτερο το οποίο απείχε απόσταση 50m από τη θέση απόρριψης των ψυκτικών ρευμάτων του σταθμού παραγωγής πυρηνικής ενέργειας του San Onofre. Στο σημείο απόρριψης των λυμάτων θεωρήθηκε ότι εξαιτίας των ρών θαλάσσιων ρευμάτων επέρχεται αραιώση των λυμάτων κατά 100 – 200 φορές. Κατά την περίοδο δειγματοληψίας η απόρριψη των λυμάτων τελούσαν σε βάθος 80m και οι μελετητές θεώρησαν ότι η ροή των λυμάτων δεν διαπερνά το θερμοκλινές των επιφανειακών στρωμάτων. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν την ανίχνευση ιχνών χλωρίου κατά την λήψη δειγμάτων από το επιφανειακό στρώμα (Πίνακας 2.4.3).

Πίνακας 2.4.3. Συγκεντρώσεις υπολειμματικού χλωρίου σε δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν στα επιφανειακά ύδατα πλησίον ή επί του σημείου διάθεσης των λυμάτων στην περιοχή του San Diego.

Θέση δειγματοληψίας	Ποτενσιομετρική ανίχνευση (mV)	Υπολειμματικό χλώριο (ppb)
2Km νότια	333	<1
1Km βόρεια	329	0
1Km βόρεια	328	0
1Km βόρεια	332	<1
Σημείο διάθεσης	337	1-2
Σημείο διάθεσης	340	2-3
1Km βόρεια	333	<1
1Km βόρεια	336	1-2
20Km βόρεια (μέτρηση αναφοράς)	331	0

Στην περιοχή του San Onofre οι τιμές του υπολειμματικού χλωρίου κυμάνθηκαν σε επίπεδα σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με την προηγούμενη περίπτωση. Οι επιπτώσεις επί της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού, όπως αναμένονταν, ήταν προφανέστερες. Κατά την περίοδο μελέτης, το σύστημα χλωρίωσης της μονάδας παραγωγής ενέργειας εισήγαγε χλώριο σε περιεκτικότητα 1ppm με συχνότητα 3 φορές/ημέρα. Στο σημείο απόρριψης λόγω απουσίας συστημάτων ανάμειξης τα χλωριωμένα ρεύματα

των ψυκτικών νερών ανέρχονταν στην επιφάνεια (λόγω θερμοκρασιακής διαφοράς) με ακόλουθη αραίωση υπό βραδείς ρυθμούς κατά την ροή των ρευμάτων.

Η παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης εκτιμώμενη κατόπιν 24ωρης ωρίμανσης των δειγμάτων έλαβε τιμές 70 – 80% για τα δείγματα στα οποία η περιεκτικότητα του χλωρίου λάμβανε ανιχνεύσιμες τιμές. Οι ρυθμοί φωτοσύνθεσης στον όγκο του θερμού πλουμίου στο υδάτινο περιβάλλον του San Onofre βρέθηκαν σχετικά χαμηλότεροι σε σχέση με τα λοιπά υδάτινα συστήματα στη Νότια Καλιφόρνια ως προς την περιεχόμενη χλωροφύλλη (**Πίνακας 2.4.4**). Προηγούμενες έρευνες στα πλαίσια των οποίων πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε διαστήματα κατά τα οποία τα συστήματα έγχυσης χλωρίου είχαν τεθεί εκτός λειτουργίας, κατέγραψαν ρυθμούς φωτοσύνθεσης οι οποίοι προτείνουν την απουσία περιορισμού της φωτοσυνθετικής ικανότητας. Εκ των αποτελεσμάτων αυτών τεκμαίρεται το συμπέρασμα ότι οι επιπτώσεις επί της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού οφείλονται αποκλειστικά στην ύπαρξη χλωρίου και όχι σε τυχόν οργανικά χλωρο-παραπροϊόντα τα οποία παραμένουν στο περιβάλλον ακόμα και μετά την απομάκρυνση του χλωρίου μέσω των διαφόρων μηχανισμών.

Πίνακας 2.4.4. Φωτοσυνθετικοί ρυθμοί ανά βάρος χλωροφύλλης-α σε σημεία μέγιστης απόστασης 0.5 μιλίων της παράκτιας περιοχής της Νότιας Καλιφόρνια. (Erpley et.al, 1970)

Θέση δειγματοληψίας	Ημερομηνία δειγματοληψίας	Βάθος (m)	% ποσοστό επιφανειακής φωτεινότητας	Ρυθμός φωτοσύνθεσης (mgC/mgchl-a·day)
La Jolla	04-09/1967	1	90	33±18**
				146±44 [†]
Del Mar	09/1974	1	90	44.8
		5	30	23.8
		1	90	11.4
San Onofre (άνευ χλωρίωσης)		1	30	37.8
		4	10	47.8
		1	90	38.0
Dana Point		5	30	19.7
		0	90	17.6±7.9
San Onofre (με χλωρίωση) (άνευ χλωρίωσης)	11/1974	0	90	5.0±3.0
		0	90	

**Κατά την περίοδο εκθετικής αύξησης παρουσία νιτρικών

[†]Κατά την oligοτροφική περίοδο (νιτρικά σε μη ανιχνεύσιμες ποσότητες, <0.01μM)

Οι αρχικές αυτές μελέτες οι οποίες προτείνουν την πρόκληση σημαντικών επιπτώσεων επί της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού λόγω εισαγωγής χλωρίου στα υδάτινα οικοσυστήματα στις πλείστες των περιπτώσεων βασίζονται τα συμπεράσματά τους σε δύο τύπους παρατηρήσεων: συγκριτικές εκτιμήσεις πεδίου της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας και εργαστηριακές μετρήσεις υπό συνθήκες προσομοίωσης του φυσικού περιβάλλοντος για την παρατήρηση άμεσων αποκρίσεων στην ανάπτυξη καλλιιεργειών φυτοπλαγκτού κατά την έκθεσή του σε περιβάλλον χλωρίου (Brook and Baker, 1972, Carpenter et.al, 1972, Erpely et.al, 1976). Οι λόγοι για τους οποίους οι τεχνικές αυτές παρέχουν μια μερική μόνο εικόνα των επιπτώσεων στους φυτικούς οργανισμούς των φυσικών αποδεκτών είναι διάφοροι. Σε αυτούς περιλαμβάνεται το γεγονός ότι οι υπό μελέτη καλλιέργειες φυτοπλαγκτού αντιπροσωπεύουν ένα μέρος του πραγματικού πληθυσμού ο οποίος απαντάται στα φυσικά συστήματα. Επιπρόσθετα, ο χρόνος μεταξύ δύο διαδοχικών γενεών φυτοπλαγκτού είναι ιδιαίτερα βραχύς και εξαιτίας τούτου παρά το γεγονός ότι ενδέχεται να επέλθουν σημαντικές παρεμποδίσεις επί της φωτοσυνθετικής ικανότητας και καταστροφής ενός μεγάλου ποσοστού της μελετούμενης καλλιέργειας, οι επιζώντες οργανισμοί εκδηλώνουν κατά κανόνα ικανότητα ανάκαμψης. (Jolley 1975)

Οι προαναφερθείσες αδυναμίες εντοπίστηκαν από την ερευνητική ομάδα του Goldman (Goldman and Davidson 1977) η οποία για την μελέτη της ικανότητας ανάκαμψης της ανάπτυξης του θαλάσσιου φυτοπλαγκτού κατόπιν έκθεσης σε χλώριο διαμόρφωσε ένα φυσικό μοντέλο προσομοίωσης το οποίο περιελάμβανε μια σειρά καλλιιεργειών φυτοπλαγκτού. Οι – σε βάθος χρόνου – επιδράσεις εκτιμήθηκαν μέσω των παρατηρήσεων των άμεσων αποκρίσεων κατά την έκθεση σε διάφορες περιεκτικότητες χλωρίου. Τα αποτελέσματα των μελετών κατηγοριοποιήθηκαν σε τρεις ομάδες: απουσία επιδράσεων, παρουσία επιδράσεων με μελλοντική ικανότητα ανάκαμψης της ανάπτυξης ή ολική καταστροφή της καλλιέργειας. Εκ των πειραματικών αποτελεσμάτων τεκμαίρονται τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- α. ο βαθμός τοξικότητας του χλωρίου επί της ανάπτυξης του θαλάσσιου φυτοπλαγκτού αποτελεί συνάρτηση της περιεχόμενης οργανικής ύλης,
- β. το φυτοπλαγκτόν το οποίο δεν καταστρέφεται ολικά κατά την χλωρίωση παρουσιάζει την ικανότητα εκ νέου ανάπτυξης υπό ευνοϊκές συνθήκες καθώς δεν παρατηρούνται μόνιμες διαταραχές της ανάπτυξης,
- γ. η διάσπαση του χλωρίου ελέγχεται όχι μόνο από την ικανότητα αραίωσης στον αποδέκτη αλλά και από τον χρόνο παραμονής και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των υδάτων.

Ο Goldman επίσης επισημαίνει ότι μεταξύ των σημαντικότερων παραγόντων οι οποίοι επηρεάζουν τις επιδράσεις του χλωρίου κατά την εισαγωγή του στους φυσικούς αποδέκτες περιλαμβάνονται οι υδρολογικές, βιολογικές και χημικές ιδιότητες των υδάτων, ενώ ως σημαντικότερο μειονέκτημα

προτείνει την παραγωγή οργανικών χλωρο-παραγώγων υψηλής σταθερότητας. Το χλώριο διασπάται με σχετικά ταχείς ρυθμούς ενώ οι χλωραμίνες παρουσιάζουν συγκριτικά αυξημένη σταθερότητα, τα δε οργανοχλωριωμένα παραπροϊόντα χαρακτηρίζονται από μέγιστη παραμονή στο φυσικό περιβάλλον. Εξαιτίας του γεγονότος ότι οι χλωραμίνες παρουσιάζουν όμοιας τάξης τοξικότητα με το ελεύθερο χλώριο όσον αφορά στην ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού (και ιδιαίτερα μεγαλύτερη σε διάφορα είδη ασπόνδυλων (Caruzzo et.al, 1976)), οι – σε βάθος χρόνου – επιπτώσεις καθορίζονται σε σημαντικό βαθμό από τα επίπεδα αμμωνίας στο σημείο διάθεσης των χλωριωμένων ρευμάτων. Συνεπώς, εκ των παρατηρήσεων αυτών καθίσταται προφανές ότι η εκτίμηση των επιπτώσεων λόγω χλωρίωσης αποτελεί ένα πολυδιάστατο ζήτημα το οποίο δε μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια μέσω απλής παρατήρησης των άμεσων αποκρίσεων.

Ο Sikka και οι συνεργάτες του (Sikka and Butler, 1977) μελέτησαν τις επιδράσεις των σταθερών οργανοχλωριωμένων παραπροϊόντων τα οποία παράγονται κατά την χλωρίωση των λυμάτων στην ανάπτυξη καλλιεργειών φυσικού φυτοπλαγκτού. Στα πλαίσια της εργασίας αυτής μελετήθηκε η τοξικότητα των παραγώγων 3-χλωροβενζοϊκό οξύ, 5-χλωρουρακίλη (5-χλωρο-2,4διυδροξυ-πυριμιδίνη), 4-χλωρορεσορκίνη (4-χλωρο-1,3-διυδροξυ-βενζόλιο) και 3-χλωροφαινόλη επί της ανάπτυξης των ειδών φυτοπλαγκτού *Dunaliella*, *Skeletonema* και *Porphyridium*. Ακολουθεί η παρουσίαση των βασικών αποτελεσμάτων ανά παραπροϊόν.

3-χλωροβενζοϊκό οξύ

Κατά την έκθεση σε περιβάλλον 3-χλωροβενζοϊκού οξέος περιεκτικότητας 1ppm δεν παρατηρήθηκε περιορισμός της ανάπτυξης των ειδών *Dunaliella* και *Porphyridium*. Επίσης, αμελητέες επιδράσεις σημειώθηκαν στην περίπτωση του είδους *Skeletonema* κατά την πρώτη εβδομάδα κατόπιν της έκθεσης σε αυτό το χλωροπαραγάγο. Παρά ταύτα, σημειώθηκε περιορισμός της ανάπτυξης σε ποσοστό 10 – 12% κατά την δεύτερη εβδομάδα ωρίμανσης των υπό μελέτη καλλιεργειών. Κατά την έκθεση σε υψηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας (10ppm) το είδος *Porphyridium* παρουσίασε ομαλή ανάπτυξη, ενώ οι αντίστοιχοι ρυθμοί του είδους *Dunaliella* μειώθηκαν κατά 4 – 12% εντός των πρώτων 5 ημερών. Κατόπιν της ολοκλήρωσης του διαστήματος αυτού το είδος *Dunaliella* εκδήλωσε ανάπτυξη όμοια με αυτή των καλλιεργειών αναφοράς.

5-χλωρουρακίλη

Η τοξικότητα του παραπροϊόντος 5-χλωρουρακίλη μελετήθηκε σε δύο επίπεδα περιεκτικότητας (1 και 10ppm). Η έκθεση του είδους *Skeletonema* σε αυτά τα επίπεδα δεν επέφερε περιορισμό της ανάπτυξης

ακόμα και μετά την ολοκλήρωση διαστήματος 7 ημερών κατόπιν της έκθεσης. Ωστόσο, κατά το διάστημα μεταξύ 10ης και 14ης μέρας καταγράφηκε ενίσχυση της ανάπτυξης κατά 3-9%. Η 5-χλωρουρακίλη σε αυτά τα επίπεδα περιεκτικότητας ενίσχυσε την ανάπτυξη του είδους *Dunaliella* κατά τις πρώτες 10 ημέρες. Στη συνέχεια και έως την 14η ημέρα οι θετικές επιδράσεις παρουσίασαν σταδιακή εξασθένηση και οι ρυθμοί ανάπτυξης τελικά ταυτίστηκαν με αυτούς της καλλιέργειας αναφοράς.

4-χλωρορεσορκίνη

Κατά την μελέτη των επιδράσεων της 4-χλωρορεσορκίνης στο είδος *Dunaliella* δεν σημειώθηκαν αξιόλογες τάσεις υπό περιεκτικότητα 1ppm. Καλλιέργειες του ίδιου είδους σημείωσαν περιορισμό της ανάπτυξης σε ποσοστό 13% κατά την τρίτη μέρα έκθεσης σε 10ppm 4-χλωρορεσορκίνης. Κατόπιν της συμπλήρωσης 6 ημερών, οι ρυθμοί ανάπτυξης επανήλθαν σε φυσιολογικά επίπεδα. Το είδος *Skeletonema* παρουσίασε υψηλότερη ευπάθεια στο συγκεκριμένο χλωροπαράγωγο. Κατά την αύξηση της περιεκτικότητας της 4-χλωρορεσορκίνης παρατηρήθηκε ένταση των τάσεων παρεμπόδισης της ανάπτυξης έως τελικό μηδενισμό αυτής. Συγκεκριμένα, η έκθεση σε περιεκτικότητες 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 και 10ppm περιόρισαν την ανάπτυξη του είδους αυτού κατά 22, 39, 62, 72 και 100% αντίστοιχα εντός των τριών πρώτων ημερών ωρίμανσης. Εν συνεχεία, όλες οι καλλιέργειες πλην της τελευταίας (100% ανάσχεση της ανάπτυξης) επανήλθαν σε φυσιολογικά επίπεδα, εκδηλώνοντας όμοια ανάπτυξη με την καλλιέργεια αναφοράς. Όσον αφορά στο είδος *Porphyridium* παρατηρήθηκε ενίσχυση της ανάπτυξης κατά 38 και 33% κατά την 3η και 4η ημέρα αντίστοιχα υπό έκθεση σε περιεκτικότητα 1ppm. Στο διάστημα μεταξύ 6ης και 14ης ημέρας σημειώθηκε περιορισμένη παρεμπόδιση των ρυθμών ανάπτυξης (5 – 14%). Στις καλλιέργειες στις οποίες προστέθηκε 4-χλωρορεσορκίνη σε περιεκτικότητα 10ppm σημειώθηκε αύξηση κατά 18 και 54% κατά την 3η και 4η ημέρα. Η αρχική αυτή ενίσχυση αναιρέθηκε σταδιακά και οι ρυθμοί μειώθηκαν κατά 6 – 21% κατόπιν της 6ης ημέρας.

3-χλωροφαινόλη

Η έκθεση καλλιεργειών του είδους *Dunaliella* σε περιβάλλον περιεκτικότητας 1% 3-χλωροφαινόλης κατά το διάστημα μεταξύ της 4ης και 14ης ημέρας επέφερε ενίσχυση των ρυθμών ανάπτυξης σε ποσοστό 8 – 18%. Υψηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας (10ppm) επέφεραν μικρότερης έκτασης ενίσχυση της ανάπτυξης (έως 12%). Η ανάπτυξη του είδους *Skeletonema* σημείωσε ενίσχυση κατά ποσοστό 9 – 13% στο διάστημα μεταξύ 4ης και 6ης ημέρας κατόπιν έκθεσης σε περιεκτικότητα 1ppm 3-χλωροφαινόλης, αύξηση η οποία σταδιακά εξασθένησε οδηγώντας στη διαμόρφωση ρυθμών όμοιων

με αυτούς των καλλιεργειών αναφοράς. Το είδος αυτό υπέστη ολική ανάσχεση της ανάπτυξης κατά την έκθεση σε περιεκτικότητα 10ppm 3-χλωροφαινόλης. Κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες 2.5, 5.0 και 7.5ppm προκλήθηκε μείωση της ανάπτυξης κατά 20, 82 και 97% αντίστοιχα εντός των πρώτων 7 ημερών παρατήρησης. Όσον αφορά στην ανθεκτικότητα του είδους *Porphyridium* δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογες επιδράσεις στην ανάπτυξη κατά την έκθεση σε χαμηλά επίπεδα περιεκτικότητας (0.1ppm). Η έκθεση σε περιεκτικότητα 1ppm 3-χλωροφαινόλης επέφερε την ενίσχυση της ανάπτυξης κατά ποσοστό 12% εντός των πρώτων 7 ημερών. Η έκθεση σε υψηλές περιεκτικότητες 3-χλωροφαινόλης (5ppm) οδήγησε σε περιορισμένης έκτασης μείωση των ρυθμών ανάπτυξης των κυττάρων (έως 5%). Ο Sikka επίσης παρατήρησε ότι κατά την διάθεση χλωριωμένων λυμάτων σε φυσικούς υδάτινους αποδέκτες το φυτοπλαγκτόν πρακτικά εκτίθεται ταυτόχρονα στο σύνολο των παραπροϊόντων και συνεπώς έθεσε το ζήτημα ενδεχόμενης ύπαρξης συνεργιστικών ή/και ανταγωνιστικών δράσεων οφειλόμενων στις αλληλεπιδράσεις οι οποίες αναπτύσσονται μεταξύ των διαφόρων παραγώγων. Προς διερεύνηση αυτού του ενδεχομένου η ομάδα του Sikka μελέτησε την ταυτόχρονη επίδραση των παραγώγων 3-χλωροφαινόλη και 4-χλωρορεσορκίνη τα οποία εκ των ανωτέρω απεδείχθησαν σχετικά τοξικά όσον αφορά στην ανάπτυξη του είδους *Skeletonema*. Επελέγησαν δύο επίπεδα περιεκτικότητας (2.5 και 5.0ppm), η δε πορεία ανάπτυξης εξετάστηκε κατά την 3η, 7η και 14η ημέρα. Τα αποτελέσματα της αποκλειστικής επίδρασης καθενός εκ των παραγώγων καθώς και της παράλληλης επίδρασης αυτών παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.4.5**. Εξ αυτών καθίσταται προφανές ότι αναπτύσσονται αξιόλογης έντασης τάσεις λόγω συνέργειας.

Συγκριτική εκτίμηση της τοξικότητας χλωριωμένων και μη χλωριωμένων (πρόδρομων) παραγώγων

Μια μεγάλη ποικιλία οργανικών παραγώγων (π.χ. φαινολικές ενώσεις) οι οποίες περιέχονται στα αστικά λύματα ανιχνεύονται στα τελικά επεξεργασμένα ρεύματα και συνεπώς καταλήγουν στους υδάτινους αποδέκτες κατά την τελική διάθεση. Για την διαπίστωση της ενίσχυσης ή της εξασθένησης της τοξικότητας των επεξεργασμένων λυμάτων επί της ανάπτυξης του φυσικού φυτοπλαγκτού σε σχέση με τα πρωτογενή λύματα η ερευνητική ομάδα του Sikka προχώρησε σε σύγκριση των επιδράσεων των παραγώγων 3-χλωροφαινόλη και 4-χλωρορεσορκίνη με τις αντίστοιχες επιδράσεις οι οποίες παρατηρούνται κατά την έκθεση των καλλιεργειών στις πρόδρομες ενώσεις αυτών (φαινόλη και ρεσορκίνη). Κατά την έκθεση του είδους *Skeletonema* σε περιβάλλον περιεκτικότητας της τάξης των 5ppm των πρόδρομων ενώσεων σημειώθηκε ελάχιστη παρεμπόδιση της ανάπτυξης (<5ppm) ακόμα και μετά την συμπλήρωση δύο εβδομάδων. Αντίθετα, η μείωση η οποία παρατηρήθηκε κατά την 3η μόλις ημέρα κατόπιν έκθεσης (στο ίδιο επίπεδο περιεκτικότητας) στα παράγωγα 3-χλωροφαινόλη και 4-

χλωρορεσορκίνη αντιστοιχεί σε ποσοστά 83 και 77%. Το γεγονός αυτό καθιστά προφανές ότι τα οργανοχλωριωμένα παράγωγα τα οποία ανιχνεύονται στα επεξεργασμένα λύματα εκδηλώνουν υψηλότερη τοξικότητα σε σύγκριση με τις πρόδρομες ενώσεις στα ανεπεξέργαστα αστικά λύματα.

Πίνακας 2.4.5. Επίδραση της 3-χλωροφαινόλης, της 4-χλωρορεσορκίνης καθώς και του συνδυασμού αυτών επί της ανάπτυξης του είδους *Skeletonema*.

Χλωροπαράγωγο	Περιεκτικότητα (ppm)	Χρόνος ωρίμανσης (ημέρες)	%ποσοστό ανάπτυξης [§]
3-χλωροφαινόλη	2.5	3	74
		7	85
		14	96
	5.0	3	14
		7	9
		14	58
4-χλωρορεσορκίνη	2.5	3	83
		7	81
		14	94
	5.0	3	22
		7	10
		14	51
3-χλωροφαινόλη και 4-χλωρορεσορκίνη	2.5	3	0
		7	0
		14	74
	5.0	3	0
		7	0
		14	0

[§]Ποσοστό ως προς την παρατηρούμενη ανάπτυξη στην καλλιέργεια αναφοράς

Συνεπώς, η εργασία της ερευνητικής ομάδας του Sikka κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα υπό μελέτη χλωροπαράγωγα τα οποία περιέχονται στα χλωριωμένα λύματα ενδέχεται να επιφέρουν σημαντικές επιδράσεις στην ανάπτυξη του φυσικού φυτοπλαγκτού μόνον σε συγκεντρώσεις οι οποίες ξεπερνούν κατά πολύ αυτές οι οποίες απαντώνται πρακτικά στο περιβάλλον. Η τοξικότητα των παραγώγων παρουσίασε διακυμάνσεις αναλόγως του είδους του φυτοπλαγκτού και συνεπώς οι πραγματικές επιπτώσεις συναρτώνται των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών και της ποικιλότητας των ειδών του

εκάστοτε υδάτινου αποδέκτη. Γενικά, περιεκτικότητες έως και 10ppm επιφέρουν είτε αμελητέες ή θετικές επιδράσεις στις καλλιέργειες. Τα υψηλά αυτά επίπεδα κατατάσσουν το σύνολο των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών στην κατηγορία των περισσότερο ανθεκτικών σε σύγκριση με τα λοιπά είδη ζωοπλαγκτού. Τέλος, ο Sikka υπογραμμίζει ότι η απουσία άμεσων επιδράσεων δεν συνεπάγεται κατ' ανάγκη τον αποκλεισμό ύπαρξης οικολογικών επιδράσεων. Ενδέχεται, λόγω βιοσυσσώρευσης να σημειωθούν σημαντικές επιδράσεις σε βάθος χρόνου, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό καθώς τα χλωριωμένα παράγωγα σε αυτή την περίπτωση διαχέονται στην τροφική αλυσίδα επηρεάζοντας το συνολικό οικοσύστημα φυτικών και μη οργανισμών.

Στα πλαίσια της μελέτης του Brooks (Brooks and Liptak, 1978a) διερευνήθηκε η επίδραση του χλωρίου επί φυσικών πληθυσμών φυτοπλαγκτού στη λίμνη Michigan υπό ελεγχόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες οι οποίες επέτρεψαν την εφαρμογή αναλυτικών τεχνικών για τον προσδιορισμό του χλωρίου. Η χλωρίωση των δειγμάτων οδήγησε σε μείωση της παραγόμενης χλωροφύλλης-α με αντίστοιχη αύξηση της φαιοφυτίνης-α εντός των πρώτων 30 λεπτών. Οι επιδράσεις έλαβαν αξιόλογη έκταση στην περίπτωση συγκεντρώσεων χλωρίου άνω του 1 mg/L ενώ σε συγκεντρώσεις κατώτερες του 0.1mg/L επήλθαν ελάχιστες διαφοροποιήσεις. Συγκεντρώσεις χλωρίου μεταξύ 0.1 – 1.0mg/L στις πλείστες των περιπτώσεων προκάλεσαν ενδιάμεσες επιδράσεις. Οι ρυθμοί πρόσληψης ¹⁴C υπέστησαν άμεση μείωση εντός των πρώτων 30 λεπτών έκθεσης. Η επίδραση αυτή αποδόθηκε στην ύπαρξη χλωρίου στο περιβάλλον έκθεσης του φυτοπλαγκτού. Για περιεκτικότητες χλωρίου ανώτερες του 0.5mg/L παρατηρήθηκαν οι εντονότερες επιπτώσεις μείωσης των ρυθμών πρόσληψης άνθρακα και οι ασθενέστερες τάσεις προς μελλοντική ανάκτηση. Σε συγκεντρώσεις χλωρίου κατώτερες των 0.1mg/L οι ρυθμοί πρόσληψης άνθρακα σημείωσαν αρχική μείωση έως και 20%. Επιπρόσθετα, τα δείγματα επανήλθαν στα αρχικά επίπεδα φυσιολογικής ανάπτυξης κατά ποσοστό 80 – 100%. Ενδιάμεσες παρατηρήσεις σημειώθηκαν μεταξύ του εύρους 0.1 – 0.5mg/L.

Η ερευνητική ομάδα του Videau (Videau et.al, 1979) διεξήγαγε πειράματα χλωρίωσης σε τρία είδη θαλάσσιου φυτοπλαγκτού (*Dunaliella Primolecta* Butcher, *Pavlova Lutheri* (Droop) Green (*Monochrysis Lutheri* Droop) και *Phaeodactylum Tricornutum* Bohlin). Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι οι επιμέρους αποκρίσεις και τα όρια ευαισθησίας παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις για τα τρία υπό μελέτη είδη. Το όριο τοξικότητας όσον αφορά στις καλλιέργειες του είδους *Dunaliella Primolecta* Butcher (πυκνότητα 1000 κύτταρα/mL) βρέθηκε κατά προσέγγιση ίσο με 0.4ppm καθώς σε αυτή την περιεκτικότητα επέρχεται καταστροφή της καλλιέργειας κατά ποσοστό 50%. Τα άλλα δύο είδη παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα και συγκεκριμένα για το είδος *Phaeodactylum Tricornutum* Bohlin δεν παρατηρείται καταστροφή της καλλιέργειας ακόμα

και κατά την έκθεση σε επίπεδα συγκεντρώσεων της τάξης των 0.6ppm παρά το γεγονός ότι επέρχεται σημαντική μείωση έως και μηδενισμός των ρυθμών ανάπτυξης. Κατά την έκθεση σε περιεκτικότητα χλωρίου 0.8ppm σημειώθηκε ολική καταστροφή της καλλιέργειας. Όσον αφορά στο είδος *Pavlova Lutheri Green* η τιμή LC-50 κυμαίνεται μεταξύ 3.5 – 4.0ppm χλωρίου. Συνεπώς, αυτό το είδος αλγών χαρακτηρίζεται από μειωμένη ευαισθησία κατά 10 φορές σε σύγκριση με το είδος *Dunaliella Primolecta Butcher*. Συνολικά προκύπτει ότι η χλωρίωση αναλόγως της δόσης και του απολυμαντικού μέσου οδηγεί είτε σε καταστροφή ή σε μείωση του ρυθμού ανάπτυξης. Στην πράξη η εκτίμηση του ορίου ευαισθησίας παρουσιάζει δυσχέρειες λόγω της παρεμβολής πέραν της υπό μελέτη παραμέτρου και άλλων παραγόντων που συνδέονται με τον ειδικό μεταβολισμό των αλγών ο οποίος επίσης επηρεάζεται από την παρουσία χλωρίου.

Ο προσδιορισμός των επιπτώσεων της παρουσίας χλωρίου στην ποσότητα της χλωροφύλλης η οποία περιέχεται στα φυτικά κύτταρα παρουσιάζει δυσχέρειες καθώς ανακύπτουν διάφοροι παράγοντες σφάλματος. Η εκτίμηση του περιεχομένου της χλωροφύλλης-α στο είδος *Dunaliella* καταδεικνύει ότι μόνο οι περιεκτικότητες χλωρίου οι οποίες οδηγούν σε μείωση του αριθμού των κυττάρων κατά ποσοστό ανώτερο του 50%, προκαλούν μείωση της – περιεχόμενης στα φυτικά κύτταρα – χλωροφύλλης.

Οι Simmons και Sivaborn (Simmons and Sivaborn, 1979) μελέτησαν τις επιπτώσεις λόγω παρουσίας χλωρίου και των παραπροϊόντων του στην ανάπτυξη των αλγών. Η διαμόρφωση της ανάπτυξη των αλγών κατά την έκθεση αυτών σε χλωριωμένα και μη χλωριωμένα δείγματα διερευνήθηκε μέσω υπολογισμού και αξιολόγησης του ρυθμού ανάπτυξης στις επιμέρους περιπτώσεις. Οι ρυθμοί αυτοί (k , 1/day) υπολογίστηκαν μέσω μιας τεχνικής η οποία περιλαμβάνει ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης των σημείων της καμπύλης η οποία προκύπτει κατά τον σχεδιασμό των σημείων σε λογαριθμική κλίμακα ανάπτυξης. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης, κάθε πειραματική μέτρηση υπεβλήθη σε στατιστική ανάλυση, τα δε δεδομένα επεξεργάστηκαν μέσω του προγράμματος MTSMIDAS το οποίο αναπτύχθηκε από το πανεπιστήμιο του Michigan και μέσω αυτού κατέστη δυνατή η καταγραφή των διαφοροποιήσεων όσον αφορά στους ρυθμούς ανάπτυξης.

Έλεγχος της επίδρασης λόγω αραιώσης του τελικού επεξεργασμένου ρεύματος λυμάτων

Τα αποτελέσματα της επίδρασης της έκθεσης των καλλιεργειών σε διάφορες αραιώσεις όσον αφορά στην ανάπτυξη του είδους *A. Affinis* παρουσιάζεται στον **Πίνακα 2.4.6**. Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, υπολογίστηκαν μέσες τιμές ρυθμών ανάπτυξης για κάθε περιεκτικότητα (η οποία αντιστοιχεί σε κάθε αναλογία αραιώσης) και για χρονικά διαστήματα ανάπτυξης 9 – 15 ημέρες. Οι τοξικές επιπτώσεις

αποδόθηκαν κατά την κρίση των μελετητών στην ύπαρξη υπολειμματικού χλωρίου καθώς και οργανικών παραπροϊόντων αυτού. Η συγκέντρωση των κυττάρων μειώθηκε κατά την αύξηση του όγκου των απορριπτόμενων λυμάτων, η δε επίδραση που παρατηρήθηκε για αραιώση σε ποσοστό 40% είναι σημαντική. Το γεγονός αυτό προτείνει ότι η τοξικότητα παρουσιάζει αναλογική σχέση με την ποσότητα (όγκο) των χλωριωμένων λυμάτων τα οποία διατίθενται στον τελικό αποδέκτη.

Πίνακας 2.4.6. Επιδράσεις του τελικού ρεύματος (επεξεργασμένων) λυμάτων στον ρυθμό ανάπτυξης του είδους *Anabaena affinis*.

Ποσοστό (ν/ν) προστιθέμενων λυμάτων	Μέσος ρυθμός ανάπτυξης, k (1/day)	Αριθμός κυττάρων[‡]×10⁶ (κύτταρα/mL)
10	0.060±0.007	6.2
20	0.074±0.007	5.6
30	0.062±0.006	4.7
40	0.059±0.004	3.8
Δείγμα αναφοράς	0.095±0.005	7.8

[‡]Αριθμός κυττάρων ο οποίος μετράται κατά την 15η ημέρα ανάπτυξης

Συγκριτική μελέτη της επίδρασης των μη χλωριωμένων και χλωριωμένων – κατόπιν αποχλωρίωσης – λυμάτων στην ανάπτυξη αλγών

Για την διερεύνηση αυτής της επίδρασης μελετήθηκαν δείγματα χλωριωμένων και μη χλωριωμένων λυμάτων διαφορετικών αραιώσεων ως προς την ικανότητά τους να παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των αλγών. Σε αυτή τη σειρά μετρήσεων, το υπολειμματικό χλώριο δεσμεύθηκε πριν την εισαγωγή καλλιεργειών αλγών. Στον **Πίνακα 2.4.7** συγκεντρώνονται τα σχετικά αποτελέσματα του είδους *A. affinis*. Εντοπίστηκαν περιπτώσεις κατά τις οποίες σημειώθηκε ενίσχυση της παραγωγής κατά την έκθεση στα χλωριωμένα ή μη δείγματα λυμάτων, γεγονός που αποδόθηκε στην παροχή θρεπτικών ουσιών οι οποίες απουσίαζαν ή λάμβαναν ελάχιστες συγκεντρώσεις στο αρχικό περιβάλλον ανάπτυξης των αλγών. Οι παρατηρούμενες διαφοροποιήσεις μεταξύ μη χλωριωμένων και αρχικά χλωριωμένων (αποχλωριωμένων) λυμάτων αποδόθηκαν στην τοξικότητα των παραπροϊόντων χλωρίωσης τα οποία παράγονται κατά τη διαδικασία της χλωρίωσης.

Πίνακας 2.4.7. Επιδράσεις χλωριωμένων και μη χλωριωμένων λυμάτων στον ρυθμό ανάπτυξης του είδους *Anabaena affinis*.

Ποσοστό (v/v) προστιθέμενων λυμάτων	Μέσος ρυθμός ανάπτυξης, k (1/day)	
	Χλωριωμένα δείγματα	Μη χλωριωμένα δείγματα
40	0.064±0.005	0.074±0.008
50	0.074±0.003	0.082±0.009
60	0.073±0.004	0.088±0.006
Δείγμα αναφοράς	K = 0.060±0.004	

Συγκριτική ανάλυση των επιδράσεων των χλωριωμένων λυμάτων σε διάφορα είδη αλγών

Τα αποτελέσματα της παρατήρησης των ρυθμών ανάπτυξης των ειδών *C. rygenoidosa* και *A. affinis* κατά την έκθεση σε ρεύματα λυμάτων υπό 10, 20, 30, 40 και 50% αραιώση (κατ' όγκο) περιγράφονται στον **Πίνακα 2.4.8**. Η στατιστική ανάλυση κατέδειξε σημαντικές διαφοροποιήσεις στους ρυθμούς ανάπτυξης των δύο αυτών ειδών αλγών. Η διαφοροποίηση αυτή παρατηρείται ανεξαρτήτως του ποσοστού αραιώσης. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων προτείνει μια γενικότερη ενίσχυση της ανάπτυξης του είδους *A. affinis* ενώ αντίθετα παρατηρούνται τοξικές επιδράσεις στην περίπτωση του είδους *C. rygenoidosa*. Οι μελετητές δεν κατέληξαν σε κάποια συγκεκριμένη ερμηνεία για αυτού του είδους τη διαμόρφωση των αποτελεσμάτων και περιορίστηκαν στην απλή επισήμανση σχετικά με το γεγονός ότι η ανάπτυξη των αλγών είναι μία εκλεκτική διαδικασία η οποία εξαρτάται από την φυσιολογία του εκάστοτε είδους.

Μελέτη των επιδράσεων οργανικών και χλωρο-οργανικών παραγώγων διαφορετικών κλασμάτων μοριακού βάρους στην ανάπτυξη των αλγών

Η συγκέντρωση των διαφόρων κλασμάτων μοριακού βάρους οργανικών ενώσεων δύναται να συσχετισθεί με την ανάπτυξη των αλγών καθώς ο άνθρακας αποτελεί θεμελιώδες θρεπτικό συστατικό. Στη συγκεκριμένη μελέτη επελέγησαν δύο επίπεδα συγκεντρώσεων ολικών οργανικών παραγώγων (0.8 και 2.4mg/L). Τα συγκριτικά αποτελέσματα των αποκρίσεων της ανάπτυξης των αλγών για τα δύο αυτά επίπεδα περιεκτικότητας οργανικών παραγώγων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.4.9**. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων οδήγησε στα εξής συμπεράσματα:

α. Τα επίπεδα ολικών οργανικών παραγώγων και για τα δύο είδη παρουσίασαν διαφοροποίηση στον ρυθμό ανάπτυξης μόνο στην περίπτωση του μη χλωριωμένου κλάσματος μοριακών βαρών 5,000 –

30,000,

β. Χαμηλότεροι ρυθμοί ανάπτυξης σημειώθηκαν και στις δυο περιπτώσεις επιπέδων ολικών οργανικών ενώσεων για το είδος *C. pyrenoidosa* κατά την έκθεση στο χλωριωμένο κλάσμα μοριακών βαρών 5,000 – 30,000,

γ. Εκ των αποτελεσμάτων του είδους *A. affinis* καθίσταται προφανής η απουσία τάσεων διαφοροποίησης κατά την σύγκριση των ρυθμών ανάπτυξης μεταξύ των κλασμάτων διαφόρων ευρών μοριακού βάρους, τόσο για τα χλωριωμένα όσο και για τα μη χλωριωμένα δείγματα,

δ. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρείται μια γενική τάση ενίσχυσης της ανάπτυξης στα μη χλωριωμένα δείγματα σε σχέση με τα αντίστοιχα χλωριωμένα,

ε. Οι ρυθμοί ανάπτυξης του είδους *C. pyrenoidosa* σημείωσαν αύξηση κατά την αύξηση του μοριακού βάρους των μη χλωριωμένων παραγώγων, διαφοροποίηση η οποία δεν παρατηρήθηκε στην περίπτωση του είδους *A. affinis*,

στ. Η απουσία ανασχετικών επιδράσεων επί της ανάπτυξης του είδους *C. pyrenoidosa* προτείνει την ύπαρξη παρεμποδιστικών ενώσεων σε ανώτερα επίπεδα μοριακών βαρών ($MW > 30,000$) σε σχέση με τα υπό μελέτη εύρη.

Πίνακας 2.4.8. Σύγκριση των επιδράσεων διαφόρων αναλογιών έκθεσης σε χλωριωμένα λύματα στα είδη *Anabaena affinis* και *Chlorella pyrenoidosa*.

Ποσοστό (v/v) προστιθέμενων λυμάτων	Μέσος ρυθμός ανάπτυξης, k (1/day)	
	<i>Anabaena affinis</i>	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>
10	0.084±0.004	0.030±0.002
20	0.072±0.004	0.034±0.002
30	0.078±0.003	0.037±0.002
40	0.075±0.009	0.037±0.004
50	0.069±0.012	0.045±0.003
Δείγμα αναφοράς	0.067±0.005	0.081±0.007

Πίνακας 2.4.9. Σύγκριση ρυθμών ανάπτυξης των ειδών *Anabaena affinis* και *Chlorella pyrenoidosa* παρουσία παραγώγων διαφορετικών κλασμάτων μοριακών βαρών σε χλωριωμένα και μη χλωριωμένα

δείγματα.

Μη χλωριωμένα δείγματα				
Μοριακό βάρος	Μέσος ρυθμός ανάπτυξης, k (1/day)			
	0.8mg/L TOC		2.4mg/L TOC	
	<i>Anabaena affinis</i>	<i>C. pyrenoidosa</i>	<i>Anabaena affinis</i>	<i>C. pyrenoidosa</i>
0-700	0.067±0.003	0.090±0.011	0.071±0.006	0.105±0.014
1000-5000	0.066±0.003	0.101±0.007	0.065±0.004	0.095±0.006
5000-30000	0.064±0.006	0.109±0.014	0.065±0.003	0.110±0.010
Χλωριωμένα δείγματα				
Μοριακό βάρος	Μέσος ρυθμός ανάπτυξης, k (1/day)			
	0.8mg/L TOC		2.4mg/L TOC	
	<i>Anabaena affinis</i>	<i>C. pyrenoidosa</i>	<i>Anabaena affinis</i>	<i>C. pyrenoidosa</i>
0-700	0.069±0.005	0.091±0.006	0.065±0.003	0.112±0.011
1000-5000	0.076±0.004	0.106±0.014	0.063±0.003	0.106±0.010
5000-30000	0.069±0.004	0.123±0.009	0.080±0.010	0.145±0.008
Ρυθμός Αναφοράς	<i>Anabaena affinis</i>: k = 0.066±0.004day⁻¹			
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>: k = 0.108±0.008day⁻¹			

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή προτείνει ότι η κύρια συνεισφορά στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης των αλγών στους υδάτινους όγκους των αποδεκτών μπορεί να αποδοθεί στο ολικό υπολειμματικό χλώριο. Επιπρόσθετα, οι παρεμποδίσσεις οι οποίες παρατηρούνται στα αποχλωριωμένα δείγματα αποδίδονται στην ύπαρξη τοξικών παραπροϊόντων χλωρίωσης.

Ο Erickson και οι συνεργάτες του (Erickson and Hawkins, 1980) μελέτησαν τις επιδράσεις 15 διαφορετικών οργανικών χλωροπαραπροϊόντων επί της φωτοσυνθετικής ικανότητας του φυτοπλαγκτού σε καλλιέργειες εκβολών ποταμών. Για τον σκοπό αυτό λήφθηκαν δείγματα

θαλασσινού νερού το οποίο περιείχε φυσικό φυτοπλαγκτόν από το βόρειο τμήμα του Edisto River το οποίο αποτελεί το μεγαλύτερο σε μήκος ποτάμι της Βόρειας Αμερικής στο οποίο δεν έχουν τοποθετηθεί φράγματα. Οι αλογονωμένοι αλειφατικοί υδρογονάνθρακες χλωροφόρμιο, βρωμοφόρμιο και βρωμοαιθυλένιο προκάλεσαν αμελητέες – από στατιστικής σκοπιάς – αλληλεπιδράσεις στην ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού. Το τριχλωροαιθυλένιο ενίσχυσε την πρόσληψη ^{14}C κατά 0.15 – 1.00mg/L ενώ το τετραχλωροαιθυλένιο παρεμπόδισε την αναμενόμενη πρόσληψη κατά 2.00mg/L (**Πινάκας 2.4.10**).

Πινάκας 2.4.10. Επιδράσεις αλογονωμένων αλειφατικών υδρογονανθράκων σε καλλιέργειες φυτοπλαγκτού εκφρασμένο ως % ποσοστό της καλλιέργειας αναφοράς.

Παράγωγο	Περιεκτικότητα (mg/L)			Δείγμα αναφοράς (cpm [†] [‡])
	0.5	1.0	2.0	
Χλωροφόρμιο	101	103	99	2132
Βρωμοφόρμιο	112	107	104	2300
Τριχλωροαιθυλένιο	127	127	118	1423
τετραχλωροαιθυλένιο	98	95	87	2150
Αιθυλοβρωμίδιο	113	103	97	2383

[†] Παλμοί ανά λεπτό κατά την μέτρηση της ραδιενεργού έντασης λόγω αφομοίωσης ^{14}C από την καλλιέργεια αναφοράς

Οι χλωραμίνες οι οποίες παρήχθησαν κατά την αλληλεπίδραση NaOCl και NH₄Cl σε υδατικό περιβάλλον εκδήλωσαν εντονότερες επιδράσεις σε σύγκριση με τις πρόδρομες ενώσεις. Η χλωραμίνη T – ένα σταθερό παράγωγο το οποίο φέρει αρωματικό δακτύλιο στο μόριό του – δεν επέφερε τάσεις παρεμπόδισης της ανάπτυξης μεταξύ του εύρους περιεκτικότητας 0.5 – 1.0mg/L (**Πίνακας 2.4.11**).

Συμπερασματικά, για την επίτευξη αξιοσημείωτων παρεμποδίσεων όσον αφορά στους ρυθμούς ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού απαιτείται η παρουσία σχετικά υψηλών συγκεντρώσεων οργανοχλωροπαραγώγων. Αξιόλογες επιδράσεις εκδηλώθηκαν στην περίπτωση των πενταχλωριωμένων φαινολικών παραγώγων και των χλωραμινών, οι δε επιδράσεις των λοιπών παραγώγων περιορίστηκαν σε ποσοστά κατώτερα του 25% (ενίσχυση ή περιορισμός). Οι ερευνητές επισημαίνουν ότι οι συγκεντρώσεις οι οποίες μελετήθηκαν δεν αναμένεται να συναντηθούν πρακτικά

στα φυσικά συστήματα, πέραν ίσως επί του ακριβούς σημείου του αποδέκτη όπου τελείται η διάθεση των χλωριωμένων λυμάτων και υπό την προϋπόθεση ότι δεν πραγματοποιείται σημαντική αραίωση σε αυτό το σημείο. Σε κάθε περίπτωση, κατά την χλωρίωση των λυμάτων δεν αναμένεται η παραγωγή μετρήσιμων ποσοτήτων πενταχλωροφαινόλων. Αντίθετα η παραγωγή χλωραμινών ενδέχεται να πραγματοποιηθεί σε σημαντική έκταση κατά την χλωρίωση λυμάτων στα οποία η περιεκτικότητα της αμμωνίας λαμβάνει υψηλές τιμές.

Πίνακας 2.4.11. Επιδράσεις υποχλωριώδους νατρίου, χλωριούχου αμμωνίου, αλογοναμινών και χλωραμίνης-T εκφρασμένες ως % ποσοστό της καλλιέργειας αναφοράς.

Παράγωγο	Περιεκτικότητα (mg/L)			Δείγμα αναφοράς (cpm)
	0.25	0.5	1.0	
υποχλωριώδες νάτριο	78	65	54	9325
χλωριούχο αμμώνιο	109	110	95	4253
αλογοναμίνες	40	17	1	4655
χλωραμίνη-T	101	95	97	774

Ο Videau και οι συνεργάτες του (Videau 1980) αξιολόγησαν τις άμεσες και σε βάθος χρόνου επιδράσεις κατά την έκθεση σε κρίσιμες ή κατώτερες των κρίσιμων περιεκτικότητες χλωρίου σε ορισμένες μεταβολικές δραστηριότητες όπως η ανταλλαγή οξυγόνου, η πρόσληψη φωσφορικών και η παραγωγή προϊόντων φωσφορυλίωσης στο θαλάσσιο είδος φυτοπλαγκτονικών αλγών *Dunallia Primolecta* Butche. Εκ των αποτελεσμάτων συνάγεται ότι σε αντίθεση με την περίπτωση καταγραφής των επιπτώσεων τοξικότητας επί της ανάπτυξης και της παραγωγής χρωστικών ουσιών, οι επιδράσεις του χλωρίου στους μηχανισμούς ανταλλαγής οξυγόνου παρατηρούνται άμεσα. Η επίδραση διαρκεί για διάφορα χρονικά διαστήματα αναλόγως της δόσης του προστιθέμενου χλωρίου. Η ακριβής περιγραφή των διαδικασιών ανταλλαγής αερίων παρουσιάζει δυσχέρειες υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες μελέτης οι οποίες οφείλονται σε μεταβολές που παρατηρούνται ακόμα και στις μη χλωριωμένες καλλιέργειες κυττάρων (καλλιέργειες αναφοράς) κατά την ολοκλήρωση των πρώτων 16 ωρών. Οι μεταβολές αυτές αποδίδονται σε διαφοροποίηση της πυκνότητας των κυττάρων μεταξύ των καλλιεργειών, σε ελλείψεις θρεπτικών στοιχείων του υποστρώματος ανάπτυξης, στη συγκέντρωση οξυγόνου κ.α. Επιπλέον, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την ύπαρξη επιδράσεων οι οποίες συνδέονται με τις συνθήκες

φωτισμού. Υπό συνθήκες έκθεσης σε φως, παρατηρείται μηδενική καταστροφή των κυττάρων λόγω παρεμπόδισης της αναπνοής και οι επιδράσεις περιορίζονται στην μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας. Αντιθέτως, απουσία φωτός παρατηρείται παρεμπόδιση της αναπνοής. Εκ των παρατηρήσεων αυτών συνάγεται το συμπέρασμα ότι επικρατούν συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις των οξειδωτικών μέσων και της ακτινοβολίας υπό συνθήκες φωτισμού.

