



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

ΔΙΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ - ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ»

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ  
ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ  
ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΛΩΡΙΩΣΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΩΝ  
ΛΥΜΑΤΩΝ**

**Μυρσίνη Αξιομακάρου**

**Αθήνα, Ιούνιος 2013**

**«ΕΠΙΣΤΗΜΗ &  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ  
ΥΔΑΤΙΚΩΝ  
ΠΟΡΩΝ»**

**Επιβλέπων: Λέκτορας Κ. Νουτσόπουλος**



## Ευχαριστίες

---

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διατμηματικού - Διεπιστημονικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών, 'Επιστήμη και Τεχνολογία των Υδατικών Πόρων.

Έχοντας ολοκληρώσει αυτό τον κύκλο σπουδών, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Λέκτορα κ. Κ. Νουτσόπουλο που μου εμπιστεύτηκε την ανάληψη της συγκεκριμένης εργασίας. Η επιστημονική του καθοδήγηση, η πρόθυμη συνεργασία του καθώς και οι υποδείξεις του συνέβαλαν σημαντικά στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους υπόλοιπους καθηγητές που στελέχωσαν το μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών και ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Δ. Μαμάη που μαζί με τον κ. Κ. Νουτσόπουλο με επέλεξαν να βρίσκομαι σε αυτό.

Εξαιρετικά σημαντική ήταν η βοήθεια που μου πρόσφερε η υποψήφια διδάκτορας Έλενα Κουμάκη. Χωρίς την βοήθεια της και τις παρατηρήσεις της, η διεκπεραίωση της παρούσας εργασίας θα ήταν ιδιαίτερα δύσκολη. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Κορνηλία Αντωνίου καθώς και όλους τους εργαζόμενους στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας για το άριστο κλίμα συνεργασίας και την βοήθεια τους σε ότι και αν προέκυψε. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Μαρία-Χριστίνα Νίκα, μεταπτυχιακή φοιτήτρια του κ. Ν.Θωμάϊδη του τμήματος Χημείας, για την συμβολή της στην ταυτοποίηση των παραπροϊόντων καθώς και για την πρόθυμη συνεργασία της.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως τους Τσάτσα Ηλία και Μπέλλο Βασίλη για την πολύτιμη βοήθεια τους σε πρακτικά ζητήματα κατά τη συγγραφή της εργασίας. Οι τελευταίες ευχαριστίες αφορούν τους φίλους μου καθώς και την οικογένειά μου, για την πολύπλευρή της στήριξη σε αυτή μου την προσπάθεια.

Αξιομακάρου Μυρσίνη

Ιούνιος, 2013



# Περιεχόμενα

---

Ευχαριστίες

Περιεχόμενα

Περίληψη

Extended Abstract

Introduction

Methods

Effect of pH

Effect of humic acids

By-products of BPA and NP

Analytical Methods

Results and Discussion

Distribution of selected compounds among particulate and aqueous phase

Effect of pH

Effect of initial chlorine dose

Effect of TSS

Effect of humic acids

By-products of BPA and NP

Conclusions

Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή.....	1
1.1 Αντικείμενο Εργασίας.....	1
1.2 Διάρθρωση Εργασίας.....	2
Κεφάλαιο 2 Θεωρητική ανασκόπηση μικροοργανικών ενώσεων.....	3
2.1 Ιβουπροφαίνη (IBF).....	3
2.1.1 Παραγωγή και Χρήση.....	3
2.1.2 Τοξικότητα.....	5
2.1.3 Βιοαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση.....	7
2.2 Ναπροξένη (NPX).....	11
2.2.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	11
2.2.2 Τοξικότητα.....	13
2.2.3 Βιοαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση.....	15
2.3Κετοπροφαίνη (KFN).....	19
2.3.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	19
2.3.2 Τοξικότητα.....	21
2.3.3 Βιοαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση.....	22

2.4 Δικλοφενάκη (DCF).....	29
2.4.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	29
2.4.2 Τοξικότητα.....	30
2.4.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση .....	31
2.5 Εννεύλοφαινόλη (NP).....	33
2.5.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	33
2.5.2 Τοξικότητα.....	35
2.5.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση .....	39
2.6 Μονό- και δι- αιθοξυλιωμένοι εννεύλοφαινόλες (NP1EO και NP2EO) .....	42
2.6.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	42
2.6.2 Τοξικότητα.....	43
2.6.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση .....	44
2.7 Τρικλοζάνη (TCS) .....	50
2.7.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	50
2.7.2 Τοξικότητα.....	52
2.7.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση.....	54
2.8 Βισφαινόλη (BPA).....	58
2.8.1 Παραγωγή και Χρήσεις.....	58
2.8.2 Τοξικότητα.....	60
2.8.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση .....	63
Κεφάλαιο 3 Χλωρίωση φαρμακευτικών ουσιών και ενδοκρινικών διαταρακτών .....	67
3.1 Εισαγωγή στην Χλωρίωση.....	67
3.2 Ιβουπροφαίνη (IBF) .....	69
3.3 Ναπροξένη (NPX).....	70
3.4 Κετοπροφαίνη (KFN) .....	79
3.5 Δικλοφενάκη (DCF).....	79
3.6 Εννεύλοφαινόλη.....	86
3.7 Μονοαιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη & Διαιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη.....	92
3.8 Τρικλοζάνη.....	93
3.9 Βισφαινόλη .....	99
Κεφάλαιο 4 Υλικά και Μέθοδοι.....	111
4.1 Προσδιορισμός του προφίλ των λυμάτων .....	111
4.1.1 Προσδιορισμός των στερεών .....	111
4.1.2 Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD).....	114
4.1.3 Προσδιορισμός θολότητας .....	116
4.1.4 Προσδιορισμός pH.....	117
4.2 Πειραματικά Πρωτόκολλα.....	117
4.2.1 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες σε διαφορετικά pH.....	117
4.2.2 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου. ....	118

4.2.3 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες για διαφορετικές συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών. ....	119
4.2.4 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με προσθήκη χουμικών οξέων. ....	120
4.2.5 Χλωρίωση Nonyphenol και Bisphenol σε υπερκάθαρο νερό. ....	120
4.3 Προσδιορισμός φαρμακευτικών ουσιών και ενδοκρινικών διαταρακτών. ....	121
4.3.1 Προεπεξεργασία. ....	121
4.3.2 Παραγωγοποίηση. ....	122
4.3.3 Ανάλυση με Αέρια Χρωματογραφία - Φασματομετρία Μάζας. ....	123
Κεφάλαιο 5 Ανάλυση Αποτελεσμάτων. ....	127
5.1 Κατανομή των υπό εξέταση ουσιών στην υγρή και στερεή φάση και συσχέτιση με τον συντελεστή οκτανόλης-υγρού. ....	127
5.2 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες σε διαφορετικά pH. ....	130
5.2.1 Ιβουπροφαίνη (IBF). ....	130
5.2.2 Ναπροξένη (NPX). ....	131
5.2.3 Κετοπροφαίνη (KFN). ....	132
5.2.4 Δικλοφαινάκη (DCF). ....	134
5.2.5 Εννεύλοφαινόλη (NP). ....	136
5.2.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10). ....	137
5.2.7 Διαιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη (NPE20). ....	139
5.2.8 Τρικλοζάνη (TCS). ....	140
5.2.9 Βισφαινόλη (BPA). ....	141
5.3 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου. ....	143
5.3.1 Ιβουπροφαίνη (IBF). ....	144
5.3.2 Ναπροξένη (NPX). ....	145
5.3.3 Κετοπροφαίνη (KFN). ....	147
5.3.4 Δικλοφαινάκη (DCF). ....	149
5.3.5 Εννεύλοφαινόλη (NP). ....	150
5.3.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10). ....	152
5.3.7 Διαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE20). ....	154
5.3.8 Τρικλοζάνη (TCS). ....	156
5.3.9 Βισφαινόλη (BPA). ....	158
5.4 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες σε διαφορετικά συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών. ....	159
5.4.1 Ιβουπροφαίνη (IBF). ....	159
5.4.2 Ναπροξένη (NPX). ....	161
5.4.3 Κετοπροφαίνη (KFN). ....	162

5.4.4 Δικλοφαινάκη (DCF).....	164
5.4.5 Εννεύλοφαινόλη (NP).....	166
5.4.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10).....	168
5.4.7 Διαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE20).....	170
5.4.8 Τρικλοζάνη (TCS).....	172
5.4.9 Βισφαινόλη (BPA).....	174
5.5 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με προσθήκη χουμικών οξέων.....	176
5.5.1 Ιβουπροφαίνη (IBF).....	176
5.5.2 Ναπροξένη (NPX).....	177
5.5.3 Κετοπροφαίνη (KFN).....	179
5.5.4 Δικλοφαινάκη (DCF).....	179
5.5.5 Εννεύλοφαινόλη (NP).....	180
5.5.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10).....	181
5.5.7 Διαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE20).....	182
5.5.8 Τρικλοζάνη (TCS).....	183
5.5.9 Βισφαινόλη (BPA).....	184
Κεφάλαιο 5.6 Χλωρίωση Nonyphenol και Bisphenol σε υπερκάθαρο νερό.....	185
5.6.1 Βισφαινόλη (BPA).....	185
5.6.2 Εννεύλοφαινόλη.....	187
Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα.....	190



## Περίληψη

---

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η επίδραση των χαρακτηριστικών των λυμάτων στην απομάκρυνση φαρμακευτικών ουσιών (IBF, NPX, KFN, DCF) και ενδοκρινικών διαταρακτών (NP, NPE10, NPE20, TCS, BPA) κατά τη χλωρίωση των επεξεργασμένων λυμάτων. Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας.

Σε πρώτο στάδιο γίνεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση για κάθε ουσία ξεχωριστά. Πιο συγκεκριμένα αναφέρονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες, οι τρόποι παραγωγής και χρήσης, η τοξικότητα στο υδατικό περιβάλλον και τέλος η βιοαποδόμηση και η βιοσυσσώρευση για κάθε ουσία ξεχωριστά. Στο επόμενο κεφάλαιο γίνεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση της συμπεριφοράς κάθε ουσίας σε σχέση με το χλώριο ξεχωριστά. Στο κεφάλαιο που ακολουθεί γίνεται αναφορά στις μεθόδους και στα πειραματικά πρωτόκολλα που ακολουθήθηκαν για την διεξαγωγή των εργαστηριακών πειραμάτων. Στο επόμενο κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τα εργαστηριακά πειράματα που διεξήχθησαν.

Αρχικά μελετήθηκε η χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων στα οποία είχαν προστεθεί οι εξεταζόμενες ενώσεις, σε επίπεδα συγκεντρώσεων παρόμοια με αυτά που συναντώνται στο περιβάλλον. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων παραγόντων, όπως το pH, η αρχική συγκέντρωση χλωρίου, η συγκέντρωση ολικών στερεών καθώς και η συγκέντρωση διαλυτού οργανικού άνθρακα στην απομάκρυνση των ουσιών. Επίσης σε σύγκριση με παλιότερη εργασία του Εργαστηρίου Υγειονομικής Τεχνολογίας μελετήθηκε η επίδραση της δόσης χλωρίου στην απομάκρυνση των ουσιών. Τέλος, έγινε ανίχνευση και ταυτοποίηση των παρα-προϊόντων που σχηματίζονται κατά τη χλωρίωση της BPA και της NP.

Φάνηκε ότι το pH ήταν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρέασαν την απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση. Το pH καθορίζει τη μορφή του χλωρίου που επικρατεί στο διάλυμα όπως επίσης και τη μορφή των ουσιών. Οι περισσότερες ουσίες φάνηκαν να είναι δραστικότερες με το χλώριο στην ιονισμένη τους μορφή, δηλαδή για  $\text{pH} > \text{pK}_a$ , ενώ η δραστικότερη μορφή του χλωρίου με τις οργανικές ουσίες ήταν το HOCl που επικρατούσε για  $\text{pH} < 7.5$ . Η δομή των ουσιών φάνηκε επίσης να παίζει σημαντικό ρόλο στην δραστικότητα των ουσιών με το χλώριο. Οι ουσίες που μελετήθηκαν δέχονται ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση στις ορθό και παρά θέσεις του αρωματικού τους δακτυλίου. Οι ουσίες με αμινομάδα και με φαινολική ομάδα στην δομή τους (DCF, TCS, BPA, NP) φάνηκε να είναι αρκετά δραστικές με το χλώριο, ενώ οι ουσίες με υποκαταστάτες στη δομή τους (KFN, IBF, NPE10, NPE20) έδειξαν μικρότερη δραστικότητα με το χλώριο λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης που προκαλείται από αυτούς.

Οι διαφορετικές συγκεντρώσεις στερεών (0, 10, 70 mg/l), η προσθήκη χουμικών οξέων (20 mg/l) και οι διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου (5, 10, 20, 30 mg/l) δεν φάνηκε να επηρεάζουν την απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση. Σε συγκριτικά διαγράμματα, με προηγούμενη εργασία που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας, ως προς τις διαφορετικές δόσεις χλωρίου φάνηκε ότι για τις ουσίες με μικρή και μεσαία δραστικότητα με το χλώριο, τα 4 min ήταν αρκετά για να ολοκληρωθεί το μεγαλύτερο μέρος της χλωρίωσης, ενώ σε μεγαλύτερους χρόνους επαφής το φαινόμενο συνεχιζόταν να εξελίσσεται. Για τις ουσίες με μεγαλύτερη δραστικότητα με το χλώριο, τα 4 min ήταν αρκετά να ολοκληρωθεί το φαινόμενο της χλωρίωσης. Στα πειράματα ταυτοποίησης παραπροϊόντων της BPA και της NP, φάνηκε ότι για τη BPA υπερισχύουν η

2,2',6-τριχλωρο-BPA και η πολυχλωριωμένη φαινοξυφαινόλη PPCP2. Όσον αφορά την NP, το παραπροϊόν που επικράτησε κατά τη διάρκεια όλου του χρόνου της χλωρίωσης ήταν η  $\text{NPCI}_2$ . Η εργασία αυτή ολοκληρώνεται με μια σύνοψη των κυριότερων συμπερασμάτων που προέκυψαν από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας.

## Extended Abstract

The purpose of this master thesis study, was to investigate the fate of endocrine disruptors and pharmaceuticals compounds during chlorination process, at treatment municipal wastewater. The study was conducted at the Sanitary Engineering Laboratory of the School of Civil Engineering, at the National Technical University of Athens. The compounds that were investigated are separated in two groups, pharmaceutical compounds and endocrine disruptors. The first group includes ibuprofen, naproxen, ketoprofen and diclofenac and the second one nonylphenol, nonylphenol mono-ethoxylate, nonylphenol di-ethoxylate triclosan, bisphenol-A. Chlorination bench scale batch experiments were carried out at secondary treated wastewater to evaluate the effect of the pH, chlorine dose, TSS (Total Suspended Solids) and humic acid on the removal of the target micropollutants. The samples were collected from wastewater treatment plant of Psitallia and the examined compounds were spiked at concentrations levels, similar to those detected at the entrance of urban wastewater treatment plants, approximately 1 µg/L. The pH significantly affects the removal of the substances. The structure of the substances, the, various species of chlorine (HOCl, ClO<sub>2</sub>, etc.) that are present in solution due to pH –dependent aqueous chemistry and the experimental conditions are the most important factors during the chlorination of the micropollutants at different pH. According to the results, IBF and KFN presented slow removal rates for all the pH range due to the weak electrodonor substituents that contain. On the other hand, NPX and DCF presented high removal rates at low and neutral pH, whereas for pH 10 the removal efficiency was very low due to their acidic structure. NP showed an intermediate removal, whereas NPE1O and NPE2O a slow removal. BPA and TCS showed a high removal efficiency in the whole pH range (6-10). Different concentrations of humic acids, Total Suspended Solids (TSS) and initial chlorine dose didn't seem to affect significantly the removal of the substances during the chlorination process whereas comparative plots with previous study that took place at the Sanitary Engineering Laboratory showed that time plays an important role to the removal of some compounds during the chlorination process .

## Introduction

Endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals are emerging environmental issues that have attracted increasing attention internationally and generated some concerns among the scientific community, media, and general public. In recent years, evidence has emerged showing that some chemicals at certain concentrations can cause disruption to endocrine systems and can affect hormonal control of development in aquatic organisms and wildlife. Residues of PPCPs have been detected in sewage effluent and in aquatic environments. Many of the PPCPs are designed to be biologically active and therefore the wide detection of these compounds in sewage effluents and in the environment has generated some concern about their potential impact on ecosystem and human health. EDCs and pharmaceuticals are released from a wide variety of sources such as domestic sewage, hospital waste, intensive agriculture, and animal waste. The incomplete removal of these pollutants at wastewater treatment plants (WWTPs), not designed for this task, has permitted their spread through aquatic environment. So they have been detected in the aquatic environment at concentrations ranging from ng/l to mg/l. Disinfection process as the final barrier in WWTPs appears to result in significant removal of micropollutants. Chlorination was commonly used as the disinfection process in WWTPs globally due to its low cost.

The aim of this work was to study the elimination rates of some pharmaceuticals (IBF, NPX, KFN, DCF) and EDCs (NP, NPE1O, NPE2O, BPA, TCS) during chlorination at different experimental conditions (pH, initial chlorine dose, TSS, humic acids).

## **Methods**

### **Effect of pH**

Chlorination batch experiments were performed in 2 L reactors. All batch experiments were performed in secondary treated wastewater samples with the target compounds (IBF, NPX, KFN, DCF, NP, NPE1O, NPE2O, TCS, BPA) at a concentration at 1000 ng/l. The solution of the treated wastewater with the target compounds was placed in 2L glass bottle, while stirring. After 30 min, the samples were sub-divided into replicate 220 ml samples for each batch experiment. Before each chlorination test, an aliquot of 100 ml was extracted and was filtered through a pore filter size 0.45 $\mu$ m. Afterwards, chlorine was added to the samples as liquid chlorine in the form of NaOCl, while stirring. The initial chlorine dose in all experiments was equal to 15 mg/l. The experiments were performed at three different pH values (6, 7.8, 10) at a constant chlorine dose Ct 95 mg/l·min. The pH was adjusted to the desired pH with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1N) and NaOH (1N). The chlorination was allowed to proceed for enough time in order to achieve chlorine dose Ct 95 mg/l·min and then quenched by injecting 40 mg/l sodium sulfite (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Prior to the addition of the sodium sulfate, a portion of the chlorinated sample was taken for residual chlorine determination. Samples were filtered through a 0.45- $\mu$ m membrane filter. The dissolved and the solid phase samples were stored after the pH was adjusted to 2.8 with HCl to fully protonate the phenolic analytes to their more hydrophobic forms to achieve a higher solid-phase extraction recovery. Each sample was spiked with BPA-d<sub>16</sub> + MFC as isotopic surrogates. EDCs and PhCs before and after chlorination were analyzed and identified by gas chromatography/mass spectrometry (GS/MS). All experiments were carried out in triplicates.

### **Effect of chlorine dose**

The effect of chlorine concentration was investigated in percolated secondary treated wastewater samples in 2400 ml reactors. Chlorine dosages were applied at concentrations of 5, 10, 15, 20, 30 mg/l and was added to the samples as liquid chlorine in the form of NaOCl. The target compounds (IBF, NPX, KFN, DCF, NP, NPE1O, NPE2O, TCS, BPA) were spiked at a concentration of 1000 ng/l. The effect of chlorine dose was investigated in percolated secondary treated wastewater samples in 2400 ml reactors. The solution of the treated wastewater with the target compounds was placed in 3L glass bottle, while stirring. After 30 min, the samples were sub-divided into replicate 200 ml samples for each batch experiment. Before each chlorination test, an aliquot of 100 ml was extracted and stored. Each run was initiated by injecting a variable volume of the chlorine stock solution, necessary to achieve the desired initial chlorine dose into the flask, while stirring. The chlorination was allowed to proceed for 4 min and then quenched by injecting 40 mg/l sodium sulfite (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). After 4 min and prior to the addition of the sodium sulfate, a portion of the chlorinated sample was taken for residual chlorine determination. Samples were stored, after the pH was adjusted to 2.8 with HCl to fully protonate the phenolic analytes to their more hydrophobic forms to achieve a higher solid-phase extraction recovery. Each sample was spiked with BPA-d<sub>16</sub> + MFC as isotopic surrogates. EDCs and PhCs before and after chlorination were analyzed and identified by gas chromatography/mass spectrometry (GS/MS). All experiments were carried out in triplicates.

## **Effect of TSS**

Batch experiments at three different TSS (Total Suspended Solids) concentrations (0, 10, 70 mg/l) were also conducted for this study to determine the effects of TSS on the removal of the target compounds during chlorination. In order to achieve the desired TSS concentrations, MLSS from the same Wastewater Treatment Plant (Psitallia) was used. The target compounds (IBF, NPX, KFN, DCF, NP, NPE1O, NPE2O, TCS, BPA) were spiked at a concentration of 1000 ng/l. The experiments were performed at a constant chlorine dose Ct 90 mg/l·min. The effect of TSS was investigated in percolated secondary treated wastewater samples in 1400 ml reactors. The solution of the treated percolated wastewater with the target compounds and the desired TSS concentration was placed in 2L glass bottle, while stirring. After 30 min, the samples were sub-divided into replicate 250 ml samples for each batch experiment. Before each chlorination test, an aliquot of 100 ml was extracted and was filtered through a pore filter size 0.45µm. Afterwards, chlorine was added to the samples as liquid chlorine in the form of NaOCl, while stirring. The initial chlorine dose in all experiments was equal to 15 mg/l. The chlorination was allowed to proceed for enough time in order to achieve chlorine dose Ct 90 mg/l·min and then quenched by injecting 40 mg/l sodium sulfite (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Prior to the addition of the sodium sulfate, a portion of the chlorinated sample was taken for residual chlorine determination. Samples were filtered through a 0.45-µm membrane filter. The dissolved and the solid phase samples were stored after the pH was adjusted to 2.8 with HCl to fully protonate the phenolic analytes to their more hydrophobic forms to achieve a higher solid-phase extraction recovery. Each sample was spiked with BPA-d<sub>16</sub> + MFC as isotopic surrogates. EDCs and PhCs before and after chlorination were analyzed and identified by gas chromatography/mass spectrometry (GS/MS). All experiments were carried out in triplicates.

## **Effect of humic acids**

Additional batch chlorination experiments without and in the presence of humic acids (20 mg/l) were performed to determine the effects of DOM (Dissolved Organic Matter) on the removal of the target compounds during chlorination. The effect of DOM was investigated in percolated secondary treated wastewater samples in 1400 ml reactors. The experiments were performed at a constant chlorine dose Ct 85 mg/l·min. The target compounds (IBF, NPX, KFN, DCF, NP, NPE1O, NPE2O, TCS, BPA) were spiked at a concentration of 1000 ng/l. The solution of the treated wastewater with the target compounds was placed in 2L glass bottle, while stirring. After 30 min, the samples were sub-divided into replicate 200 ml samples for each batch experiment. Before each chlorination test, an aliquot of 100 ml was extracted and stored. The initial chlorine dose in all experiments was equal to 15 mg/l. Chlorine was added to the samples as liquid chlorine in the form of NaOCl. The chlorination was allowed to proceed for enough time in order to achieve chlorine dose Ct 85 mg/l·min and then quenched by injecting 40 mg/l sodium sulfite (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Prior to the addition of the sodium sulfate, a portion of the chlorinated sample was taken for residual chlorine determination. Samples were stored, after the pH was adjusted to 2.8 with HCl to fully protonate the phenolic analytes to their more hydrophobic forms to achieve a higher solid-phase extraction recovery. Each sample was spiked with BPA-d<sub>16</sub> + MFC as isotopic surrogates. EDCs and PhCs before and after chlorination were analyzed and identified by gas chromatography/mass spectrometry (GS/MS). All experiments were carried out in triplicates.

## **By-products of BPA and NP during chlorination**

### **BPA**

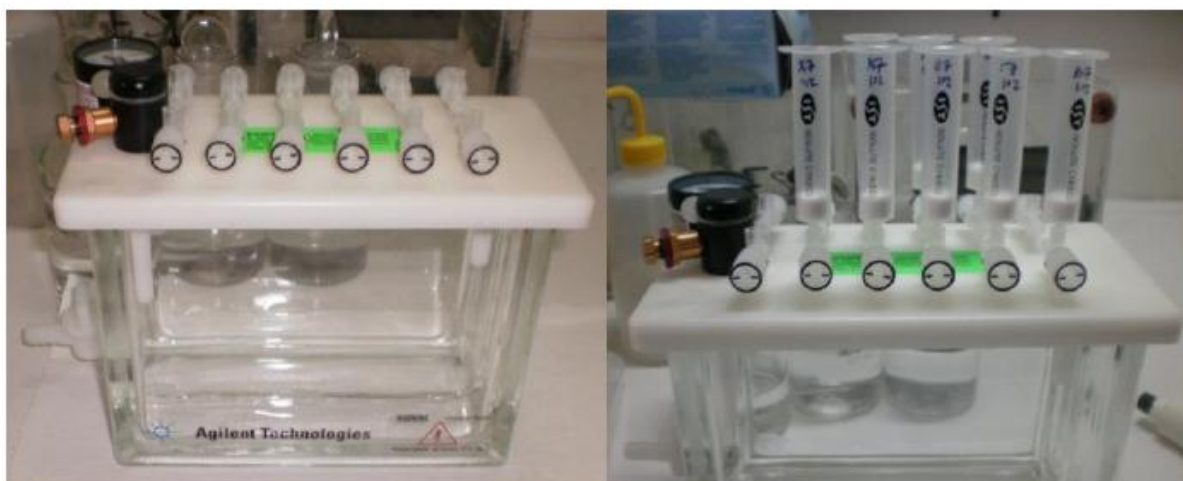
Batch chlorination experiments were conducted in order to detect and determine the by-products that are formed during the chlorination process. The experiments were carried out into Milli-Q pure water. The target compounds BPA were spiked at a concentration of 1 mg/l. The initial chlorine dose in all experiments was equal to 10 mg/l. Chlorine was added to the samples as liquid chlorine in the form of NaOCl. Samples were removed at 4, 9, 17, 35 min and quenched by injecting 40 mg/l sodium sulfite ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ). Prior to the addition of the sodium sulfate, a portion of the chlorinated sample was taken for residual chlorine determination. Samples were stored, after the pH was adjusted to 2.8 with HCl to fully protonate the phenolic analytes to their more hydrophobic forms to achieve a higher solid-phase extraction recovery. Each sample was spiked with BPA $_{d_{16}}$  + MFC as isotopic surrogates. BPA before and after chlorination were analyzed and identified by high performance Mass Spectrometry LTQ-Orbitap. The experiments were carried out in triplicates.

### **NP**

Batch chlorination experiments were conducted in order to detect and determine the by-products that are formed during the chlorination process. The experiments were carried out into Milli-Q pure water. The target compounds NP were spiked at a concentration of 1 mg/l. The initial chlorine dose in all experiments was equal to 10 mg/l. Chlorine was added to the samples as liquid chlorine in the form of NaOCl. Samples were removed at 4, 9, 17, 35 min and quenched by injecting 40 mg/l sodium sulfite ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ). Prior to the addition of the sodium sulfate, a portion of the chlorinated sample was taken for residual chlorine determination. Samples were stored, after the pH was adjusted to 2.8 with HCl to fully protonate the phenolic analytes to their more hydrophobic forms to achieve a higher solid-phase extraction recovery. Each sample was spiked with BPA $_{d_{16}}$  + MFC as isotopic surrogates. NP before and after chlorination were analyzed and identified by high performance Mass Spectrometry LTQ-Orbitap. The experiments were carried out in triplicates.

### **Analytical Methods**

The analytical method used (Samaras et al., 2011) included three stages : solid phase extraction (Isolute C18 columns were used from Biotage, installed in a proper apparatus – see Figure 1), derivatization (Pyridine and a solution of BSTFA and TMCS were used) and analysis on GC/MS (bought from Agilent Technologies). Finally, the washing of any glass device used was made in three stages : firstly with deionized water, then with acetone and finally with ultra-pure water. After washing the glass devices were put for one day in furnace at 106°C for drying.

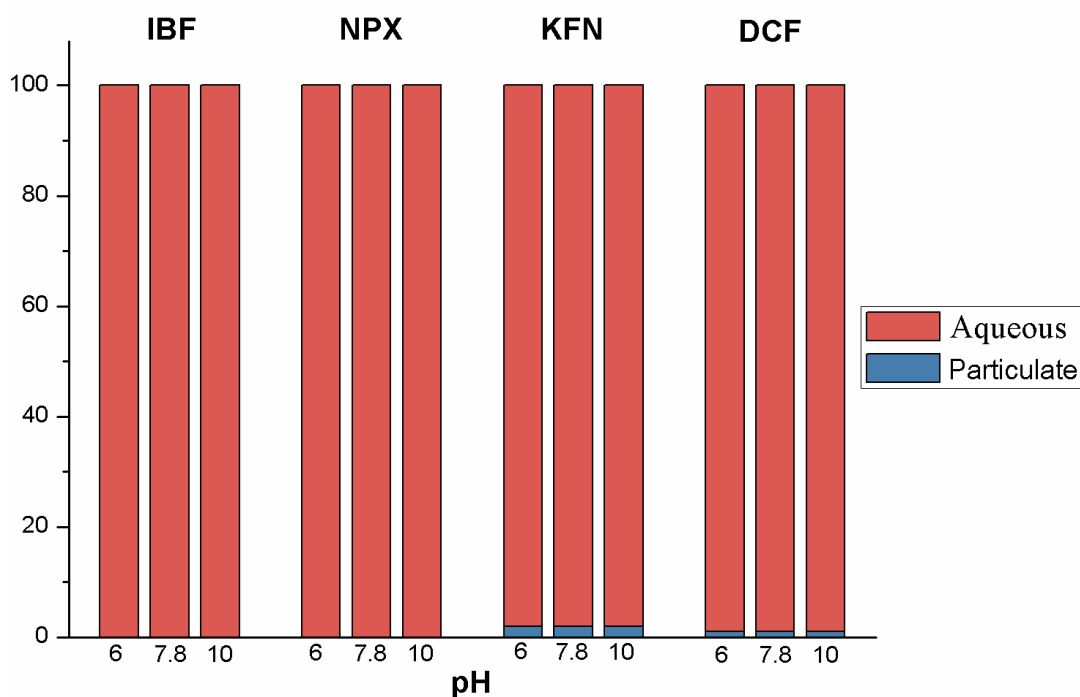


**Figure 1** : Solid phase extraction apparatus (left) with columns (right).

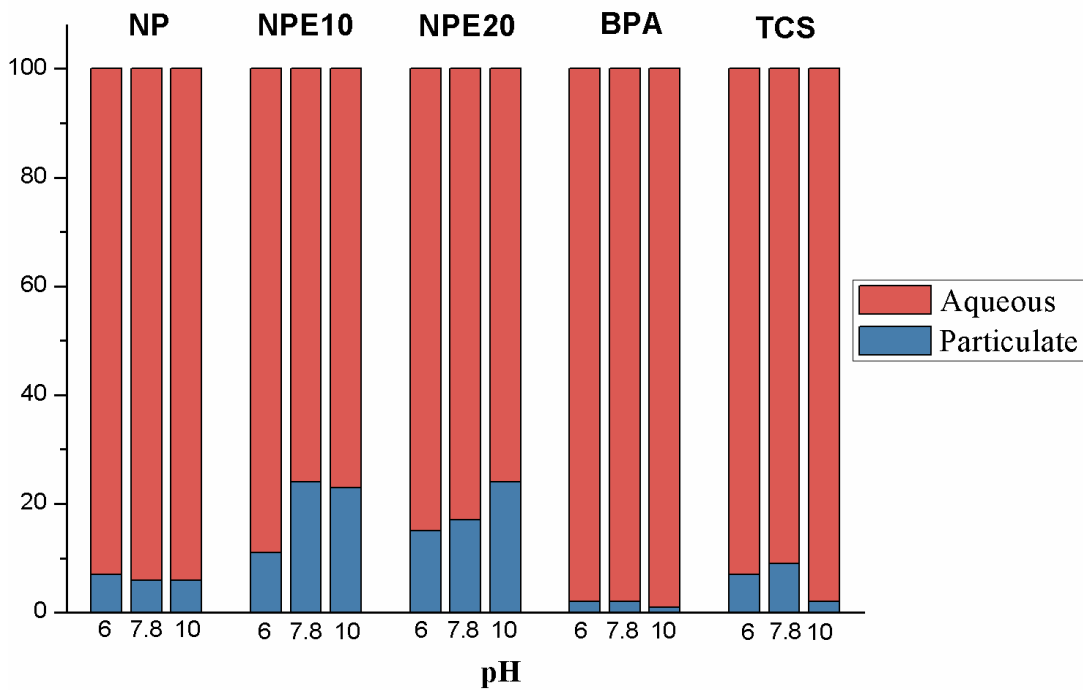
## Results and Discussion

### Distribution of selected compounds among particulate and aqueous phase

Batch experiments were performed, in triplicates, in biologically treated wastewater samples which were spiked with the target compounds at a concentration of 1000 ng/l. A distribution study of the selected compounds between the two phases composing wastewater (aqueous phase and particulate matter) has performed to examine each compound affinity to the aqueous or the solid phase at three different pH (6, 7.8 and 10). Figure 1 and 2 show the results obtained for pharmaceuticals and EDCs during the experiments.



**Figure 1**: Distribution of pharmaceuticals among suspended particulate and aqueous phase at different pH values



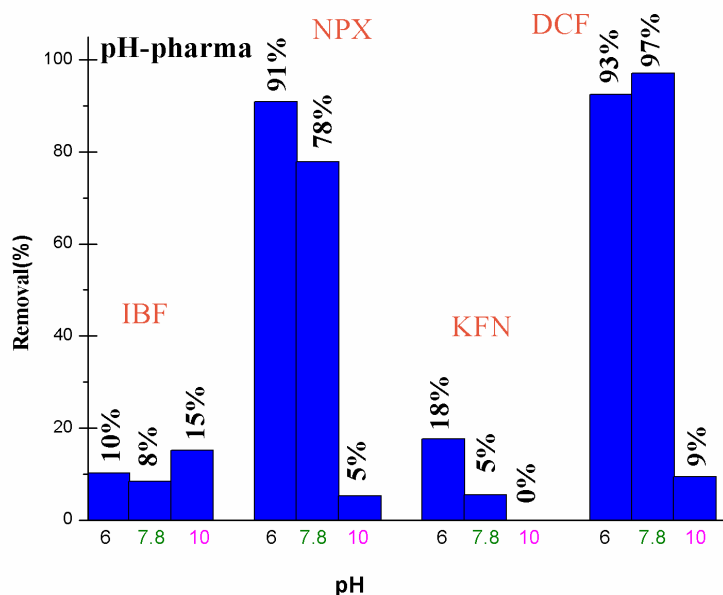
**Figure 2:** Distribution of EDCs among suspended particulate and aqueous phase at different pH values

According to the results, it can be observed that most of the compounds were mainly distributed in the aqueous phase (depending on the hydrophobicity). More specifically, IBF, NPX, KFN, DCF, BPA are distributed mostly in aqueous phase, whereas NP, NPE10, NPE20, TCS are present in the particulate phase, as well.

### Effect of pH

The effect of chlorination on the removal of target compounds was evaluated at three different pH values (6, 7.8 and 10) at a standard value of 90 mg/l·min. Initial chlorination dose was 15 mg/l and the target compounds were spiked at a concentration of 1000 ng/l.



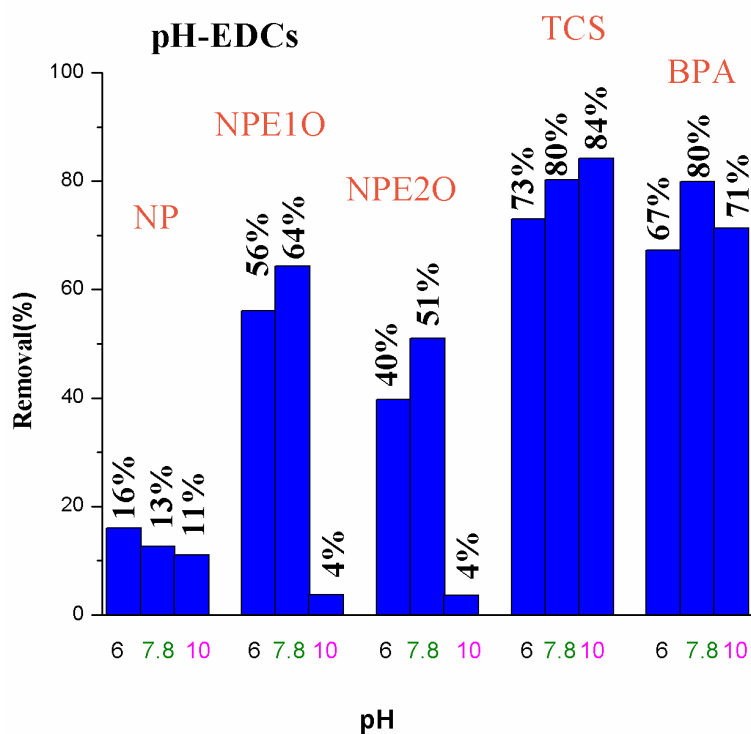


**Figure 3:** Effect of pH values on pharmaceuticals removal during chlorination

The results show that DCF and NPX removal was sufficient at pH 6 and 7.8 whereas at pH 10 a decrease in DCF and NPX reactivity is observed. DCF is an amine-containing pharmaceutical and that explains the high reactivity at pH 6 and 7.8 (93% and 97% respectively) with chlorine according to Pinkston and Sedlak, 2004. Naproxen shows also a high reactivity with chlorine, 91% and 78% for pH 6 and 7.8 respectively. Naproxen is an aromatic compound, thus one of the possible reactions would be an adduct formation between benzene ring and chlorine.

Due to chlorine speciation, the decrease in chlorination rate for pH 10 at both compounds, can be attributed to deprotonation of HOCl to yield ClO<sup>-</sup> which reactivity is generally negligible. Moreover the reaction between two anionic forms, the ionized form of chlorine with the ionized form of the acid pharmaceuticals, is less sufficient.

On the other hand, IBF and KFN exhibit low reactivity with chlorine in the whole pH range, 8-15% and 0-18% respectively, due to the weak electron-donor substituent that contain (alkyl and acid functions).



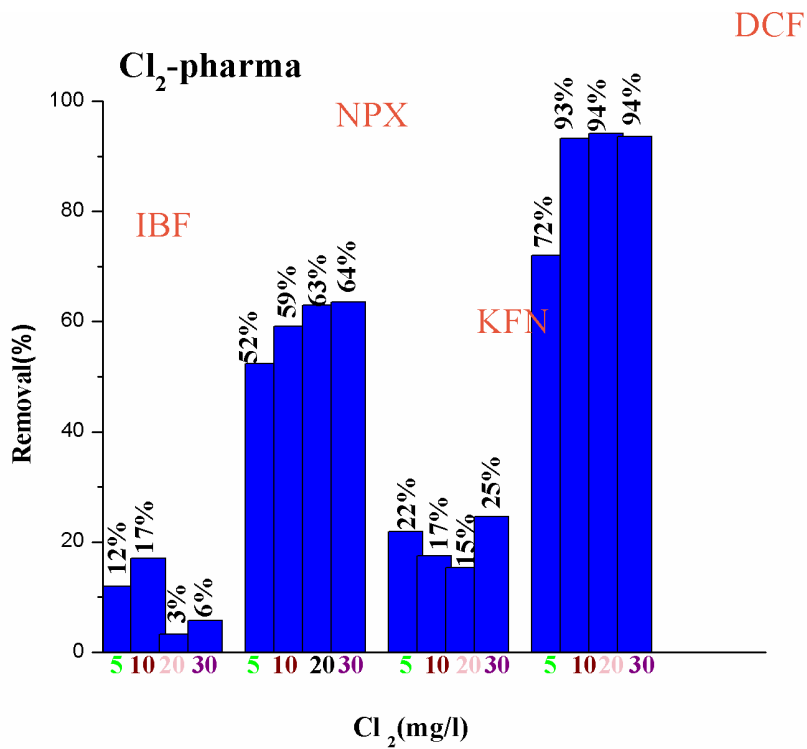
**Figure 4:** Effect of pH values on EDCs removal during chlorination

Figure 4 presents the removals of four EDCs at different pH values. TCS and BPA presented a high reactivity in the whole pH range, 73-84% and 67-71%. For NP, BPA and TCS, the main chlorine reactivity is expected on the phenolic ring. Phenolic compounds are expected to be reactive with chlorine. For NP, NPE1O, NPE2O the removals ranged 11-16%, 4-64% and 4-51% respectively.

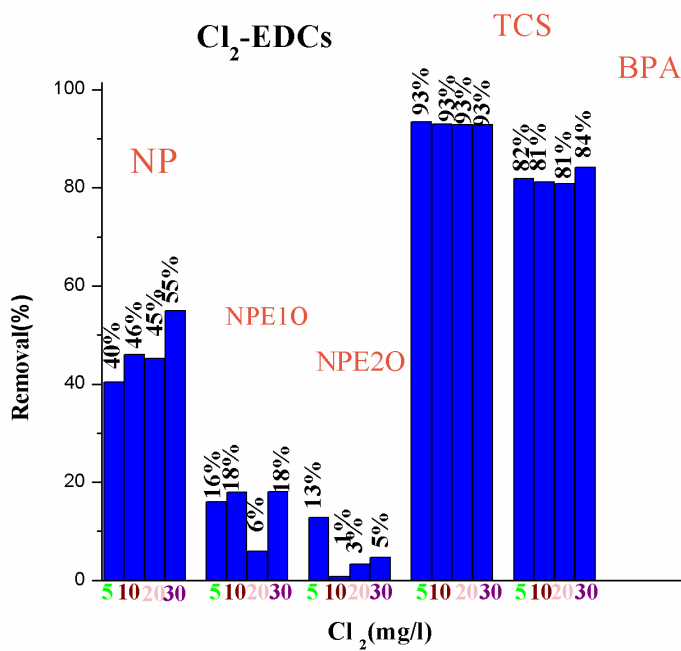
#### **Effect of initial chlorine dose**

Chlorination experiments were carried out with various initial concentrations of available chlorine (5, 10, 5, 20, 30) in order to investigate the effect of chlorine of initial chlorine dose on the removal of the compounds. The target compounds were spiked at concentration of 1000 ng/l and the contact time was 4 min for all the experiments that take place.

Based on the the experimental results, the initial chlorine dose did not affect the removal of the target compounds. More specifically, DCF, TCS and BPA presented a high reactivity, NP and NPX an intermediate reactivity whereas IBF, KFN , NPE1O and NPE2O do not react with chlorine significantly for all chlorine doses. NPE1O and NPE2O are expected to have lower efficiency than NP due to the considerable steric hindrance with the ethoxy groups compared to the hydroxyl group of 4-NP. Moreover, there is much less activation of the ortho sites with the ethoxy substituents.

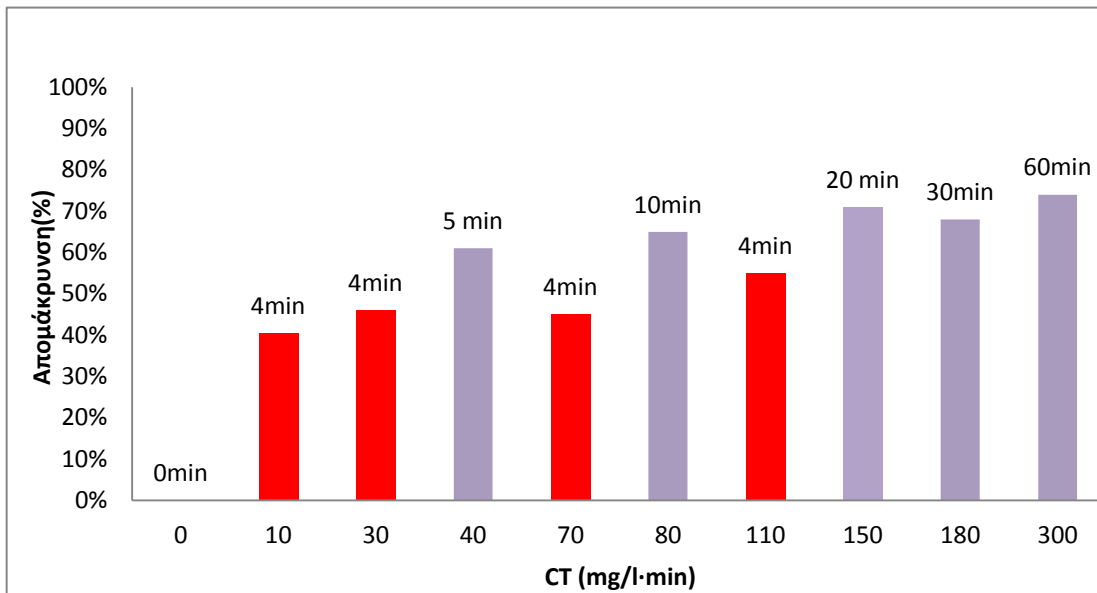


**Figure 5:** Effect of initial chlorine dose on pharmaceuticals removal during chlorination

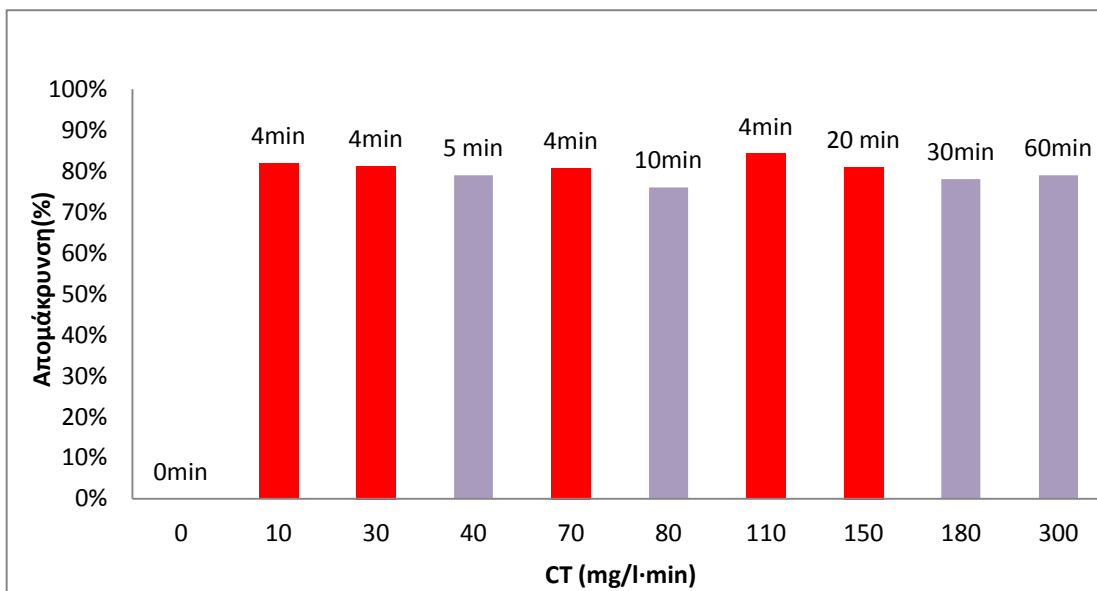


**Figure 6:** Effect of initial chlorine dose on EDCs removal during chlorination

At a comparative plot with previous study, that took place at Sanitary Engineering Laboratory, time seems to play a significant role during chlorination for the compounds that are not very reactive with the chlorine (Figure 7). On the other hand, for compounds that are very reactive with the chlorine, 4 min were enough to achieve high rates of removal (Figure 8)



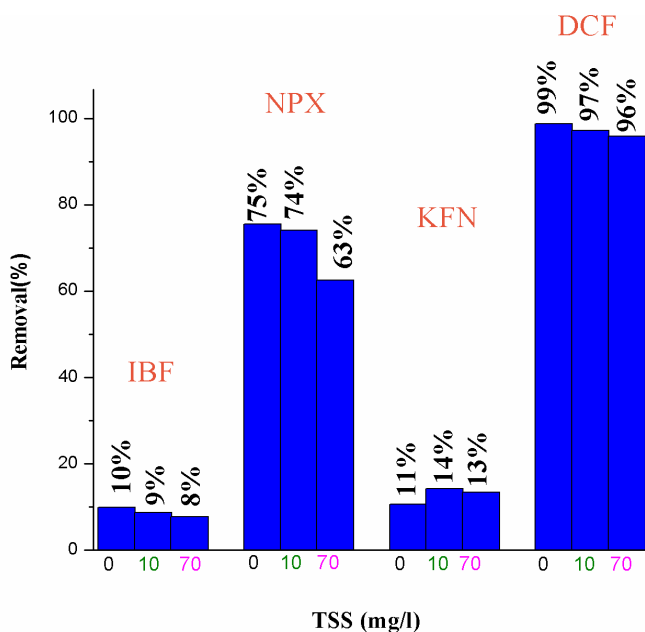
**Figure 8:** Removal of nonylphenol for different chlorine doses



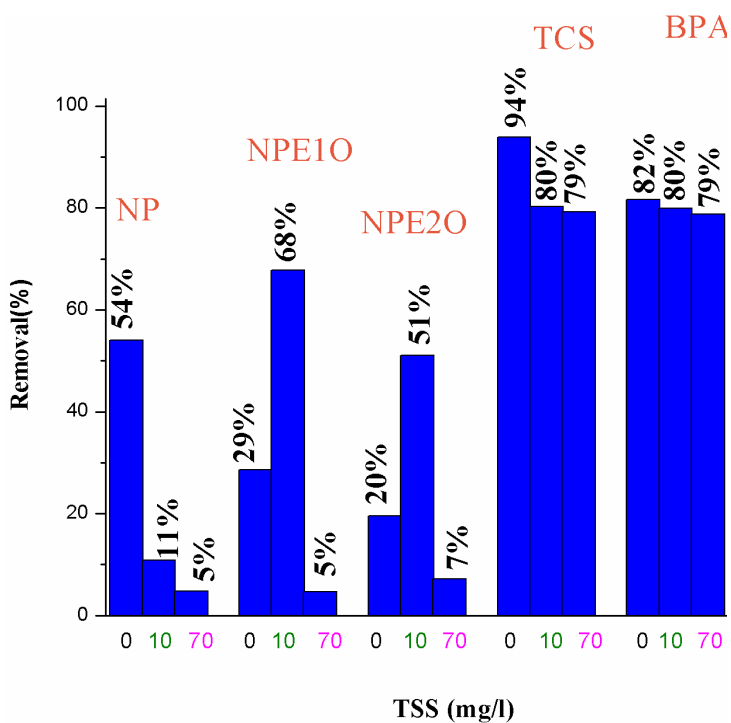
**Figure 8:** Removal of triclosan for different chlorine doses

### Effect of TSS

The effect of chlorination on the removal of target compounds was also evaluated for three different TSS concentration (0, 10 and 70 mg/l). Suspended solids contain organic substances that would compete with the target compounds for chlorine. Based on the results, that are presented at Figures 9 and 10, the effect of TSS on the removal of the target compounds, at the studied TSS concentration during chlorination, is minimal.



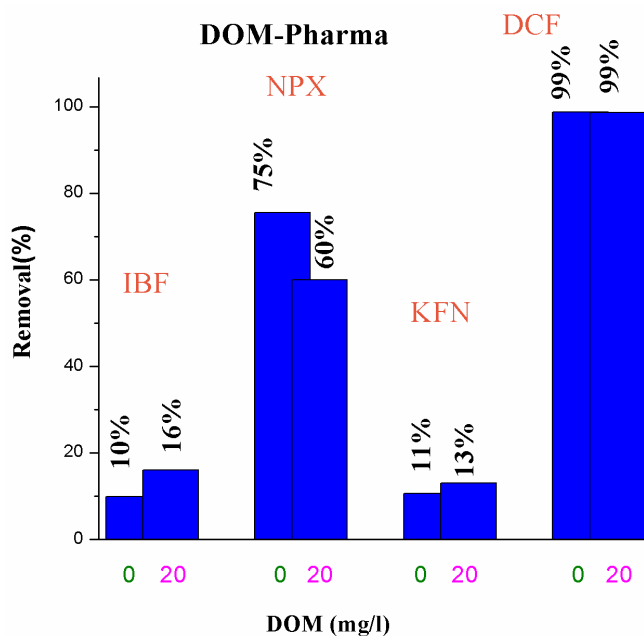
**Figure 9:** Effect of TSS concentration on pharmaceuticals removal during chlorination



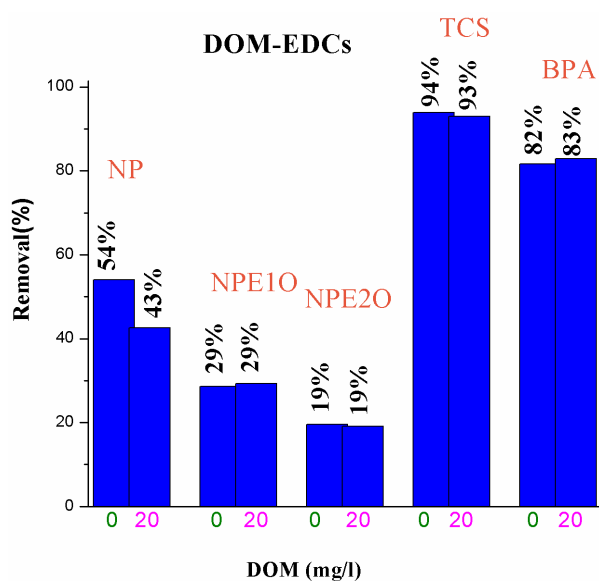
**Figure 10:** Effect of TSS concentration on EDCs removal during chlorination

### Effect of DOM

The effect of chlorination on the removal of target compounds was also evaluated for three different humic acids concentrations (0, 20). Based on the results that are presented at Figures 11 and 12, the effect of DOM on the removal of the target compounds during chlorination is minimal for all the target compounds.



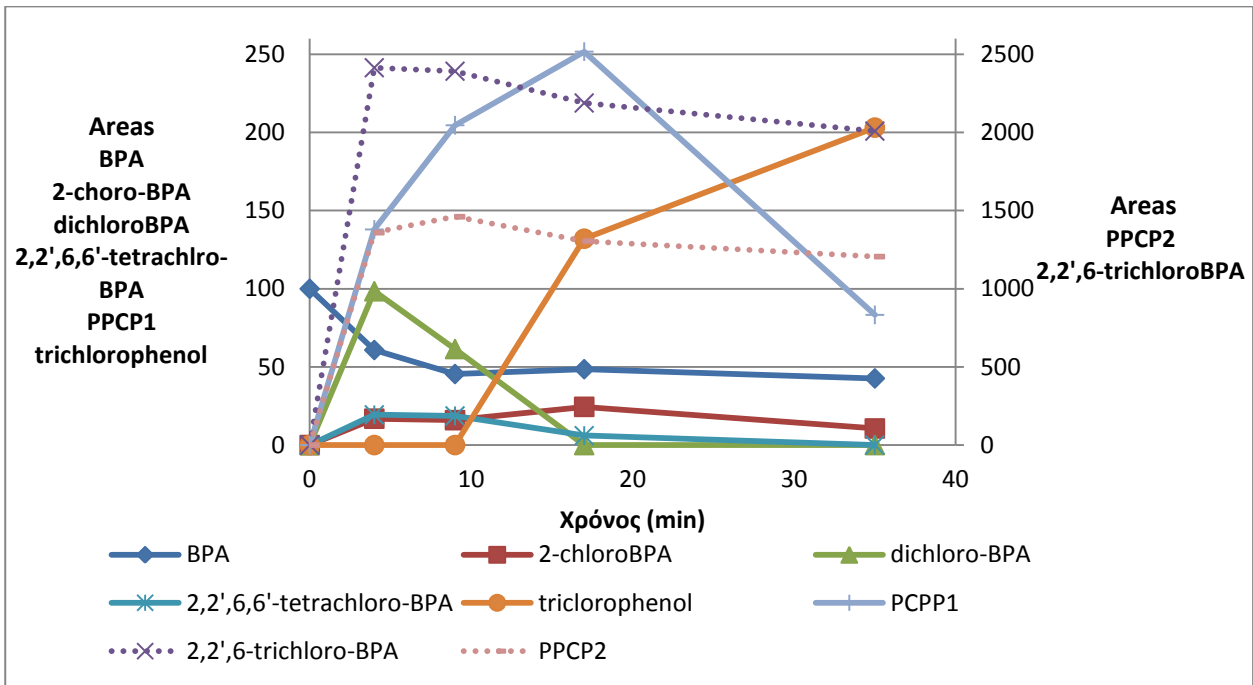
**Figure 11:** Effect of TSS concentration on pharmacaeticals removal during chlorination



**Figure 12:** Effect of DOM concentration on EDCs removal during chlorination

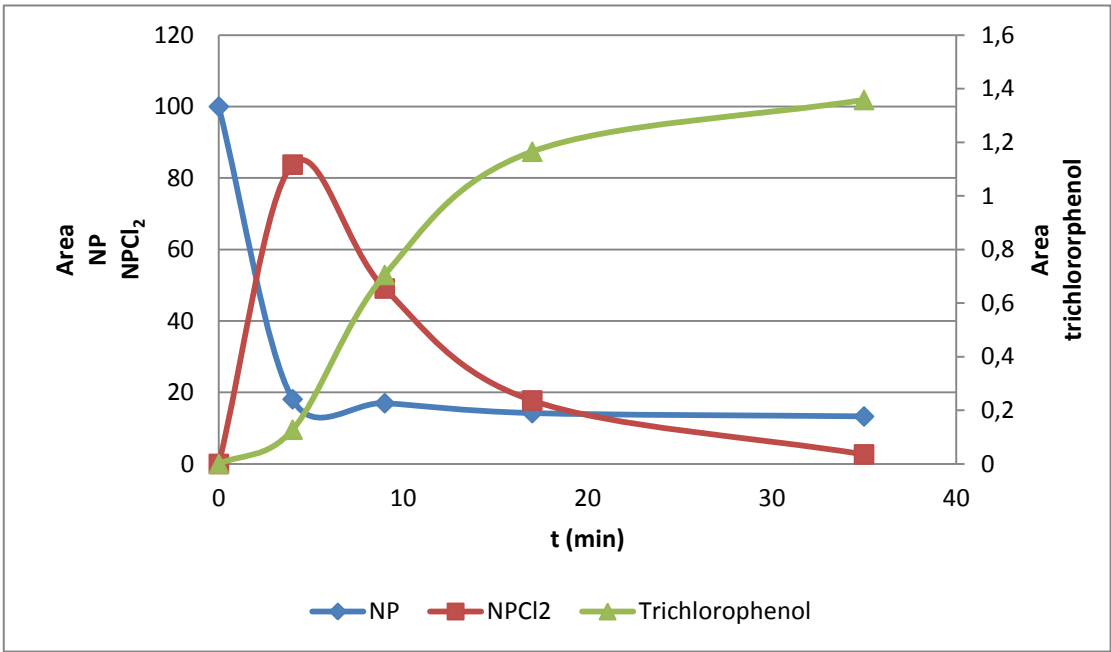
### By-products

The by-products that were identified during the chlorination of BPA were 2-chloro-BOA, dichloroBPA, 2,2',6,6' tetrachlro BPA, trichlorophenol, PPCP1 and PPCP2. The major by-product during all the process was 2,2,6'-trichloro-BPA.



**Figure 13:** By-products of BPA during chlorination

The by-products that were identified during the chlorination of NP were  $\text{NPCl}_2$  and trichlorophenol. The major by-product during all the process was  $\text{NPCl}_2$ .



**Figure 14:** By-products of NP during chlorination

## Conclusions

Several chlorination batch tests were performed in order to assess the effectiveness of chlorination to remove several EDCs and pharmaceuticals from secondary effluent. For EDCs and pharmaceuticals,

linear structure– activity relationships can be proposed based on the electron donor/acceptor characteristics, structural analogy and from the expected chlorination mechanisms. Considering the known chlorine reactivity with the main functional groups, an estimation of the order of magnitude of chlorination reaction rate constants can be carried out. . The degradation of pharmaceuticals during oxidation of wastewater depends also strongly on the pH of the wastewater and the experimental conditions. Indeed chlorination leads to an appreciable DCF, an amine containing pharmaceutical, and NPX, an aromatic organic molecule. The removal rate of DCF and NPX for pH 6 and 7.8 ranged 93-97 and 78-91% respectively. Both compounds, presented an abrupt declining trend at pH 10. The reactivity of chlorine depends on chlorine speciation as a function of pH. The reaction rates of the acidic pharmaceuticals decreased when the pH increased from 7.8 to 10, since free chlorine exists predominantly as HOCl below pH 7.5, and HOCl is more reactive than OCl<sup>-</sup>. On the other hand, IBF and KFN exhibit low reactivity through all experimental conditions, 8-15% and 0-18% respectively, due to the weak electro donor substituents that contain. According to the results chlorination leads to an appreciable removal of TCS and BPA in the whole pH range due to the phenolic ring that contain. For NP removal rates ranged 11-16% in the whole pH range whereas for NPE1O and NPE2O higher removal efficiencies observed for neutral pH. The different initial chlorine doses that were used seem not to affect significantly the removal of the target compounds. Time seems to be the a significant factor for the removal of the substances, as 4 mon seems to be enough for the phenomenon to complete for the most of the compounds. Additionally, the effect of different concentrations of TSS and DOM , that were studied, seems to be minimal. During the experiments of by-products were identified 2-chloro-BOA, dichloroBPA, 2,2',6,6' tetrachloro BPA, trichlorophenol, PPCP1 and PPCP2 for BPA and NPCL<sub>2</sub> and trichlorophenol for NP.



# Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή

## 1.1 Αντικείμενο Εργασίας

Οι χημικές ενώσεις που ανήκουν στους Ενδοκρινικούς Διαταράκτες και οι φαρμακευτικές ουσίες έχουν προκαλέσει μεγάλη ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα αλλά και στα μέσα ενημέρωσης και στην κοινή γνώμη. Σύμφωνα με πολλές μελέτες έχουν προκύψει αποδείξεις ότι μερικές χημικές ενώσεις σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις μπορούν να διαταράξουν στο ενδοκρινικό σύστημα και μπορούν να επηρεάσουν την ομαλή ορμονική λειτουργία της ανάπτυξης των υδρόβιων οργανισμών και των άγριων ζώων. Παρατηρούμενες επιπτώσεις από ενδοκρινικούς διαταράκτες περιλαμβάνουν την θηλυκοποίηση αλιγατόρων στη Φλόριντα από οργανοχλωρίδια, θηλυκοποίηση ψαριών από λύματα σε Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ) και χαρτοβιομηχανίες και δείγματα ερμαφροδιτισμού στα βατράχια από φυτοφάρμακα.

Ως Ενδοκρινικός Διαταράκτης έχει οριστεί από τον Οργανισμό Οικονομικής και Συνεργατικής Ανάπτυξης (OECD) ως μια εξωγενής ουσία ή μείγμα που μεταβάλλει τη λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος και κατά συνέπεια προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία σε έναν άθικτο οργανισμό ή στους απογόνους του. Σύμφωνα με τη Βιβλιογραφία έχει βρεθεί ότι ένα ευρύ φάσμα χημικών είναι ικανό να διαταράξει το ενδοκρινικό σύστημα. Ο κατάλογος των EDCs περιλαμβάνει τα εξής: φυτοφάρμακα(π.χ DDT), μόνιμα οργανοχλωρίδια και οργανοαλογόγονοι (π.χ διοξίνες και φουράνια), αλκυλοφαινόλες (π.χ εννεύλοφαινόλη), βαρέα μέταλλα (π.χ κάδμιο, μόλυβδος), φυτοοιστρογόνα (π.χ β-σιτοστερόλη) και συνθετικές και φυσικές ορμόνες (π.χ β-οιστραδιόλη). Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η εννεύλοφαινόλη, οι μονο και διαιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες, η βισφαινόλη και η τρικλοζάνη.