Όσον αφορά στην πρόσληψη φωσφορικών, η χλωρίωση ακόμα και υπό μικρές δόσεις προκαλεί αρνητικές επιδράσεις ακόμα και στις περιπτώσεις κατά τις οποίες δεν παρατηρείται άμεση θανάτωση κυττάρων ή περιορισμός του ρυθμού ανάπτυξης. Σταδιακά παρατηρούνται διαταραχές οφειλόμενες αφενός σε επιπτώσεις επί των μεταβολικών δραστηριοτήτων και αφετέρου σε αλλαγές των ιδιοτήτων όσον αφορά στη διαπερατότητα των μεμβρανών των κυττάρων. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ρυθμός πρόσληψης φωσφορικών λαμβάνει ακριβώς ίδια επίπεδα στα κύτταρα τα οποία επιζούν της χλωρίωσης και στα κύτταρα των μη χλωριωμένων καλλιεργειών αναφοράς για ένα σύντομο χρονικό διάστημα κατόπιν της έκθεσης.

Η ερευνητική ομάδα του Watkins (Watkins and Hammerschlag, 1984) παρήγαγε υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες ποιοτικά δεδομένα σχετικά με την τοξικότητα του χλωρίου μελετώντας τις επιδράσεις στο τυπικό τραχεόφυτο *M. spicatum*. Τα αποτελέσματα προτείνουν την ανάπτυξη τοξικότητας μόνο υπό σχετικά υψηλές περιεκτικότητες χλωρίου. Περιορισμός της ανάπτυξης σε ποσοστό 50% καθίσταται εφικτός κατά τη χλωρίωση υπό συνεχείς συνθήκες οι οποίες επιφέρουν την επίτευξη τελικών χλωρίου μεταξύ 0.1 – 1.4mg/L. Τα αποτελέσματα εφαρμογής διακοπτόμενης χλωρίωσης κατέδειξαν ανθεκτικότητα η οποία ενισχύονταν σταδιακά κατά τις διαδοχικές εκθέσεις.

Παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα συγκεντρώσεων τα οποία προκαλούν παρεμπόδιση της ανάπτυξης σε ποσοστό 50%, αποτελούν μια χρήσιμη βάση αναφοράς για την διεξαγωγή συγκρίσεων, θα πρέπει να εφαρμόζονται με προσοχή κατά τον συνδυασμό αποτελεσμάτων μελετών οι οποίες βασίζονται σε διαφορετικά κριτήρια τοξικότητας. Το κριτήριο της ολικής ανάπτυξης που περιγράφεται στη μελέτη του Watkins αναμένεται να λάβει αρκετά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τους βιοχημικούς δείκτες οι οποίοι χρησιμοποιούνται συχνά στις έρευνες μελέτης καλλιεργειών φυτοπλαγκτού. Επίσης θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ο χρόνος έκθεσης καθώς κατά κανόνα παρατηρούνται εντονότερες μειώσεις της ανάπτυξης κατά την αύξηση του χρόνου έκθεσης. Συμπερασματικά, παρά το γεγονός ότι το ολικό υπολειμματικό χλώριο σε χαμηλές συγκεντρώσεις (στις οποίες απαντάται πρακτικά στο περιβάλλον) δεν αποτελεί άμεσο κίνδυνο για την επιβίωση του είδους *M. Spicatum*, σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρούνται κάποιας έκτασης διαταραχές της ανάπτυξης. Συνεπώς, εάν οι συνθήκες επιτρέπουν την ανάπτυξη περιεκτικότητας αυτού του επιπέδου, το χλώριο ενδέχεται να διαδραματίζει

παράγοντα συνεισφοράς για την διαμόρφωση τάσεων περιορισμού της ανάπτυξης των θαλάσσιων καλλιεργείων. Σε κάθε περίπτωση, η επίδραση του χλωρίου στην ανάπτυξη των τραχεόφυτων αναμένεται να είναι περιορισμένη και να παρατηρηθεί μόνο υπό συνέργεια με άλλες περιβαλλοντικές τάσεις.

Ο Kuiper και οι συνεργάτες του (Kuiper and Hanstveit, 1984) μελέτησαν την περιβαλλοντική κατάληξη και τις επιπτώσεις στο υδατικό οικοσύστημα εξαιτίας της παρουσίας των παραγώγων 4-χλωροφαινόλη και 2,4-διχλωροφαινόλη, τα οποία αποτελούν παραπροϊόντα της διεργασίας χλωρίωσης των αστικών λυμάτων. Κατά την προσθήκη 0.1mg/L 4-χλωροφαινόλης ή 2,4-διχλωροφαινόλης δεν παρατηρήθηκαν μετρήσιμες μεταβολές των ρυθμών ανάπτυξης των υπό μελέτη μεικτών (φυσικών) καλλιεργείων φυτοπλαγκτού. Ωστόσο, παρατηρήθηκε προσωρινή μείωση της ανάπτυξης σε περιορισμένη έκταση κατά την έκθεση των καλλιεργείων σε περιβάλλον περιεκτικότητας 0.3mg/L 4-χλωροφαινόλης, ενώ έκθεση σε 2,4-διχλωροφαινόλη σε αντίστοιχα επίπεδα περιεκτικότητας δεν επέφερε μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης. Συνεπώς, οι τυπικές περιεκτικότητες οι οποίες απαντώνται πρακτικά στα φυσικά συστήματα, όντας σημαντικά χαμηλότερες των 0.3mg/L (2-6 μg/L και έως 0.6μg/L για τις μονοχλωροφαινόλες και για την 2,4-διχλωροφαινόλη κατά τον Krijgsheld (Krijgsheld and van der Gen, 1986)) δεν αναμένεται να επιφέρουν αξιόλογες επιδράσεις στην ανάπτυξη του φυσικού φυτοπλαγκτού.

Η ερευνητική ομάδα του Kühn (Kühn and Pattard, 1990) διερεύνησε τις επιδράσεις 68 μολυντών επί της ανάπτυξης καλλιεργείων αλγών στους θαλάσσιους αποδέκτες. Μεταξύ των 68 αυτών ενώσεων περιλαμβάνονται διάφορα παραπροϊόντα χλωρίωσης καθώς και παράγωγα διαφορετικών χημικών ιδιοτήτων τα οποία επίσης παρουσιάζουν πιθανή τοξικότητα κατά την παρουσία τους στα θαλάσσια οικοσυστήματα. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες του είδους *Scenedesmus subspicatus* (πράσινα άλγη). Στον **Πίνακα 2.4.12** παρουσιάζονται τα επίπεδα $E_B C$ και $E_\mu C$ τα οποία αντιστοιχούν στη συγκέντρωση παρεμπόδισης της ανάπτυξης και στη συγκέντρωση παρεμπόδισης του ρυθμού, εκφρασμένου ως προς τον λογάριθμο της μεταβολής του αριθμού των κυττάρων. Η έκφραση αυτή συνεπάγεται την αντιστοιχία μικρών μεταβολών του ρυθμού σε αξιοσημείωτες μεταβολές της βιομάζας. Τα ακόλουθα αποτελέσματα συγκεντρώσεων πρόκλησης παρεμποδίσεων σε ποσοστά 10 και 50% αντιστοιχούν σε 48ωρη περίοδο ωρίμανσης των δειγμάτων. Το μονοχλωροξικό οξύ, η χλωρακεταλδεϋδη και η χλωραμίνη-T παρουσίασαν τις εντονότερες επιδράσεις κατά την αξιολόγηση του συνόλου των 25 υπό μελέτη παραγώγων.

Πίνακας 2.4.12. Επίπεδα $E_B C$ και $E_\mu C$ ορισμένων παραπροϊόντων χλωρίωσης.

Παράγωγο	$E_B C_{10}$ (mg/L)	$E_B C_{50}$ (mg/L)	$E_\mu C_{10}$ (mg/L)	$E_\mu C_{50}$ (mg/L)	Μελετούμενο εύρος (mg/L)
χλωροφόρμιο	225	360	560	950	3.9-1000
μονοχλωροξικό οξύ	≤0.007	0.014	0.028	0.07	0.008-1
χλωρακεταλδεύδη	0.06	0.24	0.55	2.2	0.01-2.5
χλωραμίνη-Τ	0.11	0.2	0.31	0.58	0.01-1
2-χλωροφαινόλη	24	42	50	85	1.6-200
2,4-διχλωροφαινόλη	2.4	6.3	11.5	>40	0.32-40

Ο Huggett και οι συνεργάτες του (Huggett and Cook, 1991) μελέτησαν τις επιδράσεις επί της επιβίωσης και παραγωγικότητας καλλιεργειών φυτοπλαγκτού κατά την έκθεσή τους σε χλώριο στην θαλάσσια περιοχή πλησίον της μονάδας παραγωγής πυρηνικής ενέργειας Koeberg στη Νότιο Αφρική. Οι παρατηρήσεις των μελετητών προτείνουν μείωση της βιομάζας κατά ποσοστό μεταξύ 42.8 – 70.6%, η δε περιεκτικότητα της χλωροφύλλης υπέστη μείωση κατά ποσοστό 55.3%. Οι μελετητές επισημαίνουν την δυσκολία απόδοσης των παρατηρούμενων επιδράσεων σε συγκεκριμένους παράγοντες καθώς λαμβάνει χώρα η ταυτόχρονη εκδήλωση διαφόρων τάσεων (χλωρίωση, αυξημένη θερμοκρασία). Θεωρείται ωστόσο βέβαιο ότι οι επιδράσεις λόγω εισαγωγής χλωρίου και των παραπροϊόντων του στο θαλάσσιο οικοσύστημα υπερέχουν σημαντικά αυτών οι οποίες οφείλονται σε αύξηση της θερμοκρασίας. Παρά το γεγονός ότι ο ακριβής μηχανισμός παρεμπόδισης δεν είναι πλήρως κατανοητός, το χλώριο και τα οργανικά παραπροϊόντα αυτού παρεμποδίζουν την ομαλή λειτουργία των κυττάρων και την ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών συστατικών (νιτρικών, αμμωνίας, φωσφορικών). Όσον αφορά στις γενικότερες επιδράσεις στο σημείο διάθεσης, συνάγεται το συμπέρασμα ότι απουσιάζουν αξιοσημείωτες επιδράσεις καθώς το φυτοπλαγκτόν σε κάθε περίπτωση εμφανίζει ισχυρή ικανότητα ανάκαμψης σε φυσιολογικούς ρυθμούς ανάπτυξης. Σε μια αντίστοιχη μελέτη δεκαετούς παρατήρησης της διακύμανσης των πληθυσμών φυτοπλαγκτού πλησίον της μονάδας παραγωγής πυρηνικής ενέργειας Calvert Cliffs (Maryland, USA), η ερευνητική ομάδα του Sellner (Sellner et.al, 1984) κατέληξε στην απουσία μόνιμων ή εποχιακών ανιχνεύσιμων επιπτώσεων στα διάφορα είδη φυτοπλαγκτού και της παραγωγικότητας αυτών στις περιοχές άμεσης διάθεσης των χλωριωμένων ρευμάτων.

Η ερευνητική ομάδα του Ahamed (Ahamed et.al, 1993) μελέτησε τις επιπτώσεις χλωρίωσης θαλάσσιων ροών κατά τη χρήση τους ως ψυκτικά ρεύματα σε μονάδες παραγωγής ενέργειας στη μικρή παράκτια πόλη Kalpakkam (Ινδία), επί των πληθυσμών φυτοπλαγκτού στην περιοχή διάθεσης. Στα

πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των μετρήσεων της πρωτογενούς παραγωγικότητας με την περιεκτικότητα του ολικού υπολειμματικού χλωρίου, λαμβάνοντας υπόψη και την διαφοροποίηση της θερμοκρασίας στο σημείο απόρριψης των χλωριωμένων ρευμάτων. Οι μελετητές πραγματοποίησαν μετρήσεις κατά την εισαγωγή αφενός υψηλών και αφετέρου χαμηλών δόσεων χλωρίου, οι οποίες συνεπάγονται τον σχηματισμό μεγαλύτερων και μικρότερων ποσοτήτων οργανικών παραπροϊόν αντίστοιχα. Στην πρώτη περίπτωση το ολικό υπολειμματικό χλώριο κυμάνθηκε μεταξύ 1.1 – 1.5mg/L ενώ στη δεύτερη έλαβε τιμές μεταξύ 0.05 – 0.2mg/L. Τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων προτείνουν αναλογική μείωση της παραγωγικότητας κατά την αύξηση της περιεκτικότητας του ολικού υπολειμματικού χλωρίου. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση της παραγωγικότητας σε ποσοστό μεταξύ 80 – 83% στην περίπτωση εισαγωγής υψηλής δόσης, στη δε περίπτωση έγχυσης χαμηλής δόσης χλωρίου οι επιδράσεις περιορίστηκαν σε ποσοστό μεταξύ 30 -70%. Ο Toetz και οι συνεργάτες του (Toetz 1977) μελέτησαν τις επιδράσεις του χλωρίου και των παραπροϊόν του στον κύκλο του αζώτου, στοιχείο το οποίο αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό θρεπτικό συστατικό καθώς η έλλειψή του συχνά προκαλεί ανάσχεση της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού στα φυσικά υδάτινα συστήματα. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής διερευνήθηκαν οι επιδράσεις λόγω παρουσίας χλωρίου στην πρόσληψη νιτρικών και αμμωνίας από αναπτυσσόμενες καλλιέργειες φυτοπλαγκτού. Εκ των αποτελεσμάτων προτείνεται εξασθένιση της ικανότητας πρόσληψης νιτρικών και αμμωνίας, οι δε επιδράσεις ήταν παρατηρήσιμες κατά την έκθεση σε μη αναλυτικά ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις χλωρίου (<0.1mg/L). Συγκριτικά, η πρόσληψη νιτρικών και αμμωνίας φαίνεται να παρουσιάζει υψηλότερη ευαισθησία στο χλώριο σε σχέση με τη φωτοσυνθετική ικανότητα. Παρατηρήθηκε περιορισμός της πρόσληψης κατά 50% για περιεκτικότητα χλωρίου 0.028mg/L.

2.4.2 Πρόσφατες μελέτες

Η ερευνητική ομάδα του Hanson (Hanson and Solomon, 2004a) διεξήγαγε εργαστηριακές παρατηρήσεις των επιδράσεων πέντε αλογονοξικών οξέων (μονοχλωροξικό οξύ, διχλωροξικό οξύ, τριχλωροξικό οξύ, τριφθοροξικό οξύ και διφθοροχλωροξικό οξύ) στην ανάπτυξη τριών ειδών μακρόφυτων (*Lemna Gibba*, *Myriophyllum Sibiricum* και *Myriophyllum spicatum*). Τα αποτελέσματα προτείνουν την ύπαρξη μικρής τοξικότητας κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες της τάξης των mg/L και εντονότερες επιδράσεις στις περιπτώσεις μελέτης περιεκτικότητας της τάξης των g/L. Συγκρίνοντας την τοξικότητα των διαφόρων αλογονοξικών οξέων, οι μέγιστες επιδράσεις στην ανάπτυξη και των τριών ειδών μακρόφυτων αντιστοιχούν στο μονοχλωροξικό οξύ ενώ ακολουθούν κατά σειρά τα διχλωροξικό οξύ, τριχλωροξικό οξύ και διφθοροχλωροξικό οξύ. Συνολικά, τα είδη

Lemna Gibba και *Myriophyllum spicatum* παρουσιάζουν αξιόλογη ανθεκτικότητα κατά την έκθεση σε περιβάλλον το οποίο περιέχει αλογονοξικά οξέα σε σύγκριση με άλλους μικροοργανισμούς όπως τα άλγη παρά το γεγονός ότι το δεύτερο εκ των δυο προαναφερθέντων ειδών χαρακτηρίζεται από αυξημένη ευπάθεια κατά την έκθεση σε ορισμένα φυτοκτόνα (Roshon et.al, 1999). Η πλήρης διακοπή της παραγωγής χρωστικών ουσιών για το είδος *Myriophyllum spicatum* παρατηρήθηκε σε καλλιέργειες οι οποίες εκτέθηκαν σε περιεκτικότητες μονοχλωροξικού οξέος ανώτερες των 20mg/L. Όσον αφορά στα παράγωγα διχλωροξικό οξύ, τριχλωροξικό οξύ και διφθοροχλωροξικό οξύ σημειώθηκε η πρόκληση περιορισμένης κλίμακας αύξησης της δραστηριότητας του είδους *Myriophyllum Sibiricum* ιδίως στις συγκεντρώσεις των χρωστικών ουσιών. Οι επιδράσεις επί του είδους *Lemna Gibba* προτείνουν πλήρη απουσία παραγωγής χρωστικών ουσιών για περιεκτικότητες ανώτερες των 10mg/L μονοχλωροξικού οξέος ενώ παρατηρήθηκαν περιορισμένης έκτασης αυξήσεις της δραστηριότητας οι οποίες αποδόθηκαν στα παράγωγα διχλωροξικό οξύ και τριφθοροξικό οξύ.

Η ίδια ερευνητική ομάδα χρησιμοποιώντας τα προαναφερθέντα αποτελέσματα εξέδωσε μια δεύτερη μελέτη στην οποία προσδιορίστηκε η οικολογική επικινδυνότητα λόγω ύπαρξης αλογονοξικών οξέων στο περιβάλλον (Hanson and Solomon, 2004b). Εκ των παρατηρήσεων κατέστη προφανές το γεγονός ότι τα αλογονοξικά οξέα στις τυπικές συγκεντρώσεις οι οποίες απαντώνται στο περιβάλλον δεν αποτελούν απειλή για τα είδη γλυκών νερών των θαλάσσιων οικοσυστημάτων του Καναδά, της Ευρώπης και της Αφρικής. Για την διεξαγωγή του συμπεράσματος αυτού, οι μελετητές εφήρμοσαν έναν συνδυασμό προσδιοριστικών και πιθανοτικών μεθόδων ανάλυσης της οικολογικής επικινδυνότητας. Εξαιτίας του γεγονότος ότι παρατηρείται σημαντική απόκλιση των κρίσιμων συγκεντρώσεων από τις πρακτικές συγκεντρώσεις έκθεσης για τα προαναφερθέντα αλογονοξικά οξέα, ακόμα και η ύπαρξη πολύπλοκων μειγμάτων αυτών δεν αναμένεται να προκαλέσουν αξιόλογες επιπτώσεις τοξικότητας στα είδη μακρόφυτων. Τα είδη *Lemna Gibba* και *Myriophyllum spicatum* παρουσίασαν αξιοσημείωτες επιδράσεις λόγω έκθεσης στα αλογονοξικά οξέα μόνο στις περιπτώσεις έκθεσης σε περιεκτικότητες της τάξης των g/L.

Η ερευνητική ομάδα του Lewis (Lewis 2004) παρουσίασε μια σύνοψη της κατάληξης και των επιδράσεων του τριχλωροξικού οξέος στο χερσαίο και θαλάσσιο περιβάλλον. Όσον αφορά στο φυτοπλαγκτόν ανέφερε τιμές LC-50 για διάφορα είδη αλγών (**Πίνακας 2.4.13**) σύμφωνα με τις προτάσεις του Kamrin (Kamrin 1997). Το είδος πράσινων αλγών φαίνεται να παρουσιάζει υψηλότερη ευαισθησία στο τριχλωροξικό οξύ σε σχέση με το είδος μπλε-πράσινων αλγών. Η παρατήρηση αυτή αποδόθηκε κατά τους μελετητές σε κάποιο ποσοστό στο γεγονός ότι το πρώτο εκ των προαναφερθέντων ειδών στερείται χρωστικών ουσιών οι οποίες απαντώνται στο δεύτερο.

Συμπερασματικά, η επικινδυνότητα για τους υδρόβιους οργανισμούς θεωρείται περιορισμένη λόγω χαμηλών περιεκτικοτήτων έκθεσης.

Πίνακας 2.4.13. Τιμές LC-50 για διάφορα είδη αλγών κατά την έκθεση σε τριχλωροξικό οξύ.

Είδος αλγών	Κοινή ονομασία	Μέσα επίπεδα LC-50 (mg/L)	Εκτίμηση τοξικότητας
<i>Anabaena variabilis</i>	Μπλε-πράσινα άλγη	8	μέτρια
<i>Chlorella mucosa</i>	Πράσινα άλγη	0.46	υψηλή
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Πράσινα άλγη	0.3	υψηλή
<i>Chlorococcum spp.</i>	Πράσινα άλγη	1.2	μέτρια
<i>Oscillatoria spp</i>	Μπλε-πράσινα άλγη	100	χαμηλή
<i>Scenedesmus acutus</i>	Πράσινα άλγη	8.8	μέτρια
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Πράσινα άλγη	100	χαμηλή
<i>Spirulina platensis</i>	Μπλε-πράσινα άλγη	5	μέτρια
<i>Stichococcus spp.</i>	Πράσινα άλγη	100	χαμηλή

Η μελέτη της ερευνητικής ομάδας του Roberts (Roberts et.al, 2010) προσανατολίστηκε στον καθορισμό των ορίων τοξικότητας για το μονοχλωροξικό και τριχλωροξικό οξύ καθώς και στην εκτίμηση μιας πιθανώς αναθεωρημένης τιμής όσον αφορά στο όριο PNEC (προβλεπόμενη συγκέντρωση χωρίς επιπτώσεις, Predicted No Effect Concentration). Για τον σκοπό αυτό διεξήγαγαν μια σειρά από μετρήσεις τοξικότητας σε άλγη σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του OECD (Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης, Organisation for Economic Co-operation and Development) χρησιμοποιώντας αλογονοξικά οξέα υψηλής καθαρότητας (>98%) για τον υπολογισμό των επιπέδων EC-50 και NOEC (Συγκέντρωση χωρίς παρατηρήσιμη επίπτωση, No Observed Effect Concentration). Μελετήθηκε το είδος *C. pyrenoidosa*-στέλεχος 366 (το οποίο έχει επίσης χρησιμοποιηθεί σε αντίστοιχες μελέτες (Bednarz 1981)), δυο στελέχη του είδους *Chlorella* (*C. Kessleri* και *C. Vulgaris*) καθώς και άλλα δύο είδη τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως για την υποστήριξη του κινδύνου απόφραξης της κυκλοφορίας (*Pseudokirchneriella subcapitata* και *Scenedesmus subspicatus*). Εκ των αποτελεσμάτων της μελέτης αυτής κατέστη προφανές ότι το τριχλωροξικό οξύ δεν παρουσίασε την τοξικότητα η οποία αναμένονταν βάσει των προηγούμενων σχετικών δημοσιεύσεων. Επίσης, το είδος *Chlorella* δεν παρουσίασε την μέγιστη ευπάθεια σε σχέση με τα λοιπά είδη, όπως αναμένονταν. Μηδενική τοξικότητα παρατηρήθηκε στα στελέχη του είδους αυτού για συγκεντρώσεις έως και

115mg/L. Η τοξικότητα του τριχλωροξικού οξέος επί των ειδών *P. Subcapitata* και *S. Subcapitatus* βρέθηκε κατά τουλάχιστον μια τάξη μεγέθους μεγαλύτερη ως προς τα τρία στελέχη *Chlorella*. Η μετρούμενη τοξικότητα του τριχλωροξικού οξέος στα άλγη είναι παρόμοια με αυτή που αναφέρθηκε από τον Garten (Garten 1990) ο οποίος μελέτησε την τοξικότητα σε 21 τύπους φυτοκτόνων επί των ειδών *P. Subcapitata* και *C. vulgaris*. Εκ των αποτελεσμάτων αυτής της έρευνας προέκυψε ότι το είδος *P. Subcapitata* παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με το είδος *C. vulgaris* για 11 τύπους φυτοκτόνων, μικρότερη ευαισθησία για 2 τύπους και όμοιας έκτασης ευπάθεια κατά την έκθεση στους λοιπούς 8 τύπους. Τα επίπεδα συγκεντρώσεων χωρίς παρατηρήσιμη επίδραση (NOEC) για τα είδη *P. Subcapitata* και *C. Vulgaris* ως προς το τριχλωροξικό νάτριο λαμβάνουν τιμές ανώτερες των 10 και 100mg/L αντίστοιχα γεγονός το οποίο καταδεικνύει την ύπαρξη αυξημένης ευαισθησίας του είδους *P. Subcapitata* κατά μια τάξη μεγέθους (Garten 1990). Η ελάχιστη περιεκτικότητα χωρίς παρατηρήσιμη επίδραση για το τριχλωροξικό οξύ την οποία κατέγραψε η ερευνητική ομάδα του Roberts ήταν 3mg/L για τα είδη *P. Subcapitata* και *S. Subspicatus*, τιμή η οποία είναι κατά τρεις τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη από την κατά το παρελθόν προτεινόμενη τιμή από προηγούμενες σχετικές μελέτες για το είδος *S. Pyrenoidosa*. Η τοξικότητα του μονοχλωροξικού οξέος επί του είδους *S. Subspicatus* εκτιμήθηκε ως κατά τουλάχιστον δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη τιμή που σημειώνεται κατά την έκθεση σε τριχλωροξικό οξύ.

Τα επίπεδα συγκεντρώσεων χωρίς παρατηρούμενη επίδραση για τα άλγη κυμάνθηκαν μεταξύ 3-115mg/L. Τιμές πλησίον του ανώτατου άκρου παρατηρήθηκαν στην περίπτωση του είδους *Chlorella*. Κατά την διεξαγωγή των συγκεκριμένων πειραμάτων εδόθη ιδιαίτερη προσοχή για την διασφάλιση βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης ώστε να είναι επιτρεπτή η εκδήλωση αποκρίσεων αποκλειστικά λόγω έκθεσης στο υπό μελέτη οργανικό χλωροπαράγωγο και όχι σε έναν συνδυασμό επιδράσεων. Περιορισμένα είναι τα δεδομένα σχετικά με τη σημαντικότητα των ποιοτικών χαρακτηριστικών του υποστρώματος ανάπτυξης και των επιδράσεων λόγω έλλειψης θρεπτικών επί της εκτίμησης της τοξικότητας των οργανοχλωριωμένων ενώσεων σε άλγη (Kamaya et.al, 2004).

Η ερευνητική ομάδα του Roy (Roy 2010) μελέτησε την διαμόρφωση των επιπέδων των τριαλογονομεθανίων σε σχέση με τη σύσταση των χρωστικών ουσιών του φυτοπλαγκτού στη θαλάσσια περιοχή της δυτικοκεντρικής Αραβικής Θάλασσας. Η διαφοροποίηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των χρωστικών ουσιών χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης αλληλεπίδρασης μεταξύ της ποιότητας του φυτοπλαγκτού και της περιεκτικότητας τριαλογονομεθανίων στο υδάτινο περιβάλλον (χλωροφόρμιο, τετραχλωράνθρακας). Το χλωροφόρμιο παρουσίασε θετική σχέση με την φουκοξανθίνη, προτείνοντας ως ιδιαίτερα σημαντική την ύπαρξη διατόμων και κίτρινων αλγών

(rymnesiophytes). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής προτείνουν την αξιοποίηση των αλογονομεθανίων ως πηγή οξειδώσιμης οργανικής ύλης. Άλλωστε τα τριαλογονομεθάνια αποτελούν προϊόντα της φωτοσυνθετικής δράσης των μικρο-αλγών, των φυκιών και των ανώτερων φυτικών δομών. Το ερώτημα σχετικά με τον λόγο για τον οποίο παράγονται αυτά τα πολυαλογονωμένα μεθάνια διερευνήθηκε από τον Manley (Manley 2002). Τα πολυαλογονομεθάνια αποτελούν παραπροϊόντα αλογόνωσης ορισμένων οργανικών ενώσεων οι οποίες παράγονται παρουσία υπεροξειδασών αλογόνων στα θαλάσσια άλγη, ενώ είναι εφικτή η έμμεση παραγωγή κατά την ελευθέρωση οξειδωμένων αλογονοπαραγώγων από τα άλγη.

2.5 Επιπτώσεις στο ζωοπλαγκτόν

Η ανάπτυξη των οργανισμών κατά τα πρώτα στάδια που ακολουθούν την εκκόλαψη αποτελεί μια ιδιαίτερα ευαίσθητη φάση. Διαταραχή των παραγόντων οι οποίοι πλαισιώνουν τη φάση της γονιμοποίησης και τα αρχικά στάδια ανάπτυξης κατά κανόνα επιφέρουν επιδράσεις που εκδηλώνονται είτε άμεσα ή ως μελλοντικές ανικανότητες. Οι οργανισμοί οι οποίοι αναπτύσσονται στα υδατικά οικοσυστήματα κατά κανόνα παράγουν έναν μεγάλο αριθμό απογόνων μέσω απόθεσης ενός ακόμα μεγαλύτερου αριθμού γαμετών στο νερό. Λόγω αναπόφευκτων φυσικών και ανθρωπογενών επιδράσεων, ένας μεγάλος αριθμός αυτών καταστρέφεται, τα δε εναπομείναντα μέλη θα πρέπει να αναπτυχθούν επιτυχώς ώστε να εξασφαλιστεί η επιβίωση του είδους. Τα επίπεδα περιεκτικότητας των διάφορων διαλυμένων ουσιών που απαντώνται στο υδάτινο περιβάλλον επιδρούν καταλυτικά κατά την ασταθή περίοδο η οποία ακολουθεί του σταδίου γονιμοποίησης και διαμορφώνουν μια ομαλή ή μη ανάπτυξη. Γενικότερα, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού αποτελούν μεγίστης σημασίας παράγοντα καθώς πλήθος πιθανώς καρκινογόνων ενώσεων και διαφόρων άλλων ρυπαντικών ουσιών εντοπίζεται στους φυσικούς υδάτινους αποδέκτες. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται παραπροϊόντα χλωρίωσης, κολοβακτηρίδια και άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί, πολυχλωριωμένα διφαινύλια κ.α. (Arner et.al, 2009)

2.5.1 Τριαλογονομεθάνια

Ασπόνδυλα είδη

Σχετικά περιορισμένα είναι τα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν στις επιπτώσεις του χλωροφορμίου στα ασπόνδυλα είδη τα οποία απαντώνται στα γλυκά νερά σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μελέτες εκτίμησης των επιδράσεων στα ψάρια. Η αναφορά της EPA (EPA 1978a)

περιλαμβάνει στοιχεία για το όριο θνησιμότητας του είδους *Daphnia Magna* (*Crustacea Cladocera*). Για το επίπεδο LC-50 αυτού του είδους ασπόνδυλων προτάθηκε η τιμή 28.9mg/L.

Τα επίπεδα EC-50 για το είδος *Daphnia Magna* κατόπιν 48-ωρης έκθεσης κυμαίνονται μεταξύ 24.5-353mg/L. Η προαναφερθείσα τιμή LC-50 υπολογίστηκε από την ερευνητική ομάδα του LeBlanc (LeBlanc 1980) υπό στατικές πειραματικές συνθήκες (σύμφωνα με τις οδηγίες της EPA) χωρίς ακριβή περιγραφή και παρακολούθηση κατά το διάστημα των 48 ωρών έκθεσης. Η γενική πειραματική μεθοδολογία περιγράφηκε σε ικανοποιητικό βαθμό και τα αποτελέσματα θεωρούνται αρκετά αξιόπιστα.

Δεδομένα αξιολόγησης της άμεσης τοξικότητας σε νέο-εκκολαπτόμενα μέλη του είδους στρειδιών *Crassostrea virginica* είναι διαθέσιμα στην εργασία της ερευνητικής ομάδας του Stewart (Steward et.al, 1979). Οι ερευνητές μελέτησαν τις επιδράσεις του βρωμοφορμίου και του χλωροφορμίου στα νεαρά μέλη του είδους στρειδιών *Crassostrea Virginia* σε περιεκτικότητες 0.05, 0.1, 1.0 και 10.0mg/L. Σειρές επαναλαμβανόμενων πειραμάτων κατέδειξαν ότι σημειώνεται - σε κάποιο βαθμό - θνησιμότητα των νεαρών μελών στα υψηλότερα επίπεδα. Συνεπώς, η εργασία αυτή καταλήγει στο ότι εάν οι συνθήκες επιτρέψουν την ανάπτυξη τέτοιων επιπέδων τριαλογονομεθανίων, ενδέχεται να καταγραφούν σημαντικές επιδράσεις στην ανάπτυξη του είδους *C. Virginia* κατά το αρχικό στάδιο ανάπτυξης. Οι ερευνητές ωστόσο σημειώνουν ότι τα αποτελέσματα θα πρέπει να αντιμετωπιστούν με επιφύλαξη και να μην θεωρηθεί ότι τα παραπροϊόντα αποτελούν άμεσο κίνδυνο λόγω των απαιτήσεων για περαιτέρω μελέτη.

Το επίπεδο NOEC ως προς την θνησιμότητα για την ευρύτερη κατηγορία των καρκινοειδών για διάστημα έκθεσης 11 ημερών βρέθηκε ίσο με 3.4mg/L για το είδος *Ceriodaphnia Dubia* σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης της ερευνητικής ομάδας του Cowgill (Cowgill and Milazzo, 1991). Ωστόσο, στη μελέτη αυτή προτείνεται τιμή EC-50 ως προς τη θνησιμότητα για χρονικό διάστημα έκθεσης 9 ημερών ίση με 235mg/L, ενώ το επίπεδο NOEC ως προς τις παραμέτρους που καθορίζουν την αναπαραγωγική διαδικασία υπολογίστηκε ίσο με 120mg/L. Επίπεδα θνησιμότητας για περιεκτικότητες οι οποίες δεν μελετήθηκαν μέσω επαναληπτικών πειραμάτων δεν δημοσιεύθηκαν και συνεπώς δεν παρουσιάστηκε ένα ξεκάθαρο μοντέλο συσχέτισης συγκεντρώσεων - επιδράσεων. Το συγκριτικά χαμηλό επίπεδο NOEC το οποίο προτάθηκε σε αυτή τη μελέτη αποκλίνει σημαντικά από τα αντίστοιχα αποτελέσματα παρόμοιων μελετών και η απόκλιση αυτή ενδέχεται να οφείλεται σε ακατάλληλη στατιστική μέθοδο ή/και τυχαία θνησιμότητα.

Τα προτεινόμενα επίπεδα NOEC ως προς την αναπαραγωγή και τη θνησιμότητα για το είδος *Daphnia Magna* κυμαίνονται μεταξύ 120 – 200mg/L (Cowgill and Milazzo, 1991). Η πειραματική μέθοδος και

οι οργανισμοί δεν μελετήθηκαν ως προς κάποιο πρότυπο, ενώ απουσιάζει εποπτεία των πειραματικών συνθηκών κατά την πορεία του πειράματος. Οι πειραματικές περιεκτικότητες οι οποίες διαμορφώνονται στην πράξη κατά την διάρκεια των μελετών ενδέχεται να είναι σημαντικά χαμηλότερες αυτών που αναφέρονται από τους μελετητές. Η ερευνητική ομάδα του Kuhn (Kuhn et.al, 1989) υπολόγισε το επίπεδο NOEC ίσο με 6.3mg/L για χρονικό διάστημα 21 ημερών ως προς την αναπαραγωγή του είδους *Daphnia Magna* σύμφωνα με τις προτάσεις του OECD με αναλυτική παρακολούθηση και θεωρήθηκε αξιόπιστη για την εκτίμηση της επικινδυνότητας. Η χαμηλότερη τιμή NOEC ως προς την αναπαραγωγή (6.3mg/L) παρατηρήθηκε στο είδος *Daphnia Magna* κατά την έκθεση μελών σε περιβάλλον χλωροφορμίου επί 21 ημέρες.

Η ερευνητική ομάδα του Brennan (Brennan et.al, 2005) ανέφερε τις επιδράσεις τοξικότητας κατόπιν 96 ωρών έκθεσης εμβρύων του είδους *Xenopus Laevis* (αφρικανικός βάτραχος). Στα πλαίσια της εργασίας εκτιμήθηκαν οι επιδράσεις κατά την έκθεση στα παράγωγα βρωμοδιχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο και διβρωμοξικό οξύ. Η επιλογή των συγκεκριμένων παραγώγων έγινε με βάση τις γνωστές καρκινογόνες επιδράσεις τους στον άνθρωπο. Πέραν των επιπέδων θανάτωσης των εκτεθειμένων εμβρύων (LC-50), προσδιορίστηκαν τα επίπεδα εκδήλωσης δυσπλασιών (EC_{mal}-50), αδρανοποίησης των εμβρύων (EC_{imm}-50), μη παρατήρησης οξέων επιδράσεων NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) καθώς και η ελάχιστη περιεκτικότητα παρεμποδισμού της ανάπτυξης (Minimum Concentration to Inhibit Growth, MCIG).

Κατά την έκθεση σε βρωμοδιχλωρομεθάνιο σε περιεκτικότητες μεγαλύτερες ή ίσες των 250mg/L όλα τα έμβρυα εμφάνισαν σοβαρές δυσπλασίες. Οι δυσπλασίες οι οποίες παρατηρήθηκαν στις πλείστες των περιπτώσεων αφορούν σε ανώμαλη ανάπτυξη της νωτοχορδής, δυσπλασίες κρανίου και προσώπου καθώς και κρανιακά οιδήματα. Τα επίπεδα δυσπλασιών EC-50 για το βρωμοδιχλωρομεθάνιο κυμάνθηκαν σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα (62 - 72mg/L) από τα αντίστοιχα επίπεδα LC-50 (396 - 440mg/L). (Brennan et.al, 2005)

Η τοξικότητα του χλωροφορμίου κυμαίνεται σε όμοια με το βρωμοδιχλωρομεθάνιο επίπεδα. Ωστόσο, ο Brennan και οι συνεργάτες του δεν υπολόγισαν τιμές LC-50 καθώς οι ρυθμοί θανάτου στην περίπτωση του χλωροφορμίου δεν ακολουθούν γραμμικό τύπο ενώ η μείωση της κινητικότητας (EC_{imm}-50) σημειώνει αύξηση κατά την αύξηση της περιεκτικότητας του χλωροφορμίου. Η παρατήρηση περιστατικών νάρκωσης και επιβάρυνση των αναπνευστικών λειτουργιών είναι γνωστοί παράγοντες περιορισμού της κινητικότητας λόγω έκθεσης σε χλωροφόρμιο (WHO 2004). Λόγω του γεγονότος ότι η ακινητοποίηση οδήγησε σε αύξηση της θνησιμότητας, ενδεχομένως τα ακινητοποιημένα έμβρυα να προσλαμβάνουν μικρότερες δόσεις χλωροφορμίου και συνεπώς η

εκδηλωμένη τοξικότητα να φέρει χρονική υστέρηση στην περίπτωση των υψηλών περιεκτικοτήτων έκθεσης.

Σύμφωνα με παρατηρήσεις της ίδιας ερευνητικής ομάδας, η έκθεση σε χλωροφόρμιο οδήγησε στην ανάπτυξη χαρακτηριστικών δυσπλασιών (καρδιακά οιδήματα) καθώς και ανώμαλη ανάπτυξη της νωτοχορδής και δυσπλασίες του κρανίου - προσώπου. Το διβρωμοξικό οξύ δεν προκάλεσε την ανάπτυξη δυσπλασιών κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες χαμηλότερες των επιπέδων LC-50. Σε αυτά τα επίπεδα, τα μέλη κατά την έκθεσή τους σε διβρωμοξικό οξύ ανέπτυξαν δυσπλασίες στο εντερικό σύστημα. Περιστατικά ανάπτυξης δυσπλασιών κατά την έκθεση σε διβρωμοξικό οξύ καταγράφηκαν σε ποσοστά κάτω του 15% σε όλες τις σειρές πειραμάτων εκτός μιας εξαιρετικής περίπτωσης (64%). Όμοια, όσον αφορά στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης, παρατηρήθηκαν αξιόλογες επιδράσεις μόνο στην περίπτωση έκθεσης σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα περιεκτικότητας.

Ψάρια

Η επίδραση του χλωροφορμίου έχει καλυφθεί σε ικανοποιητικό βαθμό τόσο στην περίπτωση των ψαριών του γλυκού, όσο και του αλμυρού νερού. Ο Bentley και οι συνεργάτες του (Bentley et.al, 1975) ανέφεραν επίπεδα LC-50 μεταξύ 100 - 115 mg/L για το είδος *Bluegill* (*Lepomis macrochirus*). Όσον αφορά στο είδος *Rainbow Trout* (*Oncorhynchus mykiss*), εκ των πειραματικών παρατηρήσεων συνάγεται το συμπέρασμα ότι παρουσιάζει αρκετά υψηλότερο δείκτη ευαισθησίας κατά την έκθεση σε χλωροφόρμιο. Η ερευνητική ομάδα του Bentley πρότεινε για τα ενήλικα ψάρια του είδους *Rainbow Trout* τιμές LC-50 μεταξύ 43.3 – 66.8mg/L. Θνησιμότητα σε ποσοστό 100% αναφέρθηκε από τον Clayberg (Clayberg 1917) για το είδος *Orangespotted Sunfish* (*Lepomis humilis*) κατά την έκθεση σε περιβάλλον με επίπεδα χλωροφορμίου 106.9 – 152.7mg/L. Εκ των παρατηρήσεων αυτών προκύπτει ότι το χλωροφόρμιο σε χαμηλές συγκεντρώσεις δεν παρουσιάζει σημαντική τοξικότητα για τα ψάρια των γλυκών νερών.

Ο Jones (Jones 1947) ανέφερε ότι το χλωροφόρμιο επιφέρει πλήρη αναισθησία στο θαλάσσιο είδος *Threespine Stickleback* (*Gasterosteus aculeatus*) κατόπιν έκθεσης σε συγκέντρωση 207.6mg/L επί 90 λεπτά. Στην περίπτωση του είδους *Ninespine Stickleback* (*Pungitius pungitius*) ο Jones ανέφερε αντιδράσεις απώθησης σε συγκεντρώσεις 148.3 - 296.3mg/L. Για το είδος *Pink Shrimp* (*Penaeus duorarum*), ένα θαλάσσιο είδος το οποίο επίσης μελετήθηκε από τον Bentley και τους συνεργάτες του (Bentley et.al, 1975) υπολογίστηκε τιμή LC-50 ίση με 81.5 mg/L.

Διάφορες είναι οι ενζυματικές και οι ιστολογικές επιδράσεις οι οποίες έχουν παρατηρηθεί σε είδη ψαριών κατά την έκθεσή τους σε χλωροφόρμιο. Το είδος *Rainbow Trout* εμφάνισε υψηλά επίπεδα

LDH, GOT, GTP και ισοκυτρικής αφυδρογονάσης στον ορό του αίματος (Racicot et.al, 1975, Stathman et.al, 1978). Ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση ποσότητας 1mg/Kg οδήγησε στην ανάπτυξη πλήθους παθολογικών κακώσεων, περιλαμβανομένης της παραγωγής ηπατικών κενотоπίων, ενώ σημειώθηκαν ακόμα και περιπτώσεις νέκρωσης της σπλήνας.

Μια μελέτη εκτίμησης των τοξικών επιδράσεων κατά την έκθεση (διάρκειας οκτώ εβδομάδων) του θαλάσσιου είδους *Pleonectosplatessa* οδήγησε στον υπολογισμό ενός επιπέδου NOEC της τάξης των 3,0mg/L όσον αφορά στις επιδράσεις στην ανάπτυξη (Adema and Vink, 1981). Μια μελέτη της πορείας της ανάπτυξης διάρκειας 28 ημερών του είδους *American Flagfish Fry (Jordanella Floridae)* κατόπιν έκθεσης σε δύο χλωροαλκάνια δεν κατέδειξε την ύπαρξη επιδράσεων σε περιεκτικότητες έως 15.8mg/L (Smith et.al, 1991). Η έκθεση του είδους *Black Molly (Poecilia Sphenops)* σε χλωροφόρμιο περιεκτικότητας 0.001 - 0.005mg/L επί 60 ημέρες προκάλεσε μείωση της ανάπτυξης η οποία αποδόθηκε σε μεταβολικές δυσλειτουργίες (Loekle et.al, 1983). Η ιστολογική ανάλυση της κατάστασης του ήπατος κατέδειξε ότι έλαβαν χώρα σε αξιόλογη έκταση φαινόμενα όπως η συσσώρευση λίπους, ο σχηματισμός κοκκιωμάτων καθώς και ο εκφυλισμός ζωτικής σημασίας ιστών.

Η ερευνητική ομάδα του Mattice (Mattice et.al, 1981) μελέτησε τις διάφορες επιδράσεις τοξικότητας των χλωρο- και βρωμο- τριαλογονομεθανίων (χλωροφόρμιο, βρωμοδιχλωρομεθάνιο, διβρωμοχλωρομεθάνιο, βρωμοφόρμιο) σε έμβρυα μέλη του κοινού είδους κυπρίνων *Cyprinus carpio*. Η μελέτη της άμεσης τοξικότητας για κάθε ένα εκ των τεσσάρων τριαλογονομεθανίων διεξήχθη σε δύο φάσεις. Σε πρώτη φάση δημιουργήθηκαν διαλύματα για κάθε παράγωγο καλύπτοντας περιεκτικότητες μεταξύ 0.1 - 100 mg/L (μελέτη ανά τάξη μεγέθους). Οι περιεκτικότητες για την δεύτερη φάση καθορίστηκαν με βάση τα επίπεδα LC-50 τα οποία προσδιορίστηκαν από την πρώτη φάση.

Η εκτίμηση της θνησιμότητας των γονιμοποιημένων αυγών θεωρείται μερικώς αντικειμενική. Κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης, δεν παρατηρήθηκε άμεση καταγραφή νεκρών αυγών. Αντίθετα κατά την περίοδο εκκόλαψης (3-5 ημέρες κατόπιν γονιμοποίησης) οι μεμβράνες ορισμένων αυγών κατά την έκθεσή τους σε βρωμοφόρμιο, διβρωμοχλωρομεθάνιο και βρωμοδιχλωρομεθάνιο παρουσίασαν σημεία θραύσης με αποτέλεσμα την πρόωρη απελευθέρωση των εμβρύων. Το φαινόμενο αυτό, το οποίο θεωρείται αποτέλεσμα των τοξικών επιδράσεων, δεν παρατηρήθηκε στην περίπτωση των καλλιεργειών αναφοράς ή κατά την έκθεση σε περιβάλλον χλωροφορμίου. Το ποσοστό εκδήλωσης αυτού του φαινομένου φαίνεται να επηρεάζεται από την περιεκτικότητα του εκάστοτε αλογονοπαραγωγού. Οι υψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν για περιεκτικότητες όμοιες των επιπέδων LC-50 (± 10 mg/L) με ποσοστά 42, 21 και 47% για το βρωμοδιχλωρομεθάνιο, το διβρωμοχλωρομεθάνιο και το βρωμοφόρμιο αντίστοιχα. Τα περισσότερα έμβρυα εξ αυτών που εκκολάφθηκαν πρόωρα λόγω της έκθεσης σε

τριαλογονομεθάνια επιβίωσαν μεν (όπως απεδείχθη από τους καρδιακούς παλμούς), όμως διατήρησαν την καμπυλωτή διαμόρφωση της ουράς την οποία διέθεταν εντός του αυγού πριν την εκκόλαψη, παρουσίασαν μηδενική κινητικότητα σε αντίθεση με τα λοιπά μέλη τα οποία εκκολάυθηκαν στον αναμενόμενο χρόνο, ενώ κατέληξαν κατόπιν οκτώ ωρών. Για τον λόγο αυτό, οι μελετητές κατά τους υπολογισμούς τους θεώρησαν ότι τα μέλη τα οποία εκκολάπτονται πρόωρα παρουσιάζουν μηδενική πιθανότητα μελλοντικής επιβίωσης και συνεπώς μπορούν να καταγραφούν εξ αρχής ως νεκρά κατά την εκτίμηση των επιπτώσεων.

Στα πλαίσια της ίδιας εργασίας υπολογίστηκαν μέσες περιεκτικότητες θνησιμότητας (LC-50) για κάθε ένα εκ των τεσσάρων τριαλογονομεθανίων με βάση τις τοξικές περιεκτικότητες. Το παράγωγο το οποίο επέφερε τις ισχυρότερες επιδράσεις τοξικότητας αντιστοιχεί στο διβρωμοχλωρομεθάνιο (53mg/L), ενώ ακολουθούν το βρωμοφόρμιο (76mg/L), το βρωμοδιχλωρομεθάνιο (119mg/L) και τέλος το χλωροφόρμιο (161mg/L).

Η σύνοψη '*Euro chlor risk assessment for the marine environment*' η οποία εκδόθηκε το 1997 περιλαμβάνει την μελέτη οκτώ διαφορετικών ειδών ψαριών ως προς τις επιδράσεις κατά την έκθεση σε χλωροφόρμιο κατόπιν συμπλήρωσης τουλάχιστον 96 ωρών. Όλες σχεδόν οι μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια αυτής της σύνοψης χαρακτηρίζονται από ελλιπή περιγραφή τόσο των συνθηκών διεξαγωγής των πειραμάτων όσο και των τελικών αποτελεσμάτων. Τα επίπεδα LC-50 έλαβαν τιμές μεταξύ 18 - 300mg/L. Αναλυτική περιγραφή των συνθηκών και των συμπερασμάτων απαντάται στην περίπτωση της εργασίας του Anderson και των συνεργατών του (Anderson and Lustray, 1980). Ωστόσο, η εργασία αυτή δεν δημοσιεύθηκε υπό την πλήρη μορφή της και βιβλιογραφικά είναι διαθέσιμη μόνο μια συνοπτική περίληψη. Το κατώτερο επίπεδο τοξικότητας για τα ψάρια κατεγράφη στην περίπτωση του είδους *Oncorhynchus mykiss* και *Lepomis macrochirus* με τιμή LC-50 για διάστημα έκθεσης 96 ωρών ίσο με 18mg/L.

Στην μελέτη του Konemann διερευνήθηκαν οι επιδράσεις στο είδος *Poecilia reticulata* κατά την έκθεση σε περιβάλλον χλωροφορμίου επί 14 ημέρες. Τα αποτελέσματα δεν θεωρούνται αξιόπιστα για την διεξαγωγή συμπερασμάτων ως προς την χρόνια τοξικότητα λόγω του μικρού χρονικού διαστήματος μελέτης. Σε δύο άλλες μελέτες επί μελών των ειδών *Rainbow Trout* (Birge et.al, 1979) και *Pimephales promelas* (Black et.al, 1982), μελετήθηκε η επιβίωση γονιμοποιημένων αυγών και νεοεκολλαυθέντων μελών. Η διαθεσιμότητα πληροφοριών ως προς τα χαρακτηριστικά καλλιεργειών αναφοράς είναι περιορισμένη.

Στα πλαίσια της εργασίας του Toussaint και των συνεργατών του (Toussaint et.al, 2001), μέλη του είδους *Medaka* εκτέθηκαν σε περιβάλλον συνεχούς ροής για χρονικό διάστημα εννέα μηνών σε

διάφορα επίπεδα περιεκτικότητας (0.017, 0.151 και 1.463 mg/L). Οι επιδράσεις παρατηρήθηκαν υπό το πρίσμα εκδήλωσης καρκίνου του ήπατος, ηπατοκυτταρικών βλαβών, αιματολογικών διαταραχών και ενδο-ηπατικής συγκέντρωσης του χλωροφορμίου.

Τα μέλη του είδους *Medaka* τα οποία εκτέθηκαν σε περιεκτικότητες χλωροφορμίου 0.017 - 1.463mg/L εξετάστηκαν ως προς τον σχηματισμό νεοπλασμάτων του ήπατος. Εκ των αποτελεσμάτων καθίσταται προφανές ότι απουσιάζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις με βάση τους πληθυσμούς αναφοράς. Τα υπό μελέτη μέλη εκδήλωσαν ωστόσο ανωμαλίες στην λειτουργία της χοληδόχου κύστης και των χοληφόρων υπό στατιστικά αξιόλογες συχνότητες στην περίπτωση έκθεσης σε περιεκτικότητα της τάξης του 1.463mg/L. Το χλωροφόρμιο δεν ενίσχυσε την εκδήλωση καρκίνου του ήπατος ακόμα και υπό συνεχή έκθεση επί 6 - 9 μήνες. Στην περίπτωση αντίστοιχων μελετών σε αρουραίους, στα όργανα τα οποία φαίνεται να εμφανίζουν την μεγαλύτερη ευαισθησία περιλαμβάνονται τα νεφρά, το ήπαρ και η αναπνευστική οδός (Templin et.al, 1996, Larson et.al, 1996), ενώ όσον αφορά στο είδος *Medaka* παρατηρήθηκαν ανωμαλίες στους ιστούς μόνον της χοληδόχου κύστης και των χοληφόρων άνευ εκδήλωσης ανωμαλιών στους ιστούς του αναπνευστικού. Οι αποκλίσεις αυτές αποδόθηκαν κατά την κρίση των μελετητών της συγκεκριμένης εργασίας στην ύπαρξη διαφορετικών οδών έκθεσης, διαφορετικών επιπέδων περιεκτικότητας καθώς και στην επιλογή του μοντέλου μελέτης το οποίο διαφοροποιείται με βάση τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του εκάστοτε είδους ζώου. Οι μελετητές αδυνατούν να ερμηνεύσουν τον σχηματισμό συμπτυγμάτων στην χοληδόχο κύστη και στους χοληφόρους των ψαριών του είδους *Medaka*. Γενικά, η παραγωγή συμπτυγμάτων παρατηρείται σπάνια σε όλα σχεδόν τα είδη ζώων (Jones and Hunt, 1983, Jubb et.al, 1985).

Τα περιστατικά καταγραφής ηπατοκυτταρικών προβλημάτων πολλαπλασιασμού στα μέλη τα οποία εκτέθηκαν σε περιβάλλον χλωροφορμίου δεν παρουσίασαν σημαντικές αποκλίσεις από τις αντίστοιχες παρατηρήσεις των πληθυσμών αναφοράς κατόπιν έκθεσης επί τέσσερις και είκοσι ημέρες. Οι πιθανές αιτίες θανάτου για χρονικά διαστήματα πέραν των προαναφερθέντων, δεν μελετήθηκαν εις βάθος. Παρά ταύτα, ο Toussaint προτείνει την ανάπτυξη βακτηριακής ή/και μυκητιακής μόλυνσης του περιβάλλοντος παραμονής των πληθυσμών κατά την περίοδο μελέτης.

Όσον αφορά στην ενδο-ηπατική συγκέντρωση του χλωροφορμίου, αυτή έλαβε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με την περιεκτικότητα του περιβάλλοντος ανάπτυξης, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρήθηκε εξίσωση των δύο περιεκτικότητας. Το φωσγένιο το οποίο αποτελεί τυπικό μεταβολικό παραπροϊόν του χλωροφορμίου δεν ανιχνεύθηκε στους ιστούς των ψαριών γεγονός το οποίο επιβεβαιώνει ότι το χλωροφόρμιο δεν παρουσιάζει σημαντική βιοσυσσώρευση στα ψάρια και σε καμία περίπτωση δεν αναμένεται η διαμόρφωση περιεκτικότητας μεγαλύτερων αυτών του περιβάλλοντος.

Σημαντικές επιδράσεις αναμένεται να παρατηρηθούν σε περιεκτικότητες μεγαλύτερες κατά τουλάχιστον 2 ή 3 τάξεις μεγέθους σε σχέση με αυτές στα χλωριωμένα ύδατα.

2.5.2 Τετραχλωράνθρακας

Κατόπιν πολλαπλών εκθέσεων σε τετραχλωράνθρακα παρατηρήθηκε ενίσχυση της - εκκινούμενης μέσω της αφλατοξίνης B1 - καρκινογένεσης στο είδος *Rainbow Trout*, σύμφωνα με τις παρατηρήσεις του Kotsanis (Kotsanis and Metcalfe, 1991). Τα υπό μελέτη μέλη του είδους αυτού εκτέθηκαν περιοδικά μέσω ενδοπεριτοναϊκής χορήγησης σε περιεκτικότητες τετραχλωράνθρακα 1mL/Kg με ακόλουθη έκθεση στο ηπατοκαρκινογόνο παράγωγο αφλατοξίνη B1. Η ανάλυση της ερευνητικής ομάδας του Kotsanis βασίστηκε στις παρατηρήσεις νεκροψιών κατά τον τρίτο και έκτο μήνα. Η εμφάνιση - παρατηρήσιμων με γυμνό οφθαλμό - μεικτών νεοπλασμάτων αυξήθηκε σημαντικά κατά το διάστημα μελέτης, η δε συχνότητα εμφάνισης - ιστολογικά παρατηρούμενων - ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα μέλη που εκτέθηκαν σε τετραχλωράνθρακα μετά τριμήνου. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν ότι ο τετραχλωράνθρακας ενίσχυσε την ανάπτυξη όγκων στο είδος *Rainbow Trout* υπό ακόλουθη έκθεση σε εκκινητή ανάπτυξης όγκων.

2.5.3 Χλωροαιθάνια

Ασπόνδυλα/Αμφίβια

Η οξεία τοξικότητα των χλωροαιθανίων στα ασπόνδυλα είδη γλυκού και θαλασσινού νερού έχει περιγραφεί σε διάφορες μελέτες. Σύμφωνα με τις πρώτες εργασίες επί του θέματος (Johnson and Finley, 1980, Rosenberg et.al, 1975, Nacci et.al, 1986), τα επίπεδα LC-50 για τα κύρια παράγωγα αυτής της κατηγορίας παραπροϊόντων ακολουθούν τη διαμόρφωση που παρουσιάζεται στον **Πίνακα 2.5.1**.

Πίνακας 2.5.1. Επίπεδα LC-50 για τα κύρια παράγωγα της κατηγορίας των χλωροαιθανίων.

Παράγωγο	Εύρος τιμών LC-50 (mg/L)
Διχλωροαιθάνιο	170 – 900
Τριχλωροαιθάνιο	43 – 320
Εξαχλωροαιθάνιο	<1 – 16

Συνεπώς παρατηρείται αυξητική τάση της τοξικότητας κατά την αύξηση του βαθμού υποκατάστασης των ατόμων χλωρίου στα υποκατεστημένα αλκάνια. Το γεγονός αυτό πιθανότατα συνδέεται με την επαγόμενη αύξηση της λιποφιλικότητας και την μείωση της τάσης ατμών.

Γενικότερα, δεν παρατηρήθηκαν ευκρινείς τάσεις μεταξύ τοξικότητας και βαθμού χλωρίωσης των υποκατεστημένων αιθανίων στα πειράματα διάρκειας 48 ωρών (στατικές συνθήκες) για το είδος *Daphnia Magna*. Αντίστοιχα είναι τα συμπεράσματα και κατά την μελέτη του είδους *Mysidopsis Bahía* (EPA 1978b). Τα επίπεδα LC-50 (παρατηρήσεις σε διάστημα 96 ωρών) κυμάνθηκαν μεταξύ 113mg/L (για το 1,2-διχλωροαιθάνιο) και 0.94mg/L (για το εξαχλωροαιθάνιο).

Η συμπεριφορά του θαλάσσιου είδους *polychaete Ophryotrocha*, επηρεάστηκε κατά την έκθεση σε 1,1,2-τριχλωροαιθάνιο σύμφωνα με τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων του Rosenberg (Rosenberg et.al, 1975). Η έκθεση σε 400mg/L οδήγησε σε αύξηση της ανικανότητας απόκρισης, ενώ η έκθεση σε 300mg/L τριχλωροαιθανίου επέφερε μείωση της δραστηριότητας κατά 25 - 30%. Σε ενδιάμεσα επίπεδα (200mg/L) σημειώθηκε περιορισμός της ενεργητικότητας.

Η επίδραση των χλωροαιθανίων στην ανάπτυξη και επιτυχή αναπαραγωγή του είδους *Daphnia Magna* έχει παρουσιαστεί σε δημοσιεύσεις της ερευνητικής ομάδας του Richter (Richter et.al, 1983). Οι κατώτερες συγκεντρώσεις πρόκλησης παρατηρήσιμων επιδράσεων (Lowest Observable Effect Concentration, LOEC) και οι συγκεντρώσεις άνευ πρόκλησης παρατηρήσιμων επιδράσεων (Non Observed Effect Concentration, NOEC) για το είδος *Daphnia Magna* παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.5.2**. Τα χλωροαιθάνια οδηγούν στην ανάπτυξη άμεσων επιδράσεων επί της ανάπτυξης αυτού του είδους στο εύρος περιεκτικότητας 26 – 72mg/L.

Οι επιδράσεις λόγω έκθεσης επί 28 ημερών στην επιτυχή αναπαραγωγή του είδους *Daphnia Magna* εκτιμήθηκαν μέσω παρατήρησης του αριθμού των απογόνων οι οποίοι αντιστοιχούν ανά ενήλικο μέλος. Σε σύγκριση με τις καλλιέργειες αναφοράς, παρατηρήθηκαν οξείες επιδράσεις όσον αφορά στην αναπαραγωγή κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες μεταξύ του εύρους 12 - 42mg/L. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν ξεκάθαρες τάσεις μεταξύ τοξικότητας και βαθμού χλωρίωσης. Τα επίπεδα NOEC και NOEL για το παράγωγο 1,1,2-τριχλωροαιθάνιο υπολογίστηκαν ίσα με 18 και 32mg/L. Παρόμοιες μελέτες επίσης καταλήγουν στον χαρακτηρισμό των παραγώγων του αιθανίου ως υπεύθυνα για την πρόκληση επιδράσεων επί της ομαλής αναπαραγωγής σε δύο ακόμη είδη θαλάσσιων ειδών, του *Ophryotrocha labronica* (Rosenberg et.al, 1975) και του *Crustacean Artemia Salina* (Adema and Vink, 1981). Η αναπαραγωγή του είδους *Ophryotrocha labronica* επηρεάστηκε κατά την έκθεση σε 1,2-διχλωροαιθάνιο (περιεκτικότητα 400mg/L και άνω). Σε αυτό το εύρος περιεκτικότητας παρατηρήθηκε

μείωση του αριθμού των ομαλώς εκκολαπτόμενων αυγών, της μάζας τους και συνεπώς και του μέσου αριθμού αυγών ανά μονάδα μάζας. Αντίστοιχες μειώσεις της επιτυχούς εκκόλαψης παρατηρήθηκαν κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες μεταξύ 75 - 200mg/L 1,1,2-τριχλωροαιθανίου. Τα επίπεδα NOEL και NOEC όσον αφορά στην αναπαραγωγή του είδους *A. Salina* υπολογίστηκαν 10 και 15mg/L αντίστοιχα για το 1,1,2-τριχλωροαιθάνιο (Adema and Vink, 1981).

Πίνακας 2.5.2. Κατώτερες συγκεντρώσεις πρόκλησης παρατηρήσιμων επιδράσεων (LOEC) και συγκεντρώσεις άνευ πρόκλησης παρατηρήσιμων επιδράσεων (NOEC) για το είδος *Daphnia Magna*.

Παράγωγο	NOEC	LOEC
1,2-διχλωροαιθάνιο	42 ± 2.4	72 ± 4.8
1,1,2-τριχλωροαιθάνιο	13 ± 1.7	26 ± 2.2

Μελέτες παρατήρησης (διάρκειας 16 ημερών) των επιδράσεων του 1,1,2-τριχλωροαιθανίου στη μορφολογία και την εκκόλαψη των μαλακίων του γλυκού νερού *Limnaea Stagnalis* οδήγησαν στον υπολογισμό NOEC και EC-50 τιμών μεταξύ 10 και 36mg/L αντίστοιχα. Μια σειρά ημιστατικών δοκιμών εκτίμησης των πιθανών επιδράσεων του 1,1,1-τριχλωροαιθανίου στην αναπαραγωγή του είδους *D. Magna* αναφέρει ένα πολύ χαμηλότερο επίπεδο NOEC της τάξης του 1.3mg/L (Thompson and Charmichael, 1989). Η αναπαραγωγή παρεμποδίστηκε σε περιεκτικότητες ίσες ή ανώτερες των 2.4mg/L. Ωστόσο, τα επίπεδα περιεκτικότητας όσον αφορά στο 1,1,1-τριχλωροαιθάνιο που προκύπτουν κατά την χλωρίωση είναι αρκετά μικρότερες. Επιπλέον, λόγω της κατανομής του 1,1,1-τριχλωροαιθανίου σε αναλογία 1000:1 (κατά μάζα) στην ατμόσφαιρα (Neely 1982) συνάγεται ότι η προσέγγιση περιεκτικότητας πλησίον αυτών που επηρεάζουν τους οργανισμούς των υδάτινων οικοσυστημάτων δεν πρόκειται να διαμορφωθούν σε συστήματα ανοιχτών υδάτινων όγκων για μακρά χρονικά διαστήματα (Thompson and Charmichael, 1989).

Η οξεία τοξικότητα του εξαχλωροαιθανίου στους γυρίνους του είδους *Rana Catesbiana* βάρους 2 - 5g εκτιμήθηκε μέσω μιας σειράς πειραμάτων 96 ωρών (Thurston et.al, 1988, Davidson et.al, 1988). Τα αμφίβια είδη παρουσίασαν τις ασθενέστερες επιδράσεις σε σύγκριση με όλα τα λοιπά ασπόνδυλα είδη τα οποία μελετήθηκαν από τον Truston με επίπεδα LC-50 (παρατηρήσεις κατόπιν 96 ωρών έκθεσης) μεταξύ 2.44 - 3.18mg/L.

Ψάρια

Οι διάφορες μελέτες εκτίμησης των επιπτώσεων τοξικότητας των χλωροαιθανίων στα ψάρια του

γλυκού και αλμυρού νερού καταδεικνύουν την ύπαρξη τάσης αύξησης της τοξικότητας με αύξηση του βαθμού χλωρίωσης καθώς οι τιμές LC-50 σημείωσαν διαδοχική μείωση (225 - 550mg/L για το διχλωροαιθάνιο, 0.73 - 2.94mg/L για το εξαχλωροαιθάνιο). Το είδος θαλάσσιου ψαριού για το οποίο είναι διαθέσιμα ποσοτικά δεδομένα κατά τα αρχικά στάδια εκτίμησης των επιπτώσεων αντιστοιχεί στο *Shipshead Minnow* το οποίο φαίνεται να χαρακτηρίζεται από μικρότερη ευαισθησία σε σχέση με τα ασπόνδυλα είδη γλυκού νερού. Για τον προσδιορισμό της οξείας θανατηφόρου δράσης του εξαχλωροαιθανίου χρησιμοποιήθηκαν έξι είδη ψαριών γλυκού νερού (*Rainbow Trout*, *Bluegill Sunfish*, *Fathead Minnow*, *Mosquito Fish*, *Channel Catfish* και το κοινό χρυσόψαρο) (Thurston et.al, 1988). Το είδος *Bluegill Sunfish* εκδήλωσε την μεγαλύτερη ευαισθησία κατά την έκθεση σε εξαχλωροαιθάνιο ενώ το είδος *Channel Catfish* απεδείχθη το πλέον ανθεκτικό εκ του συνόλου των υπό μελέτη ειδών. Σε μια παρόμοια εργασία (Phipps and Hoecombe, 1985) προτείνεται ότι τα είδη *Rainbow Trout* και *Bluegill Sunfish* παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία ενώ τη μέγιστη ανθεκτικότητα στην έκθεση σε εξαχλωροαιθάνιο φέρει το κοινό χρυσόψαρο.

Η οξεία τοξικότητα δέκα αλειφατικών χλωρο-υδρογονανθράκων περιλαμβανομένων των 1,2-διχλωροαιθάνιο, 1,1,2-τριχλωροαιθάνιο, 1,1,2,2-τετραχλωροαιθάνιο, πενταχλωροαιθάνιο και εξαχλωροαιθάνιο, μελετήθηκε από την ερευνητική ομάδα του Walbridge (Walbridge et.al, 1983) η οποία χρησιμοποίησε το είδος *Fathead Minnow (Pimephales Promelas)* για την διεξαγωγή των συμπερασμάτων. Παρατηρήθηκε άμεση συσχέτιση μεταξύ αύξησης του βαθμού χλωρίωσης στο μόριο του χλωροπαραγώγου με αντίστοιχη αύξηση της τοξικότητας για το είδος *Fathead Minnow* μέσω διεξαγωγής πειραμάτων διάρκειας 24, 48, 72 και 96 ωρών. Όμοια, οι Buccafusco (Buccafusco et.al, 1981) και Davidson (Davidson et.al, 1988) ανέφεραν ότι η τοξικότητα των χλωριωμένων αιθανίων στο είδος *Bluegill Sunfish* επίσης φαίνεται να συσχετίζεται αναλογικά με τον βαθμό αλογονοϋποκατάστασης.

Περιορισμένα είναι τα δεδομένα για τις επιδράσεις των αλογονοαιθανίων επί της αναπαραγωγής των ψαριών. Σε μια μελέτη εκτίμησης της ικανότητας εκκόλαψης (παρατήρηση της επιβίωσης σε διάστημα 10 ημερών) για το είδος *Flagfish (J. Floridae)* κατόπιν έκθεσης σε δύο χλωροαιθάνια, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές επιδράσεις για περιεκτικότητες έως και 4.9mg/L. Ωστόσο, η ικανότητα επιβίωσης των νέο-εκκολαπτόμενων μελών μειώθηκε σημαντικά κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες 10.6mg/L και άνω. (Smith et.al, 1991)

2.5.4 Χλωροαιθυλένια

Ασπόνδυλα

Περιορισμένη είναι η έκταση των μελετών όσον αφορά στην επίδραση του τριχλωροαιθυλενίου στα ασπόνδυλα είδη τα οποία απαντώνται στα γλυκά νερά. Το είδος *Grass Shrimp (Palaemonetes pugio)* παρουσίασε διαταραχές στην ικανότητα κολύμβησης και απώλεια της ισορροπίας κατόπιν έκθεσης σε περιβάλλον τριχλωροαιθυλενίου συγκέντρωσης 2.0 mg/L (Borthwick 1977). Για το αρθρόποδο *nauplii* κατά την έκθεση για 48 ώρες υπολογίστηκε τιμή LC-50 = 20mg/L (Pearson and Mc Connell, 1975).

Μελέτες για το είδος *Daphnia Magna* προτείνουν LC-50 τιμή για χρονικό διάστημα έκθεσης 48 ωρών ίση με 85.2mg/L υπό συνθήκες ρεόντων ρευμάτων (EPA 1978b). Σε δοκιμές εκτίμησης του κύκλου ζωής, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές επιδράσεις κατά την έκθεση σε επίπεδα συγκεντρώσεων κατώτερα των 10mg/L (Alexander et.al, 1978).

Τα ασπόνδυλα των γλυκών νερών επηρεάζονται επίσης από την παρουσία τετραχλωροαιθυλενίου. Δυστυχώς ελάχιστα είναι τα δεδομένα για την περιγραφή αυτών των επιδράσεων. Το είδος *Daphnia Magna* διαμορφώνει σύμφωνα με τα στοιχεία της EPA (EPA 1978a) τιμή LC-50 ίση με 17.7mg/L κατά την έκθεση σε τετραχλωροαιθυλένιο για 48 ώρες.

Ψάρια

Το τριχλωροαιθυλένιο σε σημαντικά υψηλές συγκεντρώσεις παρουσιάζει τοξικότητα για τους υδρόβιους οργανισμούς των γλυκών νερών (Alexander et.al, 1978, Pearson and McConnell, 1975, EPA 1978b). Η τιμή LC-50 κατά την έκθεση επί 96 ώρες για το είδος *Fathead Minnow (Pimephales promelas)* υπολογίστηκε ίση με 36.5mg/L υπό συνεχή έκθεση και 40.7mg/L κατά την έκθεση σε ρέοντα ρεύματα (Alexander et.al, 1978). Οι αντίστοιχες τιμές για το είδος *Bluegill* διαμορφώνονται στα 44.7mg/L (συνεχής έκθεση).

Το είδος θαλάσσιων ψαριών *Dab (Limanda limanda)* παρουσίασε κατά την έκθεσή του επί 96 ώρες τιμή LC-50 ίση με 16mg/L (Pearson and Mc Connell, 1975). Το είδος *Sheepshead Minnow (Cyprinodon variegatus)* κατά την έκθεσή του σε συγκέντρωση τριχλωροαιθυλενίου 2.0mg/L εμφάνισε διαταραχές στην ικανότητα κολύμβησης, ενώ έντονες ήταν οι ανεξέλεγκτες κινήσεις και η απώλεια ισορροπίας.

Λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητας δεδομένων, η ακριβής εκτίμηση της τοξικότητας του τριχλωροαιθυλενίου στα υδάτινα οικοσυστήματα παρουσιάζει δυσχέρειες. Ωστόσο, λόγω του γεγονότος ότι οι συγκεντρώσεις τριχλωροαιθυλενίου οι οποίες αναπτύσσονται στην πράξη στα επεξεργασμένα λύματα είναι χαμηλές, δεν αναμένεται η εκδήλωση αξιόλογης τοξικότητας στα ψάρια και στους λοιπούς θαλάσσιους οργανισμούς ακόμα και σε σημεία πλησίον του σημείου απόρριψης. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την διερεύνηση πιθανού κινδύνου τερατογένεσης,

καρκινογένεσης ή πρόκλησης μεταλλάξεων λόγω χρόνιας έκθεσης σε τριχλωροαιθυλένιο.

Το τετραχλωροαιθυλένιο παρουσιάζει μεν τοξικότητα για τα ψάρια του γλυκού νερού, όμως οι επιδράσεις του υπολειμματικού χλωρίου θεωρούνται αρκετά σημαντικότερες. Το είδος *Bluegill* κατά την έκθεση επί 96 ώρες σε τετραχλωροαιθυλένιο διαμόρφωσε τιμή LC-50 ίση με 12.9mg/L (EPA 1978a). Η αντίστοιχη τιμή για το είδος *Fathead Minnow* υπολογίστηκε μεταξύ 18.4 - 21.4 mg/L (Alexander et.al, 1978). Τα δύο αυτά είδη απαντώνται σε περιβάλλοντα θερμών γλυκών νερών. Το θαλάσσιο είδος *Sheephead Minnow* παρουσίασε υψηλότερη τιμή LC-50 για το ίδιο χρονικό διάστημα έκθεσης σε σχέση με τα ανωτέρω είδη γλυκού νερού (29.4 - 52.2 mg/L) (EPA 1978a). Λόγω έλλειψης αναλυτικών δεδομένων σχετικά με την τοξικότητα του τετραχλωροαιθυλενίου στα ψάρια, είναι δυσχερής η ακριβής περιγραφή της σχέσης δόσης - απόκρισης. Καθίσταται ωστόσο προφανές, τουλάχιστον για τα προαναφερθέντα είδη, ότι εφόσον η συγκέντρωση του τετραχλωροαιθυλενίου στα επεξεργασμένα λύματα είναι ιδιαίτερα χαμηλή, δεν αναμένεται αξιοσημείωτη επίδραση στα ψάρια.

2.5.5 Αλογονοξικά οξέα

Η ερευνητική ομάδα του Lewis (Lewis et.al, 2004) παρουσίασε μια σύνοψη σχετικά με τις άμεσες θανατηφόρες και μη επιδράσεις κατά την έκθεση υδρόβιων οργανισμών σε τριχλωροξικό οξύ. Στον **Πίνακα 2.5.3** παρουσιάζονται οι θανάσιμες περιεκτικότητες τριχλωροξικού οξέος οι οποίες οδηγούν στην θανάτωση του 50% του πληθυσμού (LC-50) κατά την έκθεση σε ολικό τριχλωροξικό οξύ (υπό τη μορφή οξέος και του αντίστοιχου άλατος νατρίου). Εκ των οστρακοειδών, οι γαρίδες εκδήλωσαν την μέγιστη ευαισθησία σε τριχλωροξικό οξύ ενώ όσον αφορά στα ψάρια, τα είδη *Bluegill Emerald Shiner* και *Largemouth Bass* υπέστησαν τις περισσότερες σφοδρές επιδράσεις.

Η συγκεκριμένη μελέτη καταλήγει στο ότι υπάρχει υψηλός βαθμός αβεβαιότητας όσον αφορά στον προσδιορισμό της ακριβούς περιεκτικότητας του τριχλωροξικού οξέος στο περιβάλλον λόγω ύπαρξης διαφόρων πηγών. Υπογραμμίζεται ωστόσο ότι εκ του συνόλου των πηγών, οι ανθρωπογενείς κατέχουν κύριο ρόλο και είναι εκείνες οι οποίες καθορίζουν τις περιεκτικότητες οι οποίες απαντώνται στην πράξη στο εκάστοτε υδατικό σύστημα. Τα δεδομένα σχετικά με την τοξικότητα του τριχλωροξικού οξέος δεν χαρακτηρίζονται από την απαραίτητη συνοχή ούτως ώστε να καθίσταται δυνατή η διαμόρφωση ενός ολοκληρωμένου μοντέλου εκτίμησης των επιδράσεων στους υδάτινους οργανισμούς. Γενικότερα, κατά τους μελετητές δεν αναμένονται σοβαρές επιδράσεις καθώς οι δείκτες επικινδυνότητας λαμβάνουν χαμηλότερες τιμές στην περίπτωση των υδατικών οικοσυστημάτων.

Πίνακας 2.5.3. Επίπεδα LC-50 λόγω έκθεσης σε ολικό τριχλωροξικό οξύ (υπό τη μορφή οξέος και του αντιστοιχου άλατος νατρίου) σε πληθυσμούς διαφόρων ειδών.

Κοινή ονομασία	Διάρκεια (ώρες)	LC-50 (mg/L)	Πηγή
Αμφίβια			
Αφρικανικός βάτραχος	96	4,430	Fort (1993)
Οστρακοειδή			
Κοπήποδα	96	4,800	Linden (1979)
Γαρίδες	24	1.2 - 1.5	Centeno (1993)
		16.9	Centeno (1995)
Θαλάσσια ψείρα	24	10,000	Bringmann (1980)
	96	3,100	Knapek (1974)
Ψάρια			
Bleak	96	9,300	Linden (1979)
Bluegill	96	1.5 - 4.8	Office of Pesticide Programs (2000)
Leuciscus Carp	48	10,000	Juhnke (1978)
Carassius Carp	96	3,420	Knapek (1974)
Cyprinus Carp	96	2,500	Knapek (1974)
Channel Catfish	1-96	2,000	Clemens (1959)
Emerald Shiner	96	4.0	Office of Pesticide Programs (2000)
Fathead Minnow	96	2,000	Dennis (1979)
Guppy	48	9,160	Jirasek (1980)
Largemouth Bass	96	2.7	Office of Pesticide Programs (2000)
Rainbow Trout	96	3.53	Office of Pesticide Programs (2000)
Redear Sunfish	96	5.4	Office of Pesticide Programs (2000)
Tench	96	3,420	Knapek (1974)

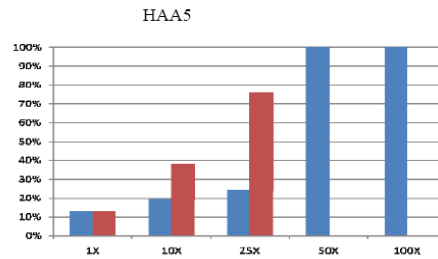
Η ερευνητική ομάδα του Arner και των συνεργατών του (Arner et.al, 2009) μελέτησε τις επιδράσεις λόγω έκθεσης σε τέσσερις βασικές κατηγορίες ενώσεων. Μεταξύ αυτών μελετήθηκαν και τα πέντε αλογονοξικά οξέα λόγω των γνωστών κινδύνων καρκινογένεσης στον άνθρωπο. Μελετήθηκαν οι επιδράσεις αφενός στο είδος σαλιγκαριών έλους *palustris limnaea* και αφετέρου στο είδος αφρικανικού βατράχου *xenopus laevis*.

Χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες 100 - 180 μελών σαλιγκαριών για την εκτίμηση του ποσοστού πρόωρης θανάτωσης και εκδήλωσης μελλοντικών ανωμαλιών (**Πίνακας 2.5.4**). Κατά την έκθεση σε επίπεδα 50X και 100X (X: συγκέντρωση αναφοράς με βάση τις πρακτικές περιεκτικότητες οι οποίες απαντώνται στη φύση) τα μέλη θανατώθηκαν σε ποσοστό 100% ενώ κατά την έκθεση σε περιεκτικότητα 25X κατέστη προφανής η εκδήλωση κυρίως μελλοντικών επιδράσεων. Ο υπολογισμός των ποσοστών πραγματοποιήθηκε με βάση τα δεδομένα πληθυσμών αναφοράς (**Εικόνα 2.5.1**). Οι επιδράσεις λόγω έκθεσης σε περιεκτικότητα 10X αλογονοξικών οξέων παρουσιάζεται στην **Εικόνα 2.5.2**. Είναι προφανής η παρατήρηση σχισίματος του εμβρυακού αναπτύγματος. Στην ίδια εικόνα φαίνεται μια προνύμφη μαλακίου η οποία φέρει κυστικές ανωμαλίες (**Εικόνα 2.5.2-b**). Στην **Εικόνα 2.5.2-c** παρουσιάζεται ένα σαλιγκαράκι κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης το οποίο χαρακτηρίζεται από μικρότερο του φυσιολογικά αναμενόμενου κέλυφος, επιμηκυμένο άκρο στην οριζόντια κατεύθυνση και ένα ασυνήθιστα εκτεθειμένο κέλυφος.

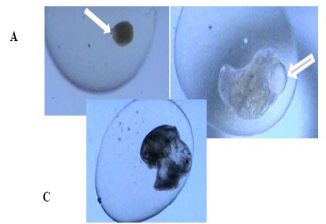
Η **Εικόνα 2.5.3** αντιστοιχεί σε έκθεση σε περιεκτικότητα 50X αλογονοξικών οξέων κατά το στάδιο των 4 κυττάρων κατά την οποία παρατηρείται τάση προς κρυστάλλωση του ρευστού της κάψουλας ανάπτυξης. Παρά το ότι τα περισσότερα έμβρυα εκτέθηκαν κατά το στάδιο της εκκόλαψης, η έκθεση σε υψηλή περιεκτικότητα αλογονοξικών οξέων (25X) προκάλεσε μελλοντικές ανωμαλίες όπως σχηματισμό μικρών άκρων σε συνδυασμό με μετατόπιση της θέσης του κελύφους και μεγάλη έκθεση του κεφαλιού.

Πίνακας 2.5.4. Επιδράσεις (άμεση θανάτωση και μελλοντικές ανωμαλίες) στο είδος *Limnaea*.

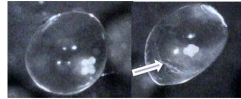
Περιεκτικότητα	Άμεση θανάτωση (%)	Μελλοντικές ανωμαλίες (%)	Συνολικές επιδράσεις (%)
1X	13	13	26
10X	19	38	57
25X	24	76	100
50X	100	-	100
100X	100	-	100



Εικόνα 2.5.1. Σύγκριση της άμεσης θανάτωσης και των μελλοντικών ανωμαλιών σε έμβρυα μέλη του είδους *Lymanaea*.



Εικόνα 2.5.2. Έκθεση σε αλογονοξικά οξέα περιεκτικότητας 10X.



Εικόνα 2.5.3. Έκθεση σε αλογονοξικά οξέα περιεκτικότητας 50X.

Όσον αφορά στην περίπτωση των βατράχων, σε κάθε σειρά πειραμάτων μελετήθηκαν 100-130 έμβρυα. Στον **Πίνακα 2.5.5** παρουσιάζονται τα ποσοστά άμεσης θανάτωσης καθώς και οι μελλοντικές ανωμαλίες για τέσσερα επίπεδα περιεκτικότητας (X, 5X, 10X, 100X). Γενικά, σε κάθε περίπτωση τα ποσοστά άμεσης θανάτωσης και εκδήλωσης μελλοντικών ανωμαλιών, στο σύνολό τους ξεπερνούν το 10%. Η έκθεση σε περιεκτικότητα 10X οδήγησε στον σχηματισμό εκκριτικών αδένων στη στοματική περιοχή σε συνδυασμό με διαμόρφωση λυγισμένης ουράς.

Πίνακας 2.5.5. Ποσοστά άμεσης θανάτωσης και μελλοντικές ανωμαλίες για τέσσερα επίπεδα περιεκτικότητας (X, 5X, 10X, 100X) στο είδος *Xenopus*.

Περιεκτικότητα	Άμεση θανάτωση (%)	Μελλοντικές ανωμαλίες (%)	Συνολικές επιδράσεις (%)
1X	5	35	40
5X	0	3	3
10X	0	35	35
100X	12	88	100

2.5.6. Χλωροφαινόλες

Ένας αξιόλογος όγκος δεδομένων απαντάται στην περίπτωση μελέτης της επίδρασης των χλωροφαινολών στους υδρόβιους οργανισμούς (Hubly et.al, 1985). Η τοξικότητα των φαινολών ποικίλει αναλόγως του βαθμού υποκατάστασης στον δακτύλιο και των θέσεων τις οποίες καταλαμβάνουν τα άτομα χλωρίου. Γενικά η τοξικότητα αυξάνει με αύξηση του βαθμού υποκατάστασης. Τα περισσότερο τοξικά, πολυχλωριωμένα παράγωγα, προέρχονται παρά ταύτα κυρίως από βιομηχανικές δραστηριότητες και σε ελάχιστο βαθμό από μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων (International Joint Commission 1980). Εκ των διαφόρων ειδών ψαριών τα οποία απαντώνται στα γλυκά νερά, το είδος *Bluegill* παρουσιάζει κατάτι υψηλότερη ευαισθησία σε σχέση με το είδος *Fathead Minnow*, το χρυσόψαρο (*Carassius auratus auratus*) και το είδος *guppies* (*Poecilia reticulata*). Κατά την έκθεσή του επί 96 ώρες υπολογίστηκε τιμή LC-50 ίση με 0.14 - 10mg/L (Hubly et.al, 1985).

Στην περίπτωση μελέτης του είδους *Fathead Minnow*, η τιμή LC-50 για έκθεση 96 ωρών εξαρτάται από τον βαθμό αλογονο-υποκατάστασης και κυμαίνεται μεταξύ 0.03 - 20.7mg/L. Οι αντίστοιχες τιμές για 48ωρη έκθεση του είδους *Rainbow trout*, κυμαίνονται από 0.023 έως 10mg/L. Η τοξικότητα των χλωροφαινολών όσον αφορά στους ασπόνδυλους οργανισμούς έχει μελετηθεί σε ικανοποιητικό επίπεδο (Jolley, 1975, Glaze and Henderson, 1975). Για το είδος *Daphnia Magna* το εύρος τοξικότητας κυμαίνεται μεταξύ 0.29 - 7.43 mg/L. Όμοια με την περίπτωση των ειδών γλυκού νερού, η διακύμανση της τοξικότητας - εκτιμώμενη με βάση τις τιμές LC-50 και χρόνο έκθεσης 96 ώρες - συναρτάται του βαθμού υποκατάστασης.

Οι Buikema και Thatcher (Buikema and Thatcher, 1979) παρουσίασαν μια σύνοψη προηγούμενων εργασιών σχετικά με την οξεία τοξικότητα των χλωριωμένων φαινολών στο υδάτινο περιβάλλον.

Επιπλέον, οι Bringmann (Bringmann and Kuhn, 1959) και Pravda (Pravda 1973) μελέτησαν εκτενώς τις επιδράσεις φαινολικών και άλλων χλωροπαραγώγων στους υδάτινους οργανισμούς. Τα αποτελέσματά τους καταδεικνύουν την ύπαρξη τάσεων οι οποίες διαμορφώνονται ανάλογα με τη χημική δομή, ενώ ιδιαίτερη σημασία κατέχουν και οι συνθήκες υπό τις οποίες διεξήχθησαν οι μετρήσεις. Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών αναφέρεται στις επιδράσεις των φαινολικών αλογονοπαραγώγων στα ασπόνδυλα είδη με επίπεδα οξείας τοξικότητας μεταξύ 1.5 - 1,840mg/L (Patrick 1968, Alekseen 1976, Luferova and Flevor, 1971a,b, Grushko 1975). Όσον αφορά στα αμφίβια είδη, τα νέα μέλη βατράχων παρουσίασαν μεγαλύτερη ευαισθησία σε σύγκριση με τα ασπόνδυλα και τα ψάρια. Οι γυρίνοι του είδους *Rana Temporaria* παρουσίασαν χαμηλότερη ευαισθησία στα φαινολικά παράγωγα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα έμβρυα (Kaufman 1977).

Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη, η ερευνητική ομάδα του Kukkonen (Kukkonen 2002) παρουσίασε τις επιδράσεις στους υδρόβιους οργανισμούς λόγω έκθεσης σε χλωροφαινόλες και μείγματα αυτών. Στα πλαίσια της εργασίας μελετήθηκαν τα είδη *C. Riparius* και *L. Variegatus* και οι μελετητές επιχείρησαν να προσδιορίσουν την ενδεχόμενη ύπαρξη σχέσης μεταξύ των επιπέδων LC-50 και βιοσυσσώρευσης. Εκ των αποτελεσμάτων κατέστη προφανές ότι παρατηρούνται ενδιαφέρουσες διαφοροποιήσεις μεταξύ των αποκρίσεων των δύο αυτών ειδών κατά την έκθεσή τους στο παράγωγο πενταχλωροφαινόλη. Κατά την παρατήρηση των υπολογισμένων επιπέδων LC-50 (**Πίνακας 2.5.6**) τα νεαρά μέλη του είδους *C. Riparius* απεδείχθησαν περισσότερο ανθεκτικά κατά την έκθεση σε πενταχλωροφαινόλη σε σύγκριση με το είδος *L. Variegates*. Αυτή η διαμόρφωση αποδίδεται κατά την κρίση των μελετητών σε διαφοροποίηση του ρυθμού μεταβολισμού της πενταχλωροφαινόλης. Το είδος *C. Riparis* φέρει την ικανότητα μεταβολισμού της χλωροφαινόλης αποβάλλοντας τα μεταβολικά παραπροϊόντα στο υδάτινο περιβάλλον (Verrengia Guerrero et.al, 2002). Αντιθέτως, ο μεταβολισμός της πενταχλωροφαινόλης από το είδος *L. Variegatus* λαμβάνει χώρα σε περιορισμένο βαθμό. Στον **Πίνακα 2.5.6** παρουσιάζονται οι τιμές οξείας τοξικότητας των χλωροφαινολών (LC-50).

2.5.7 Διχλωροβενζόλια

Ο Dawson (Dawson et.al, 1977) προσδιόρισε την τιμή LC-50 (96 ώρες) κατά την έκθεση του είδους *Bluegill* σε 1,2-διχλωροβενζόλιο (27.0mg/L). Ωστόσο, η EPA πρότεινε αντίστοιχες τιμές για το ίδιο είδος μεταξύ 4.28 - 5.59 mg/L. Η σημαντική απόκλιση των εκτιμήσεων ενδεχομένως οφείλεται στο γεγονός ότι οι δύο ερευνητικές ομάδες χρησιμοποίησαν διαφορετικές μεθόδους εκτίμησης. Όσον αφορά στο είδος *Fathead Minnow*, η EPA πρότεινε τιμή LC-50 (96 ώρες) ίση με 4.0mg/L για την έκθεση σε 1,4-διχλωροβενζόλιο. Το είδος *Rainbow Trout* απεδείχθη περισσότερο ευαίσθητο σε σχέση

με τα είδη *Bluegill* και *Fathead Minnow* κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης. Τα αποτελέσματα των ερευνών προτείνουν επίσης ότι αυτό το στάδιο ανάπτυξης παρουσιάζει την μεγαλύτερη ευαισθησία. Κατά την μελέτη των επιδράσεων λόγω έκθεσης ασπονδύλων ειδών του γλυκού νερού σε διχλωροβενζόλια, προέκυψαν τιμές LC-50 για την 48ωρη έκθεση του είδους *Daphnia Magna* σε 1,2-διχλωροβενζόλιο και 1,4-διχλωροβενζόλιο ίσες με 2.44mg/L και 11.0mg/L αντίστοιχα (EPA 1978).

Πίνακας 2.5.6. Τιμές οξείας τοξικότητας λόγω έκθεσης σε χλωροφαινόλες (επίπεδα LC-50).

Παράγωγο	Χρόνος (ώρες)	LC-50 (μg/L)
2,6-διχλωροφαινόλη	24	16,127
	48	12,171
2,4,5-τριχλωροφαινόλη	24	1,160
	48	865
2,4,6-τριχλωροφαινόλη	24	2,614
	48	1,356
2,3,4,6-τετρα- χλωροφαινόλη	24	822
	48	690
πενταχλωροφαινόλη	24	328
	48	143
πενταχλωροφαινόλη [‡]	24	1,193
	48	898

[‡] για το είδος *C. Riparis*

Όσον αφορά στους θαλάσσιους οργανισμούς, οι γαρίδες φαίνεται να παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία στην παρουσία οργανικών χλωροπαραπροϊόντων σε σύγκριση με τα διάφορα είδη ψαριών και άλγεων. Μελέτες σχετικές με τις επιδράσεις επί των ψαριών απαντώνται στις περιπτώσεις των ειδών *Tidewater silverside (Menidia peninsulae)* και *Sheephead Minnow*. Η τιμή LC-50 κατά την 96ωρη έκθεση του είδους *Tidewater silverside* σε 1,2-διχλωροβενζόλιο υπολογίστηκε ίση με 7.3 mg/L, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για το είδος *Sheephead Minnow* βρέθηκαν ίσες με 7.6mg/L (έκθεση σε 1,2-διχλωροβενζόλιο) και 7.4 (έκθεση σε 1,4-διχλωροβενζόλιο). Συγκριτικά, καθίσταται προφανές ότι τα θαλάσσια είδη ψαριών χαρακτηρίζονται από ασθενέστερη ευαισθησία κατά την έκθεσή τους σε

παραπροϊόντα, σε σχέση με τα είδη του γλυκού νερού. Το είδος *Mysid Shrimp* παρουσιάζει επίπεδα LC-50 1.97mg/L και 1.94mg/L για τα παράγωγα 1,2-διχλωροβενζόλιο και 1,4-διχλωροβενζόλιο.

Η βιοσυσσώρευση των χλωροπαραπροϊόντων ενδέχεται ωστόσο να προκαλεί σημαντικότερες τοξικές επιδράσεις σε μακροχρόνια κλίμακα. Στην περίπτωση του είδους *Bluegill* οι συντελεστές βιοσυσσώρευσης για τα τρία κύρια χλωροπαράγωγα διαμορφώνονται όπως φαίνεται στον **Πίνακα 2.5.7** (EPA 1978b).

Πίνακας 2.5.7. Συντελεστές βιοσυσσώρευσης για τα τρία κύρια χλωροπαράγωγα για το είδος *Bluegill*.

Χλωροπαράγωγο	Συντελεστής βιοσυσσώρευσης
1,2-διχλωροβενζόλιο	89
1,3-διχλωροβενζόλιο	66
1,4-διχλωροβενζόλιο	60

Η ερευνητική ομάδα του Neely (Neely 1974) υπολόγισε τον συντελεστή βιοσυσσώρευσης του είδους *Rainbow Trout* ίσο με 210. Συμπερασματικά, λόγω του γεγονότος ότι οι συγκεντρώσεις των διχλωροβενζολίων οι οποίες πρακτικά απαντώνται στα ρεύματα των επεξεργασμένων λυμάτων είναι αρκετά μικρότερες των ορίων τοξικότητας, δεν αναμένεται η πρόκληση άμεσων διαταραχών του οικοσυστήματος.