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (NSAID) αποτελούν μια ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα κατηγορία φαρμακευτικών σκευασμάτων, τόσο για την επιστημονική κοινότητα όσο και για το καταναλωτικό κοινό. Η δυνατότητα χορήγησής τους χωρίς ιατρική συνταγή «διευκολύνει» την ευρεία κατανάλωσή τους σε ενδεδειγμένες και μη καταστάσεις, ενώ παράλληλα το διευρυνόμενο πεδίο δράσης τους τροφοδοτεί διαρκώς ποικίλες επιστημονικές έρευνες, είτε για νέες εφαρμογές είτε για διερεύνηση ανεπιθύμητων ενεργειών. Οι φαρμακευτικές ενώσεις έχουν σχεδιαστεί να είναι βιολογικά ενεργές και για αυτό η ανίχνευση τους σε εξόδους Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Λυμάτων καθώς και στο υδρόβιο περιβάλλον έχει προκαλέσει ανησυχία στους ερευνητές για την πιθανή επίδραση που μπορεί να έχουν στο οικοσύστημα και στη δημόσια υγεία. Στην παρούσα εργασία εξετάζονται οι εξής φαρμακευτικές ουσίες: ιβουπροφαίνη, κετοπροφένη, ναπροξένη, δικλοφενάκη. Οι φαρμακευτικές ουσίες δεν μεταβολίζονται πλήρως στο ανθρώπινο σώμα και κατά συνέπεια αποβάλλονται στα λύματα και καταλήγουν στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων. Όμως οι συμβατικές Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων δεν έχουν σχεδιαστεί για την αντιμετώπιση αυτών των ουσιών και έτσι οι ουσίες παραμένουν στις εξόδους των εγκαταστάσεων σε μικρές αλλά ικανές συγκεντρώσεις έτσι ώστε να προκαλέσουν οικολογικές ανησυχίες. Πράγματι έχουν ανιχνευθεί ουσίες σε επιφανειακά και υπόγεια νερά και έχουν συνδεθεί με οικολογικές επιπτώσεις ακόμα και κατά την ύπαρξή τους σε επίπεδα ιχνών

Η απολύμανση είναι το τελικό στάδιο στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων και φαίνεται ότι οδηγεί σε σημαντική μείωση των φαρμακευτικών ενώσεων και ενδοκρινικών διαταρακτών. Μελέτες έχουν δείξει ότι το όζον και η ακτινοβολία UV, και οι ακτίνες X μπορεί να είναι αποτελεσματικές

μέθοδοι απομάκρυνσης των ουσιών. Παρόλα αυτά ο πιο διαδεδομένος τρόπος απολύμανσης είναι η χλωρίωση λόγω του χαμηλού κόστους. Το χλώριο αντιδρά αποτελεσματικά με τα ενεργές αρωματικές ενώσεις, τις αμίνες και τους διπλούς δεσμούς σχηματίζοντας αλογονοποιημένα οργανικά συστατικά, μερικά από τα οποία βέβαια πιθανόν να έχουν καρκινογόνες ιδιότητες (τριαλομεθάνια και αλογονοξικά οξέα).

## **1.2 Διάρθρωση Εργασίας**

Η Εργασία περιλαμβάνει εκτός από την παρούσα εισαγωγή (Κεφάλαιο 1), 5 Κεφάλαια.

Στο Κεφάλαιο 2 πραγματοποιείται μια εκτεταμένη Βιβλιογραφική ανασκόπηση των εξεταζόμενων ουσιών ως προς την παραγωγή και τις χρήσεις τους, ως προς την τοξικότητα και ως προς την βιοαποδόμηση και την βιοσυσσώρευση.

Στο Κεφάλαιο 3 γίνεται μια πλήρης διερεύνηση μέσω Βιβλιογραφίας της συμπεριφοράς των ουσιών κατά την χλωρίωση.

Στο Κεφάλαιο 4 γίνεται αναφορά των υλικών και των μεθόδων χλωρίωσης που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων καθώς και τα πειραματικά πρωτόκολλα που ακολουθήθηκαν για την διεξαγωγή των εργαστηριακών αναλύσεων.

Στο Κεφάλαιο 5 πραγματοποιείται ανάλυση και σχολιασμός των αποτελεσμάτων των εργαστηριακών αναλύσεων, καθώς και σύγκριση με την αντίστοιχη βιβλιογραφία.

Στο Κεφάλαιο 6 πραγματοποιείται σύνοψη των βασικότερων συμπερασμάτων που προέκυψαν κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων.

## Κεφάλαιο 2 Θεωρητική ανασκόπηση μικροοργανικών ενώσεων

### 2.1 Ιβουπροφαίνη (IBF)

#### 2.1.1 Παραγωγή και Χρήση

Η κατά IUPAC 2-(4-(2-μεθυλο-πρόπυλο) φαινυλο) προπανοϊκό οξύ, IBF, είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο που χρησιμοποιείται ως αναλγητικό και αντιτυρετικό καθώς επίσης και για τη συμπτωματική ανακούφιση της δυσμηνόρροιας, των αγγειακών κεφαλαλγιών, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, της οστεοαρθρίτιδας και άλλων μη-ρευματοειδών φλεγμονωδών διαταραχών. Είναι παρόμοιο σε δράση με την ασπιρίνη αλλά λιγότερο επίφοβο να προκαλέσει γαστρεντερικές διαταραχές. Είναι το τρίτο πιο διάσημο φάρμακο στον κόσμο. Αξίζει να σημειωθεί ότι τον Μάρτιο του 2011, επιστήμονες από την Ιατρική Σχολή του Harvard ανακοίνωσαν ότι η IBF έχει νευροπροστατευτικά αποτελέσματα στη νόσο του Parkinson, ενώ δεν βρέθηκε καμιά άλλη τέτοια επίδραση για άλλα αναλγητικά, όπως η ασπιρίνη. Βέβαια η χορήγηση της IBF για τη μείωση της πιθανότητας εμφάνισης της νόσου Parkinson, δεν είναι μια τελείως ανώδυνη λύση, καθώς υπάρχει η πιθανότητα εμφάνισης παρενεργειών στο ουροποιητικό και πεπτικό σύστημα. (Gao et al., 2011).

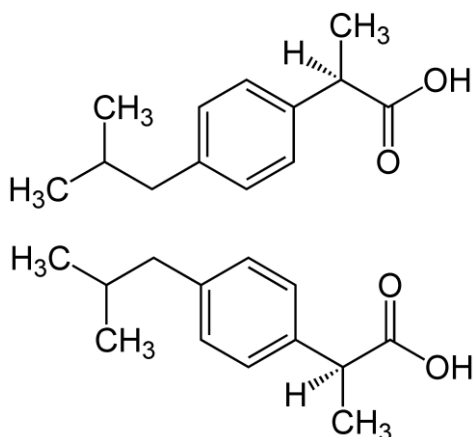
Η IBF είναι υπόλευκη έως λευκή σκόνη ή κρυσταλλική και συμπαγής ουσία με ελαφρά οσμή και γεύση. Έχει σημείο τήξης 74-77° C και μοριακό βάρος, 206.3 (Πίνακας 2.1). Είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό, αλλά πολύ διαλυτή στο οινόπνευμα και το χλωροφόρμιο, πολύ διαλυτή στην ασετόνη και την μεθυλική αλκοόλη, διαλυτή στον αιθέρα και το διχλωρομεθάνιο και ελαφρά διαλυτή στο οξεϊκό αιθύλιο. Σε ξηρή κατάσταση είναι φυσικά και χημικά σταθερή.

**Πίνακας 2.1:** Φυσικοχημικές ιδιότητες της IBF

IBF	
Μοριακός Τύπος	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
Διαλυτότητα στο νερό(mg/l)	21(25 <sup>0</sup> C)
Τάση ατμών mmHg	0.000186
Σταθερά νόμου Henry (Pa m <sup>3</sup> mol)	4.79 10 <sup>-7</sup> (25 <sup>0</sup> C)
Pka	4.91 (20 <sup>0</sup> C)
Μοριακό βάρος(g/mol)	206.3
log Kow	3.72

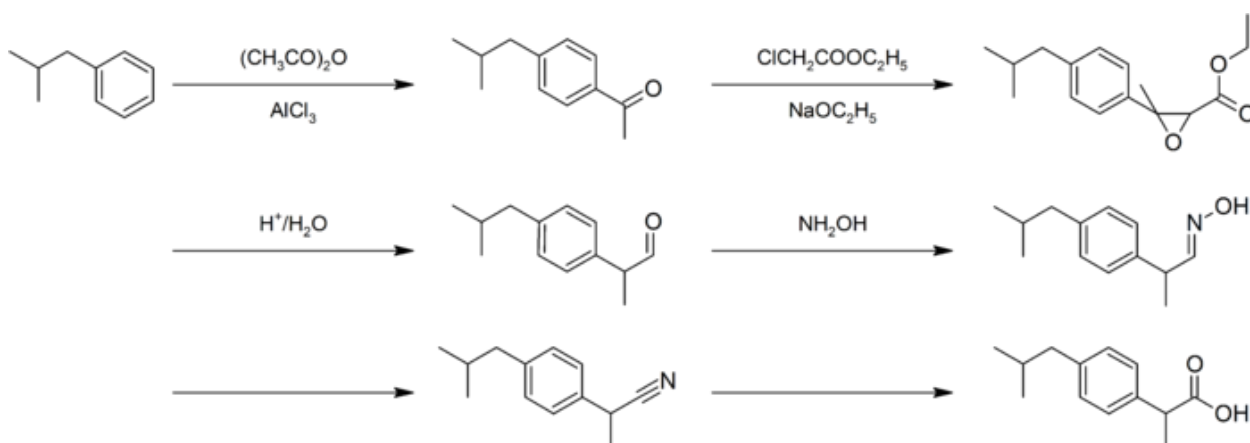
Η IBF όπως και άλλα 2 αρυλο-προπιονικά παράγωγα (συμπεριλαμβανομένου του KFN, flurboprofen, NPX etc) περιέχει ένα ασύμμετρο άτομο άνθρακα στη β θέση του προπιονικού τμήματος. Ως εκ τούτου υπάρχουν 2 πιθανά εναντιομερή της IBF (Σχήμα 2.1) με διαφορετικές

βιολογικές αλληλεπιδράσεις και μεταβολισμούς για κάθε εναντιομερές. Πράγματι διαπιστώθηκε ότι το S-IBF ήταν η δραστική μορφή και *in vitro* και *in vivo*. Γενικά υπάρχει η δυνατότητα για βελτίωση της επιλεκτικότητας και της δραστηριότητας του σχηματισμού της IBF, με σκοπό να διακινηθεί, ως ένα εναντιομερές (όπως συμβαίνει με την NPX) (Chen et al., 1991). Επιπλέον περαιτέρω δοκιμές *in vivo*, έδειξαν την ύπαρξη μιας ισομεράσης η οποία μετέτρεπε την R-IBF στο δραστικό S-εναντιομερές. Λόγω όμως του κόστους και του κινδύνου μη σωστής λειτουργίας, στην περίπτωση που έβγαινε στην αγορά ένα εναντιομερές, σήμερα όλα τα σκευάσματα IBF που κυκλοφορούν είναι ένα ρακεμικό μείγμα δύο εναντιομερών.



**Σχήμα 2.1:** Χημική δομή ισομερών της IBF

Η IBF είναι από τα πιο κοινά αναλγητικά εξαιτίας του ότι μπορεί να χορηγηθεί χωρίς συνταγή γιατρού. Έτσι είναι από τα πιο διαδεδομένα φάρμακα παγκοσμίως και θεωρείται ως μόνιμη ουσία στο υδατικό περιβάλλον εξαιτίας της συνεχούς απόρριψης της σε αυτό και της συνεχούς έκθεσης των υδρόβιων οργανισμών σε αυτή. Η σύνθεση του IBF, η οποία αποτελείται από έξι βήματα, αρχίζει με την ακετυλίωση Fiedel-Craft του ισοβουτυλοβενζολίου. Η αντίδραση με χλωροοξικό αιθύλιο (αντίδραση Darzens) δίνει α,β-εποξυ εστέρα, ο οποίος υδρολύεται και αποκαρβοξυλιώνεται σε αλδεύδη. Στην συνέχεια αντίδραση με υδροξυλαμίνη δίνει την οξίμη, η οποία μετατρέπεται σε νιτρίλιο και τέλος υδρολύεται στο επιθυμητό οξύ. (Σχήμα 2.2)



**Σχήμα 2.2 :** Η σύνθεση της IBF (Stuart and Sanders, 1968)

## 2.1.2 Τοξικότητα

Τα πιο αδύναμα αναλγητικά όπως η IBF τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAID) δρουν αναστέλλοντας την δραστηριότητα των ενζύμων που σχετίζονται με την σύνθεση των προσταγλανδινών (Vane, 1971). Οι προσταγλανδίνες και τα λιπαρά οξέα, πρόδρομα του αραχιδονικού οξέος, εμπλέκονται σε διάφορες διεργασίες που σχετίζονται με την αναπαραγωγή των σπονδυλωτών όπως η ωρίμανση των ωαρίων (Sorbera et al., 2001) και η ρύθμιση της γεννητικής στεροειδογένεσης (Van Der Kraak and Chang, 1990). Η αλλαγή στα επίπεδα των προσταγλανδινών μπορεί να επηρεάσει και άλλες διεργασίες που σχετίζονται με την αναπαραγωγή. Οι προσταγλανδίνες συντίθενται συνεχώς μέσω συγκεκριμένων βημάτων που ξεκινάνε από την μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε προσταγλανδίνη  $H_2$  ( $PGH_2$ ), η οποία χρησιμεύει ως υπόστρωμα για μια ποικιλία διαφόρων ενζύμων που χρησιμεύουν στην σύνθεση άλλων προσταγλανδινών και θρομβοξανών. Το αραχιδονικό οξύ κινητοποιείται από την μεμβράνη του κυττάρου των φωσφολιπασών  $A_2$  ( $PLA_2$ ) και η μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε  $PGH_2$  καταλύεται από το διλειειτουργικό ένζυμο συνθάση της προσταγλανδίνης  $H_2$  ( $PGHS$ ) γνωστό ως κυκλοοξυγενάση COX. Η  $PGHS$  υπάρχει σε δύο ισομορφές: COX-1 και COX-2 και αυτά τα ένζυμα είναι οι στόχοι των NSAIDs (FitzGerald and Patrono, 2001).

Οι προσταγλανδίνες και ο πρόδρομος τους το αραχιδονικό οξύ παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή των σπονδυλωτών όπως για παράδειγμα στην ωρίμανση των ωαρίων και στην ωορρηξία. Τόσο οι στεροειδείς όσο και οι προερχόμενοι από τις προσταγλανδίνες φυλετικές φερομόνες έχουν ανιχνευθεί στα ψάρια (Stacey, 2003) και η έκθεση τους στην προσταγλανδίνη  $F_{2a}$  ( $PGF_{2a}$ ) αυξάνει τα επίπεδα τεστοστερόνης των χρυσόψαρων (Mennigen et al., 2010) υποδεικνύοντας ότι οι αλλαγές στα επίπεδα προσταγλανδίνης μπορεί να επηρεάσουν την αναπαραγωγή των ψαριών.

Η αναστολή της οδού της COX μειώνει την σύνθεση σημαντικών εικοσανοειδών όπως η προσταγλανδίνη  $E_2$  ( $PGE_2$ ). Η  $PGE_2$  αυξάνει τα επίπεδα κυκλικής ενδοκυτταρικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) που ρυθμίζει την έκφραση της αρωματάσης, η οποία με τη σειρά της αυξάνει την μετατροπή της T σε  $E_2$ , και έτσι η μειωμένη σύνθεση της  $PGE_2$  έχει ως αποτέλεσμα στην αναστολή της παραγωγής οιστρογόνου μέσω ρύθμισης της αρωματάσης (Brueggemeir et al., 2005). Η αρωματάση (CYP19) είναι ένα κυτόχρωμο ένζυμο το οποίο μετατρέπει την ανδροστενοδιόνη σε οιστρόνη ( $E_1$ ), ή T σε  $E_2$ . Η  $E_1$  και  $E_2$  είναι δύο μεγάλης σημασίας οιστρογόνα στους ανθρώπους

Στην μελέτη του Han et al. (2010) μελετήθηκε *in vitro*, η έκθεση στην IBF των H295R κυττάρων που έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο να παράγεται περισσότερη  $E_2$  αλλά επίσης να αυξάνεται η δραστηριότητα της αρωματάσης σε ανάλογο βαθμό με την συγκέντρωση. Η αύξηση της δραστηριότητας της αρωματάσης μπορεί να διευκολύνει την T (τεστοστερόνη) να μετατραπεί σε  $E_2$  και επομένως θα μπορούσε να οδηγήσει στη μείωση της τεστοστερόνης. Στην πραγματικότητα, οι συγκεντρώσεις της T ήταν αντιστρόφως ανάλογες με τις συγκεντρώσεις της IBF στην οποία τα κύτταρα εκτέθηκαν. Αλλαγές στην συγκέντρωση του  $E_2$  και στην δραστηριότητα της αρωματάσης είναι σημαντικές επειδή μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολές στην αναπαραγωγή όπως έχει αναφερθεί από τους Flippin et al. (2007) και Heckmann et al. (2007).

Οι μηχανισμοί αύξησης της  $E_2$  από την έκθεση στην IBF δεν είναι εντελώς σαφείς (Hans et al., 2010). Μια πιθανότητα είναι ότι οδοί άλλοι από αυτούς του ενζύμου COX μπορεί να συνδέονται με την αύξηση της δραστηριότητας της αρωματάσης, λόγω έκθεσης στην IBF και ως εκ τούτου

παραγωγή της E2 στα κύτταρα H295R. Μια άλλη πιθανότητα είναι μια παραλλαγή της δραστηριότητας του ενζύμου COX ως αντίδραση στην έκθεση στην IBF. Μελέτη του Morhorst et al. (2013) υποδεικνύει ότι μείωση των επιπέδων των προσταγλανδινών στα zebrafish δεν συνδέεται απαραίτητα με μειωμένη δραστηριότητα της COX και ότι μπορεί η IBF να είναι ανίκανη να αναστείλει την δραστηριότητα των COX και να μειώνει τα επίπεδα των προσταγλανδινών μέσω άλλων άγνωστων οδών. Πρόσφατα ερευνήθηκε από τον Kristensen et al. (2012) ο ρόλος της οδού της προσταγλανδίνης στην παραγωγή τεστοστερόνης σε εμβρυακούς αρουραίους και η έρευνα έδειξε ότι οι αντι-ανδρογόνες επιδράσεις των αναλγητικών μπορεί να μην προκαλούνται από άμεση αναστολή της σύνθεσης της προσταγλανδίνης.

Παρόλο που είναι γνωστό ότι το ένζυμο COX επηρεάζει την σύνθεση των εικοσιναοειδών και στα σπονδυλωτά και στα ασπόνδυλα (Hayashi et al., 2008) η επίδραση της δεν φαίνεται να είναι η ίδια σε όλους τους οργανισμούς: Η IBF οδηγεί στη μείωση της δραστηριότητας του COX στην θηλυκή medaka, η οποία εκτέθηκε στα 100 g/L για 6 βδομάδες (Flirpin et al., 2007). Στην D.magna, παρόλα αυτά, πειράματα έδειξαν αυξημένη μεταγραφή του γονιδίου COX μετά την έκθεση του στην IBF. Έτσι φαίνεται ότι η IBF μπορεί να επηρεάσει διαφορετικά την οδό της COX από είδος σε είδος.

Τα πειράματα του Morhorst et al. (2013) που έγιναν σε ενήλικες zebrafish, υποδεικνύουν ότι τα επίπεδα PGE<sub>2</sub> μειώθηκαν αισθητά σε ολόκληρο το σώμα ομοιογενώς σε όλες τις συγκεντρώσεις έκθεσης (21-506 μg/L) όπως επίσης το ίδιο παρατηρήθηκε και στις ωοθήκες. Οι προσταγλανδίνες ευθύνονται για την σεξουαλική συμπεριφορά και για τα αρσενικά και για τα θηλυκά. Όπως αναφέρουν οι Sorensen και Goetz (1993) οι αναστολείς των προσταγλανδινών μπορούν να επηρεάσουν την ωοτοκία και την γονιμοποίηση. Παρόλα αυτά δεν παρατηρήθηκαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα προσταγλανδινών, ούτε επηρεάστηκε η αθροιστική παραγωγή αυγών και ο αριθμός των συμβάντων ωοτοκίας.

Οι Hackman et al. (2007) πραγματοποίησαν πείραμα 14 ημερών εκθέτοντας την *Daphnia magna* στην IBF για συγκεντρώσεις 0, 20, 40 και 80 mg IBF/l μετρώντας τις χρόνιες επιδράσεις στα χαρακτηριστικά και στην ανάπτυξη του πληθυσμού. Το ποσοστό αύξησης του πληθυσμού μειώθηκε σημαντικά σε όλες τις συγκεντρώσεις της IBF, παρόλο που η επιβίωση επηρεάστηκε μόνο για συγκέντρωση 80mg IBF/l. Η αναπαραγωγή πάντως επηρεάστηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις της IBF (14-ημέρες EC50 13.4mg IB/l) και αναστάλθηκε τελείως στην υψηλότερη συγκέντρωση του τεστ. Τα αποτελέσματα της μελέτης του Hackmann δείχνουν ότι η μακροχρόνια έκθεση στην IBF σε ρεαλιστικές περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις (ngl-1 μέχρι μgl-1) δεν είναι μεγάλης σημασίας. Η ευαισθησία που παρατηρήθηκε λόγω χρόνιας έκθεσης στην IBF στο κομμάτι της αναπαραγωγής στην *D.magna* σύμφωνα με τον Hans et al. (2010) ήταν παρόμοια με αυτή που εντοπίστηκε στο γαστερόποδο του γλυκού νερού *Planorbis carinatus*. Σύμφωνα με τον Hans et al. (2010) δεν αναμένεται θνησιμότητα της *Daphnia magna* σε συγκεντρώσεις της IBF που παρατηρούνται στο περιβάλλον ενώ τα *M.makroscopa* αναμένονται να είναι πιο ανθεκτικά στην χρόνια έκθεση στην IBF σε σχέση με άλλα ασπόνδυλα. Μελέτη από τον Flirpin et al. (2007) στην επίδραση της IBF σε συγκέντρωση 100g/l στην medaka μετά από έκθεση 6 εβδομάδων, είχε ως αποτέλεσμα λιγότερες αναπαραγωγές αλλά αυξημένα αυγά ανά γόνιο. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του Han et al (2010) όπου οι αριθμοί των γόνων ανά ζευγάρι ψαριών είναι αντιστρόφως ανάλογο με την συγκέντρωση της IBF.

Παρόλη την συχνή ανίχνευση της IBF στο υδρόβιο περιβάλλον, έχουν μελετηθεί ελάχιστα οι κίνδυνοι που εγκυμονούν από την μακροχρόνια έκθεση στην ουσία. Η IBF θεωρείται ότι επηρεάζει

την ισορροπία των γεννητικών στεροειδών ορμονών μέσω στερεοδειγόνων μονοπατιών και στα σπονδυλωτά και στα ασπόνδυλα. Στην μελέτη του Han et al. (2010) μελετήθηκαν *in vitro* με την χρήση H295R κυττάρων, η επίδραση της IBF στην ισορροπία των γεννητικών ορμονών καθώς και στους μηχανισμούς που σχετίζονται με αυτές. Πραγματοποιήθηκαν επίσης πειράματα χρόνιας τοξικότητας σε ψάρια του γλυκού νερού, τα *Oryzias latipes* και δύο κλαδοκεραιωτά του γλυκού νερού *Daphnia magna* και *Moina macroscopa* για πάνω από 144 και 21 ημέρες αντίστοιχα. Για την *D.magna* η 48ώρη τιμή αδρανοποίησης ήταν 51.4 mg/l και στις 21 ημέρες αναπαραγωγής, η NOEC (συγκέντρωση που δεν προκαλεί καμιά μεταβολή) ήταν <1.23 mg/l για το *M.macroscopa*, η 48ωρη τιμή αδρανοποίησης EC<sub>50</sub> ήταν 72.6 mg/l και στις 7 ημέρες αναπαραγωγής η NOEC ήταν 25mg/l. Η EPA(1991) ορίζει την NOEC (no observed effect concentration) ως την μεγαλύτερη συγκέντρωση της επί δοκιμής ουσίας στην οποία η επιβίωση, η αναπαραγωγή, ή ανάπτυξη του οργανισμού δεν είναι σημαντικά διαφορετικές (95% του επίπεδου εμπιστοσύνης) από εκείνο του οργανισμού ελέγχου. Η EC<sub>50</sub> είναι η αποτελεσματική συγκέντρωση ουσίας η οποία προκαλεί αναχαίτηση 50% Για το *O.latipes* η NOEC (συγκέντρωση που δεν προκαλεί καμιά μεταβολή) σε 120 μέρες επιβίωσης ήταν 0.0001mg/l.

Επιπροσθέτως, η IBF επηρεάζει αρκετές παραμέτρους που σχετίζονται με την αναπαραγωγή των ψαριών, συμπεριλαμβανομένου της εισαγωγής βιτελλογενίνης. Η έκθεση στην IBF σε χαμηλά επίπεδα όπως 0.0001 mg/l καθυστέρησε την εκκόλαψη των αυγών, ακόμη και όταν αυτά μεταφέρθηκαν και μεγάλωσαν σε καθαρό νερό. Η καθυστερημένη εκκόλαψη είναι περιβαλλοντικά πολύ σημαντική, γιατί έχει αυξημένες πιθανότητες να είναι και προγενέστερη.

### 2.1.3 Βιοαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση

Η υπολογιζόμενη ετήσια κατανάλωση της IBF στις ανεπτυγμένες χώρες είναι αρκετές εκατοντάδες τόνοι (Daughton and Ternes, 1999). Η παρουσία της IBF στα ακατέργαστα λύματα κυμαίνεται από μερικά μg/l μέχρι και 373μg/l με μια μέση συγκέντρωση εισόδου 37μg/l. Η μέση συγκέντρωση που παρατηρείται στην έξοδο εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων είναι 2134 ng/l και στα επιφανειακά νερά 226 ng/l σύμφωνα με μελέτη των Ashton et al.( 2004). Παρόλα αυτά είναι πιθανόν να ανιχνευθεί και σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καθώς εκτός του ότι είναι ένα φάρμακο το οποίο χορηγείται χωρίς συνταγή γιατρού ως αντιφλεγμονώδες και παυσίπονο, έχει χαμηλό ρυθμό μεταβολισμού στο ανθρώπινο σώμα. Οι Buser et al. (1999) ανέφεραν ότι το 70% με 80% της ανθρώπινης θεραπευτικής δόσης απεκκρίνεται ως μητρική ένωση ή ως μεταβολίτες, ενώ έχει αναφερθεί ως σχετικά ανθεκτική στα υδάτινα συστήματα ( $t_{1/2}=50$  days) (Singer et al.,2002) παρόλο που έχει αναφερθεί και χρόνος ημιζωής <1 ημέρας (Richardson and Brown, 1985). Η IBF έχει αναφερθεί ως εγγενώς βιοδιασπάσιμη κατά τη διάρκεια της διεργασίας επεξεργασίας λυμάτων (Ayscough et al., 2000). Παρόλα αυτά ποικίλει η απόδοση των διαφόρων εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων. Δεδομένα που έχουν παρθεί από μελέτη για την απομάκρυνση 11 φαρμακευτικών ουσιών στις Βραζιλιάνικες εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων υπέδειξαν ότι μεγαλύτερη απομάκρυνση της IBF πετυχαίνεται με επεξεργασία με ενεργό ιλύ (75%) απ ότι μέσω βιολογικών φίλτρων (22% απομάκρυνση) (Strumpf et al., 1999).

Σύμφωνα με τους Buser et al. (2009), η IBF υπήρχε στα εισρέοντα λύματα των εγκαταστάσεων επεξεργασίας σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν μεταξύ 1-3 μg/l με περίσσεια του S εναντιομερούς όπως συμβαίνει και στα ούρα. Οι κύριοι ανθρώπινοι μεταβολίτες της IBF που ανίχνευσαν από τα

ούρα είναι η υδροξύ-ibuproben και καρβοξύ-IBF, οι οποίοι παρατηρήθηκαν στην είσοδο των εγκαταστάσεων σε ακόμα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις της IBF και των μεταβολιτών της που ανιχνεύονται στην έξοδο των εγκαταστάσεων υποδεικνύουν την αποτελεσματική αποβολή της ουσίας ( 96-99%). Επίσης σύμφωνα με τις κινητικές διάσπασης για να επιτευχθεί η πλήρης διάσπασης της IBF απαιτούνται τουλάχιστον 6 ώρες. Σε εγκαταστάσεις με μικρότερους χρόνους παραμονής δεν υπάρχει αποτελεσματική απομάκρυνση για αυτό παρατηρούνται και υψηλότερες συγκεντρώσεις της ουσίας στην έξοδο που φτάνουν πάνω από τα 3,35 mg/l.

Οι Clara et al. (2005) παρατήρησαν ότι σε εγκαταστάσεις που λειτουργούν σε μικρούς χρόνους παραμονής (SRT), οι φαρμακευτικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένου και της IBF, απομακρύνονται με χαμηλότερους ρυθμούς. Αντιθέτως οι εγκαταστάσεις που λειτουργούν σε υψηλούς χρόνους παραμονής επιτρέπουν την ανάπτυξη βακτηρίων που αναπτύσσονται αργότερα και έτσι δημιουργείται μια πολυποίκιλη βιοκοινότητα με ευρύτερες δυνατότητες.

Στην Ισπανία οι La Farre et al. (2001) ανίχνευσαν 1.5. 0.87, και 85  $\mu\text{g/l}$  της IBF σε δείγματα εξόδου σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Στην ίδια εργασία, σε επιφανειακά νερά στην Ισπανία βρέθηκαν σχετικά υψηλές πάνω από 2.7  $\mu\text{g/l}$ . Η IBF διασπάται στο ανθρώπινο σώμα στους κύριους μεταβολίτες υδροξύ- και καρβοξύ-IBF (Strumpf et al., 1998; Buser et al., 1999) τα οποία βρέθηκαν μαζί με την μητρική ουσία στα ανεπεξέργαστα λύματα στην μελέτη των La Ferre et al. (2001). Οι Strumpf et al. (1999) παρατήρησαν μια σημαντική μείωση της IBF και ειδικά της καρβοξύ-IBF κατά τη διάρκεια επεξεργασίας των λυμάτων ενώ οι συγκεντρώσεις της υδροξύ-IBF (μέση τιμή: 0.92  $\mu\text{g/l}$ ) ήταν περίπου ίδιες με αυτές στην είσοδο. Έτσι εξηγείται γιατί βρέθηκε η υδροξύ-IBF σε 12 δείγματα επιφανειακών νερών σε πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις (μέση τιμή :0.32  $\mu\text{g/l}$ ) απο ότι η IBF και η καρβοξύ-IBF (μέση τιμή 0.02  $\mu\text{g/l}$ ). Σε αντίθεση με τον Strumpf et al (1999) οι Buser et al. (1999) παρατήρησαν μια αποτελεσματική απομάκρυνση (96-99%) όλων των συστατικών (συμπεριλαμβανομένου και του υδροξύ-IBF) στις αστικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων.

Σε μελέτη των Ashton et al.(2004) όπου μελετήθηκε η τύχη 12 φαρμακευτικών συστατικών στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και σε επιφανειακά νερά στην Αγγλία, η IBF ανιχνεύτηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από οποιοδήποτε άλλη φαρμακευτική ουσία. Η ουσία ήταν ανιχνεύσιμη στο 84% των δειγμάτων εξόδων που συλλέχτηκαν. Η μέγιστη συγκέντρωση σημειώθηκε σε έξοδο εγκατάστασης στο Great Billing και έφτασε στα 27 $\mu\text{g/l}$ . Παρόλα αυτά η μέγιστη συγκέντρωση κατάντη στα επιφανειακά νερά έφτασε στα 0.8 $\mu\text{g/l}$ . Η μέγιστη συγκέντρωση στα κατάντη επιφανειακά νερά στην εργασία του Ashton et al.(2004) βρέθηκε σε δείγμα που συλλέχτηκε κατάντη της εγκατάστασης του Corby παρόλο που η συγκέντρωση στην έξοδο της ίδιας εγκατάστασης βρέθηκε μόνο 3 $\mu\text{g/l}$  υποδεικνύοντας έτσι χαμηλά επίπεδα διάσπασης.

Οι Buser et al.(1999) παρατήρησαν την συμπεριφορά της ουσίας και των μεταβολιτών στην ενεργό ιλύ. Παρατηρήθηκε μια αρχική υστέρηση στην αποδόμηση της IBF και των μεταβολιτών της, στη συνέχεια ωστόσο ακλούθησε μια ταχύτατη διάσπαση 1-4% μετά από 8 ώρες παραμονής. Παρατηρήθηκε επίσης ότι αλλάζει η σύνθεση της αναλογίας των ισομερών κατά τη διάρκεια επώασης της λάσπης.

Οι Joss et al. (2006) πρότειναν μια φόρμουλα με την οποία μπορεί να προβλεφθεί η απομάκρυνση των φαρμακευτικών ουσιών σύμφωνα με την σταθερά αποδόμησης  $k_{\text{biol}}$  όπου  $k_{\text{biol}} > 10 \text{ l/gSS/d}$  μετασηματίζεται σε ποσοστό 90% ενώ για  $k_{\text{biol}} < 0.1 \text{ Lg}^{-1} \text{SSd}^{-1}$  δεν απομακρύνεται σε μεγάλο



ποσοστό. Παρόλα αυτά οι τιμές της  $k_{\text{biol}}$  που αναφέρονται στην βιβλιογραφία διαφέρουν μεταξύ των συγγραφέων. Μερικοί συγγραφείς έχουν αποδώσει αυτή τη μεταβλητότητα στις διαφορές του αρχικού φαρμακευτικού φορτίου (Abegglen et al., 2009), ενώ άλλοι επισημαίνουν την σημαντικότητα της σύνθεσης της λάσπης (π.χ την ποικιλιμορφία της βιομάζας) και τις πειραματικές συνθήκες (Tran et al., 2009)

Σύμφωνα με τους Murdich και Hay (2013) υπάρχουν μικρόβια που μπορούν μέσω διάφορων ενζύμων να διασπάσουν πολλά συστατικά και να το χρησιμοποιήσουν ως πηγή άνθρακα δηλαδή ως τροφή. Στη μελέτη τους περιγράφουν ότι στέλεχος του *Sphingomonas* είναι σε θέση να υποβαθμίσει τουλάχιστον εν μέρει την IBF. Το *Sphingomonas* –ibu-2 έχει την ασυνήθιστη ικανότητα να διασπά την όξινη πλευρική αλυσίδα από την IBF και τα συναφή παράγωγα των αρυλοξικών οξέων και να σχηματίσει τις αντίστοιχες κατεχόλες κάτω από αερόβιες συνθήκες.

Η εργασία του Collado et al. (2012) εστιάζει στην βιοδιάσπαση της IBF και στους πιο γνωστούς μεταβολίτες (καρβοξυ-IBF και τα δυο ισομερή υδροξυ-IBF) (Σχήμα 2.3). Εκτελέστηκαν αερόβια batch πειράματα με διαφορετικά αιωρούμενα στερεά και συγκεντρώσεις IBF έτσι ώστε να μελετηθεί την επιρροή αυτών των παραμέτρων στην υπολογισμένη σταθερά βιοαποδόμησης ( $k_{\text{biol}}$ ). Η λάσπη που χρησιμοποιήθηκε πάρθηκε από μια συμβατική εγκατάσταση επεξεργασία λυμάτων με εισερχόμενη συγκέντρωση IBF περίπου 10  $\mu\text{g/l}$ .

Τα πειράματα ελέγχου που έγιναν χωρίς βιολογική λάσπη επιβεβαιώνουν το γεγονός ότι η απομάκρυνση οφείλεται στην αλληλεπίδραση της ουσίας με τη λάσπη. Η απομάκρυνση σύμφωνα με την κινητική ψευδο-πρώτης τάξης μπορεί να περιγραφεί ως

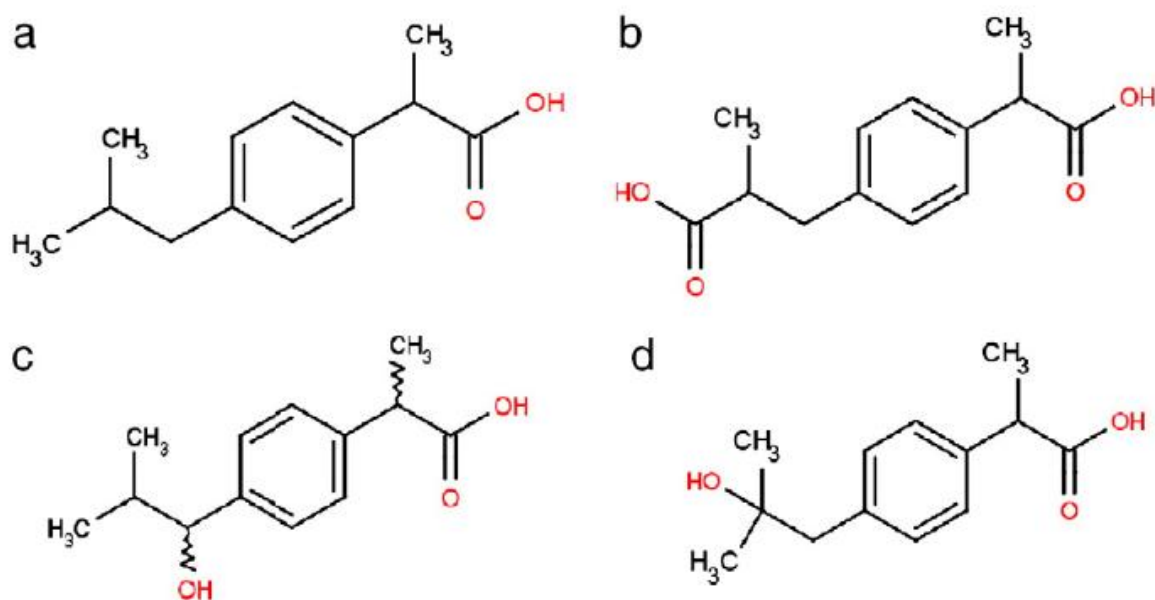
$$\frac{dC}{dt} = k_{\text{biol}} X_{\text{ss}} S \quad (1)$$

Όπου C είναι η ολική συγκέντρωση του συστατικού ( $\mu\text{g/l}$ ), S η συγκέντρωση της διαλυτής ένωσης ( $\mu\text{g/l}$ ), t ο χρόνος,  $k_{\text{biol}}$  η σταθερά ρυθμού αντίδρασης ( $\text{L g}_{\text{SS}}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) και  $X_{\text{ss}}$  η συγκέντρωση των αιωρούμενων συστατικών ( $\text{g}_{\text{SS}}/\text{l}$ ). Ο όρος πρώτη τάξη αναφέρεται στην ευθεία αναλογία του συντελεστή μετασχηματισμού στην συγκέντρωση διαλυτής ουσίας S. Ο όρος «ψευδό» αναφέρεται στην αναλογικότητα με την συγκέντρωση της λάσπης που μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι σταθερή για παρατηρήσεις που γίνονται σε βραχυπρόθεσμα batch πειράματα. Σύμφωνα με τα δεδομένα του πειράματος και τις προβλέψεις μοντέλου βρέθηκε ότι η IBF θα μετασχηματιστεί βιολογικά σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90% ( $k_{\text{biol}} > 10 \text{ L g}_{\text{SS}}^{-1} \text{d}^{-1}$ )

Σε εργασία του Collado et al. (2012) αναφέρεται, ότι η μεγαλύτερη απομάκρυνση της IBF επιτεύχθηκε στα περισσότερα test μέσα σε 3 μέρες. Οι υψηλότεροι ρυθμοί απομάκρυνσης επιτεύχθηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις βιομάζας, με γρηγορότερη και πιο αποτελεσματική απομάκρυνση. Αντιθέτως υψηλά φορτία της φαρμακευτικής ουσίας με χαμηλότερη συγκέντρωση βιομάζας (50mg TSS/l) είχαν ως αποτέλεσμα μερική απομάκρυνση της ουσίας (<10%, 44% και 60% για 10, 100 και 1000  $\mu\text{g/l}$  της ουσίας αντίστοιχα) και έτσι χαμηλότεροι ρυθμοί απομάκρυνσης.

Ο σχηματισμός και η απομάκρυνση των μεταβολιτών της IBF ερευνήθηκαν έτσι ώστε να μελετηθούν οι μεταβολικοί οδοί της ουσίας όπως επίσης και η πιθανή επίδραση των μεταβολιτών στο περιβάλλον. Έτσι πραγματοποιήθηκαν batch test με συγκέντρωση στερεών 100 mg TSS/l και συγκέντρωση ουσίας 10  $\mu\text{g/l}$  για να μελετηθούν οι μεταβολίτες της IBF για περίοδο 72 ωρών.

Παρατηρήθηκε σημαντική απομάκρυνση και των τριών μεταβολιτών, έχοντας τελική συγκέντρωση μικρότερη από 0.33 µg/l που έρχεται σε συμφωνία με μελέτη του Buser et al. (2009) που παρατήρησε απομάκρυνση μεγαλύτερη από 90%. Σύμφωνα με τον Zwiener et al. (2002), οι μεταβολίτες της IBF κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των λυμάτων αναμένεται να είναι το 10% της ουσίας εισόδου. Σύμφωνα με τα πειράματα των Collado et al.(2012) αυτό το ποσοστό φτάνει το 32% κατά τη διάρκεια ενός 24ώρου αλλά μειώνεται στο 3% στο τέλος του τεστ. Αυτό μπορεί να συμβαίνει γιατί και η IBF και οι μεταβολίτες υπάρχουν στα ακατέργαστα λύματα, τροποποιώντας τις συγκεντρώσεις και εξηγώντας έτσι τις διαφορές. Ο μετασχηματισμός της ολικής συγκέντρωσης της ουσίας (διαλυτό και αυτό που έχει προσροφηθεί) είναι ανάλογη και με τις συγκεντρώσεις και της διαλυτής ουσίας και των αιωρούμενων στερεών με αναλογικότητα που ορίζεται από την σταθερά ρυθμού  $k_{biol}$ .



**Σχήμα 2.3:** Δομή του a) IBF b) καρβοξύ IBF (IBU-CBX) c) 1-υδροξύλ-IBF (IBU-1OH) d) 2-υδροξύλ-IBF (IBU-2OH) (Collado et al. ,2012)

Οι σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις της IBU-1OH, IBU-2OH και IBU-CBX στη μελέτη με batch πειράματα καθώς και η ταχύτητα μείωσης των συγκεντρώσεων τους υποδεικνύουν ότι οι μεταβολίτες αυτοί βιοδιασπώνται εύκολα. Η IBU-2OH είχε τη μεγαλύτερη βιοδιασπασιμότητα, ενώ η άλλη ισομερής ένωση (IBU-1OH) δεν απομακρύνθηκε πλήρως σε 72 ώρες. Παρόλα αυτά, η τελική συγκέντρωση της IBU-1OH ήταν σχετικά χαμηλή και η IBU-1OH σχεδόν απομακρύνθηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις βιομάζας και περισσότερη ώρα. Οι Quintana et al. (2005) βρήκε παρόμοια αποτελέσματα, δηλαδή εύκολα βιοδιασπασίμα ισομερή που δεν συσσωρεύονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Η IBU-OH ανιχνεύτηκε από τους Buser et al (1999) σε ανεπεξεργαστα λύματα αλλά όχι σε βιολογικά επεξεργασμένα λύματα.

Οι Collada et al. 2012 προσάρμοσαν την απομάκρυνση της IBF με μια κινητική ψευδοπρώτης τάξης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ενεργού ιλύος και φαρμακευτικής ουσίας κάτω από αερόβιες συνθήκες, βρίσκοντας έτσι τιμές για την  $K_{biol}$ . Παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές  $K_{biol}$  όταν η

συγκέντρωση της IBF μειώνεται και όταν η περιεκτικότητα σε βιομάζα αυξάνει.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μελέτη του Carballa et al. (2005) βρέθηκε ότι η IBF, λόγω της χαμηλής τιμής Kd (συντελεστής κατανομής στερεού –υγρού), δεν επηρεάζεται από κανένα κροκιδωτικό και δεν παρατηρήθηκε απομάκρυνση σε πειράματα συσσωμάτωσης-κροκκίδωσης.

Σύμφωνα με τον Weigal S.(2004) σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων η IBF έχει βρεθεί με 2 μεταβολίτες: υδροξύ IBF και καρβοξύ IBF. Και οι μεταβολίτες φαίνονται όχι μόνο είναι πιο τοξικοί από την μητρική ένωση αλλά είναι και πιο δύσκολο να βιοαποδομηθούν. Η συγκέντρωση του κάθε μεταβολίτη εξαρτάται από την τοποθεσία καθώς και τις συνθήκες της εγκατάστασης. (Vimmi, 2011)

Σε έρευνες (Schwaiger et al.,2004) έχει δειχθεί ότι η IBF συσσωρεύεται λιγότερο στους ιστούς των ψαριών από ότι άλλα NSAID (μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη) φάρμακα όπως η DCF. Αυτό οφείλεται στην μεγαλύτερη λιποφιλικότητα της DCF ενώ η IBF είναι ένα ασθενές οξύ το οποίο επιδέχεται ιονισμό σε pH περιβάλλοντος και για αυτό μπορεί να μην απορροφηθεί σε ικανοποιητικό βαθμό στους οργανισμούς. Η ελάχιστη βιοσυγκέντρωση της IBF στους φοξίνους και τα γατόψαρα μπορεί να αποδοθεί στους μηχανισμούς εκκαθάρισης των ουσιών που έχουν τα ψάρια. Σε πειράματα που έγιναν *in vitro* σε μέρη των βράγχων και του συκωτιού των ψαριών έδειξαν ταχεία εξάντληση του υποστρώματος για περίοδο επώασης πάνω από 120 ώρες (Gomez et al. 2010). Οι Nallani et al. (2011) στην προσπάθειά τους να μελετήσουν την βιοσυσσώρευση της IBF ερεύνησαν την έκθεση του χονδροκέφαλου φοξίνου (*Pimephales promelas*) σε 250 g/l IBF για 28 ημέρες και στη συνέχεια καθαρίστηκαν από μια φάση καθαρισμού 14 ημερών. Σε μια μικρογραφία τεστ βιοσυγκέντρωσης υποβλήθηκε επίσης και το γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*), το οποίο εκτέθηκε σε 250 g/l για μια βδομάδα και στη συνέχεια από φάση καθαρισμού για 7 ημέρες. Η υψηλότερη συγκέντρωση της IBF παρατηρήθηκε στο πλάσμα του IBF αντίθετα με τους μεμονωμένους ιστούς. Η παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων γνωστών ανθρώπινων μεταβολιτών, σε σχέση με την μητρική ένωση, στο πλάσμα των γατόψαρων, υποδηλώνει ότι ο μεταβολισμός είναι ένας μηχανισμός αποβολής της ουσίας από τη στιγμή που απορροφάται από το ψάρι. Επίσης η ανίχνευση των μεταβολιτών υποδηλώνει ακόμα ότι τα ψάρια μπορούν και μεταβολίζουν την ουσία με παρόμοιο τρόπο με τα θηλαστικά. Τελικά, φάνηκε ότι στα ψάρια που εκτίθενται στην IBF στο νερό, η ουσία δεν βιοσυσσωρεύεται πάνω από τα όρια. Ο Gomez (2011) παρατήρησε ότι ο μεταβολίτης 2-υδροξύ-IBF ήταν ο κύριος μεταβολίτης που ανιχνεύτηκε στα ψάρια σε μελέτες μεταβολισμού *in vitro*.

## **2.2 Ναπροξένη (NPX)**

### **2.2.1 Παραγωγή και Χρήσεις**

Η κατά IUPAC 2-(6-μέθοξυ ναφθαν-2-υλο) προπανικό οξύ, NPX, είναι ένα μη-στεροειδές, αντιφλεγμονώδες φάρμακο με αναλγητική και αντιπυρετική δράση. Χρησιμοποιείται κυρίως για την θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Πρόκειται για ένα καρβοξυλικό οξύ με ασύμμετρο άτομο α-άνθρακα και με μια μεθόξυ ομάδα στο δακτύλιο του ναφθαλενίου (Σχήμα 2.4). Μαζί με την παρακεταμόλη, την ασπιρίνη και την ιβουπροφαίνη αποτελούν τα παυσίπονα με την πιο διαδεδομένη χρήση στην αγορά.

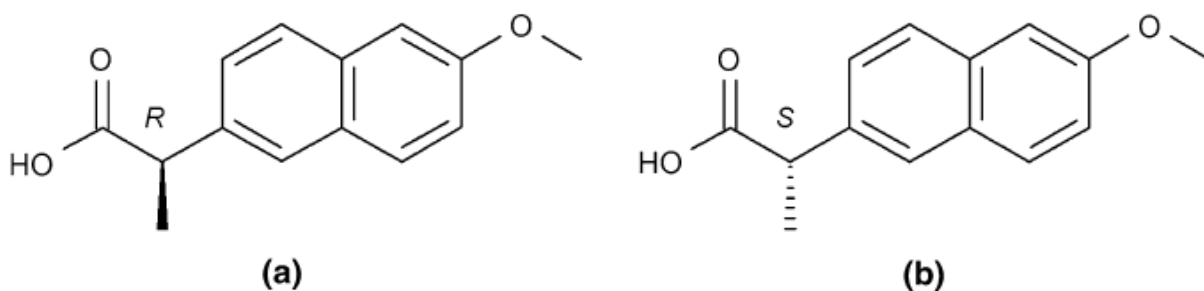
Η NPX πρώτα πουλήθηκε το 1976 ως συνταγογραφούμενο φάρμακο με την ονομασία Naprosyn. Η U.S Food and Drug Administration (FDA) ενέκρινε το άλας naproxen sodium ως χορηγούμενο χωρίς συνταγή φάρμακο. Η NPX είναι μέλος των 2-αρυλο-προπιονικών οξέων (profen) φαρμάκων που

ανήκουν στα NSAID. Είναι άοσμο, με λευκή κρυσταλλική όψη. Διαλύεται στο λίπος και είναι πρακτικά αδιάλυτο στο νερό. Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται οι κύριες φυσικοχημικές ιδιότητες της NPX.

**Πίνακας 2.2:** Φυσικοχημικές ιδιότητες της NPX

<b>NPX</b>	
<b>Μοριακός Τύπος</b>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
<b>Διαλυτότητα στο νερό(mg/l)</b>	15.9 (25 <sup>0</sup> C)
<b>Pka</b>	4.15 (20 <sup>0</sup> C)
<b>Μοριακό βάρος(g/mol)</b>	230.259
<b>log Kow</b>	3.18
<b>Σταθερά του Henry</b>	1.38 10 <sup>-8</sup>
<b>Σταθερά ρόφησης K<sub>d</sub> (L/Kg SS)</b>	13

Η NPX παρασκευάζεται με κατεργασία του 2-μεθανεξυναφθαλενίου με ένα παράγωγο του προπανοϊκού οξέος (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>COOH). Το 2-μεθοξυναφθαλένιο έχει δομή παρόμοια με της NPX και απαιτεί μόνο προσθήκη της προπανουλο-μάδας (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH) που δίνεται από το προπανοϊκό οξύ. Η NPX είναι μια χειρόμορφη ένωση, κάτι το οποίο σημαίνει ότι μπορεί να υπάρξει σε μία από τις 2 ισομερείς μορφές (Σχήμα 2.4) .Οι δυο μορφές είναι η δεξιόχειρα μορφή (R μορφή) και η άλλη είναι αριστερότερα μορφή (S-Μορφή). Όπως συμβαίνει με τα περισσότερα οργανικά συστατικά, οι δύο χειρόμορφες μορφές έχουν διαφορετικές βιολογικές δραστηριότητες. Πιο συγκεκριμένα η S-μορφή της NPX είναι 28 φορές πιο αποτελεσματική από την R-μορφή της στην επίτευξη αναλγητικών, αντιπυρετικών και αντι-φλεγμονόδων δράσεων, όπως αναμένεται από την ουσία. Οι πρώτες μέθοδοι για την παραγωγή της NPX είχαν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό του ρακεμικού μίγματος των R και S μορφών. Ρακεμικό μείγμα είναι αυτό που περιέχει και τις δύο ισομερείς μορφές στις οποίες μπορεί να υπάρξει η ουσία. Τα δυο μέρη του ρακεμικού μίγματος, οι μορφές R και S, πρέπει να διαχωρίζονται η μια με την άλλη. Μελέτες έχουν δείξει μεθόδους παρασκευής που παράγουν καθαρή S-NPX, αποφεύγοντας έτσι την χρονοβόρα και δαπανηρή διαδικασία του διαχωρισμού (<http://www.bookrags.com/research/naproxen-chmc/>).



**Σχήμα 2.4:** Δομή της R-NPX (a) και της S-NPX (b)

### 2.2.2 Τοξικότητα

Τα μη στερεοειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, όπως και η NPX, δρουν εμποδίζοντας είτε αναστρέψιμα είτε μη αναστρέψιμα μια ή και τις δύο ισομορφές του ενζύμου της κυκλοοξυγενάσης (COX-1 και COX-2) που καταλύουν τη σύνθεση διαφορετικών προσταγλανδινών από το αραχιδονικό οξύ (έχουν αναφερθεί αναλυτικά στην IBF). Τα κλασσικά NSAID αναστέλλουν και την COX-1 και την COX-2 σε διαφορετικούς βαθμούς, ενώ τα νεότερα NSAID δρουν πιο επιλεκτικά στο COX-2, που είναι η μορφή που ευθύνεται για τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Οι προσταγλανδίνες μπορεί να παίξουν διαφορετικούς ρόλους ανάλογα με τα κύτταρα που προέρχονται και τον στόχο των μορίων. Είναι γνωστό επίσης ότι εμπλέκονται σε διεργασίες όπως φλεγμονές, πόνους, ρύθμιση της ροής αίματος στα νεφρά, διεργασίες συσσωμάτωσης και σύνθεσης του προστατευτικού γαστρικού βλεννογόνου. Καθώς τα NSAID αναστέλλουν, χωρίς κάποια ειδίκευση, την σύνθεση των προσταγλανδινών, οι περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες, τουλάχιστον μετά από μακροχρόνια θεραπεία, έχουν άμεση σχέση με την φυσική λειτουργία των προσταγλανδινών. Στα νεφρά, οι προσταγλανδίνες σχετίζονται με την διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ της αγγειοσυστολής και της αγγειοδιαστολής των αιμοφόρων αγγείων που εφοδιάζει την σπειραματική διήθηση. Οι γαστρικές ζημιές θεωρείται ότι προκαλούνται από την αναστολή των δύο ισόμορφων COX. (Wallace, 1997; Wallace et al., 2000). Αντιθέτως, οι ζημιές που προκαλούνται στο συκώτι οφείλονται στο σχηματισμό ενεργών μεταβολιτών (π.χ άκυλο γλυκουρονίδια) μάλλον από την αναστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών (Bjorkman, 1998). Κάποια αποτελέσματα πειραμάτων τοξικότητας από τον Brun et al. (2006), παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.3, τα οποία είναι σύμφωνα με άλλες τιμές τοξικότητας από άλλες μελέτες.

**Πίνακας 2.3:** Αποτελέσματα οξείας και χρόνιας τοξικότητας (Brun et al., 2006)

NPX			
Acute toxicity		Chronic toxicity	
<i>Daphnia magna</i> <sup>a</sup>	Bacteria ( <i>Vibrio fischeri</i> ) <sup>b</sup>	<i>Ceriodaphnia dubia</i> <sup>c</sup>	<i>Selanastrum capricornutum</i> <sup>d</sup>
>32	>451	>32	>32

**a** συγκέντρωση μετά από 48 ώρες που προκαλεί μείωση 50%

**b** συγκέντρωση 15 λεπτών που προκαλεί αναστολή του φωτός 50%

**c** συγκέντρωση 7 ημερών που προκαλεί αναστολή των ζώντων απογόνων 25%

**d** συγκέντρωση 72-h που προκαλεί αναστολή των ζώντων κυττάρων από τα φύκια 25%

Οι Isidori et al. (2005) βρήκαν ότι η NPX φωτομετασχηματίζεται σε τέσσερα προϊόντα με μικρότερη πολικότητα και με EC50 μικρότερο από την NPX και κατ'επέκταση πιο τοξικά από την μητρική ένωση. Αυτό συμπεραίνεται και από τα αποτελέσματα των πειραμάτων οξείας και χρόνιας τοξικότητας που εκτίθενται στους Πίνακες 2.4 και 2.5 αντίστοιχα. Επίσης φαίνεται ότι στα πειράματα χρόνιας τοξικότητας οι ενώσεις εμφάνισαν μεγαλύτερη τοξικότητα σε σχέση με αυτά της οξείας. Οι ίδιοι συγγραφείς ανέφεραν ότι δεν ανιχνεύτηκε κανένα αποτέλεσμα στα πειράματα μετάλλαξης ή γονιδιοτοξικότητας για την NPX και τα φωτοπαράγωγα της.

**Πίνακας 2.4:** Πειράματα οξείας τοξικότητας. Οι τιμές είναι εκφρασμένες σε LC50 (mg/L) όσο αφορά την παράμετρο της θνησιμότητας για τα *T. Platyurus* και *B. Calyciflorus* και σε EC50(mg/L) για την παράμετρο της αδρανισμού για το *C. Dubia* (Isidori et al, 2005)

Συστατικά	<i>B. calyciflorus</i>	<i>T. platyurus</i>	<i>C. dubia</i>
NPX	62.48	84.09	66.37
1	9.45	8.23	16.7
2	11.37	5.3	10.09
3	14.46	14.01	16.49
4	4.51	11.63	6.3

**Πίνακας 2.5:** Πειράματα Χρόνιας Τοξικότητας. Οι τιμές είναι εκφρασμένες σε LC50 (mg/L) όσο αφορά την παράμετρο της αναχαιτίσης, ανάπτυξης και αναπαραγωγής των πληθυσμών (Isidori et al, 2005)

Συστατικά	<i>B. subcapitata</i>	<i>B. calyciflorous</i>	<i>C. dubia</i>
NPX	31.82	0.56	0.33
1	3.86	0.46	0.1
2	1.9	0.45	0.026
3	6.86	0.25	1.06
4	-	0.67	0.062

Ο Clauvers (2003) προσδιόρισε την τοξική επίδραση της NPX σε άλγη και φυτά που συναντώνται συχνά σε υδατικά οικοσυστήματα, στα οποία καταλήγουν λύματα από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Προσδιορίστηκε η τιμή EC50 για την εμφάνιση χρόνιας τοξικότητας στο πράσινο άλγος (*Desmodesmus subspicatus*) και στο φυτό *Lemma minor*. Οι τιμές που προέκυψαν ήταν 320 mg/l και 24.2 mg/l αντίστοιχα. Σύμφωνα με τον Cleuvers (2004) η NPX δεν κατατάσσεται στις επικίνδυνες για τους υδρόβιους μικροοργανισμούς ουσίες καθώς οι τιμές του EC50 είναι πάνω από 100 ng/l.

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό για την Αξιολόγηση των Φαρμακευτικών Προϊόντων (EMA), η αξιολόγηση του περιβαλλοντικού κινδύνου που παρουσιάζει μια φαρμακευτική ουσία στην έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας εκφράζεται με τη βοήθεια του πηλίκου κινδύνου (RQ), που είναι η αναλογία μεταξύ της μέσης συγκέντρωσης της φαρμακευτικής ουσίας που μετρείται στην έξοδο της δευτεροβάθμιας εγκατάστασης επεξεργασίας με την αντίστοιχη PNEC (predicted no effect concentration) (EMA, 2001). Σύμφωνα με τους Souza et al. (2009) και τον Hernando et al. (2006) για  $RQ < 0.1$  η επικινδυνότητα για τους υδρόβιους οργανισμούς είναι μικρή, για  $0.1 \leq RQ \leq 1$  η επικινδυνότητα είναι μεσαία και για  $RQ \geq 1$  η επικινδυνότητα μεγάλη. Σύμφωνα με τους Verlicchi et al. (2012) η NPX ανήκει στην κατηγορία μεσαίας επικινδυνότητας καθώς ισχύει  $0.1 \leq RQ \leq 1$ .

### 2.2.3 Βιαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση

Η NPX είναι από τα πιο διαδομένες δραστικές ουσίες. Για παράδειγμα οι ετήσιες πωλήσεις της ουσίας στον Καναδά έφτασαν τους 31 τόνους (Metcalf et al., 2004). Παίρνοντας υπόψη ότι το 60% της ουσίας αποβάλλεται χωρίς μεταβολισμό από το ανθρώπινο σώμα και ότι είναι ουσία σχετικά σταθερή στο περιβάλλον (Kosjek et al., 2005), εξηγείται η παρουσία της ουσίας στο υδατικό περιβάλλον όπως επίσης στις εισόδους και στις εξόδους αρκετών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων. Η NPX έχει αναφερθεί σε συγκεντρώσεις της τάξης των 0.1-2.6 μg/l στις εξόδους των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων (Stumpf et al., 1999; Tixtier et al., 2003; Metcalfe et al., 2003) και 0.01-0.1 μg/l σε επιφανειακά νερά (Stumpf et al., 1999; Byod et al., 2003, 2004). Σύμφωνα με τους Lindqvist et al., (2005) βρέθηκαν υψηλές τιμές απομάκρυνσης της NPX (81%) όπως επίσης σε τρεις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στις Η.Π.Α παρατηρήθηκε απομάκρυνση 94-100% (Thomas and Foster, 2004). Πιο συγκεκριμένα αποτελεσματική απομάκρυνση παρατηρήθηκε στο στάδιο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας (51-99%) ενώ στο

στάδιο πρωτοβάθμιας επεξεργασίας μόνο 0-44%. Η ύπαρξη και η απομάκρυνση της NPX μελετήθηκε και σε εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων στη Σουηδία όπου παρατηρήθηκε απομάκρυνση μεγαλύτερη από 90% (Zorita et al. 2009) ενώ σε εγκατάσταση στην Ισπανία παρατηρήθηκε απομάκρυνση 60% (Rosal et al., 2010). Στον Πίνακα 2.6 παρουσιάζονται συγκεντρώσεις της NPX στην είσοδο, έξοδο καθώς και η επί τοις εκατό απομάκρυνση από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων της ουσίας σε διάφορες μελέτες που έχουν γίνει. Φαίνεται ότι οι συγκεντρώσεις όπως και οι απομακρύνσεις ποικίλουν από εγκατάσταση σε εγκατάσταση και αυτό πολύ πιθανά οφείλεται στον διαφορετικό εξοπλισμό που μπορεί να χρησιμοποιείται αλλά και στις διαφορετικές συνθήκες που έγινε ο δειγματισμός.