2.5.8 Χλωραμίνες

Η έκθεση σε περιεκτικότητες χλωραμινών ακόμα και κατώτερων του 0.1mg/L προκάλεσε τον θάνατο διαφόρων ειδών ψαριών στα πλαίσια εργαστηριακών μελετών (Zillich 1972, Mills et.al, 1998) αλλά και σε παρατηρήσεις πεδίου (εγκλεισμός μελών σε σημεία παρατήρησης) (Zillich 1972). Σε άλλες μελέτες εγκλωβισμένων μελών καταγράφηκαν θάνατοι ψαριών σε αποστάσεις 0.8 μιλίου κατάντι του σημείου απόρριψης των χλωριωμένων ρευμάτων. Στην περίπτωση επίτευξης έντονης ανάμειξης του χλωριωμένου ρεύματος και του αποδέκτη, η τοξικότητα παρατηρείται σε αποστάσεις έως και 0.7 μιλίου κατάντι. Οι αποκρίσεις αποφυγής και η ανικανότητα ομαλής αναπαραγωγής των σπονδυλωτών ειδών του γλυκού νερού και των ψαριών έχει παρατηρηθεί για επίπεδα χλωρίου 3 - 5mg/L (Brooks and Seegert 1978b). Οι επιδράσεις λόγω έκθεσης σε περιβάλλον χλωραμινών στους αστακούς και σε διάφορα είδη ψαριών αλμυρού και γλυκού νερού σε διάφορα επίπεδα περιεκτικότητας έχουν παρουσιαστεί σε διάφορες μελέτες (Caruzzo et.al, 1976, 1977a-b). Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών προτείνουν αύξηση του βάρους, των ρυθμών αναπνοής, των αποκρίσεων αντίδρασης και εμφάνιση μεθαιμογλοβιναιμίας. Οι χλωραμίνες διαμορφώνουν επίπεδα LC-50 της τάξης των 82mg/L

(για τις μονοχλωραμίνες). Έχουν χαρακτηριστεί ως ιδιαίτερα τοξικές ενώσεις για το είδος *Brook Trout* (*Salvelinus Fontinalis*) ιδίως για τα μέλη που βρίσκονται κατά το πρώτο στάδιο ενηλικίωσης. Αντίστοιχα είναι τα αποτελέσματα μελέτης του είδους *Coho Salmon* (*Oncorhynchus Kieutch*) (Larson et.al, 1977). Όσον αφορά στο είδος *Blacknosed Dace*, 50% του υπό μελέτη πληθυσμού θανατώθηκε κατόπιν τριώρης έκθεσης σε υδατικό περιβάλλον το οποίο περιείχε μονοχλωραμίνη σε περιεκτικότητα 0.5mg/L. Οι Arthur και Eaton πρότειναν ότι η μονοχλωραμίνη εκδηλώνει τοξικές επιδράσεις εντός τριών ημερών κατόπιν έκθεσης του είδους *Gummarus Pseudolimnaeus* (αμφίποδο) σε περιεκτικότητα 200μg/L και του είδους *Fathead Minnow* (*Pimephales Promelas*) σε 154mg/L.

Η ερευνητική ομάδα του Carruzzo (Carruzzo et.al, 1976) εφήρμοσε βιοχημικές μεθόδους προσδιορισμού για την παρατήρηση των διαφόρων επιδράσεων του ελεύθερου χλωρίου και των χλωραμινών κατά το πρώτο στάδιο της ανάπτυξης του αστακού του είδους *Hormarus Americanus*. Η ερευνητική αυτή ομάδα ανέφερε ότι κατόπιν 48 ωρών οι χλωραμίνες εκδήλωσαν υψηλότερη τοξικότητα κατά την έκθεση νεαρών μελών αστακών σε σύγκριση με αντίστοιχες περιεκτικότητες ελεύθερου χλωρίου. Συμπεράσματα άλλων μελετών σχετικά με τις επιδράσεις των χλωραμινών στους θαλάσσιους οργανισμούς (Johnson et.al, 1977, Ginn and O'Connor, 1978) καταλήγουν στη γενική άποψη ότι οι μονοχλωραμίνες αλληλεπιδρούν με το μεταβολικό σύστημα παραγωγής ενέργειας προκαλώντας μεθαιμογλοβιναιμία.

Οι βιοχημικοί και φυσιολογικοί μηχανισμοί που έχουν υποθεθεί από τους μελετητές χαρακτηρίζονται από διαφοροποιήσεις όσον αφορά στην ανθεκτικότητα του εκάστοτε είδους κατά την έκθεση σε υπολειμματικό χλώριο λόγω διαφοροποιήσεων ως προς την διαπερατότητα των μεμβρανών. Για τα ψάρια του γλυκού νερού, βασικού ενδιαφέροντος όργανο αποτελούν τα βράγχια (μέσω της επιφάνειας των οποίων εισέρχεται νερό και εκκρίνονται άχρηστες για τον οργανισμό ουσίες). Παρεμβολές στην ομαλή λειτουργία αυτού του οργάνου αποτελούν συχνά το πρώτο βήμα για μια αλυσίδα επακόλουθων κυτταρικών διαδικασιών που οδηγούν σε ασθένεια ή ακόμη και σε θάνατο. Ο Kalmatz επισημαίνει ότι η ένωση η οποία ευθύνεται για την εκδήλωση αυτών των παρεμβολών ενδεχομένως να μην είναι το ίδιο το χλώριο αλλά κάποιο παραπροϊόν αυτού όπως η χλωραμίνη η οποία παράγεται κατά την αντίδραση του χλωρίου με τα εκκρινόμενα μεταβολικά απόβλητα. Για παράδειγμα, κατά την αντίδραση του χλωρίου με την αμμωνία, η παραγόμενη χλωραμίνη ενδέχεται να επανεισέρχεται άμεσα στον οργανισμό μέσω των μεμβρανών των βραγχίων μεταβάλλοντας την διαπερατότητά της και παρεμβαίνοντας στη δομική της συνοχή. Αυτή η μεταβολή στην διαπερατότητα της μεμβράνης προκαλεί την απόρριψη του νατρίου από τον οργανισμό με ακόλουθη παθητική εισαγωγή του νερού. Δηλαδή, ενώσεις της αμμωνίας (όπως για παράδειγμα οι χλωραμίνες) προκαλούν μεταβολές στην

διαπερατότητα της μεμβράνης, γεγονός το οποίο οδηγεί στην δημιουργία μιας εκροής νατρίου παράλληλα με την εισαγωγή νερού. Αυτές οι ωσμωτικές μεταβολές προκαλούν καταστροφή των βραγχίων και κατ'επέκταση την εμφάνιση ασθένειας ή ακόμη και τον θάνατο των εκτεθειμένων ψαριών.

Στα πλαίσια της εργασίας της ερευνητικής ομάδας του Powell (Powell and Perry, 1996), μέλη του είδους *Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss)* εκτέθηκαν σε χλωραμίνη - T σε περιεκτικότητα 9mg/L υπό μετρίως υπο-οξικές (PO_2 :100mmHg) και υπεροξικές (PO_2 :430mmHg) συνθήκες. Το υποχλωριώδες οξύ και τα περισσότερο σταθερά παράγωγα των μονο- και δι-χλωραμινών παρουσιάζουν σημαντική τοξικότητα στα ψάρια και ιδίως στους σολομούς (Seegert et.al, 1979, Stober et.al, 1980, Brooks and Bartos, 1984). Ο Bass και οι συνεργάτες του (Bass et.al, 1977a-b) ανέφεραν ότι έκθεση του είδους *Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss)* σε υπο-θανατηφόρες περιεκτικότητες χλωρίου επέφερε σημαντική αύξηση της έκκρισης βλέννας και υπερτροφισμό του επιθυλιακού πλέγματος. Το ίδιο είδος ψαριού εκδήλωσε υποξαιμία και υπο-αερισμό κατόπιν έκθεσης σε χλώριο. Προσφάτως, το είδος *Rainbow Trout* κατά την επαναλαμβανόμενη έκθεσή του σε χλωραμίνη - T εκδήλωσε συμπτώματα αναπνευστικής επιβάρυνσης τα οποία επέφεραν σημαντική αύξηση της συχνότητας αερισμού (Powell et.al, 1994). Η ερευνητική αυτή ομάδα επισημαίνει ότι μια απλή έκθεση σε σχετικά χαμηλές περιεκτικότητες χλωραμίνης - T (9mg/L) ή χαμηλότερες (2mg/L) υπό κανονικές συνθήκες οξυγόνου, προκαλεί προβλήματα στην απελευθέρωση του διοξειδίου του άνθρακα χωρίς να επηρεάζεται η πρόσληψη οξυγόνου παρά το γεγονός ότι το ψάρι είναι προφανές ότι υπερ-αερίζεται. Αυτή η αντίδραση αποδίδεται σε μείωση της διαπερατότητας των βράγχιων η οποία οφείλεται στις βλεννώδεις εκκρίσεις που με τη σειρά τους προκαλούνται λόγω βρογχιακού ερεθισμού κατά την έκθεση σε χλώριο.

Η υποξία προκαλεί σημαντική αύξηση του κινδύνου εμφάνισης εμφράγματος λόγω διαταραγμένης οξυγόνωσης (Smith and Jones, 1982, Randall, 1982). Προσθετικά σε αυτές τις τάσεις, παρατηρείται αύξηση της διαπερατότητας των βραγχικών μεμβρανών λόγω αύξησης της ενεργού επιφάνειας μέσω της οποίας λαμβάνει χώρα η ανταλλαγή αερίων (Randall, 1982). Συνεπώς κατά την έκθεση σε συνθήκες υπο-οξυγόνωσης, τα μέλη του είδους *Rainbow Trout* στις πλείστες των περιπτώσεων εκδήλωσαν αναπτυξιακή αλκαλίωση οφειλόμενη στην επιταχυμένη απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα (Iwama et.all, 1987). Η έκθεση υπεροξυγονωμένων μελών σε χλωραμίνη - T δεν επέφερε οιαδήποτε μεταβολή στις μεταβλητές της αναπνευστικής λειτουργίας που μελετήθηκαν. Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με συμπεράσματα προηγούμενων μελετών (Powell and Perry, 1996). Οι διαφορές αυτές δύναται να αποδοθούν στην μείωση των λειτουργικών ιδιοτήτων της

συνεκτικής επιφάνειας των βραγχίων (Randall, 1982). Ακόμα και κατά την έκθεση σε χλωραμίνη - T (η οποία ενδεχομένως να επέφερε την αυξημένη έκκριση βλέννας) παρατηρήθηκε μείωση της διαπερατότητας των βραγχίων υπό συνθήκες επάρκειας οξυγόνου (Powell and Perry, 1996). Παρά ταύτα, η βαθμίδα της μερικής πίεσης διατηρήθηκε σε ικανοποιητικό βαθμό ούτως ώστε να ξεπεραστούν οι επιδράσεις λόγω έκκρισης βλέννας και κατ' επέκταση να διατηρηθεί η απόρριψη του διοξειδίου του άνθρακα. Εναλλακτικά, αυξημένη κυκλοφορία νερού διαμέσου των βραγχίων ενδεχομένως προκαλεί τάσεις παράσυρσης, ικανές να οδηγήσουν σε αυξημένη έκκριση βλέννας. Η πρόσληψη οξυγόνου δεν επηρεάστηκε σε σημαντικό βαθμό υπό υπο-οξικές συνθήκες γεγονός το οποίο υπονοεί ότι η αυξημένη κυκλοφορία ήταν αρκετή ώστε να διατηρηθεί η πρόσληψη οξυγόνου και η απόρριψη διοξειδίου του άνθρακα σε αποδεκτά επίπεδα. Η παραγωγή περίσσειας βλέννας σε *in vitro* πειράματα έχει αποδειχθεί ότι παρεμποδίζει την διάχυση του οξυγόνου (Ultsch and Gross, 1979). Η υπεροξεία από την άλλη πλευρά επιφέρει μείωση της κυκλοφορίας και συνεπώς αύξηση της μερικής πίεσης του διοξειδίου του άνθρακα.

Από πρακτικής σκοπιάς, η έκθεση επί 60 λεπτά σε χλωραμίνη - T φαίνεται να επιφέρει περιορισμένες παθολογικές επιδράσεις στα ενήλικα μέλη του είδους *Rainbow Trout* υπό μετρίως υπο-οξικές ή υπερ-οξικές συνθήκες. Προφανές συμπέρασμα με βάση τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης αποτελεί επίσης το γεγονός ότι η έκθεση σε χλωραμίνη - T υπό μετρίως υπο-οξικές συνθήκες όπως αυτές που αναμένεται να απαντηθούν πρακτικά στο περιβάλλον, οδηγεί σε μικρότερης έντασης επιδράσεις της αναπνευστικής λειτουργίας.

2.5.9 Χλωριούχο κυάνιο

Η ερευνητική ομάδα του Kononen (Kononen 1988) μελέτησε τις τοξικές επιδράσεις του χλωριούχου κυανίου (προϊόν αντίδρασης του περιεχόμενου στα λύματα κυανίου και του χλωρίου κατά την απολύμανση). Τα πειράματα αυτής της εργασίας περιλαμβάνουν την χρήση νεαρών μελών του είδους *Daphnia Magna* για την παρατήρηση των επιδράσεων κατά την έκθεση υπό στατικές συνθήκες. Στον ακόλουθο πίνακα (**Πίνακας 2.5.8**) συγκεντρώνονται τα δεδομένα θνησιμότητας για τον υπολογισμό των επιπέδων LC-50 για μέλη ηλικίας έως 5 ημερών. Οι υπολογισμοί προτείνουν τιμές LC-50 ίσες με 86 και 65μg/L για 24 και 48 ώρες έκθεσης αντίστοιχα. Τα υπό μελέτη μέλη προσμετρήθηκαν ως νεκρά όταν δεν ανταποκρίνονταν μέσω κίνησης κατόπιν ελαφρού ώθησής τους με γυάλινη ράβδο. Κατόπιν μόλις λίγων λεπτών μετά την εισαγωγή τους στα δοχεία παρατήρησης, τα νεαρά μέλη του είδους *Daphnia Magna* κατά την έκθεσή τους στα υψηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας (154 και 262μg/L) κολύπησαν βιαίως προς την επιφάνεια ενώ ακολούθησε κίνηση σπασμωδικών σπειροειδών

συστροφών. Η διαταραχή αυτή δεν παρατηρήθηκε στην περίπτωση μελέτης των πληθυσμών αναφοράς ή των πληθυσμών που εκτέθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας. Οι ερευνητές επισημαίνουν πως τα εκτιμώμενα επίπεδα LC-50 (48 ωρών) αποτελούν υπερεκτίμηση των πραγματικών τιμών εφόσον βασίζονται σε περιεκτικότητες οι οποίες καταγράφονται κατά την έναρξη των πειραμάτων, χωρίς την πραγματοποίηση μετρήσεων ελέγχου της διακύμανσης αυτών. Διαφορετικά επίπεδα LC-50 αναμένεται να προκύψουν κατά την καταγραφή αποκρίσεων σε συστήματα συνεχούς ροής ή ειδικών συστημάτων εξασφάλισης σταθερής περιεκτικότητας των υπό εξέταση παραγώγων.

Πίνακας 2.5.8. Δεδομένα θνησιμότητας για τον υπολογισμό των επιπέδων LC-50 (μέλη ηλικίας έως 5 ημερών).

Περιεκτικότητα CNCl (μg/L)	Επιβίωση (επιζώντα μέλη/συνολικά μέλη)	
	24 ώρες	48 ώρες
Αναφορά	10/10	10/10
18	10/10	10/10
31	10/10	10/10
53	9/10	7/10
88	3/10	2/10
154	2/10	0/10
262	0/10	0/10

Οι τιμές LC-50 (48 ώρες) κατά την έκθεση νεαρών μελών ηλικίας έως 24 ώρες είναι περίπου μειωμένες κατά 50% σε σύγκριση με τις αντίστοιχες κατά την μελέτη μελών επόμενων σταδίων ανάπτυξης. Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα, περιεκτικότητες της τάξης των 29μg/L χλωριούχου κυανίου (υπό τη μορφή CN⁻) είναι αρκετή για την θανάτωση του 50% των νεαρών μελών του είδους *Daphnia Magna* κατά την έκθεσή τους υπό όμοιες συνθήκες. Αυτό το επίπεδο είναι σημαντικά χαμηλότερο των 3.4mg/L ελεύθερου κυανίου, τιμή η οποία προτάθηκε ως LC-50 (48 ώρες) σύμφωνα με τις εκτιμήσεις της Meinck (Meinck et.al, 1956) για το ίδιο είδος. Ο Broderius (Broderius et.al, 1977) ανέφερε επίπεδα LC-50 (96 ώρες) για το ελεύθερο κυάνιο ίσα με 0.12 και 0.11 στο είδος *Fathead Minnow (Climephales Promelas)* σε pH 8.29 και 8.76 αντίστοιχα.

Πρακτικά, οι τιμές LC-50 δεν αντιστοιχούν σε ακριβείς τιμές χλωριούχου κυανίου καθώς αυτό το παράγωγο υφίσταται σε σημαντικό βαθμό υδρόλυση σε αλκαλικό περιβάλλον. Η παρατηρούμενη θνησιμότητα μπορεί να αποδοθεί σε έναν συνδυασμό επιδράσεων λόγω ύπαρξης χλωριούχου κυανίου αλλά και των παραπροϊόντων διάσπασης αυτού (Cl⁻, NH₃, CO₂). Η σημαντικότητα του κυανιούχου χλωρίου ως περιβαλλοντικός ρυπαντής εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την παραμονή του. Οι

Bailey και Bishop (Bailey and Bishop, 1970) ανέφεραν χρόνους ημιζωής για το χλωριούχο κυάνιο μεταξύ 1 λεπτού (στους 45°C) και 10 ωρών (στους 5°C). Τοξικές επιδράσεις αυτού του παραγώγου ενδέχεται ωστόσο να εκδηλωθούν σε έναν δεδομένο αποδέκτη για μια χρονική περίοδο η οποία είναι αρκετή για την πρόκληση επιδράσεων οξείας τοξικότητας στους υδάτινους οργανισμούς λόγω της διάθεσης των χλωριωμένων λυμάτων.

2.5.10 Τριχλωροαιθυλένιο

Ο Fort και οι συνεργάτες του (Fort et.al, 1993) διερεύνησαν διάφορους πιθανούς μηχανισμούς όσον αφορά στην τοξικότητα στην ανάπτυξη λόγω έκθεσης σε τριχλωροαιθυλένιο χρησιμοποιώντας δείκτες FETAX. Στα πλαίσια της εργασίας αυτής, έμβρυα του είδους *Xenopus Laevis* - αρχικού σταδίου ανάπτυξης - εκτέθηκαν σε τριχλωροαιθάνιο (διάρκεια έκθεσης 96 ώρες) για δύο διακριτές αναλύσεις προσδιορισμού της σχέσης περιεκτικότητας - αποκρίσεων παρουσία και απουσία εξωτερικής μεταβολικής ενεργοποίησης (οξείδιο του κυκλοεξενίου). Τα αποτελέσματα συγκεντρώνονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 2.5.9, Πίνακας 2.5.10).

Πίνακας 2.5.9. Επιδράσεις σε έμβρυα του είδους *Xenopus Laevis* λόγω έκθεσης σε τριχλωροαιθάνιο άνευ μεταβολικής ενεργοποίησης.

Περιβάλλον έκθεσης	Άνευ μεταβολικής ενεργοποίησης			
	LC-50 (mg/L)	EC-50 (mg/L)	TI	MCIG
Τριχλωροαιθυλένιο	434.0	36.0	12.1	29.0
Διχλωροξικό οξύ	4,060.0	3,560.0	1.1	4,680.0
Τριχλωροξικό οξύ	4,430.0	1,740.0	2.5	5,000.0
Τριχλωροαιθανόλη	780.0	190.0	4.1	465.0

TI: Δείκτης τερατογένεσης (βάσει των επιπέδων LC-50 και EC-50 (96 ώρες) ανάπτυξης δυσπλασιών)

MCIG: Ελάχιστες συγκεντρώσεις παρεμποδισμού της ανάπτυξης (minimum concentrations to inhibit growth).

Πίνακας 2.5.10. Επιδράσεις σε έμβρυα του είδους *Xenopus Laevis* λόγω έκθεσης σε τριχλωροαιθάνιο με μεταβολική ενεργοποίηση.

Περιβάλλον έκθεσης	Μεταβολική ενεργοποίηση			
	LC-50 (mg/L)	EC-50 (mg/L)	TI	MCIG
Τριχλωροαιθυλένιο	241.0	9.5	25.4	9.0
Οξείδιο κυκλοεξενίου + τριχλωροαιθυλένιο	39.0	0.07	551.1	0.05

Η προσθήκη συστήματος μεταβολικής ενεργοποίησης μείωσε τα επίπεδα LC-50_{mal} και EC-50_{mal} (διάρκεια 96 ώρες) και MCIG κατά 1.8, 3.8 και 3.2 τάξεις αντίστοιχα. Τα εύρη διακύμανσης των περιεκτικοτήτων και οι τερατογενείς επιδράσεις παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (**Πίνακας 2.5.11**). Δυσπλασίες, όπως σύμπλεξη των εντέρων, μικρο-οφθαλμίαση, μυϊκή συστροφή, ανώμαλη ανάπτυξη της στοματικής κοιλότητας και υπογναθισμός, παρατηρήθηκαν στα έμβρυα τα οποία εκτέθηκαν σε μη ενεργοποιημένο τριχλωροαιθυλένιο. Το μεταβολικά ενεργοποιημένο τριχλωροαιθάνιο προκάλεσε σύμπλεξη των εντέρων, ανωμαλίες κρανίου - προσώπου, σκελετική συστροφή, υδροκεφαλισμό, ανώμαλη ανάπτυξη της καρδιάς και ανάπτυξη φλυκταινών στην περιοχή των πτερυγίων.

Πίνακας 2.5.11. Εύρη διακύμανσης των περιεκτικοτήτων και τερατογενείς επιδράσεις.

Περιβάλλον έκθεσης	Περιεκτικότητα (mg/L)	Δυσπλασία	Απόκριση (%)
Αναφορά	-	Σύμπλεξη εντέρων	2.0
		Σπλαγγνικό οίδημα	0.8
		Μυϊκή συστροφή	1.3
		Οφθαλμικό οίδημα	0.5
		Σκελετική συστροφή	0.1
Τριχλωροαιθυλένιο	>15	Σύμπλεξη εντέρων	25
		Μικροφθαλμία	20
	>40	Ανώμαλη ανάπτυξη στοματικής κοιλότητας	70
		Μυϊκή συστροφή	65
	>300	Υπογναθισμός	100
Οξείδιο κυκλοξενίου + τριχλωροαιθυλένιο	>0.05	Σύμπλεξη εντέρων	20
		Δυσπλασίες κρανίου- προσώπου	25
	>0.08	Μικροεγκεφαλισμός	60
		Ανώμαλη ανάπτυξη στοματικής κοιλότητας	70
	>0.01	Σκελετική συστροφή	100
		Μικροφθαλμία	100

2.5.11 Χλωροακετονιτρίλια

Η ερευνητική ομάδα του Curiex (Le Curiex et.al, 1995) διεξήγαγε πειραματικές μετρήσεις, εφαρμόζοντας διάφορες τεχνικές (sos chromotest, Ames fluctuation test, newt micronucleus test) για

την εκτίμηση της γενετικής τοξικής δράσης έξι αλογονωμένων ακετονιτριλίων (μονοχλωρο-, διχλωρο-, τριχλωρο-, μονοβρωμο-, διβρωμο- και βρωμοχλωροακετονιτρίλιο). Το μονοχλωροακετονιτρίλιο, όπως αναφέρει και ο Bull (Bull et.al, 1985) δεν παρουσιάζει μεταλλαξογόνες επιδράσεις. Γενικά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την ύπαρξη σημαντικής τάσης μεταξύ επιδράσεων και μοριακής δομής. Το διβρωμοακετονιτρίλιο φαίνεται να είναι ελαφρώς πιο τοξικό από το διχλωροακετονιτρίλιο ενώ η μεταλλαξογόνος δράση του μονοβρωμο-ακετονιτριλίου είναι επίσης μεγαλύτερη του μονοχλωροακετονιτριλίου. Όσον αφορά στον βαθμό υποκατάστασης, το τριχλωροακετονιτρίλιο είναι περισσότερο τοξικό από τα παράγωγα μονο- και δι-χλωροακετονιτρίλιο. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως συνεπάγεται ότι η γενετική τοξικότητα των χλωροακετονιτριλίων αυξάνει κατά την αύξηση του βαθμού χλωρίωσης. Αντίθετα με αυτή τη λογική, είναι τα αποτελέσματα της ερευνητικής ομάδας του Curie (Le Curieux et.al, 1994) τα οποία προτείνουν ότι η γενετική τοξικότητα των χλωριωμένων προπανονών αυξάνει κατά τη μείωση του βαθμού τοξικότητας. Η μελέτη επίσης καταλήγει στο συμπέρασμα ότι αύξηση του αριθμού των διαφορετικών ατόμων αλογόνου (χλώριο, βρώμιο) αυξάνει την τοξικότητα ενώ υπογραμμίζεται ότι σημαντική παράμετρο αποτελεί και ο τύπος της γενετικής αλλαγής η οποία μελετάται. Οι περιεκτικότητες οι οποίες απαντώνται στο περιβάλλον στην πράξη λόγω χλωρίωσης είναι αρκετά χαμηλότερες των κρίσιμων επιπέδων πρόκλησης αξιοσημείωτων επιδράσεων. Ωστόσο, ο Curier επισημαίνει ότι δεν θα πρέπει να αποκλειστεί η ενδεχόμενη εκδήλωση μεταλλαξογόνων τάσεων και γενετικών ανωμαλιών λόγω βιοσυσσώρευσης στην περίπτωση μακροχρόνιων εκθέσεων.

2.5.12 MX

Κατά τους υπολογισμούς των Kronberg και Vartiainen (Kronberg and Vartiainen, 1988) η συνεισφορά των παραγώγων MX στη συνολική μεταλλαξογόνο ικανότητα λόγω χλωρίωσης ανέρχεται σε ποσοστό 15 - 57%. Πέραν της αντιβακτηριδιακής τους δράσης (πρόκληση μεταλλάξεων), η κατηγορία παραγώγων MX φαίνεται να χαρακτηρίζεται από γενετική τοξικότητα κατά την *in vitro* μελέτη διαφόρων κυττάρων θηλαστικών (Meier et.al, 1987, Brunborg et.al, 1991, Jansson et.al, 1993). Η ερευνητική ομάδα του Isomaa μελέτησε την τοξικότητα του μεταλλαξογόνου MX και των αναλόγων του καθώς και του μονοχλωροξικού οξέος στα είδη *Rainbow Trout* και *Daphnia Magna*. Εκ των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τα παράγωγα MX προκάλεσαν αρχικά σημαντική μείωση της ζωτικότητας τόσο των ηπατοκυττάρων όσο και των επιθηλιακών κυττάρων των βράγγιων σύμφωνα με τις παρατηρούμενες μειώσεις της έντασης φθορισμού. Το μονοχλωροξικό οξύ επίσης προκάλεσε αρχική μείωση της πυκνότητας φθορισμού και στους δύο προαναφερθέντες τύπους κυττάρων αλλά

αντίθετα με την περίπτωση του MX, η μείωση αυτή δεν έφτασε σε επίπεδα που αντιστοιχούν σε 100% μείωση της ζωτικότητας.

Τα επίπεδα EC-50 για το MX όσον αφορά στη μείωση της κινητικότητας είναι χαμηλότερα από τις αντίστοιχες τιμές για την μείωση της ζωτικότητας των επιθηλιακών κυττάρων και υψηλότερες στην περίπτωση των ηπατικών κυττάρων. Συνολικά, το παράγωγο MX είναι περισσότερο τοξικό σε σύγκριση με το μονοχλωροξικό οξύ όσον αφορά στις επιδράσεις στο είδος *Daphnia Magna*.

2.5.13 Χλωρουρακίλη

Μελέτες εκτίμησης της τοξικότητας της χλωρουρακίλης στο είδος *Carp (Cyprinus carpio)* αναφέρουν αντιφατικά συμπεράσματα, γεγονός το οποίο αμφισβητεί την αξιοπιστία αυτών. Η ερευνητική ομάδα του Eymann (Eymann et.al, 1975) μελέτησε τις επιδράσεις της χλωρουρακίλης σε έμβρυα του είδους *Carp*, μια ώρα κατόπιν της εκκόλαψης. Τα αποτελέσματα προτείνουν αυξημένη τοξικότητα (1.2 - 4.3%) κατά την έκθεση σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0.5 - 10.0 mg/L. Ο Gehrs και οι συνεργάτες του (Gehrs 1974) ανέφεραν μειωμένη επιτυχία εκκόλαψης σε αυγά του είδους *Carp* κατά την έκθεσή τους σε περιβάλλον με συγκέντρωση χλωρουρακίλης 7mg/L. Αντίθετα οι Trabalka και Burch (Trabalka and Burch, 1978-1979) παρά το γεγονός ότι μελέτησαν έμβρυα του ίδιου είδους, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπήρχε οιαδήποτε επίδραση κατά την έκθεση για 4 - 7 μέρες σε περιεκτικότητες χλωρουρακίλης μεταξύ 0.01 - 100 mg/L.

Μελέτες επί των επιδράσεων της χλωρουρακίλης στο είδος *Daphnia Magna* διεξήχθησαν επίσης από τον Gehrs και τους συνεργάτες του (Gehrs 1974) οι οποίοι ανέφεραν καθυστερημένη και μειωμένη απόδοση εκκόλαψης υγιών εμβρύων κατά την έκθεση σε περιεκτικότητες χλωρουρακίλης 0.01 - 100mg/L. Κατέστη ωστόσο προφανές ότι η αναπαραγωγή της *Daphnia Magna* πλήττεται σε επίπεδα περιεκτικότητας σημαντικά κατώτερα του ορίου θνησιμότητας. Συνεπώς, η μείωση της επιτυχούς αναπαραγωγής αποτελεί τον βασικό παράγοντα μείωσης του πληθυσμού που παρατηρείται σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις.

Ο Johnson και οι συνεργάτες του (Johnson et.al, 1977) διεξήγαγε μελέτες εκτίμησης της θνησιμότητας στα θαλάσσια είδη. Συγκεκριμένα, μελέτησε νεοεκκολαυθέντα μέλη του είδους *Spotted Seatrout (Cynoscion nebulosus)* τα οποία εκτέθηκαν σε διάφορες περιεκτικότητες χλωρουρακίλης. Εκ των αποτελεσμάτων συνάγεται ότι τα αυγά ηλικίας 2 ωρών παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τα αυγά 10 ωρών. Τα δε νεοεκκολαυθέντα μέλη παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία από τα αυγά στο εύρος περιεκτικότητας 10 - 100mg/L. Σε συγκεντρώσεις εκτός αυτού του εύρους, το

νεοεκκολαυθέντα μέλη παρουσιάζουν είτε όμοια ή ελαφρώς αυξημένη θνησιμότητα σε σύγκριση με τα αυγά.

Η ερευνητική ομάδα του Trabalka (Trabalka and Burch, 1978) αναφέρθηκε σε είτε σχετικά χαμηλή ή μέτρια τοξικότητα κατά την έκθεση σε 5-χλωρουρακίλη. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης διεξήχθησαν τρεις σειρές πειραμάτων. Τα επίπεδα LC-50 όσον αφορά στην έκφραση επιδράσεων σχετικών με την εκκόλαψη, κυμαίνονται μεταξύ 10 - 100mg/L στην περίπτωση της 5-χλωρουρακίλης.

2.5.14 Άλλα παράγωγα

Η ερευνητική ομάδα του Buccafusco (Buccafusco et.al, 1981) εκτίμησε τις οξείες επιδράσεις τοξικότητας διαφόρων χλωροπαραγώγων στο είδος *Bluegill* (*Lepomis macrochirus*). Τα εύρη τιμών LC-50 για 24-ωρη και 96-ωρη παρατήρηση παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 2.5.12).

Πίνακας 2.5.12. Εύρη τιμών LC-50 λόγω έκθεσης του είδους *Bluegill* (*Lepomis macrochirus*) σε διάφορα χλωροπαραγώγα.

Παράγωγο	LC-50 (mg/L)	
	24 ώρες	96 ώρες
βενζόλια	2.3 - 169	0.25 - 150
Αιθάνια	1.8 - >600	0.98 - 430
Αιθέρες	51 - >600	5.9 - 600
φαινόλες	0.19 - 193	0.14 - 170
αιθυλένια	46 - 165	13 - 140
φθαλικοί εστέρες	2.1 - >770	1.2 - 770

2.5.15 Τοξικότητα λυμάτων

Η ερευνητική ομάδα του Warfe (Wharfe et.al, 1981) παρουσίασε τα αποτελέσματα οικολογικών μελετών σε ένα σημείο διάθεσης κατόπιν συμπλήρωσης ενός έτους δοκιμαστικής λειτουργίας μιας μονάδας επεξεργασίας λυμάτων. Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν την απουσία σημαντικών επιδράσεων, ενώ οι όποιες μεταβολές περιορισμένης έκτασης που παρατηρήθηκαν, αποδόθηκαν σε εποχιακές διακυμάνσεις. Παρατηρήθηκε συσσώρευση των οργανοχλωριωμένων παραγώγων στους ζωικούς ιστούς των οργανισμών στον αποδέκτη των χλωριωμένων ροών. Κατόπιν διακοπής της έκθεσης στα χλωριωμένα παράγωγα, η περιεκτικότητα στους ιστούς ακολούθησε φθίνουσα πορεία και κατά την συμπλήρωση πέντε μηνών επιτεύχθηκαν επίπεδα όμοια με αυτά προ της χλωρίωσης. Συνεπώς, η συγκεκριμένη μελέτη δεν εντόπισε επιδράσεις που καταδεικνύουν την ύπαρξη οξείας τοξικότητας στους οργανισμούς. Ωστόσο, τα αυγά και τα νεο-εκκολαυθέντα μέλη χαρακτηρίζονται από αυξημένη ευαισθησία. Επιπλέον, ο Wharfe επισημαίνει πως παρά το γεγονός ότι η βιοσυσσώρευση

αλογονωμένων παραγώγων υδρογονανθράκων μικρού μοριακού βάρους έχει αποδεδειγμένα καταγραφεί στους θαλάσσιους οργανισμούς, περαιτέρω διερεύνηση απαιτεί η έκταση της συσσώρευσης και ο ρυθμός απώλειας από τους ιστούς κατά την επαναφορά σε περιβάλλον απουσία χλωρίου.

Ο Pickering (Pickering, 1983) μελέτησε την χρόνια τοξικότητα λόγω έκθεσης σε μη-χλωριωμένα και απο-χλωριωμένα ρεύματα αστικών αποβλήτων. Χρησιμοποίησε νεαρά μέλη του είδους *Fathead Minnows* (ηλικίας 24 ωρών) για την εκτίμηση των επιδράσεων κατά τα αρχικά στάδια ζωής (ELS – Early Life Stage). Η έκθεση διατηρήθηκε έως και τη 30η ημέρα μετά την εκκόλαψη. Τα αποτελέσματα προτείνουν την απουσία σημαντικών διαφοροποιήσεων στην επιτυχή εκκόλαψη σε σύγκριση με τις καλλιέργειες αναφοράς για ποσοστά συμμετοχής λυμάτων 0.16 – 5.0%. Η ανάπτυξη και η επιβίωση των νεαρών μελών μετά την εκκόλαψη σε όλα τα μη χλωριωμένα δείγματα ήταν όμοια με αυτή των καλλιέργειών αναφοράς. Ωστόσο, οι ίδιες παράμετροι ελέγχου στην περίπτωση παρατήρησης των μελών σε περιβάλλον 5% απο-χλωριωμένων λυμάτων βρέθηκαν σημαντικά μειωμένες ως προς τις καλλιέργειες αναφοράς και τα μη χλωριωμένα λύματα. Η επιβίωση των ψαριών κατά την έκθεση σε 2.5% απο-χλωριωμένα λύματα κυμάνθηκε σε όμοια επίπεδα με τους πληθυσμούς αναφοράς. Παρά ταύτα, η ανάπτυξη υπό αυτές τις συνθήκες διαμορφώθηκε μόλις στο 75% της ανάπτυξης των μελών αναφοράς. Η ανάπτυξη και η επιβίωση κατά την έκθεση σε 1.3% απο-χλωριωμένα λύματα ήταν όμοια με αυτή της αναφοράς. Συνεπώς, ο Pickering προτείνει την εκδήλωση τοξικότητας στα αποχλωριωμένα λύματα η οποία είναι σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τα μη χλωριωμένα, γεγονός που υποδηλώνει ότι ορισμένες πρόδρομες ενώσεις οι οποίες περιέχονται στο αρχικό ρεύμα αποβλήτων αντιδρούν με το χλώριο προς σύνθεση περισσότερο τοξικών παραγώγων.

Ο Mitz και οι συνεργάτες του (Mitz and Giesy, 1984) παρουσίασαν τα αποτελέσματα μιας *in situ* βιοπαρακολούθησης διάρκειας 17 ημερών η οποία χρησιμοποίησε εγκλεισμένα νεαρά μέλη του είδους *Channel Catfish*. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε πέντε σημεία κατά μήκος ενός τμήματος 9Km του Flint River όπου και τελείται η διάθεση των λυμάτων της εγκατάστασης επεξεργασίας Anthony Raynone. Οι μελετητές παρατήρησαν τις επιδράσεις στην επιβίωση, στην ανάπτυξη και στην οστοπαθολογία των βραγχίων και του ήπατος.

Όσον αφορά στην επιβίωση, ήδη από την τρίτη ημέρα, το σύνολο των 15 ψαριών θανατώθηκε σε απόσταση 300 και 500m κατάντι. Κατόπιν αντικατάστασης των νεκρών μελών με νέους πληθυσμούς παρατηρήθηκε και πάλι ολική θανάτωση των μελών κατά την έκτη ημέρα. Τα βράγχια των νεκρών ψαριών παρουσίασαν αυξημένη έκκριση βλέννας ενώ τα περισσότερα ψάρια κατά την τρίτη ημέρα είχαν εισέλθει σε στάδιο διόγκωσης γεγονός που καταδεικνύει θανάτωση προ αρκετών ωρών.

Δεδομένα για την ανάπτυξη λήφθηκαν μόνο στο σημείο ανάντι και στο σημείο 9Km κατάντι της θέσης διάθεσης. Εκ των υπολογισμών της συνολικής μεταβολής του βάρους των καλλιεργειών και της μέσης μεταβολής ανά μέλος, προέκυψε η απουσία αξιόλογων μεταβολών του βάρους στα δύο σημεία μελέτης.

Τα μέλη των ψαριών ανάντι του σημείου διάθεσης ανέπτυξαν υπερπλασίες και υπερτροφισμό του αναπνευστικού επιθηλίου των βραγχίων σε ποσοστό 40%. Όσον αφορά στα ψάρια του κελιού σε απόσταση 9Km κατάντι, όλα τα μέλη εκδήλωσαν στην περιοχή των βραγχίων δύο ή περισσότερες ιστοπαθολογικές επιδράσεις. Οι δύο πλέον κοινές διαταραχές που παρατηρήθηκαν στο σύνολο των 15 μελών ψαριών στο κελί 9Km κατάντι αφορούν σε οξεία υπερπλασία και μέτριο υπερτροφισμό του επιθηλίου του αναπνευστικού συστήματος. Η ανάπτυξη οιδήματος η οποία επέφερε αποκόλληση του επιθηλίου του αναπνευστικού από τα στυλοειδή κύτταρα παρατηρήθηκε σε ποσοστό 33%. Τέλος, οι ερευνητές παρατήρησαν έντονο σχηματισμό κενοτοπίων σε ποσοστό 38% των ψαριών ανάντι και 60% των ψαριών στη θέση 9Km κατάντι.

Η ερευνητική ομάδα του Osborne (Osborne and Davies, 1986) συνέλεξε δεδομένα φυσικοχημικών και βιολογικών μετρήσεων από 12 σημεία δειγματοληψίας επί μιας περιόδου 13 μηνών παρατήρησης για την εκτίμηση των επιδράσεων λόγω λειτουργίας μιας μονάδας χλωρίωσης λυμάτων στους πληθυσμούς μακρο-ασπονδύλων του ποταμού Sheep River. Η εκτίμηση των επιδράσεων βασίστηκε στην παρατήρηση της ποικιλότητας των ειδών της ευρύτερης οικογένειας των μακρο-ασπονδύλων. Τα αποτελέσματα προτείνουν μειώσεις του πλήθους των διαφορετικών ειδών πλησίον του σημείου διάθεσης των χλωριωμένων ρευμάτων. Η ποικιλότητα διαφοροποιήθηκε κατά μήκος του ποταμού, κατάντι του σημείου απόρριψης, διαμορφώνοντας υψηλότερα ποσοστά μείωσης στην ελάχιστη απόσταση από το σημείο διάθεσης όπου λόγω περιορισμένης ανάμειξης διατηρήθηκαν σχετικά συμπυκνωμένοι όγκοι λυμάτων.

Στην εργασία του Grizzle και των συνεργατών του (Grizzle et.al, 1988) περιγράφεται μια σειρά πειραμάτων που αφορούν στην εκτίμηση της χρησιμότητας και των περιορισμών της παρατήρησης εγκλεισμένων μελών ψαριών ως δείκτες εκτίμησης της τοξικότητας. Στα πλαίσια των πειραμάτων του τύπου αυτού, χρησιμοποιήθηκαν κελιά για την έκθεση μελών σε ρεύματα εκροής εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων για την εκτίμηση της οξείας και χρόνιας προσβολής της ομαλής λειτουργίας εξαιτίας της παρουσίας ενώσεων του χλωρίου.

Η ανάπτυξη εκζεμάτων στην περιοχή της στοματικής κοιλότητας σε μέλη του είδους *Black Bullhead* παρατηρήθηκε σε κελιά τα οποία τοποθετήθηκαν πλησίον των σημείων διάθεσης επεξεργασμένων λυμάτων. Χημικές αναλύσεις του νερού και του ιζήματος δεν κατέδειξαν την παρουσία καρκινογόνων

παραγώγων, γεγονός το οποίο ωστόσο ενδέχεται να οφείλεται στην ασυνεχή λήψη δειγμάτων ή στην εφαρμογή ακατάλληλων αναλυτικών μεθόδων. Παρά το ότι οι περιεκτικότητες του χλωρίου στην είσοδο και την έξοδο της λίμνης έλαβαν αρκετά υψηλά επίπεδα, γεγονός το οποίο οδήγησε στην προεκτίμηση υψηλών επιδράσεων τοξικότητας στους υδρόβιους οργανισμούς, οι μελετητές θεώρησαν ότι η ανάπτυξη των εκζεμάτων ήταν αποτέλεσμα της παρουσίας άλλων τοξικών παραγώγων.

Επιπλέον, ο Grizzle επισημαίνει την ύπαρξη αβεβαιότητας όσον αφορά στην ερμηνεία των υποθανατηφόρων κακώσεων και της μειωμένης ανάπτυξης των ψαριών κατόπιν συνεχούς και παρατεταμένης έκθεσης τους στο περιβάλλον διάθεσης χλωριωμένων ρευμάτων. Οι ερευνητές επίσης υπογραμμίζουν ότι οι παρατηρούμενες επιδράσεις ενδέχεται να οφείλονται στην ύπαρξη άγνωστων - μη ανιχνεύσιμων - καρκινογόνων. Αρκετές εκ των επιδράσεων που κατέγραψε η έρευνα λόγω έκθεσης στο επεξεργασμένο ρεύμα αποβλήτων έχουν καταγραφεί σε προηγούμενες μελέτες εκτίμησης των επιδράσεων λόγω έκθεσης σε χλώριο. Στις επιδράσεις αυτές περιλαμβάνεται η αυξημένη έκκριση βλέννας (Dandy, 1972), η εκδήλωση λήθης (Zeitoun 1978) και αναιμίας (Buckley et.al, 1976-1977) καθώς και ο σχηματισμός κακώσεων στην περιοχή των βραγχίων (Middaugh et.al, 1980, Bass et.al, 1977b). Οι ομοιότητες αυτές καταδεικνύουν ότι οι επί τόπου παρατηρήσεις οδηγούν σε όμοια συμπεράσματα με την περίπτωση των εργαστηριακών μελετών. Ωστόσο, η μελέτη των φυσικών συστημάτων και η αξιολόγηση των αντίστοιχων παρατηρήσεων παρουσιάζει δυσχέρειες λόγω διαφοροποιήσεων των περιεκτικότητων των τοξικών παραγώγων, μεταβολών της θερμοκρασίας και του pH και πιθανής ύπαρξης μη ταυτοποιημένων τοξικών παραγώγων.

Η ηπατομεγέθυνση συχνά εκδηλώνεται σε ψάρια τα οποία εκτίθενται σε τοξικά περιλαμβανομένων χημικών παραγώγων με καρκινογόνες ιδιότητες. Μέλη του είδους *Rainbow Trout (Salmo Gairderi)* και του είδους *Abrama brama (beam)* κατά την έκθεσή τους σε ύδατα προερχόμενα από σημεία διάθεσης λυμάτων στον Ρήνο ποταμό εκδήλωσαν διόγκωση του ήπατος (Poels and Strik, 1975, Sloof et.al, 1983). Η διόγκωση του ήπατος κατά την μελέτη μελών του είδους *Silver Carp (Hypophthalmichthys molitrix)* και του είδους *Black Bullheads* κατά την έκθεση σε ρεύματα χλωριωμένων λυμάτων έχουν παρουσιαστεί από τον Tan και τους συνεργάτες του (Tan et.al, 1981). Η μικρότερη μεταβολή του ηπατικού δείκτη η οποία βρέθηκε στο είδος *Channel Catfish* σε σύγκριση με τα λοιπά είδη που μελετήθηκαν από τον Tan, ενδέχεται να οφείλεται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του εκάστοτε είδους ή στο γεγονός ότι η συγκεκριμένη μελέτη εξέτασε τις επιδράσεις σε χαμηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας. Τα αποτελέσματα των ερευνών προτείνουν μεταβολή της επικινδυνότητας ως προς την εκδήλωση καρκίνου κατά την μείωση του βαθμού χλωρίωσης στα πλαίσια της λειτουργίας της μονάδας επεξεργασίας λυμάτων. Η μεταβολή αυτή κατέστη προφανής λόγω της μείωσης των

περιπτώσεων καταγραφής νεοπλασιών στα ψάρια που αναπτύχθηκαν στην λίμνη στην οποία τελούνταν η διάθεση των λυμάτων σε διάστημα παρατήρησης τριών ετών (Grizzle et.al, 1984).

Η ερευνητική ομάδα του Hutchinson (Hutchinson et.al, 1998) εφήρμοσε ένα εκτενές ερευνητικό πρόγραμμα για την περιγραφή της πιθανής γενετικής τοξικότητας των απολυμασμένων λυμάτων στους θαλάσσιους οργανισμούς. Οι μελετητές ανέπτυξαν και αξιολόγησαν ένα in vivo μοντέλο ανάλυσης της γενικής τοξικότητας μελετώντας νεαρά μέλη του θαλάσσιου είδους *Polychaete - Platynereis dumerilii* κατά το ευαίσθητο στάδιο της εμβρυακής ανάπτυξης (Hutchinson et.al, 1995, Jha et.al, 1996). Το είδος αυτό έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της τοξικότητας στην ανάπτυξη, της κυτταροτοξικότητας και της γενετικής τοξικότητας των ρευμάτων εκροής εγκαταστάσεων πρωτοβάθμιας επεξεργασίας λυμάτων. Οι σχετικές μελέτες προτείνουν την απουσία in vivo γενετικών διαταραχών (Jha et.al, 1997).

Σε αντίθεση με συμπεράσματα προηγούμενων μελετών επί των επιδράσεων των πρωτοβαθμώς επεξεργασμένων (μη απολυμασμένων) λυμάτων σε μέλη του είδους *P. Dumerilii*, όλα τα δείγματα χλωριωμένων λυμάτων παρουσίασαν υψηλή τοξικότητα κατά το εμβρυικό στάδιο ανάπτυξης, ενώ τυπικά υψηλά επίπεδα φυσιολογικής ανάπτυξης παρατηρήθηκαν στις καλλιέργειες ελέγχου σε θαλασσινό νερό και σε επεξεργασμένα ρεύματα λυμάτων.

Τα επίπεδα EC-50 κατά την παρατήρηση για διάστημα 7 ωρών έκθεσης κυμάνθηκαν μεταξύ 0.57 - 1.79% (v/v), ενώ για διάστημα 48 ωρών οι ανάλογες τιμές αντιστοιχούν σε εύρος 0.06 - 1.10%. Επιπροσθέτως, με βάση τις παρατηρήσεις ανάπτυξης κατά την 7^η ώρα κατόπιν της έκθεσης, προκύπτει τιμή MTD (μέγιστη περιεκτικότητα ανοχής) της τάξης του 1% (v/v).

Στα πλαίσια της εργασίας του Hutchinson επιλέχθηκαν οι περιεκτικότητες 18 και 50mgCl/L ως ελάχιστη και μέγιστη δόση αντίστοιχα για όλα τα πειράματα με βάση την λειτουργία της απολύμανσης των πρωτοβαθμώς επεξεργασμένων λυμάτων. Οι επιδράσεις λόγω έκθεσης στα χλωριωμένα λύματα στα έμβρυα και στα νεαρά μέλη του είδους *P. Dumerilii* εκτιμήθηκαν για διάστημα έκθεσης 7 και 48 ωρών με βάση την αναπτυξιακή τοξικότητα. Βάσει των αποτελεσμάτων, οι μελετητές πρότειναν ως επίπεδο MTD την τιμή περιεκτικότητας 1.0% (v/v). Παρά το γεγονός ότι η τιμή αυτή διατηρήθηκε σταθερή για όλες τις ροές λυμάτων οι οποίες απολυμάνθηκαν με εισαγωγή δόσης 18mgCl/L, η αντίστοιχη τιμή διαμορφώθηκε σε μόλις 0.3% (v/v) κατά την εισαγωγή δόσης 50mgCl/L.

Σε όλες τις σειρές πειραμάτων παρατηρήθηκε η ύπαρξη τάσεων δόσης - απόκρισης με αντίστοιχες μειώσεις του δείκτη ρυθμού του πολλαπλασιασμού (Proliferative rate index, PRI). Για παράδειγμα, για δείγματα λυμάτων με επίπεδα μη πτητικού οργανικού άνθρακα (Non-purgeable organic carbon-NPOC) περίπου 180mg/L παρατηρήθηκε περίπου 13% μέση μείωση των επιπέδων PRI για τα δείγματα

περιεκτικότητας 1.0% ως προς τις καλλιέργειες αναφοράς σε θαλασσινό νερό. Όμοια, για δείγματα λυμάτων με επίπεδα NPOC περίπου 60mg/L παρατηρήθηκε μέση μείωση κατά ποσοστό 15% των επιπέδων PRI. Οι παρατηρήσεις αυτές, αξιοποιούμενες παράλληλα με επιπρόσθετα δεδομένα σχετικά με την ανάπτυξη συνέβαλλαν στην διαμόρφωση και επιλογή των επιπέδων MTDs.

Στα πειράματα τα οποία περιελάμβαναν δόσεις απολυμαντικού μέσου μεταξύ 18 - 50mg/L δεν παρατηρήθηκαν ενδείξεις τάσεων συσχέτισης της δόσης με αυξήσεις των συχνοτήτων χρωμοσωμικών διαταραχών. Γενικά, κατέστη προφανές ότι οι % συχνότητες εμφάνισης κυττάρων με διαταραγμένη λειτουργία στους πληθυσμούς αναφοράς οι οποίοι αναπτύχθηκαν σε θαλασσινό νερό ήταν χαμηλότερες του 10%.

Ο Kosmala και οι συνεργάτες του (Kosmala et.al, 1998) μελέτησαν τις επιδράσεις των ρευμάτων εκροής μιας μονάδας επεξεργασίας λυμάτων με τον βιοδείκτη αιθυλο-ρεσορουφιν-ο-διαιθυλάση (EROD) χρησιμοποιώντας μετρήσεις πεδίου και εργαστηριακά πειράματα. Η ενεργητικότητα του δείκτη EROD μελετήθηκε στο είδος *Leuciscus cephalus* και στο είδος *Noemacheilus barbatulus*. Τα μέλη της οικογένειας *carp* παρουσίασαν αυξημένη ικανότητα προσαρμογής σε σύγκριση με τα μέλη της οικογένειας *trout* στην περίπτωση των μελετών πεδίου. Κατά την μελέτη των επιδράσεων, η έκθεση επί 4 ημέρες ήταν αρκετή για την καταγραφή σημαντικών τάσεων στην διαμόρφωση των επιπέδων του δείκτη EROD. Κατόπιν ολοκλήρωσης αυτού του διαστήματος έκθεσης, η διαμόρφωση των επιπέδων του δείκτη EROD για τα μέλη του είδους *carp* σημείωσε σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τους πληθυσμούς αναφοράς. Οι αποκρίσεις θεωρήθηκε ότι εξαρτώνται από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των λυμάτων, ενώ αναλύσεις των ιστών και των εκκρίσεων δεν κατέδειξαν την ύπαρξη διαφοροποιήσεων ανάντι και κατάντι του σημείου διάθεσης.

Η ερευνητική ομάδα του Johnson (Johnson et.al, 2006) παρουσίασε μια αξιολόγηση των πιθανών τοξικών επιδράσεων στους θαλάσσιους οργανισμούς οι οποίες ενδέχεται να προκύψουν κατά την έκθεση σε αλογονωμένα οργανικά παράγωγα. Εκ των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι τα παραπροϊόντα χλωρίωσης δεν χαρακτηρίζονται από υψηλό βαθμό βιοσυσώρευσης στην περίπτωση μελέτης του ασπόνδυλου είδους *Daphnia Magna* σε περιεκτικότητες οι οποίες είναι δυνατόν να επιφέρουν τοξικές επιδράσεις. Η απουσία αυξημένης τοξικότητας κατά τον έλεγχο του χλωριωμένου/αποχλωριωμένου ρεύματος πρωτοβάθμιας καθίζησης επίσης θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν για την ορθή πρόβλεψη των τοξικών επιδράσεων οι οποίες οφείλονται στην παρουσία αλογονο-παραπροϊόντων όπως για παράδειγμα τα τριαλογονομεθάνια και τα αλογονοξικά οξέα. Προηγούμενες μελέτες (Davies et.al, 1993) προτείνουν ότι κατά την μελέτη της λειτουργίας μονάδων επεξεργασίας λυμάτων, με υπολειμματικό χλώριο μεταξύ 55 - 58mg/L, τα μέσα επίπεδα χλωροφορμίου αυξήθηκαν από 4μg/L

(στο μη χλωριωμένο ρεύμα αποβλήτων) σε 71μg/L (κατόπιν χλωρίωσης) (Rebhun et.al, 1997). Συνεπώς, συνθέτοντας αυτές τις πληροφορίες, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η εφαρμογή διεργασιών χλωρίωσης - αποχλωρίωσης στα πρωτοβαθμώς επεξεργασμένα λύματα, συνεπάγεται αύξηση της περιεκτικότητας αυτών των παραπροϊόντων. Ωστόσο, λόγω της ταχείας βιοαποικοδόμησης και της περιορισμένης βιοσυσσώρευσης παρατηρούνται παρόμοιες επιδράσεις στα συστήματα λυμάτων πρωτοβάθμιας καθίζησης και των αντίστοιχων μονάδων χλωρίωσης/αποχλωρίωσης.

Η εργασία της ερευνητικής ομάδας του Ferraris (Ferraris et.al, 2005) αποτελεί μέρος της συλλογικής προσπάθειας για την εκτίμηση των επιδράσεων διαφόρων διαδικασιών απολύμανσης πιλοτικής κλίμακας, χρησιμοποιώντας δείγματα υδάτων από την λίμνη Trasimeno. Για την διεξαγωγή των συμπερασμάτων, η μελέτη κινήθηκε με βάση δύο διακριτούς άξονες:

(α) διαπίστωση της έκτασης στην οποία αναπτύσσεται τοξικότητα στα ενήλικα μέλη του είδους *Rainbow Trout* κατά την επεξεργασία τους με υποχλωριώδες νάτριο, διοξείδιο του χλωρίου και υπεροξικό οξύ και

(β) διαπίστωση της εφικτότητας αντικατάστασης των διεργασιών χλωρίωσης με υπεροξικό οξύ.

Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι κανένα από τα απολυμασμένα δείγματα δε μπορεί να θεωρηθεί κυτταροτοξικό για τα ηπατοκύτταρα των μελών κυπρίνων (επιβίωση κατά ποσοστό ανώτερο του 75%). Το γενικό συμπέρασμα το οποίο συνάγεται από τις παρατηρήσεις της έρευνας αυτής αφορά στο ότι τα ηπατοκύτταρα διατηρούν φυσιολογικό ενδοκυτταρικό έλεγχο των αντιοξειδωτικών μηχανισμών οι οποίοι κυβερνούν την ενδοκυτταρική λειτουργία μέσω του περιφερειακού νευρικού συστήματος για την αντιστάθμιση διαταρακτικών μεταβολών κατά την έκθεση επί 24 ώρες. Όσον αφορά στις μεθόδους χλωρίωσης, προκύπτει ότι το υπεροξικό οξύ μπορεί να θεωρηθεί ασφαλέστερο - από άποψη τοξικών επιδράσεων στους υδρόβιους οργανισμούς - με βάση τα αποτελέσματα του πειραματικού μοντέλου το οποίο υιοθετεί η συγκεκριμένη ερευνητική ομάδα.

Η ερευνητική ομάδα του Fontaínhas (Fontaínhas-Fernandes et.al, 2008) παρουσίασε τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των επιδράσεων στους υδρόβιους οργανισμούς λόγω έκθεσης σε χλωριωμένα λύματα (ρεύμα εκροής εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων). Παρατηρήθηκαν οι επιδράσεις στην μορφολογία των βραγχίων σε μέλη του είδους *Oreochromis*. Το επιθήλιο των βραγχίων των μελών των καλλιεργείων αναφοράς παρουσίασε ομοιότητες με αυτό άλλων ψαριών παρόμοιας σκελετικής δομής. Ωστόσο, στα μέλη τα οποία εκτέθηκαν σε επεξεργασμένα λύματα παρατηρήθηκε ανάπτυξη διαφόρων παθολογικών μεταβολών της φυσιολογικής μορφολογίας των βραγχίων (αύξηση του αριθμού των επιθηλιακών κυττάρων, επιθηλιακός υπερτροφισμός, υπερπλασία, μικρής έκτασης δυσπλασίες των

μεμβρανών των αρθρώσεων). Οι κακώσεις που παρατηρήθηκαν στα βράγχια οδήγησαν στην ανάπτυξη οιδημάτων, τα οποία ήταν περισσότερο εμφανή κατόπιν συμπλήρωσης 24 ωρών. Η σοβαρότητα των κακώσεων τις οποίες κατέγραψε η συγκεκριμένη έρευνα χαρακτηρίζεται από αυξητική τάση κατά την αύξηση του χρόνου έκθεσης, ιδίως στην περίπτωση εκδήλωσης υπερπλασιών των επιθηλιακών κυττάρων. Επίσης, παρατηρήθηκαν περιπτώσεις νέκρωσης ιστών του επιθηλίου. Οι μικρογραφίες ηλεκτρονικής σάρωσης της επιφάνειας του επιθηλίου των βραγχίων κατέδειξαν ότι τα μέλη αναφοράς παρουσίασαν φυσιολογική ανάπτυξη. Αντιθέτως, οι διάφορες ιστοπαθολογικές κακώσεις τις οποίες κατέγραψε η συγκεκριμένη μελέτη, παρουσιάζουν ομοιότητες με αυτές που παρατηρήθηκαν στο είδος *Rainbow Trout* κατά την έκθεση μελών σε ρεύματα λυμάτων κατόπιν απολύμανσης.

Ο Bernet και οι συνεργάτες του (Bernet et.al, 2004) ανέπτυξαν δύο προσεγγίσεις παρακολούθησης (ενεργητική και παθητική) για την εκτίμηση των επιδράσεων λόγω διάθεσης επεξεργασμένων λυμάτων σε μέλη του είδους *Salmo Trutta* (*Brown Trout*). Τα βράγχια και σε αυτή την περίπτωση ήταν το όργανο το οποίο επλήγη σε μεγαλύτερο βαθμό λόγω έκθεσης στα επεξεργασμένα λύματα. Το φαινόμενο ήταν εντονότερο στην περίπτωση της ελεγχόμενης έκθεσης (εργαστηριακές μετρήσεις) ενώ στην περίπτωση απομόνωσης και μελέτης μελών από τον φυσικό υδάτινο αποδέκτη οι επιδράσεις λάμβαναν περιορισμένη έκταση. Σε προηγούμενη μελέτη των επιδράσεων σε μέλη του ίδιου είδους (*Salmo Trutta*) κατά τη μακροχρόνια έκθεση (3 μήνες) σε αραιωμένα επεξεργασμένα λύματα μιας μεγάλης εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων, δεν εντοπίστηκαν ανιχνεύσιμες επιδράσεις στα βράγχια.

Η ερευνητική ομάδα του Mendonca (Mendonca et.al, 2009) παρουσίασε τα συμπεράσματα ενός ευρωπαϊκού προγράμματος το οποίο αναπτύχθηκε στην Πορτογαλία. Η μελέτη αυτή συνδυάζει τα αποτελέσματα οικοτοξικολογικών και φυσικοχημικών μελετών ανάλυσης δειγμάτων λυμάτων από δύο ανεξάρτητα δίκτυα επεξεργασίας.

Η αξιολόγηση της οξείας τοξικότητας των ρευμάτων εισροής και εκροής από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, οδήγησε στην διαμόρφωση αντιφατικών αποτελεσμάτων καθώς η τοξικότητα εξαρτάται από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε δείγματος και του υπό μελέτη είδους. Όσον αφορά στο είδος *Daphnia Magna* δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα των ενήλικων θηλυκών μελών στις καλλιέργειες αναφοράς και στην περίπτωση εξέτασης της έκθεσης σε χαμηλές περιεκτικότητες επί 21 ημέρες. Θνησιμότητα ενήλικων θηλυκών μελών κατεγράφη στην περίπτωση έκθεσης των μελών του είδους *Daphnia* για το παραπάνω χρονικό διάστημα σε υψηλότερα επίπεδα χλωριωμένων λυμάτων. Σημειώθηκε 100% θνησιμότητα κατά την έκθεση σε περιβάλλον λυμάτων με ποσοστό συμμετοχής 22% στην περίπτωση ρεύματος εκροής εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων με εφαρμογή

συστημάτων ενεργού ιλύος και 5% στην περίπτωση των μονάδων τεταρτοβάθμιας επεξεργασίας.

Ο Cao και οι συνεργάτες του (Cao et.al, 2009) μελέτησαν τις επιδράσεις στο είδος *Daphnia Magna* εκθέτοντας αυγά του είδους αυτού σε περιβάλλον προσομοίωσης θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Τα αυγά επιλέχθηκαν στο στάδιο πριν την εκκόλαψη και μελετήθηκαν τα ποσοστά επιτυχούς επιβίωσης. Τα υπό μελέτη μέλη εκτέθηκαν στο εκάστοτε παράγωγο και εξετάστηκαν κατόπιν συμπλήρωσης 24 και 48 ωρών (συνθήκες απουσίας φωτός). Εκ του πλήθους των νεκρών ή ακινητοποιημένων μελών υπολογίστηκαν τα επίπεδα θνησιμότητας.

Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την ύπαρξη ξεκάθαρης συσχέτισης μεταξύ δόσης - απόκρισης κατά τη μελέτη του κλάσματος των δευτεροβαθμώς επεξεργασμένων λυμάτων. Κατά την έκθεση άνευ αραίωσης των χλωριωμένων αποβλήτων παρατηρήθηκε θανάτωση του πληθυσμού σε ποσοστό 72.5 και 90% για χρόνους έκθεσης 24 και 48 ώρες αντίστοιχα, γεγονός το οποίο υποδηλώνει την ύπαρξη οξείας τοξικότητας στην περίπτωση των ασπόνδυλων ειδών. Μικρότερης έκτασης είναι οι επιδράσεις στην περίπτωση της οζόνωσης. Δόση χλωρίου 10mg/L επέφερε ολική θανάτωση των μελών (100% θνησιμότητα) και στα δύο διαστήματα παρατήρησης. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι τοξικότητα καταγράφηκε ακόμα και στις περιπτώσεις αραίωσης των λυμάτων. Εξαιτίας του γεγονότος ότι μετά την χλωρίωση ακολούθησε απομάκρυνση της περίσσειας χλωρίου, οι μελετητές απέδωσαν την οξεία τοξικότητα στο υπολειμματικό χλώριο. Πιο συγκεκριμένα, η ερευνητική ομάδα επισημαίνει ότι οι χλωραμίνες και άλλα παραπροϊόντα χλωρίωσης είναι ενώσεις οι οποίες πιθανόν ευθύνονται για την παρατηρούμενη τοξικότητα. Για τον λόγο αυτό, στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας, εκτιμήθηκε η απόδοση ως προς την παραγωγή τριαλογονομεθανίων και αλογονοξικών οξέων στο δευτεροβαθμώς επεξεργασμένο απόβλητο. Τα παράγωγα χλωροφόρμιο, διχλωροξικό οξύ και τριχλωροξικό οξύ βρέθηκαν να κυριαρχούν από ποσοτικής άποψης μεταξύ των εννέα συνολικών παραγώγων αυτών των δύο κατηγοριών. Οι περιεκτικότητες των παραπροϊόντων αυτών αυξήθηκαν κατακόρυφα κατά τον διπλασιασμό της δόσης χλωρίου (από 5 σε 10mg/L).

Ωστόσο, οι LC-50 τιμές των επιμέρους παραπροϊόντων χλωρίωσης κυμαίνονται σε επίπεδα της τάξης των mg/L, τα οποία είναι μεγαλύτερα κατά δυο έως τρεις τάξεις μεγέθους από τις περιεκτικότητες οι οποίες απαντώνται στην πράξη στα χλωριωμένα λύματα. Συνεπώς, τα παράγωγα τα οποία μελέτησε ο Cao δεν δικαιολογούν την τοξικότητα η οποία αναπτύσσεται στο μείγμα. Τα δευτεροβαθμώς επεξεργασμένα λύματα αποτελούν μια πολύπλοκη-από ποιοτικής σκοπιάς-μάζα και η πλήρης σύσταση των παραπροϊόντων δεν είναι απόλυτα κατανοητή. Ο σχηματισμός άγνωστων παραπροϊόντων καθώς και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων γνωστών παραγώγων αποτελούν κατά την άποψη των ερευνητών, τους κύριους λόγους για την διαμόρφωση υψηλών επιπέδων τοξικότητας στο μείγμα.

Ανωμαλίες στα έμβρυα μέλη καταγράφηκαν ήδη από την τέταρτη ημέρα. Παρατηρήθηκε η παρουσία κακώσεων οι οποίες θα μπορούσαν σε κάποιο ποσοστό να επηρεάζουν το ποσοστό επιτυχούς εκκόλαψης και γενικότερα την ομαλή ανάπτυξη και επιβίωση των νεαρών μελών (Kjorsvik et.al, 1990). Η απόλυτη πλειοψηφία των εμβρύων παρουσίασε ομαλή ανάπτυξη στους πληθυσμούς αναφοράς καθώς και στην περίπτωση εφαρμογής αντίστροφης ώσμωσης. Το δευτεροβάθμιο ρεύμα επεξεργασίας προκάλεσε την ανάπτυξη διαφόρων μορφολογικών επιδράσεων στα έμβρυα. Τα περισσότερα έμβρυα εμφάνισαν ανωμαλίες οι οποίες αφορούν κυρίως σε κυστικές διαταραχές. Σπάνιες ήταν οι περιπτώσεις μη επιτυχούς εκκόλαψης εξαιτίας εσωτερικής αιμορραγίας (μόνο για υψηλές δόσεις χλωρίου κατά την δευτεροβάθμια επεξεργασία των λυμάτων).

Ο ρυθμός εκκόλαψης, ο οποίος αποτελεί μια σημαντική παράμετρο για την ποιότητα των νεαρών μελών και την επιβίωσή τους, παρουσιάζει ευαισθησία σε μεταβολές του περιβάλλοντος (Detlaf et.al, 1993). Ο ρυθμός επιτυχούς εκκόλαψης των εμβρύων που εκτέθηκαν στο δευτεροβαθμώς επεξεργασμένο απόβλητο ανήλθε σε 36%, ποσοστό σημαντικά χαμηλότερο σε σχέση με το αντίστοιχο ποσοστό των καλλιεργειών αναφοράς (89.5%). Όσον αφορά στα λύματα κατόπιν δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, για μικρές δόσεις απολυμαντικού μέσου, η διαδικασία απολύμανσης μείωσε ελάχιστα την ικανότητα επιτυχούς εκκόλαψης σε ποσοστά έως 10%. Ωστόσο, η αύξηση της δόσης του χλωρίου επέφερε σημαντική μείωση των ποσοστών επιτυχούς εκκόλαψης.

Τον Ιούλιο του 2010 η Συμβουλευτική Επιτροπή Θαλάσσιας Αλιείας της Μασαχουσέτης (Marine Fisheries Advisory Commission) έλαβε παράπονα από τους αλιείς αστακών σχετικά με την απόρριψη χλωριωμένων λυμάτων στην περιοχή Massachusetts Bay και Buzzards Bay. Το Τμήμα έθεσε τρεις άξονες για την αντιμετώπιση του θέματος διερευνώντας κατά πόσο:

- (a) τα επίπεδα χλωρίου τα οποία διαμορφώνονται λόγω της απόρριψης των χλωριωμένων λυμάτων ευθύνονται για την θανάτωση των αστακών,
- (b) οι περιεκτικότητες του χλωρίου πλησίον του σημείου διάθεσης λαμβάνουν ικανοποιητικά υψηλά επίπεδα ώστε να προκαλούν επιδράσεις στην επιφάνεια (σημείο συλλογής των αστακών),
- (c) η χρόνια διάθεση ρευμάτων είναι επιβλαβής για την ανάπτυξη των οστρακοειδών του πυθμένα.

Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι είναι πρακτικά αδύνατη η εκδήλωση αξιόλογων επιπτώσεων στους πληθυσμούς των αστακών εξαιτίας της διάθεσης των χλωριωμένων εκροών των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων. Άλλωστε, ο περιορισμός των επιτρεπτών ορίων διάθεσης και οι αυξημένες ενέργειες ελέγχου, οδηγούν στην διαμόρφωση μιας αυστηρότερης κατάστασης όσον αφορά στη διάθεση των χλωριωμένων λυμάτων. Γενικότερα, οι περιεκτικότητες υπολειμματικού χλωρίου σημειώνουν εξελικτικά μείωση λόγω αύξησης της απόδοσης στις διεργασίες απομάκρυνσης στερεών.

Δημοσιευμένες εκθέσεις επαληθεύουν την επίτευξη σημαντικής μείωσης του υπολειμματικού χλωρίου κατά την τελευταία δεκαετία.

Συνεπώς, τα αποτελέσματα της παρακολούθησης της τοξικότητας των χλωριωμένων ρευμάτων στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης κατέστησαν προφανές ότι δεν επιφέρονται άμεσες θανατηφόρες επιδράσεις στους πληθυσμούς των αστακών. Οι ερευνητές σημειώνουν επίσης ότι μεμονωμένες περιόδους κατά τις οποίες τα επίπεδα χλωρίου πλησίον του σημείου απόρριψης λαμβάνουν υψηλές τιμές, δεν θα πρέπει να αποκλειστούν. Ωστόσο, αυτές οι περιπτώσεις χαρακτηρίζονται από περιορισμένη χρονική διάρκεια ενώ λαμβάνουν περιορισμένο ποσοστό ως προς τη χωρική κάλυψη. Συνεπώς, αναμένονται ελάχιστες πιθανότητες πρόκλησης οιασδήποτε μακροχρόνιας επίδρασης στους πληθυσμούς των αστακών ή/και στους λοιπούς πληθυσμούς των θαλάσσιων ψαριών και ασπονδύλων λόγω διάθεσης των επεξεργασμένων λυμάτων.

2.5.16 Τοξικότητα απολυμαντικού φορέα

Οι Grothe και Eaton (Grothe and Eaton, 1975) μελέτησαν τις επιδράσεις λόγω έκθεσης σε χλώριο παρουσία και απουσία αμμωνίας. Σκοπό της έρευνας αυτής αποτέλεσε ο προσδιορισμός του παράγοντα ο οποίος προκαλεί την τοξικότητα σε μέλη του είδους *Fathead Minnow*. Η έκθεση ψαριών σε περιβάλλον χλωραμίνης επέφερε ραγδαία αύξηση της περιεκτικότητας της μεθαιμογλοβίνης. Σε δύο ανεξάρτητες σειρές πειραμάτων, η περιεκτικότητα της μεθαιμογλοβίνης στο αίμα δυο ομάδων ψαριών (4 μέλη ανά ομάδα) κυμάνθηκε μεταξύ 29.4 - 32.0mg/L. Επίπεδα μεθαιμογλοβίνης αυτής της τάξης οδηγούν σε μείωση της ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου μέσω των ιστών κατά τουλάχιστον 30%. Η έκθεση των μελών επί μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε χλωραμίνη, βρέθηκε ότι προκαλεί θανάτωση των μελών εντός 50 λεπτών. Οι ερευνητές επισημαίνουν ότι οι θάνατοι οι οποίοι σημειώθηκαν αποδίδονται στην εκδήλωση μεθαιμογλοβιναιμίας. Ο σχηματισμός της μεθαιμογλοβίνης προκύπτει από την οξειδωση των ερυθροκυττάρων (λόγω παρουσίας χλωραμίνης) κατά την διείσδυση αυτών μέσω των βραγχίων των ψαριών.

Οι Bass και Heath (Bass and Heath, 1977a) πραγματοποίησαν μια μελέτη καταγραφής διαφόρων αναπνευστικών και καρδιαγγειακών αποκρίσεων σε ψάρια του είδους *Rainbow Trout*. Μέσω παρακολούθησης των επιδράσεων προ, κατά και κατόπιν έκθεσης σε χλώριο, εκτιμήθηκε η πιθανή αιτία πρόκλησης θανάτου. Οι αποκρίσεις της φυσιολογίας και παθολογίας των μελών του είδους *Rainbow Trout* που παρατηρήθηκαν σε αυτή τη μελέτη οφείλονται κυρίως στην ύπαρξη ελεύθερου χλωρίου (υποχλωριώδους οξέος).

Παρουσία ισομοριακής ποσότητας αμμωνίας το χλώριο αντιδρά προς σύνθεση χλωραμίνης, παράγωγο

το οποίο παρουσιάζει μειωμένη δραστηριότητα ως προς την οξειδωτική ικανότητα (White, 1972). Συνεπώς, απαιτείται η έκθεση σε πολύ υψηλότερες περιεκτικότητες χλωραμίνης για την επίτευξη της ίδιας έκτασης επιδράσεων, υπό την υπόθεση ότι τα παράγωγα αυτά προκαλούν τον ίδιο τύπο επιδράσεων. Οι επιδράσεις του χλωρίου στην αναπνοή, στον ρυθμό των καρδιακών παλμών και της αρτηριακής πίεσης του οξυγόνου είναι όμοιες με αυτές που έχουν παρουσιαστεί σε προηγούμενες μελέτες οι οποίες αναφέρονται στις επιδράσεις λόγω έκθεσης σε ψευδάργυρο (Sellers et.al, 1975). Ο αυξημένος ρυθμός αερισμού και η μείωση των καρδιακών παλμών των μελών του είδους *Rainbow Trout*, όπως αυτές εκδηλώθηκαν κατά την έκθεσή τους σε χλώριο, οφείλονται πιθανότητα στην μείωση της αρτηριακής πίεσης του οξυγόνου (Marvin and Heath, 1968). Ο Bamfort (Bamfort, 1974) απέδειξε ότι τα βράγχια παρουσιάζουν την μέγιστη ευπάθεια όσον αφορά σε αλλαγές της αρτηριακής πίεσης του οξυγόνου στο είδος *Rainbow Trout*. Η παρεμπόδιση της πρόσληψης οξυγόνου στα βράγχια η οποία προκλήθηκε λόγω έκθεσης σε χλώριο οφείλεται σε εναλλαγή ορισμένων λειτουργιών προς υποστήριξη ενός περισσότερο αναερόβιου μεταβολισμού. Το γεγονός αυτό κατέστη προφανές λόγω ανίχνευσης συσσωρευμένου γαλακτικού οξέος στο αίμα με ταυτόχρονη μείωση της τιμής του pH. Αρκετές από τις παρατηρούμενες επιδράσεις μπορούν να θεωρηθούν αναστρέψιμες καθώς παρατηρείται επιβίωση ακόμα και στις περιπτώσεις σημαντικής συσσώρευσης βλέννας στα βράγχια. Ωστόσο, οι μελετητές κατέληξαν στο ότι ο εντατικότερος ρυθμός αναπνοής φαίνεται να προκαλεί επιδείνωση παρά αντιμετώπιση των συμπτωμάτων καθώς εισάγεται μεγαλύτερη ποσότητα ερεθιστικών παραγώγων στον οργανισμό.

Η ίδια ερευνητική ομάδα εξέθεσε μέλη του είδους *Rainbow Trout* σε τέσσερις τιμές περιεκτικότητας ελεύθερου χλωρίου, κυμαινόμενες από υπο-θανατηφόρα έως θανατηφόρα επίπεδα (Bass et.al, 1977b). Ιστολογικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν αφενός στα εν ζωή μέλη τα οποία εκδήλωσαν προφανείς επιδράσεις και αφετέρου σε αυτά που επιβίωσαν της έκθεσης χωρίς την εκδήλωση διαταραχών. Οι υπο-θανατηφόρες περιεκτικότητες προκάλεσαν μέτρια υπερπλασία των βραγχίων και διόγκωση των πλακωδών επιθηλιακών κυττάρων. Οι θανάσιμες περιεκτικότητες οδήγησαν στην ανάπτυξη κακώσεων σε μεγάλη έκτασης λόγω υπερπλασιών του επιθηλίου των βραγχίων. Στα πλαίσια των πειραμάτων της εργασίας αυτής, δεν παρατηρήθηκαν περιπτώσεις προβληματικής λειτουργίας του νεφρού ανεξαρτήτως επιπέδου περιεκτικότητας. Το γλυκογόνο του ήπατος υπέστη σοβαρή μείωση, πιθανότατα ως αποτέλεσμα εκδήλωσης υποξαιμίας, η οποία αναπτύχθηκε λόγω προβληματικής λειτουργίας των βραγχίων. Νέκρωση του ήπατος παρατηρήθηκε στα ψάρια που εκτέθηκαν σε υψηλά επίπεδα περιεκτικότητας χλωρίου, οι δε κακώσεις σχηματίστηκαν σε εντονότερο βαθμό κατά την έκθεση σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Από αυτές τις παρατηρήσεις και σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα

προηγούμενων σχετικών μελετών συνάγεται το συμπέρασμα ότι η πρόκληση θανάτου λόγω έκθεσης ψαριών σε υπολειμματικό χλώριο οφείλεται κυρίως σε ιστολογικά αίτια (διαταραχή της ομαλούς λειτουργίας των βραγχίων η οποία συνεπάγεται την διακοπή της φυσιολογικής μεταφοράς των αερίων διαμέσου του επιθηλίου των βραγχίων κατά την αναπνοή).

Ο Caruzzo και οι συνεργάτες του (Caruzzo et.al, 1977a) μελέτησαν τις διαφορές ως προς τις επιδράσεις κατά την έκθεση σε ελεύθερο χλώριο και χλωραμίνη στα νεαρά μέλη του είδους αστακών *Homarus Americanus*. Η χλωραμίνη απεδείχθη περισσότερο τοξική σε σύγκριση με ανάλογες ποσότητες χλωρίου, γεγονός το οποίο καταδεικνύεται και από τις υπολογιζόμενες τιμές LC-50 (16.30mg/L για το χλώριο και 2.02mg/L για τη χλωραμίνη). Η ίδια ομάδα διερεύνησε την συνεργιστική επίδραση των δύο αυτών απολυμαντικών φορέων με τη θερμοκρασία. Η έκθεση σε περιβάλλον χλωρίου στους 20°C οδήγησε στη διαμόρφωση αμελητέων επιπέδων θνησιμότητας ενώ στην περίπτωση έκθεσης στους 30°C υπολογίστηκαν επίπεδα LC-50 της τάξης των 2.5mg/L. Αντίστοιχα, στην περίπτωση έκθεσης σε χλωραμίνη, υπολογίστηκαν οι τιμές 4.08mg/L και 0.56mg/L για τους 20°C και 30°C. Οι επιδράσεις τοξικότητας αυτών των παραγώγων φαίνεται να βασίζονται στην πρόκληση μεταβολών της ομαλούς μεταβολικής δραστηριότητας κατά και κατόπιν έκθεσης στο χλώριο και την χλωραμίνη. Αρχικές επιδράσεις στο αναπνευστικό ανιχνεύθηκαν κατά την έκθεση σε 0.05mg/L χλωραμίνης και 5.0mg/L χλωρίου. Μείωση του ρυθμού αναπνοής κατά την παρατήρηση αυτών επί 48 ώρες κατόπιν της έκθεσης, σημειώθηκε σε όλα τα υπό μελέτη επίπεδα περιεκτικότητας ενώ όμοιας έκτασης επιδράσεις παρατηρήθηκαν κατά την έκθεση σε 0.05mg/L χλωραμίνης και 0.10mg/L χλωρίου.

Ο Caruzzo (Caruzzo et.al, 1977a) παρουσίασε δεδομένα σχετικά με τις διαφοροποιήσεις στις επιδράσεις του ελεύθερου χλωρίου και της χλωραμίνης σε τρία θαλάσσια είδη ψαριών (*Pseudopleuronectes americanus*, *Stenotomus Versicolor* και *Fundulus heteroclitus*). Γενικά παρατηρήθηκε απότομη αύξηση της τοξικότητας για ένα στενό εύρος διακύμανσης περιεκτικότητας. Τα τρία είδη εκδήλωσαν παρόμοιες επιδράσεις όσον αφορά στην έκθεση σε ελεύθερο χλώριο. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στην περίπτωση έκθεσης σε χλωραμίνη. Το είδος *Fundulus heteroclitus* παρουσίασε την μέγιστη ευπάθεια σε σχέση με τα λοιπά είδη, πιθανότατα εξαιτίας διαφοροποιήσεων όσον αφορά στην μεταβολική κυκλοφορία και στους ρυθμούς πρόσληψης. Παρεκκλίσεις της φυσιολογικής συμπεριφοράς, διογκωμένα βράγχια και αποπροσανατολισμένη κολύμβηση των ειδών *Pseudopleuronectes americanus* και *Stenotomus Versicolor*, καθώς και σημαντική μείωση της βασικής αναπνευστικής λειτουργίας του είδους *Fundulus heteroclitus* παρατηρήθηκαν σε περιεκτικότητες πλησίον των θανατηφόρων δόσεων.

Σε μία δεύτερη δημοσίευση ο Caruzzo (Caruzzo 1997b) παρουσίασε τα αποτελέσματα της παρακολούθησης του μήκους, της ξηρής μάζας και του βασικού ρυθμού αναπνοής των νεαρών μελών αστακών του είδους *Homarus Americanus*. Τα πειράματα παρακολούθησης των επιδράσεων διήρκησαν 19 ημέρες μετά από μια περίοδο έκθεσης σε 1.0mg/L χλωρίου και 1.0mg/L χλωραμίνης (60 λεπτών). Σε σύγκριση με τα μέλη των καλλιεργειών αναφοράς παρατηρήθηκαν σημαντικά χαμηλότεροι ρυθμοί αύξησης του ξηρού βάρους και σημαντικές μειώσεις των βασικών ρυθμών αναπνοής. Μεγαλύτερες αποκλίσεις από τα μέλη των καλλιεργειών αναφοράς παρατηρήθηκαν στην περίπτωση έκθεσης σε χλωραμίνη. Εκ των αποτελεσμάτων αυτών συνάγεται το συμπέρασμα ότι η οξεία έκθεση είτε σε χλώριο ή σε χλωραμίνη οδηγεί σε αξιοσημείωτη μείωση των μεταβολικών δραστηριοτήτων και της ανάπτυξης των νεαρών μελών αστακών.

Οι Brooks και Seegert (Brooks and Seegert, 1977) μελέτησαν την έκθεση μελών του είδους *Rainbow Trout (Salmo Gairdneri)* και του είδους *Yellow Perch (Perca Flavescens)* σε υπολειμματικό χλώριο για διαστήματα διάρκειας 5 και 30 λεπτών. Τα επίπεδα LC-50 για την 30-λεπτη έκθεση του είδους *Yellow Perch* κυμάνθηκαν μεταξύ 0.7 - 8.0mg/L ανάλογα την θερμοκρασία (30 και 10°C αντίστοιχα). Η εφαρμογή τριών διαδοχικών πειραμάτων έκθεσης (διάρκειας 5 λεπτών έκαστη), οδήγησε στην διαμόρφωση επιπέδων LC-50 για το είδος *Yellow Perch* μεταξύ 22.6 - 9.0mg/L. Τα επίπεδα LC-50 κατά την έκθεση μελών του είδους *Rainbow Trout* επί 30 λεπτά κυμάνθηκαν μεταξύ 0.99 - 0.94mg/L. Οι μελετητές επισημαίνουν ότι η τοξικότητα στο χλώριο επηρεάζεται από έναν μεγάλο αριθμό παραμέτρων όπως η διάρκεια έκθεσης, η θερμοκρασία, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού στο οποίο εκτίθενται τα ψάρια καθώς και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του εκάστοτε είδους ψαριών. Λαμβάνοντας υπόψιν αυτό το γεγονός σημειώνεται ότι είναι δυσχερής η αξιόπιστη σύγκριση αποτελεσμάτων διαφορετικών μελετών.

Ο Morris (Morris et.al, 1978) μελέτησε την οξεία τοξικότητα χλωριωμένων και βρωμοχλωριωμένων επεξεργασμένων λυμάτων σε μέλη του είδους *Leiostomus xanthurus*. Χρησιμοποιήθηκαν αλογονωμένα ρεύματα λυμάτων τα οποία ελήφθησαν από μια πιλοτική μονάδα της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων στον ποταμό James River. Το επίπεδο LC-50 για διάστημα έκθεσης 96 ώρες υπολογίστηκε ίσο με 0.22mg/L για το υπολειμματικό χλώριο. Η περιεκτικότητα αυτή θεωρείται αρκετά υψηλότερη από αυτές που αναμένεται να απαντηθούν στην πράξη κατά την χλωρίωση υπό τυπικούς ρυθμούς απολύμανσης αστικών λυμάτων.

Οι Fandrei και Collins (Fandrei and Collins, 1979) μελέτησαν τις τοξικές επιδράσεις λόγω βραχείας έκθεσης στο είδος *Emerald Shiner (Notropis atherinoides)*. Μελετήθηκαν δύο επίπεδα θερμοκρασιών (10 και 25°C), η εκλογή των οποίων πραγματοποιήθηκε ούτως ώστε να διαπιστωθεί εάν οι επιδράσεις

του χλωρίου παρουσιάζουν διακύμανση εντός ενός θερμοκρασιακού εύρους το οποίο απαντάται στην πράξη υπό τυπικές συνθήκες διάθεσης. Εκ των αποτελεσμάτων συνάγεται το συμπέρασμα ότι η τοξικότητα του ολικού υπολειμματικού χλωρίου παρουσιάζει αξιόλογη διαφοροποίηση μεταξύ των δύο αυτών θερμοκρασιών. Σε αδρομερή προσέγγιση, τα ψάρια εκδηλώνουν κατά τρεις φορές μεγαλύτερη ευαισθησία στην υψηλότερη θερμοκρασία. Η τοξικότητα όσον αφορά στην ανάπτυξη και στο μήκος των ψαριών δεν παρουσίασε διαφοροποιήσεις.

Ο Buckley (Buckley, 1981) κατέγραψε τις παρατηρήσεις κατά την έκθεση μελών του είδους *Rainbow Trout* σε χλωραμίνη και υποχλωριώδες οξύ ως προς την ικανότητά τους να οξειδώνουν την αιμογλοβίνη προς μεθαιμογλοβίνη και συνεπώς την ικανότητα αυτών των παραγώγων να εισέρχονται και να διαχέονται εντός των ερυθροκυττάρων και των μορίων αιμογλοβίνης. Η *in vitro* έκθεση των ηπατικών κυττάρων σε υποχλωριώδες οξύ οδήγησε αφενός σε αιμόλυση και αφετέρου στο σχηματισμό μεθαιμογλοβίνης. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε η ύπαρξη συσχετίσεων μεταξύ παθολογικών δράσεων στις μεμβράνες των ερυθροκυττάρων (που να καταδεικνύονται από αιμόλυση) και επιδράσεων στην αιμογλοβίνη όπως έχει αναφερθεί για άλλα οξειδωτικά μέσα (Miller and Smith, 1970). Συνεπώς, η συγκεκριμένη μελέτη, όπως και άλλες περιπτώσεις *in vivo* μελετών (Grothe and Eaton, 1975), καταλήγει στο ότι η χλωραμίνη φέρει την ικανότητα διάχυσης διαμέσου των μεμβρανών των ερυθροκυττάρων, προκαλώντας την παραγωγή σημαντικών ποσοτήτων μεθοξυαιμογλοβίνης, καταδεικνύοντας την ύπαρξη δράσεων διαφορετικών από εκείνες που αντιστοιχούν στο υποχλωριώδες οξύ. Προφανώς, το παράγωγο αυτό αλληλεπιδρά με τις ομάδες γλοβίνης οι οποίες φέρουν ιδιαίτερη σημαντικότητα για την διατήρηση σταθερών μοριακών διαμορφώσεων. Η χλωραμίνη διαθέτει τα απαραίτητα χαρακτηριστικά διάλυσης και αντίδρασης για την διάχυση εντός του υδρόφοβου εσωτερικού τμήματος (όπου υποτίθεται ότι προσανατολίζονται οι ομάδες γλοβίνης).

Η ερευνητική ομάδα του Booth (Booth et.al, 1981) μελέτησε τις επιδράσεις στις πρωτεΐνες του πλάσματος του είδους *Rainbow Trout* λόγω επαναλαμβανόμενης έκθεσης σε χλώριο. Μελετήθηκε η περίπτωση 13 βασικών πρωτεϊνών μέσω παρατήρησης διαγραμμάτων μέτρησης της πυκνότητας του πλάσματος. Οι παρατηρήσεις κατά την διάρκεια των πειραμάτων κατόπιν σύγκρισης με αντίστοιχα διαγράμματα των καλλιεργειών αναφοράς φαίνεται να επαληθεύουν τις λοιπές μελέτες οι οποίες προτείνουν την ύπαρξη τοξικών επιδράσεων στο είδος *Rainbow Trout*. Κατέστη προφανές ότι η έκθεση σε χλώριο επέφερε μεταβολή της σύστασης των πρωτεϊνών του αίματος. Οι εντονότερες επιδράσεις παρατηρήθηκαν σε περιεκτικότητες 0.22mg/L υπολειμματικού χλωρίου, τιμή η οποία φαίνεται να αντιστοιχεί στο όριο θνησιμότητας για το είδος *Rainbow Trout*. Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι το χλώριο δεν επιδρά σε κάποια συγκεκριμένη παράμετρο αλλά σε έναν συνδυασμό διαφόρων

λειτουργιών οι οποίες οδηγούν τελικά σε μια σωρευτική τοξική επίδραση.

Ο Fisher και οι συνεργάτες του (Fisher et.al, 1994) μελέτησαν επίσης τις επιδράσεις οξείας τοξικότητας για χρονικό διάστημα 96 ωρών και τις μακροχρόνιες επιδράσεις σε διάστημα επτά ημερών υπό συνεχή και διαλείπουσα έκθεση σε μέλη δύο ειδών ψαριών αλμυρού νερού. Το είδος *Mysidopsis Bahía* βρέθηκε περισσότερο ευαίσθητο σε σύγκριση με το δεύτερο υπό μελέτη είδος (*Menidia Beryllina*) κατά την έκθεσή του υπό συνεχείς συνθήκες. Δεν παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις μεταξύ της οξείας απόκρισης κατά την έκθεση των δύο ειδών σε διαλείπουσες συνθήκες.

Η ερευνητική ομάδα του Blatchley (Blatchley et.al, 1997) μελέτησε τις επιδράσεις των διαφόρων εναλλακτικών απολυμαντικών φορέων επί της τοξικότητας του απολυμασμένου λύματος. Πραγματοποιήθηκε συλλογή δειγμάτων λυμάτων από επτά ανεξάρτητες εγκαταστάσεις επεξεργασίας, ενώ ακολούθησε η έκθεση αυτών στα ευρέως χρησιμοποιούμενα απολυμαντικά (χλωρίο, όζον, υπεριώδης ακτινοβολία). Για την εκτίμηση της χρόνιας τοξικότητας χρησιμοποιήθηκε το είδος *Ceriodaphnia dubia* στο οποίο παρατηρήθηκε η επιβίωση και η επιτυχής αναπαραγωγή. Τα αποτελέσματα αυτής της σειράς πειραμάτων επιβεβαίωσαν την ικανότητα όλων των απολυμαντικών μέσων να τροποποιούν την τοξικότητα του αρχικού λύματος. Οι αποκρίσεις τοξικότητας που κατέγραψε η συγκεκριμένη μελέτη, χαρακτηρίζονται από χωρική και χρονική διαφοροποίηση. Γενικά, στις περιπτώσεις που το αρχικό ρεύμα λυμάτων χαρακτηριζόταν από αμελητέα τοξικότητα, η απουσία τοξικών επιδράσεων διατηρήθηκε και κατόπιν της εφαρμογής των διαδικασιών απολύμανσης ανεξαρτήτως του χρησιμοποιούμενου φορέα. Κατά την παρατήρηση τοξικών επιδράσεων στο ανεπεξέργαστο ρεύμα λυμάτων, όλα τα απολυμαντικά μέσα τροποποίησαν τον βαθμό τοξικότητας στο τελικό ρεύμα, επιφέροντας ως επί το πλείστον αύξηση σε σύγκριση με την αρχική. Η αλλαγή στις αποκλίσεις τοξικότητας που θεωρήθηκε ότι οφείλονται στον απολυμαντικό φορέα ακολουθούν την κατάταξη χλωρίωση > οζόνωση > έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, ενώ παρατηρήθηκαν και εξαιρέσεις σε επίπεδο επιμέρους πειραματικών μετρήσεων.

Οι Roseboom και Richey (Roseboom and Richey, 1977) διεξήγαγαν πειράματα εκτίμησης της τοξικότητας του υπολειμματικού χλωρίου κατά τη συνεχή έκθεση επί 96 ώρες σε μέλη των ειδών *Bluegill* και *Channel Catfish*. Μελετήθηκε επίσης η επίδραση παρουσία αμμωνίας χρησιμοποιώντας επιπλέον μέλη του είδους *Bass*. Σε κάθε σειρά πειραμάτων εξετάστηκαν πληθυσμοί 120 μελών του εκάστοτε είδους. Οι μέσοι χρόνοι θνησιμότητας για όλες τις μελέτες των μελών του είδους *Bluegill* κυμάνθηκαν μεταξύ 0.18 - 0.33mg/L, ενώ κατεγράφη εξάρτηση από τη θερμοκρασία του νερού και το βάρος των ψαριών. Το είδος *Channel Catfish* παρουσίασε την μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τα λοιπά είδη (TC-50=0.09mg/L).

Οι Cooke και Schreer (Cooke and Schreer, 2001) παρουσίασαν μια περίληψη των επιδράσεων του χλωρίου. Οι μελετητές τονίζουν ότι η καταγραφή θνησιμότητας στους πληθυσμούς των ψαριών στις πλείστες των περιπτώσεων δεν οφείλεται αποκλειστικά στην έκθεση σε χλώριο αλλά μπορεί να αποδοθεί σε ένα σύνθετο πλέγμα επιδράσεων και σε αλληλεπιδράσεις διαφόρων παραγόντων όπως για παράδειγμα η θερμοκρασία και η αλατότητα του αποδέκτη. Τα περισσότερα εκ των ψαριών τα οποία χάνουν τον προσανατολισμό τους παρουσιάζουν περιορισμένα ποσοστά επιβίωσης. Τα μέλη που εκτέθηκαν σε υπο-θανατηφόρες δόσεις εκδήλωσαν λήθη και ως επί το πλείστον κατέληγαν στην επιφάνεια εισπνέοντας αέρα. Η εργασία επίσης κατέγραψε αιματολογικές και βιοχημικές διαταραχές και εν δυνάμει αναντίστροφη καταστροφή των βραγχίων. Η ευαισθησία διαφορετικών ειδών ψαριών παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία ως προς τις επιδράσεις τοξικότητας. Συνεπώς, οι μελετητές υπογραμμίζουν την αναγκαιότητα διεξαγωγής μελετών και σε είδη ψαριών τα οποία δεν συνηθίζεται να χρησιμοποιούνται σε μελέτες εκτίμησης της τοξικότητας.

Ο Das (Das, 2002) παρουσίασε μια ανάλυση κύκλου ζωής την οποία χρησιμοποίησε για την ποσοτικοποίηση του περιβαλλοντικού οφέλους λόγω χρήσης υπεριώδους ακτινοβολίας ως - εναλλακτική της χλωρίωσης - μέθοδο απολύμανσης. Η προσέγγιση συνδυάζει δεδομένα ανάλυσης σχετικά με τον περιβαλλοντικό κύκλο ζωής με τις συγκεκριμένες διαδικασίες απολύμανσης που περιλαμβάνουν οικονομικά κριτήρια και διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες (χρήση χημικών αντιδραστηρίων, διάθεση ρευμάτων εκροής). Τα περιβαλλοντικά και οικονομικά οφέλη κατέδειξαν ως πλέον βιώσιμη μέθοδο την εφαρμογή υπεριώδους ακτινοβολίας.