**Πίνακας 2.6:** Συγκεντρώσεις εισόδου και εξόδου και αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης της NPX σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (διαφορετικός εξοπλισμός, διαφορετικές χώρες δειγματοσιμένα σε διαφορετικές εποχές) (Fent et al., 2006)

<b>NPX</b>			
<b>Είσοδος (µg/l)</b>	<b>Έξοδος(µg/l)</b>	<b>Απομάκρυνση (%)</b>	<b>Αναφορές</b>
40.7	12.5	40-100	Metcalf et al. (2003a)
10.3-12.8	n.d-0.023	100	Thomas and Foster (2004)
0.6	0.1-0.54	15-78	Stumpf et al. (1999)
1.8-4.6	0.8-2.6	40-55	Carballa et al. (2004)
0.95	0.27	71±18	Quintana et al.( 2005)
4.9±1.7	0.15-1.9	55-98	Lindqvist et al. (2005)

Έχουν αναφερθεί πολλοί τρόποι απομάκρυνσης της NPX. Οι Marco-Urrea et al. (2010) σε μελέτη τους έδειξαν, ότι οι λευκοί όψης μύκητες μπορούν, σε συγκεντρώσεις NPX που βρίσκονται τυπικά στο περιβάλλον (55µg/l), να αποδημήσουν την ουσία σε ποσοστά που φτάνουν και το 95% μετά από 5 ώρες. Οι Felis et al. (2007) χρησιμοποίησαν H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV για να αποδομήσουν την NPX σε επιφανειακά νερά: 90% της NPX υποβαθμίστηκε, αλλά επιτεύχθηκε μόνο 10% ανοργανοποίηση. Οι Boyd et al. (2005) έδειξαν ότι η NPX μπορεί να απομακρυνθεί από το νερό με χλωρίωση, αν και δημιουργούνται παραπροϊόντα. Οι Tixtier et al (2003) έδειξαν ότι φωτομετασχηματισμός και η βιοαποδόμηση είναι οι κύριες διεργασίες απομάκρυνσης της NPX από τα επιφανειακά νερά. Οι Rivera-Jimenez (2011) έδειξαν ότι το προσροφητικό Co-Al-HDTMA-NaBt μπορεί να απομακρύνει αποτελεσματικά την NPX από το νερά σε ουδέτερα pH. Οι Zheng et al (2010) έδειξαν ότι μπορεί να απομακρυνθεί η ουσία αποτελεσματικά με ακτινοβολίες γάμμα. Οι Metamoros et al. (2009) βρήκαν ότι η συμπεριφορά της NPX EF (EF=S/(S+R)) ήταν παρόμοια κατά την αποδόμηση και στις αερόβιες και στις αναερόβιες συνθήκες της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων. Οι Mascolo et al. (2010) βρήκαν ότι η βιοδιάσπαση του ρακεμικού μίγματος της NPX ήταν μικρότερη στα δείγματα λυμάτων απο ότι στα συνθετικά λύματα, πιθανόν λόγω της παρουσίας οργανικών συστατικών.

Οι όξινες φαρμακευτικές ουσίες, όπως τα NSAID συμπεριλαμβανομένου και της NPX, η οποία έχει



τιμές pKa που κυμαίνονται από 4.9 μέχρι και 4.1, υπάρχουν σε μορφή ιόντος σε ουδέτερο pH και δεν έχουν μεγάλη τάση να προσροφώνται στην ιλύ. Η προσρόφηση αυξάνει σε χαμηλότερα pH. Σε ουδέτερα pH, οι αρνητικά φορτισμένες φαρμακευτικές ουσίες βρίσκονται στην διαλυτή φάση μέσα στα λύματα. Γενικά η προσρόφηση των όξινων φαρμακευτικών ουσιών στη λάσπη δεν θεωρείται πολύ σημαντική διεργασία στην απομάκρυνση των φαρμακευτικών ουσιών από τα λύματα και τα επιφανειακά νερά. Έτσι εξηγείται τα χαμηλά επίπεδα της ουσίας σε χωνεμένη λάσπη και στα επιφανειακά νερά όπως έχει βρεθεί σε αρκετές μελέτες, όπου το pH κινείται σε ουδέτερες τιμές (Πίνακας 2.7). Στην περίπτωση που η φαρμακευτική ουσία υπάρχει κυρίως στη διαλυτή φάση, η βιοδιάσπαση θεωρείται να είναι η πιο σημαντική διεργασία απομάκρυνσης στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων.

**Πίνακας 2.7:** Ποσοστά απομάκρυνσης κατά τη διάρκεια της δευτεροβάθμιας βιολογικής επεξεργασίας, της απορόφησης στη λάσπη και εξόδου δευτεροβάθμιας επεξεργασίας της NPX με βάση τη μάζα του αρχικού φορτίου

<b>NPX</b>				
<b>Ηλικία λάσπης</b>	<b>Βιολογικός μετασχηματισμός %</b>	<b>Προσρόφηση στη λάσπη %</b>	<b>Έξοδος %</b>	<b>Πηγές</b>
10 - 30	55-85	<5	15-45	Joss et al. (2005)
6	77	0	23	Jelic et al. (2011)
16	95-98	0	<5	Jelic et al. (2011)
<20	5	0	95	Suarez et al.(2005)
>50	85-90		10-15	Suarez et al.(2005)

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στον Καναδά, οι Metcalfe et al. (2003) βρήκαν, ότι σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων που ο υδραυλικός χρόνος παραμονής είναι μεγαλύτερος από 12 ώρες, η απομάκρυνση της NPX ήταν μεγαλύτερη. Επίσης σύμφωνα με τους Fent et al. (2006), όσο μεγαλύτερη είναι η ηλικία της λάσπης τόσο μεγαλύτερη βιοδιάσπαση της ουσίας πετυχαίνεται. Αυτό φαίνεται ξεκάθαρα και στον Πίνακα 2.8 όπου καταγράφονται στοιχεία από διάφορες μελέτες σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με διαφορετικές συνθήκες λειτουργίας. Πράγματι, παρατηρείται αύξηση της απομάκρυνσης της ουσίας καθώς αυξάνει η ηλικία της λάσπης.

**Πίνακας 2.8:** Μέσες τιμές απομάκρυνσης της NPX με βάση τον χρόνο παραμονής στον βιοαντιδραστήρα σύμφωνα με τις αντίστοιχες αναφορές

NPX		
SRT (ημέρες)	Απομάκρυνση%	Πηγές
1.5/1.5/2.7/3	35/43/71/85	Santos et al., 2007/Santos et al., 2009/
5/7/8/8/10	89/64/88/93/72	Santos et al.,2007/Radjenovic et al., 2007
20/60	95/68	Santos et al., 2007/Kimura et al., 2007/Yu et al.,
		2006/Zorita et al., 2009/Radjenovic et al., 2009
		Vieno et al., 2005/Suárez et al., 2005

Σε έρευνα των Carballa et al. (2004) δεν βρέθηκε καμιά σημαντική μείωση της NPX στο στάδιο της προ-επεξεργασίας και της καθίζησης. Αυτό μπορεί να αποδοθεί επίσης στην όξινη δομή της ουσίας (όπου για pH 7 το μόριο είναι αρνητικά φορτισμένο), όπως επίσης και στον πολύ χαμηλό συντελεστή διαχωρισμού υγρού-στερεού  $K_d$ , κάτι το οποίο συνεπάγεται με πολύ μικρή προσρόφηση στη λάσπη και παρουσία της ουσίας στην υδατική φάση.

Οι Tixtier et al. (2003) μέτρησαν την συγκέντρωση στην έξοδο έξι εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, σε δύο ποταμούς και σε μια κάθετη στήλη νερού στη λίμνη που καταλήγουν οι δυο ποταμοί (λίμνη Greifensee στην Ελβετία) για χρονικό διάστημα τριών μηνών. Η λίμνη δέχεται απευθείας τα λύματα εξόδου των τριών εγκαταστάσεων αλλά και τα νερά των δυο ποταμών που μέσα καταλήγουν οι εξοδοί των λυμάτων τεσσάρων άλλων εγκαταστάσεων.

Καθορίστηκε ένα απλό ισοζύγιο μάζας (είσοδος –έξοδος της λίμνης) για την περίοδο των τριών μηνών που εξετάστηκε. Η ολική είσοδος της ουσίας στη λίμνη ορίστηκε ως το άθροισμα από την είσοδο των τριών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, οι οποίες αποβάλλουν τα νερά απευθείας στην λίμνη, συν την προσθήκη ουσίας από τα νερά των δύο ποταμών (Πίνακας 2.9). Στη συνέχεια φτιάχτηκε ένα απλό μονο-διάστατο μοντέλο το οποίο έπαιρνε υπόψη την είσοδο, την μίξη καθώς και την αποβολή ενός μέρους της ουσίας λόγω έκπλυσης της λίμνης ( $0.006 \text{ d}^{-1}$  υπολογίστηκε από υδραυλικά δεδομένα της λίμνης) έτσι ώστε να προσομοιωθούν οι κάθετες συγκεντρώσεις από τον Αύγουστο έως τον Οκτώβριο του 2009. Τα αποτελέσματα του μοντέλου υπολογίστηκαν, βασιζόμενοι σε ένα συντηρητικό σενάριο, υποθέτοντας ότι η έκπλυση είναι ο μόνος τρόπος αποβολής της ουσίας. Όμως τα προσομοιωμένα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν αρκετά υπερεκτιμημένα σε σχέση με τις συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν. Για παράδειγμα, η προσομοιωμένη συγκέντρωση για την NPX έδειξε μια συνεχή αύξηση της ουσίας με τον χρόνο που έφτασε τα  $13 \text{ ng/l}$  στο τέλος του Οκτώβρη, ενώ η μετρημένη τιμή ήταν μόλις 6. Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα, ότι άλλη διεργασία αποβολής της ουσίας πρέπει να υπάρχει, πέρα από την έκπλυση της λίμνης, έτσι ώστε να εξηγήσει τις μειωμένες μετρημένες συγκεντρώσεις της NPX. Ο ρυθμός απομάκρυνσης της NPX υπολογίστηκε  $0.05 \text{ d}^{-1}$ . Έτσι οι Textier et al. (2003) με βάση τα χαρακτηριστικά της ουσίας θεώρησαν ότι οι κύριες διεργασίες απομάκρυνσης της ουσίας ήταν ο φωτομετασχηματισμός και η βιοαποδόμηση.

**Πίνακας 2.9:** Μέση Ημερήσια Φόρτωση της NPX για τις 3 εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και τους δυο ποταμούς (Tixier et al., 2003)

NPX		
<b>WWTP</b>		
	Moenchaltorf	1.34
	Uster	3.11
	Maur	1.61
	Συνολικό φορτίο 3 WWTPs (g/day)	6.06
<b>Ποταμοί</b>		
	Aabach Moenchaltorf	3.71
	Aa Uster	1.93
	Συνολικό φορτίο 2 ποταμών (g/day)	5.64
	<b>Ολικό φορτίο (g/day)</b>	11.7

## 2.3Κετοπροφαίνη (KFN)

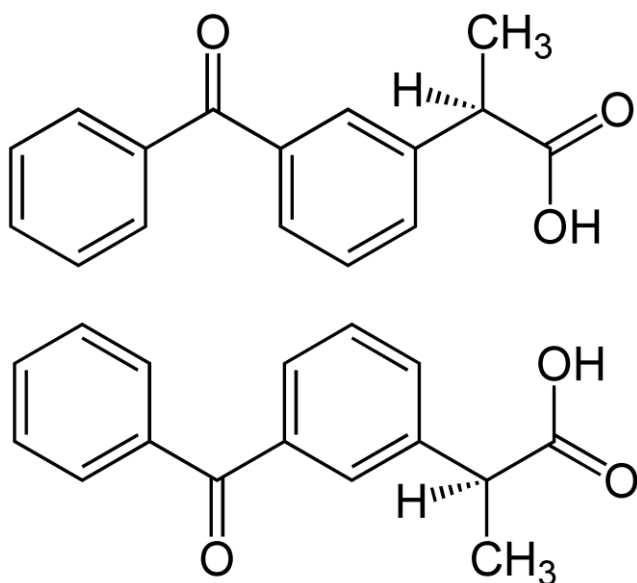
### 2.3.1 Παραγωγή και Χρήσεις

Η κατά IUPAC 2 (3-βενζολο-φαινυλο) προπιονικό οξύ, KFN, είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (NSAID) με αναλγητική και αντιπυρετική δράση. Ανήκει στην κατηγορία των όξινων φαρμακευτικών ουσιών λόγω της παρουσίας μιας καρβοξυλικής ομάδας στην χημική του δομή (Σχήμα 2.5). Η KFN είναι υπόλευκη έως λευκή, άοσμη, μη υγροσκοπική, λεπτή έως κοκκώδης σκόνη. Η ουσία μεταβολίζεται ταχύτατα στο ήπαρ, κυρίως μέσω σύζευξης με γλυκουρονικό ξύ. Στον Πίνακα 2.10 φαίνονται οι φυσικοχημικές παράμετροι της KFN.

**Πίνακας 2.10:** Φυσικοχημικές παράμετροι της KFN

<b>Χημική δομή</b>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
<b>Μοριακό βάρος</b>	254.29
<b>Log P</b>	0.97
<b>LogKow</b>	3.12
<b>pKa</b>	4.45
<b>Σημείο τήξεως</b>	94.5 <sup>0</sup> C
<b>Σταθερά Henry</b>	2.1 ×10 <sup>-11</sup>
<b>Διαλυτότητα(mg/l)</b>	51

Η KFN ανήκει στην κατηγορία των 2 αρυλο-προπιονικών οξέων της οικογένειας των NSAID. Είναι ένα ρακεμικό μείγμα 2 μορφών εναντιομερών, των ισομερών R και S (Σχήμα 2.5). Η εναντιομέρεια οφείλεται στην παρουσία ενός ασύμμετρου ατόμου άνθρακα στην θέση α ως προς το καρβονύλιο (C=O). Το R-εναντιομερές της KFN είναι γνωστό ότι μετασχηματίζεται σε S-εναντιομερές σε πολλά είδη ζώων εκτός από τους ανθρώπους και τα ινδικά χοιρίδια (Brune et al., 1992).



**Σχήμα 2.5 :** Εναντιομερείς μορφές της KFN

Η βάση της αντιφλεγμονώδους δράσης των NSAID, συμπεριλαμβανομένου και της KFN, είναι η αναστολή της δραστηριότητας της κυκλοοξυγενάσης. Η κυκλοοξυγενάση εμπλέκεται στην παραγωγή των χημικών ουσιών στο σώμα που ονομάζονται προσταγλανδίνες. Παρόλα αυτά, η καταστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών είναι ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα των NSAID, όπως οι γαστρικές βλάβες. Τα παράγωγα των

2-αρυλοπροπιονικών οξέων, όπως η ketoprofen και η IBF, που είναι ρακεμικά μείγματα 2 εναντιομερικών μορφών, το S-εναντιομερές τους είναι υπεύθυνο για την αναστολή της σύνθεσης της προσταγλανδίνης και των φλεγμονώδων συμβάντων. Παρόλο που ο αντιφλεγμονώδης ρόλος των δύο εναντιομερών της KFN δεν έχει χαρακτηριστεί πλήρως, είναι γνωστό ότι η R-KFN είναι ένας ασθενής αναστολέας της κυκλοοξυγενάσης, όντας 100 μέχρι και 1000 φορές λιγότερα ισχυρή από ότι το S-εναντιομερές in-vitro και ως εκ τούτου θεωρείται ότι το R-εναντιομερές συμβάλει οριακά στην αντιφλεγμονώδη προστασία (Ossipov et al., 2000). Αντίθετα σε μελέτη τους, οι Ghezzi et al. (1998), παρατήρησαν ότι αν και η S- KFN αναστέλλει αποτελεσματικά τον σχηματισμό οιδήματος που προκαλείται από την καραγενάνη, παρόλα αυτά μπορεί να ενισχύσει την παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), που είναι μια κυτοκίνη, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία γαστρικών βλαβών. Η αυξημένη παραγωγή της TNF, οφείλεται στην αναστολή της σύνθεσης της προσταγλανδίνης PGE<sub>2</sub>, που είναι ισχυρός αναστολέας της σύνθεσης της TNF. Σε αντίθεση με την S-KFN, η R-KFN δεν προκαλεί σημαντική αύξηση της παραγωγής κυτοκίνης ακόμα και σε συγκεντρώσεις που μπλοκάρουν την κυκλοοξυγενάση. Έτσι οι Ghenzzi et al., (1998) ερευνώντας την επίδραση των εναντιομερών της KFN, σε διάφορες φλεγμονώδεις παραμέτρους, έδειξαν ότι η S-KFN είναι πολύ αποτελεσματική στην αναστολή σχηματισμού φλεγμονών που προκαλείται από την καραγενάνη, παρόλο που έχει χαμηλότερη αναλγητική επίδραση από την R-KFN. Το γεγονός ότι η S-KFN, σε αντίθεση με το R-ισομερές, μπορεί να ενισχύσει την παραγωγή κυτοκινών, στην πραγματικότητα συμβάλει σε μειωμένη αναλγητική δράση του S-ισομερούς και μπορεί να σχετίζεται με την κλινική ένδειξη υψηλότερης τοξικότητας. Έτσι, αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι δίπλα στις ξεκάθαρες αντιφλεγμονώδεις δράσεις της S-KFN, το R-εναντιομερές συμβάλει επίσης στην συνολική δραστηριότητα της KFN, διότι είναι αναλγητικό και δεν προκαλεί ενίσχυση της παραγωγής της φλεγμονώδης κυτοκινών (Ghezzi et al., 1998).

### 2.3.2 Τοξικότητα

Η KFN, ως ένα μη στερεοειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο, χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορες εφαρμογές και συναντάται συχνά στα επιφανειακά νερά. Οι Cuklev et al. (2012) εξέθεσαν την ιριδίζουσα πέστροφα (rainbow trout) στην KFN (1, 10 και 100 μg/l) για να ερευνήσουν την επικινδυνότητα της ουσίας στα ψάρια σε σχέση με την DCF και βρέθηκε ότι επιδρά αρνητικά στην ιστολογία των οργάνων και στην έκφραση των γονιδίων σε συγκεντρώσεις 1 μg/l.

Ένα από τα πιο σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα που προκύπτουν από όλες τις φαρμακευτικές ουσίες είναι η δραματική μείωση των γυπών στην Ινδία και το Πακιστάν, λόγω χορήγηση τους στα βοοειδή, τα οποία τρώνε οι γύπες, λίγο πριν πεθάνουν. Έτσι εξετάστηκε από τους Naidoo et al. (2010) κατά πόσο είναι ασφαλής η χρήση KFN ως εναλλακτική λύση της DCF. Στα πειράματα εκτέθηκαν ενήλικες γύπες Cape Griffons (*G. coprotheres*) σε δόσεις είτε 1 mg/kg ή 5mg/kg (n αριθμό πτηνών=5 και 11 αντίστοιχα) KFN. Αυτές οι δόσεις βασίζονται στις ανώτερες και κατώτερες θεραπευτικές δόσεις που ενδείκνυνται για την κλινική θεραπεία των πτηνών (Polloc et al. 2005) και ήταν επίσης αντιπροσωπευτικές των τιμών των δόσεων που προσλαμβάνουν οι γύπες από τα πτώματα των ζώων, που έχουν χορηγηθεί με την ουσία λίγες ώρες πριν το θάνατο τους. Για δόση 5mg/kg, 7 από τα 11 πτηνά πέθαναν με συμπτώματα χαρακτηριστικά που συνδέονται με την τοξικότητα της DCF. Στην νεκροψία όλα τα πουλιά παρουσίασαν σημάδια σοβαρής νεφροτοξικότητας και ηπατοτοξικότητας καθώς και ουρική αρθρίτιδα. Έτσι συμπεραίνεται ότι και η

KFN είναι τοξική για τους Gyps γύπες.

Βέβαια αυτά τα συμπεράσματα έρχονται σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες που έδειχναν ότι η KFN αποβάλλεται απευθείας από τους ιστούς των ζώων και δεν προκαλεί θνησιμότητα των Gyps vultures και σε άλλα αρπακτικά πτηνά μετά από έκθεση τους στην ουσία σε θεραπευτικές δόσεις (Cuthbert et al., 2007).

Επίσης η KFN έχει συσχετισθεί με τη θνησιμότητα που έχει παρατηρηθεί στις αρσενικές πάπιες (Eider ducks) που τους έχει χορηγηθεί η ουσία (Mulcahy et al., 2003). Τα συμπτώματα ήταν ίδια με αυτά στους Gyps γύπες που είχαν εκτεθεί στην DCF.

### 2.3.3 Βιαποδόμηση και Βιοσυσώρευση

Η ευρεία χρήση της KFN, ως μη συνταγογραφούμενο φάρμακο, έχει ως αποτέλεσμα η ουσία να καταλήγει στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων μέσω των ανθρώπινων απεκκρίσεων σε υπολογίσιμες για το περιβάλλον συγκεντρώσεις. Στον Πίνακα 2.11 παρουσιάζονται κάποιες χαρακτηριστικές τιμές της KFN που έχουν παρατηρηθεί σε εισόδους και εξόδους εγκαταστάσεων επεξεργασίας παγκοσμίως. Παρατηρείται ότι οι τιμές κυμαίνονται 100-1000 ng/l αλλά παρατηρήθηκαν και μεγαλύτερες τιμές σε μερικές εγκαταστάσεις (Santos et al., 2005). Η ικανότητα απομάκρυνσης της KFN διαφέρει από εγκατάσταση σε εγκατάσταση (38-100%) λόγω του διαφορετικού εξοπλισμού των εγκαταστάσεων, διαφορετικών συνθηκών λειτουργίας (υδραυλικός χρόνος παραμονής, ηλικία λάσπης) αλλά και λόγω διαφορετικών χαρακτηριστικών των λυμάτων που εισέρχονται στην εγκατάσταση. Η απομάκρυνση της KFN κυμαίνεται από 35 μέχρι 100% (Lindqvist et al., 2005; Santos et al., 2005).

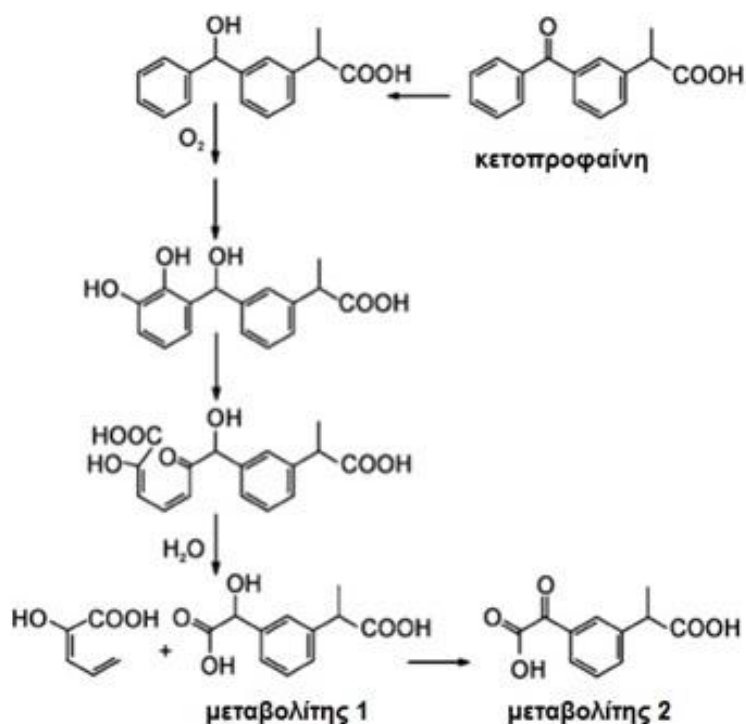
**Πίνακας 2.11:** Συγκεντρώσεις της KFN σε εισόδους και εξόδους εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων παγκοσμίως (Fang et al., 2012)

	Bali, Taiwan	Seville, Spain	Tokyo, Japan	Along Thames River, Canada	Baltimore, MD, USA	User, Switzerland	Frankfurt, Germany
<b>Είσοδος (ng/l)</b>	128-184	1200-2100	108-369	136-289	1200		
<b>Έξοδος (ng/l)</b>	68-128	1200-1760	68-219	114-210	280	180	20-380
<b>Πηγές</b>	Fang et al. 2012	Santos et al. 2005	Nakada et al. (2006)	Lishman et al. 2006	Yu et al. (2005)	Tixier et al. (2003)	Ternes et al. (1998)

Για πολικά συστατικά, όπως οι όξινες φαρμακευτικές ουσίες και κατά επέκταση η KFN, τα οποία είναι λιγότερο υδρόφιλα σε ουδέτερο pH, παραμένουν στην υδατική φάση. Η ρόφηση δεν θεωρείται αποτελεσματική μέθοδος απομάκρυνσης της ουσίας σε αντίθεση με την μικροβιακή αποδόμηση που θεωρείται η πιο αποτελεσματική μέθοδος απομάκρυνσης και στις αερόβιες και αναερόβιες ζώνες της ενεργού ιλύος. (Ziylan et al., 2011, Quintana et al., 2005)

Οι Quintana et al. (2005) πραγματοποίησαν εργαστηριακά τεστ βιοδιάσπασης για να μελετήσουν την μικροβιακή διάσπαση της KFN, η οποία θεωρείται η κύρια οδός απομάκρυνσης της KFN από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Τα προϊόντα διάσπασης ανιχνεύθηκαν και αναλύθηκαν με την μέθοδο υγρής χρωματογραφίας LC-MS. Η μελέτη βιοδιάσπασης έγινε σύμφωνα με το ISO 7827 (1995) όπου σε μπουκάλια χωρητικότητας 2L, που περιείχαν 1L απιονισμένο νερό, προστίθενται 20 mg της εξεταζόμενης ουσίας σε στερεή μορφή, 10mg/l φρέσκιας λάσπης από έναν βιοαντιδραστήρα με μεμβράνη (MBR) και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφόρου. Ο μετασχηματισμός της KFN άρχισε στις 10 ημέρες και ολοκληρώθηκε στις 28 ημέρες. Κατά τη διάρκεια της αποδόμησης ξεχώρισαν δύο μεταβολίτες (Σχήμα 2.6), όπου ο πρώτος έφτασε στο μέγιστο του στις 14 ημέρες ενώ ο δεύτερος αυξανόταν μέχρι το τέλος του πειράματος (28 ημέρες).

Κρίνοντας από τους μεταβολίτες, η KFN διασπάται με την ίδια μεταβολική οδό των διφαινυλίων και των διφαινυλαιθέρων (Quintana et al., 2005). Πριν από την οξυγόνωση, παρατηρείται απομάκρυνση της κετονομάδας της KFN όπως έχει παρατηρηθεί σε θηλαστικά (Benoit et al., 1992). Αυτή η απουσία της κετονομάδας αυξάνει την ηλεκτρονιακή πυκνότητα του συστήματος, καθιστώντας την ουσία πιο ενεργή για μια ηλεκτρονιόφιλη οξυγόνωση.



Σχήμα 2.6: Προτεινόμενη οδός αποδόμησης της KFN (Quintana et al., 2005)

Οι Nekada et al. (2006) παρατήρησαν χαμηλές τιμές απομάκρυνσης της KFN στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στο Τόκυο μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία (<50%), το οποίο το απέδωσαν στην χαμηλή υδροφοβική φύση της ουσίας ( $\log K_{ow}=3.12$ ). Η KFN επίσης ως όξινη φαρμακευτική ουσία, έχει  $pK_a$  που κυμαίνεται 4.1 έως 4.9. Γι αυτό ακριβώς το λόγο, αναμένεται μεγαλύτερη προσρόφηση στη λάσπη, και ως επί το πλείστον μεγαλύτερη απομάκρυνση, για pH 5, όπου η KFN βρίσκεται σε λιγότερο ιονισμένη μορφή και άρα στην πιο υδρόφοβη μορφή της. Έτσι όσο περισσότερο όξινες οι συνθήκες σε έναν αντιδραστήρα, τόσο μεγαλύτερη η απομάκρυνση.

Γενικά, για τον υπολογισμό της απομάκρυνσης μιας ουσίας μέσω ρόφησης σε αιωρούμενα στερεά και στη βιομάζα, έχει προταθεί ο συντελεστής διασποράς στερεού-νερού  $K_d$ , που ορίζεται ως ο λόγος μεταξύ της συγκέντρωσης ενός στερεού στην στερεή φάση ως προς την συγκέντρωση στην υγρή φάση σε συνθήκες ισορροπίας. Αυτός ο συντελεστής συμπεριλαμβάνει δύο κυρίως μηχανισμούς της ρόφησης α) την απορρόφηση (υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις που χαρακτηρίζονται από την τιμή του  $K_{ow}$  και β) την προσρόφηση (ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που χαρακτηρίζονται από την σταθερά διάστασης,  $pK_a$ ). Συστατικά με υψηλή τιμή  $K_{ow}$ , έχουν μεγαλύτερη συνάφεια για το στερεό κλάσμα, ενώ δεν έχει δειχθεί κάποια καλή συσχέτιση μεταξύ του  $K_{ow}$  και  $K_d$  όπως αναφέρουν οι Ternes et al. (2006), εκτός του ότι οι υδροφοβικές και οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις είναι σημαντικές για την ρόφηση πάνω στη λάσπη. Επίσης τονίζουν το γεγονός ότι η  $K_d$  πρέπει να προσδιορίζεται πειραματικά για κάθε ουσία αλλά και για κάθε είδος λάσπης. Όπως έχει αναφερθεί, η ρόφηση στην ενεργό ιλύ δεν είναι μείζονος σημασίας στην απομάκρυνση των φαρμακευτικών ουσιών (Sirma et al., 2010). Αυτό φαίνεται και στον Πίνακα 2.12 όπου παρατηρείται ότι η απομάκρυνση της ουσίας οφείλεται αποκλειστικά στην βιοαποδόμηση παρά στην προσρόφηση στη λάσπη.

**Πίνακας 2.12:** Ποσοστά απομάκρυνσης κατά τη διάρκεια της δευτεροβάθμιας βιολογικής επεξεργασίας, της απορρόφησης στη λάσπη και εξόδου δευτεροβάθμιας επεξεργασίας της KFN με βάση την μάζα εισόδου (Verlicchi et al., 2012)

Ηλικία λάσπης (μέρες)	Βιολογικός μετασχηματισμός (%)	Ρόφηση στη λάσπη (%)	Έξοδος (%)	Πηγές
6	70	0	30	Jelic et al. 2011
16	<95		5-10	

Όσον αφορά βέβαια την μικροβιακή αποδόμηση της ουσίας, υπάρχουν κάποια αντιφατικά στοιχεία σε διάφορες έρευνες. Οι Nekada et al. (2008) αναφέρουν ότι κατά τη διάρκεια πειραμάτων επώασης, δεν παρατηρήθηκε καμία μικροβιακή αποδόμηση της ουσίας, ενώ παρατήρησαν σημαντική μείωση της ουσίας λόγω φωτοδιάσπασης. Από την άλλη οι Kimura et al. (2007) παρατήρησαν ότι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης της KFN από τις λάσπες αστικών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων από συστήματα ενεργού ιλύος και μεμβράνες βιο-αντιδραστήρων είναι η βιοαποδόμηση.



Οι Maeng et al. (2013) μελέτησαν την επιρροή του χρόνου παραμονής της λάσπης (SRT), την νιτροποίηση και την μικροβιακή δραστηριότητα στην απομάκρυνση της KFN χρησιμοποιώντας αντιδραστήρα MBR. Βρέθηκε ότι η αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης της KFN αυξήθηκε από 60 στα 90% όταν αυξήθηκε ο χρόνος παραμονής της λάσπης από 20 ημέρες σε 80 ημέρες ενώ σε μελέτη του Kimura et al. (2007) όταν ο χρόνος παραμονής της λάσπης αυξήθηκε από 15 σε 65 ημέρες η απομάκρυνση αυξήθηκε από 50 σε 82%. Ακόμα σε μελέτη του Schroder et al. (2005) στην επίδραση της SRT στην απομάκρυνση της KFN σε συστήματα MBR, για ηλικία λάσπης 15 ημερών βρέθηκε 98% απομάκρυνση, ενώ για ηλικία λάσπης 30 ημερών βρέθηκε απομάκρυνση 100%. Επίσης οι Kreuzinger et al. (2004) έδειξαν, ότι γενικά η απομάκρυνση των φαρμακευτικών ουσιών αυξάνει με την αύξηση της ηλικίας της λάσπης. Η εξήγηση που δόθηκε είναι ότι η μεγαλύτερη ηλικία της λάσπης εξασφαλίζει την ανάπτυξη βακτηρίων που αναπτύσσονται αργά όπως επίσης κατοχυρώνεται η δημιουργία μιας ευρείας βιοτικής κοινότητας με διευρυμένες ιδιότητες όπως απομάκρυνση του άνθρακα. Για αυτό θεωρείται, ότι βιολογικό σύστημα με μεγάλη ηλικία λάσπης έχει άμεση σχέση με την αποτελεσματική ικανότητα απομάκρυνσης και έτσι μπορεί να χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση φαρμακευτικών ουσιών (Yang et al., 2003; Cho et al., 2007). Κάποιες ενδεικτικές τιμές απομάκρυνσης σχετικά με την ηλικία της λάσπης σε συμβατικά συστήματα ενεργού ιλύος φαίνονται και στον Πίνακα 2.13.

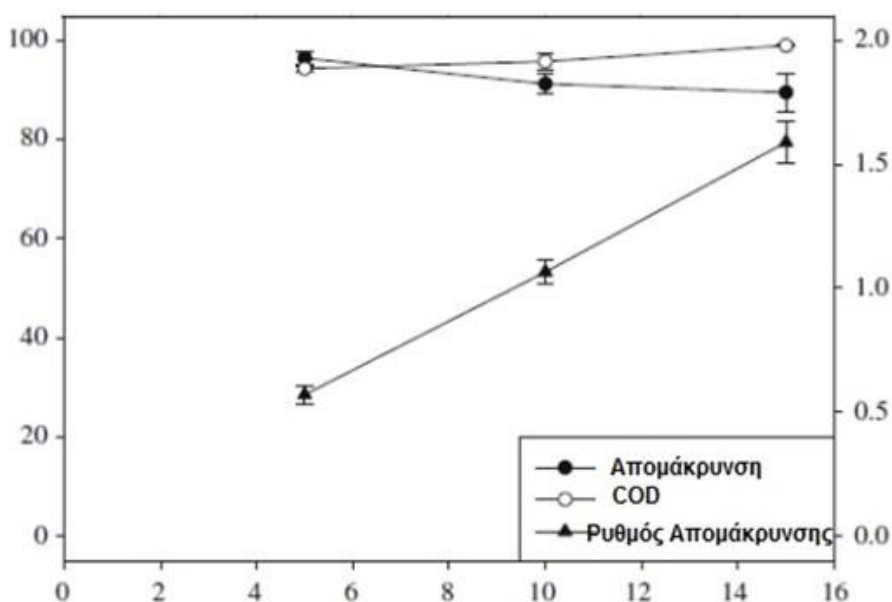
Επίσης, ο χαμηλός λόγος F/M (τροφή/μικροοργανισμοί) σε συστήματα MBR σε υψηλούς χρόνους παραμονής της λάσπης (ολιγοτροφικές συνθήκες) μπορεί να εξαναγκάσει τους μικροοργανισμούς να χρησιμοποιήσουν φαρμακευτικές ουσίες ως πηγή άνθρακα (Sirma et al., 2010).

Οι Maeng et al. (2013) σε πειράματα που έκαναν για να εξετάσουν την επίδραση της νιτροποίησης, πρόσθεσαν allylthiourea για να αναστείλουν την λειτουργία των νιτροποιητικών βακτηρίων. Πράγματι, παρατηρήθηκε μείωση 20% στην απομάκρυνση της KFN. Επίσης παρατηρήθηκε μεγαλύτερη απομάκρυνση με την αύξηση της ηλικία της λάσπης όπου τα νιτροποιητικά βακτήρια είχαν αρκετό χρόνο να αναπτυχθούν. Έτσι συμπεραίνεται ότι η απομάκρυνση της KFN αυξάνει με την παρουσία των νιτροποιητικών βακτηρίων.

**Πίνακας 2.13:** Μέσες τιμές απομάκρυνσης σε συστήματα ενεργού ιλύος με βάση την ηλικία λάσπης στον βιοαντιδραστήρα (Verlicchi et al. 2012)

SRT	Απομάκρυνση (%)	Πηγές
1.5/1.5/2.7/3	37/52/56/52	Santos et al., 2007/Santos et al., 2009/Santos et al., 2009/Radjenovic et al., 2007
5/7/8/10/20	30/55/77/55/92	Santos et al., 2007/Kimura et al., 2007/Yu et al., 2006/Radjenovic et al., 2009/Vieno et al., 2005

Οι Yu et al. (2009) έκαναν μελέτη σε σύστημα παρατεταμένης ηλικίας λάσπης 200 ημερών και με υδραυλικό χρόνο παραμονής 12 ώρες σε συνθετικά λύματα για αρχικές συγκέντρωση εισόδου KFN 5, 10, 15 μg/l. Σκοπός της εργασίας ήταν επίσης να ερευνηθεί επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης της ουσίας στην απομάκρυνση της. Έτσι παρατηρήθηκε 96, 79, 89% απομάκρυνση της ουσίας για αρχικές συγκεντρώσεις 5, 10, 15, mg/l. Επίσης στην βιβλιογραφία έχει παρατηρηθεί υψηλότερη απομάκρυνση της ουσίας για χαμηλές συγκεντρώσεις εισόδου (<0.5 μg/l) κάτι που συνάδει με τα αποτελέσματα των Yu et al. 2009. (Brown et al., 2006, Watkinson et al., 2007). Έτσι φάνηκε ότι η αρχική συγκέντρωση της φαρμακευτικής ουσίας επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απομάκρυνσης των ουσιών στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Στο σχήμα 2.7 παρατηρείται ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης αυξάνει με την αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης της ουσίας. Αυτό συμβαίνει γιατί με την αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης της ουσίας αυξάνει ο ρυθμός μεταφοράς της μάζας και κατά επέκταση το ποσό που προσροφάται στη λάσπη (βασισμένο στο συντελεστή διαχωρισμού στερεού-υγρού). Η ικανότητα απομάκρυνσης όμως της ουσίας μειώνεται, καθώς αυξάνει η αρχική συγκέντρωση της ουσίας. (Yu et al., 2009). Όμως σε σύγκριση με άλλες μελέτες (Πίνακας 2.13) όπου χρησιμοποιείται συμβατικό σύστημα ενεργού ιλύος με SRT ( $\leq 20$  ημέρες) είχαν μικρότερη απομάκρυνση σε σχέση με την μελέτη του Yu et al. (2009). Αυτό υποδεικνύει ότι η μεγαλύτερη ηλικία της λάσπης έχει μεγάλη επίδραση στην απομάκρυνση των φαρμακευτικών ουσιών ακόμα και για υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις ουσίας.



**Σχήμα 2.7:** Απομάκρυνση της KFN με βιο-διεργασίες παρατεταμένης ηλικίας λάσπης (άξονας X: αρχική συγκέντρωση KFN (μg/l) άξονας Y δεξιά: ρυθμός απομάκρυνσης (μg/ g ξηρή λάσπη ανά ημέρα) Y αριστερά: αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης (Yu et al. ,2009)

Αξίζει να σημειωθεί ότι η τεχνολογία των MBR υπερτερεί σε σχέση με το συμβατικό σύστημα ενεργού ιλύος στην απομάκρυνση φαρμακευτικών ουσιών όπως η KFN. Αυτό οφείλεται στην μειωμένη παραγωγή περίσσιας λάσπης, στην λειτουργία με υψηλές συγκεντρώσεις βιομάζας, υπερβολικά μικρή συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών στα επεξεργασμένα λύματα, μειωμένη ύπαρξη παθογόνων ουσιών και ιών και υπεροχή στην ποιότητα της εξόδου. Επιπλέον, η υψηλή

συγκέντρωση βιομάζας και οι παρατεταμένοι χρόνοι παραμονής της λάσπης (SRT) στις εγκαταστάσεις με MBR επηρεάζουν θετικά την συνολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται αργά και είναι υπεύθυνοι για την νιτροποίηση ή αποδόμηση συγκεκριμένων ρυπαντών. Η υπεροχή των MBR συστημάτων έναντι των συμβατικών συστημάτων ενεργού ιλύος φαίνεται από την μέση απομάκρυνση της KFN από MBR 72% αντί του 47% του συμβατικού συστήματος (Sipma et al., 2010).

Επίσης οι Kimura et al. (2005) σύγκριναν την απομάκρυνση της KFN μελετώντας παράλληλα ένα σύστημα MBR και μια εγκατάσταση επεξεργασίας ενεργού ιλύος. Στο συμβατικό σύστημα μετρήθηκε στην έξοδο συγκέντρωση της KFN 300 ng/l ενώ μετά το MBR μετρήθηκε 10ng/l. Οι Kimura et al. (2005) αναφέρουν επίσης ότι συστατικά με σύνθετη χημική σύσταση όπως η KFN, δεν μπορούν να εξαφανιστούν από ένα συμβατικό σύστημα αλλά με σύστημα MBR.

Η ουσία έχει ανιχνευθεί και στα επιφανειακά νερά σε συγκεντρώσεις της τάξης 3-5 μg/l (Ziylan and Ninse, 2011). Σύμφωνα με τους Tixtier et al. (2003), οι πιθανοί τρόποι απομάκρυνσης της KFN σε επιφανειακά νερά, είναι η φωτοδιάσπαση και η βιοδιάσπαση. Οι πιο πολλές μελέτες αποδόμησης της KFN στο υδατικό περιβάλλον βασίζονται στην φωτοδιάσπαση της ουσίας. Η αντίδραση –κλειδί στην φωτοδιάσπαση είναι η αποτελεσματική φωτο-αποκαρβοξυλίωση του αποπρωτονιομένου οξέος (Bosca et al., 1994). Η φωτοδιάσπαση είναι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης της ουσίας από τους ποταμούς (Viena et al., 2005; Nakada et al., 2008).

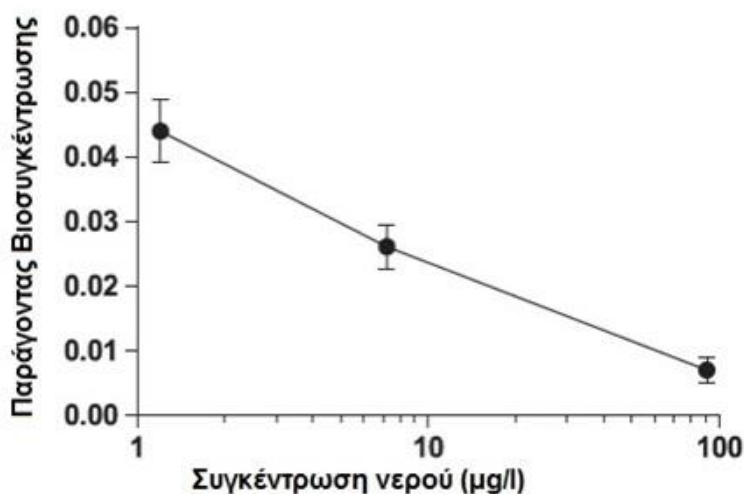
Η KFN, εκτός βέβαια από την παρουσία της ουσίας στο υδατικό περιβάλλον, μπορεί να εισαχθεί στο έδαφος μέσω χρήσης επεξεργασμένων λυμάτων για άρδρευση σε γεωργικά εδάφη. Σε μελέτη του Xu et al. (2007) μελετήθηκε η προσρόφηση και η υποβάθμιση της KFN σε τέσσερα είδη εδάφων με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες. Οι εργαστηριακές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι η KFN δεν προσροφάται ισχυρά στα εδάφη, κάτι το οποίο μπορεί να οδηγήσει στην έκπλυση της ουσίας κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες κίνησης του νερού. Επίσης τα πειράματα έδειξαν ότι στα εδάφη με μεγαλύτερη ποσότητα οργανικών στερεών οφείλεται η μεγαλύτερη παραμονή της KFN λόγω της αυξημένης προσρόφησης σε αυτά τα εδάφη. Μοντέλα έκπλυσης της ουσίας δείχνουν ότι μεγαλύτερη πιθανότητα έκπλυσης της ουσίας παρουσιάζεται σε εδάφη όπου η χημικές ουσία είναι ασθενώς προσροφημένη.

Οι Cuklev et al. 2012, μέτρησαν την συγκέντρωση της KFN στο πλάσμα του αίματος της ιριδιζουσας πέστροφας αφού εκτέθηκαν για 14 ημέρες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις KFN σε δείγματα νερού. Οι μέσες συγκεντρώσεις της KFN στο νερό ήταν  $1.2 \pm 0.21$ ,  $7.2 \pm 2.59$ , και  $90.5 \pm 32.98$  μg/l. Οι τιμές της ουσίας στο πλάσμα του αίματος ήταν χαμηλές,  $0.05 \pm 0.02$ ,  $0.19 \pm 0.08$ ,  $0.62 \pm 0.49$  ng/l, και ήταν όλες κάτω από τα επίπεδα της δόσης θεραπείας. Παρατηρήθηκε μια σημαντική μείωση στο συντελεστή βιοσυσσωρευσης ο οποίος στο πλάσμα του αίματος καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση στο νερό, από 0.042 στο 0.07. (Σχήμα 2.8). Αξίζει να σημειωθεί ότι στην συγκεκριμένη μελέτη ο συντελεστής βιοσυγκέντρωσης αφορά την σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης της ουσίας στο πλάσμα του ψαριού με την συγκέντρωση της ουσίας στο νερό που εκτίθεται το ψάρι. Αυτή η συμπεριφορά μπορεί να εξηγηθεί λόγω της αυξημένης δραστηριότητας του συστήματος αποτοξίνωσης όταν εκτίθεται σε υψηλές συγκεντρώσεις εάν υπάρχει κορεσμός των θέσεων δέσμευσης για το χημική ουσία που βιοσυσσωρεύεται στον οργανισμό ή εάν η ενέργεια που απαιτείται για να δεσμευτεί δεν είναι αρκετή σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Παρόλα αυτά, η τελευταία εξήγηση είναι λιγότερο πιθανή καθώς έχουν βρεθεί υψηλότερες συγκεντρώσεις της KFN στο πλάσμα των ψαριών και πιο συγκεκριμένα στις πέστροφες (Fick., 2006).

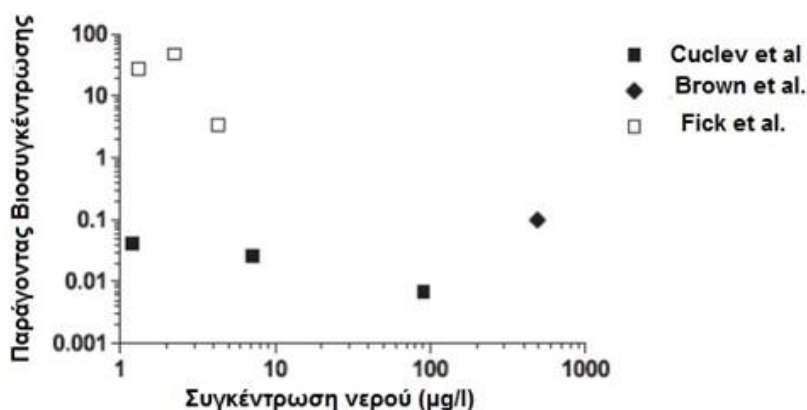
Οι τιμές του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης (BCF) που βρέθηκαν στην εργασία των Cuclev et al. (2012)  $<0.05$  (Σχήμα 2.8) είναι συγκρίσιμες με την τιμή στην μελέτη των Brown et al. (2006) όπου η ιριδίζουσα πέστροφα εκτίθεται σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις της μαζί με άλλες τέσσερις φαρμακευτικές ουσίες σε καθαρό νερό κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες. Οι Brown et al. (2006) σε πείραμα που πραγματοποίησαν για 15 ημέρες και για τιμές της σε λύματα 460 ng/ml, βρέθηκε συγκέντρωση στο πλάσμα 60 ng/ml ενώ η τιμή του παράγοντα βιοσυγκέντρωσης (BCF) ήταν 0.1.

Σε άλλες εργασίες όπου τα πειράματα έγιναν σε αδιάλυτα λύματα εξόδων εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων οι τιμές των BCF ήταν σημαντικά πιο υψηλές (BCF=3.5-4.8). Και αυτό γιατί τα άλλα συστατικά των επεξεργασμένων λυμάτων μπορεί να επηρεάσουν τον μεταβολισμό, την διανομή και την απορρόφηση των NSAID και έτσι και την τοξικότητά τους (Cuclev et al., 2012).

Στην σχήμα 2.9 παρουσιάζονται οι συντελεστές βιοσυσσώρευσης της KFN από τις μελέτες του Brown et al.(2006), Fick et al (2010) και Cuclev et al. (2012). Οι διακυμάνσεις οφείλονται σε διαφορετικές συνθήκες πειράματος όπως προαναφέρθηκε.



**Σχήμα 2.8:** Συντελεστής βιοσυσσώρευσης της KFN στο πλάσμα του αίματος της ιριδίζουσας πέστροφας που εκτίθεται σε υδατοδιαλυτή KFN για 14 ημέρες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (Cuclev et al., 2012)

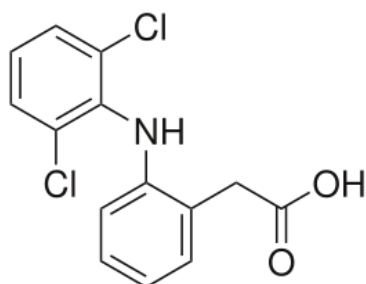


**Σχήμα 2.9:** Παράγοντες βιοσυγκέντρωσης (BCF) από διάφορες μελέτες (Cuclev et al., 2012)

## 2.4 Δικλοφενάκη (DCF)

### 2.4.1 Παραγωγή και Χρήσεις

Η κατά IUPAC 2-(2-(2,6-διχλωρο φαινυλο αμινο) φαινυλ) ακετικό οξύ, DCF, (Σχήμα 2.10), είναι ένα μη στερεοειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (NSAID) και χρησιμοποιείται για την μείωση των φλεγμονών και για την ανακούφιση από πόνους, καθώς και ως αναλγητικό σε καταστάσεις όπως αρθριτικά και οξείς πόνους. Χρησιμοποιείται επίσης σε περιπτώσεις δυσμηνόρροιας. Στον πίνακα 1.4.2 φαίνεται η ετήσια κατανάλωση σε κάποιες Ευρωπαϊκές χώρες καθώς και στην Αυστραλία. Μετά από στοματική χορήγηση, η DCF αποβάλλεται σε σύντομο χρονικό διάστημα (χρόνος αποβολής περίπου 2 ώρες, Wishart et al. 2006). Περίπου το 65% της δόσης απεκκρίνεται μέσω ούρων στα οποία έχουν ταυτοποιηθεί έξι μεταβολίτες της ουσίας. Η DCF είναι διαθέσιμη σε πολλές μορφές, π.χ. για δερματικές εφαρμογές, για σταγόνες ματιών και για ενέσεις. Ωστόσο, η στοματική εφαρμογή είναι η κύρια μορφή χορήγησης και αντιπροσωπεύει το 70% της παγκόσμιας πώλησης της DCF για το 2007 (IMS Health). Η DCF χρησιμοποιείται ευρέως αν και σχετίζεται με μικρή, αλλά σημαντική, εμφάνιση ηπατοτοξικότητας καθώς και τοξικότητα του μυελού των οστών στους ανθρώπους (Sufan et al, 2012). Στον Πίνακα 2.14 παρουσιάζονται κάποιες φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας.



Σχήμα 2.10: Δομή της DCF

Πίνακας 2.14: Φυσικές και χημικές ιδιότητες της DCF (Zhang et al., 2008)

DCF	
Μοριακός Τύπος	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>
Διαλυτότητα στο νερό(mg/l)	23.73 (25 <sup>0</sup> C)
Τάση ατμών	8.17 10 <sup>-6</sup>
Σταθερά νόμου Henry (Pa m <sup>3</sup> mol)	4.79 10 <sup>-7</sup> (25 <sup>0</sup> C)
pka	4.15 (20 <sup>0</sup> C)
Μοριακό βάρος(g/mol)	296.16
log Kow	4.51

**Πίνακας 2.15:** Ετήσια κατανάλωση DCF σε χώρες της Ευρώπης και της Αυστραλίας

Περιοχή	Ετήσια Κατανάλωση (τόνοι)	Πληθυσμός (10 <sup>6</sup> )	Δόση κεφαλήν (mg) κατά	Αναφορές
Αυστραλία	4	19	211	Khan and Ongert (2004)
Αυστρία	6 (το 1997)	8	750	Strenn et al.(2004)
Γαλλία	16	59	271	Ferarri et al. (2003)
Γερμανία	82 (το 1999)	82	915	BLAC (2003)
Αγγλία	26( το 2000)	49	531	Jones et al. (2002)

#### 2.4.2 Τοξικότητα

Η DCF όταν έρθει σε επαφή με το περιβάλλον χάνει την ανθεκτικότητά της και μειώνεται σχετικά γρήγορα στα ποτάμια (Bendz et al., 2005) και στις λίμνες (Buser et al., 1998). Όμως επειδή υπάρχει συνεχής φόρτωση της ουσίας στο υδατικό περιβάλλον, μιας και η DCF είναι ευρείας χρήσεως ουσίας, η παρουσία της είναι σχεδόν μόνιμη στο περιβάλλον. Οι Buser et al. (1998) βρήκαν συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 1 μέχρι 7 ng/l σε αρκετές Ελβετικές λίμνες ενώ οι Heberer et al. (2004) βρήκαν συγκεντρώσεις πάνω από 25 ng/l σε δύο γερμανικές λίμνες καθώς και συγκεντρώσεις 5 και 35ng/l σε πηγάδια πόσιμου νερού.

Οι συγκεντρώσεις αυτές αν και δείχνουν χαμηλές, δεν είναι. Και αυτό επειδή οι φαρμακευτικές ουσίες είναι βιολογικά ενεργές και δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο ότι ακόμα και αυτά τα επίπεδα συγκέντρωσης μπορούν να επηρεάσουν τους υδρόβιους οργανισμούς.

Σύμφωνα με το Hernando et al. (2006), με βάση τις τιμές του EC<sub>50</sub> που δημοσιεύονται στη βιβλιογραφία, τα αντι-φλεγμονώδη φάρμακα, όπως η DCF, θεωρούνται αρκετά τοξικά στα βακτήρια (EC<sub>50</sub><1mg/l), όπως επίσης και στα ασπόνδυλα και τα άλγη (EC<sub>50</sub>=1-10 mg/l) (Hernando et al., 2006). Παρόλα αυτά, για την συγκεκριμένη ουσία, υπάρχουν μεγάλες διαφοροποιήσεις μεταξύ των τιμών EC<sub>50</sub> για είδη που ανήκουν ακόμα και στην ίδια ομάδα ταξινόμησης (π.χ οι EC<sub>50</sub> τιμές κυμαίνονται από 2 μέχρι 224 mg/l στα ασπόνδυλα) (Hernando et al., 2006). Η DCF έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με μείωση του πληθυσμού στους πακιστανικούς γύπες (white collars) και σε δύο άλλα είδη. Αυτές οι συνέπειες συνδέονται με την έκθεση των γυπών σε πτώματα ζώων που περιέχουν υπολείμματα DCF (Oaks et al., 2004). Επίσης, η DCF μπορεί να δημιουργήσει μεταλλάξεις στις ιριδιζουσες πέστροφες στα νεφρά και στο συκώτι μετά από παρατεταμένη έκθεση, καθώς και πιθανή συσσώρευση της DCF σε συγκεκριμένα όργανα (μυς, συκώτι, νεφρά) (Schwaiger et al., 2004, Triebkorn et al., 2004). Σύμφωνα με τον Carlsson et al.(2006) η DCF θεωρείται επικίνδυνη ουσία στο περιβάλλον.

Πρώτες ενδείξεις δυσμενών αποτελεσμάτων από υπολείμματα της DCF στα ψάρια, συμπεριλαμβανομένου παθογενών μεταλλάξεων στα βράγχια και στα νεφρά της ιριδιζουσας πέστροφας, διαπιστώθηκαν από τον Schwaiger et al (2004), μετά από έκθεση 28 ημερών σε συγκεντρώσεις ουσίας παρόμοιες με αυτές που συναντάται η ουσία στο περιβάλλον. Κάποιες μελέτες

που διεξήχθησαν προκειμένου να εξετάσουν την επιρροή της DCF σε υδρόβιους οργανισμούς, παρατήρησαν δυσμενείς επιδράσεις της DCF στον κυπρίνο. Οι Saravanan et al.(2011) συμπέραναν ότι οι διάφορες συγκεντρώσεις (1,10 και 100 mg/l) της DCF έχουν μεγάλη επίδραση στο αιματολογικό, βιοχημικό και ενζυμολογικό προφίλ των *Cyprinus carpio* (ψάρια γλυκού νερού).

Οι Hoeger et al.(2005) παρατήρησαν μείωση στα επίπεδα αιματοκρίτη στην καφέ πέστροφα μετά από έκθεση στη DCF για 7 μέρες. Η εύρεση αυτή, ότι η DCF μπορεί να οδηγήσει σε μείωση στον αριθμό των ερυθροκυττάρων στο περιφερειακό αίμα, είναι σε συμφωνία με παρατηρήσεις που έχουν γίνει σε ασθενείς που ακολουθούν θεραπεία με DCF καθώς και σε αρουραίους (Elliott et al, 1995; Sanchez et al., 2002).

Οι Hoeger et al.(2005) επίσης έδειξαν ότι η DCF ακολουθεί τους ίδιους μηχανισμούς στα ψάρια όπως και στα θηλαστικά και έτσι προκαλεί τις ίδιες αντιδράσεις.

Ο μηχανισμός δράσης της DCF στα διάφορα είδη θηλαστικών βασίζεται στην αναστολή των κυκλοοξυγονασών (COX) και στην επακόλουθη αναστολή της σύνθεσης της προσταγλανδίνης (Hoeger et al., 2005). Παρόλα αυτά οι προσταγλανδίνες δεν παίζουν ρόλο μόνο στην μεσολάβηση του πόνου αλλά εμπλέκονται και στη ρύθμιση της κυκλοφορίας του αίματος, στην διαπερατότητα των αγγείων και ιδιαίτερα στην λειτουργία των νεφρών, συμπεριλαμβανομένου και στην κατακράτηση ιόντων (Sali, 2005). Κάποιες από τις ανεπιθύμητες παρενέργειες, όπως η νεφροπάθεια μετά από θεραπεία με την DCF, πιστεύεται ότι συνδέονται άμεσα με την αναστολή της σύνθεσης της προσταγλανδίνης (Sanchez et al.,2002). Άλλα συμπτώματα, όπως οι οξειδωτικές βλάβες έχουν δείξει ότι είναι αιτίες για δυσμενή συμπτώματα όπως π.χ έλκος του γαστρεντερικού σωλήνα, νεφροπάθειες και ιδιοσυγκρασιακή ηπατοτοξικότητα (Hargus et al., 1995). Επίσης στους ανθρώπους η αναστολή της σύνθεσης της προσταγλανδίνης καταλήγει στην εμφάνιση υπονατριάμιας και υπερκαλιαιμίας. Οι Hickey et al. (2001) υπέθεσαν ότι οι οξειδωτικές βλάβες, η μετέπειτα νέκρωση και ο αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος παίζουν επίσης ένα σημαντικό ρόλο στην προκαλούμενη από DCF νεφροτοξικότητα.

Επίσης, παρά τις χαμηλές συγκεντρώσεις που βρέθηκαν στα επιφανειακά ύδατα, η χρόνια έκθεση σε υπολείμματα DCF θεωρείται ως δυνητικά επιβλαβείς για τους πληθυσμούς των ψαριών.

### **2.4.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση**

Καθώς η DCF εισέρχεται στο υδατικό περιβάλλον, συμβαίνουν αντιδράσεις, μετασχηματισμοί καθώς και μετατοπίσεις που έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης της ουσίας στο νερό. Η βιοαποικοδόμηση, η βιοσυσσώρευση, η βιομεγέθυνση, η χημική υποβάθμιση, η φωτοαποικοδόμηση, η προσρόφηση σε σωματίδια καθώς και η καθίζηση, η διήθηση σε ιζήματα και ρόφηση, καθίζηση ή εξάτμιση είναι μερικές πιθανές διεργασίες που μπορούν να συμβούν. Σύμφωνα με τον Stamm et al. (2008) στην περίπτωση πολικών φαρμάκων με συντελεστή διαχωρισμού νερού-οκτανόλη  $\log K_{ow}$  κάτω από 4.5, η βιοσυσσώρευση δεν θεωρείται μέγιστης σημασίας. Καθώς η DCF ανήκει σε αυτήν την κατηγορία, η βιοσυσσώρευση και άρα η βιομεγέθυνση θεωρούνται μικρότερης σημασίας. Η DCF είναι ένα οξύ και βρίσκεται στο υδρόβιο περιβάλλον ως ανιόν, κάτι που εξηγεί την υψηλή διαλυτότητα και την πολύ χαμηλή πτητικότητα. Ο συντελεστής Henry είναι κάτω από  $1 \cdot 10^5$ , κάτι το οποίο υποδεικνύει ότι η εξαέρωση είναι μικρής σημασίας. Καθώς οι φαρμακευτικές ουσίες είναι σχεδιασμένες για λήψη από το στόμα, δεν είναι ευαίσθητες σε χημικές

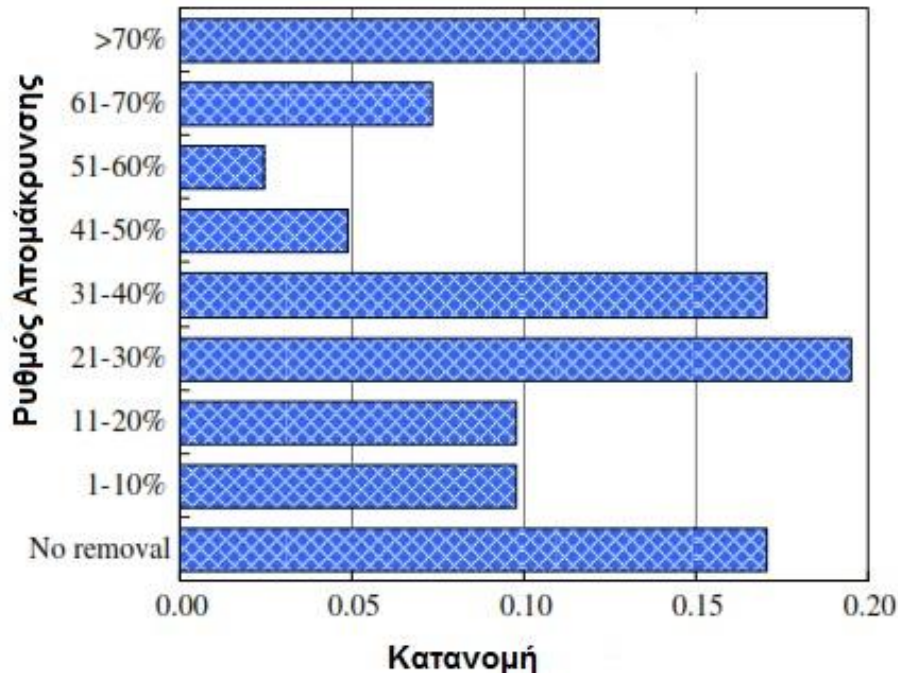
αντιδράσεις όπως η υδρόλυση (Androezzi et al. 2003). Έτσι οι χημικές αντιδράσεις στο υδατικό περιβάλλον αναμένονται να είναι ελάχιστες (Buser et al., 1998). Σύμφωνα με τους Buser et al. (1998), οι οποίοι μελέτησαν την ουσία στη λίμνη Greinfensee στην Ελβετία, δεν ανίχνευσαν DCF στα ιζήματα λιμνών (όριο ανίχνευσης 10 ng/l) όπως επίσης και υπολογισμοί που έκαναν έδειξαν ότι η καθίζηση είναι ασήμαντη για την εξάλειψη της DCF. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η φωτοδιάσπαση είναι η κύρια διαδικασία αποικοδόμησης της DCF για την λίμνη.