Η ερευνητική ομάδα του Rajagopal (Rajagopal et.al, 2003) παρουσίασε τις σχετικά θανατηφόρες και υπο-θανατηφόρες αποκρίσεις πέντε σημαντικών τροπικών θαλάσσιων ειδών mussels (*Perna viridis*, *Perna perna*, *Brachidontes striatulus*, *Brachidontes variabilis* και *Modiolus philippinarum*) σε διάφορα επίπεδα περιεκτικότητας χλωρίου κυμαινόμενα μεταξύ 0.25 - 15mg/L. Τα πέντε αυτά είδη εκδήλωσαν κατά την έκθεση σε χλώριο θνησιμότητα σε ποσοστό 100% κατόπιν συμπλήρωσης σημαντικά διαφορετικών διαστημάτων έκθεσης, καταδεικνύοντας την ύπαρξη τάσεων λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του εκάστοτε είδους όσον αφορά στην ανθεκτικότητα σε έκθεση σε χλώριο. Κατά την έκθεση σε περιεκτικότητα 1.0mg/L υπολειμματικού χλωρίου, το είδος *B. Variabilis* και *P. Viridis* διαμορφώθηκαν διαστήματα 288 και 816 ωρών για την επίτευξη 100% θνησιμότητας. Ο χρόνος για την επίτευξη ολικής θανάτωσης των πληθυσμών μειώθηκε κατά την αύξηση της περιεκτικότητας του υπολειμματικού χλωρίου. Η επίδραση της ηλικίας των ειδών *P. Viridis*, *P. Perna*, *B. striatulus* και *M. Philippinarum* ως παράγοντας διαμόρφωσης της θνησιμότητας βρέθηκε σημαντική για περιεκτικότητες μεταξύ 1 - 5mg/L υπολειμματικού χλωρίου. Τα μεγαλύτερης ηλικίας μέλη εκδήλωσαν αυξημένη

ανθεκτικότητα σε σύγκριση με τα νεαρότερα. Όλα τα είδη παρουσίασαν σταδιακή μείωση των φυσιολογικών δραστηριοτήτων κατά την αύξηση του υπολειμματικού χλωρίου από 0 σε 1mg/L. Ωστόσο, παρατηρήθηκε διαφοροποίηση των επιδράσεων ανάλογα με το είδος όσον αφορά στους σχετικούς ρυθμούς των φυσιολογικών δραστηριοτήτων. Αντίστοιχα, η σχετική μείωση των φυσιολογικών δράσεων ως προς τον βαθμό χλωρίωσης βρέθηκε σε μικρότερο βαθμό στην περίπτωση του είδους *P. Viridis* και μέγιστη στο είδος *B. Variabilis*. Τα δεδομένα αναμφίβολα καταδεικνύουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στις θανατηφόρες και υπο-θανατηφόρες επιδράσεις των πέντε ειδών λόγω έκθεσης σε περιβάλλον χλωρίου. Οι μελετητές επισημαίνουν ότι οι επιδράσεις αυτές αναμένεται να παρουσιάσουν εξάρτηση σε μεγάλο βαθμό από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του εκάστοτε είδους.

Η ερευνητική ομάδα του Fisher (Fisher et.al, 1994) διερεύνησε τις επιδράσεις στους υδρόβιους οργανισμούς στην περίπτωση απολύμανσης με χρήση διοξειδίου του χλωρίου. Το διοξείδιο του χλωρίου είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό το οποίο δεν αντιδρά παρουσία αμμωνίας προς σύνθεση χλωραμινών ή τις οργανικές ενώσεις προς χλωριωμένα παραπροϊόντα. Κύριο παραπροϊόν κατά την διάλυσή του στην υδατική φάση αποτελεί το χλωριώδες ανιόν το οποίο έχει αποδειχθεί λιγότερο τοξικό σε σύγκριση με το υπολειμματικό χλώριο. Ωστόσο, πιο πρόσφατες μελέτες παρατήρησης των επιδράσεων σε οκτώ κατηγορίες ψαριών φαίνεται να προτείνουν την ύπαρξη ισχυρότερων επιδράσεων (USEPA). Η ερευνητική ομάδα του Fisher μελέτησε 12 επιπλέον ομάδες για την πληρέστερη εκτίμηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Τα αποτελέσματα προτείνουν τιμές LC-50 οι οποίες κυμαίνονται από 0.27mg/L (για το είδος *Daphnidae*) έως 208.76mg/L (για το είδος *Salmonidae*). Τα μέλη *Daphnidae* παρουσίασαν αξιολογικά αυξημένη ευαισθησία μεταξύ του συνόλου των μελετούμενων ειδών, με επίπεδα LC-50 χαμηλότερα κατά 44 φορές από το επόμενο περισσότερο ευαίσθητο είδος (1.19mg/L).

Η ερευνητική ομάδα του Emmanuel (Emmanuel et.al, 2004) μελέτησε την τοξικότητα στους υδρόβιους οργανισμούς λόγω έκθεσης σε προ-χλωριωμένα ρεύματα λυμάτων. Τα αποτελέσματα της έρευνας κατέδειξαν ότι η προσθήκη υποχλωριώδους νατρίου στα λύματα αυξάνει την τοξικότητα στους θαλάσσιους οργανισμούς. Τα αποτελέσματα των επιπέδων EC-50 (διάρκεια παρατήρησης 24 ώρες) για το είδος *Daphnia Magna* προτείνουν την ύπαρξη σχετικά υψηλής τοξικότητας λόγω έκθεσης σε χλωριωμένα νοσοκομειακά απόβλητα.

Η ερευνητική ομάδα του Svecovicus (Svecovicus et.al, 2005) διερεύνησε την ευπάθεια του *Rainbow Trout* ως προς την οξεία και χρόνια τοξικότητα του διοξειδίου του χλωρίου και του αντίστοιχου ανιόντος υπολογίζοντας τα επίπεδα της μέγιστης ανεκτής τοξικής περιεκτικότητας (MATC - Maximum Acceptable Toxicant Concentration). Η τοξικότητα εκτιμήθηκε κατά την παρατήρηση μελών του

είδους *Rainbow Trout* με καταγραφή αποκρίσεων κατόπιν συμπλήρωσης διαστήματος 96 ωρών και 20 ημερών (εργαστηριακή έκθεση), εκτιμώντας ένα πλήθος βιολογικών δεικτών υπό ημι-στατικές συνθήκες. Η μέση θανάσιμη περιεκτικότητα (LC-50, 96 ώρες) για την οξεία τοξικότητα υπολογίστηκε ίση με 2.2mg/L για τα νεαρά μέλη και 8.3mg/L για τα ενήλικα μέλη. Όσον αφορά στις παρατηρήσεις διάρκειας 20 ημερών, η περιεκτικότητα LC-50 διαμορφώθηκε στο 1.6mg/L για τα νεαρά μέλη. Το ανιόν του διοξειδίου του χλωρίου βρέθηκε 48 - 18 φορές λιγότερο τοξικό για τα νεαρά και ενήλικα μέλη αντίστοιχα. Όμοιες τοξικές επιδράσεις παρατηρήθηκαν στην περίπτωση και των δύο παραγώγων κατά την έκθεση νεαρών μελών του είδους *Rainbow Trout* (χρόνιες επιδράσεις). Οι επιδράσεις αφορούν κυρίως στο καρδιο-αναπνευστικό σύστημα και στις παραμέτρους ανάπτυξης, ενώ το διοξείδιο του χλωρίου παρουσιάζει αυξημένο δυναμικό εκδήλωσης τοξικών επιδράσεων ως προς το χλωριώδες ανιόν. Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των καρδιακών παλμών και της συχνότητας αναπνοής των νεαρών μελών. Ωστόσο, κατά την αύξηση του χρόνου έκθεσης, παρατηρήθηκε ανάκαμψη της καρδιο-αναπνευστικής λειτουργίας των νεαρών μελών που εκτέθηκαν σε περιβάλλον χλωριώδους ανιόντος. Παράλληλα, τα μέλη που εκτέθηκαν στο διοξείδιο του χλωρίου, εκδήλωσαν την διατήρηση μιας σημαντικής μείωσης των καρδιο-αναπνευστικών αποκρίσεων καθ' όλη τη διάρκεια των 20 ημερών παρατήρησης (εκτίμηση χρόνιων επιδράσεων). Το διοξείδιο του χλωρίου επηρέασε επίσης σε μεγαλύτερο βαθμό τις παραμέτρους ανάπτυξης κατά την μελέτη νεαρών μελών του είδους *Rainbow Trout* σε αρκετά χαμηλότερα επίπεδα περιεκτικότητας. Μειωμένοι ρυθμοί απορρόφησης οξυγόνου παρατηρήθηκαν μόνο στις καλλιέργειες οι οποίες εκτέθηκαν σε περιβάλλον διοξειδίου του χλωρίου. Με βάση την περισσότερο ευαίσθητη παράμετρο που παρατηρήθηκε στο συγκεκριμένο είδος, δηλαδή τον ρυθμό ανάπτυξης, η περιεκτικότητα MATC υπολογίστηκε ίση με 0.21mg/L για το διοξείδιο του χλωρίου και 3.3mg/L για το χλωριώδες ανιόν. Εκ των τιμών αυτών τα δύο παράγωγα κατατάσσονται στην κατηγορία των 'μετρίως τοξικών' ουσιών για τους υδρόβιους οργανισμούς.

Η ερευνητική ομάδα του Anasco (Anasco et.al, 2008) μελέτησε τις πιθανότητες εκδήλωσης άμεσων επιδράσεων του υπολειμματικού χλωρίου λόγω απολύμανσης με υποχλωριώδες νάτριο. Οι μελετητές κατέγραψαν τις αποκρίσεις στο είδος *Hyale barbicornius* (αμφίποδο) και στο είδος *Oryzias Javanicus* (ψάρι αλμυρού νερού). Η εκτίμηση της οξείας τοξικότητας βασίστηκε στην εισαγωγή διαφόρων περιεκτικότητας υποχλωριώδους νατρίου. Εκ των αποτελεσμάτων συνάγεται το συμπέρασμα ότι το υποχλωριώδες νάτριο σε υψηλές περιεκτικότητες είναι ιδιαίτερα τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς υπό εργαστηριακές συνθήκες. Παρά το γεγονός ότι δεν σημειώθηκε θανάτωση, η έκθεση σε υπολειμματικό χλώριο των νεαρών μελών επέφερε σημαντικές επιδράσεις στην ανάπτυξή τους καθώς παρατηρήθηκε η επίτευξη μικρότερου σωματικού μήκους κατά το τέλος της περιόδου έκθεσης.

Τα εκτεθειμένα μέλη του είδους *Oryzias Javanicus* επίσης κατέδειξαν σημαντικές διαφοροποιήσεις σε σύγκριση με τις καλλιέργειες αναφοράς σε όλες τις φάσεις πλην της περιόδου εκκόλαψης. Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι η χρήση 1mg/L υποχλωριώδους νατρίου για την απολύμανση οδηγεί στην διαμόρφωση επιπέδων υπολειμματικού χλωρίου τα οποία είναι σημαντικά χαμηλότερα των τιμών LC-50 και EC-50 για τα δύο αυτά είδη για μακροχρόνιες επιδράσεις (**Πίνακας 2.5.13**).

Οι Mahjoub και Loh (Mahjoub and Loh, 2008) παρουσίασαν μια μελέτη, σκοπό της οποίας αποτελεί η επιβεβαίωση της πρόκλησης ορισμένων παθολογικών μεταβολών σε μέλη του είδους *Rainbow Trout* (ηλικίας οκτώ μηνών) τα οποία βρέθηκαν νεκρά εντός 10 ημερών κατόπιν της έναρξης λειτουργίας μιας μονάδας κυκλοφορίας πόσιμου χλωριωμένου νερού. Η πρόκληση των θανάτων αποδόθηκε στην εισαγωγή χλωρίου, τα δε σώματα των ψαριών χαρακτηρίζονταν από ωχρότητα και αναιμικά συμπτώματα ενώ βρέθηκε μέτριας έκτασης πολυεστιακή δερματίτιδα. Η ιστοπαθολογική ανάλυση κατέδειξε τον σχηματισμό οιδήματος και σπογγωδών κενотоπιών στο επιθήλιο των βραγχίων καθώς και άλλων σπανιότερων παθήσεων.

Πίνακας 2.5.13. Επιδράσεις κατά την έκθεση των ειδών *Hyale barbicornius* και *Oryzias Javanicus* σε υπολειμματικό χλώριο.

Διάρκεια (ώρες)	<i>Hyale barbicornius</i>		<i>Oryzias Javanicus</i>
	LC-50	EC-50	LC-50
24	- [‡]	2.2	0.32
48	2.5	1.6	0.29
72	2.3	1.2	0.20
96	2.2	1.1	0.19

[‡]Δεν παρατηρήθηκε θανάτωση αμφιβίων κατόπιν έκθεσης επί 24 ώρες

Κεφάλαιο 3: Πειραματικό Πρωτόκολλο και Αναλυτικές Μέθοδοι

3.1 Εισαγωγή

Στο 3^ο κεφάλαιο περιγράφεται το πειραματικό πρωτόκολλο και οι πειραματικές μέθοδοι που ακολουθήθηκαν για τον προσδιορισμό της άμεσης τοξικότητας σε χλωριωμένα δείγματα λυμάτων. Στόχος των πειραμάτων αυτών ήταν ο προσδιορισμός της επίδρασης των παραπροϊόντων της χλωρίωσης σε θαλάσσιους οργανισμούς όπως είναι το βακτήριο *Vibrio fischeri*. Συγκεκριμένα μελετήθηκε η επίδραση της χλωρίωσης του ανάμεικτου υγρού σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) τύπου ενεργού ιλύος. Η πρακτική αυτή συχνά ακολουθείται σε πολλές ΕΕΛ διεθνώς και εφαρμόζεται και στη χώρα μας για την αποφυγή προβλημάτων νηματοειδούς διόγκωσης που προκαλούν συχνές αστοχίες σε ΕΕΛ.

Για τον προσδιορισμό της άμεσης τοξικότητας λήφθηκαν δείγματα ανάμεικτου υγρού από πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος που λειτουργούσε στο Κέντρο Επεξεργασίας Λυμάτων (ΚΕΛ) της Ψυτάλλειας και προστέθηκε χλώριο σε δόσεις υπολειμματικού χλωρίου που κυμαίνονταν μεταξύ 0 – 15 mg_{Cl₂}/g_{TSS-d} και στη συνέχεια μετρήθηκε η άμεση τοξικότητα σε θαλάσσια βακτήρια *Vibrio fischeri*.

Το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε ήταν απλό και περιλάμβανε πειράματα διακοπτόμενης ροής για τον προσδιορισμό της πιθανής τοξικότητας λόγω χλωρίωσης του ανάμεικτου υγρού. Σε δείγματα ανάμεικτου υγρού γνωστής συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών προστίθετο δόση χλωρίου που κυμαίνονταν μεταξύ (0 – 15 mg_{Cl₂}/g_{TSS-d}). Το δείγμα παρέμενε υπό ανάδευση επί 24 hr περίπου και στη συνέχεια εφαρμόζονταν αποχλωρίωση του δείγματος και μέτρηση της άμεσης τοξικότητας στο *Vibrio fischeri*.

Στη συνέχεια του παρόντος περιγράφονται οι πειραματικές μέθοδοι και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκτέλεση των πειραμάτων. Το 4^ο κεφάλαιο περιλαμβάνει την παρουσίαση και τον σχολιασμό των αποτελεσμάτων.

3.2 Μέτρηση τοξικότητας μέσω της βιοφωταύγειας

3.2.1 Βιοφωταύγεια

Ο όρος βιοφωταύγεια (βιοφωσφορισμός) αναφέρεται στην ικανότητα ορισμένων ειδών φυτών ή ζώων να εκπέμπουν φως. Σε αυτήν την ειδική κατηγορία οργανισμών περιλαμβάνονται είδη βακτηρίων, μυκήτων, εντόμων, ψαριών, αλγών κ.α. τα οποία απαντώνται τόσο σε χερσαία όσο και σε υδάτινα (αλμυρού και γλυκού νερού) οικοσυστήματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατηγορία των

βακτηρίων, τα οποία αναπτύσσονται κυρίως στους ωκεανούς είτε ελεύθερα ή με σχέσεις συμβίωσης - παρασιτισμού. Σε μικρότερη έκταση παρατηρείται ανάπτυξη ορισμένων ειδών βακτηρίων σε χερσαία περιβάλλοντα και σε γλυκά νερά.

Όσον αφορά στους μηχανισμούς οι οποίοι εμπλέκονται στην παραγωγή της βιοφωταύγειας, έχουν μελετηθεί κυρίως τα γένη ενάλιων βακτηρίων *Vibrio* (είδη *Vibrio harveyi*, *Vibrio fischeri*) και *Photobacterium* (είδη *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium leiognathi*) και το γένος χερσαίων βακτηρίων *Xenorhabdus* (είδος *Xenorhabdus luminescens*).

Ο έλεγχος βιοφωταύγειας δύναται να εφαρμοστεί για την εκτίμηση της τοξικότητας υγρών αποβλήτων βιομηχανικών εγκαταστάσεων διαφόρων ποιοτήτων (βιομηχανίες υφασμάτων, χαρτιού κλπ) καθώς και αστικών λυμάτων. Το είδος *Vibrio fischeri* έχει εδραιωθεί ως το πλέον χρησιμοποιούμενο είδος για την υποστήριξη των ελέγχων τοξικότητας οι οποίοι βασίζονται στην καταγραφή της αναχαίτισης της φωταύγειας. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι το *Vibrio fischeri* αποτελεί είδος εκτενώς μελετημένο και τυποποιημένο. Οι έλεγχοι τοξικότητας αυτού του τύπου δεν χαρακτηρίζονται από υψηλή επαναληψιμότητα λόγω της ύπαρξης διαφορών στην συντήρηση των μικροοργανισμών, στους χρόνους ενεργοποίησής τους, στον χειρισμό των δειγμάτων, στα πρωτόκολλα συντήρησης κ.α.

Γενικά χαρακτηριστικά του βακτηρίου Vibrio fischeri

Το βακτήριο *Vibrio fischeri* ανήκει στην ομάδα των βακτηρίων τα οποία παρουσιάζουν την ιδιότητα της βιοφωταύγειας μέσω μιας σύνθετης λειτουργίας. Αρκετοί είναι οι ρυθμιστικοί παράγοντες από τους οποίους ελέγχεται η ποσότητα του εκπεμπόμενου φωτός. Εξ αυτών οι κυριότεροι αφορούν:

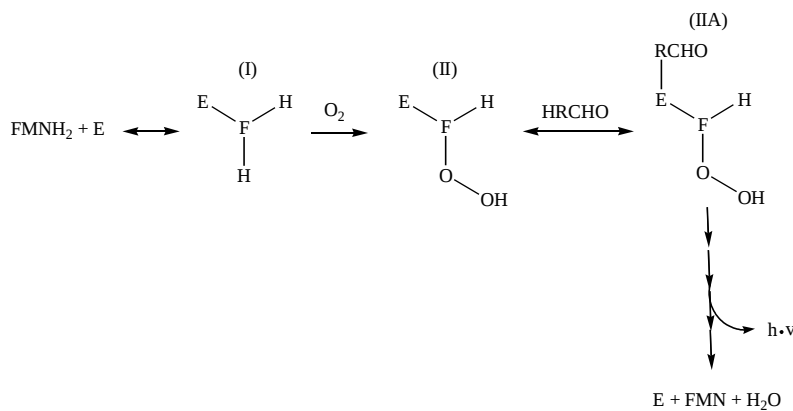
- στην εξάρτηση από την ενεργειακή κατάσταση του κυττάρου, καθώς οι αντιδράσεις της πρωτεΐνης λουσιφεράσης εξαρτώνται από την παρουσία ATP και FMNH₂,
- στην εξάρτηση από τις βιοσυνθετικές διεργασίες (ενζυμικά καταλυόμενη διεργασία).

Ήδη από το 1970 κατέστη κατανοητό από τις παρατηρήσεις των Nealson και Hastings ότι υπάρχει ένας ρυθμιστικός μηχανισμός που ελέγχει την διαδικασία της βιοφωταύγειας στο σύνολό της. Οι δυο ερευνητές ανέπτυξαν επιτυχώς καλλιέργειες βακτηρίων, στις οποίες παρατήρησαν ότι τα βακτήρια ακτινοβολούσαν φως σε υπολογίσιμες ποσότητες μόνον εάν ο πληθυσμός των κυττάρων ξεπερνούσε μια σχετικά υψηλή συγκέντρωση. Συνεπώς, η δημιουργία ενός πυκνού πληθυσμού επιφέρει την ενεργοποίηση των μηχανισμών βιοφωταύγειας. Πλέον έχει αποδειχθεί ότι η πλειονότητα των γονιδίων που συμμετέχουν στις βιοχημικές διαδικασίες της βιοφωταύγειας οργανώνονται στο οπερόνιο 'lux operon'.

Χημεία της βιοφωταύγειας

Η αντίδραση στην οποία οφείλεται η παραγωγή φωτός στα βακτήρια, περιλαμβάνει την οξείδωση αλυσίδων αλειφατικών αλδεϋδων μεγάλου μοριακού βάρους, καθώς και του φλαβινομονονουκλεοτίδιου (FMNH₂). Η προαναφερθείσα αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο λουσιφεράση το οποίο δρα ως βιοκαταλύτης. Η σχετική αντίδραση είναι της μορφής:

Η αντίδραση αυτή πρακτικά περιλαμβάνει ενδιάμεσα στάδια. Οι Hastings και Neelson (Hastings and Nelson, 1977) πρότειναν την παρακάτω ακολουθία αντιδράσεων ενζυμικής κατάλυσης για την πληρέστερη περιγραφή του φαινομένου της βιοφωταύγειας:



Το φλαβινομονονουκλεοτίδιο αντιδρά με την λουσιφεράση προς σχηματισμό ενός χημικού ενδιάμεσου (I) το οποίο σε περιβάλλον οξυγόνου μετατρέπεται σε ένα δεύτερο χημικό ενδιάμεσο (II). Παρουσία αλδεϋδης παράγεται το ενδιάμεσο IIA το οποίο τελικά οδηγεί στην έκλυση ακτινοβολίας. Οι αντιδράσεις εκπομπής χαρακτηρίζουν το εκάστοτε είδος μικροοργανισμού, ενώ η οξείδωση παρουσία μοριακού οξυγόνου αποτελεί το μοναδικό κοινό στοιχείο.

Τοξικομετρία μέσω μέτρησης της βιοφωταύγειας

Η εκτίμηση της αναχαιτίσης της ανάπτυξης του ενάλιου οργανισμού *Vibrio fischeri* τελείται μέσω μεθόδων οι οποίες χρησιμοποιούν τους τρεις ακόλουθους τύπους βακτηρίων:

- καταψυγμένα σε υγρή μορφή βακτήρια στους -20°C (liquid dried bacteria)
- καταψυγμένα σε στερεή μορφή βακτήρια στους -20°C (freeze dried bacteria)
- freshly prepared bacteria

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας περιλαμβάνει την χρήση βακτηρίων τύπου liquid dried. Για την λήψη αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το όργανο μέτρησης τοξικότητας LUMIStox 300 της γερμανικής εταιρείας Dr Lange, το οποίο επιτρέπει την εκτέλεση της μεθόδου κατά DIN και ISO.

Γενικότερα, η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται για τις εξής κατηγορίες δειγμάτων:

- λύματα
- υδάτινα εκχυλίσματα, αποστάγματα και διηθήματα (δείγματα εκχυλισμάτων από εδάφη ή στερεά απόβλητα)
- γλυκά ύδατα (υπόγεια ή επιφανειακά)
- αλμυρά ή υφάλμυρα ύδατα

3.2.2 Γενικά Στοιχεία της Μεθόδου

Ο έλεγχος βιοφωταύγειας αποτελεί μια βιολογική δοκιμή η οποία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αθροιστικής επίδρασης τοξικών ουσιών. Βασίζεται στο γεγονός ότι τα τοξικά παράγωγα εξασθενούν την βιοφωταύγεια σε βαθμό ανάλογο της περιεκτικότητάς τους στα υπό εξέταση δείγματα.

Η αναχαίτιση της εκπομπής φωτός στο είδος *Vibrio fischeri* προσδιορίζεται με μια σειρά από ελέγχους διαλείποντος χαρακτήρα. Η μέθοδος βασίζεται στην ανάμιξη συγκεκριμένων όγκων των προς εξέταση δειγμάτων με αιώρημα βακτηρίων. Κατόπιν συμπλήρωσης ενός ορισμένου χρονικού διαστήματος επώασης καταγράφεται η μείωση στην βιοφωταύγεια, εφόσον αυτή υπάρχει. Η δράση αναχαίτισης του εξεταζόμενου δείγματος δύναται να εκφρασθεί ως τιμή EC-20, τιμή EC-50 ή ως τιμή GL εφόσον ολοκληρωθεί η εξέταση μιας σειράς επιπέδων αραιώσης.

Δειγματοληψία

Τα δείγματα των οποίων η τοξικότητα πρόκειται να εξεταστεί θα πρέπει να φυλάσσονται σε αδρανή καθαρά δοχεία. Επιθυμητή είναι η επίτευξη ελάχιστης δυνατής χρονικής διάρκειας για την ολοκλήρωση του πειράματος. Σε ειδικές περιπτώσεις κατά τις οποίες κρίνεται απαραίτητη η επιμήκυνση του χρόνου επώασης (έως 48 ώρες), τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-5°C στο σκοτάδι. Περαιτέρω παράταση του χρόνου επώασης επιβάλλει την αποθήκευση των καλλιεργειών στην κατάψυξη. Σε κάθε περίπτωση η συντήρηση των δειγμάτων δεν θα πρέπει να περιλαμβάνει την χρήση χημικών ουσιών. Η ρύθμιση της τιμής του pH και η προσθήκη χλωριούχου νατρίου προς επίτευξη της επιθυμητής αλατότητας θα πρέπει να προηγούνται της

διαδικασίας εκτίμησης της τοξικότητας.

Παρεμβολές

Τα αποτελέσματα του ελέγχου τοξικότητας καθώς και η επαναληψιμότητα της μεθόδου ενδέχεται να υποβαθμιστούν κατά την εξέταση αδιάλυτων, μερικώς διαλυτών, πτητικών ή δραστικών - παρουσία του υδατικού διαλύματος αραίωσης - ουσιών. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται επίσης στην περίπτωση ανάλυσης ισχυρά χρωματισμένων δειγμάτων ή δειγμάτων τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλή θολότητα καθώς ενδέχεται να προκαλέσουν μείωση της μετρούμενης φωταύγειας λόγω απορρόφησης ή σκέδασης του φωτός. Ο συγκεκριμένος παράγοντας σφάλματος περιορίζεται είτε με την χρήση κυψελίδας διπλού θαλάμου είτε - στα πρόσφατα μοντέλα - με ειδικά ηλεκτρονικά συστήματα.

Η εξέταση υδατικών δειγμάτων με υψηλή απαίτηση σε οξυγόνο αναμένεται να επιφέρει έλλειψη του απαραίτητου για την βιοφωταύγεια οξυγόνου (0,5mg/L). Πέραν τούτου, δείγματα επιβαρυνμένα με εύκολα βιοαποδομήσιμους οργανικούς ρύπους (π.χ. ουρία, πεπτόνη) δύναται να χαρακτηριστούν ως ακατάλληλα για την καταγραφή αξιόπιστων αποτελεσμάτων.

Στις περιπτώσεις κατά τις οποίες η περιεκτικότητα των αλάτων στο αρχικό δείγμα υπερβαίνει τα 30g/L ως προς το χλωριούχο νάτριο ή άλλες ενώσεις που επιφέρουν όμοιας έντασης ωσμωτικά φαινόμενα, ενδέχεται να αναπτυχθούν υπερ-ωσμωτικές τάσεις. Η τελική περιεκτικότητα στα δείγματα δεν θα πρέπει να υπερβαίνει την ώσμωση των 35g/L NaCl.

3.2.3 Πειραματικό Πρωτόκολλο της Μεθόδου

Προσδιορισμός της τοξικότητας λυμάτων με το όργανο LUMISTox 300

Αντιδραστήρια: Τα βακτήρια τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των εργαστηριακών παρατηρήσεων ανήκουν στο είδος *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Το βακτηριακό αιώρημα παρασκευάζεται από εμπορικά διαθέσιμα ξηρά αντιδραστήρια τα οποία συντηρούνται στην κατάψυξη σε θερμοκρασία -18 έως -20 °C. Η παραγωγή ακτινοβολίας λαμβάνει χώρα κατόπιν ενεργοποίησης των ακινητοποιημένων φωτοβακτηρίων με κατάλληλο διάλυμα.

Κύρια συστατικά του διαλύματος ενεργοποίησης αποτελούν η γλυκόζη και το χλωριούχο νάτριο. Πέραν αυτών, σε μικρότερες ποσότητες περιέχεται ένυδρο χλωριούχο μαγνήσιο, χλωριούχο κάλιο και N-[2-υδροξαιθυλο]πιπεραζινο-N-[2-αιθανοσουλφονικό οξύ]. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στην τιμή 7 και τα φιαλίδια συντηρούνται στους -20°C ή μετά από τήξη στους $4-8$ °C. Το διάλυμα ενεργοποίησης και τα ενεργοποιημένα βακτήρια τοποθετούνται σε θερμοστατικά ελεγχόμενες θήκες

(thermoblocks) για την διατήρησή τους σε θερμοκρασία $15\pm 1^{\circ}\text{C}$. Κατά την διάρκεια του ελέγχου η θερμοκρασία δεν θα πρέπει να μεταβάλλεται περισσότερο από 0.2°C .

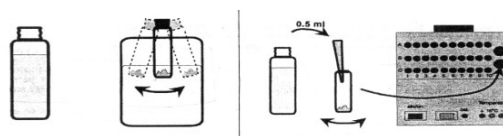
Για τη εκτίμηση της τοξικότητας με την χρήση του οργάνου LUMISTox 300 της γερμανικής εταιρείας Dr Lange ακολουθούνται τα ακόλουθα βήματα:

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

Ενεργοποίηση των βακτηρίων

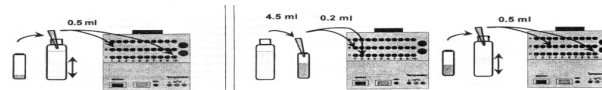
Για την ενεργοποίηση των ακινητοποιημένων φωτοβακτηρίων χρησιμοποιείται διάλυμα γλυκόζης/NaCl. Το διάλυμα αυτό λαμβάνεται από τον χώρο συντήρησης (κατάψυξη θερμοκρασίας -20°C), αφήνεται να αποψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου, αναδεύεται και εν συνεχεία τοποθετείται στην ειδική θέση στον θερμοστατούμενο δίσκο LUMISTherm (15°C).

Το φιαλίδιο των ακινητοποιημένων μικροοργανισμών τοποθετείται εντός ποτηριού το οποίο περιέχει νερό (θερμοκρασίας περίπου 20°C) προς ομοιόμορφη απόψυξη. Κατόπιν συμπλήρωσης χρονικού διαστήματος διάρκειας δύο λεπτών τελείται προσθήκη 0.5mL από το διάλυμα ενεργοποίησης στο φιαλίδιο των βιοβακτηρίων και το μείγμα ανακινείται προς ομογενοποίηση. Το φιαλίδιο αυτό τοποθετείται επίσης στην ειδική θέση στον δίσκο LUMISTherm για δεκαπέντε λεπτά (εικόνα).



Εικόνα 3.1.1. Πορεία ενεργοποίησης του βακτηρίου *Vibrio fischeri*.

Εν συνεχεία, το αιώρημα των μικροοργανισμών αναμειγνύεται με τον υπολειπόμενο όγκο του διαλύματος ενεργοποίησης και μεταφέρονται ποσότητες 0.5mL σε κάθε θέση (B1 έως C10, 20 θέσεις). Οι κυβέττες - οι οποίες έχουν τοποθετηθεί στον δίσκο προ της πλήρωσης τους με τους ενεργοποιημένους μικροοργανισμούς - ρυθμίζονται θερμοστατικά για 15 λεπτά.



Εικόνα 3.1.2. Τοποθέτηση του αιωρήματος μικροοργανισμών στις κυβέττες.

Προετοιμασία των δειγμάτων

Πριν την εκτίμηση της τοξικότητας τα δείγματα που χαρακτηρίζονται από αυξημένη θολότητα υφίστανται φίλτρανση με ειδικού τύπου πολυσουλφονικά φίλτρα καθώς η χρήση φίλτρων νιτρικής κυτταρίνης ή οξικής κυτταρίνης ενδέχεται να προκαλέσει αναχαίτιση η οποία δεν σχετίζεται με τα δείγματα.

Ελέγχεται η τιμή του pH και κατά περίπτωση γίνεται ρύθμισή του στο εύρος 6-8 λαμβάνοντας υπόψη ότι η ρύθμιση αυτή επιβάλλει έναν επιπρόσθετο παράγοντα σφάλματος. Για την επίτευξη όμοιων συνθηκών με αυτές που απαντώνται στα φυσικά ωκεάνια συστήματα πραγματοποιείται προσθήκη στερεού χλωριούχου νατρίου προς διαμόρφωση τελικής περιεκτικότητας 2% (w/v) (διάλυτοποίηση 0.3g NaCl ανά 15mL δείγματος). Εάν η αλατότητα υπερβαίνει την τιμή 20g/L (αντίστοιχη τιμή αγωγιμότητας 35mS/cm), δεν απαιτείται προσθήκη επιπλέον ποσότητας χλωριούχου νατρίου. Σε κάθε περίπτωση, η περιεκτικότητα σε χλωριούχο νάτριο των προς ανάλυση δειγμάτων δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 50g/L (αντίστοιχη τιμή αγωγιμότητας 70mS/cm).

Καθορισμός και προετοιμασία των αραιώσεων

Ανάλογα με τον αριθμό των προς ανάλυση δειγμάτων και την διαθεσιμότητα των αντιδραστηρίων επιλέγεται ο βέλτιστος αριθμός των αραιώσεων ώστε να καλυφθεί ένα ικανοποιητικό εύρος. Για τον προσδιορισμό τιμών EC-20 και EC-50 απαιτούνται τουλάχιστον τρία επίπεδα αραιώσεων με αναχαίτιση μεταξύ 10 - 90% για την γραμμική παλινδρόμηση.

Διεξαγωγή των μετρήσεων

Κατά την έναρξη του λογισμικού LUMISsoft 4 επιλέγεται σε κάθε σειρά μετρήσεων μία νέα φόρμα στην οποία εισάγονται σε πρώτη φάση τα γενικά στοιχεία του πειράματος όπως η ημερομηνία διεξαγωγής και μια ονομασία για την δημιουργία αντίστοιχου αρχείου αποθήκευσης των αποτελεσμάτων. Ακολουθεί η εισαγωγή των κανόνων βάσει των οποίων θα πραγματοποιηθεί ο έλεγχος τοξικότητας. Στη φάση αυτή εισάγεται ο αριθμός των δειγμάτων τα οποία θα αναλυθούν, ο χρόνος ο οποίος μεσολαβεί μεταξύ δύο διαδοχικών μετρήσεων της βιοφωταύγειας καθώς και ο χρόνος επώασης των καλλιιεργειών. Εν συνεχεία, συμπληρώνονται όλα τα απαραίτητα στοιχεία που αφορούν στον

χειρισμό του εκάστοτε δείγματος. Το βήμα αυτό περιλαμβάνει τον ορισμό των επιπέδων αραιώσεων κατατάσσοντας τα δείγματα κατά αύξουσα σειρά ως προς την περιεκτικότητα (τοποθέτηση της κυβέττας με την μεγαλύτερη αραιώση στην πρώτη θέση). Κατόπιν ορθής συμπλήρωσης όλων των δεδομένων εισόδου, το πρόγραμμα κατά την εκκίνηση της διαδικασίας μέτρησης συνδέεται με το όργανο ώστε πλέον ο έλεγχος να τελείται μέσω του υπολογιστή (χρονικά διαστήματα μετρήσεων, χρόνος επώασης, θέση δείγματος προς μέτρηση κλπ).

Ακολουθεί η χειροκίνητη εισαγωγή των δειγμάτων σύμφωνα με την ακόλουθη διαδικασία:

Εισάγεται η κυβέττα από την θέση B1 στην θέση μέτρησης και η ανάλυση ενεργοποιείται με την επιλογή measure (με την πρώτη μέτρηση της βιοφωταύγειας εκκινείται η χρονομέτρηση των διαστημάτων μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων και του χρόνου επώασης). Κατόπιν ολοκλήρωσης της μέτρησης, η κυβέττα εξέρχεται από το όργανο, εισάγεται σε αυτήν όγκος 0.5mL από την θέση A1 και στην συνέχεια τοποθετείται ξανά στην θέση B1 προς επώαση.

Κατά τον ίδιο τρόπο μεταφέρεται από την θέση C1 η κυβέττα στο όργανο και όταν το χρονόμετρο συμπληρώσει το προεπιλεγμένο χρονικό διάστημα, τελείται η δεύτερη μέτρηση. Εν συνεχεία ακολουθείται διαδικασία όμοια με αυτή που περιγράφηκε για την κυβέττα της θέσης B1. Η ίδια λογική ακολουθείται για όλα τα επόμενα δείγματα και το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η λήψη των τιμών της αρχικής (άνευ παρεμπόδισης) βιοφωταύγειας (I_0).

Κατόπιν συμπλήρωσης του χρονικού διαστήματος επώασης, καταγράφονται οι τιμές βιοφωταύγειας των καλλιεργείων των φωτοβακτηρίων κατόπιν της αλληλεπίδρασής τους με τα ενδεχομένως τοξικά δείγματα (I_t).

Προσδιορισμός της αναχαίτισης

Ο προσδιορισμός του συντελεστή διόρθωσης των αρχικών τιμών αναχαίτισης τελείται βάσει των τιμών φωταύγειας του δείγματος αναφοράς (υδατικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου 2%) το οποίο τοποθετείται στην πρώτη θέση στον δίσκο των δειγμάτων. Ο συντελεστής αυτός ισούται με τον μέσο όρο των τιμών του πηλίκου I_t/I_0 για τα δείγματα στις θέσεις B_1 και C_1 . Μέσω αυτής της τιμής διορθώνονται όλες οι αρχικές τιμές φωταύγειας πριν την χρήση τους ως τιμές αναφοράς για τον προσδιορισμό της παρεμπόδισης. Οι διορθωμένες τιμές αντιστοιχούν στο αποτέλεσμα του γινομένου του συντελεστή διόρθωσης και των αρχικών τιμών. Ο υπολογισμός της αναχαίτισης πραγματοποιείται με χρήση της ακόλουθης σχέσης.

$$H_t = \frac{I_{ct} - I_t}{I_{ct}} \cdot 100$$

Η τελική τιμή αναχαιτίσης για κάθε αραίωση προκύπτει από τον υπολογισμό του μέσου όρου των δύο αναχαιτίσεων (των σειρών Β και C).

3.3 Αναλυτικές Μέθοδοι

3.3.1 Μέτρηση Αιωρούμενων Στερεών

Λόγω του γεγονότος ότι οι δόσεις χλωρίου εκφράζονται σε μονάδες mg_{Cl}/g_{TSS}, πριν την πραγματοποίηση των χλωρίσεων υπολογίστηκαν τα ολικά αιωρούμενα στερεά (total suspended solids-TSS) και τα πτητικά αιωρούμενα στερεά στο ανάμεικτο υγρό (MLVSS (mixed-liquor *volatile* suspended solids)). Σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας καταγράφηκε η μάζα ξηρών φίλτρων GF/C διαμέτρου 4,7cm τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την διήθηση των δειγμάτων υπό κενό. Εν συνεχεία τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο θερμοκρασίας 103°C για 60 λεπτά. Τα φίλτρα κατόπιν ψύξης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε ξηραντήρα ζυγίστηκαν εκ νέου προς προσδιορισμό των ολικών αιωρούμενων στερεών. Για τον υπολογισμό των πτητικών αιωρούμενων στερεών τα ίδια φίλτρα τοποθετήθηκαν ξανά σε φούρνο θερμοκρασίας 550°C για 15 λεπτά. Κατόπιν ψύξης στον ξηραντήρα και ζύγισης, υπολογίστηκε η τιμή των πτητικών αιωρούμενων στερεών.

Υπολογισμοί

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά υπολογίζονται ως το πηλίκο της διαφοράς της μάζας του φίλτρου κατά την έξοδο από τον φούρνο θερμοκρασίας 103°C από την αρχική μάζα ($m_{103} - m_{fil}$), προς τον όγκο του διηθημένου δείγματος (V_{sam}). Το πηλίκο της διαφοράς της μάζας του φίλτρου κατά την έξοδό του από τον φούρνο θερμοκρασίας 550°C από την αντίστοιχη μάζα κατά την έξοδο από τον φούρνο θερμοκρασίας 103°C ($m_{103} - m_{550}$) προς τον όγκο του δείγματος αντιστοιχεί στην τιμή VSS.

$$TSS = \frac{m_{103} - m_{fil}}{V_{sam}}$$

$$VSS = \frac{m_{103} - m_{550}}{V_{sam}}$$

3.3.2 Μέτρηση Υπολειμματικού Χλωρίου

Οι δόσεις χλωρίου υπολογίστηκαν ως mg_{Cl}/g_{TSS} και mg/L στην περίπτωση χλωρίωσης του ανάμεικτου

υγρού και της εκροής στην τελική έξοδο αντίστοιχα. Η χλωρίωση πραγματοποιήθηκε με προσθήκη διαλύματος χλωρίνης περιεκτικότητας 500mg/L. Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε με αραίωση χλωρίνης εμπορίου (5g_{Cl}/100g) κατά δύο τάξεις μεγέθους (1/100). Στα πλαίσια της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκαν συνολικά τέσσερις χλωρίώσεις (τρεις σε ανάμεικτο υγρό και μια σε δείγμα από την τελική έξοδο της πιλοτικής μονάδας επεξεργασίας της Ψυτάλλειας).

Ο προσδιορισμός του υπολειμματικού χλωρίου πραγματοποιείται με χρήση του οργάνου προσδιορισμού χλωριόντων της εταιρείας HANNA Instruments (μοντέλο HI 96701). Κατόπιν διήθησης του χλωριωμένου μείγματος, λαμβάνεται ποσότητα από το διήθημα (όγκος 10mL) και το δείγμα τοποθετείται στην ειδική θέση μέτρησης ώστε να πραγματοποιηθεί μηδενισμός. Εν συνεχεία, προστίθεται ο δείκτης ελεύθερου χλωρίου (Free Chlorine Reagent HI 93701-0, HANNA Instruments) ο οποίος βρίσκεται σε φακέλους προκαθορισμένων δόσεων και το δείγμα ανακινείται έως ότου επιτευχθεί πλήρης διαλυτοποίηση της στερεής σκόνης. Τέλος, το δείγμα τοποθετείται και πάλι στην ειδική θέση λήψης της μέτρησης. Μετά την ολοκλήρωση της ανάλυσης (1 λεπτό) η τιμή η οποία εμφανίζεται στην οθόνη του οργάνου αντιστοιχεί στην ποσότητα του υπολειμματικού χλωρίου, εκφρασμένη σε μονάδες mg_{Cl}/L.

Πέραν των μετρήσεων υπολειμματικού χλωρίου, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του χλωρίου στο διάλυμα το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την χλωρίωση των δειγμάτων προς επαλήθευση της περιεκτικότητάς του.

Κεφάλαιο 4: Παρουσίαση και Σχολιασμός Πειραματικών Αποτελεσμάτων

4.1 Εισαγωγή

Το 4^ο κεφάλαιο περιλαμβάνει την περιγραφή και τον σχολιασμό των αποτελεσμάτων των πειραμάτων που εκτελέστηκαν με στόχο τον προσδιορισμό της άμεσης τοξικότητας χλωριωμένων λυμάτων. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση της χλωρίωσης του ανάμικτου υγρού σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) τύπου ενεργού ιλύος. Η πρακτική αυτή συχνά ακολουθείται σε πολλές ΕΕΛ διεθνώς και εφαρμόζεται και στη χώρα μας για την αποφυγή προβλημάτων νηματοειδούς διόγκωσης που προκαλούν συχνές αστοχίες σε ΕΕΛ.

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, για τον προσδιορισμό της άμεσης τοξικότητας λήφθηκαν δείγματα ανάμικτου υγρού από πιλοτικό σύστημα ενεργού ιλύος που λειτουργούσε στο Κέντρο Επεξεργασίας Λυμάτων (ΚΕΛ) της Ψυτάλλειας και προστέθηκε χλώριο σε δόσεις υπολειμματικού χλωρίου που κυμαίνονταν μεταξύ (0 – 15 mg_{Cl₂}/g_{TSS}-d). Εν συνεχεία μετρήθηκε η άμεση τοξικότητα σε καλλιέργειες ενάλιων βακτηρίων του είδους *Vibrio fischeri*.

4.2 Αποτελέσματα πειραμάτων

Οι δόσεις χλωρίου υπολογίστηκαν ως mg_{Cl₂}/g_{TSS} και mg/L στην περίπτωση χλωρίωσης του ανάμικτου υγρού και της εκροής στην τελική έξοδο αντίστοιχα. Η χλωρίωση πραγματοποιήθηκε με προσθήκη διαλύματος χλωρίνης περιεκτικότητας 500mg/L. Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε με αραιώση χλωρίνης εμπορίου (5g_{Cl₂}/100g) κατά δύο τάξεις μεγέθους (1/100). Στα πλαίσια της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκαν συνολικά τέσσερις χλωρίώσεις (τρεις σε ανάμικτο υγρό και μια σε δείγμα από την τελική έξοδο της πιλοτικής μονάδας επεξεργασίας της Ψυτάλλειας).

4.2.1 Αιωρούμενα στερεά

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά υπολογίζονται ως το πηλίκο της διαφοράς της μάζας του φίλτρου κατά την έξοδο από τον φούρνο θερμοκρασίας 103°C από την αρχική μάζα ($m_{103} - m_{fil}$), προς τον όγκο του διηθούμενου δείγματος (V_{sam}). Το πηλίκο της διαφοράς της μάζας του φίλτρου κατά την έξοδό του από τον φούρνο θερμοκρασίας 550°C από την αντίστοιχη μάζα κατά την έξοδο από τον φούρνο θερμοκρασίας 103°C ($m_{103} - m_{550}$) προς τον όγκο του δείγματος αντιστοιχεί στην τιμή VSS.

$$TSS = \frac{m_{103} - m_{fil}}{V_{sam}}$$

$$VSS = \frac{m_{103} - m_{550}}{V_{sam}}$$

Τα αποτελέσματα συγκεντρώνονται στον **Πίνακα 4.2.1**.

Πίνακας 4.2.1 Αποτελέσματα μέτρησης αιωρούμενων ολικών και πηκτικών στερεών σε δείγματα ανάμικτου υγρού.

Δείγμα	Τύπος	V _{sam} (mL)	m _{fil} (g)	m ₁₀₃ (g)	m ₅₅₀ (g)	TSS (g/L)	VSS (g/L)
1	Ανάμεικτο υγρό	5	0.0844	0.1046	0.0870	4.04	3.52
2	Τελική έξοδος	100	0.0843	0.0893	0.0849	0.050	0.044
3	Ανάμεικτο υγρό	10	0.0839	0.1066	0.0884	2.27	1.82

4.2.2 Χλωρίωση των δειγμάτων

Οι δόσεις χλωρίου υπολογίστηκαν ως mg_{Cl}/g_{TSS} και mg/L στην περίπτωση χλωρίωσης του ανάμικτου υγρού και της εκροής στην τελική έξοδο αντίστοιχα. Η χλωρίωση πραγματοποιήθηκε με προσθήκη διαλύματος χλωρίνης περιεκτικότητας 500mg/L. Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε με αραίωση χλωρίνης εμπορίου (5g_{Cl}/100g) κατά δύο τάξεις μεγέθους (1/100). Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.2.2** στα πλαίσια της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκαν συνολικά τέσσερις χλωρίσεις: τρεις σε ανάμεικτο υγρό και μια σε δείγμα από την τελική έξοδο της πιλοτικής μονάδας επεξεργασίας της Ψυτάλλειας.

Στο Δείγμα 1 (ανάμεικτο υγρό) πραγματοποιήθηκε χλωρίωση σε δόση 6mg_{Cl}/g_{TSS}, στο Δείγμα 3 σε δόσεις 10 και 15mg_{Cl}/g_{TSS} ενώ σε δείγμα της τελικής εξόδου εισήχθη δόση 10mg_{Cl}/L.

Η εύρεση του απαιτούμενου όγκου του διαλύματος χλωρίνης στην περίπτωση των ανάμεικτων υγρών προκύπτει από τους ακόλουθους υπολογισμούς:

Απόδοση σε χλώριο: [TSS]×[Δόση]

Μάζα χλωρίου (m_{Cl}): [απόδοση σε χλώριο]×[V_{sam}]

Όγκος διαλύματος χλωρίνης: [m_{Cl}]/[περιεκτικότητα διαλύματος χλωρίωσης (500mg/L)]

Πίνακας 4.2.2 Αποτελέσματα υπολογισμών εφαρμοσμένης δόσης ελεύθερου χλωρίου στα πειράματα χλωρίωσης του ανάμεικτου υγρού.

Δείγμα	Δόση ($\text{mg}_{\text{Cl}}/\text{g}_{\text{TSS}}\cdot\text{d}$)	V_{sam} (mL)	TSS (g/L)	Απόδοση σε Cl (mgCl/L)	m_{Cl} (mg)	V_{solCl} (mL)
1	6	500	4.04	24.24	12.12	24.2
3	10	400	2.27	22.7	9.08	18.2
3	15	400	2.27	34.05	13.62	27.2

Όσον αφορά στην τελική έξοδο, προστέθηκαν συνολικά 10mL του ίδιου διαλύματος χλωρίνης (500mg/L) σε 500mL δείγματος.

Ο συνολικός όγκος του διαλύματος χλωρίνης που απαιτήθηκε σε κάθε περίπτωση μοιράστηκε σε τρεις ισόποσες εγχύσεις. Τα μείγματα παρέμειναν υπό μαγνητική ανάδευση επί 24 ώρες περίπου (από την πρώτη έγχυση) σε θερμοκρασία δωματίου.

Πριν την εκτίμηση της τοξικότητας των δειγμάτων απαιτείται η απομάκρυνση του υπολειμματικού χλωρίου (εφόσον υπάρχει) ούτως ώστε να αποκλειστεί το ενδεχόμενο καταγραφής παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των φωτοβακτηρίων σε χλώριο παράλληλα με την έκθεσή τους στα παραπροϊόντα χλωρίωσης. Ο προσδιορισμός του υπολειμματικού χλωρίου πραγματοποιείται με χρήση του οργάνου προσδιορισμού χλωριόντων της εταιρείας HANNA Instruments (μοντέλο HI 96701) όπως περιγράφηκε στο 3^ο κεφάλαιο.

Η απομάκρυνση του υπολειμματικού χλωρίου πραγματοποιείται με προσθήκη μικρής ποσότητας θειώδους νατρίου (50mg/L). Υπολειμματικό χλώριο βρέθηκε στις περιπτώσεις χλωρίωσης σε δόσεις 10 και 15 $\text{mg}_{\text{Cl}}/\text{g}_{\text{TSS}}$. Μετά την προσθήκη μετρήθηκε εκ νέου το υπολειμματικό χλώριο ώστε να επιβεβαιωθεί ότι λαμβάνει την τιμή μηδέν (τιμές έως 0.1mg/L θεωρούνται ότι αντιστοιχούν σε μηδενικό υπολειμματικό χλώριο). Οι αρχικές και τελικές (κατόπιν αποχλωρίωσης) τιμές υπολειμματικού χλωρίου καθώς και οι τελικές τιμές pH παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.2.3**.

4.2.3 Προσδιορισμός της τοξικότητας λυμάτων με το όργανο LUMIStox 300

Για την εκτίμηση της τοξικότητας με την χρήση του οργάνου LUMIStox 300 της γερμανικής εταιρείας Dr Lange ακολουθήθηκαν τα ακόλουθα βήματα:

- Ενεργοποίηση των βακτηρίων
- Προετοιμασία των δειγμάτων

- Καθορισμός και προετοιμασία των αραιώσεων
- Διεξαγωγή των μετρήσεων

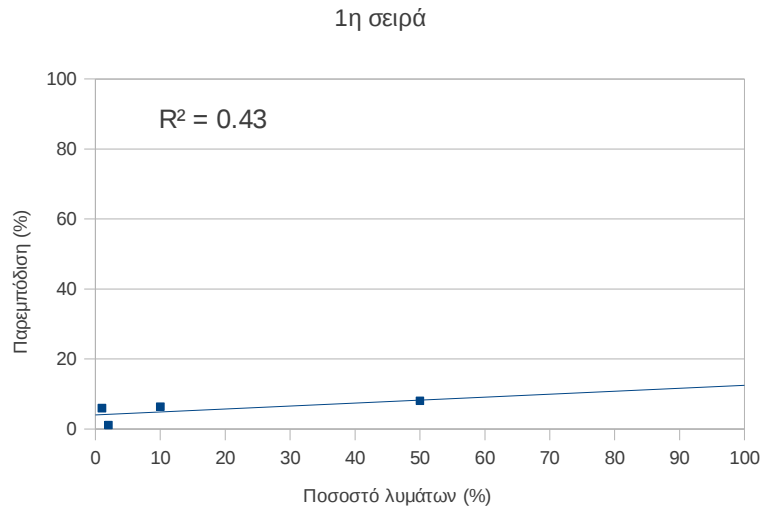
Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους ακόλουθους πίνακες (Πίνακες 4.2.4 – 4.2.6). Για βέλτιστη εποπτεία δίδονται τα αντίστοιχα διαγράμματα παρεμπόδισης ως προς το ποσοστό συμμετοχής των δειγμάτων.

Πίνακας 4.2.3. Αρχικά και τελικά επίπεδα (προ και μετά αποχλωρίωσης) υπολειμματικού χλωρίου.

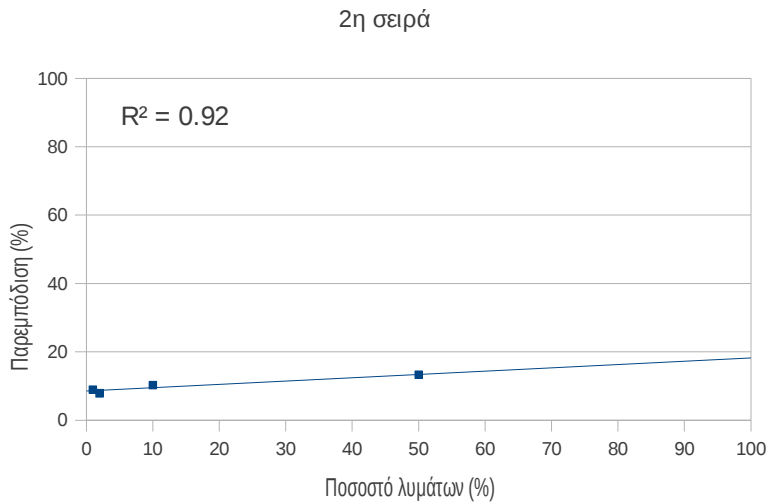
Δείγμα	Δόση (mg _{Cl} /g _{TSS})	Αρχικό υπολειμματικό χλώριο (mg _{Cl} /L)	Εφαρμογή αποχλωρίωσης	Τελικό υπολειμματικό χλώριο (mg _{Cl} /L)	pH
1	6	0.09	όχι	-	7.6
3	10	0.17	ναι	0.06	7.7
3	15	0.25	ναι	0.00	7.7
Τελική έξοδος	10	1.99	ναι	0.03	7.8

Πίνακας 4.2.4 Αποτελέσματα παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων σε διάφορα επίπεδα μη χλωριωμένων λυμάτων τελικής εξόδου.

Τελική αραιώση	Παρεμπόδιση (%)
1^η σειρά / 2^η σειρά	
1:100	5.94/8.91
1:50	1.08/7.88
1:10	6.38/10.22
1:2	8.04/13.28



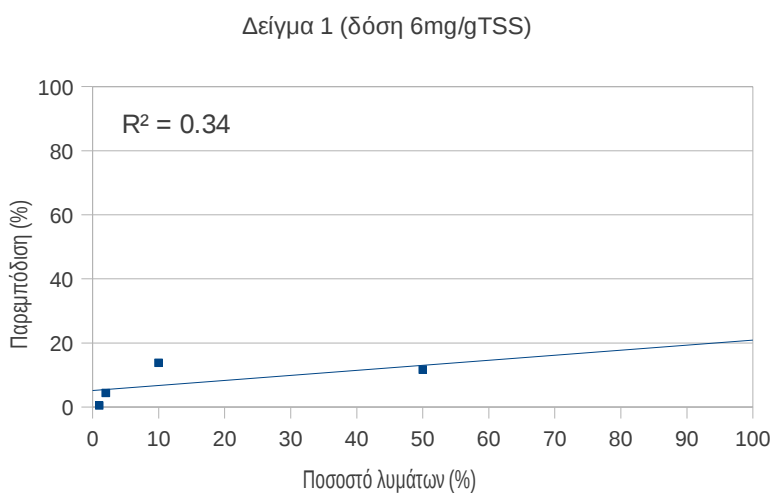
Διάγραμμα 4.2.1 Παρεμπόδιση (%) της πρώτης σειράς μετρήσεων του μη χλωριωμένου δείγματος τελικής εξόδου.



Διάγραμμα 4.2.2 Παρεμπόδιση (%) της δεύτερης σειράς μετρήσεων του μη χλωριωμένου δείγματος τελικής εξόδου.

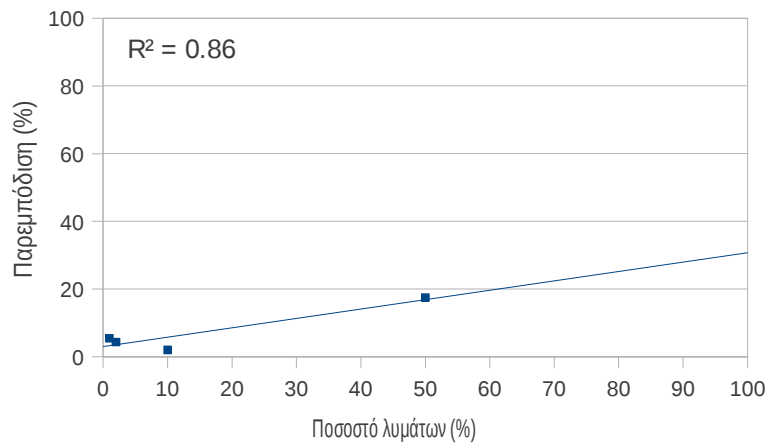
Πίνακας 4.2.5 Αποτελέσματα παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων σε χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού (Δείγμα 1) και μη χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου (Δείγμα 2).

Δείγμα 1 (δόση 6 mg_{Cl}/g_{TSS}-d)	
Τελική αραίωση	Παρεμπόδιση (%)
1:100	0.48
1:50	4.41
1:10	13.8
1:2	11.7
Δείγμα 2 (μη χλωριωμένο δείγμα)	
1:100	5.46
1:50	4.37
1:10	2.02
1:2	17.52



Διάγραμμα 4.2.3 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 1 (χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού).

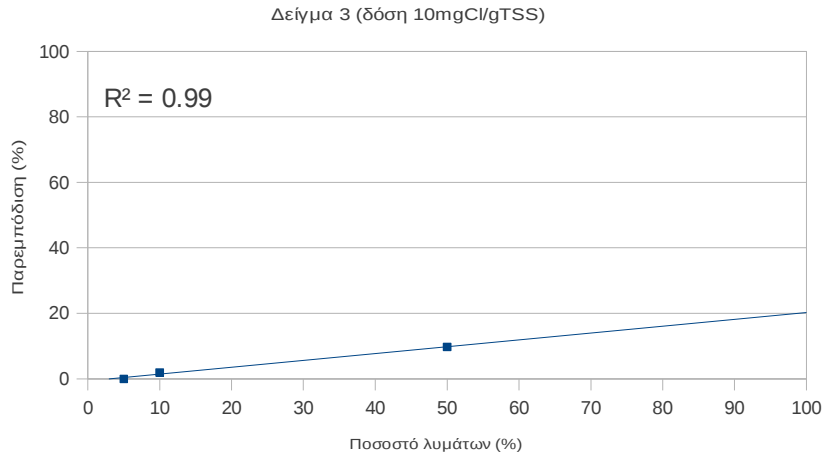
Δείγμα 2



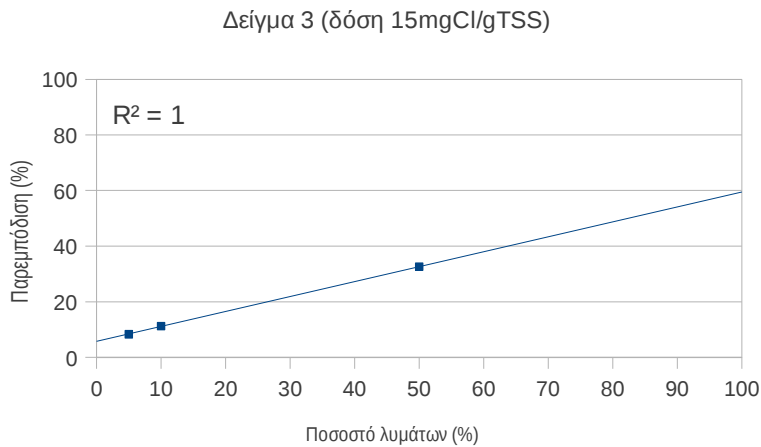
Διάγραμμα 4.2.4 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 2 (μη χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου).

Πίνακας 4.2.6 Αποτελέσματα παρεμπόδισης λόγω έκθεσης των καλλιεργειών των φωτοβακτηρίων σε διάφορα επίπεδα χλωριωμένων λυμάτων (δείγματα ανάμεικτου υγρού ή τελικής εξόδου).

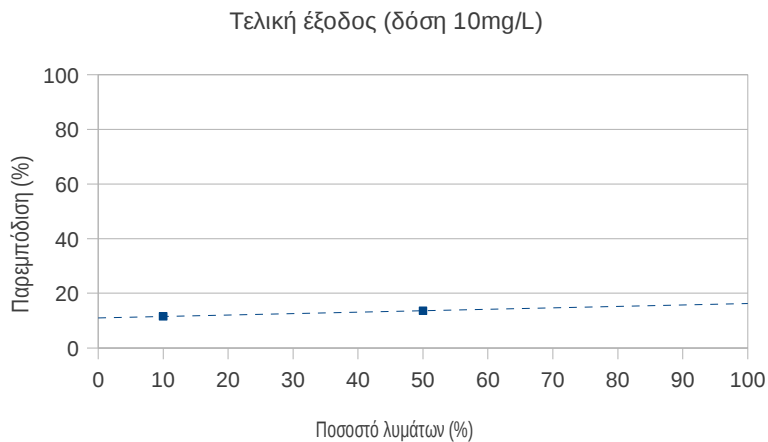
Δείγμα 3 (δόση 10mg_{Cl}/g_{TSS}-d)	
Τελική αραίωση	Παρεμπόδιση (%)
1:20	-1.73
1:10	1.96
1:2	9.78
Δείγμα 3 (δόση 15mg_{Cl}/g_{TSS}-d mg_{Cl}/g_{TSS})	
1:20	8.31
1:10	11.25
1:2	32.61
Τελική έξοδος (δόση 10mg/L)	
1:10	11.54
1:2	13.62



Διάγραμμα 4.2.5 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 3 (χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού).



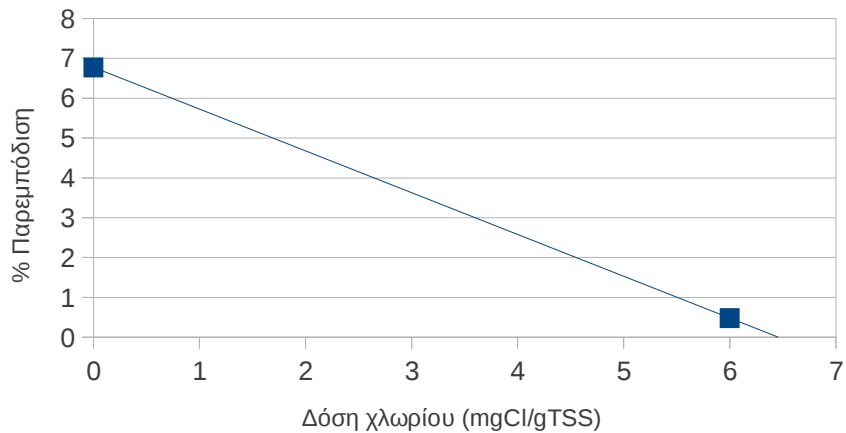
Διάγραμμα 4.2.6 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο Δείγμα 3 (υπερ-χλωριωμένο δείγμα ανάμεικτου υγρού).



Διάγραμμα 4.2.7 Παρεμπόδιση (%) λόγω έκθεσης των καλλιεργειών στο χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου.

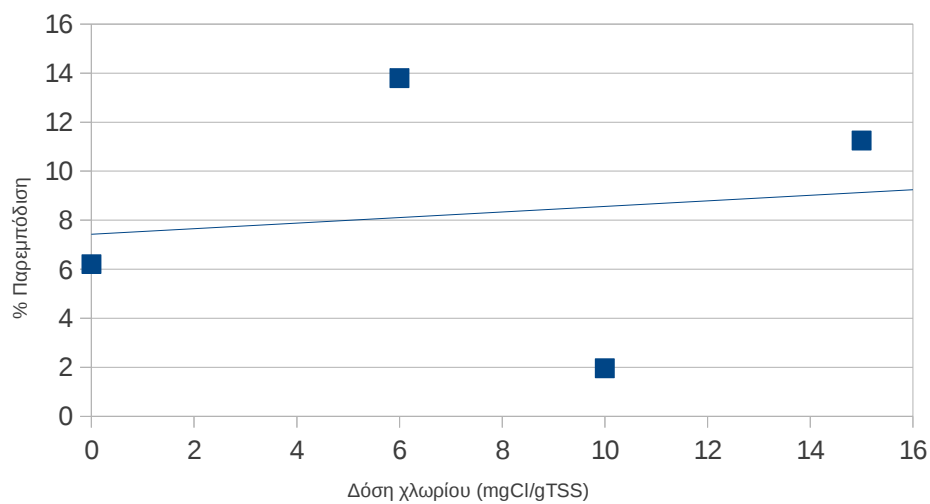
4.3 Σχολιασμός πειραματικών αποτελεσμάτων

Η τοξικότητα του ανάμεικτου υγρού και των επεξεργασμένων λυμάτων δίνεται συνολικά για τρεις διαφορετικές αραιώσεις 1:100, 1:10 και 1:2 στα **Διαγράμματα 4.3.1, 4.3.2 και 4.3.3**. Εκ των γραφημάτων καθίσταται προφανής η απουσία σημαντικής παρεμπόδισης της ανάπτυξης των βακτηριακών καλλιεργειών σε χαμηλές δόσεις χλωρίου. Η μόνη περίπτωση μελέτης που επέφερε αξιόλογη παρεμπόδιση αντιστοιχεί στην δόση των 15mgCl/gTSS –d με τελική αραιώση 50% (παρεμπόδιση κατά 32.61%).

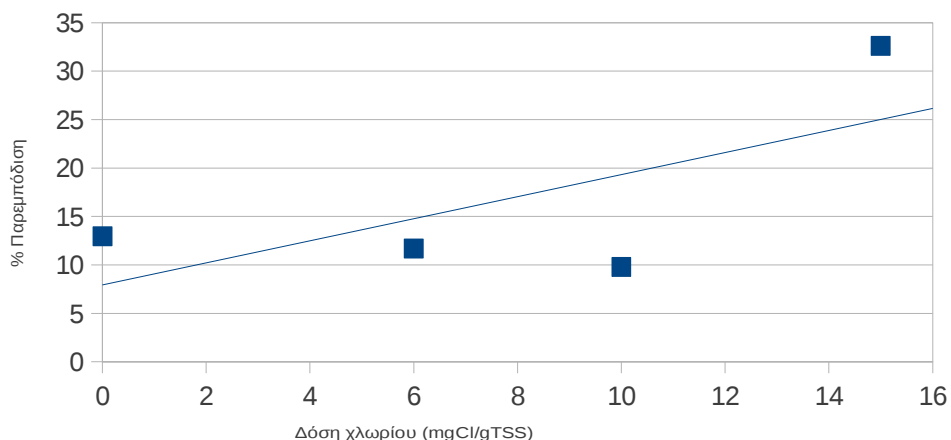


Διάγραμμα 4.3.1.

Διάγραμμα παρεμπόδισης συναρτήσεως της δόσης χλωρίωσης για αραιώση 1:100.



Διάγραμμα 4.3.2. Διάγραμμα παρεμπόδισης συναρτήσεως της δόσης χλωρίωσης για αραιώση 1:10.



Διάγραμμα 4.3.3. Διάγραμμα παρεμπόδισης συναρτήσει της δόσης χλωρίωσης για αραιώση 1:2.

Οι παράγοντες οι οποίοι παρεμβάλλονται κατά την πορεία των πειραμάτων εκτίμησης της τοξικότητας είναι διάφοροι και για τον λόγο αυτό, αξιόπιστα δεδομένα θεωρούνται εκείνα που αντιστοιχούν σε παρεμποδίσσεις άνω του 20%. Το γεγονός αυτό επαληθεύεται και από τα παραπάνω διαγράμματα παρεμπόδισης-αραίωσης καθώς η τιμή R^2 αποκλίνει σημαντικά από την μονάδα στην περίπτωση του μη χλωριωμένου δείγματος και της χαμηλότερης δόσης. Ωστόσο η συνάρτηση της παρεμπόδισης ως προς το ποσοστό συμμετοχής λυμάτων φαίνεται να ακολουθεί γραμμικό τύπο με τιμές R^2 οι οποίες τείνουν στη μονάδα στην περίπτωση της μεγαλύτερης δόσης όπου και αναπτύσσονται εντονότερες επιδράσεις παρεμπόδισης.

Τα διαγράμματα παρεμπόδισης-δόσης δεν καταδεικνύουν εμφανώς την ύπαρξη τάσης αύξησης της τοξικότητας κατά την αύξηση της δόσης χλωρίωσης, γεγονός το οποίο δικαιολογείται από το ότι το σφάλμα στην περίπτωση των παρεμποδίσεων μικρής έκτασης είναι ιδιαίτερα υψηλό. Ενδεχομένως, κατά την εξέταση ακόμα υψηλότερων δόσεων χλωρίου να προκύπτει η αναμενόμενη τάση καθώς σε αυτή την περίπτωση αναμένεται η καταγραφή υψηλότερων ποσοστών παρεμπόδισης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Τελικά Συμπεράσματα

Στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας μελετήθηκαν οι επιδράσεις των οργανικών χλωρο- παραγώγων τα οποία προκύπτουν ως παραπροϊόντα χλωρίωσης. Η διαδικασία της χλωρίωσης γενικά εφαρμόζεται ευρέως σε δύο περιπτώσεις:

- (α) στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων προς αποφυγή προβλημάτων νηματοειδούς διόγκωσης, τα οποία αποτελούν συχνά παράγοντα αστοχίας αυτών των συστημάτων,
- (β) στις μονάδες παραγωγής ενέργειας ή σε άλλες παραπλήσιες μονάδες οι οποίες περιλαμβάνουν την χρήση εναλλακτών θερμότητας και αντιμετωπίζουν το πρόβλημα απόφραξης των σωληνώσεων σε περίπτωση χρήσης μη χλωριωμένων ψυκτικών ρευμάτων λόγω ανάπτυξης γλοιώδους μάζας. Από βιβλιογραφικής άποψης, η περίπτωση της επιβάρυνσης των υδάτινων αποδεκτών λόγω διάθεσης χλωριωμένων ρευμάτων των μονάδων ψύξης καλύπτεται σε μεγαλύτερη έκταση καθώς η λειτουργία αυτών των εγκαταστάσεων προκαλεί σημαντικότερα προβλήματα στους αποδέκτες. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας ωστόσο περιλήφθηκαν μελέτες που αφορούν στην διάθεση χλωριωμένων λυμάτων και η αναφορά στις μονάδες ψύξης περιορίζεται στο απλό συμπέρασμα ότι σε σύγκριση με την λειτουργία των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, η λειτουργία των τελευταίων φαίνεται να συνεισφέρει σε μικρότερο βαθμό στη επιβάρυνση των φυσικών αποδεκτών.

Όσον αφορά στην σταθερότητα και την περιβαλλοντική κατάληξη των παραπροϊόντων το γενικό συμπέρασμα είναι ότι ο μηχανισμός της βιοαποδόμησης είναι αυτός που διαδραματίζει βασικό ρόλο ως παράγοντας μείωσης της περιεκτικότητας των χλωροπαραγώγων, κατόπιν διάθεσής τους στα υδάτινα συστήματα. Άλλωστε, τα περισσότερα παραπροϊόντα χλωρίωσης σχηματίζονται σε ίχνη και επομένως μηχανισμοί όπως η εξάτμιση ή η προσρόφηση-ιζηματοποίηση εκδηλώνονται σε μικρότερη έκταση.

Εκ της σύντομης βιβλιογραφικής επισκόπησης σχετικά με τις επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία καθίσταται προφανές ότι η κύρια οδός έκθεσης στα παραπροϊόντα χλωρίωσης αφορά στην κατανάλωσης χλωριωμένου νερού οικιακής χρήσης. Δευτερευόντως, η είσοδος των παραπροϊόντων στον ανθρώπινο οργανισμό οφείλεται στην δερματική έκθεση και την εισπνοή. Οι μελέτες που αναφέρονται στις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία μπορούν γενικά και ομαδοποιηθούν σε δύο κύριες κατηγορίες :

- (α) εκδήλωση διαφόρων μορφών καρκίνου,
- (β) γενετικές ανωμαλίες – πρόωρος τερματισμός της κύησης.

Σκοπός των μελετών αυτών είναι ο εντοπισμός μιας σχέσης μεταξύ των ποιοτικών χαρακτηριστικών

του καταναλισκόμενου νερού και της εμφάνισης των ανωτέρω κρουσμάτων. Στις πλείστες των περιπτώσεων, οι μελέτες καταλήγουν σε συσχετίσεις, όμως τα ερωτήματα που παραμένουν είναι πολλά λόγω του γεγονότος ότι δεν είναι γνωστή η ακριβής σύσταση (ποιοτική και ποσοτική) των παραπροϊόντων που σχηματίζονται κατά την χλωρίωση.

Το φυτοπλαγκτόν διαδραματίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στα θαλάσσια οικοσυστήματα λόγω της θετικής συνεισφοράς του στην κατανομή του οξυγόνου μέσω της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Η ανάπτυξη τάσεων οι οποίες δρουν ανασχετικά στην ομαλή ανάπτυξή του αναμένεται να επιφέρει επιδράσεις στο σύνολο των οργανισμών που συνθέτουν το οικοσύστημα και για τον λόγο αυτό πλήθος μελετών προσανατολίζονται στον προσδιορισμό των επιπτώσεων λόγω έκθεσης στα οργανικά χλωροπαραπροϊόντα. Τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών συναρτώνται των συνθηκών υπό τις οποίες αξιολογείται η τοξικότητα, της μεθόδου που εφαρμόζεται, του χρόνου παρατήρησης, του κριτηρίου τοξικότητας (συνολικός ρυθμός ανάπτυξης ή κάποιοι βιοχημικοί δείκτες όπως η πρόσληψη θρεπτικών ουσιών) καθώς και πλήθους άλλων παραγόντων οι οποίοι δεν επιτρέπουν την διεξαγωγή συνδυαστικών αποτελεσμάτων. Παρά ταύτα, η συνολική θέαση των μελετών αυτών προτείνει την γενική απουσία αξιόλογων επιδράσεων στο φυτοπλαγκτόν καθώς οι περιεκτικότητες οι οποίες προκαλούν σημαντική παρεμπόδιση της ανάπτυξης κυμαίνονται σε επίπεδα σημαντικά χαμηλότερα εκείνων που διαμορφώνονται υπό τυπικές συνθήκες διάθεσης χλωριωμένων λυμάτων. Άλλωστε το φυτοπλαγκτόν ανήκει στην κατηγορία των οργανισμών που το χρονικό διάστημα το οποίο μεσολαβεί μεταξύ δύο διαδοχικών γενεών είναι βραχύ και επομένως, πλην των περιπτώσεων έκθεσης σε ιδιαίτερα τοξικά περιβάλλοντα που επιφέρουν ολική καταστροφή των πληθυσμών, παρατηρείται έντονη τάση προς ανάκαμψη των καλλιεργειών και επαναφορά σε φυσιολογικούς ρυθμούς ανάπτυξης.

Επιπρόσθετα, ένα επιπλέον συμπέρασμα της βιβλιογραφικής επισκόπησης αναφέρεται στο ότι η μελέτη των επιμέρους παραγώγων δεν δικαιολογεί την σχετικά υψηλότερη τοξικότητα η οποία παρατηρείται στο συνολικό μείγμα. Το γεγονός αυτό δικαιολογείται από το ότι τα χλωριωμένα λύματα αποτελούν ένα πολύπλοκο - από ποιοτικής απόψεως - δείγμα, του οποίου η ακριβής σύσταση παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη.

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του εκάστοτε είδους αποτελούν σημαντικό παράγοντα κατά κατά την διαμόρφωση των επιδράσεων λόγω έκθεσης στα παραπροϊόντα χλωρίωσης. Η συμπεριφορά αυτή κατέστη προφανής από μελέτες που διερεύνησαν τις επιδράσεις σε διάφορα είδη αλγών και παρατήρησαν ότι αναλόγως του είδους που μελετάται, οι επιπτώσεις ενδέχεται να κυμαίνονται από ασθενείς, σε μέτριες ή ακόμα και έντονες. Αυτό το συμπέρασμα πρακτικά σημαίνει ότι ο χαρακτηρισμός ενός δείγματος ως μη τοξικό λόγω παρατήρησης των επιδράσεων σε έναν

συγκεκριμένο αποδέκτη, δεν αποκλείει αυτόματα την ανάπτυξη σημαντικών τοξικών επιδράσεων σε έναν άλλο ο οποίος περιλαμβάνει διαφορετικά είδη οργανισμών.

Όσον αφορά στην περίπτωση του ζωοπλαγκτού, γενικά παρατηρείται αυξητική τάση της τοξικότητας κατά την αύξηση του βαθμού χλωρίωσης. Η συμπεριφορά αυτή δικαιολογείται αφενός από την αύξηση της λιποφιλικότητας κατά την αύξηση του βαθμού χλωρίωσης (συσσώρευση στους ιστούς) και αφετέρου από την μείωση της τάσης ατμών (διαμόρφωση περιεκτικότητας οι οποίες διατηρούνται στα αρχικά επίπεδα για μεγαλύτερο χρόνο). Επιπλέον, εκ των διαφόρων μελετών προκύπτει το συμπέρασμα ότι το πλέον ευαίσθητο στάδιο της ανάπτυξης αντιστοιχεί στον χρόνο αμέσως μετά την εκκόλαψη. Αρκετές μελέτες προτείνουν την πρόκληση τοξικότητας η οποία είναι ενισχυμένη κατά την μελέτη νεαρών μελών σε σχέση με μέλη μεγαλύτερης ηλικίας. Σε κάθε περίπτωση, οι επιπτώσεις στο ζωοπλαγκτόν φαίνεται να είναι εντονότερες σε σχέση με τις επιπτώσεις στο φυτοπλαγκτόν. Επιπλέον, όμοια με την περίπτωση του φυτοπλαγκτού, σημαντική είναι η ανάπτυξη τάσεων συνέργειας και συνεπώς βαρύτητα θα πρέπει να δίδεται στις μελέτες οι οποίες εξετάζουν την αθροιστική τοξικότητα και όχι τις επιδράσεις των επιμέρους παραγώγων.

Παρά την παρατήρηση ορισμένων περιπτώσεων καταγραφής επιδράσεων, το γενικό συμπέρασμα όσον αφορά τις επιπτώσεις στο ζωοπλαγκτόν προτείνει την ανάπτυξη μάλλον περιορισμένων επιπτώσεων. Αυτό το συμπέρασμα έρχεται εν μέρη σε αντίθεση με τις έντονες ανησυχίες της κοινής γνώμης σχετικά με την διάθεση των χλωριωμένων λυμάτων. Χαρακτηριστικές είναι οι περιπτώσεις ορισμένων μελετών οι οποίες διεξήγαγαν μετρήσεις πεδίου κατόπιν διαμαρτυρίας των τοπικών κατοίκων για την παρατήρηση επιδράσεων στους ζωοπλαγκτονικούς οργανισμούς. Ωστόσο, οι οποίες επιδράσεις φαίνεται να μην οφείλονται στην λειτουργία των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων.

Εκ των πειραματικών παρατηρήσεων καθίσταται προφανής η απουσία σημαντικής παρεμπόδισης της ανάπτυξης των βακτηριακών καλλιεργειών σε δόσεις χλωρίου που εφαρμόζονται στην πράξη στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Σε όλες τις περιπτώσεις μελέτης της τοξικότητας δειγμάτων της τελικής εξόδου δεν παρατηρήθηκε παρεμπόδιση. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο για την περίπτωση των μη χλωριωμένων δειγμάτων, ενώ η απουσία παρεμπόδισης στο χλωριωμένο δείγμα τελικής εξόδου δύναται να δικαιολογηθεί από τα χαμηλότερα επίπεδα οργανικών στερεών (χουμικές και φουλβικές ενώσεις) οι οποίες αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για την παραγωγή των οργανικών χλωρο-παραπροϊόντων. Αξιόλογη παρεμπόδιση αντιστοιχεί στην δόση των 15mgCl/gTSS με τελική αραιώση 50% (παρεμπόδιση κατά 32.61%). Μια ανάλογου βαθμού παρεμπόδιση δεν αναμένεται να σημειωθεί στην πράξη στο περιβάλλον καθώς αφενός οι δόσεις χλωρίου που απαιτούνται για την απολύμανση αστικών λυμάτων είναι αρκετά χαμηλότερες και αφετέρου λόγω της φυσικής αραιώσης

των λυμάτων, η αναλογία αυτών λαμβάνει υψηλά ποσοστά μόνον σε μια μικρή περιοχή πλησίον του σημείου διάθεσης. Ωστόσο, δεν θα πρέπει να παραβλέπεται το γεγονός ότι στα πλαίσια αυτής της εργασίας μελετήθηκαν οι άμεσες επιδράσεις και συνεπώς δεν θα πρέπει να αποκλειστούν φαινόμενα εκδήλωσης μακροχρόνιων επιπτώσεων. Τέλος, σημειώνεται ότι τα πειραματικά αποτελέσματα της εργασίας αυτής συμφωνούν με το γενικό συμπέρασμα της βιβλιογραφικής ανασκόπησης σχετικά με τις άμεσες επιδράσεις στο φυτοπλαγκτόν και ζωοπλαγκτόν.

Βιβλιογραφία

- Aceroa**, J.L., Pirioub, P., von Gunten, U., 2005. Kinetics and mechanisms of formation of bromophenols during drinking water chlorination: Assessment of taste and odor development. *Wat. Res.* 39, 2979-2993.
- Adema**, D.M.M., Vink, G.J., 1981. A comparative study of the toxicity of 1,1,2-trichloroethane, dieldrin, pentachlorophenol and 3,4-dichloroaniline for marine and freshwater organisms. *Chemosphere* 10, 533-554.
- Agusa**, E., Voutchkov, N., Sedlaka, D.L., 2009. Disinfection by-products and their potential impact on the quality of water produced by desalination systems: A literature review. *Desalination* 237, 214-237.
- Ahamed**, M.S., Suresh, K., Durairaj, G., Nair, K.V.K., 1993. Effect of cooling water chlorination on primary productivity of entrained phytoplankton at Kalpakkam, east coast of India. *Hydrobiologia* 271, 165-168.
- Akande**, B.C., Ndakidemi, P.A., Fatoki, O., Odendaal, J., 2010. The possible effect of the bioaccumulation of disinfectant by-products on crops irrigated with treated wastewater. *Afr. J. Biotechnol.* 9, 1280-1287.
- Alexander**, H.C., McCarthy, W.M., Bartlett, E.A., 1978. Toxicity of perchloroethylene, trichloroethylene, 1,1,1-trichloroethane and methylene chloride to Fathead Minnows. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 344-352.
- Alekseev**, V.A., 1976. Toxicological characteristics and symptom complex of the acute phenol poisoning of certain freshwater crustaceans and mollusks. *Gidrobiol. Zh.* 12, 37-44.
- Allston**, T.D., Fedyk, M.L., Takacs, G.A., 1978. Photoabsorption spectra of some halogen-substituted methyl nitrogen-oxides. *J. Photochem.* 9, 116-118.
- Amy**, G., Siddiqui, M., Ozekin, K., Zhu, H.W., Wang, C., 1998. Empirically-based models for predicting chlorination and ozonation by-products: Trihalomethanes, haloacetic acids, chloral hydrate, and bromate. Environmental Protection Agency. Cincinnati (Ohio).
- Amy**, G., 2000. Disinfectants and disinfectant by-products. World Health Organization. Geneva.
- Añasco**, A.C., Koyama, J., Imai, S., Nakamura, K., 2008. Toxicity of residual chlorines from hypochlorite-treated seawater to marine amphipod *Hyale Barbicornis* and estuarine fish *Oryzias Javanicus*. *Water Air Soil Pollut.* 195, 129-136.
- Anderson**, D.R., Lustry, E.B., 1980. Acute toxicity and bioaccumulation of chloroform to four species of fresh water fish. Batelle Pacific Northwest Laboratory-Report. Washington.

- Anderson, J.**, 2003. The environmental benefits of water recycling and reuse. *Water Supply* 3, 1-10.
- Andrews, S.A., Huch, P.M., Chute, A.J., Bolton, J.R., Anderson, W.A.**, 1996. UV oxidation for drinking water-feasibility studies for addressing specific water quality issues. In: Proceedings of the Water Quality Technology Conference. American Water Works Association. New Orleans (Colorado).
- Arner, J., Vila, P., Plautz, C.Z.**, 2009. Effects of local water contaminants on the development of aquatic organisms. *Seattle University Journal of Undergraduate Res.* 1, 12-26.
- Aschengrau, A., Zierler, S., Cohen, A.**, 1993. Quality of community drinking water and the occurrence of late adverse pregnancy outcomes. *Arch. Environ. Health* 48, 105-113.
- Bailey, P.L., Bishop, E.**, 1970. The hydrolysis of cyanogen chloride. *Proc. Soc. Analyt. Chem.* 7, 150-152.
- Bamford, O.S.**, 1974. Oxygen reception in the Rainbow Trout *Salmo Gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.* 48, 69-76.
- Baribeau, H., Krasner, S.W., Chinn, R., Singer, P.C.**, 2005. Impact of biomass on the stability of HAAs and THMs in a simulated distribution system. *J. Am. Water Works Assoc.* 97, 69-81.
- Bass, M.L., Heath, A.G.**, 1977a. Cardiovascular and respiratory changes in Rainbow Trout, *Salmo Gairdneri*, exposed intermittently to chlorine. *Water Res.* 11, 497-502.
- Bass, M.L., Berry, C.R., Heath, A.G.**, 1977b. Histopathological effects of intermittent chlorine exposure on Bluegill (*Lepomis Macrochirus*) and Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Water Res.* 11, 731-735.
- Bentley, R.E., Heitmuller, T., Sleight, B.H., Parrish, P.R.**, 1975. Acute toxicity of chloroform to Bluegill (*Lepomis Macrochirus*), Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*) and Pink Shrimp (*Pernaues Durorarum*). Environmental Protection Agency.
- Bernet, D., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., Burkhardt-Holm, P.**, 2004. Evaluation of two monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alterations in fish. *Hydrobiologia* 524, 53-66.
- Birge, W.J., Black, J.A., Bruser, D.M.**, 1979. Toxicity of organic chemicals to embryo-larval stages of fish. Thomas Hunt Morgan School of Biol. Sciences-Department of Commerce.
- Black, J.A., Birge, W.J., McDonnell, W.E., Westerman, A.G., Ramey, B.A., Bruser, D.M.**, 1982. The aquatic toxicity of organic compounds to embryo-larval stages of fish and amphibians. *Water Resour. Res. Inst. University of Kentucky (Lexington)*.

- Blatchley**, E.R., Hunt, B.A., Duggirala, R., Thompson, J.E., Zhao, J., Halaby, T., Cowger, R.L., Straub, C.M., Alleman, J.E., 1997. Effects of disinfectants on wastewater effluent toxicity. *Wat. Res.* 31, 1581-1588.
- Boorman**, G.A., Dellarco, V., Dunnick, J.K., Chapin, R.E., Hunter, S., Hauchman, F., Gardner, H., Cos, M., Sills, R.C., 1999. Drinking water disinfection byproducts: review and approach to toxicity evaluation. *Environ. Health Perspect.* 107, 207-217.
- Booth**, P.M., Sellers, C.M., Garrison, N.E., 1981. Effects of intermittent chlorination on plasma proteins of Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 26, 163-170.
- Borthwick**, P.W., 1977. Results of toxicity tests with fishes and macroinvertebrates. Environmental Protection Agency-Environ. Res. Lab. Gulf Breeze.
- Bove**, F.J., Fulcomer, M.C., Klotz, J.B., Esmart, J., Dufficy, E.M., Savrin, J.E., 1995. Public drinking water contamination and birth outcomes. *Am. J. Epidemiol.* 141, 850-862.
- Bove**, F.J., Shim, Y., Zeitz, P., 2002. Drinking water contaminants and adverse pregnancy outcomes: A review, division of health studies. Agency for toxic substances and disease registry. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 110. Atlanta (Georgia) Environmental Health Perspectives.
- Boyce**, S.D., Hornig, J.F., 1983. Reaction pathways of trihalomethane formation from the halogenation of dihydroxyaromatic model compounds for humic acid. *Environ. Sci. Tech.* 17, 202-211.
- Brennan**, L.M., Toussaint, M.W., Kumsher, D.M., Dennis, W.E., Rosencrance, A.B., Brown, C., Van Der Schalie, W.H., Gardner, H.S., 2005. Developmental toxicity of drinking water disinfection by-products to embryos of the African clawed frog (*Xenopus Laevis*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 361-367.
- Bringmann**, G., Kühn, R., 1959. Vergleichende wasser-toxikologische untersuchungen an bakterien, Aigen und Kleinkrebsen. *Gesundheits-Ingenieur* 80, 115-120.
- Bringmann**, G., Kühn, R., 1980. Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae and protozoa in the cell multiplication inhibition test. *Water Res.* 14, 231-241.
- Broderius**, S.J., Smith, L.L., Lind, D.T., 1977. Relative toxicity of free cyanide and dissolved sulfide forms to the Fathead Minnow (*Pimephales Promelas*). *J. Fish. Res. Board. Can.* 34, 2323-2332.
- Brook**, A.J., Baker, A.L., 1972. Chlorination at power plants: impact on phytoplankton productivity. *Science* 176, 1414-1415.
- Brooks**, A.S., Seegert, G.L., 1977. The effects of intermittent chlorination on Rainbow Trout and Yellow Perch. *Trans. Am. Fish. Soc.* 106, 278-286.

- Brooks, A.S., Liptak, N.E., 1978a.** The effect of intermittent chlorination on freshwater phytoplankton, *Water Res.* 13, 49-32.
- Brooks, A.S., Seegert, G.L., 1978b.** The toxicity of chlortne to freshwater organisms under varying environmental conditions. In Jolley, R.L., 1978. *Water Chlorination: Environmental impact and health effects.* Ann Arbor Science Publishers. Michigan.
- Brooks, A.S., Bartos, J.M., 1984.** Effects of free and combined chlorine and duration on Rainbow Trout, Channel Catfish and Emerald Shiners. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113, 786-793.
- Brunborg, G., Holme, J.A., Soierlund, E.J., Hongslo, J.K., Vartiainen, T., Lotjonen, S., Becher, G., 1991.** Genotoxic effects of the drinking water mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-Furanone (MX) in mammalian cells in vitro and in rats in vivo. *Mutat. Res.* 260, 55-64.
- Brungs, W.A., 1973.** Effects of residual chlorine on aquatic life. *J. Water Pollution Control Fed.* 45, 2180-2193.
- Brungs, W.A., 1976.** Effects of wastewater and cooling chlorination on aquatic life. *Environmental Protection Agency-Ecological Research Series.*
- Buccafusco, R.J., Ells, S.J., Leblanc, G.A., 1981.** Acute toxicity of priority pollutants to Bluegill (*Lepomis Macrochirus*). *Bull. Environ. Contain. Toxicol.* 26, 446-452.
- Buckley, J.A., Whitmore, C.M., Matsuda, R.I., 1976.** Changes in blood chemistry and blood cell morphology in Coho Salmon (*Oncorhynchus Kisutch*) following exposure to sublethal levels of total residual chlorine in municipal wastewater. *Jour. Fish. Res. Board Can.* 33, 776-782.
- Buckley, J.A., 1977.** Heinz body hemolytic anemia in Coho Salmon (*Oncorhynchus Kisutch*) exposed to chlorinated wastewater. *Jour. Fish. Res. Board Can.* 34, 215-224.
- Buckley, J.A., 1981.** Intoxication of Trout Erythrocytes from hypochlorous acid and monochloramine in vitro: Evidence for different modes of action. *Comp. Biochem. Physiol.* 69, 133-136.
- Buikema, A.L., McGinniss, M.J., Cairns, J., 1979.** Phenolics in aquatic ecosystems - A selected review of recent literature. *Marine Environ. Res.* 2, 87-181.
- Bull, R.J., Meier, J.R., Robinson, M., Ringhand, H.P., Laurie R.D., Stober, J.A., 1985.** Evaluation of mutagenic and carcinogenic properties of brominated and chlorinated acetonitriles: by-products of chlorination. *Fundam. Appl. Toxicol.* 5, 1065-1074.
- Cao, N., Yang, M., Zhang, Y., Hu, J., Ike, M., Hirotsoji, J., Matsui, H., Inoue, D., Sei, K., 2009.** Evaluation of wastewater reclamation technologies based on in vitro and in vivo bioassays. *Sci. Tot. Environ.* 407, 1588-1597.
- Capuzzo, J.M., Lawrence, S.A., Davidson, J.A., 1976.** Combined toxicity of free chlorine, chloramine

and temperature to stage I larvae of the American lobster, *Homarus Americanus*. *Water Res.* 10, 1093-1099.

Capuzzo, J.M., Davidson, J.A., Lawrence, S.A., Libni, M., 1977a. The differential effects of free and combined chlorine on juvenile marine fish. *Estuar. Coast. Mar. Sci.* 5, 733-741.

Capuzzo, J.M., 1977b. The effects of free chlorine and chloramine on growth and respiration rates of larval lobsters (*Homarus Americanus*). *Water Res.* 2, 1021-1024.

Carlson, R.M., Caple, R., 1977. Chemical/biological implications of using chlorine and ozone for disinfection, Environmental Protection Agency. Duluth.

Carlson, M., Hardy, D., 1998. Controlling DBPs with monochloramine. Effect of water quality conditions on controlling disinfection by-products with chloramines. *J. Am. Water Works Assoc.* 90, 95-106.

Carpenter, E.J., Peck, B.B., Anderson, S.J., 1972. Cooling water chlorination and productivity of entrained phytoplankton. *J. Mar. Biol.* 16, 37-40.

Castro, C.E., Belser, N.O. 1981. Photohydrolysis of methyl bromide and chloropicrin. *J. Agric. Food Chem.* 29, 1005-1008.

CECBP, (California Environmental Contaminant Biomonitoring Program), 2008. Scientific Guidance Panel (SGP). Brominated and chlorinated organic chemical compounds used as flame retardants. Agenda Item: "Consideration of potential designated chemicals.

Centeno, M.D., Brendonck, L., Persoone, G., 1993. Cyst-based toxicity tests: III. Development and standardization of an acute toxicity test with the freshwater anostracan Crustacean *Streptocephalus*. In: Soares, A.M.V.M., 1993. Progress in standardization of aquatic toxicity tests. Lewis Publishers.

Centeno, M.D., Persoone, G., Goyvaerts, M.P., 1995. Cyst-based toxicity tests: IX. The potential of *Thamnocephalus Platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus Proboscideus* (Crustacea). *Environ. Toxicol. Water Qual.* 10, 275-282.

Chang, E.E., Lin, Y.P., Chiang, P.C., 2001. Effects of bromide on the formation of THMs and HAAs. *Chemosphere* 43, 1029-1034.

Christman, R.F., Norwood, D.L., Millington, D.S., Johnson, J.D., Stevens, A.A., 1983. Identity and yields of major halogenated products of aquatic fulvic acid chlorination. *Environ. Sci. Technol.* 17, 625-628.

Clemens, H.P., Sneed, K.E., 1959. Lethal doses of several commercial chemicals for Fingerling Channel Catfish. *Fish And Wildlife Service Sci. Rep. Fish.* 316. Washington.