Σύμφωνα με τους Bendz et al. (2005) οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων παίζουν σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση ή μετασχηματισμό των φαρμακευτικών ουσιών. Για την DCF, η αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης ποικίλει από εγκατάσταση σε εγκατάσταση σε διάφορες μελέτες. Οι Tauхе-Wuersch et al. (2005) δεν μπόρεσαν να δείξουν καμιά απομάκρυνση της DCF σε τρεις σουηδικές εγκαταστάσεις. Άλλες έρευνες στην Γερμανία έδειξαν ποσοστά απομάκρυνσης που έφταναν από 17% (Heberer et al., 2002) μέχρι και πάνω από 75% (Stumpf et al., 1999, Ternes, 1998). Η συγκέντρωση της DCF στην έξοδο μιας εγκατάστασης κυμαίνεται από 273 μέχρι 2134 ng/l με μέση συγκέντρωση 1276 ng/l (Ferarri et al., 2003) ενώ η μέση συγκέντρωση στα επιφανειακά νερά 225 ng/l (Daughton et al., 1999).

Οι Buser et al (1998) βρήκαν σε τρεις εγκαταστάσεις στην Ελβετία συγκεντρώσεις μεταξύ 0.31 και 0.93 μg/l. Επίσης σε έρευνα από τους Androezzi et al. (2003) βρέθηκαν συγκεντρώσεις 0.25 και 5.45 μg/l σε εξόδους εγκαταστάσεων στην Γαλλία, Ιταλία και Ελλάδα.

Στο Σχήμα 2.11 φαίνεται η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης της DCF διαφόρων εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων. Παρατηρείται ότι η ικανότητα απομάκρυνσης της ουσίας κυμαίνεται από 0-80% αλλά κυρίως στην περιοχή του 21-40%. Ο συντελεστής κατανομής λάσπης-νερού είναι 16  $Lkg^{-1}_{ss}$  και απέχει αρκετά από την τιμή των 500  $Lkg^{-1}_{ss}$  που απαιτείται για μια ικανή προσρόφηση στη λάσπη (Joss et al., 2006). Οι Quintana et al. (2005) οι οποίοι ερεύνησαν την βιοδιάσπαση της DCF στην ενεργό ιλύ δεν βρήκαν κανένα μετασχηματισμό της DCF για πάνω από 28 μέρες, ούτε όταν η DCF ήταν η μόνη πηγή άνθρακα (20mg/l), ούτε και όταν είχε διασπαρθεί σε σκόνη γάλακτος (2mg/l ανα 50 mg/L). Η πολύ μικρή βιοδιασπασιμότητα της DCF επιβεβαιώθηκε πρόσφατα από τον Kimura et al. (2007) σε batch πειράματα απομάκρυνσης χρησιμοποιώντας λάσπη από Ε.Ε.Λ και MBR.





**Σχήμα 2.11** : Διακύμανση αποτελεσματικότητας απομάκρυνσης της DCF σε WWTPs(Zhang et al., 2008)

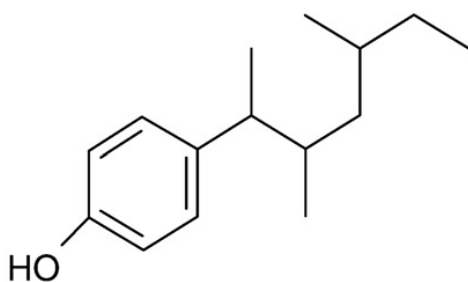
Οι Zwiener and Frimmel (2003) πραγματοποίησαν ένα μικρής διάρκειας πείραμα αποικοδόμησης για την DCF. Σε μια πιλοτική εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων, με αρχική συγκέντρωση 10  $\mu\text{g/l}$  η DCF δεν διασπάστηκε σχεδόν καθόλου μετά από 55 ώρες επεξεργασίας (96-99% της αρχικής συγκέντρωσης). Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν σε έναν αντιδραστήρα με οξικό βιοφίλμ μετά από 48 ώρες επεξεργασίας. Παρόλα αυτά η DCF διασπάστηκε καλύτερα σε έναν ανοξικό αντιδραστήρα με biofilm (62% της αρχικής του συγκέντρωσης). Έτσι, ο λόγος ανοξικών-οξικών μπορεί να επηρεάσει την απομάκρυνση της DCF και δικαιολογεί εν μέρει την μεγάλη διακύμανση της απομάκρυνσης ουσίας. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρεάζει την απομάκρυνση της ουσίας είναι οι όξινες συνθήκες. Οι Urase και Kikuta (2005) πραγματοποίησαν μια σειρά από πειράματα για να αξιολογήσουν την προσρόφηση και την αποικοδόμηση διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένου και της DCF σε διεργασίες ενεργού ιλύος. Βρήκαν ότι οι όξινες συνθήκες λειτουργίας (pH 4.4) ήταν πολύ πιο ευνοϊκές για την απομάκρυνση όξινων φαρμακευτικών ουσιών όπως η DCF.

## 2.5 Εννεύλοφαινόλη (NP)

### 2.5.1 Παραγωγή και Χρήσεις

Οι αλκυλοφαινόλες είναι μια οικογένεια χημικών η οποία σχηματίζεται όταν μια άλλη ομάδα χημικών, οι αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες, σταδιακά βιοαποδομούνται. Η πιο σημαντική αλκυλοφαινόλη είναι η εννεύλοφαινόλη (NP). Περίπου το 80% των αλκυλοφαινολών στο εμπόριο είναι εννεύλοφαινόλες. Οι αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες είναι χημικές ουσίες μαζικής παραγωγής, ωστόσο η χρήση τους τελευταία προκαλεί ανησυχίες λόγω του εντοπισμού τους στο περιβάλλον σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.

Η NP είναι μια ξενοβιοτική ένωση που αποτελείται από ένα φαινολικό δακτύλιο και μια αλυσίδα με εννέα άτομα ανθράκων στην παρά θέση (Σχήμα 2.12). Κάτω από συνθήκες περιβάλλοντος, είναι ένα παχύρευστο υγρό με ένα ελαφρύ απαλό χρώμα, μη αναμείξιμο με το νερό και παράγεται βιομηχανικά από την αλκυλίωση της φαινόλης με νονένιο (C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>) υπό συνθήκες όξινης κατάλυσης. Το τελικό μείγμα αποτελείται από περισσότερα από 22 ισομερή 4-υποκατεστημένων μονοαλκυφαινολών (Thiele et al., 2004; Wheeler et al., 1997).



**Σχήμα 2.12:** Δομή της NP

Η NP χρησιμοποιείται στην παρασκευή αντιοξειδωτικών, ως πρόσθετο σε λιπαντικά έλαια και στην παραγωγή αιθοξυλιωμένων εννευλοφαινολών, που είναι και η κύρια χρήση της (65%) (USEPA, 1990). Οι αιθοξυλιωμένες εννευλοφαινόλες είναι υψηλού κόστους με εξαιρετική απόδοση ως επιφανειοδραστικά, ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται ευρέως σε εφαρμογές στην βιομηχανία, στο εμπόριο και στα οικιακές εφαρμογές όπως τα απορρυπαντικά, γαλακτωματοποιητές, σε μέσα διασποράς, σε απογαλακτωματοποιητές και σε διαλυτοποιητές. Εξαιτίας της ευρείας χρήσης των αιθοξυλιωμένων εννευλοφαινολών, φτάνουν σε σημαντικές ποσότητες στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, όπου αποδομούνται σε NP. Έτσι, η κύρια πηγή της NP στο περιβάλλον είναι η απόρριψη των επεξεργασμένων λυμάτων από τις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων.

Η τύχη της NP σε διάφορα περιβαλλοντικά συστήματα (επιφανειακά νερά, ιζήματα, υπόγεια ύδατα, έδαφος και αέρα) εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες οι οποίες επηρεάζουν την αποδόμηση της ουσίας. Η NP είναι ένα υδροφοβικό συστατικό με  $\log K_{ow}$  4.48 και χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, για αυτό προσροφάται εύκολα στο οργανικό υλικό (John et al., 2000; Langford and Lester, 2002). Επίσης εμφανίζει χαμηλή κινητικότητα, περιορίζοντας έτσι την διάδοση της στην υδατική φάση του εδάφους και των ιζημάτων. Η τάση ατμών και σταθερά του νόμου του Henry της NP είναι  $2.07 \times 10^{-2}$  Pa και  $8.39 \times 10^{-1}$  Pa m<sup>3</sup>/mol αντίστοιχα, υποδεικνύοντας ότι είναι μια ημι-πτητική οργανική ένωση που μπορεί να ανταλλάσσεται ανάμεσα στο υγρό και στον αέρα (Ney, 1990). Κάποιες από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της NP παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.16.

**Πίνακας 2.16:** Φυσικοχημικές Ιδιότητες της NP

NP	
Μοριακός Τύπος	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
Διαλυτότητα στο νερό(mg/l)	4.9
pka	10.28
Μοριακό βάρος(g/mol)	220.34
log Kow	4.48
Τάση ατμών 25 <sup>0</sup> C (Pa)	2.07 10 <sup>-2</sup>

### 2.5.2 Τοξικότητα

Οι αιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες και τα προϊόντα αποδόμησης (π.χ NP) δεν παράγονται με φυσικό τρόπο. Η παρουσία τους στο περιβάλλον είναι αποτέλεσμα αποκλειστικά και μόνο ανθρωπογενούς δραστηριότητας. Εισέρχονται στο περιβάλλον κυρίως μέσω των απορρίψεων βιομηχανικών και αστικών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων (υγρό και λάσπη) αλλά και μέσω απευθείας απόρριψης χωρίς επεξεργασία π.χ μέσω φυτοφαρμάκων (Ying et al., 2002). Η απευθείας απόρριψη των συστατικών που είναι παράγωγα της NP από τον βιομηχανικό τομέα υπολογίστηκε να είναι το 0.5% (96 τόνοι) της παραγωγής του Καναδά το 1996 (Servos et al., 2003). Οι αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες περιέχουν μια αιθοξυλιωμένη αλυσίδα με μήκος που ακολουθεί την κατανομή του Poisson (Hager, 1998), και ανθεκτικότητα που αυξάνει με την μείωση των αιθοξυλιωμένων ομάδων (Shao et al., 2003; Soares, 2005) Μελέτες έχουν δείξει ότι οι μεταβολίτες των APE (αιθοξυλιωμένων αλκυλοφαινολών) είναι πιο τοξικές από ότι οι αρχικές ουσίες (Ying et al., 2002)

Η πρώτη απόδειξη ότι οι αλκυλοφαινόλες θα μπορούσαν να έχουν οιστρογονική δράση δημοσιεύτηκε το 1938 από τους Dodds and Lawson (1938) αλλά οι Soto και οι συνεργάτες του (Soto et al., 1991) ήταν αυτοί που παρατήρησαν τυχαία ότι η NP, που χρησιμοποιούσαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες των πειραμάτων τους, είχε την ικανότητα να ξεκινήσει των πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού, μιμούμενη ακριβώς δηλαδή την δράση των οιστρογόνων. Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες μπορούν να επηρεάσουν το ορμονικό σύστημα καθώς μιμούνται την δράση των φυσικών ορμονών. Έτσι είτε μπλοκάρουν την παραγωγή των ορμονών είτε αναστέλλουν ή τονώνουν τον ενδοκρινικό σύστημα. Καθώς έχει βρεθεί ότι η NP αποτελείται από μια σειρά ισομερών (Thiele et al., 2004), η πρόσφατη έρευνα έχει επικεντρωθεί στο να συνδυάσει την ενδοκρινική δραστηριότητα και την μοριακή δομή των ισομερών. Για την 4-NP, η παρά θέση της φαινολικής OH ομάδας και η διακλαδισμένη αλειφατική αλυσίδα φαίνεται ότι παίζει καθοριστικό ρόλο στην ενδοκρινική δραστηριότητα της, κάτι που σημαίνει ότι δεν παρουσιάζουν όλα τα ισομερή της NP οιστρογονική δραστηριότητα (Soares et al., 2008). Η NP έχει βρεθεί ότι μιμείται την φυσική ορμόνη 17β-οιστραδιόλη, ανταγωνίζοντας τη για τη θέση δέσμευσης στον υποδοχέα του οιστρογόνου λόγω της μεγάλης ομοιότητας τους στη δομή. (Lee and Lee, 1996).

Η 17β-οιστραδιόλη είναι μια φυσική ορμόνη που επηρεάζει την ανάπτυξη και διατήρηση των χαρακτηριστικών του θηλυκού φύλου καθώς και την ωρίμανση και την λειτουργία των σεξουαλικών

οργάνων. Έχει επίσης άμεση σχέση με το νευροενδοκρινικό και σκελετικό σύστημα και είναι ικανή για την προώθηση της καρκινογένεσης σε ιστούς-στόχους (Lee and Lee, 1996). Για αυτό το λόγο η NP αναμένεται να πρωτοστατεί σε μια ποικιλία αντιδράσεων στον οργανισμό. Πρόσφατα επίσης έχει αποδειχθεί ότι η NP έχει αντι-ανδρογόνα δραστηριότητα δηλαδή έχει την δυνατότητα να παρεμβαίνει στην σωστή λειτουργία των ανδρογόνων που είναι απαραίτητα για την φυσιολογική ανάπτυξη των αρσενικών και των αναπαραγωγικών τους συστημάτων. Έχει δείχθει ότι ο τρόπος που παρεμβαίνει δεν έχει να κάνει με άμεσο ανταγωνισμό με τον υποδοχέα του ανδρογόνου αλλά με μια πολυσταδιακή ενεργοποίηση του υποδοχέα ανδρογόνου (Lee et al., 2003).

Οι αντιδράσεις στο ενδοκρινικό σύστημα στην NP έχουν μελετηθεί σε διάφορους οργανισμούς (Laws et al., 2000; White et al., 1994). Για παράδειγμα, η NP ήταν ικανή σε πείραμα να προκαλέσει την παραγωγή θηλυκών πρωτεϊνών στις ιριδίζουσες πέστροφες (*Oncorhynchus mykiss*) σε συγκέντρωση 20.3 mg/l (Jobbling et al., 1996), στα ψάρια Medaka (*Oryzias latipes*) που εκτίθενται σε 0.1mg/l NP (Tabata et al., 2001), καθώς επηρεάστηκε αρνητικά επίσης η μορφολογία των όρχεων και η ανδρική γονιμότητα στο platyfish (*Xiphophorus maculatus*) σε συγκεντρώσεις NP >0.96mg/l μετά από 4 βδομάδες έκθεσης (Kinnberg et al., 2000). Παρόλα αυτά ο Watanabe και οι συνεργάτες του αποκάλυψαν ότι παραμένει ασαφές εάν όλες οι επιδράσεις της NP στους οργανισμούς οφείλονται στην δραστηριότητας της να καταλαμβάνει την θέση του υποδοχέα του οιστρογόνου και μόνο (Watanabe et al., 2004). Παρατήρησαν ότι χαμηλές δόσεις της NP της τάξης 0.5-4 mg/kg είχαν μικρή επίδραση στα κύτταρα της μήτρας του ποντικίου και ότι τα ίδια γονίδια ενεργοποιούνται από την 17β-οιστραδιόλη και την NP. Ωστόσο όταν η NP ήρθε σε άμεση επαφή με το ήπαρ, ενεργοποιήθηκε ένα άλλο σετ γονιδίων που ήταν διαφορετικό από τα γονίδια που ανταποκρίνονται στα οιστρογόνα. Αυτό υποδεικνύει ότι οι επιδράσεις συγκεκριμένων ιστών πρέπει να εξεταστούν έτσι ώστε να ξεκαθαριστούν τα διαφορετικά αποτελέσματα των εννεύφαινολικών συστατικών (Watanabe et al., 2004).

Η NP έχει αποδειχθεί ότι είναι ικανή να παρεμβαίνει με ρυθμιστικά συστήματα σε διάφορους τύπους κυττάρων με πολλούς μηχανισμούς που περιλαμβάνουν:

- (α) Την ικανότητα να προκαλεί αναπνευστική τοξικότητα στα κύτταρα, πιθανών αλλάζοντας την διαπερατότητα της μεμβράνης των μιτοχονδρίων, EC50 1.8mg/l.
- (β) Επηρεάζοντας αρνητικά την ενεργό μεταφορά του ασβεστίου προς το σαρκοπλασματικό δίκτυο στην κατάσταση ηρεμίας των σκελετικών μυών, IC50 880-2420mg/l.
- (γ) Αναστέλλοντας την ανάπτυξη και την διαφοροποίηση των βλαστικών νευρικών κυττάρων του ποντικίου προκαλώντας την απόπτωση σε αντίθεση με άλλους διαταράκτες, αποτελεσματική συγκέντρωση > 660mg/l (Kudo et al., 2004).
- (δ) Αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του μαστικού αδένος κατά την έκθεση σε συγκεντρώσεις των 0.01mg/ημέρα (Colerangle και Roy, 1996).
- (ε) Τροποποιεί την κινητική του κυτταρικού κύκλου (Colerage and Roy, 1996)
- (ζ) Προκαλεί χρωμοσωματικές ανωμαλίες (Roy et al., 1998)

Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί υποδεικνύουν την ικανότητα της NP να επιδρά διαφορετικά στα κύτταρα και στα όργανα, με διαφορετικούς τρόπους δράσης σε συγκεντρώσεις χαμηλές όπως 0.01mg/ημέρα (Colerangle and Roy, 1996) υποδεικνύοντας ότι οι επιδράσεις της NP είναι πολύ διαφορετικές και απρόβλεπτες ως συνέπεια της ικανότητας της ουσίας να προκαλεί πολλές αντιδράσεις.

**Πίνακας 2.17:** Τιμές τοξικότητας για την NP (Soares et al., 2008)

Οργανισμός	Στάδιο ανάπτυξης οργανισμού	Εύρος συγκεντρώσεων τοξικότητας
Daphnia Magna	Ενήλικα	(EC50) 0.3mg/l
		(NOEC) 0.024mg/l
Άλγη	Ενήλικα	(EC50) 25-750 μg/l
Ασπόνδυλα	Ενήλικα	(LC50) 20-1590 μg/l
Ψάρια	Ενήλικα	(LC50) 130-1400 μg/l
Ζώα της θάλασσας	Ενήλικα	(EC50) 17-195 μg/l
Pseudokirchneriella subcapitata	Ενήλικα	(EC50) 0.5-0.53 mg/l
Littporal ζωοπλαγκτον	Ενήλικα	(NOEC) 0.001 mg/l
Fundulus heteroclitus		
	Έμβρυα	(EC50) 5.4 mg/l
	Νεαρές προνύμφες	(EC50) 0.21 mg/l
	2 εβδομάδων προνυμφες	(EC50) 0.21 mg/l
	4 εβδομάδων προνυμφες	(EC50) 0.26 mg/l

EC50: Αποτελεσματική συγκέντρωση της ουσίας που έχει επίδραση στο 50% του πληθυσμού.

LC50: Θανατηφόρα συγκέντρωση που προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης κατά 50%.

NOEC: Συγκέντρωση που δεν παρατηρείται καμιά επίδραση.

Το υδατικό οικοσύστημα έχει μελετηθεί εκτενώς. Οι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται για πειράματα τοξικότητας είναι τα άλγη, τα ασπόνδυλα και τα ψάρια. Κάποιες από τις τιμές τοξικότητας φαίνονται στον Πίνακα 2.17. Φαίνεται και στον πίνακα ξεκάθαρα ότι η επίδραση της NP διαφέρει από πείραμα σε πείραμα λόγω παραγόντων όπως το στάδιο ανάπτυξης του μικροοργανισμού,

χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος και ο σχεδιασμός της έρευνας. Όλες οι έρευνες δεν εκτελούνται με βάση τη αρνητική επίδραση που έχει η έκθεση στην NP. Για παράδειγμα για συγκεντρώσεις NP μεταξύ 0-350μg/l δεν παρατηρούνται τοξικές επιδράσεις στο *Caenorhabditis elegans* (νηματοειδείς που ζουν στα ιζήματα) αλλά αντιθέτως η έκθεση τους στην ουσία βελτιώνει την ανάπτυξη και αναπαραγωγή τους. Αυτή η διεγερτική επίδραση θεωρείται ότι είναι συνέπεια της όρμησης, που ορίζεται ως η διέγερση στους οργανισμούς από τοξικές ουσίες σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Hoss et al., 2002). Παρόλα αυτά δεν μπορούν να προσδιοριστούν όλες οι επιδράσεις της NP σε έναν κύκλο ζωής ή σε λίγες ώρες έκθεσης (Ishibashi et al., 2006). Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε δύο γενιές ψαριών *O.latipes*, παρατηρήθηκε ότι η NP επηρέασε την πρώτη γενιά μειώνοντας την επιβίωση των εμβρύων και την ανάπτυξη των χαρακτηριστικών του φίλου. Η μικρότερη συγκέντρωση που παρατηρήθηκε επίδραση (LOEC, lowest-observed-effect-concentration) και η συγκέντρωση που δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση (NOEC, No Observed Effect Concentration) ήταν 17.7 και 8.2 μg/l αντίστοιχα (Yokota et al., 2001). Όταν οι απόγονοι της πρώτης γενιάς εκτέθηκαν στις ίδιες συγκεντρώσεις της NP, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των εμβρύων και στην ανάπτυξη τους, αλλά η ανάπτυξη των δευτερευόντων σεξουαλικών χαρακτηριστικών που εκτέθηκαν σε 8.2 μg/l NP δεν ήταν φυσιολογική, υποδηλώνοντας ότι οι τοξικές επιδράσεις της NP μπορούν να ενισχυθούν από την συνεχή έκθεση. Μια άλλη μελέτη πάνω στη *Daphnia magna* με σκοπό να αξιολογηθεί η εμβρυοτοξικότητα της NP που προκύπτει από την έκθεση των κυοφορούσων θηλυκών και όχι από την απευθείας έκθεση των εμβρύων, προκύπτει ότι η NP παρεμβαίνει στην μητρική παροχή συστατικών ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη των εμβρύων (Le Blanc et al., 2000). Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί των κυττάρων και των οργάνων είναι εξαιρετικά πολύπλοκες και διαφέρουν ανάλογα με το στάδιο του κύκλου ζωής των οργανισμών και η πολυπλοκότητα τους αυξάνεται με την εξέλιξη.

Σε άλλες έρευνες που έχουν γίνει έχει βρεθεί ότι η NP διεγείρει την σύνθεση της θηλυκής πρωτεΐνης του κρόκου του αυγού, της βιτελογενίνης, στο ήπαρ των αρσενικών ψαριών, συμπεριλαμβανομένου και της ιριδιζουσας πέστροφας (Jobling et al., 1996) και των κυπρίνων (Gimeno et al., 1998) Επιπλέον η NP έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την σπερματογένεση στις ενήλικες ιριδιζουσες πέστροφες (Jobling et al., 1996), επάγει την αντιστροφή του φύλου στην Ιαπωνική medaka (Gray and Metcalfe, 1997), προκαλεί πολλαπλασιασμό του ανθρώπινου καρκίνου του μαστού (Blom et al., 1998; Legler et al., 1999) και προκαλεί καρκίνο των ωοθηκών και όρχεων στα ποντίκια (Skakkebaek et al., 1998). Οι Bukhardt-Holm et al. (2000) παρατήρησαν τις τοξικές επιδράσεις της NP σε έκθεση στην ουσία 10mg/l. Διαπίστωσε ότι προκαλούνται βλάβες στο μοτίβο κοκκοποίησης των επιδερμικών βλενογόννων κυττάρων στις ιριδιζουσες πέστροφες.

Παρόλα αυτά η τοξικότητα της NP είναι ένα πολυπαραγοντικό θέμα προς διερεύνηση που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση της NP που προτείνεται ότι είναι ασφαλής και αποτρέπει κάθε τοξική επίδραση στους υδρόβιους οργανισμούς βρέθηκε 10 μg/l (Thomas et al., 2001). Ο οδηγός της EPA για την ποιότητα των υδάτων ορίζει ότι η συγκέντρωση της NP πρέπει να είναι κάτω από 6μg/l και 1.7 μg/l στο γλυκό και στο θαλασσινό νερό αντίστοιχα (Brooke and Thursby, 2005)

### 2.5.3 Βιαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση

Στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων, η αποδόμηση των αλκυλοφαινολών εξαρτάται από μια ποικιλία παραγόντων όπως, η λειτουργία της εγκατάστασης κάτω από συνθήκες υψηλού ή χαμηλού οξυγόνου δηλαδή αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες. Η αποδόμηση των αλκυλοφαινολών είναι πιο αργή κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Γενικά τα επεξεργασμένα λύματα περιέχουν μικρές ποσότητες αλκυλοφαινολών (Πίνακας 2.18) καθώς δεν είναι υδατοδιαλυτές και έχουν την τάση να προσροφούνται στην ιλύ των εγκαταστάσεων επεξεργασίας. Οι αλκυλοφαινόλες καταστρέφονται εάν η ιλύ αποτεφρωθεί αλλά δεν καταστρέφονται εάν η ιλύς θαφτεί.

**Πίνακας 2.18:** Απομάκρυνση της NP σε Αστικές Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (Melcer et al., 2006)

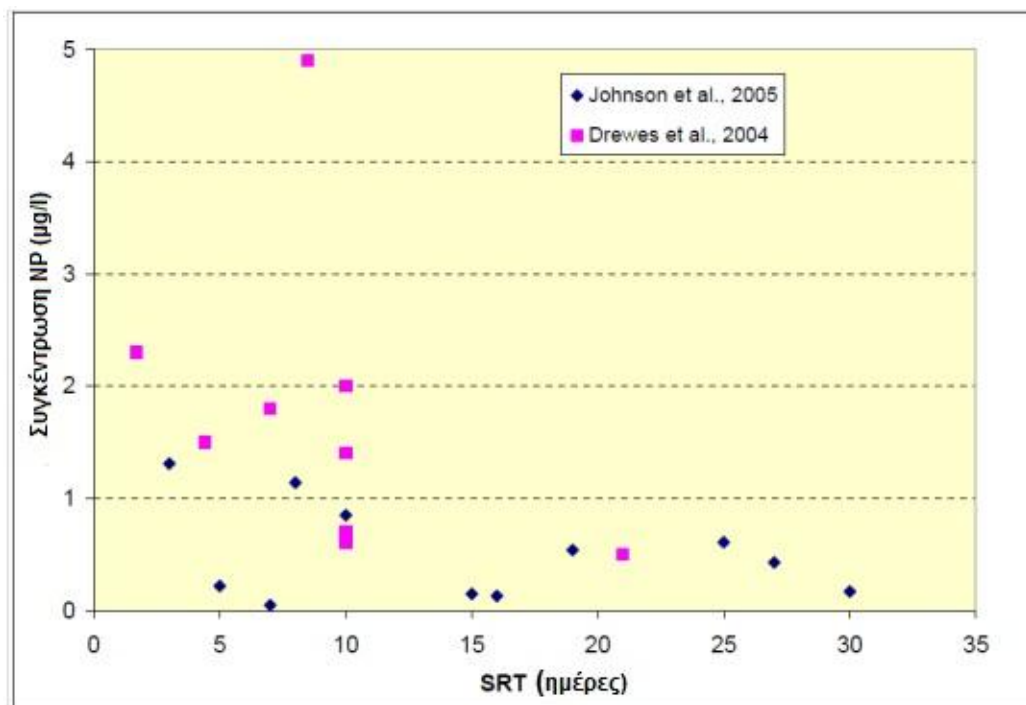
Περιοχή	Τύπος Εγκατάστασης	Είσοδος (μg/l)	Έξοδος (μg/l)	Απομάκρυνση %
11 STPs Σουηδία	CAS	110-430	10-200	9 - 94
1 STP Καναδάς	CAS	2 -23	1 - 2	42
Γερμανία	AS-BNR	2.13	0.32	85
4 STPs Ισπανία	CAS	40-343	6-289	
40 STPs, Ιαπωνία	Κυρίως CAS		0.3	
1 STP Κίνα	CAS, δίσκος οξειδωσης	9.3	1.5	84

Σε μελέτη του Loos et al. (2008) μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις εξόδους από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε βιομηχανία κλωστουφαντουργίας στο Βέλγιο και στην Ιταλία καθώς και οι συγκεντρώσεις στους ποταμούς που δέχονται τα λύματα. Οι συγκεντρώσεις της NP στο Βέλγιο ήταν 0.25-2.5 μg/l (στα ανεπεξέργαστα λύματα της εγκατάστασης κλωστουφαντουργίας). Οι μέσες συγκεντρώσεις στην έξοδο της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων κλωστουφαντουργίας ήταν 0.73μg/l ενώ στον ποταμό παρατηρήθηκαν συγκεντρώσεις 2.2 μg/l μετά την απόρριψη των λυμάτων. Επίσης στην Ιταλία οι συγκεντρώσεις της NP στις εξόδους των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων κυμάνθηκαν στα 0.37-0.53 μg/l ενώ στους ποταμούς που απορρίπτονταν τα λύματα βρέθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν στα 0.50-0.70μg/l.

Μπορεί να φαίνεται παράλογο το γεγονός ότι στους ποταμούς υποδοχής παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα NP σε σύγκριση με τις εξόδους των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων αλλά αυτό μπορεί να εξηγηθεί λόγω του γεγονότος ότι η NP είναι το τελευταίο προϊόν αποδόμησης των επιφανειοδραστικών NPEO. Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουν και Langston and Lester (2002), δηλαδή ότι η κύρια πηγή της NP στο περιβάλλον προκύπτει από την αποδόμηση των αιθοξυλιωμένων εννεύλοφαινολών. Επίσης πρέπει να ληφθούν υπόψιν και απορρίψεις από άλλες βιομηχανίες που τυχόν υπάρχουν.

Από τις πιο σημαντικές παραμέτρους απομάκρυνσης της NP στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας είναι

η ηλικία της λάσπης. Οι Johnson et al. (2005) μελέτησαν την συγκέντρωση της NP στην έξοδο σε 14 διαφορετικές αστικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε οκτώ Ευρωπαϊκές χώρες με διαφορετικές ηλικίες της λάσπης. Οι Drewes et al. (2004) επίσης μελέτησαν τις συγκεντρώσεις της NP στην έξοδο σε τέσσερις εγκαταστάσεις οι οποίες περιλάμβαναν βιολογική απομάκρυνση θρεπτικών συστατικών BNR με ηλικία λάσπης από 1.7 έως 21 ημέρες (Σχήμα 2.13).



**Σχήμα 2.13:** Επίδραση της ηλικίας της λάσπης στην συγκέντρωση εξόδου της NP (Melcer et al., 2006)

Παρόλο που δεν μπορούν να εξαχθούν σαφείς παρατηρήσεις λόγω έλλειψης στοιχείων όπως οι συγκεντρώσεις εισόδου της ουσίας και ότι γενικά οι συγκεντρώσεις της ουσίας κυμάνθηκαν σε πολύ χαμηλά επίπεδα ( $<2\mu\text{g/l}$ ), η γενική τάση είναι σαφής δηλαδή ότι οι συγκεντρώσεις εξόδου της NP μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας της λάσπης (SRT).

Στο υδατικό περιβάλλον παρατηρείται ταχεία μείωση της συγκέντρωσης της NP στα ρεύματα, στα στατικά υδατικά σώματα και στο θαλάσσιο νερό ως συνέπεια της αραιώσης της ουσίας με το νερό, της εξάτμισης και της αποδόμησης της ουσίας (Liber et al., 1999). Απόλυτη βιοαποδόμηση της NP έχει αναφερθεί σε ιζήματα, σε εδάφη, σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και στην ιλύ (Ekelund et al. 1993, Fujii et al., 2000a, Staples et al., 2001). Αυτές οι μελέτες αναφέρουν ότι η βιοαποδόμηση της NP από μικροβιακές κοινότητες συμβαίνει πάντα. Τα εύρος της ανοργανοποίησης της NP σε  $\text{CO}_2$  σε έδαφος με ιλύ μπορεί να φτάσει το 40% και το αντίστοιχο εύρος ημι-ζωής κυμαίνεται από 2 σε 10 ημέρες (Topp and Starratt 2000; Staples et al., 2001)

Με σκοπό να μελετηθεί η βιοαποδόμηση της NP απομονώθηκαν 37 συνολικά στελέχη βακτηρίων από μια ομάδα εργασίας από διάφορα μέρη (ιζήματα, λυματολάσπη και ενεργό ιλύ) κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες (Yuan et al., 2004; Chang et al. 2004a,b, 2005a,b). *Acinetobacter baumannii*, *Arthrobacter nicotianae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus horikoshii*,



*Bacillus sphaericus*, *Corynebacterium* sp. και *Pseudomonas* sp είναι μερικά από τα βακτήρια που απομονώθηκαν. Οι πειραματικές διαδικασίες που χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση, την ταυτοποίηση των βακτηρίων και την μέτρηση της συγκέντρωσης της NP αφήνουν κάποιες επιφυλάξεις για την πραγματική ικανότητα των βακτηρίων να βιοαποδομούν και να χρησιμοποιούν την NP ως μοναδική πηγή άνθρακα. Εξαιτίας επίσης της μεγάλης υδροφοβικής φύσης της NP, την δυνατή εξαέρωση της καθώς και την πολυπλοκότητα του τεχνητού μίγματος, έπρεπε να αντιμετωπιστούν αναλυτικές δυσκολίες όπως η εξαγωγή της ουσίας από πολύπλοκες μήτρες και ο επακόλουθος χρωματογραφικός διαχωρισμός.

Από όλα τις βακτήρια που αποδομούν την NP, οι sphingomonads επέδειξαν την μεγαλύτερη ικανότητα αποδόμησης φτάνοντας ρυθμούς αποδόμησης πάνω από 100mg/l την ημέρα. Οι Sphingomonads μπορούν να αναπτυχθούν χρησιμοποιώντας την NP ως μοναδική πηγή άνθρακα και ενέργειας. Τα είδη της Sphingomonas, η θολότητα, η συνολική βιομάζα και η δραστηριότητα της αναπνοής συσχετίστηκαν με την ταυτόχρονη βιοαποδόμηση της NP κατά τη διάρκεια της επώασης (Tanghe et al., 1996b; Fujii et al. 2000a,b; Gabriel et al. 2005a). Βρέθηκε ότι στην περίπτωση της Sphingomonas sp. TTNP3, με τη χρήση ενός ραδιενεργά σεσημασμένου ισομερούς της NP, ότι ο αρωματικός δακτύλιος ανοργανοποιείται περίπου 70% και σε μικρότερο ποσοστό 15% ενσωματώνεται στην βιομάζα (Corvini et al., 2004c).

Η βιοδιάσπαση της NP πραγματοποιείται μέσω της δράσης των μικροοργανισμών, αλλά περιορίζεται από την παροχή οξυγόνου (Hesselsoe et al., 2001; Torp and Starratt, 2000) και την βιοδιαθεσιμότητα (Bosma et al., 1997; Kelsey et al., 1997). Οι μολυσμένες περιοχές από NP έχει βρεθεί ότι περιέχουν μικροοργανισμούς που μπορούν να αποδομήσουν την NP καθώς η μικροχλωρίδα που υπάρχει ήδη σε εκείνο το μέρος χρειάζεται κάποιο χρόνο για να εγκλιματιστεί δηλαδή να προσαρμοστεί στην παρουσία του ρύπου (Ahmed et al., 2001; Saagua et al., 2002, Soares et al., 2003a).

Η βιοσυσσώρευση της NP έχει παρατηρηθεί στα άλγη, στα ψάρια και στα υδρόβια πτηνά που ζουν σε μέρη που περιβάλλεται από μολυσμένα νερά ποταμών (Ahel et al., 1993). Τα άλγη περιέχουν την υψηλότερη συγκεντρωση της NP μεταξύ 1.5 και 38 mg/kg με παράγοντες βιοσυγκέντρωσης από 13 έως 408. Παρόλα αυτά τα άλγη δεν βρέθηκαν να συνδέονται άμεσα με την τροφική οδό των ψαριών. Οι συγκεντρώσεις της NP που βρέθηκαν σε άγριες πάπιες κυμαινόταν από 0.03 σε 1.2 mg/kg με υψηλότερες τιμές στους μυς. Σε έρευνα που έγινε στα μύδια, δεν παρατηρήθηκε να συσσωρεύεται η NP, παρόλο που τα μύδια τοποθετήθηκαν σε κλουβιά σε απόσταση 50 εκατοστά από ιζήματα, όπου οι συγκεντρώσεις της NP είναι αυξημένες.

Οι συντελεστές βιοσυσσώρευσης στα χονδροκέφαλα ψάρια (*Pimephales promelas*) ήταν 245-380 μετά από 42 ημέρες έκθεσης στην ουσία σε συγκεντρώσεις 0.22-2.36μg/l, υποδεικνύοντας ότι η χρόνια έκθεση στην ουσία ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να οδηγήσει σε συσσωρευση στα ψάρια (Snyder et al., 2001). Η παρουσία της NP στα ψάρια συνδέεται κυρίως με τα επεξεργασμένα λύματα που απορρίπτονται από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων που έχουν σαν αποτέλεσμα να παρατηρούνται συγκεντρώσεις πάνω από 112 μg/kg στα ψάρια (Rice et al., 2003). Από τους Coldham et al.(1998) μελετήθηκε η διασπορά της NP στα όργανα των ψαριών. Μετά από 144 ώρες η περισσότερη NP βρέθηκε στη χολή και στα κόπρανα ως συζυγείς ενώσεις. Οι συγκεντρώσεις της NP στους ιστούς των μυών ήταν σχετικά χαμηλές, παρόλα αυτά ήταν οι μόνοι ιστοί όπου βρέθηκε ενεργή NP και όχι συζευγμένη με άλλες ενώσεις, υποδεικνύοντας ότι η χρόνια έκθεση μπορεί να οδηγήσει σε συσσωρευση της NP στους μυς, οι οποίοι αντιπροσωπεύουν την

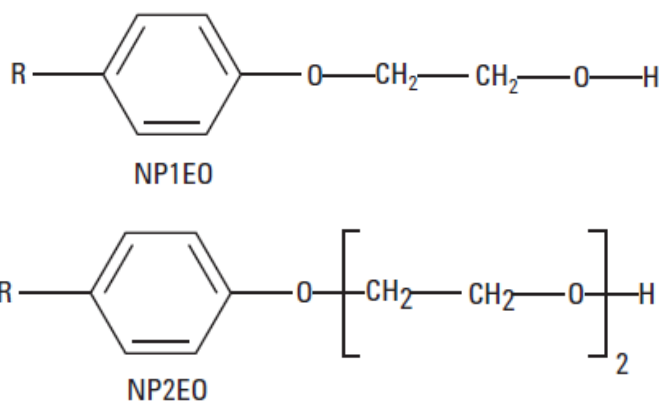
πλειοψηφία της μάζας του σώματος.

Σε πειράματα που έκαναν οι Uguz et al. (2003), σε νεανικές ιριδίζουσες πέστροφες για να ερευνήσουν την επίδραση της ουσία, εξέθεσαν τις πέστροφες σε 0, 220 και 660 mg NP/l για πάνω από 28 ημέρες. Τα ψάρια παρέμειναν υγιή για συγκεντρώσεις έκθεσης 0, 66, και 220 mg/l σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Όλα τα ψάρια πέθαναν μετά από 4 ημέρες έκθεσης σε 660 mg NP/l. Παρατηρήθηκε βιοσυσσώρευση ανάλογη με τον χρόνο στους ιστούς των ψαριών που εκτέθηκαν στα 220 μg NP/l όπως επίσης και ιστοπαθολογικές αλλαγές παρατηρήθηκαν στο συκώτι των ψαριών που εκτέθηκαν στα 220μg NP/l. Έτσι συμπεραίνεται ότι ακόμα και οι μη θανατηφόρες δόσεις της NP συσσωρεύονται στα σώματα των ιριδίζουσων πεστροφων που εξετάστηκαν, και προκαλούν ιστοπαθολογικές και βιοχημικές αλλαγές στο ήπαρ.

## 2.6 Μονό- και δι- αιθοξυλιωμένοι εννεύλοφαινόλες (NP1EO και NP2EO)

### 2.6.1 Παραγωγή και Χρήσεις

Οι αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες (APEs), μέρος των οποίων είναι οι αιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες (NP1EO και NP2EO), είναι μια κατηγορία επιφανειοδραστικών ουσιών που παράγονται από την αντίδραση των αλκυλοφαινόλων με αιθυλενοξείδιο. Μια αιθοξυλιωμένη αλκυλοφαινόλη αποτελείται από δύο μέρη : την αλκυλοφαινόλη (AP) και την αιθοξυλιωμένο τμήμα (Σχήμα 2.14).



Σχήμα 2.14: Δομή της NP1EO και NP2EO

Τα NPEOs (αιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες), που είναι περίπου το 80% των APEs, χρησιμοποιούνται συνήθως ως επιφανειοδραστικές ουσίες στα απορρυπαντικά, στις μπογιές, στα φυτοφάρμακα, στα κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, καθώς και σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας (La Guardia et al., 2009). Τα NPEOs επίσης χρησιμοποιούνται συνήθως σε οικιακά απορρυπαντικά πλυντηρίων ρούχων. Η EPA και οι κατασκευαστές απορρυπαντικών έχουν συνεργαστεί για την εξάλειψη της χρήσης των ουσιών αυτών. Ωστόσο, τα NPEOs εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται ευρέως σε μεγάλες ποσότητες σε βιομηχανικά απορρυπαντικά πλυντηρίων ρούχων.

Τα NPEOs αποδομούνται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε πιο τοξικά και λιποφιλικά συστατικά, τα NPs, τις μονοαιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες (NP1EOs) και τις διαιθοξυλιωμένες

εννεύλοφαινόλες (NP2EOs) , οι οποίες κιάλας παραμένουν στη λάσπη κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας (Ahel et al. , 1994).

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες (Πίνακας 2.19) των ουσιών καθορίζουν την συμπεριφορά των ουσιών στο περιβάλλον. Η διαλυτότητα των APEs εξαρτάται από τον αριθμό των πολικών ομάδων που σχηματίζονται στο υδροφιλικό κομμάτι του μορίου. Έτσι APEs με μικρές αλυσίδες όπως η NP1EO και NP2EO χαρακτηρίζονται ως λιποφιλικές και αδιάλυτες στο νερό. Επίσης οι αιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες (NP1EO και NP2EO) είναι ελαφρώς λιγότερο λιποφιλικές (logKow 4.2) από την NP (logKow 4.48) (Ahel and Ginger, 1993).

**Πίνακας 2.19:** Φυσικοχημικές παράμετροι των NP1EO και NP2EO

	<b>NPE1O</b>	<b>NPE2O</b>
<b>Μοριακό βάρος</b>	264	308
<b>Διαλυτότητα στο νερό(mg/l 20<sup>0</sup>C)</b>	3.02	3.38
<b>logKow</b>	4.17	4.21
<b>Koc (l/kg)</b>	245.47	288.403

### 2.6.2 Τοξικότητα

Ο βιομετασχηματισμός των μεγάλων αλυσίδων NPnEOs, που συμβαίνει σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση μικρότερων αλυσίδων NPnEOs, όπως τα NP1EO και NP2EO (Ahel et al., 1994). Αυτές οι ουσίες έχουν χαρακτηριστεί ως ενδοκρινικοί διαταράκτες από πολλές οργανώσεις (Birket and Lester, 2003). Οι ουσίες αυτές ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις μπορούν να διαταράξουν την οιστρογονική δραστηριότητα των υδατικών οργανισμών.

Σε έρευνα του Balch and Metcalfe (2005) πραγματοποιήθηκαν πειράματα έτσι ώστε να προσδιοριστούν οι ενδοκρινικές διαταραχές των προϊόντων βιοδιάσπασης των APEs χρησιμοποιώντας τεστ in vivo στην Ιαπωνική medaka (*Oryzia latipes*), ψάρι που χρησιμοποιείται ευρέως για δοκιμές σε ενδοκρινικές διαταραχές. Τα ψάρια εκτέθηκα στην NP1EO για 100 ημέρες σε διάφορες συγκεντρώσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.20. Τα ψάρια που επέδειξαν στοιχεία και αρσενικά και θηλυκά, χαρακτηρίστηκαν ως έχοντες ‘μικτά’ δευτεροβάθμια χαρακτηριστικά φύλου (MSC). Αυτό το χαρακτηριστικό είναι αποτέλεσμα της έκθεσης σε ενδοκρινικούς διαταράκτες και χρησιμοποιήθηκε σαν κριτήριο από τον Metcalfe et al. (1999) για την αξιολόγηση των συνεπειών της έκθεσης σε τέτοιες ουσίες. Στην μόνη συγκέντρωση στην οποία παρουσιάστηκε οιστρογονική απόκριση ήταν στα 300 μg/l. Μόνο ένα από τα 29 ιστολογικά ελεγμένα αρσενικά εμφάνισε θηλές στο πρωκτικό περύγιο, δείχνοντας έτσι μια ασθενής οιστρογονική απόκριση. Αξίζει να σημειωθεί ότι ανιχνεύθηκε στο διάλυμα των 300μg/l της NP1EO η ύπαρξη ποσότητας NP συγκέντρωσης 3.8μg/l .Η NP θα μπορούσε να είχε συμβάλει στην οιστρογονικότητα , παρόλο που η συγκέντρωση ήταν χαμηλότερη από την LOAEC (ελάχιστη συγκέντρωση που παρατηρείται μεταβολή) για την NP που

είναι 8.7μg/l. Για την NP σημειώθηκαν επιδράσεις στην Ιαπωνική medaka για συγκεντρωση 30 μg/l. Συμπερασματικά, η NP1EO είναι ένα ασθενές οιστρογόνο ακόμα και σε συγκεντρώσεις που είναι μια τάξη μεγέθους μεγαλύτερη από την χαμηλότερη συκέντρωση παρατηρούμενης επίπτωσης για την NP.

**Πίνακας 2.20:** Γονιδιακή αναλογία των δύο φύλων, ποσοστό επιβίωσης και ποσοστό ψαριών που παρουσιάζουν νικτά δευτερεύουσα χαρακτηριστικά φύλου (MSC) ,μετά από 100 ημέρες έκθεσης στην NP1EO (Balch and Metcalfe ,2005)

Συγκεντρωση Εκθεσης (μg/l)	Αριθμός δείγματος	Αριθμός θηλυκών	Αριθμός Αρσενικών	% Επιβίωση	% MSC
10	50	27	21	92	4
30	50	24	23	93	4
100	50	27	22	92	10
300	50	20	29	82	22

Προηγούμενες μελέτες είχαν επίσης υποδείξει ότι η NP1EO μπορεί να είναι ασθενές οιστρογονικό. Οι Metcalfe et al. (2001) παρατήρησαν μια μικρή επίπτωση στους όρχεις και τα ωάρια (δηλαδή περίπου 1 στα 30 αρσενικά) στις medaka που εκτίθεται σε συγκεντρώσεις των 100μg/l σε ένα μίγμα NP1EO και NP2EO. Επίσης το μείγμα NP1EO/NP2EO φάνηκε να είναι ασθενές οιστρογονικό σε δοκιμασίες καταγραφής της οιστρογονικότητας μέσω ζυμομυκήτων.

Σε άλλες έρευνες των Jobling et al. (1996) και Harries et al. (2000) έδειξαν ότι τα NPs και τα NP2EOs προκαλούν την παραγωγή βιτελογενίνης στις αρσενικές πέστροφες (*Onchornus Mykiss*) και στα ψαράκια (*Pimephales promelas*) για χαμηλές συγκεντρώσεις των μg/l. Καναδοί ερευνητές συνέδεσαν τις μειώσεις του σολωμού στον Ατλαντικό με εφαρμογές φυτοφαρμάκων σε δάση που περιέχουν NP και NPEOs. Έχει επίσης αναφερθεί ότι τα NPEs μπορεί να διαταράζουν το σύστημα αναπαραγωγής των αμφιβίων (Mann and Bidwell, 2001)

### 2.6.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση

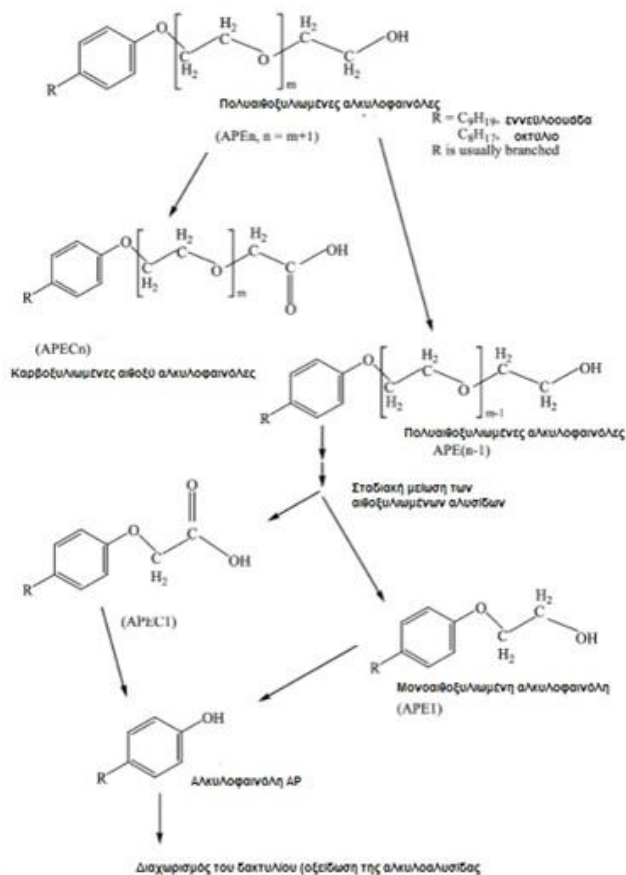
Οι αιθοξυλιωμένες αλκυλοφαινόλες (APEs\_) και τα προϊόντα αποδόμησης τους (π.χ NP και OP) δεν παράγονται φυσικά. Η παρουσία τους στο περιβάλλον είναι αποκλειστικά αποτέλεσμα της ανθρωπογενούς δραστηριότητας. Τα APEs εισέρχονται κυρίως στο περιβάλλον κυρίως μέσω βιομηχανικών και αστικών επεξεργασμένων λυμάτων και λάσπης αλλά εισέρχονται μέσω απευθείας απόρριψης όπως επίσης και μέσω εφαρμογής φυτοφαρμάκων. Έτσι τα NPEs τα οποία αντιπροσωπεύουν το 80% της συνολικής χρήσης των APEs βρίσκονται σε υπολογίσιμες για το περιβάλλον και τους υδρόβιους οργανισμούς συγκεντρώσεις. Πιο συγκεκριμένα παράγονται ετησίως 500000 τόνοι ετησίως, το 60% του οποίου καταλήγει στο υδατικό περιβάλλον (Renner, 1997; Sole et al., 2002).

Η περιβαλλοντική μόλυνση από τα προϊόντα αποδόμησης των NPEOs έχουν αναφερθεί σε πολλές

περιοχές στον κόσμο. Πυρήνες ιζημάτων που έχουν εξεταστεί από περιοχές οι οποίες είναι σε άμεση σχέση με εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα NPs και NPEOs από τη δεκαετία του 60 και μετά (Yamashita et al., 2000). Έχει αναφερθεί επίσης μόλυνση υπόγειων υδάτων από NPs και NPEOs στην Ελβετία, στο Ισραήλ και στις Η.Π.Α (Tamage , 1994; Zoller and Hashan, 2000, Rudel et al., 1998). NPE1O και NPE2O έχει ανιχνευθεί σε πόσιμο νερό σε ποσότητες πάνω από 34ng/l (Clark et al., 1992; Kuch and Ballshmiter, 2001). Σύμφωνα με τους Bennett and Metcalfe (2000) τα NPE1O και NPE2O έχουν βρεθεί και σε συγκεντρώσεις μικρογραμμάρια ανά γραμμάριο (ξηρό βάρος) εκτός από ιζήματα κοντά σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και συσσωρευμένα σε μύδια κοντά σε ΕΕΛ . Σε μελέτη των Ahel et al. (2000) οι οποίοι παρακολούθησαν τις NPE1O και NPE2O στα περιβάλλοντα νερά τριών ποταμών (Glatt, Thur, Rhine), φάνηκε ότι οι συγκεντρώσεις των ανεξάρτητων μεταβολιτών στο νερό ήταν σχετικά χαμηλές, με την πλειοψηφία των τιμών να είναι ανάμεσα στα όρια ανίχνευσης (0.025μg/l) και 0.3 μg/l. Η διασπορά των συγκεντρώσεων έδειξε μια έντονη εποχιακή τάση σε υψηλότερα επίπεδα κατά τη διάρκεια της κρύας περιόδου του έτους.

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των APEs υποδεικνύουν ότι οι μεταβολίτες των APE είναι υδροφοβικές ουσίες. Τείνουν να βιοσυσσωρεύονται στα λιπίδια των οργανισμών στο περιβάλλον και έχουν υψηλούς σχετικές συντελεστές προσρόφησης στα ιζήματα και στα εδάφη όπως προαναφέρθηκε.

Η βιοαποδόμηση των APEs πιστεύεται ότι ξεκινάει με την μίκρυνση των αλυσίδων ΕΟ σχηματίζοντας μικρότερες αλυσίδες APEs. (Σχήμα 2.15)



Σχήμα 2.15: Αποδόμηση των APEs (Ying et al., 2002)

Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2.21 οι υπολογισμένοι ρυθμοί απομάκρυνσης ποικίλουν. Έτσι στις Η.Π.Α σύμφωνα με τους Naylor et al. (1995) κυμαίνονται από 93% έως 99% με μέσο όρο 97%. Στην Ιαπωνία, οι ρυθμοί απομάκρυνσης των NPEOs κυμαίνονταν από 86 έως 99% το φθινόπωρο και από 66 έως 99% τον χειμώνα (Nasu et al., 2001). Οι ρυθμοί απομάκρυνσης σε Ιταλικές εγκαταστάσεις κυμαίνονταν από 74 έως 98% (Crescenzi et al., 1995, Di Corcia and Samperi, 1994). Οι ελβετικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας φάνηκαν να μη λειτουργούν τόσο καλά με τιμές απομάκρυνσης που κυμαίνονταν από 47 έως 89% με έναν μέσο ρυθμό 74% , πιθανώς λόγω διαφορετικού σχεδιασμού της εγκατάστασης και λόγω αποτελεσματικότητας της λειτουργίας (Ahel et al., 1994).

**Πίνακας 2.21:** Απομάκρυνση των NPEs σε Αστικές Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (Melcer et al., 2006)

	Είσοδος (μg/l)		Έξοδος(μg/l)		Μέση Απομάκρυνση (%)	
	<i>NPE10</i>	<i>NPE20</i>	<i>NPE10</i>	<i>NPE20</i>	<i>NPE10</i>	<i>NPE20</i>
<b>11STPs Ελβετία</b>	310-840		10-620		9-94	
<b>1 STP Καναδάς</b>	3-37		1-2		61	
<b>27 STPs Ιαπωνία</b>	13/27		0.5/3		88-96	
<b>1 STP Κίνας</b>	3.2	28	<0.05	11	99	59
<b>1 STP Δανία</b>		118		2.08		
<b>2 STPs Τόκιο</b>	11		0.05		94-97	

Οι Manzano et al. (1999) πραγματοποίησαν ένα πείραμα βιοαποδόμησης των πολυαιθοξυλικών εννεύλοφαινολών σε νερά ποταμών και βρήκαν ότι η θερμοκρασία έπαιξε πολύ σημαντικό ρόλο στην περίοδο εγκλιματισμού των μικροοργανισμών και στο ρυθμό της βιοαποδόμησης. Τα ποσοστά της πρώιμης βιοαποδόμησης ποικίλουν από 68% στους 7<sup>0</sup>C έως 96% στους 25<sup>0</sup>C. Σε όλες τις θερμοκρασίες που μελετήθηκαν, σχηματίστηκαν κατά τη διάρκεια της βιοαποδόμησης οι μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένου και των NPE10 και NPE20, και οι οποίοι δεν εξαφανίστηκαν μετά το τέλος του πειράματος των 30 ημερών. Τα ποσοστά ανοργανοποίησης που επιτεύχθηκαν κυμάνθηκαν από 30% στους 7<sup>0</sup>C μέχρι τους 70% στους 25<sup>0</sup>C.

Σε μελέτη εδάφους από τους Marcomini et al., 1989, όπου είχε προστεθεί επεξεργασμένη ιλύς οι αρχικές συγκεντρώσεις των NPE10 και NPE20 ήταν 1.1 και 0.1 mg/Kg. Μετά από 320 ημέρες της τελευταίας εφαρμογής της λάσπης οι συγκεντρώσεις ήταν αντίστοιχα 0.1 και 0.01 mg/kg. Όλα τα αρωματικά τασιενεργά υπέστησαν μια πολύ γρήγορη μείωση μέσα στον πρώτο μήνα, αλλά μετά από

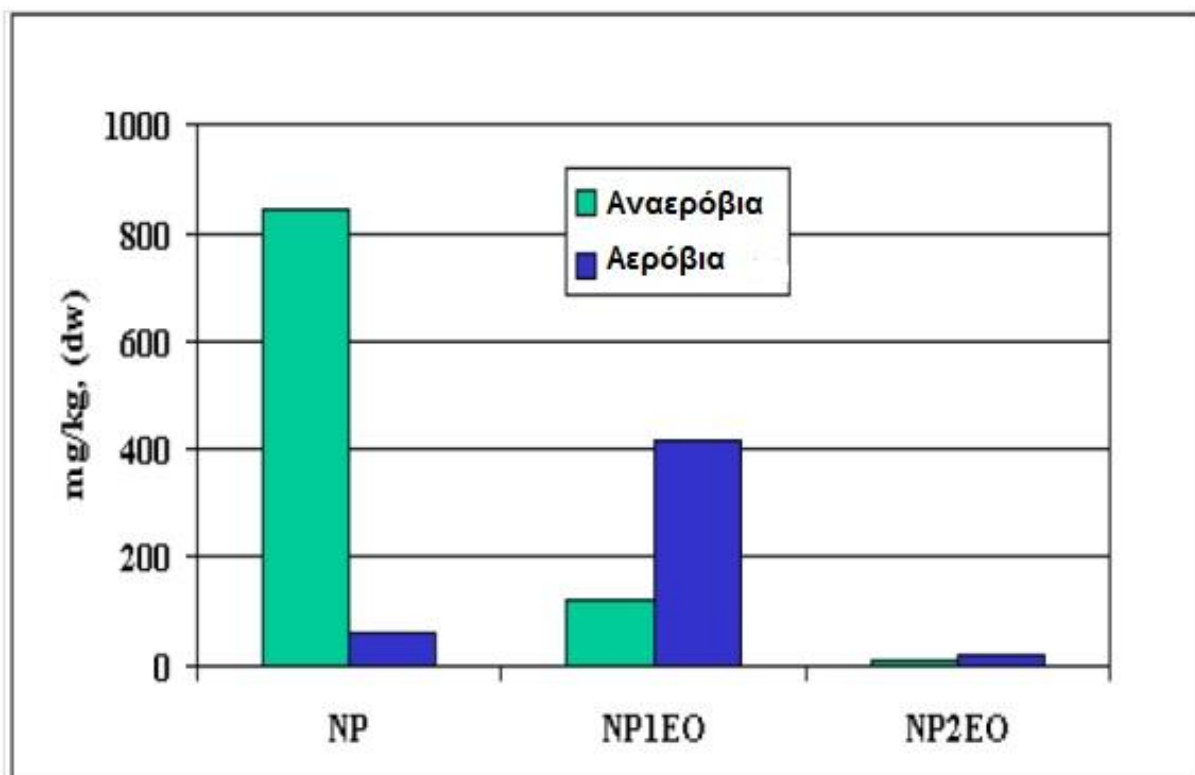
320 ημέρες υπήρχαν υπολειμματικές συγκεντρώσεις.

Μελέτες σε εξεταζόμενους πυρήνες ιζημάτων δείχνουν ότι τα APEs και οι μεταβολίτες τους είναι σχετικά σταθεροί στα ιζήματα (Shang et al., 1999; Marcomini et al., 2000, Isobe et al., 2001). Οι Marcomini et al. (2000) ανέλυσαν έναν πυρήνα ιζήματος σε λιμνοθάλασσα στη Βενετία και βρήκαν συγκεντρώσεις NP1EO και NP2EO περίπου 35ng/g για την χρονιά 1910 και περίπου 110 ng/g για το 1972. Οι συγκεντρώσεις των NP1EO και NP2EO μειώθηκαν τέσσερις και τρεις φορές αντίστοιχα, από την επιφάνεια του πυρήνα προς τα βαθύτερα στρώματα που χρονολογούνται το 1950. Αυτή η συμπεριφορά μπορεί να αποδοθεί στην μη οξειδωτική αναερόβια βιοαποδόμηση του NPE2O σε NPE1O και μετά σε NP. Επίσης παρατηρείται μια αύξηση της συγκέντρωσης της NP στα κατώτερα και πιο παλιά στρώματα, που χρονολογούνται από το 1920. Η παρουσία της NP όπως επίσης και της NPE1O και της NPE2O στα στρώματα των ιζημάτων, που χρονολογούνται πριν το Β παγκόσμιο πόλεμο, μπορεί να αποδοθεί στην κάθετη απόθεση διαμέσου των ιζημάτων που προκαλείται από την διάχυση των πόρων του νερού (Marcomini et al., 2000).

Μια πιθανή χρήση της επεξεργασμένης λάσπης θα μπορούσε να ήταν η εφαρμογή της σε γεωργικά εδάφη ως λίπασμα η οποία είναι μια πολύ αποτελεσματική και οικονομική λύση για την απόρριψη της βιολογικής λάσπης. Στις Η.Π.Α η χρήση της λάσπης ως λίπασμα είναι μια πολύ διαδομένη λύση καθώς το 60% των 5.6 εκατομμυρίων τόνων λάσπης που παράγονται χρησιμοποιείται για αυτό το σκοπό (National Research Council, 2002). Κάποια ακόμα πλεονεκτήματα ακόμα αυτής της χρήσης είναι η ανακύκλωση των θρεπτικών συστατικών και η βελτίωση των ιδιοτήτων του εδάφους όπως το πορώδες και η κατακράτηση υγρών. Παρόλα αυτά έχουν προκαλέσει ιδιαίτερες ανησυχίες ζητήματα όπως ο ταχύς ευτροφισμός των επιφανειακών υδάτων από την απελευθέρωση της περίσσειας φωσφόρου, η μόλυνση του υδροφόρου ορίζοντα από την έκλυση νιτρικών καθώς και ότι πρόσφατα βρέθηκε ότι τα βιοστερεά μπορεί να περιέχουν φαρμακευτικές ουσίες, στεροειδείς ουσίες και ορμόνες, μέταλλα και τοξικές χημικές ουσίες (U.S Environmental Protection Agency, 2009), τα οποία δεν θεωρήθηκαν αρχικά από την νόμο 503 της US EPA ως πιθανόν επικίνδυνες ουσίες. Τα NP και τα NPEOs έχουν ανιχνευτεί σε ποσότητες πάνω από g/Kg σε ξηρό βάρος σε βιοστερεά (La Guardia et al., 2001; Kinney et al., 2006). Μια Δανέζικη έρευνα επίσης αναφέρει ότι οι συγκεντρώσεις στο έδαφος των NPs, NP1EOs και NPE2Os παρέμειναν σταθερές κατά τη διάρκεια των 28 ημερών μελέτης (Danish Environmental Protection Agency, 1998)

Οι La Guardia et al. (2009) μελέτησαν την συμπεριφορά της αιθοξυλιωμένων αλκυλοεννευνολών και των παραπροϊόντων τους σε βιοστερεά (κάτω από αερόβιες/σταθεροποίηση με ασβέστη και αναερόβιες συνθήκες) έτσι ώστε να αξιολογηθεί η παραμονή αυτών των ουσιών στα βοσκοτόπια. Εφάρμοσαν τις εξεταζόμενες ουσίες σε μια έκταση γης και ανέλυσαν τις συγκεντρώσεις τους για μια περίοδο πάνω από 6 μήνες (1 ημέρα, 50 και 175 ημέρες μετά την εφαρμογή). Πριν την εφαρμογή τους στην γη στα αναερόβια και αερόβια/σταθεροποιημένα με ασβέστη βιοστερεά μετρήθηκαν συγκεντρώσεις NPs, NP1EOs και NP2EOs 972 και 494 mg/kg ξηρού βάρους αντίστοιχα (Σχήμα 2.16). Αυτές οι συγκεντρώσεις είναι παρόμοιες αυτές που έχουν βρεθεί σε άλλα βιοστερεά στις Η.Π.Α (La Guardia et al., 2001). Έχει επίσης αναφερθεί ότι η αναερόβια επεξεργασία ευνοεί την αποδόμηση των πολυαιθοξυλιωμένων σε NPs (Ahel et al., 1994). Αυτό φαίνεται και στην Σχήμα 2.16 από την χαμηλή αναλογία NP/αιθοξυλιωμένων στα αερόβια σε σχέση με την αναερόβια βιοστερεά. Έτσι οι συγκεντρώσεις των NPs ήταν περίπου 15 φορές υψηλότερες στα αναερόβια δείγματα σε σχέση με τα αερόβια δείγματα (843 και 59 αντίστοιχα). Οι συγκεντρώσεις των NP1EO στα αερόβια βιοστερεά ήταν σχεδόν τέσσερις φορές μεγαλύτερες από τα αναερόβια βιοστερεά, 413

αντί 119 mg/kg αντίστοιχα. Τα αιθοξύλια μπορεί να υπόκεινται σε περαιτέρω αποδόμηση, εάν οι συνθήκες είναι κατάλληλες, αυξάνοντας τις συγκεντρώσεις των NP στα αερόβια εκτάσεις. Οι NP2EO ήταν δυο φορές μεγαλύτερες στα δείγματα αερόβιων βιοστερεών (22mg/kg) σε σχέση με τα αναερόβια βιοστερεά 10mg/kg.



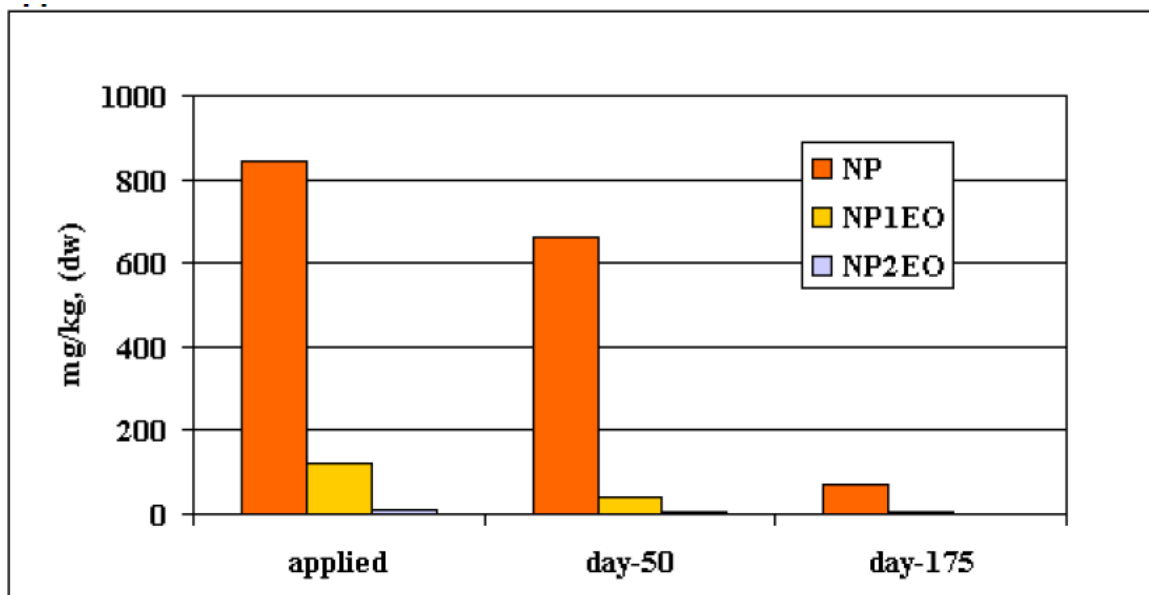
**Σχήμα 2.16:** Συγκεντρώσεις των NPs και των NPEOs (mg/kg, ξηρό βάρος) στα βιοστερεά πριν την εφαρμογή τους (La Guardia et al., 2009)

Μετά την εφαρμογή των βιοστερεών στα ειδικά αγροτεμάχια για τις δοκιμές, υποβλήθηκαν σε παρατεταμένη περιβαλλοντική έκθεση κάτω από ρεαλιστικές γεωργικές συνθήκες. Μετά από 50 ημέρες έκθεσης, οι συγκεντρώσεις των NPE παραπροϊόντων στα αναερόβια δείγματα μειώθηκαν κατά 27% (Σχήμα 2.17). Παρόλα αυτά οι συγκεντρώσεις στα αερόβια συσσωματώματα που εκτίθενται στις ίδιες συνθήκες, αυξήθηκαν κατά 12%. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην επακόλουθη βιοαποδόμηση των αιθοξυλιωμένων εννεύλοφαινολών με μεγαλύτερες αλυσίδες (π.χ >NPE2O) που είναι παρούσες στα αερόβια δείγματα. Τα NPs σχεδόν διπλασιάστηκαν στα αερόβια/σταθεροποιημένα με ασβέστη βιοστερεά (Σχήμα 2.18), ενώ παρόλο που στα αναερόβια βιοστερεά μειώθηκαν τα NPs σχεδόν 21%, εξακολουθούσαν να υπάρχουν σε συγκεντρώσεις 664mg/kg, 50 ημέρες μετά την εφαρμογή (Σχήμα 2.17). Την τελευταία μέρα (175 ημέρες μετά την εφαρμογή), υπήρχε μια σημαντική μείωση (>90%) στην ποσότητα των παραπροϊόντων των NPEs στα αναερόβια και αερόβια βιοστερεά, 73 και 8 mg/kg αντίστοιχα (Σχήμα 2.17 και 2.18).

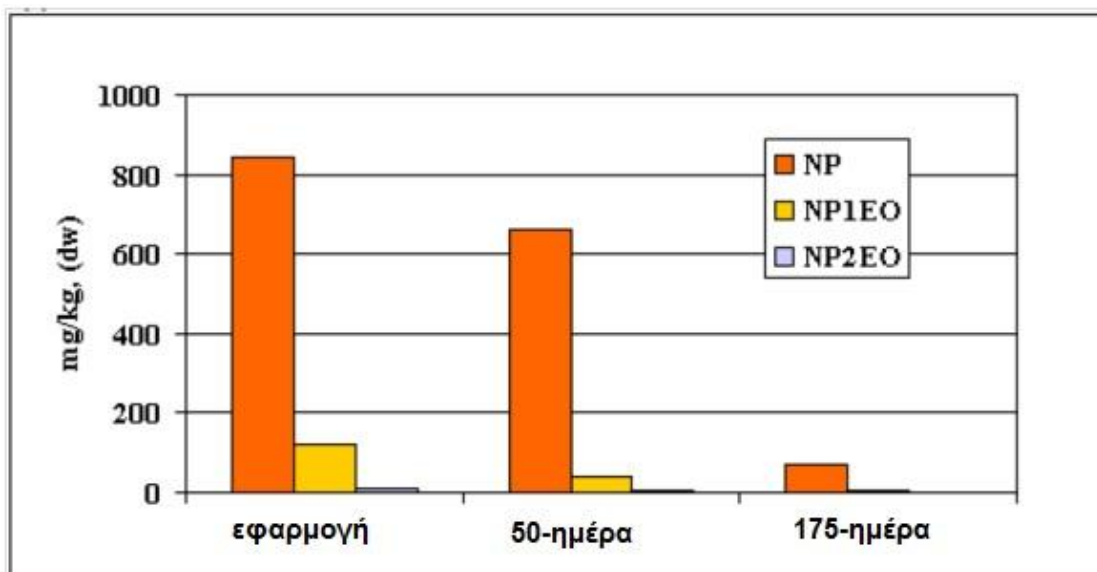
Ο νόμος 503 της USA EPA απαγορεύει την βόσκηση σε βιοστερεά που έχουν εφαρμοστεί σε περιοχές 30 ημέρες πριν (U.S EPA, 1993). Τα αποτελέσματα της έρευνας των La Guardia et al. (2009) υπέδειξαν ότι τα ζώα που βόσκουν μπορούν να έλθουν σε επαφή με αυτές τις ουσίες αυτές



τουλάχιστον 6 μήνες μετά την εφαρμογή τους. Αυτά τα ευρήματα είναι σύμφωνα και με τις εργαστηριακές μελέτες που διεξήχθησαν από τον Hesselsoe et al. (2001), ο οποίος διατύπωσε ότι τα NPs θα υπάρχουν σε βάθος 2cm στα συσσωματώματα της λάσπης ακόμα και ένα χρόνο μετά την εφαρμογή.



**Σχήμα 2.17:** Συγκεντρώσεις των NPs και των NPEOs (mg/kg, ξηρό βάρος) στα **αναερόβια** βιοστερεά 50 και 175 ημέρες (La Guardia et al., 2009)



**Σχήμα 2.18** Συγκεντρώσεις των NPs και των NPEOs (mg/kg, ξηρό βάρος) στα **αερόβια** βιοστερεά 50 και 175 ημέρες (La Guardia et al., 2009)

Η αναερόβια λάσπη διαφέρει σημαντικά από την πρωτοβάθμια λάσπη και την περίσσεια της ενεργού ιλύος. Περιέχει μικρότερο ποσοστό οργανικού υλικού και μικρότερη περιεκτικότητα σε

υδατάνθρακες και λιπίδια εξαιτίας της χρήσης αυτών των συστατικών ως υποστρώματα που στηρίζουν την αναερόβια μικροβιακή ανάπτυξη (Barret et al., 2010c). Όσον αφορά τις NPE πιστεύεται σύμφωνα με τον Lu et al. (2008) ότι η βιομετατροπή αρχίζει από το υδροφιλικό κομμάτι του μορίου και ως εκ τούτου η αιθοξυλιωμένη αλυσίδα της τριτοβάθμια NPE μικραίνει μέχρι να σχηματίσει NP1EO, NP2EO και NP. Σύμφωνα με τους Patureau et al. (2008) τα NP1EO και NP2EO βιοδιασπώνται μέχρι ένα σημείο κατά τη διάρκεια της αναερόβιας χώνευσης οπότε παράγεται NP όπου αυτό το συστατικό δεν επιδέχεται περαιτέρω μετασχηματισμό και συσσωρεύεται στα βιοστερεά (Hernandez-Rauquet et al., 2007). Αντιθέτως άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η NP βιοδιασπάται περαιτέρω κάτω από αναερόβια χώνευση (Paterakis et al., 2012).

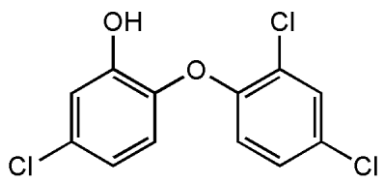
Οι Lian και Liu (2013) διερεύνησαν τα χαρακτηριστικά μετασχηματισμού των εννεύφαινολικών συστατικών κάτω από αναερόβιες, ανοξικές και αερόβιες συνθήκες σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας του Πεκίνο καθώς και σε batch δοκιμές κάτω από αναερόβιες, ανοξικές και αερόβιες συνθήκες. Αντίθετα με τους La Guardia et al. (2009), παρατηρήθηκε ότι οι ρυθμοί βιοαποδόμησης της NP, NP1EO και NP2EO κατά αύξουσα σειρά είναι κάτω από αναερόβιες συνθήκες, μετά από ανοξικές και τελικά κάτω από αερόβιες συνθήκες. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξε και μελέτη του Ying et al. (2002). Επίσης παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη θειικών και νιτρικών στις αναερόβιες συνθήκες μπορεί να βελτιώσει την βιοαποδόμηση της NP, NP1EO και NP2EO παρέχοντας θετικότερα δυναμικά οξειδοαναγωγής. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι τα εννεύλοφαινολικά συστατικά αποδομούνται κάτω από αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες κυρίως μικραίνοντας η αλυσίδα EO, ενώ κάτω από αερόβιες συνθήκες μέσω οξείδωσης της τερματικής αλκοολικής ομάδας. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η αύξηση οξυγόνου επιταχύνει του ρυθμούς βιοαποδόμησης των NP, NP1EO και NP2EO, ενώ τα μόρια με τις μακριές αλυσίδες NPnEOs και NPE.Cs δείχνουν να είναι ανεπηρέαστα.

Σε μελέτη των Samaras et al. (2012) προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των NP1EO και NP2EO στα λύματα και στις λάσπες δύο εγκαταστάσεων επεξεργασίας στην Αθήνα και στην Μυτιλήνη. Στην είσοδο των εγκαταστάσεων οι τιμές κυμαίνονταν για την NP1EO από 2.12 έως 2.46 μg/l και 1.31 έως 1.98 μg/l για την NP2EO. Οι συγκεντρώσεις στην αφυδατωμένη λάσπη στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων (WWTP A) στην Αθήνα ήταν 1.86 και 1.32 mg/kg για την NP1EO και την NP2EO αντίστοιχα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα κατά τη διάρκεια της αναερόβιας χώνευσης της λάσπης παρατηρήθηκε απομάκρυνση 55% για την NP1EO ενώ για την NP2EO παρατηρήθηκε απομάκρυνση 35%. Τα ποσοστά αυτά είναι μικρότερα σε σχέση με την απομάκρυνση της IBF και της NPX όπου παρατηρήθηκε απομάκρυνση πάνω από 80% αντίστοιχα. Αντίθετα τα ποσοστά προσρόφησης στη λάσπη ήταν αρκετά υψηλά λόγω του υδροφοβικού χαρακτήρα των ουσιών αυτών (74%, 66% για την NP1EO και 60%, 73% για την NP2EO για τους WWTPA και WWTPB αντίστοιχα).

## 2.7 Τρικλοζάνη (TCS)

### 2.7.1 Παραγωγή και Χρήσεις

Η κατά IUPAC 5-χλωρο-2- (2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη, TCS, είναι ένας αντιμικροβιακός παράγοντας που χρησιμοποιείται σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας όπως οδοντόκρεμες, σαμπούνια, σαμπουάν και αποσμητικά (Singer et al., 2002). Ως χλωριωμένος βιναιθυλαιθέρας, η TCS είναι λιπόφιλη και σχετικά σταθερή, παρά την φαινολική υδροξυλική της ομάδα. (Σχήμα 2.19)



**Σχήμα 2.19:** Δομή της τρικλοζάνης

Η TCS χρησιμοποιείται, περισσότερο από 40 χρόνια ως αντισηπτικό, απολυμαντικό ή συντηρητικό σε κλινικές δοκιμές και σε διάφορα καταναλωτικά προϊόντα συμπεριλαμβανομένου καλλυντικά, προϊόντα καθαρισμού οικιακής χρήσης, παιχνίδια και βαφές. Επίσης ενσωματώνεται στην επιφάνεια ιατρικών συσκευών, σε πλαστικά υλικά, σε κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, σε σκευή κουζίνας κ.τ.λ, από τα οποία μπορεί να εκλύεται αργά για μεγάλο χρονικό διάστημα κατά τη διάρκεια της χρήσης τους και έτσι αποκτούν βιοκτόνο δράση. Στο ευρύ φάσμα στο οποίο είναι ενεργή περιλαμβάνει πολλούς, αλλά όχι όλους, τους τύπους των Gram-θετικών και των Gram αρνητικών, χωρίς σπόρια, βακτηρίων και μερικούς μύκητες *Plasmodium falciparum* και *Toxoplasma gondii*.

Η TCS έχει pKa 7.9-8.1 και ιονίζεται σε περιβαλλοντικό pH. Η ουσία κυριαρχεί στην φυσική της μορφή για pH 7.0 και στην ιονισμένη της μορφή για pH 8.5. Επίσης παρουσιάζει μικρή διαλυτότητα στο νερό (12 mg/l) (Reiss et al., 2001). Παρόλο αυτά η ουσία είναι πιο διαλυτή στην αιθανόλη (Aragon et al.2008) και στο λίπος με υψηλό συντελεστή αναλογίας οκτανόλης-νερού ( $\log K_{ow}=3.5-4.8$  σε ουδέτερο pH: Halden and Paul 2005). Η τιμή του  $\log K_{ow}$  εξαρτάται από το pH του νερού εξαιτίας της παρουσίας των υδροξυλίων. Εξαιτίας της υψηλής υδροφοβικότητας, η TCS αναμένεται να προσροφάται σε συγκεκριμένα υλικά. Επίσης δεν αναμένεται εξάτμιση από την επιφάνεια των νερών σύμφωνα με τον υπολογισμένο νόμο του Henry  $1,57 \times 10^{-7}$  atm-cm/mol. Στον Πίνακα 2.22 παρουσιάζονται κάποιες φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας.

**Πίνακας 2.22:** Φυσικοχημικές ιδιότητες της TCS (Wilson, 2006)

TCS	
Μοριακό Βάρος	289.6
Διαλυτότητα στο νερό	12 mg/l
Σταθερά διάσπασης (pKa)	7.9
Τάση Ατμών	$7 \times 10^{-4}$ Pa (25 <sup>0</sup> C)
συντελεστής κατανομής Log K <sub>ow</sub>	4.8
Αεροβική βιοαποικοδόμηση στο έδαφος (χρόνος ημιζωής)	17.4-35.2 ημέρες
Υδατική φωτόλυση (χρόνος ημιζωής)	41 λεπτά για pH=7 και 25 <sup>0</sup> C

### 2.7.2 Τοξικότητα

Η εισαγωγή της TCS μέσα στο υδατικό περιβάλλον μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την στοχοποίηση ευεργετικών μικροοργανισμών. Μετά από μακροχρόνια έκθεση στην TCS σε υψηλές συγκεντρώσεις, πολλά στελέχη μικροοργανισμών, υπάρχει μεγάλη πιθανότητα, να αποκτήσουν ανθεκτικότητα στην ουσία. Ενώ μέχρι τώρα επικρατούσε η άποψη ότι τα νοσοκομεία είναι η κύρια πηγή εισόδου των ανθεκτικών βακτηρίων στο υδατικό περιβάλλον, ωστόσο εξαιτίας της αυξημένης οικιακής χρήσης αντιβιοτικών είναι πολύ πιθανόν η υπόλοιπη κοινότητα να ευθύνεται για την κύρια είσοδο των ανθεκτικών στελεχών στο υδατικό περιβάλλον (Wilson, 2006).

Αρχικά θεωρείτο ότι η TCS επιτίθεται στη μεμβράνη του πλάσματος κάνοντας την πορώδη αποτρέποντας έτσι την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και κατά επέκταση την ανάπτυξη τους. Έτσι δικαιολογείται η αυξημένη χρήση της TCS ως αντιμικροβιακού παράγοντα σε προϊόντα προσωπικής χρήσης. Οι McMurray et al. (1998a) ήταν οι πρώτοι που κατάφεραν να ανακαλύψουν τον ειδικό μηχανισμό της TCS να αναστέλλει το γονίδιο FabI εκτός από την ιδιότητα του ως απλού βιοκτόνου. Η TCS έχει βρεθεί ότι αναστέλλει το ένζυμο FabI εμποδίζοντας το έτσι την συμμετοχή του στην βιοσυνθετική του οδό, η οποία είναι η σύνθεση λιπαρών οξέων.

Η TCS είναι πολύ τοξική στους υδρόβιους οργανισμούς του γλυκού νερού με τιμές LC50 και EC50 <1mg/l (Mensink et al., 1995). Τα άγλη του γλυκού νερού είναι τα πιο ευαίσθητα είδη (η μικρότερη NOEC 0.5-0.69μg/l και για 72-96 ώρες η EC50 0.7-1.4μg/l). Οι μορφολογικές αναλύσεις γενικά έδειξαν μεγεθυμένα μεγέθη κυττάρων όταν τα άγλη ήταν εκτεθειμένα σε συγκεντρώσεις  $\geq 2.2$  μg/l. Βέβαια, δεδομένα από μελέτες που αφορούσαν την αξιολόγηση της ανάκαμψης των αλγών μετά από τη έκθεση στην ουσία, έδειξαν ότι η ανάπτυξη τους επανέρχεται για συγκεντρώσεις μέχρι 13 μg/l. Σε μελέτη των Bedoux et al. (2012) βρέθηκε ότι η ύπαρξη της TCS στο υδατικό περιβάλλον προκαλεί διαταραχή στην ανάπτυξη και στην δομή της κοινότητας των αλγών. Μια αύξηση της συγκέντρωσης είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της βιομάζας και την μείωση της ποικιλομορφίας του γένους των αλγών.

Δεδομένα από άγλη του γλυκού νερού, υποδεικνύουν ότι η οικοτοξικότητα μειώνεται ελαφρώς παρουσία διαλυτού οργανικού υλικού, λόγω του ότι η προσρόφηση στο οργανικό υλικό μειώνει την βιοδιαθεσιμότητα.

Στις δοκιμές και οξείας και χρόνιας τοξικότητας με ασπόνδυλα του γλυκού νερού, οι τιμές των EC50 αυξάνουν, και η TCS είναι πολύ πιο τοξική στους οργανισμούς των γλυκών νερών στα φυσικά ή όξινα νερά απ ό τι σε αλκαλικά νερά. Για παράδειγμα, σε ένα τεστ 7 ημερών με την *C.dubia*, η μέγιστη αποδεκτή συγκέντρωση της τοξικής ουσίας για pH 7 ήταν περίπου 7 φορές μικρότερη απ ό τι για pH 8.

Η TCS αποδείχθηκε επίσης, ότι είναι πολύ τοξική για οργανισμούς που ζουν στα ιζήματα (το κουνούπι *Chironomus tentans* και το *Hyaella azteca*) όταν εκτίθενται μέσω της στήλης νερού στην ουσία. Αντιθέτως, η έκθεση του κουνουπιού *Chironomus riparius* στην TCS μέσω εμβολιασμού του ιζήματος δεν έδειξε καμιά επίδραση για συγκεντρώσεις μέχρι 100 mg/kg ξηρού ιζήματος.

Οι πληροφορίες για την τοξικότητα της TCS στους θαλάσσιους οργανισμούς είναι περιορισμένες. Οι διαθέσιμες πληροφορίες υποδεικνύουν ότι η TCS είναι πολύ τοξική για την grass shrimp με τις προνύμφες αυτών των ειδών να είναι στο πιο ευαίσθητο στάδιο ανάπτυξης του είδους στην έκθεση της ουσίας. Η TCS είναι επίσης πολύ τοξική στο θαλάσσιο βακτήριο *Vibrio fisheri*. Επίσης, κάποιες πρώιμες πληροφορίες αναφέρουν ότι η TCS δεν έχει ισχυρή οιστρογονική δραστηριότητα στα ψάρια του γλυκού νερού αλλά μπορεί να είναι ασθενώς οιστρογονική ή να έχει αντι-οιστρογόνο ή ανδρογόνο δράση ([www.nicnas.gov.au](http://www.nicnas.gov.au)).

Επίσης ιδιαίτερη ανησυχία προκαλούν τα χλωριωμένα προϊόντα της TCS καθώς μπορεί να διατηρούν ή ακόμα και να παρουσιάζουν βελτιωμένες αντιμικροβιακές ιδιότητες όπως επίσης και ιδιότητες ενδικρινικών διαταρακτών σε σχέση με την TCS. Επιπλέον η 4-Cl-TCS, η 6-Cl-TCS και η 4,6-Cl-TCS φωτολύονται και δημιουργούν τις αντίστοιχες διοξίνες, 2,3,7-τριχλωροδιβενζο-p-διοξίνη (2,3,7-TriCDD), 1,2,8-τριχλωροδιβενζο-p-διοξίνη (1,2,8-TriCDD) και 1,2,3,8-τετραχλωροδιβενζο (1,2,3,8 TCDD). Η τοξικότητα των διοξινών που δημιουργούνται από τη φωτόλυση των χλωριωμένων παραγώγων της TCS έχει υπολογιστεί ότι είναι 10 φορές πιο τοξικές από το 2,8-DCDD, που είναι το προϊόν της φωτόλυσης της TCS καθώς η τοξικότητα της διοξίνης αυξάνει με την υποκατάσταση του χλωρίου σε πλευρικές αλυσίδες.

Έχει υπολογιστεί ότι η ετήσια χρήση της TCS είναι υψηλότερη από 300 τόνοι στις Η.Π.Α και 350 τόνους στην Ευρώπη (Halden and Paull, 2005; Singer et al., 2002). Το 85% του συνολικού όγκου της TCS χρησιμοποιείται σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας, 5% για κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα και 10% για πλαστικά και υλικά που έρχονται σε επαφή με τροφές. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών

μέσω biomonitoring έχουν αναφέρει την ύπαρξη TCS σε βιολογικά υγρά (Dann and Hontela, 2011). Οι συγκεντρώσεις στα ούρα κυμαίνονται από 1 μέχρι 3.790 µg/l με μέσο όρο γύρω στα 12µg/l και με περίπου το 70% των δειγμάτων να είναι θετικά στην ουσία (Wolff et al., 2007; Kawaguchi et al., 2008; Calafat et al., 2008). Μικρότερες συγκεντρώσεις, μεταξύ 0.52, 007-16, και 0.03-0.54 µg/l βρέθηκαν αντίστοιχα σε ορούς (Allmyr et al. 2008, Dirtu et al. 2008) σε πλάσμα (Allmyr et al. 2006) και σε ανθρώπινο μητρικό γάλα (Adolfson-Erici et al., 2002; Allmyr et al., 2006; Dayan 2007). Μελέτη σε ποντικούς έδειξε ότι παρουσίασαν υποθερμία, κατασταλτική δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Miller et al., 1983), καθώς επίσης πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι μπορεί να προκαλέσει μείωση της παραγωγής σπέρματος σε αρσενικούς αρουραίους (Kumar et al., 2009). Άλλες έρευνες έχουν δείξει ότι η TCS μπορεί να προσδέεται στον υποδοχέα της ορμόνης του θυροειδούς. Οι αντι-ανδρογόνες και αντι-οιστρογονικές ιδιότητες της ουσίας έχουν καταδειχθεί in vitro (Chen et al, 2007; Gee et al., 2008). Επιδημιολογικές μελέτες και ζωικά μοντέλα έχουν δείξει ότι συγκεκριμένοι ενδοκρινικοί διαταράκτες, όπως η TCS, μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη του καρκίνου του προστάτη (Hess-Wilson και Knudsen 2006; Mink et al., 2008). Τελευταίες έρευνες συνδέουν την TCS με καρκίνο, αναπτυξιακές ανωμαλίες και τοξικότητα στο ήπαρ. Η παρουσία της TCS στα σπίτια συνδέεται επίσης άμεσα με τις διαρροές από υγρά προϊόντα προσωπικής φροντίδας με την χρήση αεροζόλ, και από διαχύσεις μέσω κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων που έχουν επεξεργαστεί με βακτηριοκτόνα (Geens et al., 2009). Η TCS έχει αναφερθεί σε σκόνη σε σπίτια και σε γραφεία από 25 μέχρι 1828 ng/g (μέσο όρο =220 ng/l) στη Φλάνδρα του Βελγίου (Geens et al., 2009) και από 240 μέχρι 2200 ng/g (με μέσο όρο 702 ng/g) στο Santiago de Compostela, Galicia-Spain (Canosa et al., 2007b)

### 2.7.3 Βιοαποδόμηση και Βιοσυσσώρευση

Δεδομένου της ευρεία χρήσης σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας η TCS, εισάγεται στο περιβάλλον είτε διαμέσου των επεξεργασμένων λυμάτων είτε απευθείας μέσω απορρίψεως ανεπεξέργαστων λυμάτων (από υπερχειλίσεις λυμάτων) ή προσροφήσεις σε λάσπη και βιοστερεά. Σε έρευνα που αφορούσε στην τύχη των οργανικών ρύπων των λυμάτων σε 139 αμερικάνικες τοποθεσίες, σε 30 πολιτείες, κατά τη διάρκεια του 1999 και του 2000, η US Geological Survey ανίχνευσε TCS σε 57.6% των περιοχών σε μέγιστο ποσό των 2300ng/l με μέσο ποσό γύρω στα 140n g/l (Kolpin et al.2002). Γενικότερα, υψηλά ποσοστά της TCS έχουν παρουσιαστεί σε εισόδους εγκαταστάσεων επεξεργασίας στην U.S.A στην Ευρώπη και στην Ασία με καταγεγραμμένες τιμές των 608-86200 ng/l, 52-21900 ng/l και 140-2301 ng/l, αντίστοιχα. Σε ρεύμα εξόδου, η TCS ανιχνεύτηκε σε συγκεντρώσεις που ποικίλουν από 50 μέχρι 5370, από 10 μέχρι 2210 και 11 μέχρι 360 ng/l αντίστοιχα. Το υψηλότερο ποσοστό αναφέρθηκε σε λύματα εισόδου στην Γεωργία, με συνολική συγκέντρωση TCS που κυμαινόταν από 13700 στα 86200 ng/l (Kumar et al. 2010). Η TCS έχει επίσης ανιχνευτεί σε επιφανειακά νερά τα οποία έχουν άμεση σχέση με λύματα σε συγκεντρώσεις της τάξης των 10ng/l (Kolpin et al. 2002, Lindstrom et al. 2002, Singer et al. 2002, Tixier et al.2002) καθώς και σε ιζήματα τα οποία έχουν άμεση σχέση με υδάτινα σώματα επηρεασμένα από λύματα. Η παρουσία της TCS στα φυσικά νερά είναι ιδιαίτερης σημασίας εξαιτίας της δυνατότητα της να έχει αντιμικροβιακή αντίσταση, τις ιδιότητες της ως ενδοκρινικός διαταράκτης καθώς επίσης ότι σχηματίζεται φωτοχημικά με το φως του ήλιου σε διγλωροδιβενζό-p-διοξίνες (2,8 DCDD) (Aranami and Readman, 2007).

Η πιο σημαντική διεργασία η οποία σημαντικό ρόλο στην περιβαλλοντική τύχη της ουσίας είναι η φωτόλυση (Buth et al, 2009). Όταν η ουσία μέσω των επεξεργασμένων λυμάτων απορρίπτεται σε φυσικά νερά, απορροφά ενέργεια και φωτοδιασπάται. Στην λίμνη Greifensee (Σουηδία) παρατηρήθηκε ότι η φωτόλυση είναι υπεύθυνη για το 80% της παρατηρούμενης απομάκρυνσης της ουσίας κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και αρχή του φθινοπώρου (Tixier et al.,2002). Υπολογίστηκε για διάφορα υδάτινα σώματα ότι ο χρόνος ημιζωής για τη φωτόλυση είναι της τάξης 1 ημέρας για τις καλοκαιρινές μέρες. Παρόλα αυτά υπάρχει έντονη ανησυχία όσον αφορά τη φωτοχημική διάσπαση της TCS λόγω της δυνατότητας σχηματισμού προϊόντων με διοξίνες. Έχει βρεθεί ότι οι πολυχλωροφαινοξυφαινόλες μετατρέπονται φωτοχημικά σε πολυχλωροδιβενζο-π-διοξίνες (PCDDs) μέσω ενδομοριακών αντιδράσεων φωτοχημικής υποκατάστασης (Nilsson C-A et al,1974).

Εργαστηριακά πειράματα έχουν δείξει ότι το φαινοξείδιο το οποίο προκύπτει από την διάσπαση της TCS, αποσυντίθεται γρήγορα στα επιφανειακά νερά και για pH=8 και κάτω από την ηλιακή ακτινοβολία. Παρόλα αυτά η μη διασπασμένη μορφή και μεθυλιωμένη TCS παρέμεινε σταθερή κατά τη διάρκεια της φωτοδιάσπασης. Ο σχηματισμός της μεθυλιωμένης TCS σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της βιολογικής μεθυσίας στα φυτά. Η μεταβολική τύχη των δύο αυτών προϊόντων είναι διαφορετική. Η TCS μπορεί και αποικοδομείται από την φωτόλυση υποδεικνύοντας έτσι μικρότερη βιοσυσσώρευση ενώ η ανθεκτικότητα της μεθυλιωμένης TCS οδηγεί σε μεγαλύτερη βιοσυσσώρευση στα ψάρια και στους υδρόβιους οργανισμούς.

Η TCS μπορεί να βιοδιασπασθεί κάτω από αερόβιες συνθήκες σε εργαστηριακά συστήματα ενεργού ιλύος (Federle et al, 2002, Stasinakis et al. 2007,2010, Svenningsen et al. 2011). Σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στους οποίους χρησιμοποιείται ενεργή ιλύς ως δευτεροβάθμια επεξεργασία, έχει παρατηρηθεί βαθμός απομάκρυνσης πάνω από 90%( McAvoy et al.2002,Bester 2003,Kanda et al.2003, Sabaliunas et al.2003, Heidler and Halden 2007). Οι Singer et al. (2002) έδειξαν ότι περίπου το 79% της αποικοδόμησης οφείλεται στην αερόβια και αναερόβια αποικοδόμηση μέσα στη εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων ενώ το 15% στην προσρόφηση στην ενεργό ιλύ.

Λίγα στοιχεία έχουν αναφερθεί για τους μικροοργανισμούς που ευθύνονται για την βιοαποικοδόμηση της TCS στα λύματα και στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Η TCS ως αντιμικροβιακός παράγοντας έχει την ιδιότητα να αναχαιτίζει ένα ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την σύνθεση των λιπαρών οξέων. Ωστόσο υπάρχουν μερικά βακτήρια τα οποία είναι ικανά να απενεργοποιούν την TCS. Ο Hay et al (2001) παρήγαγε μια βακτηριακή 'κοινότητα' που την εμπλούτισε με ενεργό ιλύ από εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων και η οποία κατάφερε να αποικοδομήσει 35% από ένα διάλυμα με 500mg/l TCS σε 13 μέρες. Το βακτήριο *Sphingomonas* sp απομονώθηκε από την 'κοινότητα' ως ιδιαίτερα αποτελεσματικό. Επίσης απομονώθηκαν από το έδαφος οι *Pseudomonas putida* και *Alcaligenes xyloxydans* καθώς έχουν αναφερθεί ως ανθεκτικά και ικανά να χρησιμοποιούν την TCS ως μοναδική πηγή άνθρακα.

Ο Zhao (2006), επίσης, διαπίστωσε ότι το *Nitrosomonas*, ένα σημαντικό βακτήριο νιτροποίησης σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, έχει την ικανότητα να αποικοδομεί την TCS μέσω του μεταβολισμού του. Η TCS και τα χλωριωμένα προϊόντα αποδόμησης της μπορούν επίσης να αποικοδομηθούν από βακτήρια (*Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Burkholderia*) υπό αερόβιες συνθήκες.

Σε έρευνα των Ying and Kookana (2007), μελετήθηκε η ύπαρξη και η συμπεριφορά της TCS στις

εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων στην Αυστραλία. Η ουσία ανιχνεύτηκε σε όλα τα επεξεργασμένα λύματα σε συγκεντρώσεις στην υδατική φάση που κυμαίνονται από 23 ng/l μέχρι 434 ng/l με μέση συγκέντρωση 142 ng/l. Η κύρια μέθοδος επεξεργασίας που χρησιμοποιείται στην Αυστραλία είναι βιολογική επεξεργασία με ενεργό ιλύ. Τα αποτελέσματα της Αυστραλίας είναι συγκρίσιμα με 7 Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων στην Σουηδία που κυμαίνονταν από 42 ng/l μέχρι 213 ng/l με μέση συγκέντρωση 116 ng/l. Αντίθετα μεγάλες διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν στις Ηνωμένες Πολιτείες και στο Ηνωμένο Βασίλειο όπου οι τιμές κυμαίνονταν από 35-2700 ng/l με μέση τιμή 1180 ng/l και 340-1100 ng/l με μέση τιμή 753 ng/l αντίστοιχα (McAvoy et al., 2002; Reiss et al., 2002; Sabaliunas et al., 2003). Παρόλα αυτά οι McAvoy et al. (2002) παρατήρησε ότι οι συγκεντρώσεις στην τελική έξοδο από δυο Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων στις Η.Π.Α., οι οποίες χρησιμοποιούσαν τεχνολογία ενεργού ιλύος κυμαινόντουσαν μεταξύ 240 ng/l και 410 ng/l. Οι συγκεντρώσεις αυτές είναι πολύ πιο χαμηλές σε σχέση με τις άλλες δυο που χρησιμοποιούσαν χαλικοδυλιστήρια (1600-2700 ng/l). Τα συστήματα ενεργού ιλύος έχουν μεγαλύτερους υδραυλικούς χρόνους παραμονής (>15 ώρες) σε σχέση με τα χαλικοδυλιστήρια (1-4 ώρες). Συμπερασματικά οι τεχνολογίες επεξεργασίας μπορεί να είναι καθοριστικές για τις συγκεντρώσεις της TCS στην τελική έξοδο των εγκαταστάσεων.

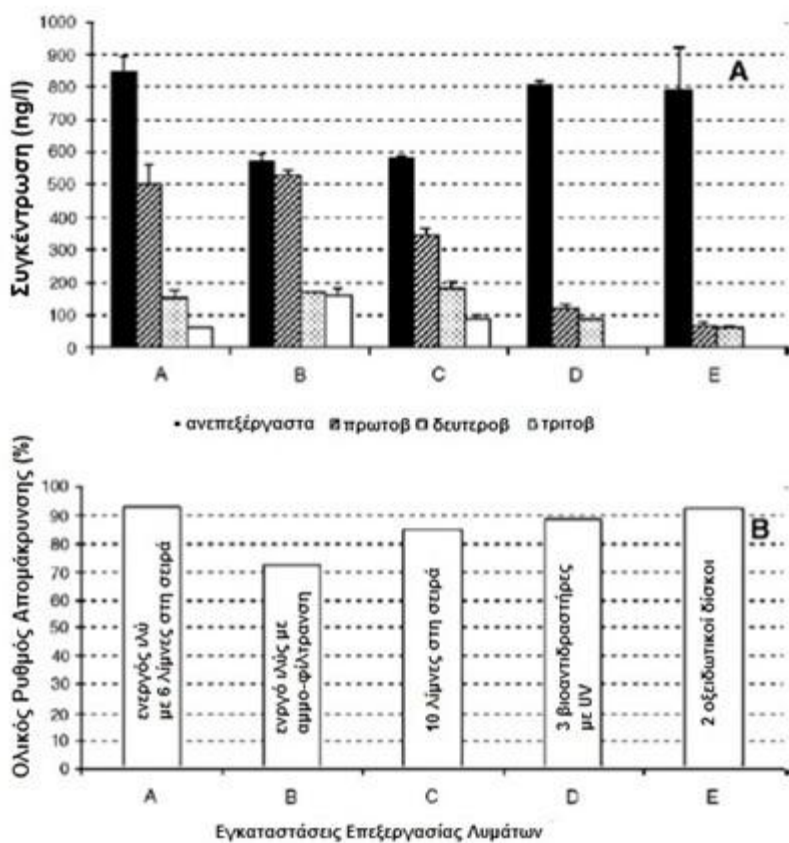
Μελετήθηκε επίσης από τους Ying και Kookana (2007) η απομάκρυνση της TCS σε πέντε διαφορετικές εγκαταστάσεις, στις οποίες η συγκέντρωση της ουσίας στα ανεπεξέργαστα λύματα κυμαίνονταν από 573ng/l-845 ng/l ενώ στις τελικές εξόδους των εγκαταστάσεων κυμαίνονται από 60.5–159 ng/l. Η ολική απομάκρυνση των 5 εγκαταστάσεων ήταν 93%, 72%, 85%, 89% και 92% για τις εγκαταστάσεις A, B, C, D και E αντίστοιχα ( Σχήμα 2.20). Για τις δύο αστικές εγκαταστάσεις με συστήματα ενεργού ιλύος, παρατηρήθηκε απομάκρυνση 41% για την A εγκατάσταση και 7% για την B εγκατάσταση. Σημαντική μείωση της TCS παρατηρήθηκε σε κάθε στάδιο της επεξεργασίας για την εγκατάσταση A και οι ρυθμοί απομάκρυνσης ήταν 41%, 41%, 11% για την πρωτοβάθμια, δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια (λίμνες) επεξεργασία αντίστοιχα. Παρόλο που και οι δυο εγκαταστάσεις A και B λειτουργούν με συστήματα ενεργού ιλύος, ο ρυθμός απομάκρυνσης της TCS ήταν χαμηλότερος στην εγκατάσταση B απ ότι στην A. Μόνο μια μικρή απώλεια παρατηρήθηκε στην εγκατάσταση B κατά τη διάρκεια της πρωτοβάθμιας επεξεργασίας (πρωτοβάθμια καθίζηση) και της τριτοβάθμιας επεξεργασίας (φίλτρωση με άμμο και χλωρίωση).

Μια σταδιακή μείωση στην συγκέντρωση της TCS παρατηρήθηκε στην εγκατάσταση C που περιλάμβανε μια σειρά από λίμνες. Η συγκέντρωση της TCS μειώθηκε από 586 ng/l στα ανεπεξέργαστα λύματα, στα 344 ng/l στην 4<sup>η</sup> λίμνη, στα 182 ng/l στην 6<sup>η</sup> λίμνη και στα 90 ng/l στην 10 λίμνη. Έτσι φαίνεται ότι υπάρχει αρκετά καλό ποσοστό απομάκρυνσης από λίμνη σε λίμνη. Στις πρώτες δύο αναερόβιες λίμνες, η απώλεια της TCS πιθανότατα οφείλεται περισσότερο στην καθίζηση με τη λάσπη και λιγότερο στην αναερόβια αποδόμηση καθώς αυτή η διεργασία έχει φανεί να μη συμβάλει σημαντικά στην αποδόμηση της ουσίας (McAvoy et al., 2002). Εκτός από τις δυο πρώτες αναερόβιες λίμνες, οι υπόλοιπες οκτώ ήταν όλες αεριζόμενες. Για αυτό, η αερόβια βιοαποδόμηση και η καθίζηση είναι οι κύριες διεργασίες που οφείλονται στην παρατηρούμενη εξασθένηση της ουσίας από λίμνη σε λίμνη. Οι άλλες δυο αγροτικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (εγκατάσταση E με δύο οξειδωτικούς δίσκους και εγκατάσταση D με τρεις βιοαντιδραστήρες) έφτασαν ρυθμούς απομάκρυνσης 89% και 92% αντίστοιχα. Μεγάλη πτώση της ουσίας παρατηρήθηκε και στην εγκατάσταση D και E κατά το στάδιο της διαύγασης. Μικρή απομάκρυνση παρατηρήθηκε στο τελικό στάδιο της επεξεργασίας (απολύμανση με UV και



χλωρίωση για την εγκατάσταση D , χλωρίωση για την εγκατάσταση E).

Έτσι παρόλο που η απομάκρυνση της TCS εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον γενικό σχεδιασμό μια εγκατάστασης, τις συνθήκες λειτουργίας, το φορτίο που δέχεται, και τον υδραυλικό χρόνο παραμονής, έχουν αναφερθεί πολύ ικανοποιητικά ποσοστά απομάκρυνσης της ουσίας για όλες τις τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται. Συνοπτικά έχουν αναφερθεί ποσοστά 58-96% για περιστρεφόμενους βιολογικούς εκχυλιστές , 86-97% για χαλικοδιωλιστήρες και 95-98% για ενεργό ιλύ στην Αγγλία (Thompson et al., 2005). Μία συνεχής εργαστηριακή μελέτη στην ενεργό ιλύ έδειξε ότι περισσότερο από το 80% της απομάκρυνσης της TCS αποδίδεται στην βιοαποδόμηση κατά την επεξεργασία με ενεργό ιλύ (Federle et al., 2002). Για αυτό πιστεύεται ότι η βιολογική αποδόμηση είναι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης της TCS σε μια Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων. Παρόλα αυτά και η προσρόφηση στη λάσπη μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση της TCS στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (Ying and Kookana, 2007).



**Σχήμα 2.20:** Απομάκρυνση της TCS σε Αυστραλιανές Εγκαταστάσεις Α) Υδατικές συγκεντρώσεις της TCS σε διάφορα στάδια Επεξεργασίας (ανεπεξέργαστα, πρωτοβάθμια, δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια λύματα) φαίνονται για τις εγκαταστάσεις A και B. Για την εγκατάσταση C με 10 λίμνες στη σειρά, τα δείγματα συλλέχθηκαν στην είσοδο της εγκατάστασης, στην 4<sup>η</sup>, στην 6<sup>η</sup> και στην 10<sup>η</sup> λίμνη. Για τις εγκαταστάσεις D και E, συλλέχθηκαν δείγματα από την είσοδο, από τον διαυγαστήρα και την τελική έξοδο. Β) Συνολικές απομακρύνσεις σε κάθε εγκατάσταση, Ying και Kookana (2007)

Παρά την συχνή εμφάνιση της TCS στην ιλύ, έχουν γίνει λίγες έρευνες για την συμπεριφορά της ουσία κατά τη διάρκεια της αναερόβιας χώνευσης. Οι Heidler and Halden (2009) υποστηρίζουν, χρησιμοποιώντας στοιχεία από Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων, ότι η αναερόβια χώνευση αναμένεται να έχει μικρή έως καθόλου επίδραση στην απομάκρυνση της ουσίας. Αντιθέτως σε έρευνα των Gangadharam Rythiya Veetil et al. (2012), παρατηρήθηκε σημαντικό ποσοστό βιοδιάσπαης της TCS κάτω από μεθαγόνες συνθήκες όταν χρησιμοποιήθηκαν οξικές ενώσεις για υπόστρωμα. Τα κύρια παραπροϊόντα ήταν φαινόλες, κατεχόλες και 2,4-διχλωροφαινόλες.

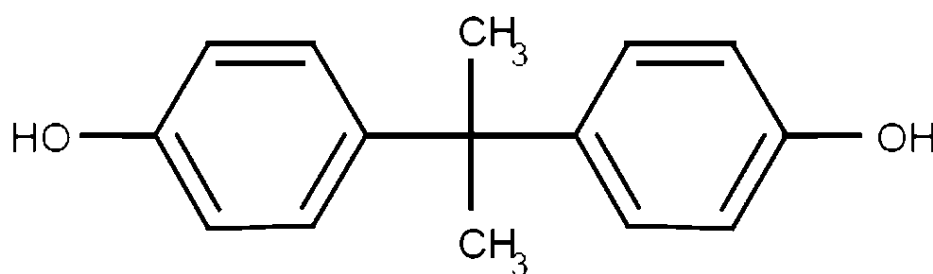
Η TCS έχει pKa 7.9-8.1, άρα η ουσία κυριαρχεί στην φυσική της μορφή για pH 7.0 και στην ιονισμένη της μορφή για pH 8.5. Έχει δειχθεί ότι τα οργανικά μόρια είναι λιγότερο πιθανόν να διασχίσουν τη λιπιδική μεμβράνη και να βιοσυσσωρευθούν όταν είναι στην ιονισμένη τους μορφή. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με την πολύ μεγαλύτερη βιοσυσσώρευση που έχει βρεθεί στους υδρόβιους οργανισμούς που εκτίθενται στην TCS για pH μικρότερο του pKa που η ουσία είναι στη φυσική της μορφή. Σε νερά όπου το pH είναι πάνω από 8.0 κυριαρχεί η ιονισμένη μορφή της TCS που έχει σαν αποτέλεσμα χαμηλότερα ποσοστά βιοσυσσώρευσης.

Η συσσώρευση της TCS έχει παρατηρηθεί σε υδρόβιους οργανισμούς κυρίως της κατώτερης τροφικής αλυσίδας όπως στα άλγη, στα οστρακοειδή και μερικά ψάρια. (Bedoux G, 2012) Υψηλά επίπεδα της TCS (0.2-4.4mg/Kg) έχουν αναφερθεί την χολή των ψαριών όπως 129mg/kg σε ιριδίζουσες πέστροφες (*Oncorhynchus mykiss*), οι οποίες βέβαια εκτίθενται σε απορρίψεις εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων (Adolfson –Erici et al., 2002) ,καθώς και σε πλάσμα του αίματος σε ψάρια στον ποταμό Detroit της Β.Αμερικής (Valters et al. 2005). Μικρότερα ποσοστά βρέθηκαν σε ιστούς γαλαζολιόψαρων, στην χολή άγριων ψαριών (Adolfsson-Erici et al. 2002, Ramirez eta al. 2009) καθώς και σε πλάσμα σε άγρια ρινοδέλφια (*Tursiops truncates*) του Ατλαντικού στις εκβολές των Η.Π.Α, όπου η TCS βρέθηκε σε συγκέντρωση μεταξύ 30 με 600 ng/g (Balmer et al 2004, Leiker et al.2009)

## 2.8 Βισφαινόλη (BPA)

### 2.8.1 Παραγωγή και Χρήσεις

Η κατά IUPAC 4,4-(δϋδροξϋ-2,2 διφαινόλυο) προπάνιο, BPA, είναι ένα συνθετικό χημικό το οποίο εξαιτίας της δομής του έχει πολλές χρήσεις. Το μόριο της BPA περιλαμβάνει δύο φαινολικούς δακτύλιους που συνδέονται με μια μεθυλο-γέφυρα, με δυο ομάδες μεθυλίου που συνδέονται πάνω στη γέφυρα (Σχήμα 2.21) (Carlisle et al., 2009).



Σχήμα 2.21: Δομή της BPA

Η BPA είναι ένα συνθετικό χημικό, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως ως συστατικό για την παραγωγή:

- Πολυκαρβινικών πλαστικών, τα οποία χρησιμοποιούνται σε μεγάλη ποικιλία προϊόντων, συμπεριλαμβανομένου βρεφικών μπουκαλιών και μπουκάλια νερού, σε ιατρικές συσκευές, CDs, και σπιτικά ηλεκτρονικά. Αυτά τα πλαστικά είναι συνήθως καθαρά και άκαμπτα και συνήθως είναι σημειωμένο το νούμερο 7 ή το γράμμα PC δίπλα στο σύμβολο ανακύκλωσης.
- Εποξικές ρητίνες, οι οποίες χρησιμεύουν ως επικαλύψεις στο εσωτερικό στις κονσερβών τροφίμων έτσι ώστε να αποφευχθεί η αντίδραση με το μέταλλο.
- Σε πολυμερή τα οποία χρησιμοποιούνται σε οδοντιατρικά σφραγίσματα.
- Ως πρώτη ύλη στην παραγωγή χαρτιού όπως θερμικό και αυτογραφικό χαρτί. Γι αυτό και στα απόβλητα πολλών εργοστασίων τα οποία ανακυκλώνουν χαρτί περιέχεται βισφαινόλη. (Fukazawa et al., 2001).

Η BPA συναντάται σε στερεά μορφή και έχει χαμηλή μεταβλητότητα σε συνθήκες θερμοκρασίας περιβάλλοντος. Επίσης η διαλυτότητα στο νερό κυμαίνεται στα 120-300 mg/l και έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα σε αλκαλικές τιμές pH. Έτσι σύμφωνα με αυτές τη ιδιότητες της ουσίας, ένα απλό μοντέλο ισορροπίας προβλέπει ότι περίπου το 50% του BPA που υπάρχει στο περιβάλλον έχει τη δυνατότητα να προσδένεται σε ιζήματα και στο έδαφος και το υπόλοιπο να παραμένει στο νερό. Κάποιος από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της BPA παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.23.

**Πίνακας 2.23:** Φυσικοχημικές ιδιότητες της BPA ( Staples et al., 1998; Carlisle et al., 2009)

<b>BPA</b>		
Μοριακός Τύπος	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	
Μοριακό Βάρος	228.29	g/ mol
Πυκνότητα	1.2	g /cm <sup>3</sup>
Διαλυτότητα στο νερό	<100 mg L <sup>-1</sup> (21.5 <sup>0</sup> C)	mg /L
	120 mg L <sup>-1</sup> (20-25 <sup>0</sup> C)	
	300 mg L <sup>-1</sup> (20-25 <sup>0</sup> C)	
	120-200 mg L <sup>-1</sup> (20-25 <sup>0</sup> C)	
Σημείο τήξεως	158-159 <sup>0</sup> C	
	157 <sup>0</sup> C	
	153 <sup>0</sup> C	
Σημείο Βρασμού	220 <sup>0</sup> C	(4mm Hg)
	398 <sup>0</sup> C	(760mm Hg)
Τάση Ατμών	87 Pa (190 <sup>0</sup> C)	
Log K <sub>ow</sub>	2.30-3.82	
pka	9.59 , 10.2	

Η BPA μπορεί να παραχθεί με δύο διαφορετικές μεθόδους. Κατά την πρώτη μέθοδο συμπυκνώνεται φαινόλη με ακετόνη σε χαμηλό pH και σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας υπό την παρουσία καταλύτων. Η απλή BPA στη συνέχεια καθαρίζεται με μεθόδους απόσταξης. Το καθαρό προϊόν φιλτράρεται και ξηραίνεται. Η δεύτερη μέθοδος παραγωγής είναι παρόμοια αλλά περιλαμβάνει διαφορετικούς καταλύτες και τεχνολογία καθαρισμού η οποία δημιουργεί λιγότερα απόβλητα. Η αποξηραμένη BPA (η οποία μπορεί να έχει παραχθεί και με τους δύο τρόπους) σχηματίζει σβώλους, νιφάδες ή κρυστάλλους. Κατά τη διαδικασία παραγωγής της BPA παράγονται απόβλητα (υπολείμματα πλυσίματος και απόβλητα). Η BPA μπορεί επίσης να απελευθερωθεί εκ παραδρομής μέσω εκπομπής σκόνης από κλειστά συστήματα κατά τη διάρκεια παραγωγής, χειρισμού και μεταφοράς. Το 1993, περίπου 109 τόνοι δηλαδή το 0.017% του παραγόμενου BPA αναφέρθηκαν ως εκλύσεις στον ατμοσφαιρικό αέρα, στα επιφανειακά νερά ή στα απόβλητα (Staples et al.,1998)

### 2.8.2 Τοξικότητα

Οι τοξικές επιδράσεις του BPA στους υδρόβιους οργανισμούς συνοψίζονται στο Πίνακα 2.24. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες, είναι μικρής διάρκειας εργαστηριακές μελέτες που αφορούν ένα

μόνο είδος. Σε πειράματα που έγιναν με συγκεντρώσεις της BPA σχετικές με αυτές που συναντώνται στο περιβάλλον, παρατηρήθηκαν επιδράσεις στην medaka, στην καστανή πέστροφα, στη zebrafish στα μαλάκια, και στα κωπήποδα. Η BPA προκαλεί ενδοκρινικές διαταραχές, δυσπλασίες, διαταραχές στην ανάπτυξη, χρωμοσωμικές βλάβες, βιοχημικές αλλαγές και σε επαρκώς υψηλές συγκεντρώσεις θνησιμότητα. Οι περισσότερες επιπτώσεις που έχουν αναφερθεί στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις του περιβάλλοντος είναι προβλήματα στη αναπαραγωγή ή στην ανάπτυξη. Τα στοιχεία από τις μελέτες που έχουν γίνει είναι αρκετά έτσι ώστε να χαρακτηριστεί η BPA ως μια τοξική ουσία για το περιβάλλον. Οι μικροοργανισμοί που ζουν στους υγροβιότοπους και γενικά αυτοί που ζουν σε κάποιο βάθος είναι πιθανό να έχουν υψηλότερη έκθεση στην ουσία, δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις BPA είναι υψηλότερες στα ιζήματα από ότι στη στήλη του νερού.

**Πίνακας 2.24:** Τοξικότητα της BPA (Carlisle et al., 2009)

Είδη	Έκθεση στην BPA	Επιδράσεις
Επιδράσεις στην Αναπαραγωγή		
<b>Χρυσόψαρο (Carassius auratus)</b>	1μM για 8 ημέρες	Επαγωγή βιτελλογένεσης
<b>Ζεβρόψαρο</b>	1000 μg/l για 3 βδομάδες	Επαγωγή βιτελλογένεσης
<b>Ξιφονούρης (Xiphophorus hellen)</b>	2000 μg/l για 3 ημέρες	Έκφραση του mRNA Βιτελογενίνη
	2000 μg/l για 60 ημέρες	απόπτωσης κυττάρων των όρχεων των ψαριών
<b>Χοντροκέφαλος κυπρίνος (Pimephales promelas)</b>	119-205 μg/l για 43 ημέρες	Επαγωγή βιτελλογένεσης
	640 & 1280 μg/l για 43 ημέρες 60 μg/l για 71 ημέρες	Επαγωγή βιτελλογένεσης
	640 & 1280 μg/l για 164 ημέρες	Αναστολή της γονιδιακής ανάπτυξης μείωση των αυγών F1 εκκολαψιμότητας
	16 -1280 μg/l για 164 ημέρες	Αναστολή της σπερματογένεσης
<b>Ιαπωνικό ρυζόψαρο (Oryzias latipes)</b>	1820 μg/l για 60 ημέρες	Επαγωγή των όρχεων-ωαρίων
	10 μg/l 100 ημέρες μετά την εκκόλαψη	Επαγωγή των όρχεων-ωαρίων
	837-3120 μg/l για 3 βδομάδες	Επαγωγή της βιτελλογένεσης και των όρχεων-ωαρίων
	10 μg/l για 4 βδομάδες 100 μg/l για 2 βδομάδες	Επαγωγή συγκεκριμένων θηλυκών πρωτεϊνών
	10 μM για 2 βδομάδες	Μειωμένα νούμερα αυγών και εκκολαψ.
	100-500 μg/l για 6 ημέρες	Έκφραση της L mRNA Choriogenin
	500 μg/l για 6 ημέρες	Έκφραση της H mRNA Choriogenin
	500-1000 μg/l 1-5 βδομάδες	Αυξημένος ορός της βιτελογενίνης
	500-1000 μg/l διχλωρο-BPA	Αυξημένος ορός της βιτελογενίνης
	1000 μg/l για 5 βδομάδες	Επαγωγή βιτελλογένεσης
<b>Ρυζόψαρο (Oryzias latipes)</b>	200 μg/l για 15 ημέρες	Βλάβες του εμβρύου/ αποτυχία κολυμβησης
<b>Ρυζόψαρο</b>	200 μg/l για 9 ημέρες	Δυσμορφία εμβρύων
<b>Καστανή πέστροφα (Salmo trutta f fario)</b>	1.75-2.4 μg/l για 2 μήνες	<b>Αρσενικά:</b> μείωση πυκνότητας σπέρματος & κινητικότητα, <b>Θυληκά:</b> καθυστερημένη ωορρηξία
	5 μg/l για 2 μήνες	<b>Αρσενικά:</b> μείωση μάζα σπέρματος <b>Θηλυκά:</b> Όχι ωορρηξία
<b>Ιριδίζουσα πέστροφα (O mykiss)</b>	70-500 μg/l για 6 & 12 ημέρες	Επαγωγή βιτελλογένεσης
<b>Μεσογειακός σολωμός (Salmo m Sebago) yolk-sac fry</b>	1000 μg/l για 6 ημέρες	Οίδημα του σάκου του κρόκου και αιμορραγία
<b>Σολωμός του Αντλαντικού (Salmo salar)</b>	250000 ή 125000 μg/kg για 1 βδομάδα	Επαγωγή βιτελλογένεσης & της πρωτεΐνης του κελύφους

Η ανάλυση της βιτελλογενίνης (VTG) όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.24 είναι ένας συχνά χρησιμοποιούμενο *in vivo* βιοδείκτης για εμφάνιση οιστρογονικότητας σε ωοτόκα σπονδυλωτά (Heppell et al, 1995; Lattier et al, 2001). Η BPA προκαλεί την σύνθεση της VTG και άλλων πρωτεϊνών σε πολλαπλά είδη σε συγκεντρώσεις από 59 μέχρι 2000  $\mu\text{g/l}$ . Η VTG είναι μια μεγάλη σύνθετη φωσφολιπογλυκοπρωτεΐνη που δεσμεύει το ασβέστιο (μοριακή μάζα 250-600 KD) και που απαιτείται για την κανονική ωρίμανση ωοκυττάρων στα αναπτυσσόμενα θηλυκά (Matozzo et al., 2007). Παράγεται στο ήπαρ σε απόκριση στην διέγερση του οιστρογόνου, εκκρίνεται στο αίμα, και μεταφέρεται στο ωοκύτταρο, όπου ενσωματώνεται ως συστατικό του κρόκου. Όντας οιστρογόνο-εξαρτώμενη, η παραγωγή της VTG συνήθως συναντάται στα θηλυκά είδη. Πολύ σπάνια μπορεί να ανιχνευθεί μικροποσότητα της VTG σε αρσενικά ή θηλυκά σεξουαλικά ανώριμα είδη. Ωστόσο, τα αρσενικά φέρουν το γονίδιο της VTG και η έκθεση σε οιστρογόνα μπορεί να προκαλέσει την έκφραση της (Sumpter και Jobling, 1995). Η VTG μπορεί να μετρηθεί στο ήπαρ, στο αίμα και στη βλέννα από αρσενικά και θηλυκά ψάρια καθώς και σε πρωτογενείς καλλιέργειες ηπατοκυττάρων (Navas και Segner, 2006).

Τα επίπεδα οξείας τοξικότητας, που ορίζεται ως η συγκέντρωση στην οποία το ήμισυ των οργανισμοί επιβιώσουν (τιμές LC50), έχουν μετρηθεί σε μία ποικιλία υδρόβιων οργανισμών, όπως σε άλγη του γλυκού και του αλμυρού νερού, ασπόνδυλα (δαφνίδες και γαρίδες) και σε ψάρια. Οι τιμές LC50 κυμαίνονται από 1000 έως 20.000  $\text{mg/l}$ . (Staples et al, 1998; Staples et al, 2002).

Το επίπεδο της μη παρατηρούμενης επίδρασης συγκέντρωση (NOEC) της BPA σε χρόνια δοκιμασία αναπαραγωγής 21 ημερών στην *Daphnia* ήταν 3160  $\mu\text{g/l}$  (Caspers, 1998). Αποτελεσματικές συγκεντρώσεις σε επίπεδο του 10% (EC<sub>10</sub>) προσδιορίστηκαν στο γλυκό νερό και στα θαλάσσια άλγη ότι είναι 1360 έως 1680  $\mu\text{g/l}$  και 400 - 690  $\mu\text{g/l}$ , αντίστοιχα (Alexander et al., 1988). Τα αποτελέσματα μελέτης πολλαπλών γενεών για ψάρια χοντροκέφαλους (fathead minnows) έδειξαν ότι η επιβίωση, η ανάπτυξη και η αναπαραγωγική ικανότητα για τρεις γενιές επηρεάστηκαν μόνο για συγκεντρώσεις 640  $\mu\text{g/l}$  και άνω, ενώ εκκολαπιμότητα των F2 (δεύτερη γενιά) αυγών σε συγκέντρωση ελαφρά μειωμένη σε 160  $\mu\text{g/l}$ . Η NOEC που μετρήθηκε σε αυτό μελέτη ήταν 16  $\mu\text{g/l}$ . (Sohoni et al, 2001; Caunter, 2000).

### 2.8.3 Βιοποδόμηση και Βιοσυσσώρευση

Συμπεράσματα για την διασπορά της BPA στο περιβάλλον μπορούν να εξαχθούν απ τις φυσικές ιδιότητες της ουσίας (Staples et al, 1998).

Έχει αποδειχθεί οη BPA είναι άμεσα βιοδιασπάσιμη κάτι που σημαίνει ότι διασπάται γρήγορα στο περιβάλλον. Αυτό επιβεβαιώνεται και από έρευνα που έχει γίνει υπό την καθοδήγηση του Οργανισμού Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης η οποία κατέδειξε ότι η BPA πληρεί τα απαραίτητα κριτήρια ως "εύκολα βιοδιασπάσιμη ουσία".