- Cooke**, S.J., Schreer, J.F., 2001. Additive effects of chlorinated biocides and water temperature on fish in thermal effluents with emphasis on the Great Lakes. *Rev. Fish. Sci.* 9, 69-113.
- Cooper**, W.J., Meyer, L.M., Bofill, C.C., Cordal, E., 1983. Quantitative effects of bromine on the formation and distribution of trihalomethanes in groundwater with a high organic content. In: Jolley, R.L., 1983. *Water chlorination: Environmental impacts and health effects - Book 1: Chemistry and water treatment.* Ann Arbor Science Publishers. Vol. 4. Michigan.
- Cooper**, W.J., Zika, R.G., Steinhauer, M.S., 1985. Bromide-oxidant interactions and THM formation: a literature review. *J. Am. Water Works Assoc.* 77, 116-121.
- Cowgill**, U.M., Milazzo, D.P., 1991. The sensitivity of *Ceriodaphnia Dubia* and *Daphnia Magna* to seven chemicals utilizing the three-Brood Test. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 211-217.
- Croue**, J. P., Reckhow D.A., 1989. Destruction of chlorination byproducts with sulfite. *Environ. Sci. Technol.* 23, 1412-1419.
- Cunliffe**, D.A., 1991. Bactericidal nitrification in chloraminated water supplies. *App. Environ. Microbiol.* 57, 3399-3402.
- Dandy**, J.W.T., 1972. Activity response to chlorine in the Brook Trout, *Salvelinus Fontinalis* (Mitchill). *Can. J. Zool.* 50, 405-410.
- Das**, T.K., 2002. Evaluating the life cycle environmental performance of chlorine disinfection and ultraviolet technologies. *Clean Techn. Environ. Policy* 4, 32-43.
- Davies**, R., Holmes, D., Horn, K., Hutchison, J., Lunt, D., Tynan, P., 1993. *Wastewater Disinfection-Laboratory/Field Studies.* National Rivers Authority. Bristol.
- Davidson**, K.A., Hovatter, P.S., Ross, R.H., 1988. Water quality criteria for hexachloroethane. Army Medical Research and Development Command. Oak Ridge National Laboratory.
- Dawson**, G.W., Jennings, A.L., Drozdowski, D., Rider, E., 1977. The toxicity of 47 industrial chemicals to fresh and saltwater fishes. *Jour. Hazard. Mater.* 1, 303-318.
- de la Mare**, P.B.D., Ketley A.D., Vernon, C.A., 1954. The kinetics and mechanisms of aromatic halogen substitution. Part I. Acid-catalysed chlorination by aqueous solutions of hypochlorous acid. *J. Chem Soc.* 76, 1290-1297.
- Dean**, R.B., Suesst, M.J., 1985. The risk to health of chemicals in sewage sludge applied to land, *Waste Manag. Res.* 3, 1-278.
- Dennis**, W.H.J., Meier, E.P., Randall, W.F., Rosencrance, A.B., Rosenblatt, D.H., 1979. Degradation of diazinon by sodium hypochlorite - Chemistry and Aquatic Toxicity. *Environ. Sci. Technol.* 13, 594-598.

Department of Health and Aged Care, 2001. Review of Health Issues Associated with Potable Reuse of Wastewater. Gutteridge Haskins & Davey Pth Ltd. Commonwealth of Australia 2001.

Detlaf, T.A., Ginzburg, A.S., Shmalgauzen, O.I., 1993. Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. Springer-Verlag. Berlin.

Dodds, L., King, W., Woolcott, C., Pole, J., 1999. Trihalomethanes in public water supplies and adverse birth outcomes. *Epidemiology* 10, 233-237.

Duirk, S.E., Valentine, R.L., 2006. Modeling dichloroacetic acid formation from the reaction of monochloramine with natural organic matter. *Water Res.* 40, 2667-2674.

Emmanuel, E., Keck, G., Blanchard, J.M., Vermande, P., Perrodin, Y., 2004. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. *Environ. Int.* 30, 891-900.

EPA (Environmental Protection Agency), 1978a. In-depth studies of health and environmental impacts of selected water pollutants. Cincinnati.

EPA (Environmental Protection Agency), 1978b. Update to the health assessment document and addendum for dichloromethane (methylene chloride): pharmacokinetics, mechanism of action and epidemiology (review draft). Office of Health and Environmental Assessment. Washington.

EPA (Environmental Protection Agency), 1980. Unpublished Laboratory Data. Environmental Research Laboratory. Dulyth.

EPA (Environmental Protection Agency), 1999a. Wastewater technology fact sheet-Chlorine disinfection. Washington.

EPA (Environmental Protection Agency), 1999b. Office of pesticide programs. Pesticide ecotoxicity database. Washington.

Eppley, R.W., Reid, F.M.H., Strickland J.D.H., 1970. Estimates of phytoplankton crop size, growth rate and primary production. In: *The ecology of the phytoplankton of La Jolla, California in the period April through September, 1967.* Bull. Scripps. Inst. Oceanogr. 1, 33-42.

Eppley, R.W., Renger, E.H., Williams, P.L., 1976. Chlorine Reactions with Seawater Constituents and the Inhibition of Photosynthesis of Natural Marine Phytoplankton. *Est. Coast. Mar. Sci.* 4, 147-161.

Erickson, S.J., Hawkins, C.E., 1980. Effects of halogenated organic compounds on photosynthesis in estuarine phytoplankton. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 24, 910-915.

Euro Chlor Risk Assessment For The Marine Environment, 1997. Chloroform. Osparcom Region - North Sea.

- Eyman**, L.D., Gehrs, C.W., Beauchamp, J.J., 1975. Sublethal effect of 5-chlorouracil on carp (*Cyprinus carpio*) larvae. *Jour. Fish. Res. Board Can.* 32, 2227-2229.
- Fandrei**, G., Collins, H.L., 1979. Total residual chlorine: The effect of short-term exposure on the Emerald Shiner *Notropis Atherinoides* (Rafinesque). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 23, 262-268.
- Ferraris**, M., Chiesara, E., Radice, S., Giovara, A., Frigerio, S., Fumagalli, R., Marabini, L., 2005. Study of potential toxic effects on Rainbow Trout hepatocytes of surface water treated with chlorine or alternative disinfectants. *Chemosphere* 60, 65-73.
- Fisher**, D.J., Burton, D.T., Yonkos, L.Y., Turley, S.D., Turley, B.S., Gregory P. Ziegler, G.P., Zillioux, E.J., 1994. Acute and short-term chronic effects of continuous and intermittent chlorination on *Mysidopsis Bahía* and *Menidia Ber Yllina*. *Environ. Tox. Chem.* 13, 1525-1534.
- Fontainhas-Fernandes**, A., Luzio, A., Garcia-Santos, S., Carrola, J., Monteiro, S., 2008. Gill histopathological alterations in Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus* exposed to treated sewage water, *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51, 1057-1063.
- Fort**, D.J., Stover, E.L., Rayburn, J.R., Hull, M., Bantle, J.A., 1993. Evaluation of the developmental toxicity of trichloroethylene and detoxification metabolites using *Xenopus*. *Teratog. Carcinog. Mutagen* 13, 35-45.
- Froese**, K.L., Wolanski, A., Hrudey, S.E., 1999. Factors governing odorous aldehyde formation as disinfection by-products in drinking water. *Water Res.* 33, 1355-1364.
- Fukui**, S., Ogawa, S., Kita, H., Hanazaki, Y., Kami, H., 1992. 3-Chloro-4-(Dichloromethyl)-5-Hydroxy-2(5h)-Furanone (MX) in chlorinated domestic sewage. *Chemosphere* 24, 927-934.
- Future Harvest**, 2001. *Wastewater irrigation: Economic necessity or threat to health and environment?* Washington.
- Galal-Gorchev**, H., Morris, J.C., 1965. Formation and stability of bromamide, bromimide and nitrogen tribromide in aqueous solution. *Inorg. Chem.* 4, 899-905.
- Gallard**, H., Von Gunten, U., 2002. Chlorination of phenols: Kinetics and formation of chloroform. *Environ. Sci. Technol.* 36, 884-890.
- Garten**, C.T.J., 1990. Multispecies methods of testing for toxicity: use of the rhizobium-legume symbiosis in nitrogen fixation and correlations between responses by algae and terrestrial plants. In: Wang, W., 1990. *Plants for toxicity assessment*. American Society of Testing and Materials. Philadelphia.
- Gehrs**, C.W., 1974. Effects of stable chlorine-containing organics on aquatic environments. *Nature* 249, 675-676.

- Ginn**, T.C., O'Connor, J.M., 1978. Response of the estuarine amphipod *Gammarus Daiberi* to chlorinated power plant effluent. *Estuarine Coastal Mar. Sci.* 6, 459-469.
- Glaze**, W.H., Henderson, J.E., 1975. Formation of organochlorine compounds from the chlorination of a municipal secondary effluent, *J. Water Pollut. Control Fed.* 47, 2511-2515.
- Glaze**, W.H., Burlison, J.L., Henderson, J.E., 1982. Analysis of chlorinated organic compounds formed during chlorination of wastewater products. North Texas State Univ., Denton.
- Glezer**, V., Harris, B., Tal, N., Iosefzon, B., Lev, O., 1999. Hydrolysis of haloacetonitriles: Linear free energy relationship, kinetics and products. *Wat. Res.* 33, 1938-1948.
- Goldman**, J.C., Davidson, J.A., 1977. Physical model of marine phytoplankton chlorination at coastal power plants. *Environ. Sci. Technol.* 11, 908-913.
- Grizzle**, J.M., Melius, P., Strength, D.R., 1984. Papifiomas on fish exposed to chlorinated wastewater. *J Nat. Cancer Inst.* 73, 1133-1142.
- Grizzle**, J.M., Horowitz, S.A., Strength, D.R., 1988. Caged fish as monitors of pollution: Effects of chlorinated effluent from a wastewater treatment plant. *Water Resour. Bull. - Am. Water Res. Assoc.* 24, 951-959.
- Grothe**, D.R., Eaton, J.W., 1975. Chlorine-induced mortality in fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 104, 800-802.
- Grushko**, Y.M., 1975. Waste effluent of kraft pulp mills and its toxicity. *Hydrobiological J.* 11, 93-99.
- Hamilton**, D.A., Flemer, D.A., Keefe, C.V., Mihursky, J.A., 1970. Power plants: effects of chlorination on estuarine primary production. *Science* 169, 197-198.
- Hamilton**, A.J., Boland, A.M., Stevens, D., Kelly, J., Radcliffe, J., Ziehl, A., Dillon, P.J., Paulin, R., 2005. Position of the Australian horticultural industry with respect to the use of reclaimed water. *Agric. Water Manage.* 71, 181-209.
- Hammett**, L.P., 1937. The effect of structure upon the reactions of organic compounds: Benzene derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 59, 96-103.
- Hansch**, C., Leo, A., Taft, R.W., 1991. A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters. *Chem. Rev.* 91, 165-195.
- Hansch**, C., Leo, A., Hoekman, D., 1995. Exploring QSAR. Hydrophobic, electronic, and steric constants. ACS Prof. Ref. Book. Washington.
- Hanson**, M.L., Solomon, K.R., 2004a. Haloacetic acids in the aquatic environment-Part I: macrophyte toxicity. *Environ. Pollut.* 130, 371-383.

- Hanson**, M.L., Solomon, K.R., 2004b. Haloacetic acids in the aquatic environment-Part II: ecological risk assessment. *Environ. Pollut.* 130, 385-401.
- Hastings**, J.W., Nealson, K.H., 1977. Bacterial bioluminescence. *Annu. Rev. Microbiol.* 31, 549–595.
- Hegre**, C.S., 1971. Toxicity to marine organisms of free chlorine and chlorinated compounds in seawater. Environmental Protection Agency. Progress Report Natural Marine Water Quality Laboratory.
- Hine**, F.J., 1962. Physical organic chemistry (advanced chemistry). McGraw-Hill Book Co. New York.
- Hirayama**, K., Hirano, R., 1970. Influences of high temperature and residual chlorine on marine phytoplankton. *Mar. Biol.* 7, 205-213.
- Hoehn**, R.C., Randall, C.W., Goode, R.P., Shaffer, P.T.B., 1978. Chlorination and water treatment for minimizing trihalomethanes in drinking water. Water chlorination-environmental impact and health effects-Vol. 2. Ann Arbor Science Publishers. Michigan.
- Hong**, H.C., Wong, M.H., Liang, Y., 2009. Amino acids as precursors of trihalomethane and haloacetic acid formation during chlorination. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 638-645.
- Hrudey**, S.E., 2008. Chlorination disinfection by-products (DBPs) in drinking water and public health in Canada- A primer for public health practitioners reviewing evidence from over 30 years of research. National Collaborating Center on Environmental Health.
- Hua**, G., Reckhow, D.A., Kim, J., 2006. Effect of bromide and iodide ions on the formation and speciation of disinfection byproducts during chlorination. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3050-3056.
- Hubly**, D., Chappell, W., Lanning, J., Maltempo, M., Chiras, D., Morris, J., 1985. Risk assessment of wastewater disinfection. University Of Colorado (Denver).
- Huggett**, J.A., Cook, P.A., 1991. The effects of entrainment on plankton at Koeberg nuclear power station. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 11, 211-226.
- Hutchinson**, T.H., Jha, A.N., Dixon, D.R., 1995. The polychaete *Platynereis Dumerilii* (Audouin and Milne-Edwards): A new species for assessing the hazardous potential of chemicals in the marine environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31, 271-281.
- Hutchinson**, T.H., Jha, A.N., Mackay, J.M., Elliott, B.M., Dixon, D.R., 1998. Assessment of developmental effects, cytotoxicity and genotoxicity in the marine polychaete (*Platynereis Dumerilii*) exposed to disinfected municipal sewage effluent. *Mutat. Res.* 399, 97-108.
- Iwama**, G.K., Boutilier, R.G., Heming, T.A., Randall, D.J., Mazeaud, M., 1987. The effects of altering gill water flow on gas transfer in Rainbow Trout. *Can. J. Zool.* 65, 2466-2470.
- Jansson**, K., Hlaki-Paakkanen, J., Vaitinen, S.L., Vartiainen, T., Komulainen, H., Tuomisto, J., 1993.

Cytogenetic effects of 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-Hydroxy-2(5H)-Furanone (MX) in rat peripheral lymphocytes in vitro and in vivo. *Mutat. Res.* 229, 25-28.

Jha, A.N., Hutchinson, T.H., Mackay, J.M., Elliott, B.M., Dixon, D.R., 1996. Development of an in vivo genotoxicity assay using the marine worm *Platynereis Dumerilii* (Polychaeta: Nereidae). *Mutat. Res.* 359, 141-150.

Jha, A.N., Hutchinson, T.H., Mackay, J.M., Elliott, B.M., Dixon, D.R., 1997. Evaluation of the genotoxicity of municipal sewage effluent using the marine worm *Platynereis Dumerilii* (Polychaeta Nereidae). *Mutat. Res.* 391, 179-188.

Jirasek, J., Adamek, Z., Kepr, T., 1980. Toxicity of some herbicides for fish. *Zivoc. Vyroba.* 53, 857-862.

Jo, W.K., Weisel, C.P., Lioy, P.J., 1990. Routes of chloroform exposure and body burden from showering with chlorinated tap water, *Risk Analysis* 10, 575-580.

Johnson, A.G., Williams, T.D., Arnold, C.R., 1977. Chlorine-induced mortality of eggs and larva of spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Trans. Am. Fish. Soc.* 106, 466-469.

Johnson, W.W., Finley, M.T., 1980. Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. Department of the interior-Fish and Wildlife Services. Washington.

Johnson, I., Pickup, J.A., Van Wijk, D., 2006. A perspective on the environmental risk of halogenated by-products from uses of hypochlorite using a whole effluent toxicity based approach. *Environ. Tox. Chem.* 25, 1171-1177.

Jolley, R.L., 1973. Chlorination effects on organic constituents in effluents from domestic sanitary sewage treatment plants. University of Tennessee (Knoxville).

Jolley, R.L., 1975. Chlorine-containing Organic Constituents in Chlorinated Effluents. *J. Water Pollut. Control Fed.* 47, 601-618.

Jolley, R.L., Gehrs, C.W., Pitt, W.W., 1975. Chlorination of cooling water-A source of chlorine-containing organic compounds with possible environmental significance. *Radioecology and Energy Resources*. Htchinson & Ross. Stroudsburg.

Jolley, R.L., Carpenter, J.H., 1982. Aqueous chemistry of chlorine: chemistry, analysis, and environmental fate of reactive oxidant species. Oak Ridge National Laboratory.

Jones, T.C., Hunt, R.D., 1983. *Veterinary pathology*. Lea & Febiger. Philadelphia.

Jones, T.C., Carpenter, L.J., 2005. Solar photolysis of CH₂I₂, CH₂ICl, and CH₂IBr in water, saltwater and seawater. *Environ. Sci. Tech.* 39, 6130-6137.

- Jubb**, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N., 1985. Pathology of domestic animals. Academic Press Inc. New York.
- Juhnke**, I., Luedemann, D., 1978. Results of the investigation of 200 chemical compounds for acute fish toxicity with the Golden Orfe Test. *Z. Wasser Abwasser Forsch.* 11, 161-164.
- Kahn**, L., Wayman, C., 1964. Aminoacids in raw sewage and sewage effluents. *J. Water Pollution Control Fed.* 36, 1368–1371.
- Kamaya**, Y., Takada, T., Suzuki, K., 2004. Effect of medium phosphate levels on the sensitivity of *Selenastrum capricornutum* to chemicals. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 73, 995-1000.
- Kanitz**, S., Franco, Y., Patrone, V., Caltabellotta, M., Raffo, E., Riggi, C., Timitilli, D., Ravera, G., 1996. Association between drinking water disinfection and somatic parameters at birth. *Environ. Health Perspect.* 104, 516-520.
- Kamrin**, M.A., 1997. Pesticide profiles: toxicity, environmental impact and fate. Lewis Publishers.
- Kavanaugh**, M.C., Trussell, A.R., Cromer, J., Trussell, R.R., 1980. An empirical kinetic model of THM formation: application to meet the proposed THM standards. *J. Am. Water Works Assoc.* 72, 578-582.
- Kaufman**, Z.S., 1977. Effect of phenol on the embryonic and postembryonic periods of development of the grass frog. *Biol. Vntutr. Vodoemov. Inform. Bull.* 33, 61-63.
- Kjørsvik**, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biol.* 26, 71-113.
- Klotz**, J.B., Pynch, L.A., 1999. Neural tube defects and drinking water disinfection by-products. *Epidemiology*, 10, 383-390.
- Knapek**, R., Lakota, S., 1974. Biological testing to determine toxic effects of pesticides. *Water. Tagungsber. Akad. Landwirtschaftswiss D.D.R.* 126, 105-109.
- Kononen**, D.W., 1988. Acute toxicity of cyanogen chloride to *Daphnia Magna*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 41, 371-377.
- Kosmala**, A., Migeon, B., Flammarion, P., Garric, J., 1998. Impact assessment of a wastewater treatment plant effluent using the fish biomarker ethoxyresorufin-o-deethylase: Field and on-site experiments. *Ecotox. Environ. Saf.* 41, 19-28.
- Kotsanis**, N., Metcalfe, C.U., 1991. Enhancement of hepatocarcinogenesis in Rainbow Trout with carbon tetrachloride. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 879-886.
- Kovacic**, P., Lowery, M.K., Field, K.W., 1970. Chemistry of N-bromamines and N-chloramines. *Chem. Rev.* 70, 639-665.

- Kramer**, M.D., Lynch, C.F., Isacson, P., Hanson, J.W., 1992. The association of waterborne chloroform with intrauterine growth retardation. *Epidemiology* 3, 407-413.
- Krasner**, S.W., McGuire, M.J., Jacangelo, J.G., Patania, N.L., Reagan K.M., Aieta, E.M., 1989. The Occurrence of Disinfection By-Products in US Drinking Water. *J. Am. Water Works Assoc.* 81, 41-53.
- Krasner**, S.W., Weinberg, H.S., Richardson, S.D., Pastor, S.J., Chinn, R., Scilimenti, M.J., Onstad G.D., Thruston, A.D., 2006. Occurrence of a New Generation of Disinfection Byproducts. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7175-7185.
- Krijgheld**, K.R., van der Gen, A., 1986. Assessment of the impact of the emission of certain organochlorine compounds on the aquatic environment-Part 1: Monochlorophenols and 2,4-dichlorophenol. *Chemosphere* 15, 825-860, 1986.
- Kronberg**, L., Vartiainen, T., 1988. Ames mutagenicity and concentration of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloro-methyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and its geometric isomer E-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxo-butenic acid in chlorine-treated tap waters. *Mutat. Res.* 206, 177-182.
- Kühn**, R., Pattard, M., Pernak, K.D., Winter, A., 1989. Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia Magna* in the 21 days reproduction. *Water Res.* 23, 501-510.
- Kühn**, R., Pattard, M., 1990. Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test. *Water Res.* 24, 31-38.
- Kuiper**, J., Hanstveit, A.O., 1984. Fate and Effects of 4-Chlorophenol and 2,4-Dichlorophenol in Marine Plankton Communities in Experimental Enclosures. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 8, 15-33.
- Kukkonen**, J.V.K., 2002. Lethal body residue of chlorophenols and mixtures of chlorophenols in benthic organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43, 214-220.
- Landmeyer**, J.E., Bradley, P.M., Thomas, J.M., 2000. Biodegradation of disinfection byproducts as a potential removal process during aquifer storage recovery. *J. Am. Water Resour. As.* 36, 861-867.
- Lange**, A.L., Kawczynski, E., 1978. Controlling organics: the Contra Costa County water district experience. *J. Am. Water Works Assoc.* 70, 653-660.
- Larson**, G.L., Hutchns, L.E., Lampertt, L.P., 1977. Laboratory determination of acute and sublethal toxicities of inorganic chloramines to early life stages of coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 106, 268-277.
- Larson**, J.L., Templin, M.V., Wolf, D.C., Jamison, K.C., Leninger, J.R., Mery, S., Morgan, K.T., Wong, B.A., Conolly, R.B., Butterworth, B.E., 1996. A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: Implications for cancer risk assessment. *Fundam. Appl. Toxicol.* 30, 118-137.

- Le Blanc**, G., 1980. Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia Magna*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24, 684-691.
- Le Curieux**, F., Marzin, D., Erb, F., 1994. Study of the genotoxic activity of five chlorinated propanones using the SOS Chromotest, the Ames-Fluctuation Test and the Newt Micronucleus Test. *Mutat. Res.* 361, 1-15.
- Le Curieux**, F., Giller, S., Gauthier, L., Erb, F., Marzin, D., 1995. Study of the genotoxic activity of six halogenated acetonitriles, using the SOS Chromotest, the Ames-Fluctuation Test and the Newt Micronucleus Test. *Mutat. Res.* 341, 289-302.
- Lee**, G.F., Morris, J.C., 1962. Kinetics of chlorination of phenol - Chlorophenolic tastes and odors. *Int. J. Air Wat. Poll.* 6, Pergamon Press. Great Britain.
- Lekkas**, T.D., Nikolaou, A.D., 2004. Degradation of disinfection byproduct in drinking water. *Environ. Eng. Sci.* 21, 493-506.
- Lewis**, T.E., Wolfinger, T.F., Barta, M.L., 2004. The ecological effects of trichloroacetic acid in the environment. *Environ. Int.* 30, 1119-1150.
- Li**, B., Qu, J.H., Liu, H.J., Zhao, X., 2008. Formation and distribution of disinfection by-products during chlorine disinfection in the presence of bromide ion. *Chin. Sci. Bull.* 53, 2717-2723.
- Liang**, L., Singer, P.C., 2003. Factors influencing the formation and relative distribution of haloacetic acids and trihalomethanes in drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2920-2928.
- Lifongo**, L.L., Bowden, D.J., Brimblecombe, P., 2004. Photodegradation of haloacetic acids in water. *Chemosphere* 55, 467-476.
- Linden**, E., Bengtsson, B.E., Svanberg, O., Sundstrom, G., 1979. The acute toxicity of 78 chemicals and pesticide formulations against two brackish water organisms, the Bleak (*Alburnus Alburnus*) and the Harpacticoid. *Chemosphere* 8, 843-851.
- Loekle**, D.M., Schected, A.J., Christian, J.J., 1983. Effects of chloroform, tetrachloroethylene and trichloroethylene on survival, growth and liver of *Poecilia Sphenops*. *Bull. Environ. Contain. Toxicol.* 30, 199-205.
- Luferova**, L.A., Flerov, B.A., 1971a. Investigation of phenol poisoning of *Daphnia*. *Biol. Vnutr. Vod, Inform. Biul.* 10, 42-46.
- Luferova**, L.A., Flerov, B.A., 1971b. Relative resistance of some Phyllopoda to phenol. *Biol. Vnutr. L. Vod., Inform. Biull.* 11, 43-46.
- Mabey**, W., Mill, T., 1978. Critical review of hydrolysis of organic compounds in water under environmental conditions. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 7, 384-415.

- Mahjoor**, A.A., Loh, R., 2008. Some histopathological aspects of chlorine toxicity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*), *Asian J. Anim. Veterin. Adv.* 3, 303-306.
- Manley**, S.L., 2002. Phytogenesis of halomethanes: A product of selection or a metabolic accident? *Biogeochemistry* 60, 163-180.
- Marvin**, D.E., Heath, A.G., 1968. Cardiac and respiratory responses to gradual hypoxia in three ecologically distinct species of freshwater. *Fish. Comp. Biochem. Physiol.* 27, 349-355.
- Massachusetts Division Of Marine Fisheries**, 2010. Potential impacts to lobsters and lobster habitat from chlorinated sewage outfall effluent in Massachusetts Bay and Buzzards Bay-A review of existing information.
- Mattice**, J.S., Tsai, S.C., Burch M.B., Beauchamp, J.J., 1981. Toxicity of trihalomethanes to Common Carp embryos. *Trans Am Fish Soc.* 110, 261-269.
- Meier**, J.R., Blazak, W.F., Knohl, R.B., 1987. Mutagenic and clastrogenic properties of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone: A potent bacterial mutagen in drinking water. *Environ. Mol. Mutagen.* 10, 411-424.
- Meinck**, F., Stoof, H., Kohlschutter, H., 1956. *Industrial waste waters (Industrie-Abwasser)*. Stuttgart.
- Mendonca**, E., Picado, A., Paixão, S.M., Silva, L., Cunha, M.A., Leitão, S., Moura, I., Cortez, C., Brito, F., 2009. Ecotoxicity tests in the environmental analysis of wastewater treatment plants: Case study in Portugal. *J. Hazard. Mater.* 163, 665-670.
- Middaugh**, D.P., Burnett, L.E., Couch, A., 1980. Toxicological and physiological responses of the fish, *Leiostomus Xanthurus*, exposed to chlorine produced oxidants. *Estuaries* 3, 132-141.
- Miller**, A., Smith, H., 1970. The intercellular and membrane effects of oxident agents on normal red cells. *Br. J. Haemat.* 19, 417-428.
- Miller**, W.J., Uden, P.C., 1983. Characterization of nonvolatile aqueous chlorination products of humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 17, 150-152.
- Mills**, C.J., Bull, R.J., Cantor, K.P., Reif, J., Hrudey, S.E., Huston, P., 1998. Health risks of drinking water chlorination by-products: report of an expert working group (Workshop report). *Chronic. Dis. Can.* 19, 91-102.
- Mitz**, S.V., Giesy, J.P., 1985. Sewage effluent biomonitoring: Survival, growth and histopathological effects in Channel Catfish. *Ecotox. Environ. Safe.* 10, 22-39.
- Morgan**, R.R., Stross, R.G., 1969. Destruction of phytoplankton in the cooling water supply of a steam electric station. *Chesapeake Sci.* 10, 165-171.

- Morris**, J.C., McKay, G., 1975. Formation of halogenated organics by chlorination of water supplies : a review, Harvard University, Cambridge.
- Morris**, J.C., 1976. Kinetic reactions between aqueous chlorine and nitrogen compounds, in principles and applications of water chemistry. Proceedings of the Forth Rudolphs Conference. Rutgers University. John Wiley & Sons. New York.
- Morris**, J.C., Baum, B., 1978. Precursors and mechanisms of haloform formation in the chlorination of water supplies, In: Jolley, R.L., 1978. Water chlorination 2, Ann Arbor Science Publishers.
- Morris**, R.D., Audet, A.M., Angelillo, I.F., Chalmers, T.C., Mosteller, F., 1992. Chlorination, chlorination by-products, and cancer: a meta-analysis. *Am. J. Public Health* 82, 955-963.
- Morris**, R.D., 1995. Drinking water and cancer. *Environ. Health Perspect.* 103, 225-231.
- Nacci**, D., Jackim, E., Walsh, R., 1986. Comparative evaluation of three rapid marine toxicity tests: Sea Urchin early embryo growth test, Sea Urchin sperm cell toxicity test and Microtox. *Environ. Toxicol. Chem.* 5, 521-525.
- Neely**, W.B., 1982. Organizing data for environmental studies. *Environ. Toxicol. Chem.* 1, 259-266.
- Nicole**, I., de Laat, J., Dore, M., Duguet, J.P., Suty, H., 1991. Degradation of trihalomethanes in dilute aqueous solution by UV irradiation-determination of the quantum yield of photolysis at 253.7nm. *J. Environ. Tech.* 12, 21-31.
- Nieminski**, E.C., Chaudhuri, S., Lamoreaux, T., 1993. The occurrence of DBPs in Utah drinking waters. *J. Am. Water Works Assoc.* 85, 98-105.
- Nieuwenhuijsen**, M.J., Toledano, M.B., Eaton, N.E., Fawell, J., Elliott, P., 2000a. Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *Occup. Environ. Med.* 57, 73-85.
- Nieuwenhuijsen**, M.J., Toledano, M.B., Elliott, P., 2000b. Uptake of chlorination disinfection by-products: a review and a discussion of its implications for exposure assessment in epidemiological studies. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 10, 586-599.
- Nikolaou**, A.D., Lekkas, T.D., Kostopoulou M.N., Golfinopoulos, S.K., 2001. Investigation of the behaviour of haloketones in water samples. *Chemosphere* 44, 907-912.
- Oliver**, B.G., 1983. Dihaloacetonitriles in drinking water: Algae and fulvic acid as precursors. *Environ. Sci. Tech.* 17, 80-83.
- Osborne**, L.L., Davies, R.W., 1987. The effects of a chlorinated discharge and a thermal outfall on the structure and composition of the aquatic macroinvertebrate communities in the Sheep River, Alberta, Canada. *Wat. Res.* 21, 913-921.

- Patrick**, R.J., 1968. The relative sensitivity of diatoms, snails and fish to twenty common constituents of industrial wastes. *The Progr. Fish Cult.*, 30, 137-140.
- Pavelic**, P., Nicholson, B.C., Dillon, P.J., Barry, K.E., 2005. Fate of disinfection by-products in groundwater during aquifer storage and recovery with reclaimed water (erratum). *J Contam Hydrol.* 77, 351-373.
- Pearson**, C.R., McConnell, G., 1975. Chlorinated C1 and C2 hydrocarbons in the marine environment. *Proc. R. Soc. Lond. (B)* 189, 305-332.
- Peters**, C.J., Young, R.J., Perry, R., 1980. Factors influencing the formation of haloforms in the chlorination of humic materials. *Environ. Sci. Technol.* 14, 1391-1395.
- Peters**, J.B., de Leer, E.W.B., de Galan, L., 1990. Chlorination of cyanoethanoic acid in aqueous medium. *Environ. Sci. Technol.* 24, 81-86.
- Phipps**, G. L., Hoecombe, G.W., 1985. A method for aquatic multiple species toxicant testing: acute toxicity of 10 chemicals to 5 vertebrates and 2 invertebrates. *Environ. Pollut.* 38, 141-157.
- Pickering**, Q.H., 1983. Chronic toxicity to Fathead Minnow *Pimephales Promelas* of wastewater from a conventional wastewater treatment system receiving organic priority pollutants. *Environ. Pollut.* 31, 105-117.
- Poels**, C.L.M., Strik, J.T.W.A., 1975. Chronic toxic effects of the water of the river Rhine upon Rainbow Trout. In: Koeman, H., *Sublethal effects of toxic chemicals on aquatic animals*. Elsevier Publishers. Amsterdam.
- Pierce**, R.C., 1978. The aqueous chlorination of organic compounds: chemical reactivity and effects on environmental quality. National Research Council Canada (Ottawa).
- Porter**, C.K., Putnam, S.D., Hunting, K.L., Riddle, M.R., 2005. The Effect of Trihalomethane and Haloacetic Acid Exposure on Fetal Growth in a Maryland County. *Am. J. Epidemiol.* 162, 334-344.
- Pravda**, O., 1973. Uher den Einfluss der Herbizide auf einige Susswasser-Tiere. *Hydrobiologia* 42, 97-142.
- Powell**, M.D., Speare, D.J., Macnair, N., 1994. Effects of intermittent chloramine-T exposure on growth, serum biochemistry, and fin condition of juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Can. J. Fish. Aq. Sci.* 51, 1728-1736.
- Powell**, M.D., Perry, S.F., 1996. Respiratory and acid-base disturbances in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) blood during exposure to chloramine-T, pratoluene sulphonamide, and hypochlorite. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53, 701-708.
- Racicot**, J.G., Gaudet, M., Leray, C., 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo Gairdneri*

Rich.) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl₄ toxicity and a case of aeromonas infection. J. Fish Biol. 7, 825-835.

Rajagopal, S., Venugopalan, V.P., Van Der Velde, G., Jenner, H.A., 2003. Tolerance of five species of tropical marine mussels to continuous chlorination. Mar. Environ. Res. 55, 277-291.

Randall, D.J. 1982. The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia. J. Exp. Biol. 100, 275-288.

Raymer, J.H., Michael, L.C., 2010. Uptake of water disinfection by-products into food. Research Triangle Institute Press publication.

Rebhun, M., Heller-Grossman, L., Manka, J., 1997. Formation of disinfection by-products during chlorination of secondary effluent and renovated water. Water Environ. Res. 69, 1154-1162.

Reckhow, D.A., Singer, P.C., 1985. Mechanisms of organic halide formation during fulvic acid chlorination and implications with respect to preozonation. In: Jolley, R.L., 1985. Water chlorination: chemistry, environmental impact and health effects. Vol. 5. Lewis Publishers. Chelsea (Michigan).

Reckhow, D.A., Singer, P.C., Malcolm, R.L., 1990. Chlorination of humic materials: by-product formation and chemical interpretation. Environ. Sci. Technol. 24, 1655-1664.

Reckhow, D.A., 2000. Stability of halogenated DBPs in drinking water. US Environmental Protection Agency.

Regulatory Toxicology And Pharmacology, 1994. Appendix B: Chlorinated Alkanes.

Richardson, S.D., Plewa, M.J., Wagner, E.D., Schoeny, R., DeMarini, D.M., 2007. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection, by-products in drinking water: A review and roadmap for research. Mutat. Res./Rev. Mutat. Res. 636, 178-242.

Richter, J.E., Peterson, S.F., Kleiner, C.F., 1983. Acute and chronic toxicity of some chlorinated benzenes, chlorinated ethanes and tetrachloroethylene to *Daphnia Magna*. Arch. Environ. Contain. Toxicol. 12, 679-684.

Roberts, J.F., van Egmond, R., Price, O.R., 2010. Toxicity of haloacetic acids to freshwater algae. Ecotox. Environ. Safety 73, 56-61.

Rook, J.J., 1974. Formation of haloforms during chlorination of natural, waters. Soc. Water Treat. Exam. 23, 234-243.

Rook, J.J., Gras, A.A., van der Heijden, B.G., de Wee, J., 1978. Bromide oxidation and organic substitution in water treatment. J. Environ. Sci. Health A13, 91-116.

Roseboom, D.P., Richey, D.L., 1977. Acute toxicity of residual chlorine and ammonia to some native Illinois fishes. Illinois State Water Survey. Urbana.

- Roshon**, R.D., McCann, J.H., Thompson, D.G., Stephenson, G.R., 1999. Effects of seven forestry management herbicides on *Myriophyllum sibiricum*, as compared with other non-target aquatic organisms. *Can. J. Forest Res.* 29, 1158-1169.
- Rosenberg**, R., Grahn, O., Johansson, L., 1975. Toxic effects of aliphatic chlorinated by-products from vinyl chloride production on marine animals. *Water Res.* 9, 607-612.
- Roy**, R., 2010. Short-term variability in halocarbons in relation to phytoplankton pigments in coastal waters of the central eastern Arabian Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 88, 311-321.
- Savitz**, D.A., Andrews, K.W., Pastore, L.M., 1995. Drinking water and pregnancy outcome in central North Carolina: source, amount, and trihalomethane levels. *Environ. Health Perspect.* 103, 592-596.
- SCCWRP** (Southern California Coastal Water Research Project), 1973 The ecology of the Southern California Bight: implications for water quality management. El Segundo (California).
- Seegert**, G.L., Brooks, A.S., Vande Castle, J.R., Gradall, K., 1979. The effect of monochloramine on selected riverine fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.* 108, 88-96.
- Sellers**, C.M., Heath, A.G., Bass, M.L., 1975. The effect of sublethal concentrations of copper and zinc on ventilatory activity, blood oxygen and pH in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Water Res.* 9, 401-408.
- Sellner**, K.G., Kachur, M.E., Lyons, L., 1984. Alterations in carbon fixation during power plant entrainment of estuarine phytoplankton. *Wat. Air Soil Pollut.*, 21, 359-374.
- Shams El Din**, A.M., Arain, R.A., Hammoud, A.A., 1998. Kinetics of hydrolysis of chloroform and bromoform in aqueous solutions. *Desalination* 120, 41-51.
- Siddiqui**, M.S., Amy, G.L., 1993. Factors affecting DBP formation during ozone-bromide reactions. *J. Am. Water Works Assoc.* 85, 63-72.
- Siddiqui**, M.S., Amy, G.L., Rice, R.G., 1995. Bromate ion formation: a critical review. *J. Am. Water Works Assoc.* 87, 58-70.
- Sikka**, H.C., Butler, G.L., 1977. Effects of selected wastewater chlorination products and captan on marine algae. Environmental Protection Agency-Ecological Research Series.
- Simmons**, M.S., Sivaborvorn K., 1979. Effects of Chlorinated organics from wastewater treatment on algal growth. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 23, 766-773.
- Singer**, P.C., Brown, R.A., Wiseman, J.F., 1988. Formation of halogenated organics during wastewater disinfection, Water resources research Institute of the University of North Carolina.
- Sloof**, W., Van Kreijl, C.F., Baars, A.J., 1983. Relative liver weights and xenobiotic-metabollzing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquat. Toxicol.* 4, 1-14.

Smith, J.G., Lee, S.F., Netzer, A., 1976. Model studies in aqueous chlorination: the chlorination of phenols in dilute aqueous solutions. *Water Res.* 10, 985-990.

Smith, F.M., Jones, D.R., 1982. The effects of changes in blood oxygen carrying capacity on ventilation volume in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *J. Exp. Biol.* 97, 325-334.

Smith, A.D., Bharath, A., Mallard, C., Orr, D., Smith, K., Sutton, J.A., Vukamanich, J., McCarty, L.S., Ozburn, G.W., 1991. The acute and chronic toxicity of ten chlorinated organic compounds to the American Flagfish (*Jordanella Floridae*). *Arch. Environ. Contain. Toxicol.* 20, 94-102.

Soper, F.G., Smith, G.F., 1926. The halogenation of phenols. *J. Chem. Soc.* 6, 1582-1591.

Statham, C.N., Croft, W.A., Lecrf, J.J., 1978. Uptake, distribution and effects of carbon tetra-chloride in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45, 131-140.

Stevens, A.A., Slocum, C.J., Seeger, D.R., Robeck, G.G., 1976. Chlorination of organics in drinking water. *J. Am. Water Works Assoc.* 68, 615-620.

Stevens, A.A., Moore, L.A., Slocum, C.J., 1989. By-products of chlorination at ten operating utilities. In: *Disinfection by-products: Current perspectives*. American Water Works Association. Denver (Colorado).

Stewart, M.E., Blogoslawski, W.J., Hsu, R.Y., Helz, G.R., 1979. By-products of oxidative biocides: toxicity to oyster larvae. *Mar. Poll. Bull.* 10, 166-169.

Stober, Q.J., Dinnel, P.A., Hurlburt, E.F., Dijulio, D.H., 1980. Acute toxicity and behavioral responses of coho salmon (*Oncorhynchus Kisutch*) and shiner perch (*Cymatogaster Aggregata*) to chlorine in heated sea-water. *Water Res.* 14, 347-354.

Sun, Y.X., Wu, Q.Y., Hu, H.Y., Tian, J., 2009. Effect of ammonia on the formation of THMs and HAAs in secondary effluent chlorination. *Chemosphere* 76, 631-637.

Svecevicus, G., Syvokiene, J., Stasiunaite, P., Mickeniene, L., 2005. Acute and chronic toxicity of chlorine dioxide ClO_2 and chlorite ClO_2^- to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 12, 302-305.

Taft, R.W., 1952. Steric Effects in Organic Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* 74, 3120-3128.

Templin, M.V., Jamison, K.C., Sprankle, C.S., Wolf, D.C., Wong, B.A., Butterworth, B.E., 1996. Chloroform-induced cytotoxicity and regenerative cell proliferation in the kidneys and liver of BDF1 mice. *Cancer Lett.* 108, 225-231.

Tan, B., Melius, P., Grizzle, J.M., 1981. Hepatic enzymes and tumor histopathology of Black Bullheads with papillomas. In: *Cooke, M., Polynuclear aromatic hydrocarbons-Chemical analysis and biological fate*. Batelle Press. Ohio.

- Thomas**, W.H., Seibert, D.L.R., Dodson, A.N., 1974. Phytoplankton enrichment experiments and bioassays in natural coastal seawater and in sewage outfall receiving waters off Southern California. *Est. Coast. Mar. Sci.* 2, 191-206.
- Thompson**, R.S., Carmichael, N.G., 1989. 1,1,1-trichloroethane: Medium-term toxicity to Carp, Daphnids and higher plants. *Ecotoxicol. Environ. Sac.* 17, 172-182.
- Thurston**, R.V., Gilfoil, T.A., Meyn, E.L., Zajdel, R.K., Aord, T., Veith, G.D., 1985. Comparative toxicity of ten organic chemicals to ten common aquatic species. *Water Res.* 19, 1145-1155.
- Toetz**, D., 1977. Effects of chlorine and chloramines on uptake of inorganic nitrogen by phytoplankton. *Water Res.* 11, 253-258.
- Tokmak**, B., Capar, G., Dilek, F.B., Yetis, U., 2004. Trihalomethanes and associated potential cancer risks in the water supply in Ankara, Turkey. *Environ. Res.* 96, 345-352.
- Toussaint**, M.W., Rosencrance, A.B., Brennan, L.M., Beaman, J.R., Wolfe, M.J., Hoffmann, F.J., Gardner, H.S., 2001. Chronic toxicity of chloroform to Japanese Medaka fish. *Environ. Health Persp.* 109, 35-40.
- Trabalka**, J.R., Burch, M.B., 1978. Investigation of the effects of halogenated organic compounds produced in cooling systems and process effluents on aquatic organisms. In: *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*. Vol 2.
- Trabalka**, J.R., Burch, M.B., 1979. Effects of water-soluble chlorine-containing organics on aquatic environments-another perspective. *Toxicology Lett.* 3, 201-207.
- Trehy**, M.L., Yost, R.A., Miles, C.J., 1986. Chlorination byproducts of amino acids in natural waters. *Environ. Sci. Technol.* 20, 1117-1122.
- Trussell**, R.R., Umphres, M.D., 1978. The formation of trihalomethanes. *J. Am. Water Works Assoc.* 70, 604-612.
- Ultsch**, G.R., Gross, G., 1979. Effects of branchial mucus on the diffusion of O₂ in Carp, *Cyprinus Carpio*. *Comp. Biochem. Physiol. (A)* 62, 685-689.
- Urbansky**, E. T., 2001. The fate of haloacetates in drinking water-chemical kinetics in aqueous solution. *Chem. Rev.* 101, 3233-3243.
- Ventura**, F., Rivera, J., 1986. Potential formation of bromophenols in Barcelona's tap water due to daily salt mine discharges and occasional phenol spills. *Bull. Environ. Cont. Tox.* 36, 219-225.
- Verhoek**, F., 1934. The kinetics of the decomposition of the trichloroacetates in various solvents. *J. Am. Chem. Soc.* 56, 571-577.
- Verrengia-Guerrero**, N.R., Taylor, M.G., Davies, N.A., Lawrence, M.A.M., Edwards, P.A., Simkiss,

- K., Wider, E.A., 2002. Evidence of differences in the biotransformation of organic contaminants in three species of freshwater invertebrates. *Environ. Poll.* 117, 523-530.
- Videau**, C., Khalanski, M., Penot, M., 1979. Preliminary results concerning effects of chlorine on monospecific marine phytoplankton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 36, 111-123.
- Videau**, C., 1980. Physiological response to chlorination of the unicellular marine alga *Dunalliella Primolecta* Butche. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 47, 113-126.
- Wade**, E.A., Clemes T.P., Singmaster, K.A., 2000. Photochemistry of chloropicrin. *J. Chem. Educ.* 77, 898-900.
- Wade**, E.A., Reak, K.E., Parsons, B.F., Clemes, T.P., Singmaster, K.A. 2002, Photochemistry of chloropicrin in cryogenic matrices. *Chem. Phys. Lett.* 365, 473-479.
- Walbridge**, C.T., Fiandt, J.T., Phipps, G.L., Holcombe, G.W., 1983. Acute toxicity of ten Chlorinated aliphatic hydrocarbons to the Fathead Minnow (*Pimephales Promelas*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 12, 661-666.
- Waller**, K., Swan, S.H., DeLorenze, G., Hopkins, B., 1998. Trihalomethanes in drinking water and spontaneous abortion. *Epidemiology* 9, 134-140.
- Wang**, W., Ye, B., Yang, L., Li, Y., Wang, Y., 2007. Risk assessment on disinfection by-products of drinking water of different water sources and disinfection processes. *Environ. Int.* 33, 219-225.
- Wang**, G.S., Deng, Y.C., Lin, T.F., 2007. Cancer risk assessment from trihalomethanes in drinking water. *Sci. Tot. Environ.* 387, 86-95.
- Watanabe**, I., Kashimoto, T., Tatsukawa, R., 1984. Brominated Phenol Production from the Chlorination of Wastewater Containing Bromide Ions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 33, 395-399.
- Watanabe**, T., Hashimoto, K., Abe, Y., Omura, T., 2005. Evaluation of health risks in the wastewater reclamation in the Abukuma Watershed-Japan. *J. Water Environ. Technol.* 3, 223-233.
- Watkins**, C.H., Hammerschlag, R.S., 1984. The toxicity of chlorine to a common vascular aquatic plant. *Water Res.* 18, 1037-1043.
- Weisel**, C.P., Kim, H., Haitmeier, P., Klott, J.B., 1999. Exposure Estimates to Disinfection By-products of Chlorinated Drinking Water. *Environ. Health Perspect.* 107, 103-110.
- Wharfe**, J.R., Hutchings, B.J., Jowett, P.E., 1981. Some effects of the discharge of chlorinated sewage, from a short sea-outfall, on intertidal macro-organisms, *Environ. Pollut.* 25, 9-17.
- White**, G.C., 1972. Handbook of chlorination. Van Nostrand Reinhold. New York.
- White**, G.C., 1978. Disinfection of wastewater and water for reuse. Van Nostrand Reinhold Co. New York.

- White**, G.C., 1992. Handbook of chlorination and alternative disinfectants. Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- WHO** (World Health Organization), 1996. Disinfectants and disinfection by-products-Session Objectives. WHO Seminar pack for drinking water quality, Vol. 2 (16).
- WHO** (World Health Organization), 2004. Chloroform. Geneva.
- Wilhelm**, S.N.S.K., Lawrence, L.J., Lee, H., 1997. Environmental fate of chloropicrin. American Chemical Society-Symposium Series.
- Wright**, J.M., Schwartz, J., Dockery, D.W., 2003. Effect of trihalomethane exposure on fetal development. *Occup. Environ. Med.* 60, 173-180.
- Yang**, C.Y., Xiao, Z.P., Ho, S.C., Wu, T.N., Tsai, S.S., 2007. Association between trihalomethane concentrations in drinking water and adverse pregnancy outcome in Taiwan. *Env. Res.* 104, 390-395.
- Zeitoun**, I.H., 1978. The recovery and hematological rehabilitation of chlorine stressed adult Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Environ. Biol. Fish* 3, 355-359.
- Zhang**, X., Minear, R.A., 2002. Decomposition of trihaloacetic acids and formation of the corresponding trihalomethanes in drinking water. *Wat. Res.* 36, 3665-3673.
- Zillich**, J.A., 1972. Toxicity of combined chlorine residuals to fresh water fish. *J. Water Pollut. Control Fed.* 44, 212-220.