Η βιοδιάσπαση παίζει άμεσο ρόλο στην απομάκρυνση της BPA. Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, η BPA διασπάται ταχύτατα σε επιφανειακά νερά και σε ιζήματα τα οποία εξετάστηκαν και προέρχονται από διαφορετικούς γεωγραφικούς χώρους, κάτι το οποίο σημαίνει ότι οι μικροοργανισμοί οι οποίοι μπορούν να αποδημήσουν αυτήν την ουσία υπάρχουν παντού. Και σε πρακτικές μελέτες που έχουν γίνει όμως έχει διαπιστωθεί η ικανοποιητική απομάκρυνση της ουσίας BPA σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Παρατηρήθηκε σε ένα τυπικό σύστημα

επεξεργασίας λυμάτων με ενεργό ιλύ απομάκρυνση 92-98% (Klecka et al, 2001).

Τα ίχνη της BPA που παραμένουν στα επεξεργασμένα λύματα θα συνεχίσουν να βιοδιασπώνται στα νερά που καταλήγουν και κατάντη της εγκατάστασης επεξεργασίας (Klecka et al, 2001). Από μελέτες που έγιναν χρησιμοποιώντας δείγματα από επιφανειακά νερά από διάφορες γεωγραφικές περιοχές φαίνεται ότι η βιοδιάσπαση της βισφαινόλης εξακολουθεί να είναι ταχύτατη με χρόνο ημι-ζωής που κυμαίνεται από 1-4 ημέρες. Παρόλο την αποδόμηση της BPA στο σύντομο χρόνο ημιζωής, το διάστημα είναι αρκετό ώστε να αρκετό ώστε να προκληθεί πρόβλημα στους υδρόβιους οργανισμούς. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι πολύ μικρές ποσότητες ή ακόμα και μηδαμινές συγκεντρώσεις της ουσίας στα επιφανειακά νερά δεν σημαίνει απαραίτητα ότι δεν υπάρχει μόλυνση από την ουσία στους υδρόβιους μικροοργανισμούς (Larsson et al., 1999; Belfroid et al., 2002; Kang and Kondo, 2006).

Η BPA μπορεί να απελευθερωθεί στο περιβάλλον από την εκροή μια εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων, από στραγγιδια υγειονομικών χώρων ταφής (μέσω της υδρόλυσης της βισφαινόλης από τα πλαστικά) ή από τη φυσική αποδόμηση πολυκαρβονικών πλαστικών. Οι εκροές από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων καθώς και τα στραγγιδια των χώρων υγειονομικής ταφής μπορούν να θεωρηθούν ως σημειακές πηγές της BPA στο περιβάλλον ενώ θραυσματα από εποξικές ρητίνες και υπολείμματα από πολυκαρβονικά πλαστικά τα οποία εισέρχονται στον υδροκρίτη μέσω απορροής δεν θεωρούνται ως σημειακής πηγής της ουσίας. Η BPA μπορεί να εισέλθει στο περιβάλλον μέσω πιθανόν φυσικών και χημικών διασπάσεων κατά τη διάρκεια της διάθεσης και ανακύκλωσης μέσα στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων καθώς επίσης και από διαρροές από εργοστάσια παραγωγής. (Mohapatra et al., 2011)

Σαν συνέπεια της ευρείας χρήσης της, η BPA είναι ευρέως διαδεδομένη στο περιβάλλον. Οι συγκεντρώσεις της BPA έχουν αναφερθεί ότι στις οικιακές εκροές είναι της τάξης των 490ng/l καθώς η συγκέντρωση της κατά τη διάθεση αποβλήτων έχει αναφερθεί της τάξης του 1 g /l. Σε εκροές μονάδων επεξεργασίας από διάφορα μέρη ανιχνεύθηκε μια μέση συγκέντρωση της BPA σε όλα τα δείγματα της τάξης των 16 ng/l. Οι αναλύσεις στους υδάτινους αποδέκτες που δέχονταν αυτήν την εκροή έδωσαν μια μέση τιμή συγκέντρωσης της τάξης των 4.7 ng/l. (Birkett and Lester, 2003).

Σύμφωνα με τους Gomez et al. (2006) έπειτα από παρακολούθηση των συγκεντρώσεων της BPA σε μονάδα επεξεργασίας αποβλήτων ανιχνεύθηκαν στην είσοδο της 0.72 έως 3.4 μg/l με μέση τιμή συγκέντρωσης ίση με 1.4 μg/ l, ενώ στην έξοδο της μονάδας ανιχνεύθηκαν 0.14-0.98 μg/ l με μέση τιμή συγκέντρωσης ίση με 0.38 μg/ l.

Οι Clara et al. (2005) χρησιμοποίησαν 3 πραγματικές μονάδες και μια πιλοτική με αντιδραστήρα μεμβρανών για τον προσδιορισμό απομάκρυνσης της BPA σε διαφορετικές ηλικίες ιλύος (θc). Οι συγκεντρώσεις εισόδου παρουσίασαν τιμές από 2376 ng/ l έως 720 ng/ l . Παρατηρήθηκε απομάκρυνση της ουσίας στη μονάδα με την υψηλότερη ηλικία ιλύος (>95%) όπως και στον αντιδραστήρα μεμβρανών, ενώ στη μικρή ηλικία ιλύος δεν παρατηρήθηκε απομάκρυνση της ουσίας.

Σε μια προσπάθεια προσδιορισμού της ποσότητας της BPA σε αστικά απόβλητα, πραγματοποιήθηκε έρευνα (Vilchez et al., 2001) σε δείγματα από τον Καναδά και την Ισπανία. Πραγματοποιήθηκε προσθήκη της ουσίας σε δείγματα αποβλήτων εύρους συγκεντρώσεων από 0.02 έως 0.50 μg/ l. Μετά την επεξεργασία των δειγμάτων με υγρή-υγρή εκχύλιση και ανάλυση με GC-MS βρέθηκε τελική συγκέντρωση της ουσίας στα δείγματα 0.050 μg/l.



Μέχρι τώρα οι περισσότερες έρευνες έχουν επιβεβαιώσει την παρουσία στα λύματα και στη λυματολάσπη κάνοντας ισοζύγιο μάζας, αγνοώντας τον διαχωρισμό υγρού και στερεού κλάσματος που είναι μια σημαντική παράμετρος για την εξέλιξη της BPA μέσα στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων. Η ρεολογία περιλαμβάνει το φαινομενικό ιξώδες καθώς και το μέγεθος των σωματιδίων που επηρεάζουν την απομάκρυνση της BPA από τη λυματολάσπη καθώς η μείωση του ιξώδους και του μεγέθους των σωματιδίων κατά τη διάρκεια των διάφορων βημάτων επεξεργασίας έχει βρεθεί ότι βελτιώνει την βιοαποδόμηση της λυματολάσπης.

Σε μελέτη των Mohapatra et al. (2011) μελετήθηκε η παρουσία της BPA σε όλη τη γραμμή επεξεργασίας σε Εγκατάσταση Επεξεργασίας λυμάτων στο Quebec και στα υγρά και στα στερεά κλάσματα (Πίνακας 2.25). Σε μεγαλύτερη συγκέντρωση η ουσία βρέθηκε στην είσοδο της εγκατάστασης σε συγκέντρωση 1.68 µg/l. Από τα τέσσερα υγρά κλάσματα (υγρό εισόδου στο αμμοχάλικα, υγρό πρωτοβάθμια λάσπης, υγρό δευτεροβάθμιας λάσπης και ανάμεικτη λάσπη υγρό) η μεγαλύτερη συγκέντρωση ουσίας παρατηρήθηκε στο υγρό κλάσμα της εισόδου στο αμμοχάλικα και χαμηλότερο στο υγρό κλάσμα της δευτεροβάθμιας λάσπης). Ανάμεσα στα υπόλοιπα υγρά κλάσματα η μεγαλύτερη συγκέντρωση βρέθηκε στο υγρό κλάσμα της πρωτοβάθμιας λάσπης λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης στερεών. Αυτό οφείλεται στην υδροφοβική φύση της BPA καθώς και στον σχετικά υψηλό συντελεστή κατανομής νερού/οκτανόλης που προσδίδει στην ουσία την τάση να προσροφάται άμεσα με λιπαρά στερεά και σταγονίδια που αιωρούνται στα λύματα. Επίσης ανάμεσα στα στερεά κλάσματα της λάσπης, η BPA εμφανίστηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στην πρωτοβάθμια λάσπη για τον ίδιο λόγο.

**Πίνακας 2.25:** Συγκέντρωση της BPA στα υγρά λύματα, στην λάσπη και στο στερεό κλάσμα στην Εγκατάσταση Επεξεργασίας λυμάτων του Quebec Urban Community (CUQ) (Mohapatra et al., 2011)

Δείγμα	Προσθήκη	Συγκέντρωση (µg/l) που βρέθηκε	Ανάκτηση	Δείγμα	Προσθήκη	Συγκέντρωση (µg/l) που βρέθηκε	Ανάκτηση
Είσοδος	0.0	1.68±0.3	102±4	Πρωτοβ. Λάσπη	0	0.312±0.24	
	1.0	2.7±0.2			0.2	0.50±0.03	94±6
Είσοδος στα χαλίκια	0.0	0.91±0.05		Δευτεροβ. Λάσπη	0	0.104±0.09	
	1.0	1.93±0.03	102±1		0.2	0.29±0.01	93±2
Υγρό από τα χαλίκια	0.0	0.79±0.01		Ανάμεικτη παχυμένη λάσπη	0	0.13±0.03	
	0.2	0.97±0.02	90±6		0.2	0.30±0.07	85±5
Υγρό Πρωτοβ. λάσπης	0.0	0.275±0.07		Αφυδατωμένη λάσπη	0	0.27±0.11	
	0.2	0.49±0.09	105±6		0.2	0.45±0.02	90±5
Υγρό Δευτεροβ. λάσπης	0.0	0.155±0.03		Υπόλειμμα από χαλίκια	0	0.10±0.03	
	0.2	0.36±0.08	102±2		0.4	0.44±0.05	85±4
Υγρό από ανάμεικτη παχυμένη λάσπη	0.0	0.25±0.12		Στερεά Πρωτοβ. Λάσπης	0	0.36±0.07	
	0.2	0.47±0.003	110±1		0.4	0.73±0.01	92±1
Έξοδος	0.0	0.41±0.19		Στερεά Δευτεροβ. Λάσπης Στερεά από Μικτή Παχυμένη Λάσπη	0	0.24±0.01	
	0.2	0.61±0.001	100±4		0.4	0.63±0.009	97±1
					0	0.31±0.08	
				0.4	0.68±0.01		

Όσον αφορά τη ρεολογία, υψηλότερο φαινομενικό ιξώδες παρατηρήθηκε στην πρωτοβάθμια λάσπη ( $197 \pm 3 \text{ mPa s}$ ) και η τιμή της ξαφνικά μειώνεται στην δευτεροβάθμια λάσπη ( $13 \pm 4.5 \text{ mPa s}$ ). Η μείωση του ιξώδους οφείλεται στην μείωση της συγκέντρωσης των ολικών στερεών από την πρωτοβάθμια στην δευτεροβάθμια λάσπη. Σε υψηλότερη περιεκτικότητα στερεών, οι δομικές μονάδες του αιωρήματος είναι συνήθως μεγαλύτερες σε μέγεθος και κοντά η μία με την άλλη. Καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των σωματιδίων, ένα δίκτυο των σωματιδίων σχηματίζεται με τον αριθμό των αλληλεπιδράσεων να αυξάνεται ραγδαία και οδηγώντας έτσι στην αύξηση στην αντίσταση ροής στα υλικά της λάσπης. Συνεπώς, όταν η περιεκτικότητα των στερεών αυξάνει, το ιξώδες αυξάνει.

Καθώς το μέγεθος των κροκκίδων μειώνεται από την πρωτοβάθμια στην δευτεροβάθμια λάσπη, το φαινομενικό ιξώδες μειώνεται. Έτσι, η συνολική βιοδιαθεσιμότητα και τα ποσοστά της βιοαποδόμησης της ροφημένης BPA αυξάνονται και αυτός είναι ο λόγος που παρατηρείται μείωση στην συγκέντρωση της BPA από την πρωτοβάθμια στην δευτεροβάθμια λάσπη ( $0.312$  σε  $0.104 \text{ μg/g}$ )

Η επίδραση των διαφορετικών διεργασιών εντός της εγκατάστασης επεξεργασίας σε σχέση με ρεολογική συμπεριφορά οφείλεται κυρίως στις υδρομηχανολογικές διατμητικές δυνάμεις, οι οποίες μπορεί να αποσυνθέσουν συσσωματώματα λάσπης και να διασπάσουν τα κύτταρα, διακόπτοντας έτσι το μικροβιακό πολτό, όπου τα σωματίδια αλληλεπιδρούν συνεχώς το ένα με το άλλο.

Το μεγαλύτερο ιξώδες παρατηρήθηκε στα στερεά της πρωτοβάθμιας λάσπης όπως επίσης και το μεγαλύτερο μέγεθος σωματιδίων ( $158 \text{ μm}$ ). Στη δευτεροβάθμια λάσπη παρατηρείται μείωση των σωματιδίων ( $42 \text{ μm}$ ). Η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων έχει ως αποτέλεσμα την ύπαρξη μεγαλύτερου αριθμού μικρών σωματιδίων, ανά μονάδα όγκου του μέσου και έτσι μεγαλύτερη επιφάνεια συσσωματωμάτων έτσι ώστε να προσροφηθεί η BPA. Επιπλέον οι διάφοροι μικροοργανισμοί, οι οποίοι είναι παρόντες στο μέσο έχουν καλύτερη πρόσβαση στην ουσία και έτσι η αποδόμηση της ουσίας γίνεται ευκολότερη. Για αυτό το λόγο η συγκέντρωση της ουσίας είναι μικρότερη στην δευτεροβάθμια και μικτή λάσπη από ότι στην πρωτοβάθμια (Mohapatra et al., 2011).

Αξίζει να σημειωθεί, ότι στο θαλάσσιο νερό η BPA μπορεί να παραμείνει αρκετά περισσότερο χρόνο (ακόμα και 30 μέρες) χωρίς να βιοδιασπασθεί. Έτσι οι θαλάσσιοι οργανισμοί είναι πολύ περισσότερο επιρρεπείς στην μόλυνση απ' ό,τι οι οργανισμοί του γλυκού νερού. Συνεπώς η κύρια αιτία μόλυνσης των ανθρώπων από τη BPA στο υδάτινο περιβάλλον είναι από την πρόσληψη ψαριών του γλυκού νερού ή της θάλασσας. Σε δοκιμές διάρκειας 42-ημερών, οι μετρούμενες αναλογίες της συγκέντρωσης BPA στα ψάρια με εκείνες στο περιβάλλοντα νερό (παράγοντες βιοσυγκέντρωσης) είχε εύρος 5.1 έως 68 (Staples et al, 1998) ενώ σε μύδια γλυκού νερού, ο παράγοντας βιοσυγκέντρωσης που μετρήθηκε σε χαμηλές θερμοκρασίες κυμαινόταν στα 110-144 (Heinonen et al, 2002). Παράγοντες βιοσυγκέντρωσης μικρότεροι από 100, θεωρείται ότι υποδηλώνουν μια μικρή πιθανότητα βιοσυσσώρευσης. Παράγοντες βιοσυγκέντρωσης πάνω από 1000 θεωρείται ως το όριο, ενώ οι παράγοντες μεγαλύτερη από 5000 υποδηλώνουν ότι η ουσία είναι βιοσυσσωρεύσιμη στο περιβάλλον.

## Κεφάλαιο 3 Χλωρίωση φαρμακευτικών ουσιών και ενδοκρινικών διαταρακτών

### 3.1 Εισαγωγή στην Χλωρίωση

Τα χημικά οξειδωτικά (όζον, χλώριο) χρησιμοποιούνται ευρέως στις διεργασίες επεξεργασίας νερού καθώς και στην επεξεργασία λυμάτων εξαιτίας της ιδιότητας του να απολυμαίνουν (μικροοργανισμούς) και να οξειδώνουν (γεύση, άρωμα, μικρορύπους). Ωστόσο, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, μπορεί να σχηματισθούν επικίνδυνα παρα-προϊόντα ή προϊόντα μετασχηματισμού εξαιτίας της αντίδρασης με τα συστατικά που υπάρχουν στα λύματα ή στο νερό.

Το χλώριο χρησιμοποιείται και ως αέριο χλώριο αλλά και σε μορφή υποχλωριώδους στην επεξεργασία νερού λόγω του χαμηλού του κόστους (Deborde and von Gunten, 2008) σε ένα ή δύο σημεία της διεργασίας: στην προαπολύμανση (έτσι ώστε να γίνει μια αρχική απολύμανση στην αρχή της εγκατάστασης) και μετά την εγκατάσταση (για να διατηρηθεί το υπολειμματικό χλώριο στο σύστημα διανομής). Το χλώριο, χρησιμοποιείται επίσης στις διάφορες μορφές του, ως απολυμαντικός παράγοντας στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων.

Κάποια από τα μειονεκτήματα της χρήσης του χλωρίου ως απολυμαντικό είναι:

- α) Εξαιτίας της άμεσης εξάρτησης του pH με την μορφή της ουσίας, στα διαλύματα είναι παρούσες πολλές μορφές του χλωρίου (HOCl, ClO<sup>-</sup>, Cl<sub>2</sub>). Αυτές οι μορφές του χλωρίου παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς την δραστηριότητα τους με τις διάφορες ουσίες.
- β) Το χλώριο αντιδρά με τον διαλυτό οργανικό υλικό. Η αντίδραση αυτή μπορεί να προκαλέσει πολλά παραπροϊόντα (Disinfection by-products, DBPs) όπως τα τριαλομεθάνια (THMs) και αλογονικά οξέα(HAAs) τα οποία έχουν βρεθεί ότι είναι πολύ τοξικά.
- γ) Το χλώριο επίσης αντιδρά με τους οργανικούς ρύπους και σχηματίζονται παραπροϊόντα επίσης πολύ τοξικά, τα οποία σε αρκετές περιπτώσεις είναι και αρκετά σταθερά στο περιβάλλον.
- δ) Η παρουσία βρωμιδίων στα λύματα έχει ως αποτέλεσμα, με την παρουσία χλωρίου, το σχηματισμό βρωμίου που είναι πιο δραστικά και από το χλώριο, ειδικά με τις φαινολικές ενώσεις.

#### Χημική Συμπεριφορά του χλωρίου στο νερό

Το αέριο χλώριο υδρολύεται στο νερό σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

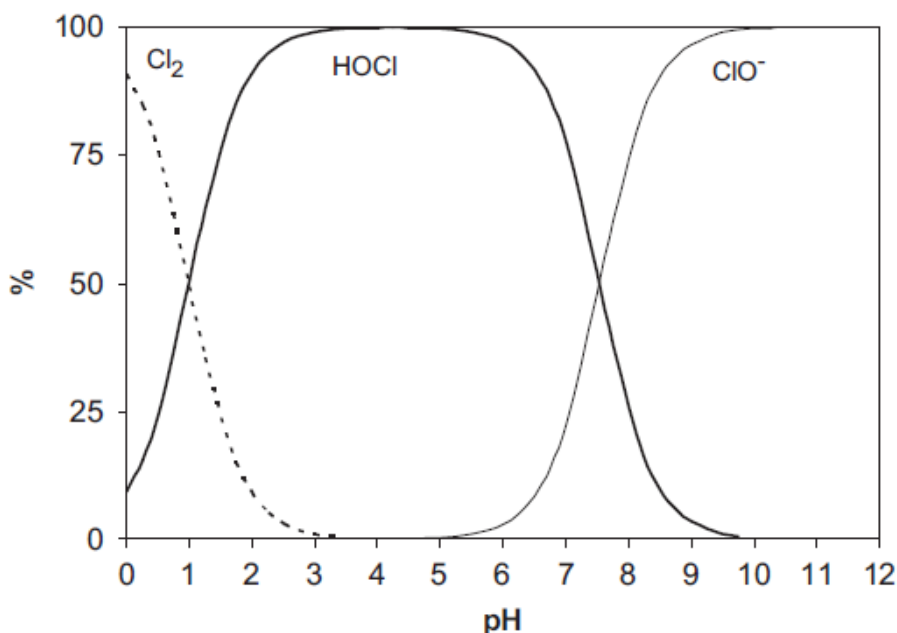


με το υποχλωριώδες οξύ (HOCl) να είναι ασθενές οξύ το οποίο διασπάται στα υγρά διαλύματα:



με  $K_{HOCl}=2.9 \cdot 10^{-8}$  (pKa=7.54 στους 25<sup>0</sup>C).

Στο Σχήμα 3.1 φαίνεται η διασπορά του Cl<sub>2</sub>, του HOCl και του ClO<sup>-</sup> ως συγκέντρωση του pH στους 25<sup>0</sup>C και για συγκέντρωση χλωρίου 177.5 mg/l. Καθώς η υδρόλυση του Cl<sub>2</sub> σχεδόν ολοκληρώνεται για pH>4, για συγκέντρωση ολικού χλωρίου 177.5 mg/l και 25<sup>0</sup>C, σε συνθήκες επεξεργασίας 6-9, το Cl<sub>2</sub> μπορεί να θεωρηθεί αμελητέο και τα κύρια είδη είναι το υποχλωριώδες οξύ και υποχλωριώδες (Deborde and von Gunten, 2008).



**Σχήμα 3.1:** Εξάρτηση των διαφόρων ειδών του χλωρίου σε σχέση με το pH για θερμοκρασία 25<sup>0</sup>C και για συγκέντρωση CHLORIDE 177.5 mg/l (Deborde and von Gunten, 2008)

### Οξείδωση οργανικών ουσιών από το χλώριο

Η πιο δραστική μορφή του χλωρίου, από όλα τα είδη είναι το HOCl. Τα άλλα είδη ή είναι σε χαμηλές συγκεντρώσεις ή συνήθως δείχνουν πολύ χαμηλή δραστικότητα. Για τις περισσότερες αντιδράσεις χλωρίωσης, η πρωταρχική αντίδραση είναι:



όπου B είναι ένα οργανικό συστατικό.

Ωστόσο, έχουν προταθεί και άλλες αντιδράσεις υπό όξινες συνθήκες. Αυτές είναι όξινες καταλυόμενες αντιδράσεις ή αντιδράσεις του Cl<sub>2</sub> με το B.



Για τις περισσότερες αντιδράσεις χλωρίου με οργανικά συστατικά, η κινητική οξείδωσης είναι δευτέρας τάξης. Πιο συγκεκριμένα, είναι πρώτης τάξης ως προς την συγκέντρωση ελεύθερου χλωρίου ([HOCl]<sub>T</sub>) και πρώτης τάξης ως προς την ολική συγκέντρωση του συστατικού ([B]<sub>T</sub>):

$$-\frac{d[B]_T}{dt} = k_{app}[HOCl]_T[B]_T \quad (5)$$

όπου k<sub>app</sub> είναι η φαινομενική σταθερά δευτέρας τάξης και η οποία εξαρτάται από το pH, [Cl]<sub>2</sub> είναι η ολική συγκέντρωση όλων των ειδών του χλωρίου (HOCl + ClO<sup>-</sup>) και [B]<sub>T</sub> η ολική συγκέντρωση του οργανικού συστατικού (ολικό άθροισμα των διαφορετικών ειδών της B).

Για ένα δεδομένο συστατικό, η δραστικότητα των HOCl και του ClO<sup>-</sup> διαφέρουν σημαντικά. Εκτός αυτού, διάφορα είδη της κάθε ουσίας B μπορεί να είναι παρόντα στο διάλυμα. Για αυτό για κάθε

συστατικό, παρατηρείται μια διαφορετική εξάρτηση της  $k_{app}$  με το pH στις αντιδράσεις χλωρίωσης. Στην περίπτωση του συστατικού B με δύο είδη στο διάλυμα (HB/B<sup>-</sup>), η κινητική της χλωρίωσης που αντιπροσωπεύεται από τη εξίσωση (5) μπορεί να γραφτεί, παίρνοντας υπόψη την δραστηριότητα και του HOCl με τα δύο είδη (HB/B<sup>-</sup>) και ως εξής:

$$-\frac{d[B]_T}{dt} = k_{3,1}[HOCl][HB] + k_{3,2}[HOCl][B^-] \quad (6)$$

Όπου  $k_{3,1}$  και  $k_{3,2}$  είναι οι σταθερές δευτέρας τάξης για την αντίδραση του HOCl με κάθε είδος του B σύμφωνα με την αντίδραση (2). Συνδυάζοντας τις εξισώσεις (5) και (6) και παίρνοντας υπόψη την σταθερά οξύτητας και του χλωρίου ( $K_{HOCl} = 2.9 \times 10^{-8}$ ) και του B ( $K_B$ ), η εξάρτηση του pH με την φαινομενική σταθερά δευτέρας τάξης μπορεί να σχηματιστεί ως εξής:

$$k_{app} = \frac{k_{3,1}[H^+]^2 + k_{3,2}[H^+]K_B}{[H^+]^2 + K_{HOCl}[H^+] + [H^+]K_B + K_{HOCl}K_B} \quad (7)$$

Υπό αυτές τις συνθήκες, το μέγιστο της  $k_{app}$  είναι:

$$\frac{d[k_{app}]_T}{d[H^+]} = 0 \quad (8)$$

Λύνοντας την (8) φτάνει σε

$$[H^+]^2 \approx K_{HOCl}K_B \text{ ή } pH \approx 1/2(pK_{HOCl} + pK_B) \text{ (όταν } k_{3,1} \ll k_{3,2})$$

### 3.2 Ιβουπροφαίνη (IBF)

Σε πειράματα χλωρίωσης που έκαναν οι Quintana et al. (2010) για 24 ώρες και με συγκέντρωση χλωρίου 10 mg/l και συγκέντρωση ουσίας 1 μg/ml για pH 7.1 δεν παρατηρήθηκε σημαντική απομάκρυνση της ουσίας (<10%). Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τεστ που πραγματοποιήθηκαν από τους Pinkston and Sedlak (2004). Αντιθέτως οι Westerhoff et al. (2005) παρατήρησαν απομάκρυνση που κυμαινόταν 30-80% για πειράματα χλωρίωσης 24 ωρών σε επιφανειακά νερά για pH 5.5 και συγκέντρωση χλωρίου 3.5-3.8 mg Cl<sub>2</sub>/l. Μπορεί να οφείλεται ότι αυτά τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πραγματικά δείγματα νερού και έτσι μπορεί να έγινε ρόφηση σε συγκεκριμένο υλικό ή βιοδιάσπαση από μικροοργανισμούς που αντέχουν στο χλώριο.

Οι Nakada et al. (2005) σε μελέτη φαρμακευτικών ουσιών σε δυο διαφορετικές εγκαταστάσεις που η μια χρησιμοποιούσε UV ως μέσο απολύμανσης και η άλλη χλωρίωση, διαπίστωσαν ότι και οι δυο είναι αποτελεσματικές στην απομάκρυνση της ουσίας παρόλα αυτά κατά το στάδιο της απολύμανσης η UV μέθοδος είναι πολύ πιο αποτελεσματική από τη χλωρίωση.

Σε μελέτη διαφόρων εγκαταστάσεων επεξεργασίας στην Βόρεια Αυστραλία από τους Ying et al. (2009) βρέθηκε ότι σε εγκατάσταση που χρησιμοποιούσε διεργασία ενεργού ιλύος με τρεις βιοαντιδραστήρες και στη συνέχεια απολύμανση με UV και χλωρίωση το ποσοστό απομάκρυνσης ήταν 96% ενώ στο στάδιο της απολύμανσης (UV και χλωρίωση) απομακρύνθηκε 40% της ουσίας.

### 3.3 Ναπροξένη (NPX)

Οι Acero et al. (2010) πραγματοποίησαν δύο κατηγορίες πειραμάτων χλωρίωσης. Στην πρώτη κατηγορία μελετήθηκε η εξέλιξη της φαινομενικής σταθεράς ρυθμού για την αντίδραση του χλωρίου με την NPX σε υπερκάθαρο νερό σε συνάρτηση με το pH. Στην δεύτερη κατηγορία πειραμάτων διαλύθηκε η φαρμακευτική ουσία σε 4 διαφορετικές μήτρες νερού έτσι ώστε να μελετηθεί η χλωρίωση της ουσίας υπό ρεαλιστικές συνθήκες σε σταθερό pH αλλά με διαφορετικές συγκεντρώσεις DOM, TOC και αμμωνία. Επίσης προσδιορίστηκαν οι χρόνοι ημι-ζωής των διαφόρων ουσιών.

Πιο αναλυτικά στην πρώτη κατηγορία πειραμάτων, όπου προσδιορίστηκε ο φαινομενικός συντελεστής ρυθμού χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές τεχνικές. Για pH 2-4 όπου έχει βρεθεί ότι η NPX παρουσιάζει υψηλούς ρυθμούς αντίδρασης οι σταθερές κινητικής αντίδρασης προσδιορίστηκαν με την κινητική ανταγωνισμού. Η φαρμακευτική ουσία μαζί με την ουσία αναφοράς σε συγκέντρωση  $10^{-5}$  M διαλύονταν σε υπερκάθαρο νερό 20 mL σε σταθερή θερμοκρασία  $20^{\circ}\text{C}$  και ρυθμιζόταν στο επιθυμητό pH με τη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού οξέος. Πριν από κάθε ‘‘τρέξιμο’’ του πειράματος προηγούνταν η χλωρίωση έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να κυμαίνεται  $1 \times 10^{-6}$  M και  $7 \times 10^{-6}$  M. Μετά από την πλήρη κατανάλωση χλωρίου, αναλύονταν η υπολειμματική συγκέντρωση της φαρμακευτικής ουσίας και της ουσίας αναφοράς.

Για pH στο εύρος 5-9, όπου έχουν παρατηρηθεί χαμηλοί ρυθμοί αντίδρασης της NPX, πραγματοποιήθηκαν πειράματα κάτω από συνθήκες ψευδο-πρώτης τάξης όπου το χλώριο ήταν τουλάχιστον 10 φορές περισσότερο από την φαρμακευτική ουσία ( $10^{-6}$  M). Έτσι 200 ml διαλύματος της φαρμακευτικής ουσίας προστέθηκαν σε batch αντιδραστήρα, με σταθερή θερμοκρασία και με ρυθμιζόμενο pH με τη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού οξέος. Το πείραμα ξεκινούσε με την προσθήκη χλωρίου στον αντιδραστήρα έτσι ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση ενώ αναδεύονταν για 5 sec. Σε σταθερά χρονικά διαστήματα, αναλύονταν 2 ml δείγματος, αφού σταματούσε η αντίδραση με την προσθήκη θειοθειικού, σε HPLC για να ανιχνευθεί η φαρμακευτική ουσία που υπολειπόταν.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της φαινομενικής δευτέρας τάξης για την αντίδραση του χλωρίου με την NPX στα εξεταζόμενα pH.

**Πίνακας 3.1:** Φαινομενικά δευτέρας τάξης σταθερές  $k_{app}$  για την αντίδραση NPX με χλώριο (Acero et al., 2010)

	pH	$k_{app} \times 10^{-3}, M^{-1}s^{-1}$
	2	11.4 ± 0.7
	3	1.56 ± 0.09
	4	0.184 ± 0.007

[Cl <sub>2</sub> ] <sub>0</sub> , mM	pH	T	$k_{app}, M^{-1}s^{-1}$
0.1	5	20	80.3 ± 8.0
0.1	6	20	13.8 ± 0.7
0.1	7	20	3.44 ± 0.28
0.1	9	20	0.73 ± 0.09
0.1	7	10	2.83 ± 0.27
0.1	7	40	4.85 ± 0.37
0.05	7	20	3.44 ± 0.28
0.5	7	20	3.44 ± 0.28

Φαίνεται ότι από τι πιο σημαντικές παραμέτρους στο ρυθμό χλωρίωσης της NPX είναι το pH. Αυτή η εξάρτηση του pH φαίνεται ακόμα πιο ξεκάθαρα από την Σχήμα 3.2 που φαίνεται η εξάρτηση του  $\log K_{app}$  σε συνάρτηση με το pH.

Η NPX παρουσιάζει μια σταθερά διαστάσεων και έτσι δύο πιθανά είδη μπορούν να υπάρξουν κατά τη διάσταση της NPX,  $NPXH_2$  και  $NPXH^-$

Οι Acero et al. (2010) θέλοντας να μοντελοποιήσουν την κινητική αντίδρασης της χλωρίωσης της NPX (και άλλων φαρμακευτικών ουσιών) πήραν υπόψη τους :

- Τη διάσταση του υποχλωριώδους οξέος (αντίδραση 1) όπου η  $pK_a=7.54$
- Την ισορροπία διάστασης  $NPXH_2 \leftrightarrow NPXH^- + H^+$  με  $k_{a2}$  (9)
- Τις αντιδράσεις οξείδωσης των διαφορετικών ειδών της NPX με το HOCl (λόγω της χαμηλής δραστηριότητας του  $OCl^-$  σε σύγκριση με το HOCl, θεωρήθηκε αμελητέα η αντίδραση των διαφορετικών φαρμακευτικών ειδών με το  $OCl^-$ )

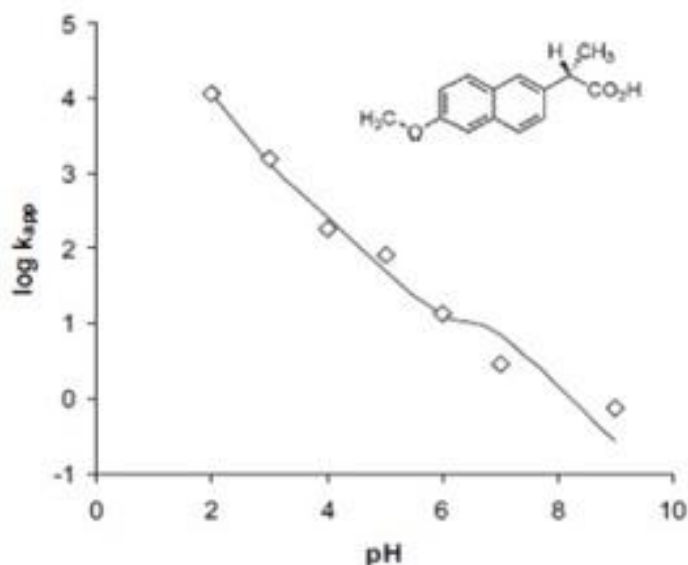


- Και τις αντιδράσεις όξινης κατάλυσης του HOCl με την πρωτονιομένη μορφή της φαρμακευτικής ουσίας  $NPXH_3^+ + HOCl + H^+ \rightarrow \text{products}$  με  $k_C$

Και κατέληξαν στην εξίσωση :

$$k_{app} = \frac{\{k_2[H^+] + k_3k_{a2} + k_c[H^+]^2\} \left\{ \frac{[H^+]}{[H^+] + K_{HOCl}} \right\}}{[H^+] + k_{a2}} \quad (12)$$

Η απόλυτη συμφωνία μεταξύ των πειραματικών τιμών και των υπολογιστικών τιμών φαίνεται στο Σχήμα 3.2

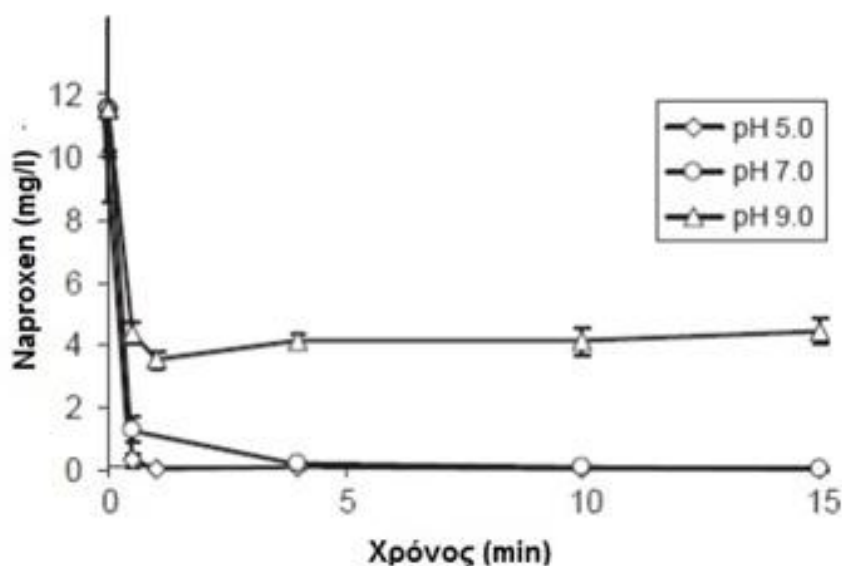


**Σχήμα 3.2:** Εξάρτηση της φαινομενική σταθεράς με το pH στην αντίδραση του χλωρίου με την NPX (Acero et al., 2010)

Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Boyd et al. (2005) όπου μελέτησαν την συγκέντρωση της NPX μετά από 15 λεπτά επαφής με χλώριο σε μοριακή αναλογία NPX:χλώριο, 0.06:1 και pH 5, 7, 9. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι αντιδράσεις μεταξύ της NPX και του χλωρίου ήταν γρήγορες και σχεδόν ολοκληρώθηκαν στα πρώτα 30 sec για τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες (Σχήμα 3.3). Επίσης τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η NPX σε επαφή με το χλώριο μετασχηματίζεται πιο γρήγορα για pH 5.0 (99.7 % απομάκρυνση της NPX μετά από 15 λεπτά αντίδραση, 61.5% απομάκρυνση της NPX για pH=9.0).

Η έκταση της αντίδρασης της NPX σε pH 5.0 και 7.0 αποδίδεται επίσης στην δραστηριότητα του ελεύθερου χλωρίου σε αυτό το εύρος pH. Σε χαμηλά pH, το υδατικό χλώριο υπάρχει αρχικά ως υποχλωριώδες οξύ, που ευνοεί την αντίδραση οξειδωσης με την NPX. Η NPX είναι ένα ασθενές οξύ με pKa=4.4 (Cantabrana et al.,1995) και οι συνθήκες του πειράματος ευνοούν την ανιονική μορφή του. Σε pH 9.9 η κυρίαρχη μορφή του χλωρίου είναι το υποχλωριώδες ιόν (OCl<sup>-</sup>) και η αντίδραση μεταξύ δύο ανιονικών μορφών είναι λιγότερη αποτελεσματική σε σχέση με τα χαμηλά pH. Έτσι οι συνθήκες χαμηλού pH είναι πιο πιθανόν να ευνοήσουν την οξείδωση της NPX από το χλώριο σε συστήματα επεξεργασίας νερού και λυμάτων.





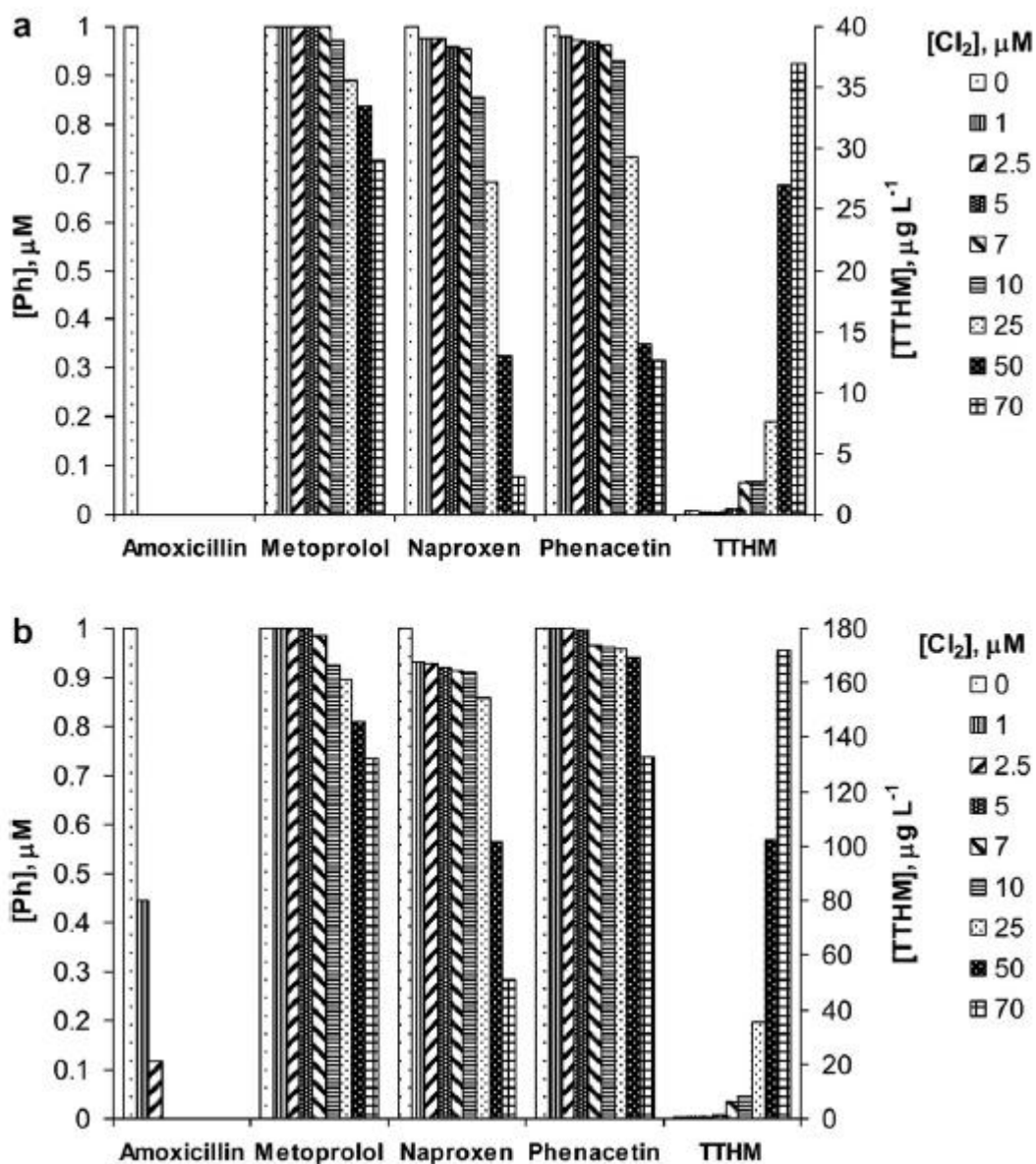
**Σχήμα 3.3:** Επίδραση του pH για την χλωρίωση της NPX για γραμμομοριακή αναλογία NPX:χλωρίου, 0.06:1 (10 mg/l NPX, 50 mg/l Cl<sub>2</sub>, 23±1<sup>0</sup>C) (Boyd et al., 2005)

Στη δεύτερη κατηγορία πειραμάτων, όπου τα πειράματα χλωρίωσης έγιναν σε μήτρες νερού με χαρακτηριστικά που φαίνονται στον Πίνακα 3.2, οι Acero et al.(2010) πραγματοποίησαν δυο ειδών πειράματα: πειράματα με στατική δόση και πειράματα εξάρτησης από τον χρόνο. Στα πειράματα με στατική δόση κάθε ‘τρέξιμο’ του πειράματος γινόταν προσθέτοντας χλώριο έτσι ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή δόση χλωρίου που κυμαινόταν από  $1 \times 10^{-6}$  M έως  $7 \times 10^{-5}$  M. Η δόση της φαρμακευτικής ουσίας ήταν 1μM και η θερμοκρασία και το pH διατηρείτο σταθερά στους 20<sup>0</sup>C και pH 7. Μετά από 24 ώρες αντίδρασης αναλυόταν η υπολειπόμενη φαρμακευτική ουσία και η συγκέντρωση των THMs. Στα πειράματα εξάρτησης από τον χρόνο η αρχική δόση της φαρμακευτικής ουσίας ήταν πάλι 1μM αλλά τώρα αντιστοιχούσε μόνο μια αρχική δόση χλωρίου για κάθε μήτρα νερού (2mg/l για PZ, 3 mg/l για PA, 5 mg/l για BA και AI). Σε συχνές χρονικές στιγμές, δείγματα απομακρυνόταν από τον αντιδραστήρα και αναλυόταν η συγκέντρωση της φαρμακευτικής ουσίας, όπως επίσης το ολικό χλώριο, ελεύθερο χλώριο και οι χλωραμίνες.

**Πίνακας 3.2:** Παράμετροι ποιότητας των εξεταζόμενων υγρών (Acero et al., 2010)

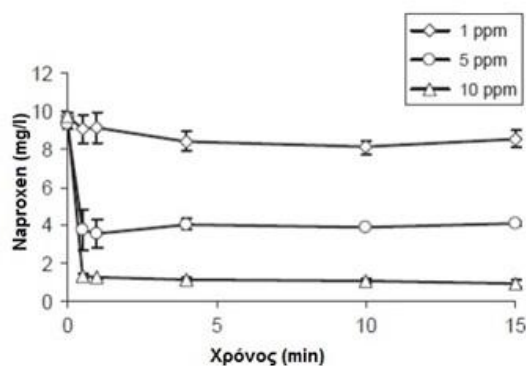
	Υπόγειο νερό PZ	Δεξαμενή PA	Έξοδος εγκατάστασης(BA)	Έξοδος εγκατάστασης (LA)
<b>pH</b>	7.5	7.8	7.8	8
<b>TOC (mg/l)</b>	<1	6.9	22.2	16.2
<b>COD (mg/l)</b>	1.46	12.5	64	36.9
<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] (mg/l)</b>	0.4	1.6	13.9	3.1

Έτσι όπως φαίνεται παρακάτω (Σχήμα 3.3) ,στα αποτελέσματα των πειραμάτων στατικής δόσης που πραγματοποιήθηκαν στα υπόγεια νερά PA και στο νερό της δεξαμενής PZ, η αρχική δόση χλωρίου παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην μεγαλύτερη απομάκρυνση των φαρμακευτικών ουσιών. Παρόλα αυτά παρατηρήθηκε ότι ακόμα και για αρχική δόση χλωρίου  $7 \times 10^{-5}$  M (5mg/l) η NPX δεν απομακρύνθηκε πλήρως.



**Σχήμα 3.3:** Επιρροή της αρχικής δόσης χλωρίου στην οξείδωση των φαρμακευτικών ουσιών σε πειράματα στατικής δόσης α)σε υπόγεια νερά (PZ) β) νερά δεξαμενής (PA) (Acero et al., 2010)

Οι Boyd et al. (2005) μελέτησαν επίσης την επίδραση της αρχικής δόσης χλωρίου στην απομάκρυνση της NPX. Όπως αναμενόταν, ο ρυθμός και η έκταση της αντίδρασης αυξανόταν με μεγαλύτερες δόσεις χλωρίου. (Σχήμα 3.4) Η δόση του χλωρίου κυμαινόταν από 1-10 mg/l, η συγκέντρωση NPX 10mg/l και το pH σταθερό ίσο με 5. Επίσης τα αποτελέσματα στα batch πειράματα που έγιναν υποδεικνύουν ότι για να απομακρυνθεί η NPX από την υγρή φάση η γραμμομοριακή αναλογία NPX:χλώριο πρέπει να είναι μικρότερη από 3:1. Σε προηγούμενες μελέτες (Boyd et al., 2003) η NPX (64-65ng/l) απομακρύνθηκε από νερό ποταμιού μετά από κροκίδωση-συσσωμάτωση σε επαφή με ελεύθερο χλώριο σε γραμμομοριακή αναλογία NPX:χλώριο περίπου  $10^{-5}$ :1.



**Σχήμα 3.4:** Επίδραση της δόσης του χλωρίου στην χλωρίωση της NPX (10 mg/l NPX, pH 5.0, 23±1°C) για γραμμομοριακές αναλογίες 3:1 (1ppm Cl<sub>2</sub>), 0.6:1 (5ppm Cl<sub>2</sub>), και 0.3:1 (10 ppm Cl<sub>2</sub>) (Boyd et al., 2005)

Στον Πίνακα 3.3 παρουσιάζονται οι υπολειμματικές συγκεντρώσεις της NPX για δύο αρχικές δόσεις χλωρίου ( $1 \times 10^{-5}$  και  $7 \times 10^{-5}$  M) στις επιλεγμένες μήτρες νερού. Όπως αναμένεται και λαμβάνοντας υπόψη τον Πίνακα 3.3.1 η αύξουσα σειρά των υπολειμματικών συγκεντρώσεων της NPX έρχεται σε συμφωνία με την αύξουσα σειρά των τιμών του COD και TOC που έχουν υπολογιστεί για τις μήτρες νερού στον Πίνακα 3.2. Έτσι συμπεραίνεται ότι η παρουσία αυξημένων οργανικά και ανόργανων υλικών (COD, TOC και αμμωνία), απαιτεί μεγαλύτερη ποσότητα οξειδωτικού παράγοντα (χλώριο) και για αυτό λιγότερη ποσότητα χλωρίου είναι διαθέσιμη για την οξείδωση των φαρμακευτικών ουσιών), κάτι το οποίο έχει ως αποτέλεσμα να ανιχνεύονται υψηλότερες υπολειμματικές συγκεντρώσεις των φαρμακευτικών ουσιών. (Acero et al., 2010)

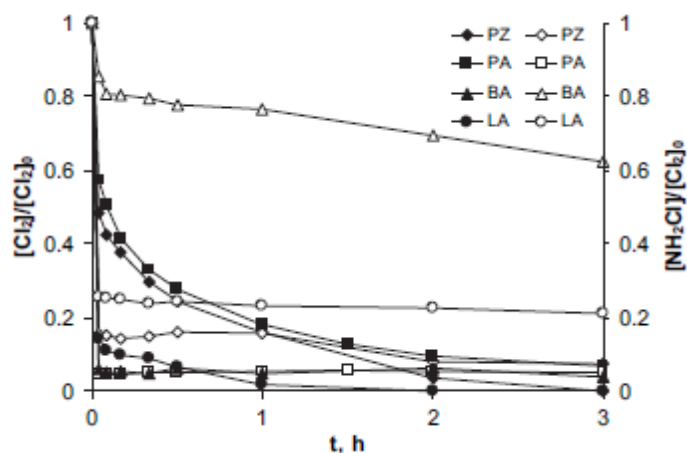
Ως αναφορά τον σχηματισμό των THMs, αξίζει να σημειωθεί ότι το χλωροφόρμιο ήταν το κυρίαρχο THM (περίπου το 80-90% κατά βάρος των THM) και ότι η παρουσία των THM αυξάνεται με την αύξηση της αρχικής δόσης χλωρίου. Παρατηρήθηκε ότι για αρχικές δόσεις χλωρίου  $5 \times 10^{-5}$  M οι συγκεντρώσεις THM ήταν κάτω από 100 μg/l όπου είναι η μέγιστη τιμή που επιτρέπεται στο πόσιμο νερό σύμφωνα με τα πρότυπα της Ε.Ε.

**Πίνακας 3.3:** Επίδραση της φύσης της μήτρας νερού στην υπολειμματική συγκέντρωση της NPX. (Acero et al., 2010)

	[Cl <sub>2</sub> ] <sub>0</sub> = $1 \times 10^{-5}$	[Cl <sub>2</sub> ] <sub>0</sub> = $1 \times 10^{-5}$
PZ	0.85	0.07
PA	0.91	0.28
BA	1	0.73
LA	0.92	0.44

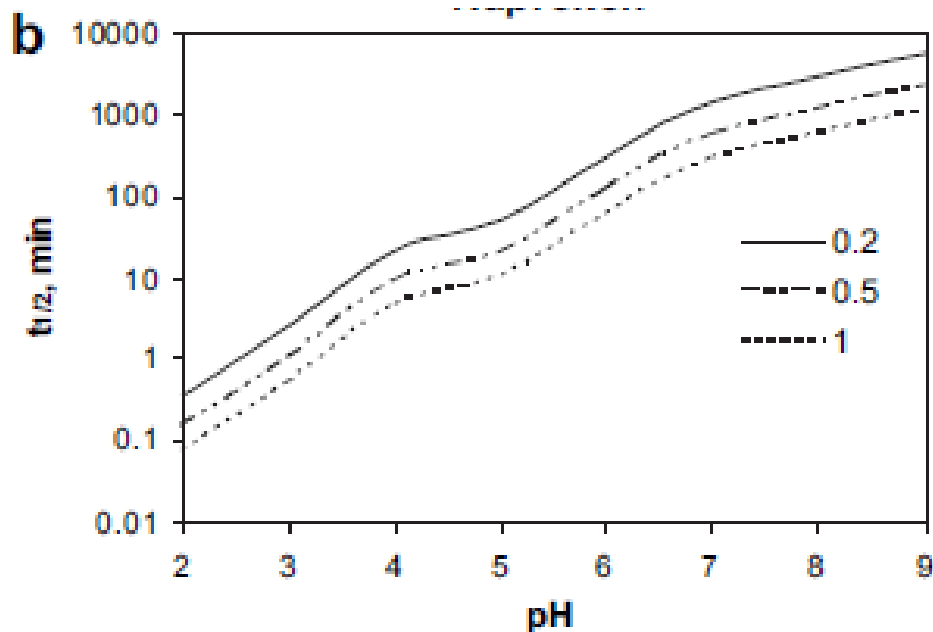
Στα πειράματα εξάρτησης των Acero et al. (2010) με τον χρόνο όπου οι δόσεις χλωρίου κυμαινόντουσαν 2-5 mg/l φάνηκε η εξάρτηση της περιεκτικότητας σε αμμωνία στα διαφορετικά είδη νερού με τον σχηματισμό χλωραμινών. Έτσι όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.5, οι χαμηλότερες

τιμές των χλωραμινών παρατηρήθηκαν στα νερά BA ([αμμωνία]=1.6 mg/l) και υψηλότερες τιμές στα νερά BA ([αμμωνία]=13.9mg/l). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η συγκέντρωση του ελεύθερου χλωρίου που είναι διαθέσιμη για την οξείδωση των φαρμακευτικών ουσιών να ακολουθεί αντίθετη τάση. Άρα υψηλότερα ποσά ελεύθερου χλωρίου είναι διαθέσιμα για τα νερά PA και χαμηλότερα για τα νερά BA παρόλο που η αρχική δόση χλωρίου είναι υψηλότερη στα νερά BA. Επίσης φαίνεται στο Σχήμα 3.5 μια γρήγορη κατανάλωση του χλωρίου εξαιτίας της ταχέων αντιδράσεων του χλωρίου με τα οργανικά και ανόργανα υλικά που υπάρχουν στο νερό.



**Σχήμα 3.5:** Εξέλιξη των χλωραμινών (άδεια σύμβολα) και του ελεύθερου χλωρίου(σκούρα σύμβολα) σε πειράματα εξάρτησης με τον χρόνο. Επιρροή της μήτρας νερού. Οι συγκεντρώσεις έχουν κανονικοποιηθεί σύμφωνα με την αρχική δόση της αρχικής δόσης χλωρίου (2 mg/l σε PZ νερά, 3 mg/l σε PA νερά, και 5mg/l σε BA και LA νερά.) (Acero et al., 2010)

Είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί ότι ο προσδιορισμός της απομάκρυνσης των φαρμακευτικών ουσιών απαιτεί την γνώση των σταθερών ρυθμού χλωρίωσης καθώς και τις κινητικές διάσπασης του χλωρίου. Στο Σχήμα 3.6 φαίνεται ο χρόνος ημι-ζωής για τρεις συγκεντρώσεις υπολειμματικού χλωρίου: 1 mg/l (τυπική συγκέντρωση αρχικής απολύμανσης), 0.5mg/l και 0.2mg/l (τυπική συγκέντρωση τελικής απολύμανσης) σε σχέση με το pH. Θεωρείται ότι οι αρχικές τιμές συγκεντρώσεις χλωρίου παραμένουν σταθερές. Ο χρόνος αποβολής της μισής ποσότητας NPX γίνεται σε χρόνο της τάξης λεπτών της ώρας και αυξάνει καθώς αυξάνει το pH.



**Σχήμα 3.6:** Τιμές χρόνου ημιζωής της NPX για την χλωρίωση σε διαφορετικά pH και 20°C. Οι αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου (0.2, 0.5, 1.0 mg/l) θεωρούνται ότι είναι σταθερές. (Acero et al., 2010)

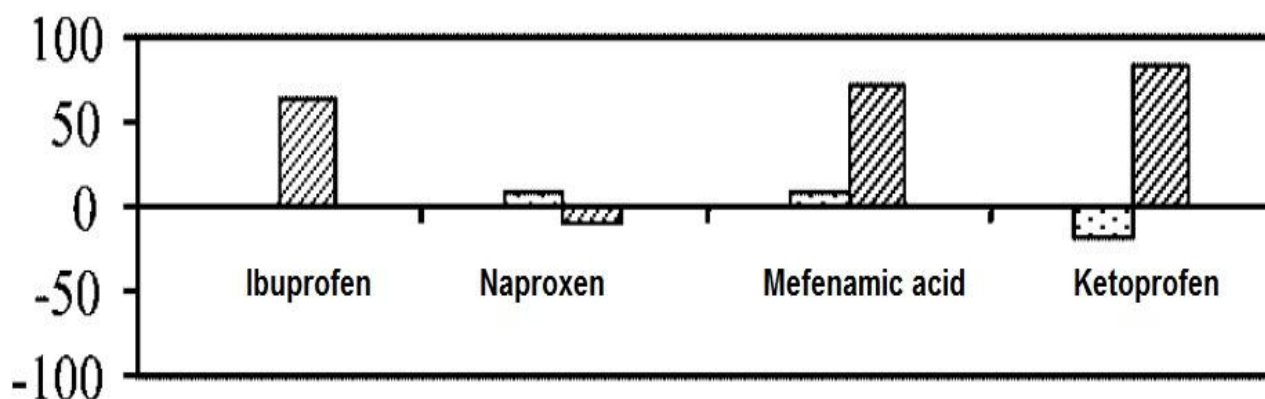
Οι Boyd et al. (2005) πραγματοποίησαν επίσης πειράματα για να μελετήσουν την απομάκρυνση της ουσίας κατά τη χλωρίωση. Για την διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε NPX συγκέντρωσης 10 mg/l σε υπερκάρθρο νερό στο οποίο προστέθηκε χλώριο συγκέντρωσης 100 mg/l σε pH 6.3 και θερμοκρασία 23°C. Ο συνολικός χρόνος χλωρίωσης ήταν 7 ημέρες και ο προσδιορισμός των προϊόντων έγινε με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι περίπου 30 λεπτά επαφής με το ελεύθερο χλώριο, αν και είναι αρκετά για την μικροβιακή αδρανοποίηση, δεν είναι αρκετός χρόνος επαφής για την ολοκληρωτική οξείδωση της NPX. Επίσης σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις όπως σε συστήματα επεξεργασίας (1-100 µg/l NPX και 0.5-1 mg/l χλώριο) οι ρυθμοί αντίδρασης θα μπορούσαν να ήταν πιο μικροί και έτσι θα χρειαζόταν περισσότερος χρόνος για την ολοκλήρωση των χημικών αντιδράσεων.

Οι Quintana et al. (2010) επίσης μελέτησαν την απομάκρυνση της NPX κατά τη χλωρίωση όπως επίσης και τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την χλωρίωση. Έτσι έγινε πείραμα για 24 ώρες σε διάλυμα με συγκέντρωση NPX 1 µg/l και συγκέντρωση χλωρίου 10 mg/l για pH 7.1. Παρατηρήθηκε πλήρης διάσπαση της NPX σε χρόνο 24 ωρών. Στη συνέχεια προσπάθησαν να διερευνήσουν κατά πόσο το pH και η δόση του χλωρίου επηρεάζουν τον χρόνο διάσπασης της NPX. Βρέθηκε ότι ο σημαντικότερος παράγοντας ήταν η συγκέντρωση του χλωρίου, καθώς αύξηση της συγκέντρωσης επιτάχυνε τη διάσπαση του NPX προκαλώντας μείωση του χρόνου διάσπασης της NPX.

Για την αναγνώριση των παραπροϊόντων οι Quintana et al. (2010) χλωρίωσης χρησιμοποίησαν διάλυμα υπερκάρθρου νερού με 2 µg/l συγκέντρωσης NPX και 5 mg/l Cl<sub>2</sub>. Μετά από χρόνο χλωρίωσης 14min σχηματίστηκε Cl-NPX ενώ δεν ανιχνεύτηκαν άλλα παραπροϊόντα παρά την πλήρη διάσπαση της ουσίας.

### 3.4 Κετοπροφαίνη (KFN)

Σε μελέτη των Nakada et al. (2005) όπου μελετήθηκε η απομάκρυνση της KTP σε δυο εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων όπου η πρώτη εγκατάσταση χρησιμοποιεί UV ως απολύμανση ενώ η δεύτερη χρησιμοποιεί χλώριο. Η UV αποδείχθηκε αρκετά πιο αποτελεσματική για την απομάκρυνση της KTP (90% απομάκρυνση) σε σχέση με την χλωρίωση όπου μετά τη χλωρίωση παρατηρήθηκε αύξηση κιάλας της ουσίας όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.7.



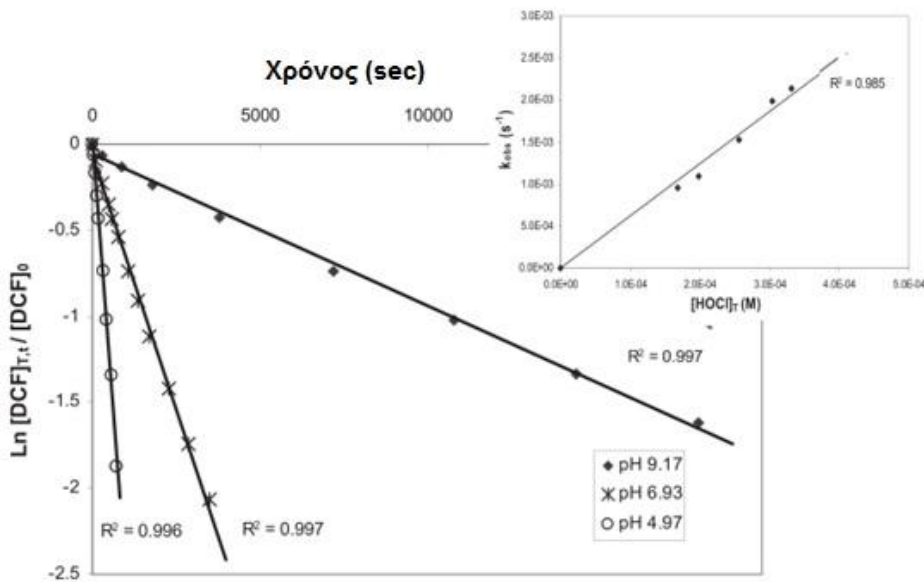
**Σχήμα 3.7:** Τιμή απομάκρυνση της KFN με τεχνολογία UV (πλάγιες ρίγες) και χλωρίωση (βούλες) (Nakada et al., 2005)

Σε μελέτη των Pinkston και Sedlak (2004) όπου χρησιμοποιήθηκε διάλυμα με συγκέντρωση ουσίας 10-20  $\mu\text{M}$  και αναλογία μάζας χλωρίου/ουσίας 30:1 σε διάφορες τιμές pH 5 έως 10 για 5 ημέρες δεν εμφανίστηκε καμία σημαντική μείωση της ουσίας ανεξαρτήτου pH

### 3.5 Δικλοφενάκη (DCF)

Έχουν παρατηρηθεί πολλά προϊόντα οξείδωσης (Vogna et al., 2004; Sein et al., 2008; Coelho et al., 2009) όπως επίσης και κάποια προϊόντα μετασχηματισμού κατά την χλωρίωση ( Miyamoto et al., 1997, Quintana et al., 2010).

Οι Soufan et al (2012) για να μελετήσουν την κινητική χλωρίωσης της DCF όπως επίσης και την εξάρτηση της από το pH πραγματοποίησαν πειράματα χλωρίωσης για pH =5,7,9 κάτω από συνθήκες κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης παρουσία περίσσειας χλωρίου ( $[\text{HOCl}]_T > 10[\text{DCF}]_T$ ). Παρουσία περίσσειας ποσότητας χλωρίου, τα πειράματα χλωρίου παρουσιάζουν μια ψευδο-πρώτη τάξης σχέση με την συγκέντρωση της DCF όπως φαίνεται από γραμμικό διάγραμμα του  $\ln([\text{DFC}]_T)$  σε σχέση με το χρόνο. Το σχήμα 3.8 παρουσιάζει ένα διάγραμμα κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης χλωρίωσης της DCF για pH 4.97 και 6.93 για συνολική συγκέντρωση χλωρίου  $210 \pm 8 \mu\text{M}$  και για pH 9.17 με ολική συγκέντρωση χλωρίου  $2273 \mu\text{M}$ . Τα διαγράμματα ήταν γραμμικά ( $r^2=99\%$ ) για το 88% των περιπτώσεων.



**Σχήμα 3.8:** Διάγραμμα κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης της χλωρίωσης της DCF με  $[HOCl]_T=2273\mu M$  , για pH 6.93 με  $[HOCl]_T=218\mu M$  και για pH 4.97 με  $[HOCl]_T=202\mu M$  (ένθετο με την διακύμανση του  $k_{obs}$  ως συνάρτηση του  $[HOCl]_T$  για pH  $6.0\pm 0.1$  και  $20\pm 2^\circ C$  . Προσδιορισμός της τάξης αντίδρασης σε σχέση με το χλώριο)

Για κάθε πείραμα η DCF εξαφανιζόταν με ρυθμό ψευδο-πρώτης τάξης σχετικά με την ολική συγκέντρωση της DCF. Η παρακάτω αντίδραση μπορεί να γραφτεί

$$\frac{d[DCF]_T}{dt} = -k_{obs}[DCF]_T \quad (13)$$

ή

$$\ln \frac{[DCF]_{T,t}}{[DCF]_{T,0}} = -k_{obs}t \quad (14)$$

με  $k_{obs}$  = σταθερά ψευδο-πρώτης τάξης κινητικής και  $[DCF]_T$ =ολική συγκέντρωση της DCF. Για κάθε πείραμα η σταθερά  $k_{obs}$  καθορίζεται από την κλίση του διαγράμματος  $\ln ([DCF]_{T,t} / [DCF]_{T,0})$ . Η κινητική της αντίδρασης σε σχέση με το χλώριο εξετάστηκε αποτυπώνοντας την διακύμανση του  $k_{obs}$  ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ολικού χλωρίου  $[HOCl]_T$ . Το ένθετο στο σχήμα δείχνει την  $k_{obs}$  για pH 6 για ολικό χλώριο που κυμαίνεται από  $168-332\mu M$ . Από το σχήμα συμπεραίνεται ότι η σταθερά κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης είναι αναλογική με την συγκέντρωση του ολικού χλωρίου.

Ανεξαρτήτως του pH , βρέθηκε ότι η αντίδραση σε σχέση με το χλώριο είναι πρώτης τάξης. Έτσι, η κινητική χλωρίωσης της DCF είναι κινητική δευτέρας τάξης , πρώτης τάξης σε σχέση με την συγκέντρωση της ολικής συγκέντρωσης DCF ( $[DCF]_T$ ) και πρώτης τάξης σε σχέση με την συγκέντρωση του ολικού χλωρίου ( $[HOCl]_T$ )



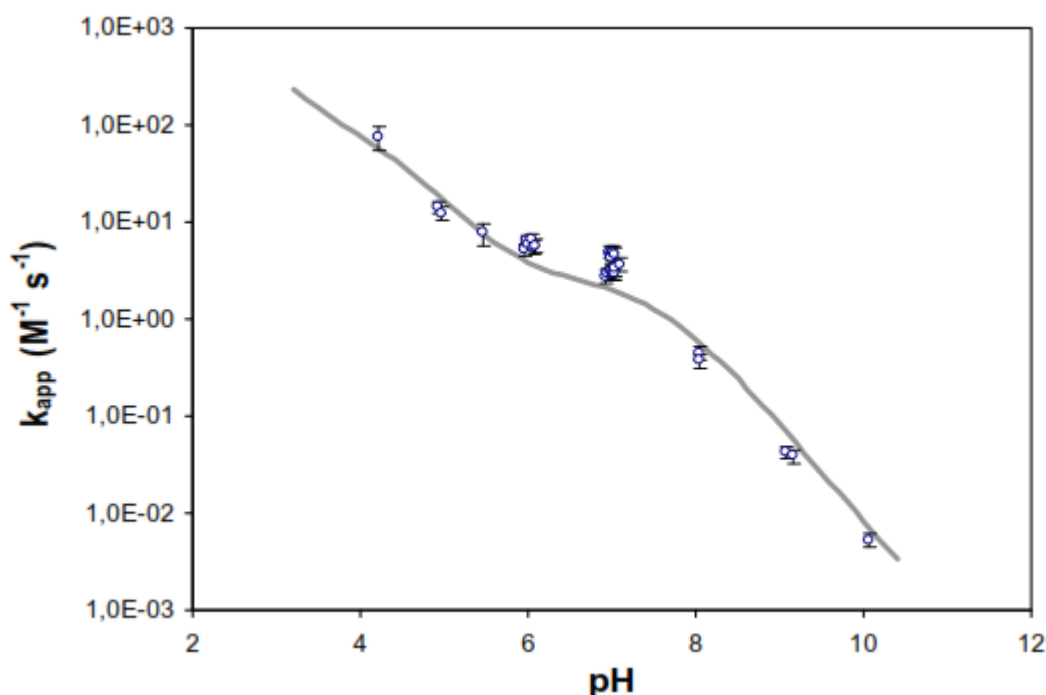
$$\frac{d[DCF]_T}{dt} = k_{app}[HOCl]_T[DCF]_T \quad (15)$$

με σταθερά κινητικής δευτέρας τάξης

$$k_{app} = k_{obs} / [HOCl]_T \quad (16)$$

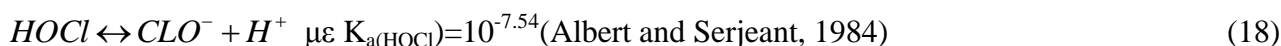
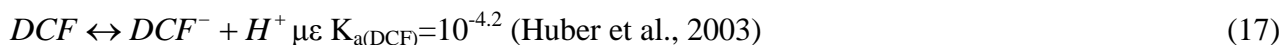
### Εξάρτηση του pH

Το παρακάτω σχήμα παρουσιάζει την φαινομενική δευτέρας τάξης σταθερά  $k_{app}$  για την χλωρίωση της DCF. Το σχήμα 3.9 δείχνει και την απόκλιση για κάθε σταθερά ρυθμού. Τα αποτελέσματα δείχνουν μια σαφή εξάρτηση του pH από την σταθερά ρυθμού, με μέγιστο για χαμηλές τιμές του pH ( $pH < 5$ ), ελάχιστο για υψηλές τιμές του pH ( $pH > 8$ ) και μια μείωση για τιμές pH μεταξύ 6 και 7.



**Σχήμα 3.9:** Εξάρτηση του pH της φαινομενικής σταθεράς δευτέρας τάξης για την αντίδραση χλωρίου με νερό. Τα σύμβολα αντιπροσωπεύουν τα μετρούμενα στοιχεία και η γραμμή αντιπροσωπεύει τους υπολογισμούς του μοντέλου (Soufan et al., 2012)

Από χημική άποψη, η DCF και το χλώριο βρίσκονται στο διάλυμα σε 2 μορφές κάτω από τις συνθήκες πειράματος pH ( $4 < pH < 10$ ).



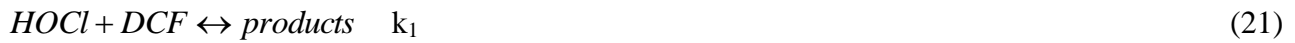
με



➤ Για pH>6 η κύρια μορφή της DCF είναι ιονισμένη ενώ παρατηρούνται και τα δύο κύρια είδη χλωρίου. Σύμφωνα με την αντίδραση του χλωρίου, η μείωση του μεγέθους  $K_{app}$  για pH μεγαλύτερο από 6 μπορεί να αποδοθεί στην αποπροτονίωση του HOCl για να σχηματίσει ClO<sup>-</sup> του οποίου η δραστηριότητα είναι αμελητέα.

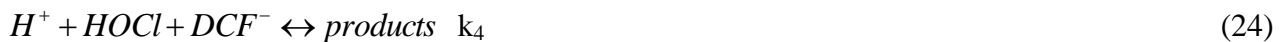
➤ Για pH<6, μια μεγαλύτερη αύξηση στην δραστηριότητα της DFC με το χλώριο παρατηρείται. Σε αυτό pH, πολλές υποθέσεις μπορούν να προταθούν έτσι ώστε να εξηγήσουν την εξάρτηση του pH:

α) Υπάρχει πιθανότητα σύμφωνα με Soufran et al.(2012) η καρβοξυλική ομάδα της DCF να έχει σημαντική επίδραση στην δραστηριότητα του χλωρίου και η πρωτονίωση αυτής της λειτουργικής αυξάνει την δραστηριότητα του χλωρίου. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, θεωρείται η δραστηριότητα του ClO<sup>-</sup> αμελητέα και ότι λαμβάνουν χώρα μόνο αντιδράσεις ανάμεσα στο HOCl με τη φυσική και ιονισμένη μορφή της DCF.



Παρόλα αυτό το ενδεχόμενο δεν είναι και τόσο πιθανό λαμβάνοντας υπόψη την ηλεκτρονιόφιλη επίθεση του χλωρίου που παρατηρείται συνήθως στα οργανικά συστατικά (Deborde von Gunten,2008). Είναι γνωστό ότι οι ιονισμένες καρβοξυλικές ομάδες είναι πιο ισχυροί δότες ηλεκτρονίων από ότι το καρβοξυλικό οξύ. Έτσι, αναμένεται μεγαλύτερη δραστηριότητα του HOCl με την ιονισμένη μορφή της DCF.

α) Σε περίπτωση που η πρωτονίωση στις καρβοξυλικές ομάδες δεν μπορεί να εξηγήσει την δραστηριότητα που παρατηρείται για pH<6, μπορούν να θεωρηθούν συμπληρωματικά αντιδράσεις όξινης κατάλυσης με την φυσική και την ιονισμένη μορφή της DCF



Έτσι λαμβάνοντας υπόψη τις αντιδράσεις 21,22,23 και 24 η κινητική της χλωρίωσης της DCF εκφράζεται:

$$\frac{d[DCF]_T}{dt} = k_1[HOCl][DCF] + k_2[HOCl][DCF^-] + k_3[H^+][HOCl][DCF] + k_4[H^+][HOCl][DCF^-] \quad (25)$$

ή

$$\frac{d[DCF]_T}{dt} = [HOCl]_T [DCF]_T (a_{HOCl} a_{DCF} k_1 + a_{HOCl} a_{DCF^-} k_2 + a_{HOCl} a_{DCF} [H^+] k_3 + a_{HOCl} a_{DCF^-} [H^+] k_4) \quad (26)$$

με το  $a_{DCF}$   $a_{DCF^-}$  το φυσικό και το αποπροτονιωμένο κλάσμα της ολικής DCF,  $a_{HOCl}$  το κλάσμα του υποχλωριώδους οξέος του ολικού χλωρίου.

Σύμφωνα με την εξίσωση (25), η παρακάτω ισότητα αποτελεί έκφραση της  $k_{app}$  ως συνάρτηση του pH:

$$\frac{d[DCF]_T}{dt} = \frac{k_1[H^+]^2 + k_2[H^+]ka_{DCF} + k_3[H^+]^3 + k_4[H^+]^2ka_{DCF}}{([H^+] + ka_{DCF})([H^+] + Ka_{HOCl})} \quad (27)$$

Με κατάλληλο πρόγραμμα βελτιστοποίησης του excel υπολογίζονται τα  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  και  $k_4$ . Για τις στοιχειακές αντιδράσεις 21, 22, 23 και 24 και βρέθηκαν  $0.37 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $2.41 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $2.38 \cdot 10^5 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$  και  $1.63 \cdot 10^6 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$  αντίστοιχα. Οι σταθερές ρυθμού για φυσικές και τις όξινης καταλυόμενες αντιδράσεις με τις ιονισμένες μορφές της DCF ( $k_2$  και  $k_4$ ) είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες σταθερές με τις φυσικές μορφές της DCF ( $k_1$  και  $k_3$ ). Όπως προαναφέρθηκε, η ιονισμένη καρβοξυλική ομάδα είναι ισχυρότερος δότης ηλεκτρονίων και έτσι αυξάνει την δραστηριότητα του HOCl. Για  $\text{pH} > 6.5$  εξαιτίας της χαμηλής τιμής του  $\text{pKa}$  της DCF ( $\text{pKa} = 4.2$ ) η αποπρωτονιωμένη μορφή της DCF είναι η κύρια μορφή της DCF ( $[DCF]_T = [DCF^-]$ ) και όξινα καταλυόμενες αντιδράσεις μπορούν να θεωρηθούν αμελητέες για τις συγκεκριμένες τιμές του pH. Έτσι η αντίδραση του HOCl με ιονισμένες μορφές της DCF είναι η κύρια αντίδραση. Για επίπεδα  $\text{pH} < 6$  οι αντιδράσεις όξινης κατάλυσης του HOCl με φυσικές και ιονισμένες μορφές της DCF είναι οι κύριες αντιδράσεις. Σε αυτές τις αντιδράσεις που εξαρτώνται από  $[H^+]$  οι φαινομενικές σταθερές ρυθμών αυξάνονται όταν οι τιμές του pH μειώνονται.

### Παραπροϊόντα χλωρίωσης DCF

Τα πειράματα για τα παραπροϊόντα της χλωρίωσης της DCF πραγματοποιήθηκαν για  $\text{pH}$  5,7 και 9 παρουσία περίσσεια χλωρίου. Η αρχική συγκέντρωση της DCF ήταν  $100 \mu\text{M}$  και προστέθηκε  $1000 \mu\text{M}$  ολικού χλωρίου. Μετά από διάφορους χρόνους χλωρίωσης, τα κλάσματα του διαλύματος αναλύθηκαν από LC-UV και φασματομετρία μάζας MS. Ανεξάρτητα του pH παρατηρήθηκε ότι το προφίλ των παραπροϊόντων ήταν ίδιο (Πίνακας 3.5.1)

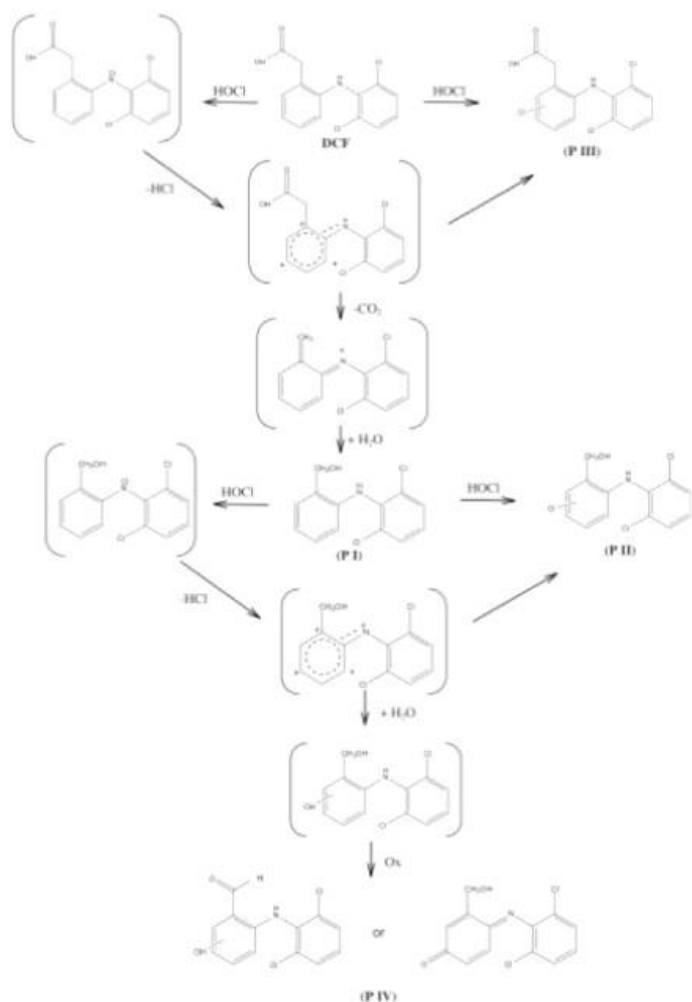
Έτσι φαίνεται ότι η χλωρο-DCF (P-III) και η χλωρο-αποκαρβοξυ-DCF (P-II) συσσωρεύονται στο διάλυμα, ακόμα και υπό την παρουσία περίσσειας χλωρίου. Ενώ η αποκαρβοξυ-DCF (P-I) σχηματίζεται γρήγορα στην αρχή της αντίδρασης. Στη συνέχεια παρατηρείται μείωση κατά την πάροδο της χλωρίωσης. Οι αντιδράσεις αυτές είναι σύμφωνες με την αναμενόμενη ηλεκτροφιλική επίθεση του χλωρίου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας και την βιβλιογραφία, δύο ενδεχόμενα της επίθεσης από χλώριο μπορούν να προταθούν (Σχήμα 3.10)

α) είτε ότι έλαβε χώρα μια ηλεκτροφιλική υποκατάσταση (H από χλώριο) στον αρωματικό δακτύλιο. Αυτή η προσβολή του χλωρίου μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό μονοχλωριομένων παραγώγων της DCF, και απεικονίζεται στο σχήμα ως χλωρο-DCF και σε αυτήν την εργασία και σε άλλες (Miyamoto et al., 1997; Quintana et al., 2010) είτε β) μια ηλεκτροφιλική υποκατάσταση (H από Cl) στο άζωτο: Αυτή η προσβολή του χλωρίου γενικά οδηγεί στο σχηματισμό άζωτο-χλωριομένων ενδιάμεσων, τα οποία μπορεί να δημιουργήσουν  $\text{NH}_2^+$  μετά την απώλεια χλωριούχου. Στο κατιόν του  $\text{NH}_2^+$ , μπορεί να παρατηρηθεί μετατόπιση του θετικού φορτίου από το άζωτο στον αρωματικό δακτύλιο δημιουργώντας ισχυρή έλλειψη ηλεκτρονίων στις παρά και ορθό θέσεις στον αρωματικό

δακτύλιο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα στο να παρατηρούνται πυρηνόφιλες προσβολές (Gassman and Campell, 1971; Fishbein and McClelland, 1996; Miyamoto et al., 1997; Dodd and Huang, 2004). Στην περίπτωση χλωρίωσης της DCF, μετά το σχηματισμό του  $\text{NH}_2^+$ , θα μπορούσε να γίνει ηλεκτρονιόφιλη προσβολή από το Cl- στις ορθό και παρά θέσεις του αρωματικού δακτυλίου σχηματίζοντας χλωρο-DCF (PIII). Αλλιώς, μπορεί να παρατηρηθεί αντίδραση αποκαρβοξυλίωσης και προσβολή του νερού οδηγώντας σε αποκαρβοξυ DVF (PI) (Σχήμα 3.10).

Παρόμοια, μπορεί να παρατηρηθεί μια ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση στον αρωματικό δακτύλιο του PI σχηματίζοντας χλωρο-αποκαρβοξυ-DCF (PII) ή προσβολή από Cl στην αμινο-ομάδα του PI δημιουργώντας χλωρο-αποκαρβοξυ-DCF (PII) ή υδροξυ-αποκαρβοξυ-DCF (μη παρατηρούμενο προϊόν). Το τελευταίο συστατικό μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό του PIV μετά από αντιδράσεις οξείδωσης. Για το παραπροϊόν PIV έχουν παρατηρηθεί 2 δομές κάτι που έρχεται σε συμφωνία και με τη μελέτη του Miyamoto et al. (1997) πάνω στη χλωρίωση της DCF.

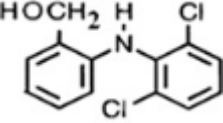
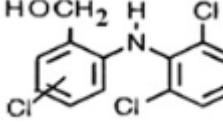
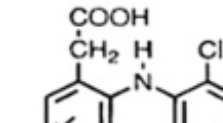
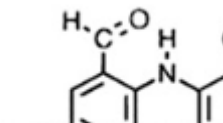
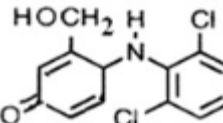


**Σχήμα 3.10:** Πορεία των αντιδράσεων της χλωρίωσης της DCF. Οι δομές που είναι στις παρενθέσεις δεν παρατηρούνται (Soyfan et al., 2012)

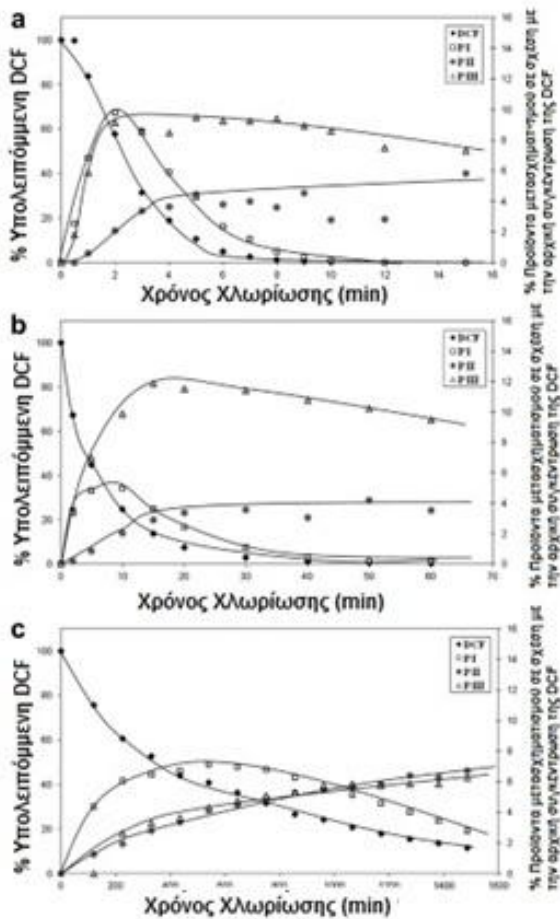
Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η παρατηρούμενη χλωρο-DCF δείχνει μεγάλη σταθερότητα ακόμα

και παρουσία περίσσειας χλωρίου και φαίνεται να είναι το πιο άφθονο παραπροϊόν μετασχηματισμού κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης της DCF, ειδικά σε ουδέτερες ή ελαφρώς όξινες συνθήκες. Ο σχηματισμός του χλωρο-αποκαρβοξύ-DCF προκύπτει, σύμφωνα με την σχήμα 3.10, από τον μετασχηματισμό του αποκαρβοξύ-DCF (PI) σε χλωρο-αποκαρβοξύ-DCF (PII).

**Πίνακας 3.4:** Παραπροϊόντα της DCF

Παραπροϊόντα	Χημικοί Τύποι Παραπροϊόντων
<b>PI</b> Αποκαρβοξύ-DCF	
<b>PII</b> Χλωρο-αποκαρβοξύ-DCF	
<b>PIII</b> Χλωρο-DCF	
<b>PIV</b>	 ή 

Μελετήθηκε επίσης η απομάκρυνση της DCF σε διαφορετικά pH. Όπως αναμένεται από τα αποτελέσματα κινητικής, η μεγαλύτερη απομάκρυνση της DCF παρατηρήθηκε για pH 5 και 7 από ότι για 9.(Σχήμα 3.11)

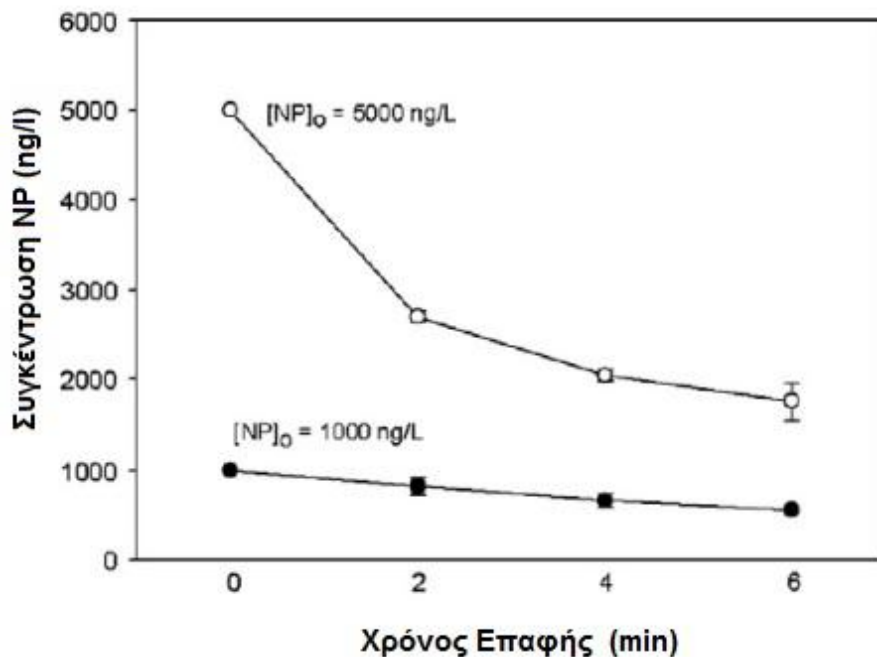


**Σχήμα 3.11:** Διακυμάνσεις προϊόντων μετασχηματισμού παρουσία περίσσειας χλωρίου για a) pH 5 b) pH 7 c) pH 9 (Soyfan et al., 2012)

### 3.6 Εννεύλοφαινόλη

Οι Chen et al. (2013) μελέτησαν την επίδραση της χλωρίωσης στην αποδόμηση της NP. Προσομοίωσαν τη διεργασία επεξεργασίας του νερού για να ερευνήσουν το ρόλο της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της NP σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας νερού. Έτσι προστέθηκε στο προσομοιωμένο ανεπεξέργαστο νερό, 1000 ng/l και 5000ng/l NP και αφέθηκε για διαφορετικούς χρόνους επαφής. Για να σταματήσει η χλωρίωση χρησιμοποιήθηκε  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Τα αποτελέσματα της αποδόμησης της NP με χλωρίωση για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις ουσίας φαίνονται στο σχήμα 3.6.1.



**Σχήμα 3.12:** Οξείδωση της NP με χλώριο ( [NP]<sub>0</sub>=1000 και 5000 ng/l, N=3) (Chen et al. 2013)

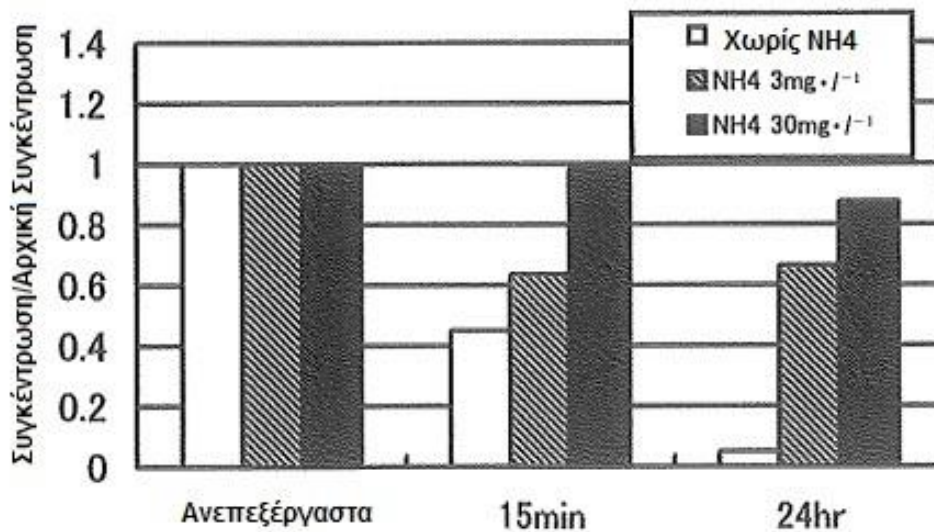
Όταν η αρχική συγκέντρωση του χλωρίου ήταν μικρή (1000ng/l) και η δόση του χλωρίου 1mg/l, οι συγκεντρώσεις της NP μετά από 2, 4 , 6 min μετά τη χλωρίωση ήταν 826, 664 και 561 ng/l, αντίστοιχα. Μετά από 6 min επαφή με το χλώριο, η υπολειμματική συγκέντρωση του χλωρίου ήταν περίπου 0.9mg/l, υποδεικνύοντας ότι το χλώριο δεν καταναλώθηκε πλήρως στο σύστημα batch. Η NP καταναλωνόταν σταδιακά με την πάροδο του χρόνου και η ολική απομάκρυνση μετά από 6 min ήταν 48%. Με υψηλότερη αρχική συγκέντρωση 5000 ng/l, οι συγκεντρώσεις μετά από 2, 4 και 6 min ήταν αντίστοιχα 2697, 2033 και 1759 ng/l. Μετά από 6 λεπτά, η συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου ήταν 0.85 mg/l και η συνολική απομάκρυνση ήταν 63%. Είναι φανερό από το σχήμα 3.6.1 ότι η απομάκρυνση της NP πραγματοποιήθηκε με πολύ υψηλότερο ρυθμό στα πρώτα 2 λεπτά της χλωρίωσης απ ότι μετά για αρχική συγκέντρωση ουσίας 5000mg/l. Συνοψίζοντας φαίνεται ότι η αρχική ποσότητα ουσίας παίζει ρόλο στο ποσοστό απομάκρυνση της.

Στη συνέχεια οι Chen et al. (2013) θέλησαν να δουν κατά πόσο η διαδικασία της προχλωρίωσης παίζει ρόλο στην απομάκρυνση της ουσίας σε μια συμβατική διαδικασία επεξεργασίας νερού. Πραγματοποίησαν δύο πειράματα όπου στο πρώτο πείραμα χρησιμοποίησαν το στάδιο της προχλωρίωσης και μετα-χλωρίωσης του νερού ενώ στο δεύτερο πείραμα χρησιμοποίησαν μόνο το στάδιο της μετα-χλωρίωσης. Στο τέλος μετρήθηκε η συγκέντρωση της υπολειμματικής ουσίας.

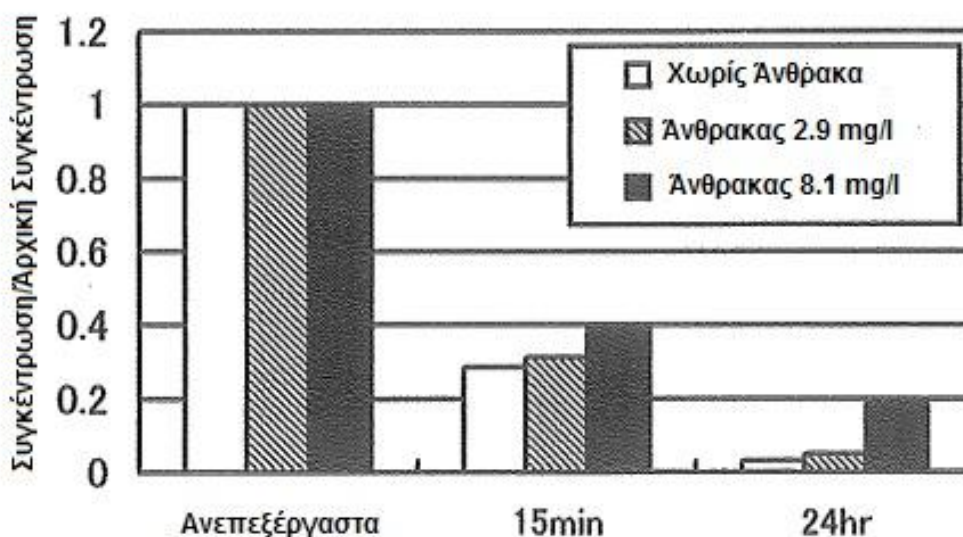
Έτσι προστέθηκε 1000 ng/l NP σε ανεπεξέργαστο νερό και χλώριο συγκέντρωσης 6mg/l. Η συνολική συγκέντρωση της NP ήταν 1265 ng/l. Στο δείγμα που έγινε προ-χλωρίωση παρατηρήθηκε απομάκρυνση 83% μετά από 6 λεπτά επαφής. Στη συνέχεια δεν παρατηρήθηκε καμιά μεταβολή της ουσίας κατά τη διάρκεια των διαδικασιών συσσωμάτωσης, καθίζησης, φίλτρανσης και μετά-χλωρίωσης. Παρατηρήθηκε ότι είχε μείνει μια ποσότητα 300 ng/l NP υπόλειμμα στο νερό ακόμα και μετά την τελευταία χλωρίωση. Στην επεξεργασία του νερού χωρίς προ-χλωρίωση , η αρχική συγκέντρωση της NP ήταν 1016 ng/l. Μετά την χλωρίωση με συγκέντρωση χλωρίου 6mg/l παρατηρήθηκε μείωση 75%. Έτσι και χωρίς προ-χλωρίωση παραμένει στο νερό ουσία

συγκέντρωσης 300ng/l.

Οι Kitanaka et al. (2003) μελέτησαν επίσης την χλωρίωση της NP. Η παρουσία της αμμωνίας παρόλα αυτά επηρέασε την αποδόμηση της NP από το χλώριο. Επίσης έγινε σύγκριση του συνολικού ποσού χλωριωμένου άνθρακα (total chlorinated carbon, TOX) που σχηματίστηκε κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης σε ρυθμιστικό διάλυμα NP και σε επεξεργασμένα λύματα. Η παρουσία της αμμωνίας επηρέασε αρνητικά την αποδόμηση της NP (Σχήμα 3.13) όπως επίσης, αν και αρκετά λιγότερο, η παρουσία χουμικών, (Σχήμα 3.14). Συμπεραίνεται ότι η παρουσία αυξημένων οργανικά και ανόργανων υλικών (COD, TOC και αμμωνία), απαιτεί μεγαλύτερη ποσότητα οξειδωτικού παράγοντα (χλώριο) και για αυτό λιγότερη ποσότητα χλωρίου είναι διαθέσιμη για την οξείδωση των φαρμακευτικών ουσιών, κάτι το οποίο έχει ως αποτέλεσμα να ανιχνεύονται υψηλότερες υπολειμματικές συγκεντρώσεις των φαρμακευτικών ουσιών. (Acero et al., 2010)



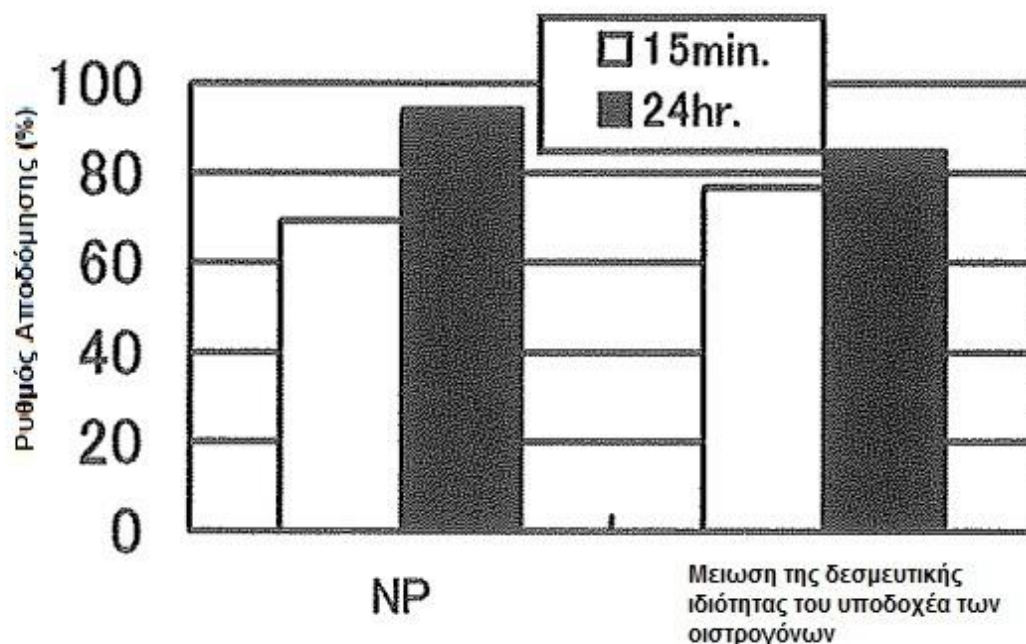
Σχήμα 3.13: Επίδραση της NH<sub>4</sub>-N στη χλωρίωση της NP (Kantana et al., 2003)



Σχήμα 3.14: Επίδραση των χουμικών οξέων στη χλωρίωση της NP (Kantana et al., 2003)



Υπό κανονικές συνθήκες χλωρίωσης, η ποσότητα των TOX που σχηματίστηκε ανά mg οργανικού άνθρακα (DOC) ήταν υψηλότερη στο ρυθμιστικό διάλυμα NP (138  $\mu\text{g Cl/mg-DOC}$ ) από ότι στα επεξεργασμένα λύματα (84 $\mu\text{g Cl/mg-DOC}$ ). Επίσης τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι 15 λεπτά χλωρίωσης ήταν αρκετά για να μειώσουν σημαντικά την NP και την δεσμευτική επίδραση που έχει στον υποδοχέα οιστρογόνου (Σχήμα 3.15). Ο αρωματικός δακτύλιος, παρόλα αυτά δεν αποσυντέθηκε. Η αποδόμηση του αρωματικού δακτυλίου παρατηρήθηκε μετά από χρόνο επαφής 24 ωρών.

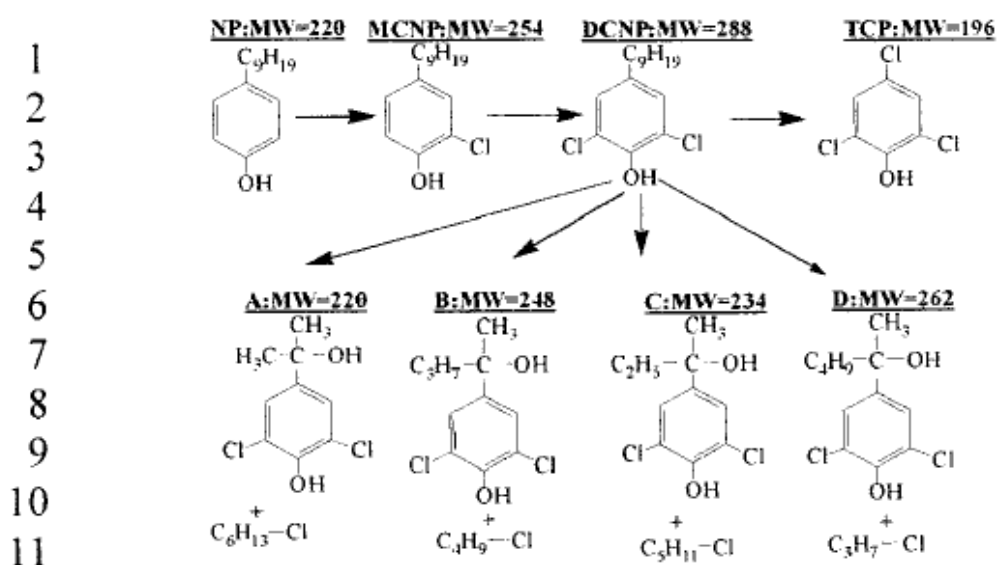


**Σχήμα 3.15:** Ποσοστό Αποδόμησης της NP και μείωσης της δεσμευτικής επίδρασης στον υποδοχέα του οιστρογόνων μετά από 15 λεπτά και μετά από 24 ώρες (Kitanaka et al., 2003)

Οι Xu et al. (2002) μελέτησαν την χλωρίωση τα προϊόντα που δημιουργούνται κατά την χλωρίωση της 4-NP καθώς και την οιστρογόνο δραστηριότητα τους. Η 4-NP, στην οποία η πλευρική της αλυσίδα είναι συνδεδεμένη με τον άνθρακα ακριβώς απέναντι από το υδροξύλιο (OH), είναι το πιο κοινό μέλος της ομάδα των NP και αποτελεί το 90% των NP. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε 4 L υπερκάθαρου νερού με 2mg/l ουσίας, σε pH 7 και θερμοκρασία 25<sup>0</sup>C ενώ απομακρύνθηκε δείγμα μισού λίτρου για να ερευνηθεί η οιστρογόνο δραστηριότητα πριν την χλωρίωση. Για την χλωρίωση, χρησιμοποιήθηκε υποχλωριώδες νάτριο συγκέντρωσης 1.3 mg/l. Δείγματα 500ml απομακρυνόντουσαν κάθε 10, 60, 120, 180, 240 και 600 λεπτά.

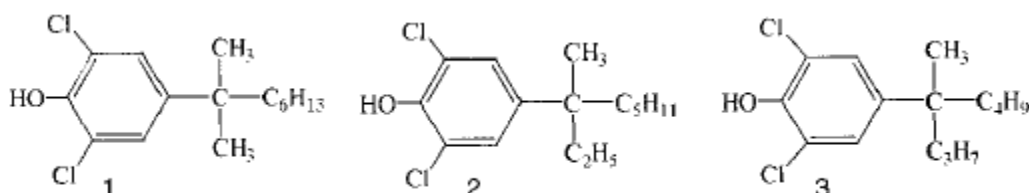
Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η 4-NP αντιδρά ταχύτατα με το υποχλωριώδες νάτριο σχηματίζοντας πολλά παραπροϊόντα. Έτσι ανιχνεύθηκαν συνολικά 7 προϊόντα, η 2-χλώρο-4-NP, η 2,6-διχλώρο-4-NP, η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη, η 4-προπυλο-2-υδροξυφαινόλη, η 4-ισοβουτυλο-2-υδροξυ-φαινόλη, η 4-ισοαμυλικη-2-υδροξυφαινόλη και η 4-ισοπεντυλική-2-υδροξυ-φαινόλη.

Στα 12 πρώτα λεπτά της αντίδρασης ανιχνεύτηκαν από το GS-MS κορυφές που αντιστοιχούν στο σχηματισμό της 2-μονοχλωρο-4-NP (MCNP) ενώ στα 14.2 λεπτά της αντίδρασης ανιχνεύτηκαν κορυφές που αντιστοιχούσαν στην ύπαρξη της 2,6-δίχλωρο-NP (DCNP). Στα 10 πρώτα λεπτά της αντίδρασης έχει εξαφανιστεί το 84% της NP. Στα 60 λεπτά αντίδρασης παρατηρείται σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης και τεσσάρων άλλων προϊόντων (A-D). (Σχήμα 3.16) Αξίζει να σημειωθεί ότι την ώρα του σχηματισμού της τριχλωροφαινόλης (TCP), απουσίαζαν τα προϊόντα MNCP και NP από το διάλυμα ενώ παρατηρήθηκε μείωση της DCNP. Ενώ τα παραπροϊόντα MCNP και DCNP κυριαρχούν στα 10 και 60 λεπτά χλωρίωσης, η TCP και τα τέσσερα προϊόντα (A-D) είναι τα κυρίως προϊόντα αποδόμησης που προκύπτουν από την χλωρίωση της NP για εκτεταμένο χρόνο χλωρίωσης 120 λεπτών. Ο σχηματισμός της TCP υποδεικνύει την ρήξη ανάμεσα στον α-C της εννεύλοομάδας και του β-άνθρακα του βενζολίου του DCNP. Επίσης ο σχηματισμός των τεσσάρων προϊόντων (A-D) προέκυψε ακριβώς με τον ίδιο τρόπο.



**Σχήμα 3.16:** Υποκαταστάσεις χλωρίου κατά την αντίδραση μεταξύ της 4-NP και του υποχλωριώδους νατρίου. NP=εννεύλοφαινόλη, DCNP=διχλωροφαινόλη, TCP=τριχλωροφαινόλη Xu et al. (2002)

Η δομή των 4 προϊόντων (A-D) υποδεικνύει ότι ο α-C της εννεύλοομάδας του μορίου της DCNP πρέπει να είναι ένας τριτογενής άνθρακα και οι πρόδρομες δομές αυτών των ενώσεων πρέπει να είναι ως εξής:

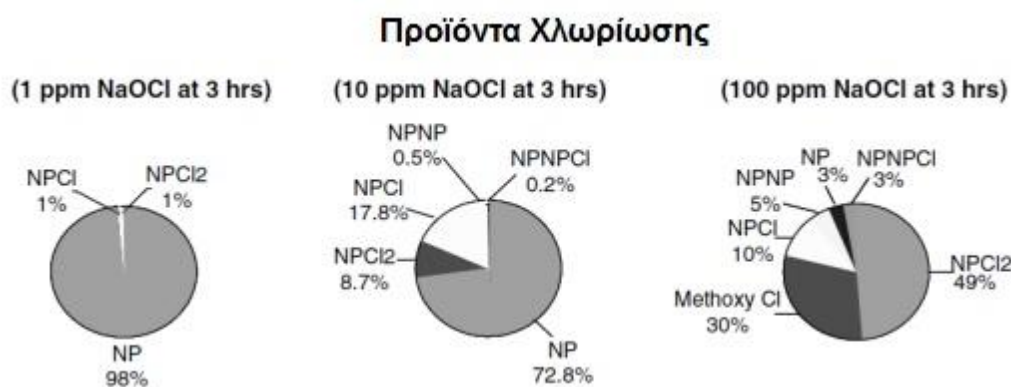


**Σχήμα 3.17:** Πρόδρομες ενώσεις των παραπροϊόντων χλωρίωσης (A-D)

Συνοψίζοντας, όπως φαίνεται από την Σχήμα 3.16, η χλωρίωση της 4-NP περιλαμβάνει μια αντίδραση υποκατάστασης χλωρίου που ακολουθείται από α) αφυδάτωση β) διάσπαση του α-C της εννεύλοομάδας και του β-C της βενζολίου και γ) διάσπαση του α-C και του β-C της εννεύλοομάδας.

Ο Thurman (2006) επίσης μελέτησε τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται από την χλωρίωση της 4-NP. Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό και συγκέντρωση ουσίας 100 ng/ml σε θερμοκρασία 25°C για pH 7.5 και υποχλωριώδες νάτριο σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 100 ppm. Οι ουσίες ανιχνεύτηκαν με την χρήση LC/Tof-MS.

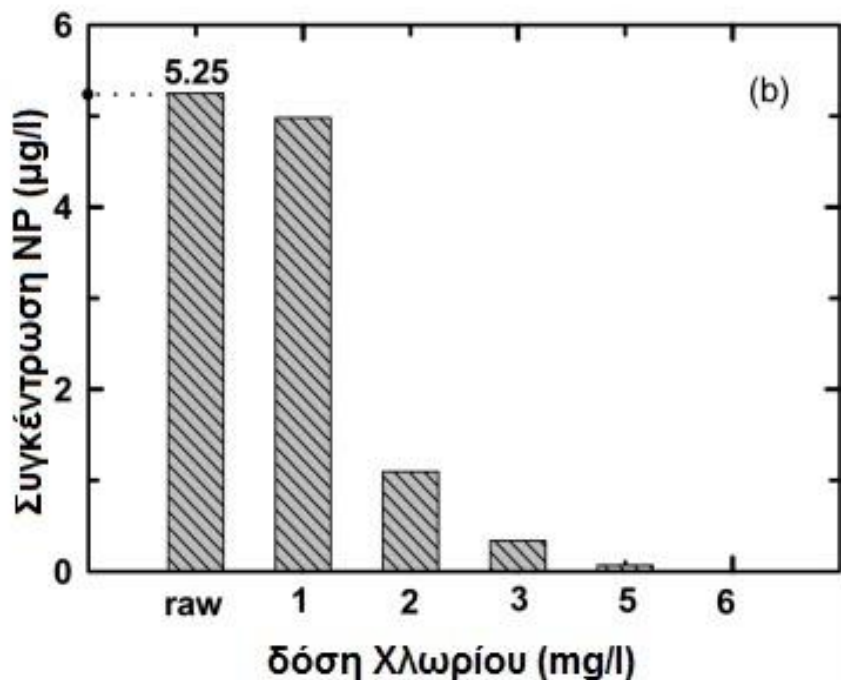
Στην χαμηλότερη τιμή του υποχλωριώδους νατρίου (1 ppm) και σε φυσικό pH σχηματίστηκαν ταχύτατα δύο προϊόντα: 4-NP-Cl και 4-NP-Cl<sub>2</sub>. Αυτά τα προϊόντα αποτελούν το 2% της ολικής NP για χρόνο αντίδρασης 3 ώρες (Σχήμα 3.18). Για 10 ppm NaOCl παρατηρήθηκε ταχύτατη αντίδραση του χλωρίου με την NP και σχηματισμός παραπροϊόντων 30% της ολικής NP. Τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται με σειρά αφθονίας είναι 4-NP-Cl > 4-NP-Cl<sub>2</sub> > διμερές 4NP-DPE (4-εννεύλοφαινόλο-διφαινυλαιθέρας > διμερές 4-NP-Cl-DPE (μονοχλωρο-εννεύλοφαινόλο διφαινυλαιθέρα) (Σχήμα 3.18). Στο υψηλότερο επίπεδο του NaOCl που εξετάστηκε (100 ppm) η αντίδραση ήταν η ταχύτατη που σημειώθηκε και σχηματίστηκαν παραπροϊόντα που καταλάμβαναν ποσοστό 97% της ολικής NP σε 3 ώρες αντίδρασης. Έτσι ανιχνεύτηκαν με σειρά αφθονίας 4-NP-Cl<sub>2</sub> > 4NP μεθοξύ ενώσεις > 4 NP-Cl > διμερές 4-NP-DPE > διμερές 4-NP-Cl-DPE (Σχήμα 3.18). Αυτά τα προϊόντα σχηματίστηκαν ταχύτατα σε λιγότερο από 3 ώρες για διάλυμα υποχλωριώδους συγκέντρωσης 100 ppm. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ευνοείται ο σχηματισμός μεγαλύτερης ποσότητας διμερούς διφαινυλαιθέρα από ότι περαιτέρω χλωρίωση του χλωρο-εννεύλο-διφαινυλαιθέρα καθώς δεν ανιχνεύτηκε διμερές διχλωρο-εννεύλο-διφαινυλαιθέρα ακόμα και σε μεγαλύτερους χρόνους χλωρίωσης. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι το χλώριο επηρεάζει λιγότερο το διμερές λόγω του ότι το διμερές χάνει την δραστικότητα του εξαιτίας του διμερισμού. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μεθοξύ-ενώσεις που σχηματίστηκαν είναι πιθανό να οφείλεται στη χρήση του διαλύματος 10% μεθανόλης όπως απαιτείται από τη μέθοδο που εφαρμόστηκε.



**Σχήμα 3.18:** Προϊόντα χλωρίωσης της NP σε διάφορες συγκεντρώσεις NaOCl (Thurman et al., 2006)

Οι Choi et al. (2006) μελέτησαν επίσης την επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της NP σε πειράματα batch χρησιμοποιώντας ανεπεξέργαστο νερό από ποτάμι της Κορέας. Η συγκέντρωση της ουσίας ήταν 500 ng/l και δόσεις χλωρίου που χρησιμοποιήθηκαν κυμαίνονταν από 1-9mg/l για 1 ώρα. Το pH μετρήθηκε στα 8.2-8.5 ενώ η συγκέντρωση του ολικού οργανικού άνθρακα 2.5-3.1

mg/l. Για δόση χλωρίου 1 mg/l παρατηρήθηκε 5% απομάκρυνση ενώ για δόσεις χλωρίου από 5mg/l και πάνω παρατηρήθηκε 100% απομάκρυνση (Σχήμα 3.19).



Σχήμα 3.19: Απομάκρυνση της NP κατά τη διάρκεια χλωρίωσης (Choi et al., 2006)

### 3.7 Μονοαιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη & Διαιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη

Οι Thurman et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση του χλωρίου στις αιθοξυλιωμένες εννεύλοφαινόλες (NPE10, NPE20) Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό και συγκέντρωση NPE10 και NPE20 100 ng/ml αντίστοιχα για κάθε μία ουσία σε θερμοκρασία 25<sup>0</sup>C για pH 7.5 και υποχλωριώδες νάτριο σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 100 ppm. Τα παραπροϊόντα που σχηματίστηκαν ανιχνεύτηκαν με την χρήση LC/Tof-MS. Παρατηρήθηκε ότι η επίδραση του χλωρίου και με τις NPE10 και NPE20 ήταν ελάχιστη καθώς ανιχνεύτηκαν ελάχιστες κορυφές σε μάζες που αντιστοιχούσαν σε χλωριωμένα πρωτονιωμένα προϊόντα των NPEOs. Ακόμα και μετά από 7 ημέρες πειράματος δεν βρέθηκαν μονοχλωριωμένα NPE10.

Το γεγονός ότι τα NPEO δεν χλωριώθηκαν σε ουδέτερο pH και σε χαμηλές συγκεντρώσεις NaOCl μπορεί να οφείλεται σε δυο παράγοντες. Πρώτον, είναι πολύ λιγότερη η δραστητικότητα στις όρθο θέσεις από τις αιθοξύ-ομάδες και δεύτερον υπάρχει αρκετή στερεοχημική παρεμπόδιση από τις αιθοξύ-ομάδες σχέση με το ομάδα υδροξυλίου του 4-NP. Μοντέλα τριών διαστάσεων του 4-NP, 4NPEO και 4NPEC έδειξαν ότι η περιστροφή γύρω από τον δεσμό του άνθρακα-οξυγόνου δημιουργεί μια μεγάλη ζώνη παρεμπόδισης που εμποδίζει την επίθεση του HOCl για την ηλεκτροφιλική υποκατάσταση του Cl.

Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουν και οι Lenz et al. (2004) οι οποίοι πραγματοποίησαν πειράματα για να διερευνήσουν την αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης διάφορων μεθόδων οξείδωσης. Έτσι στα πειράματα χλωρίωσης χρησιμοποίησαν 0.5mg/l NaClO και 0.4-0.6mg/l ClO<sub>2</sub> και 500-300.000

ng/l NPN<sub>n</sub>EO και οι ουσίες μετά από χλωρίωση ανιχνεύτηκαν με HPLC/MS. Η χλωρίωση με NaOCl προκάλεσε μόνο οριακή μείωση στις NPE1O και NPE2O που αντιστοιχεί σε ελαφρά μόνο μείωση της οιστρογονικής της δυνατότητας. Αντίθετα η ClO<sub>2</sub> έδειξε υψηλή ικανότητα απομάκρυνσης, απομακρύνοντας την NPE1O και την NPE2O 94% και 92% αντίστοιχα.

Οι Maki et al. (1998) μελέτησαν την επίδραση του χλωρίου στις NPEOs. Οι συγκεντρώσεις των NPE1O και NPE2O ρυθμίστηκαν στα 50 μg/l πριν τα πειράματα αλογονοποίησης. Τα πειράματα έγιναν με την προσθήκη υποχλωριώδους νατρίου και η συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου ήταν 1mg/l. Προστέθηκε επίσης 5mg/l βρωμιούχων στην εκτέλεση των πειραμάτων. Αυτή η προσθήκη βρωμιούχων έγινε γιατί έχει παρατηρηθεί ότι τα ενδιάμεσα προϊόντα βιοαποικοδόμησης των NPEO μετατρέπονται σε αλογονωμένα παραπροϊόντα μέσω της υποκατάστασης ενός δακτύλιου βενζολίου με 1 mole βρωμίου (BrNPN<sub>n</sub>EO) κατά τη χλωρίωση. Αυτά τα βρωμιούχα παραπροϊόντα έχουν επίσης ανιχνευθεί σε ποτάμια και στο νερό της βρύσης. Μετά από 24 ώρες αντίδρασης στους 20<sup>0</sup>C, περισσότερο από το 90% των NPE<sub>n</sub>EO εξαφανίστηκε, και σχηματίστηκε BrNPN<sub>n</sub>EO όπου οι δακτύλιοι βενζολίου υποκαθιστούνται από 1 mol βρωμίου. Χλωριωμένες NPN<sub>n</sub>EO είχαν μόλις σχηματιστεί.

Για να μελετηθεί η επίδραση του υπολειμματικού χλωρίου χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις υπολειμματικού χλωρίου που κυμαίνονταν από 2.5 έως 10 mg/l για pH 7. Παρόλα αυτά βρέθηκε ότι η αύξηση του υπολειμματικού χλωρίου δεν συνέβαλε σημαντικά στον σχηματισμό του BrNPN<sub>n</sub>EO, ενώ ο αριθμός των mol των NPN<sub>n</sub>EOs, BrNPN<sub>n</sub>EO φαίνονται να μειώνονται με την αύξηση του υπολειμματικού χλωρίου. Αυτό συμβαίνει πιθανόν γιατί οι υψηλές συγκεντρώσεις του χλωρίου καταστρέφουν τα NPN<sub>n</sub>EOs και τα σχηματισμένα BrNPN<sub>n</sub>EO

Σε πειράματα που έγιναν για τη μελέτη της επίδρασης του pH στους 21<sup>0</sup>C και διάρκειας 21 ωρών σε διαφορετικές τιμές pH, συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου 1 mg/L και συγκέντρωση βρωμιούχων 5 mg/l, φάνηκε ότι ο σχηματισμός των BrNPN<sub>n</sub>EO είναι ευνοϊκότερος όταν το pH του μίγματος κυμαίνεται από 6 έως 7. Ο ρυθμός της αντίδρασης του υποχλωριώδους οξειδωμένου βρωμιούχου σε ενεργό υποβρωμιώδες οξύ και υποβρωμιώδες ιόν όπως επίσης και η χλωρίωση είναι αντιστρόφως ανάλογη με το pH. Για τιμές pH πάνω από 7 η απομάκρυνση των NPN<sub>n</sub>EO αρχίζει και μειώνεται

### 3.8 Τρικλοζάνη

Στην επιστημονική κοινότητα υπάρχει έντονη ανησυχία λόγω της παρουσίας της τρικλοζάνης στο περιβάλλον όχι μόνο λόγω της παρουσίας της ουσίας στο περιβάλλον και τις επιπτώσεις που μπορεί να έχει λόγω τοξικότητας στους υδρόβιους οργανισμούς αλλά και λόγω του σχηματισμού πιο τοξικών παραπροϊόντων. Η βιο-μεθυλίωση και η φωτόλυση είναι δυο γνωστές διεργασίες που οδηγούν στην μετατροπή της τρικλοζάνης σε λιποφυλικά, σταθερά και βιοσυσσωρευσιμα συστατικά. Η καύση στερεών αποβλήτων, όπως η αποξηραμένη αστική λάσπη που είναι μολυσμένη με τρικλοζάνη μπορεί επίσης να δημιουργήσει αρκετά επικίνδυνα τοξικά χλωριωμένα παραπροϊόντα. (Canosa et al, 2005).

Πολλά προϊόντα που περιέχουν τρικλοζάνη έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να χρησιμοποιούνται σε δραστηριότητες όπως το ντους και το πλύσιμο των πιάτων. Έτσι, αυτά τα προϊόντα έρχονται σε επαφή με το δέρμα του καταναλωτή για εκτεταμένη χρονική περίοδο σε θερμοκρασία που

κυμαίνεται από 21 μέχρι 46°C. Το νερό που χρησιμοποιείται για οικιακές δραστηριότητες, περιέχει υπολειμματικό απολυμαντικού και το 70% των εγκαταστάσεων νερού στις Η.Π.Α χρησιμοποιεί ελεύθερο χλώριο ως υπολειμματικό. Έτσι όταν τα προϊόντα που περιέχουν τρικλοζάνη έρθουν σε επαφή με το χλώριο δημιουργούνται παραπροϊόντα τα οποία πρέπει να μελετηθούν περαιτέρω λόγω της τοξικότητάς τους.

Επίσης η τρικλοζάνη που παραμένει στην δευτεροβάθμια (πριν την απολύμανση) έξοδο μετά την επεξεργασία με ενεργό ιώδιο, μπορεί να μετασχηματιστεί χημικά και δημιουργηθούν παραπροϊόντα απολύμανσης σε κατά τη διάρκεια του τελευταίου σταδίου απολύμανσης.

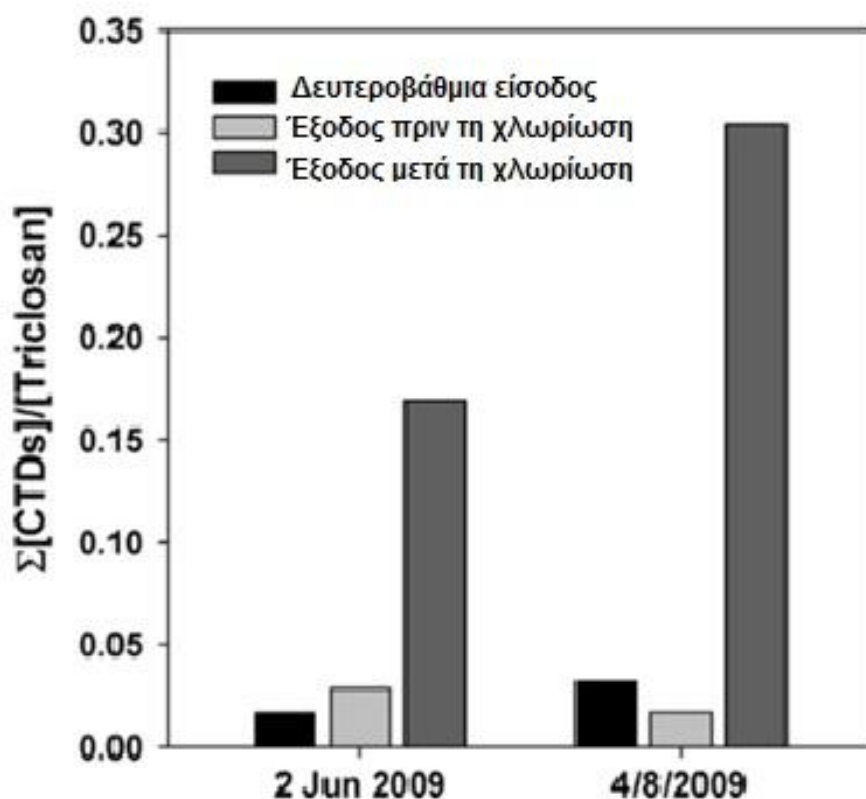
Το υποχλωριώδες νάτριο, μια πηγή ελεύθερου χλωρίου το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως στις Η.Π.Α, ως απολυμαντικό οξειδωτικό, είναι γνωστό ότι χλωριώνει την τρικλοζάνη στις ορθο και παρά θέσεις του φαινολικού δακτυλίου σχηματίζοντας τρία παραπροϊόντα χλωριωμένα παράγωγα της τρικλοζάνης την 4,5-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ) φαινόλη (4-Cl-TCS), 5,6-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ) φαινόλη (6-Cl-TCS) και την 4,5,6-τριχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ)φαινόλη (4,6-Cl-TCS). (Buth et al, 2011, Rule et al., 2005). Η χλωραμίνωση της τρικλοζάνης επίσης σχηματίζει τα ίδια παράγωγα αλλά σε ρυθμό πολύ μικρότερο από την ελεύθερη χλωρίωση. (Greysshock and Vikesland, 2006). Τα χλωριωμένα παραπροϊόντα της τρικλοζάνης έχουν ανιχνευτεί σε λύματα εξόδου αλλά και σε ψάρια, σε υδρόβια πτηνά, σε ρεύματα που λαμβάνουν λύματα εξόδου ως βιομεθυλιωμένα ανάλογα και σε κυπρίνους από κόλπους που καταλήγουν λύματα. Αυτό υποδεικνύει ότι τα χλωριωμένα παράγωγα της τρικλοζάνης είτε εισρέουν στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας και δεν απομακρύνονται πλήρως είτε ότι δημιουργούνται από την τρικλοζάνη μέσω της επαφής τους με την ελεύθερη χλωρίνη κατά τη διάρκεια της απολύμανσης.

Η τρικλοζάνη είναι ένας φαινολικός αιθέρας και έτσι μελέτες που εξετάζουν τις αντιδράσεις μεταξύ της ελεύθερης χλωρίνης και των συστατικών που περιέχουν αυτές τις λειτουργικές ομάδες προσφέρουν μια αντίληψη στις πιθανές αντιδράσεις μεταξύ χλωρίου και τρικλοζάνης. Όταν οι φαινόλες υπόκεινται σε ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση ( $S_E2$ ), ο υποκατάστατος  $-OH/O^-$  του φαινολικού δακτυλίου ενεργοποιεί τις ορθο και παρα θέσεις ύστερα από ηλεκτρονιόφιλη επίθεση από οξειδωτικό μέσο όπως χλωρίνη. (Burttschell et al., 1959)

Σε μελέτη του Buth et al (2011) για το ποσοστό απομάκρυνσης και τα παραπροϊόντα χλωρίου κατά τη διάρκεια δευτεροβάθμιας επεξεργασίας λυμάτων καθώς και η δημιουργία τους κατά την απολύμανση με ελεύθερη χλωρίνη σε μια μονάδα δημοτικής επεξεργασίας λυμάτων ανιχνεύθηκαν χλωριωμένα παραπροϊόντα τρικλοζάνης στην είσοδο της εγκατάστασης τα οποία είναι πολύ πιθανόν να σχηματίζονται από την αντίδραση της τρικλοζάνης με το υπολειμματικό χλώριο του νερού κατά την εισροή των λυμάτων στην εγκατάσταση. Η δόση του χλωρίου είναι 1.25 mgCl<sub>2</sub>/l για περισσότερο από 30 λεπτά έτσι ώστε το υπολειμματικό χλώριο να είναι 0.20 mgCl<sub>2</sub>/l. Η υπόθεση αυτή είναι συμβατή με του McAnoy et al (2002) που είχε ανιχνεύσει παρόμοια επίπεδα χλωριωμένων παραπροϊόντων σε διάφορες εισόδους λυμάτων σε εγκαταστάσεις. Βρέθηκε ότι και η τρικλοζάνη καθώς και τα παραπροϊόντα χλωρίου απομακρύνθηκαν σε ικανοποιητικό ποσοστό 92-97% με την επεξεργασία της ενεργού ιλύος καθώς λόγω της υψηλής υδροφοβικότητας τους έχουν την τάση να προσροφώνται στη λάσπη. Η υψηλότερη συγκέντρωση που ανιχνεύτηκε στην έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας ήταν 3 ng/l για τα παραπροϊόντα χλωρίου. Επειδή τα παραπροϊόντα χλωρίου της τρικλοζάνης απομακρύνθηκαν σχεδόν πλήρως από το υγρό ρεύμα εισόδου είναι ξεκάθαρο ότι η ύπαρξη των παραπροϊόντων στην τελική έξοδο ακόμα και σε συγκέντρωση 22 ng/l θα οφείλεται στην αντίδραση του ελεύθερου χλωρίου με την τρικλοζάνη κατά τη διάρκεια της

απολύμανσης. Η κατανομή των παραπροϊόντων είναι σύμφωνη με αντίστοιχη μελέτη του Rule (2005) όπου παρατηρήθηκε ο σχηματισμός του 6-Cl-TCS υπερίσχυε του σχηματισμού του 4-Cl-TCS, τα οποία σχηματίστηκαν ταχύτερα από την αντίδραση της τρικλοζάνης με το ελεύθερο χλώριο. Στη συνέχεια της χλωρίωσης σχηματίστηκε το 4,6-Cl-TCS και άλλα χλωροφαινολικά προϊόντα. Παρατηρήθηκε ότι στην έξοδο μετά τη χλωρίωση ότι η συγκέντρωση της ουσίας 6-Cl-TCS που ανιχνεύτηκε ήταν υψηλότερη από την 4-Cl-TCS. Η 6-Cl-TCS ήταν η ουσία που ανιχνεύτηκε στα υψηλότερα επίπεδα.

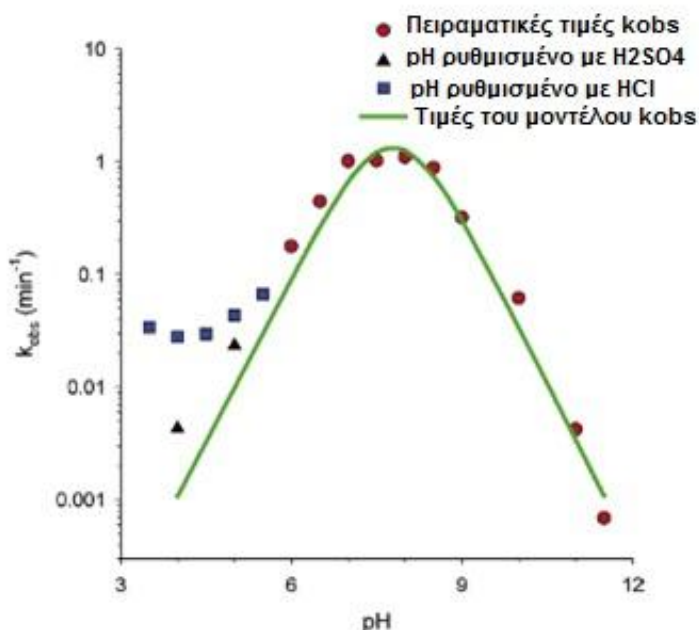
Στη συνέχεια για να ερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση της χλωρίωσης μελετήθηκε η αναλογία του αθροίσματος των παραπροϊόντων της τρικλοζάνης προς την τρικλοζάνη στην είσοδο και την έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας καθώς και μετά την χλωρίωση. Το κλάσμα ήταν πολύ υψηλότερο στο στάδιο μετά τη χλωρίωση παρά στην είσοδο και στην έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας. Το άθροισμα της συγκέντρωσης των παραπροϊόντων της χλωρίωσης έφτασε περίπου το 1/3 της τρικλοζάνης στις 4 Αυγούστου το 2009 στο στάδιο μετά την χλωρίωση (Σχήμα 3.20).



**Σχήμα 3.20:** Αναλογία του αθροίσματος των συγκεντρώσεων των 4-Cl-TCS, 6-Cl-TCS και 4,6-Cl-TCS προς την συγκέντρωση της τρικλοζάνης για την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της Metropolitan (Buth et al, 2011)

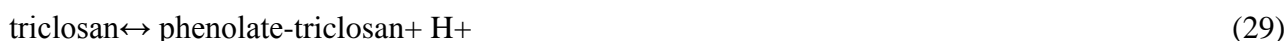
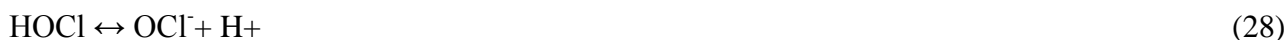
Οι Rule et al. (2005) σε προσπάθεια τους να μελετήσουν τις σταθερές κινητικής μεταξύ της τρικλοζάνης και της ελεύθερης χλωρίνης χρησιμοποίησε περίσσεια τρικλοζάνης σε συνθήκες χαρακτηριστικές της επεξεργασίας πόσιμου νερού. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν κυμαίνονταν από 0,92-1,77mg/l και 0.77-8mg/l για το χλώριο και την TCS αντίστοιχα. Κάτω από αυτές τις συνθήκες περίσσειας της τρικλοζάνης η κινητική μείωσης της τρικλοζάνης ακολουθεί

κινητική ψευδο-πρωτης τάξης. Μελετήθηκε η επίδραση του pH στην σταθερά ρυθμού ( $K_{obs}, s^{-1}$ ) και βρέθηκε ότι ο ρυθμός αντίδρασης μείωσης του χλωρίου αυξάνει καθώς το pH αυξάνει από 3.5 σε 6.5 και στη συνέχεια μειώνεται για τιμές πάνω από 8 (Σχήμα 3.21)



**Σχήμα 3.21:** Παρατηρούμενη σταθερά κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης σε συνάρτηση με το pH για την ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση της τρικλοζάνης από το ελεύθερο χλώριο (Πειραματικές συνθήκες: [ελεύθερο χλώριο]<sub>0</sub>=2.33-3.23μM, [triclosan]<sub>0</sub>=27.5μM, [NAHCO<sub>3</sub>]=2mM)

Η επίδραση του pH προκύπτει από τον παρακάτω μηχανισμό αντίδρασης τρικλοζάνης και χλωρίου:



Βάση αυτού του μηχανισμού αντίδρασης η μείωση της τρικλοζάνης και του ελευθερου χλωρίου μπορεί να περιγραφεί :

$$\frac{d[FC]_T}{dt} = \frac{d[triclosan]_T}{dt} = -k_{ArO^-} [phenolate - triclosan][HOCl] \quad (31)$$

Όπου  $[FC]_T$  και η  $[triclosan]_T$  αντιπροσωπεύουν την ολική συγκέντρωση του ελεύθερου χλωρίου ( $[HOCl] + [OCl^-]$ ) και η τρικλοζάνη ( $[triclosan]_T = [triclosan] + [phenolate-triclosan]$ ) αντίστοιχα. Η ισότητα (4) σε περίσσεια τρικλοζάνης απολοποιείται ως εξής:

$$\frac{d[FC]_T}{dt} = -k_{obs} [HOCl] \quad (32)$$

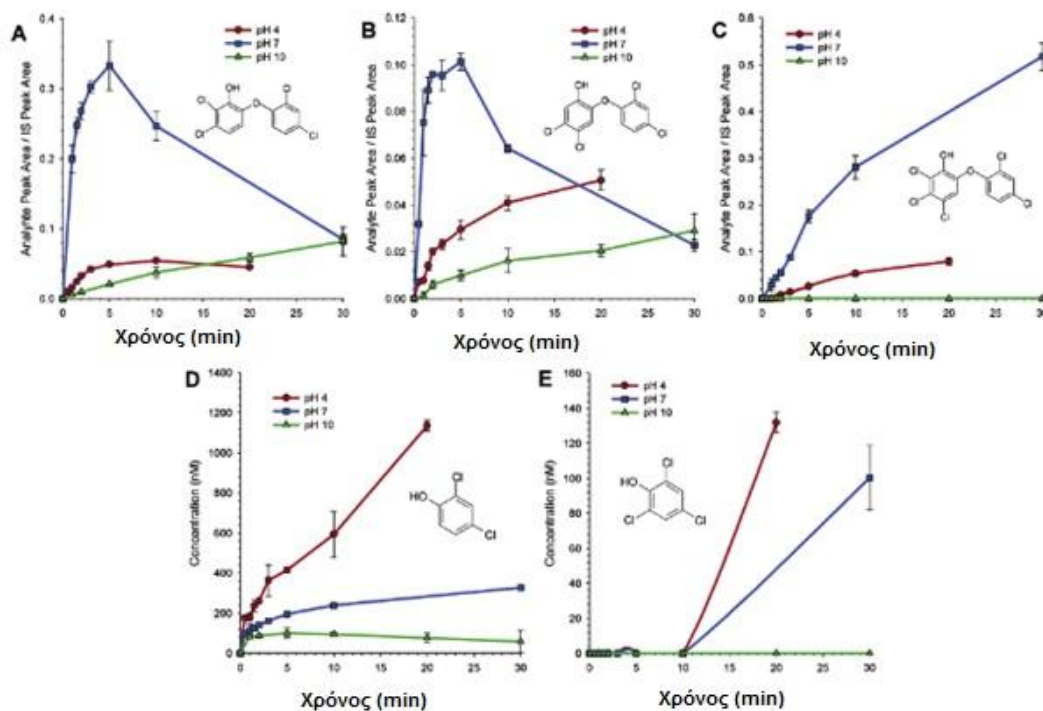


Για τις φαινόλες, η δραστηριότητα του  $\text{OCl}^-$  είναι τυπικά αμελητέα σε σχέση με το  $\text{HOCl}$ . Επιπλέον, τα φαινολικά συστατικά, όπως η τρικλοζάνη, είναι γενικά πιο δραστικά με την αποπροτονίωση τους. Αυτό συμβαίνει γιατί το  $\text{O}^-$  ενεργοποιεί περισσότερο τον αρωματικό δακτύλιο σε αντιδράσεις υποκατάστασης από ότι το  $\text{OH}$ . Όταν στο διάλυμα υπάρχει παρουσία χλωριδίων, η ισορροπία της αντίδρασης μεταξύ στοιχειακού χλωρίου και ελεύθερου χλωρίου μετατοπίζεται προς το στοιχειακό χλώριο.



Το στοιχειακό χλώριο θεωρείται γενικά ισχυρότερο οξειδωτικό από ότι  $\text{HOCl}$  και η παρουσία του μπορεί να συμβάλει σε μεγαλύτερους ρυθμούς αντίδρασης.

Οι Rule et al. (2005), σε πειράματα που έκαναν για τα παραπροιοντα ανίχνευσαν μονοχλωριωμένα ενδιάμεσα της τρικλοζάνης 4,5-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ) φαινόλη (4-Cl-TCS), 5,6-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ) φαινόλη (6-Cl-TCS) και και διχλωριωμένα την 4,5,6-τριχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ)φαινόλη (4,6-Cl-TCS). Επίσης ανιχνεύθηκαν χλωροφαινόλες, 2,4-διχλωροφαινόλη και 2,4,6-τριχλωροφαινόλη όταν η τρικλοζάνη αντιδρούσε σε συνθήκες περισσεις ελεύθερου χλωρίου.



**Σχήμα 3.22:** Σχηματισμός **A** 5,6-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ) φαινόλη (6-Cl-TCS) **B** 4,5-διχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ) φαινόλη (4-Cl-TCS), **C** 4,5,6-τριχλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξύ)φαινόλη (4,6-Cl-TCS) **D** 2,4-διχλωροφαινόλη **E** 2,4,6-τριχλωροφαινόλη για τιμές pH 4, 7 και 10. (Πειραματικές συνθήκες:  $[\text{TCS}]_0 = 5,05 \mu\text{M}$  [ελεύθερο χλώριο] =  $14,2 \mu\text{M}$ ,  $[\text{NaHCO}_3] = 2 \mu\text{M}$ ), (Rule et al., 2005)

Ο σχηματισμός καθώς και η αποσύνθεση αυτών των παραπροϊόντων (4-Cl-TCS, 6-Cl-TCS, 4,6-Cl-TCS) έχει άμεση σχέση με το pH του διαλύματος. Και τα τρία προϊόντα σχηματίζονται σε

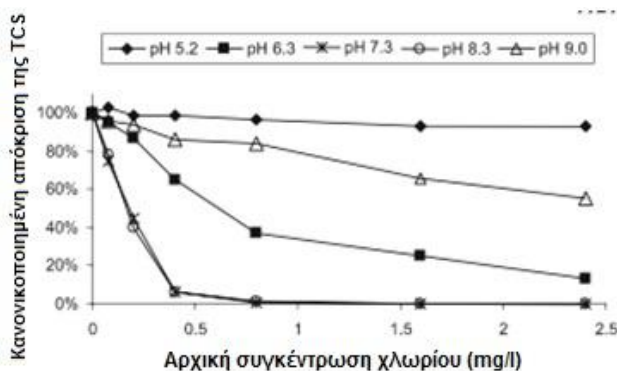
μεγαλύτερο βαθμό για pH=7. Η 4-Cl-TCS και η 6-Cl-TCS σχηματίζονται και στη συνέχεια αποσυντίθενται (Σχήμα 3.22) ενώ η 4,6-Cl-TCS συνεχίζει να αυξάνεται μέσα στα χρονικά πλαίσια του πειράματος. Σε μεγαλύτερους χρόνους η ουσία αποσυντίθεται. Αυτή η καθυστερημένη αποσύνθεση υποδηλώνει την ότι αυτό το η ουσία είναι σχετικά πιο σταθερή σε σχέση με τα άλλα παραπροϊόντα.

Αντίθετα με την αποσύνθεση της τρικλοζάνης και το σχηματισμό των χλωροφαινόξυφαινολών, όπου είναι περισσότερο δραστικά σε ουδέτερο περιβάλλον, η 2,4 διχλωροφαινόλη συσσωρεύεται γρηγορότερα για pH=4. Αυτή η συμπεριφορά είναι σύμφωνη με την δραστικότητα της 2,4-διχλωροφαινόλης σε όξινο περιβάλλον. Ο σχηματισμός της 2,4-διχλωροφαινόλης πιστεύεται ότι σχηματίζεται μέσω του οξειδωτικού διαχωρισμού του δεσμού άνθρακα-οξυγόνου ανάμεσα στο φαινολικό δακτύλιο και στο δακτύλιο του χλωροβενζολίου της τρικλοζάνης. Η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη σχηματίζεται καθυστερημένα σε σχέση με την 2,4 διχλωροφαινόλη και σύμφωνα με πειράματα που έχουν γίνει προέρχεται από την χλωρίωση της 2,4 διχλωροφαινόλης (Burttschell et al., 1959).

Εκτός από τις δύο αυτές χλωροφαινόλες δεν παρατηρήθηκε ο σχηματισμός άλλων διχλωροφαινολών ή τριχλωροφαινολών. Για να ερευνηθεί περαιτέρω το ζήτημα αυτό, πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε συνθήκες κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης με περίσσεια χλωροφαινόλης για pH=7 και βρέθηκε ότι σχηματίζονται και άλλες χλωροφαινόλες με κοινές παρόμοιες με τις 2,4 διχλωροφαινόλης. Έτσι σε περίπτωση που σχηματίζονταν θα μπορούσαν να ανιχνευτούν. Έτσι συμπεραίνεται ότι δεν σχηματίζονται αυτά τα παραπροϊόντα. Μια πιθανή εξήγηση που δίνει ο συγγραφέας είναι ότι ο διαχωρισμός του φαινολικού δακτυλίου της τρικλοζάνης συμβαίνει ταυτόχρονα με τη θραύση του αιθερικού συνδέσμου μεταξύ του φαινολικού και το σχηματισμό της 2,4 διχλωροφαινόλης.

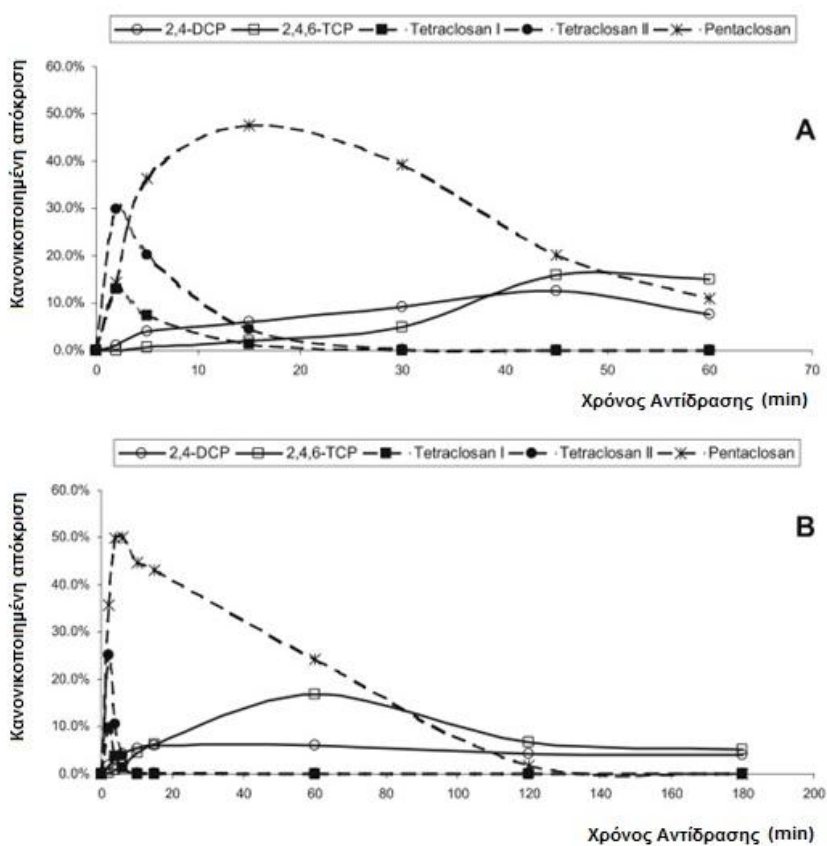
Σε μελέτη του Canosa (2005) στην οποία μελετήθηκε η αποδόμηση της τρικλοζάνης χρησιμοποιώντας τρικλοζάνη σε ποσότητα επιπέδου ng/ml (8-50 ng/ml), δηλαδή σε χαμηλότερα επίπεδα από ότι ο Rule (2005), θέλοντας έτσι να αποτυπώσεις τα πραγματικά επίπεδα συγκεντρώσεων που βρίσκονται στα λύματα.

Σε πειράματα που έγιναν για να εξεταστεί η συμπεριφορά της τρικλοζάνης σε διαφορετικά pH νερού και για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου βρέθηκε ότι σε ουδέτερα pH, συγκεκριμένα για 7.3 και 8.3, η σταθερότητα της τρικλοζάνης ήταν ιδιαίτερα χαμηλή και ότι για αρχική συγκέντρωση χλωρίου κάτω από 1mg/l αποδομήθηκε το 99% της ουσίας. (Σχήμα 3.23)



**Σχήμα 3.23** : Σχέση μεταξύ pH νερού και συγκέντρωσης ελεύθερου χλωρίου στην σταθερότητα της τρικλοζάνης. Χρόνος αντίδρασης 5 λεπτά. Αρχική συγκέντρωση χλωρίνης 5 ng/ml. ( Canosa et al., 2005)

Ο Canosa (2005) ανέχνευσε τα ίδια παραπροϊόντα με τον Rule (2005) χρησιμοποιώντας δυο διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου και μικρότερη συγκέντρωση τρικλοζάνης. (Σχήμα 3.24). Παρατηρείται ότι η 2,4,6 TCP αυξάνεται αργά αλλά σταθερά κατά τη διάρκεια της αντίδρασης και ότι είναι το πιο άφθονο παραπροϊόν για μεγάλες χρονικές περιόδους. Επίσης εκτός από τα κύρια παραπροϊόντα παρατηρήθηκαν τετρα-βουτυλο-διμεθυλο-σιλυλο παράγωγα των δι-υδροξυλιωμένων φαινολών (ρεζορκινόλες), τα οποία περιέχουν ένα, δύο και τρία άτομα χλωρίου. Δεν υπάρχουν προηγούμενες ενδείξεις για αυτά τα συστατικά αν και ο Ferrer et al είχε δείξει τον σχηματισμό των δι-υδροξυλιωμένων χλωροφαινόλων ως ασταθή ενδιάμεσα στην φωτοχημική αποσύνθεση της τρικλοζάνης.



**Σχήμα 3.24:** Χρονική εξέλιξη των παραπροϊόντων της χλωρίωσης της τρικλοζάνης 12ng/ml για pH=7 χρησιμοποιώντας διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου A. 0.4mg/l B. 1.4 mg/l (Canosa, 2005)

### 3.9 Βισφαινόλη

Το ελεύθερο χλώριο αντιδρά σχετικά γρήγορα με την BPA σχηματίζοντας χλωριωμένες ομοειδείς ουσίες (Gallard et al., 2004; Hu et al., 2002; Lee et al., 2004). Οι ουσίες αυτές έχουν συνδεθεί με αυξημένη οιστρογονική δραστηριότητα.

Σε μελέτη των Korshin et al (2006) μελετήθηκε η συμπεριφορά της BPA κατά τη χλωρίωση. Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκε με διάλυμα υποχλωριώδες νατρίου (5% διαθέσιμο χλώριο) σε υψηλής

καθαρότητας νερό με παρουσία 0.03 M ρυθμιστικό διάλυμα φωσφόρου για pH 7. Επίσης υπήρχε συγκέντρωση διαλυτού οργανικού άνθρακα <0.1mg/L. Οι χρόνοι αντίδρασης ποικίλουν από 5 λεπτά σε 24 ώρες. Τα φάσματα απορρόφησης των ουσιών αποκτήθηκαν χρησιμοποιώντας Perkin-Elmer Lambda-18 φασματοφωτόμετρο. Η χλωρίωση της BPA είχε ως αποτέλεσμα να προκληθούν αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης της ουσίας. Αυτές οι αλλαγές είναι πιθανόν να είναι υποδεικνύουν τον οξειδωτικές μεταλλάξεις της ουσίας που προκαλείται από το χλώριο όπως επίσης και των σχηματισμό χλωριωμένων μορφών της BPA. Πράγματι, οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων των TOX (total organic halogen) και των αντιπροσωπευτικών χαμηλού μοριακού βάρους χλωριωμένων ειδών έδειξαν ότι η χλωρίωση συνοδεύεται από την ενσωμάτωση χλωρίου στο οργανικό υπόστρωμα και ρήξη των BPA μορίων σε μικρότερα κομμάτια. Η χλωρίωση της BPA έχει ως συνέπεια τον σχηματισμό μόνο έως τετραχλωριωμένες μορφές της BPA, τριχλωροφαινόλη, ισοπροπυλική υδροξυφαινόλη και πολυχλωριωμένες φαινοξυφαινόλες που συνδέονται με την αυξημένη ενδοκρινική δραστηριότητα της χλωριωμένης BPA. Η μείωση της συγκέντρωσης των TOX για χρόνους αντίδρασης >4 ώρες υποδεικνύει ότι τα συστατικά τείνουν να αποδομούνται. Μετά από 24 ώρες η σχετική μείωση των TOX ήταν 30%. Από τα TOX που μετρήθηκαν κατά τη χλωρίωση το 84% ήταν μη ανιχνεύσιμες ουσίες ενώ οι πτητικές ουσίες (κυρίως χλωροφόρμιο) ήταν 2% ενώ των μη πτητικών ουσιών το ποσοστό ήταν 14% (μονο, δι, τρι-χλωρικά οξέα).

Οι Yamamoto και Yasuhara (2002) μελέτησαν επίσης την χλωρίωση της BPA και τα προϊόντα αποδόμησης της ουσίας. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε ακετονικό διάλυμα BPA (500μl) το οποίο θερμάνθηκε έτσι ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης. Στη συνέχεια προστέθηκε 500 mL υπερκάθαρο νερό και έμεινε αρκετή ώρα έτσι ώστε να διαλυθεί η ουσία ( 1μg BPA ανά mL νερού). Στη συνέχεια προστίθεντο η προκαθορισμένη δόση χλωρίου που διέφερε από δοκιμή σε δοκιμή (Πίνακας 1) . Τα pH του διαλύματος κυμαίνονταν από 8-9 και η θερμοκρασία 20 με 25<sup>0</sup>C. Μετά από προκαθορισμένη ώρα υπολογιζόταν το υπολειμματικό χλώριο. Η ανίχνευση των ουσιών γινόταν με GS-MS.

**Πίνακας 3.5:** Επίπεδα της BPA και των χλωριωμένων προϊόντων κάτω από διαφορετικές συνθήκες χλωρίωσης (Yamamoto and Yasuhara, 2002)

Αρχική δόση (mg/l)	Χρόνος Αντίδρασης (min)	Υπολειμματικό χλώριο		BPA	T <sub>4</sub> CBPA	T <sub>3</sub> CP	2M <sup>b</sup>	2,6-D <sub>2</sub> <sup>b</sup>	2,2'-D <sub>2</sub> <sup>b</sup>	2,2',6-T <sub>3</sub> <sup>b</sup>
		(mg/l)	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
1.03 (29.2)	0			4.45	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A
	5	0.61	17.2	2.97	0.01	0.005	0.94	0.19	0.22	0.1
	15	0.43	12.1	1.26	0.11	0.008	0.98	0.39	0.31	0.36
	30	0.31	8.74	1.28	0.2	0.014	1.02	0.44	0.33	0.7
	60	0.13	3.77	0.41	0.31	0.021	0.56	0.27	0.18	0.62
2.07(58.3)	0			4.45	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A
	5	1.18	33.3	0.62	0.25	0.008	0.83	0.41	0.65	0.53
	15	0.8	22.6	0.07	1.38	0.015	0.16	0.12	1.02	1.16
	30	0.58	16.4	0.009	1.7	0.024	0.03	0.02	0.61	0.82
	60	0.22	6.21	M.A	0.74	0.062	M.A	M.A	0.08	0.07
5.12 (144)	0			4.91	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A
	5	2.93	82.7	0.064	0.98	0.014	0.17	0.11	0.39	0.54
	15	2.6	73.3	0.005	1.67	0.039	0.06	0.07	0.05	0.13
	30	2.04	57.5	M.A	1.04	0.11	0.03	0.04	0.06	0.1
	60	1.61	45.5	M.A	0.6	0.093	0.02	0.02	0.02	0.04
10.24(289)	0			4.91	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A	M.A
	5	7.9	223	M.A	0.73	0.022	M.A	M.A	0.04	0.13
	15	7.38	208	M.A	0.7	0.029	M.A	M.A	M.A	0.02
	30	7.23	204	M.A	0.47	0.037	M.A	M.A	M.A	M.A
	60	5.99	169	M.A	0.25	0.04	M.A	M.A	M.A	M.A

**BPA**=Βισφαινόλη Α; **T<sub>4</sub>BPA**=2,2',6,6'-τετραχλωροβισφαινόλη Α, **T<sub>3</sub>CP**=2,4,6-τριχλωροφαινόλη; **2-M**= 2-χλωροβισφαινόλη Α; **2,6-D<sub>2</sub>**=2,6-διχλωροβισφαινόλη Α; **2,2'-D<sub>2</sub>**=2,2'-διχλωροβισφαινόλη Α; **2,2',6-T<sub>3</sub>**=τριχλωροβισφαινόλη Α  
 α) Στις παρενθέσεις φαίνονται οι μοριακές συγκεντρώσεις(μmol/l)  
 β) αυτά τα ομοειδή ανιχνεύθηκαν δοκιμαστικά με τις καμπύλες των BPA και των T<sub>4</sub>BPA  
 γ) M.A: μη ανιχνεύσιμες ουσίες; τα όρια ανίχνευσης ήταν 0.02 μmol/l, 0.005 μmol/l για την T<sub>4</sub>BPA, 0.02 μmol/l για T<sub>3</sub>CP

Η χλωρίωση έγινε με διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου και για διαφορετικούς χρόνους αντίδρασης. Στον Πίνακα 3.5 φαίνονται επίσης τα επίπεδα των παραπροϊόντα T<sub>4</sub>CPBA (2,2',6,6'-τετραχλωροβισφαινόλη) και T<sub>3</sub>CP (2,4,6-τριχλωροφαινόλη). Δεν ανιχνεύθηκαν άλλα προϊόντα χλωρίωσης λόγω έλλειψης πρότυπων δειγμάτων. Τα υπόλοιπα παραπροϊόντα που φαίνονται στον Πίνακα 3.5 προσδιορίστηκαν προσωρινά χρησιμοποιώντας τις καμπύλες βαθμονόμησης της BPA. Αυτά είναι η 2-χλωροβισφαινόλη (MCBPA), η 2,6-διχλωροβισφαινόλη Α (2,6-D<sub>2</sub>CBPA), η 2,2' διχλωροβισφαινόλη Α (2,2'-D<sub>2</sub>CBPA).

Η BPA αντέδρασε ταχύτατα σε υψηλά χλωριωμένο νερό. Όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 10.24 mg/l (289 μmol/l, με μοριακή αναλογία στην BPA 58.7), η BPA εξαφανίστηκε πλήρως μέσα σε 5 λεπτά. Όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 5.12 mg/l (144 μmol/l, με μοριακή αναλογία 29.3), μόνο το 1.3% της BPA παρέμεινε μετά από 5 λεπτά και δεν ανιχνεύθηκε καθόλου μετά από 30

λεπτά χλωρίωσης. Στην περίπτωση αρχικής συγκέντρωσης χλωρίου 1.03 mg/l (29.2  $\mu\text{mol/l}$ , μοριακή αναλογία της BPA 6.56) το 9.3% της BPA παρέμεινε μετά από χρόνο αντίδρασης 60 min.

Ένα από τα κύρια προϊόντα χλωρίωσης που σχηματίστηκαν ήταν το T4CBPA. Η συμπεριφορά του T4CBPA ήταν διαφορετική για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου. Όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 10.24 mg/l, η ποσότητα του T4CBPA που σχηματιζόταν μειωνόταν με τον χρόνο αντίδρασης. Αντιθέτως, όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 2.07 και 5.12 mg/l, η συγκέντρωση του T4CBPA μεγιστοποιήθηκε στα 30 και 15 λεπτά αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου δεν είναι αρκετή για την ποσότητα της BPA, το χλώριο καταναλώνεται για τον σχηματισμό των χλωριωμένων παραγώγων της BPA και η χλωρίωση θα σταματήσει εκεί. Όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 1.03 mg/l, η κατανάλωση του χλωρίου μετά από για χρόνο αντίδρασης 5 λεπτών ήταν 0.42 mg/l (11.9  $\mu\text{mol/l}$ , μοριακή αναλογία 2.67). Από τη στιγμή που η μοριακή αναλογία του καταναλωμένου χλωρίου προς το αρχικό ποσό της BPA ήταν κάτω από 4, σχηματίζεται μόνο μια μικρή ποσότητα T4CBPA. Από την άλλη, όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 10.24 mg/l η κατανάλωση του χλωρίου μετά από 5 λεπτά ήταν 2.34  $\mu\text{g/l}$  (66.0  $\mu\text{mol/l}$ , μοριακή αναλογία 13.5). Σε αυτήν την περίπτωση που η μοριακή αναλογία ήταν μεγαλύτερη από 4, η χλωρίωση συνεχίστηκε με την αποσύνθεση του T4CBPA. Η απόδοση του T3CP ήταν πολύ μικρή (μικρότερη από 1% της αρχικής BPA) για όλες τις πειραματικές συνθήκες. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στο ότι ο μηχανισμός σχηματισμού του T3CP είναι λιγότερο αποδοτικός σε σχέση με τον σχηματισμό του T4CBPA είτε ότι ο ρυθμός αποδόμησης του T3CP είναι γρηγορότερος από τον σχηματισμό του.

Συνοψίζοντας, όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 1.03 ή 2.07 mg/l και χρόνος αντίδρασης 30 λεπτά, το άθροισμα των αποδόσεων της BPA και των χλωριωμένων παραγώγων της BPA ήταν πάνω από το 70% της αρχικής BPA. Έτσι εάν η συγκέντρωση αρχικού χλωρίου είναι χαμηλή σε σχέση με τη συγκέντρωση της BPA, το χλώριο θα καταναλωθεί για τον σχηματισμό των χλωριωμένων παραγώγων της BPA και η περαιτέρω χλωρίωση θα σταματήσει.

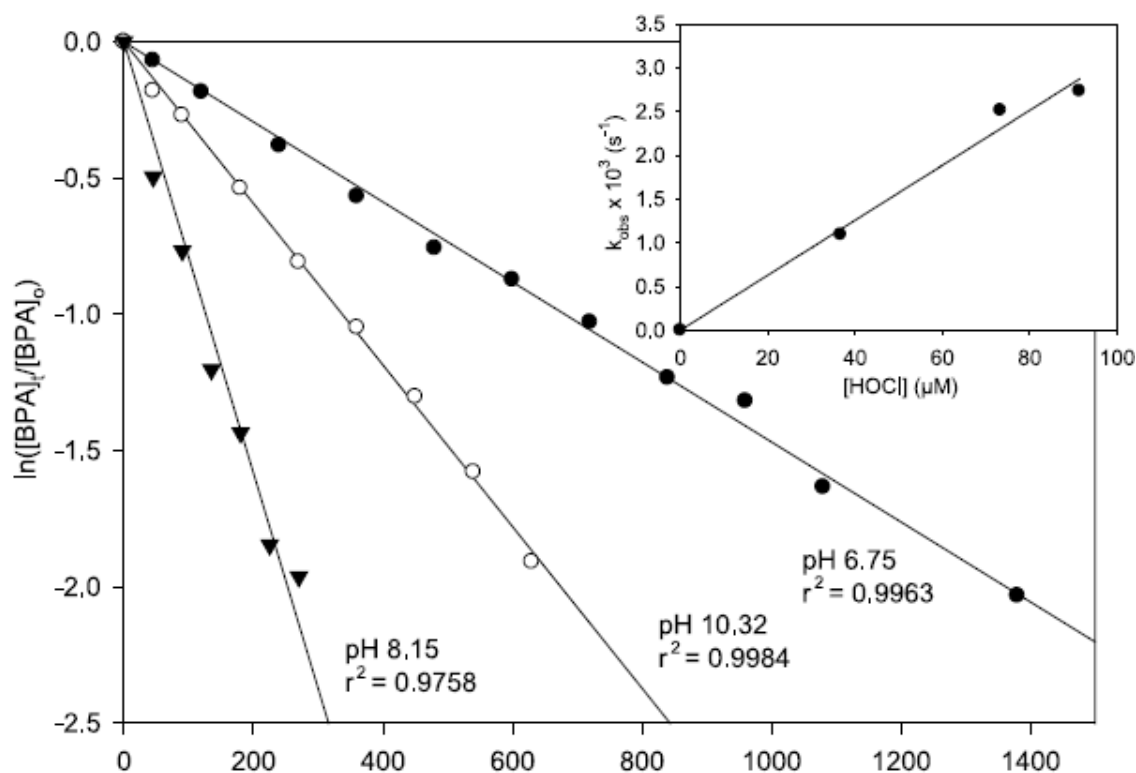
Ως αναφορά την τοξικότητα των χλωριωμένων παραγώγων της BPA, οι Korner et al. (1998) υπολόγισαν την οιστρογονικότητα της του T4CBPA να είναι  $5 \times 10^{-6}$  φορές υψηλότερη από την 17 $\beta$ -οιστραδιόλη και περίπου το 1/10 της οιστρογονικότητας της BPA ( $5 \times 10^{-5}$ ). Από αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να θεωρηθεί ότι η αλογονοποίηση της BPA κατά ένα τρόπο ασθενεί τις οιστρογονικές ιδιότητες της BPA. Ως προς την οξεία τοξικότητα των χλωριωμένων προϊόντων, οι τιμές των LD<sub>50</sub> για τους αρουραίους και τα ποντίκια βρέθηκε 7432 και 5050 mg/kg (National Institute for Occupational Safety and Health, 1987). Παρόλο που αυτές οι τιμές είναι χαμηλότερες από αυτές της BPA (3250 και 2500 mg/kg), δεν πρέπει να υποτιμάται η επίδραση των χλωριωμένων παραγώγων της BPA καθώς ο βαθμός χλωρίωσης μπορεί να αυξάνεται λόγω περιβαλλοντικής και βιολογικής συσσώρευσης, όπως έχει παρατηρηθεί για άλλα οργανοχλωριωμένα συστατικά.

Οι Gallard et al. (2004), πραγματοποίησαν πειράματα για να μελετήσουν την κινητική χλωρίωσης της BPA καθώς και τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται κατά την χλωρίωση της ουσίας. Έτσι για να μελετηθούν οι σταθερές, τα πειράματα χλωρίωσης πραγματοποιήθηκαν σε αντιδραστήρα batch κάτω από συνθήκες ψευδο-πρώτης τάξης. Οι αρχικές συγκεντρώσεις της BPA ήταν 1  $\mu\text{M}$  και η αρχική συγκέντρωση του χλωρίου κυμαινόταν από 36 έως 84  $\mu\text{M}$  και το pH από 5 έως 9. Το pH παρέμενε σταθερό κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Η απομάκρυνση της περίσσειας χλωρίου γινόταν με Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ενώ ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της BPA γινόταν με υγρή χρωματογραφία HPLC. Η Το σχήμα 3.25 δείχνει το διάγραμμα του  $\text{Ln}([\text{BPA}]_t/[\text{BPA}]_0)$  ως

συνάρτηση του χρόνου αντίδρασης για pH =6.73, 8.15 και 10.32. Τα αποτελέσματα της κινητικής δείχνουν ότι μπορεί να περιγραφεί ως κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης όπως φαίνεται στα γραμμικά διαγράμματα. Η τάξη της αντίδρασης σε σχέση με το χλώριο εξετάστηκε για pH 6.7 με μεταβαλλόμενη συγκέντρωση χλωρίου. Το ένθετο στο σχήμα 3.25 δείχνει ότι η σταθερά ψευδο-πρώτης τάξης,  $K_{obs}$ , συνδέεται γραμμικά με την δόση χλωρίου. Ως εκ τούτου, ο ρυθμός της αρχικής χλωρίωσης της BPA είναι πρώτης τάξης σε σχέση με την ολική συγκέντρωση του χλωρίου ( $[HOCl]_T = [HOCl] + [ClO^-]$  και του BPA  $[BPA]_T = [BPA] + [BPA^-] + [BPA^{2-}]$ )

$$\frac{d[BPA]_T}{dt} = -k_{app}[BPA]_T[HOCl]_T \quad (34)$$

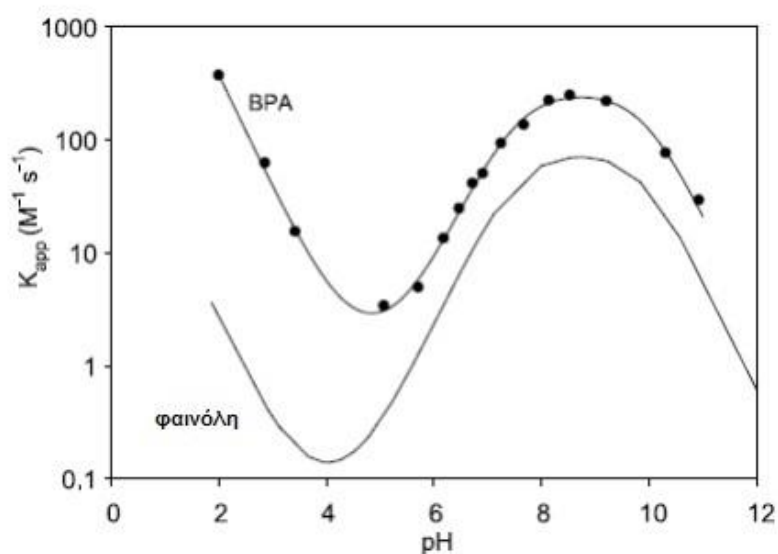
με  $k_{app} = k_{obs}/[HOCl]_T$  να είναι η φαινομενική σταθερά δευτέρας τάξης.



**Σχήμα 3.25:** Διάγραμμα κινητικής ψεύδο-πρώτης τάξης της χλωρίωσης της BPA σε τρία διαφορετικά pH ( $[BPA]_0=1\mu\text{M}$ ,  $[Cl_2]_0=38\mu\text{M}$ . Το ένθετο δείχνει την εξέλιξη του  $K_{obs}$  με το  $[HOCl]_0$  για pH 6.7 (Gallard et al., 2004)

Το σχήμα 3.26 δείχνει πως μεταβάλλεται η σταθερά δευτέρας τάξης σε σχέση με το pH (2.0 έως 11.0). Το προφίλ του pH εμφανίζει ένα ελάχιστο για pH 5.0 και ένα μέγιστο μεταξύ 8.0 και 9.0. Η πειραματική εξάρτηση του pH της αρχικής χλωρίωσης της BPA είναι παρόμοια με αυτήν που είχαν προτείνει οι Gallard and von Gunten (2002) για τις φαινόλες και οι Rebenne et al. (1996) για τις ρεζορκινόλες. Ένας παρόμοιος μηχανισμός που προτάθηκε από τους Rebenne et al. (1996) για τις ρεζορκινόλες, στη συνέχεια προτάθηκε και για την BPA. Αυτός ο μηχανισμός περιλαμβάνει τις αντιδράσεις της μη-ιονισμένης μορφής του BPA και τις ιονισμένες μορφές του BPA ( $BPA^-$ ,  $BPA^{2-}$ )

με το χλώριο. Η πολύ χαμηλή δραστηριότητα της BPA με το χλώριο για pH 5 και η αύξηση της  $k_{app}$  για χαμηλότερα pH αποδίδονται στην όξινη καταλυόμενη (αντίδραση 35) και στην μη καταλυόμενη αντίδραση (αντίδραση 3) μεταξύ του HOCl και της BPA.



**Σχήμα 3.26:** Πειραματικές τιμές και τιμές μοντέλου για την εξάρτηση της σταθεράς δευτεροβάθμιας τάξης της χλωρίωσης της BPA από το pH. Τιμές μοντέλου για την εξάρτηση της σταθεράς δευτεροβάθμιας τάξης της χλωρίωσης των φαινολών από το pH σύμφωνα με τους Gallard and Von Gunten (2002).

Η αύξηση του  $k_{app}$  όταν αυξάνεται το pH μπορεί να εξηγηθεί από τις αντιδράσεις του HOCl με τις ιονισμένες μορφές του pH (αντιδράσεις 37 και 38). Το μέγιστο του  $k_{app}$  για τιμές pH μεταξύ 8 και 9 αποδίδεται στην χαμηλή δραστηριότητα του ClO<sup>-</sup>. Οι αντιδράσεις του ClO<sup>-</sup> με τα είδη της BPA θεωρούνται αμελητέα.



Ο ρυθμός της αρχικής χλωρίωσης της BPA μετασχηματίζεται ως εξής

$$-\frac{d[BPA]_T}{dt} = [HOCl] \cdot (k_1 \cdot [BPA] \cdot [H^+] + k_2 \cdot [BPA] + k_3 [BPA^-] + k_4 \cdot [BPA^{2-}]) \quad (40)$$

Με την αντικατάσταση των κλασμάτων ιονισμού από τις αντίστοιχες εκφράσεις τους και βάση της εξίσωσης 34, η φαινομενική σταθερά δευτέρας τάξης δίνεται από την επόμενη εξίσωση:



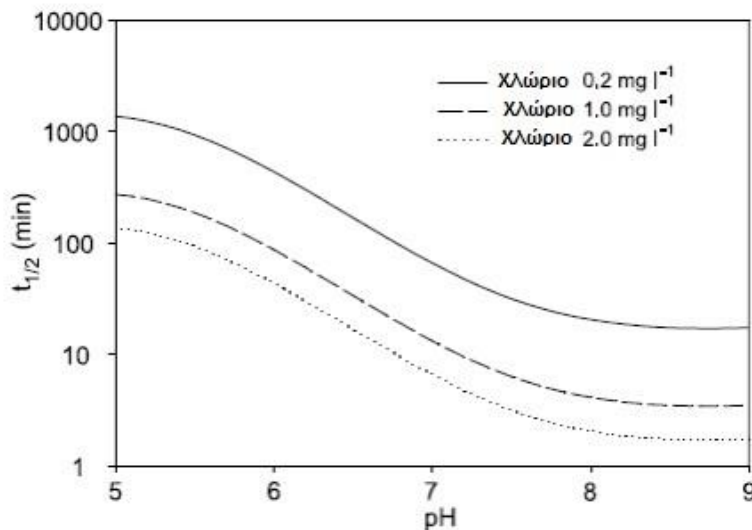
$$k_{app} = \frac{k_1[H^+]^4 + k_2[H^+]^3 + k_3K_{a1} \cdot [H^+]^2 + k_4K_{a1}K_{a2}[H^+]}{[H^+]^3 + (K_{a1} + K_{aCl}) \cdot [H^+]^2 + (K_{a1} \cdot K_{aCl} + K_{a2} \cdot K_{a1}) \cdot [H^+] + K_{a2} \cdot K_{a1} \cdot K_{aCl}} \quad (41)$$

Τα  $k_1, k_2, k_3, k_4$  προσδιορίστηκαν από την μέθοδο μη γραμμικής ελαχίστων τετραγώνων παλινδρόμηση με την επίλυση αλγορίθμου χρησιμοποιώντας το λογισμικό Marquardt-Levenberg.

Η δραστηριότητα του HOCl με τα μη ιονισμένα είδη της BPA ( $k_2=1.84M^{-1}s^{-1}$ ) είναι περίπου  $10^4$  φορές χαμηλότερα από ότι τα ιονισμένα ( $k_3$  και  $k_4 > 10^4 M^{-1}s^{-1}$ ;  $BPA^-$  και  $BPA^{2-}$ ), καθώς ο υποκαταστάτης  $O^-$  είναι πολύ πιο δραστήριος από ότι ο υποκαταστάτης του υδροξυλίου στις ηλεκτρονιόφιλες υποκαταστάσεις. Για τον ίδιο λόγο, η δραστηριότητα του HOCl αυξάνεται όταν και τα δυο υδροξύλια της BPA αποπρωτονιώνονται ( $k_4 > k_3$ ). Η αντίδραση της μη ιονισμένης BPA επηρεάζει μόνη της συνολική χλωρίωση της BPA για pH μεταξύ 4 και 6. Αξίζει να σημειωθεί εδώ ότι η τιμή της  $pK_a$  της BPA κυμαίνεται από 9.59 έως 11.3 (Staples et al., 1998) και συνεπώς δεν ιονίζεται αισθητά για περιβαλλοντικές τιμές του pH αλλά μόνο σε αλκαλικό περιβάλλον. Έτσι σε υψηλότερα pH, η συνολική αντίδραση καθορίζεται από τις αντιδράσεις του HOCl με την  $BPA^-$  και την  $BPA^{2-}$ .

Τέλος, από τι φαίνεται στην Σχήμα 3.26 η δραστηριότητα της BPA με το χλώριο είναι πολύ μεγαλύτερη από τις φαινόλες.

Πειράματα που έγιναν για τον προσδιορισμό του χρόνου ημιζωής για συγκεκριμένες τιμές υπολειμματικού χλωρίου (0.2, 1.0, 2 mg/l) για pH 5 έως 9 (Σχήμα 3.27), οι υπολογισμοί έδειξαν ότι η  $t_{1/2}$  μειώνεται από 1400min (1 ημέρα) για συγκέντρωση χλωρίου 0.2 mg/l για pH 5 σε 2 λεπτά για συγκέντρωση χλωρίου 2.0mg/l για pH 9.

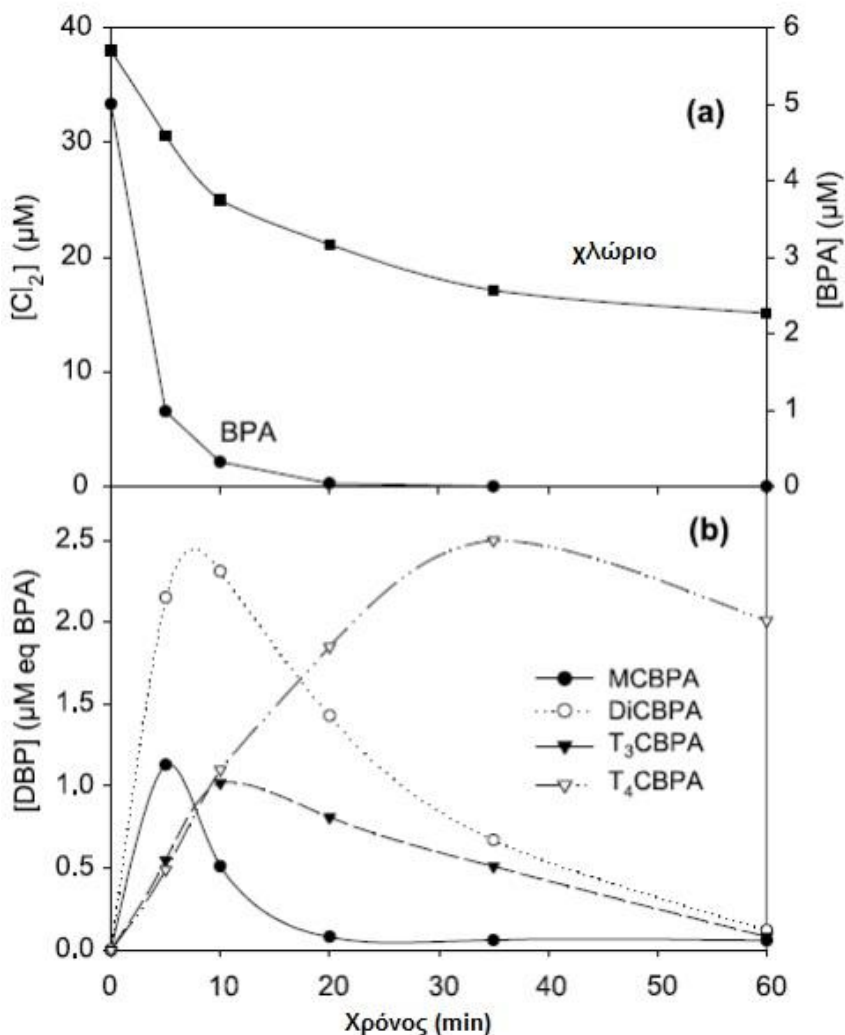


**Σχήμα 3.27:** Προφίλ του χρόνου ημιζωής για την αντίδραση της βισφαινόλης με συγκεντρώσεις χλωρίου 0.2, 1 και 2mg/l (Gallard et al., 2004)

### Σχηματισμός παραπροϊόντων

Στη συνέχεια για την μελέτη του σχηματισμού των προϊόντων οι Gallard et al. (2004) που σχηματίζονται κατά την χλωρίωση πραγματοποιήθηκε πείραμα με διάλυμα BPA (5 M, 1.14 μg/l) με δόση χλωρίου 38 μM (2.7 mg/l) σε υπερκάρθο νερό για pH 8. Οι συγκεντρώσεις της BPA και τα

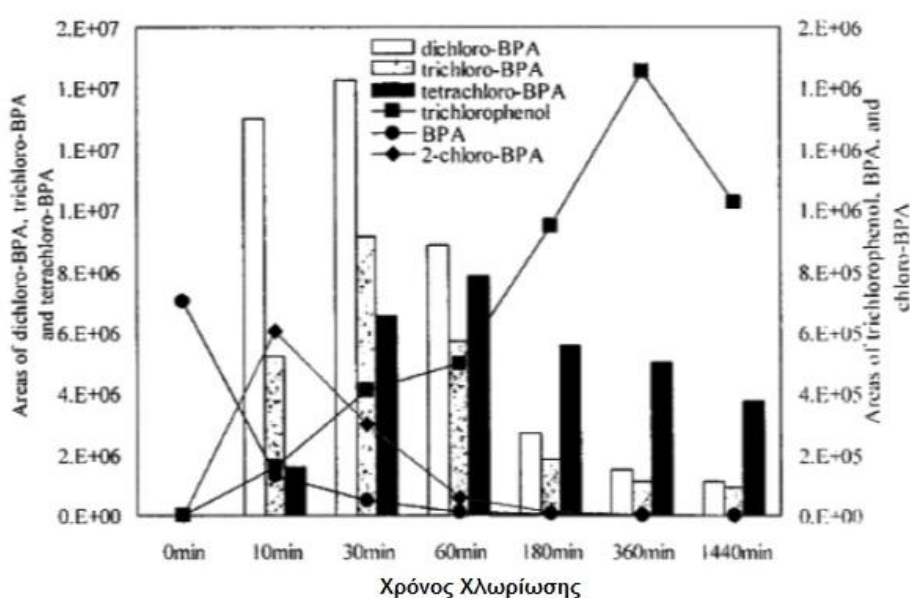
χλωριωμένα παραπροϊόντα της BPA προσδιορίστηκαν με HPLC μετά τα 60 λεπτά της αντίδρασης. Η Σχήμα 3.28 (a) και (b) δείχνουν την μείωση της συγκέντρωσης της BPA και του υπολειμματικού χλωρίου κατά τη διάρκεια του πειράματος και την δημιουργία παραπροϊόντων της BPA αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η BPA γρήγορα μειώνεται ( $t_{1/2}=3$ λεπτά) και αποδομείται τελείως μετά από 20 λεπτά



**Σχήμα 3.28:** Χλωρίωση της BPA σε υπερκάθαρο νερό (  $[BPA]_0=5\mu M$ ;  $[Cl_2]_0=38\mu M$  (2.7mg/l);pH=8.0) (Gallard et al., 2004)

Η πλήρης αποδόμηση της BPA επιτεύχθηκε για κατανάλωση χλωρίου που αντιστοιχούσε σε κατανάλωση 4 mol χλωρίου ανά mol BPA. Κατά τη διάρκεια του χρόνου αντίδρασης, σχηματίστηκαν τα εξής παραπροϊόντα: μονοχλωριωμένη BPA (MCBPA), διχλωροBPA (DiCBPA: άθροισμα του 2,6- και 2,2'-D<sub>2</sub>CBPA) και του τριχλωροBPA ( $T_3$ CBPA) κατά τη διάρκεια των πρώτων 10 λεπτών και στη συνέχεια άρχισαν να αποδομούνται αργά. Η τετραχλωροBPA ( $T_4$ CBPA) σχηματίζοταν κατά τη διάρκεια των 40 λεπτών της αντίδρασης όπου έφτασε και στο μέγιστο της. Μετά από το 60 λεπτά της αντίδρασης η  $T_4$ CBPA ήταν το μόνο χλωριωμένο ομοειδές της BPA στο διάλυμα.

Σε μελέτη των Hu et al. (2002) πάνω στην χλωρίωση της BPA και τον σχηματισμό παραπροϊόντων, η συγκέντρωση της BPA στο υδατικό μέσο ήταν 500 µg/l ενώ η συγκέντρωση του υποχλωριώδες νατρίου 1.46 mg/l. Δείγματα λήφθηκαν κάθε 10, 30, 60, 180, 360 και 1440 min. Η θερμοκρασία είχε ρυθμιστεί στους 25<sup>0</sup>C και το pH στους 7.5. Κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης εμφανίστηκαν 13 προϊόντα εκ των οποίων η 4-χλωρο-BPA, η 2,6'-διχλωρο-BPA, η 2,6-διχλωρο-BPA, η 2,2',6'-τριχλωρο-BPA, η 2,2',6,6'-τετραχλωρο-BPA, η τριχλωροφαινόλη, η 4-ισοπροπυλο-2-υδροξύ-φαινόλη και έξι είδη πολυχλωριωμένων φαινοξυφαινολών (Σχήμα 3.29) Παρατηρήθηκε πως στα πρώτα 10 λεπτά της χλωρίωσης απομακρύνθηκε το 80% της BPA ενώ στο διάλυμα η τριχλωροφαινόλης, μετά από 360min, χλωρίωσης αποτελούσε το κύριο προϊόν της διάσπασης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η τριχλωροφαινόλη ήταν παρούσα στο διάλυμα ακόμα και όταν δεν είχε ανιχνευτεί καθόλου BPA.



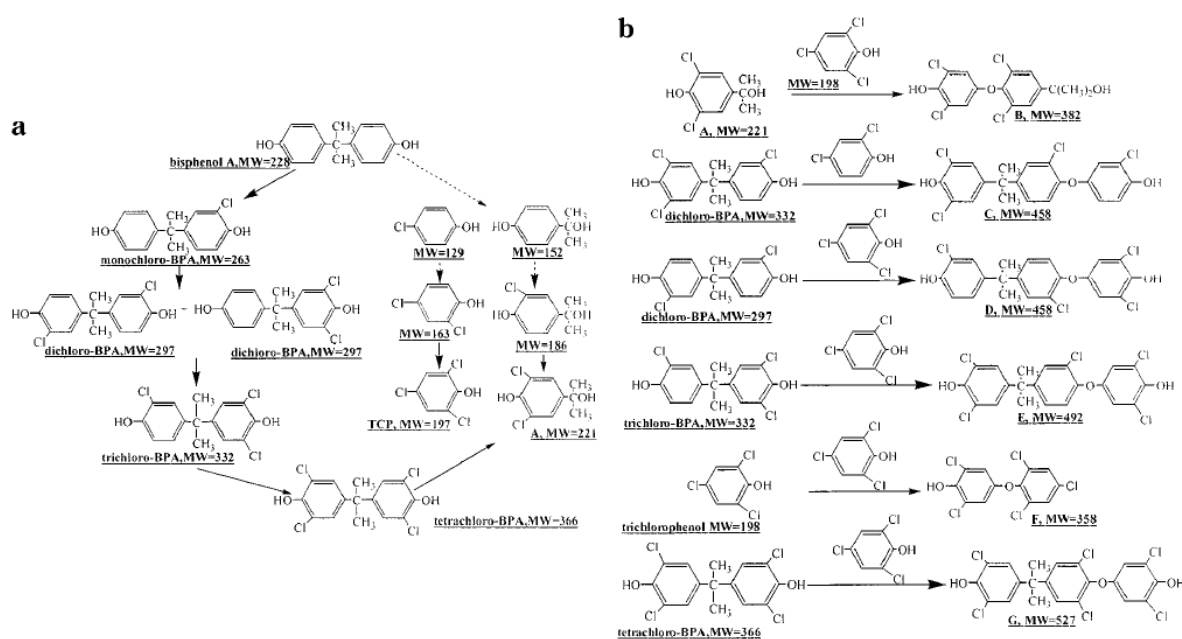
**Σχήμα 3.29:** Μεταβολή της BPA και των παρα-προϊόντων της σε σχέση με το χρόνο (Xu et al. , 2002)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι Hu et al. (2002) πρότειναν τους εξής μηχανισμούς χλωρίωσης:

- α) αντιδράσεις υποκατάστασης χλωρίου και αφυδάτωσης
- β) αντιδράσεις υποκατάστασης χλωρίου σε συνδυασμό με ρήξη του α-C της ισοπροπυλικής ομάδας και του β' C του βενζολικού τμήματος
- γ) σχηματισμός PCPPS (πολυχλωριωμένες φαινοξυφαινόλες)

Σύμφωνα με τα παραπάνω το HOCl κάνει ηλεκτροφιλική επίθεση στο ιόν του φαινοξειδίου και σχηματίζονται τα χλωριωμένα παραπροϊόντα. Σύμφωνα με αυτό τον μηχανισμό, η παρουσία αρνητικού φορτίου στο πυρηνόφιλο υπόστρωμα διευκολύνει αυτήν την αντίδραση. Για αυτό η υποκατάσταση του χλωρίου ακολουθείται από αφυδάτωση. Το 2-χλωρο-BPA αφού σχηματιστεί αντιδρά με το υποχλωριώδες νάτριο με υποκατάσταση του χλωρίου και σχηματίζεται 2,6 δίχλωρο-BPA. Η υποκατάσταση χλωρίου μπορεί να γίνει σε άλλον άνθρακα του 2-χλωρο-BPA και έτσι να σχηματιστεί το άλλο διχλωρο-BPA (2,6 διχλωρο-BPA) παρόλο που θα είναι σε λιγότερη

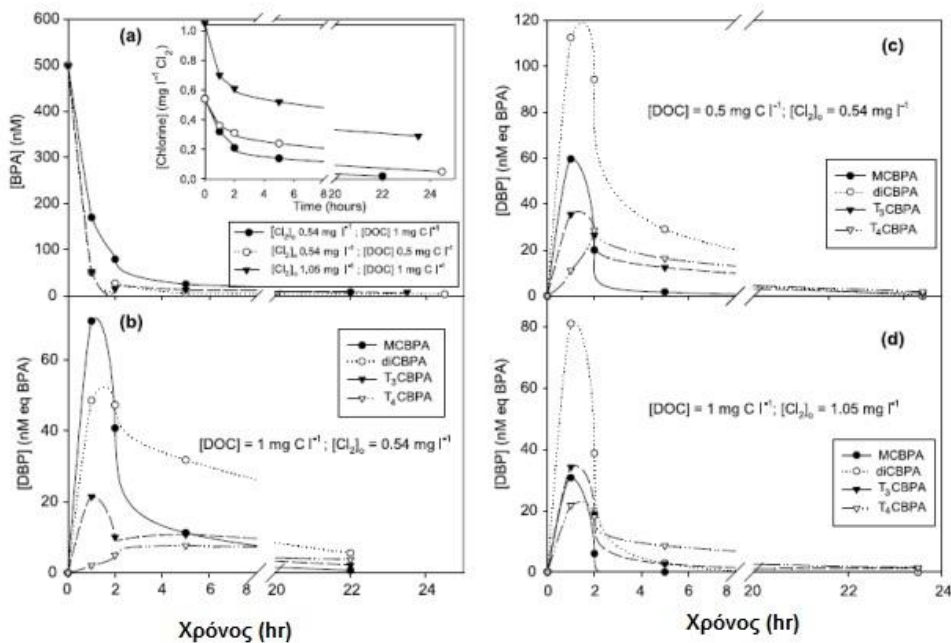
αφθονία από το 2-6'-χλωρο BPA λόγω μικρότερης αρνητικής φόρτισης του άνθρακα που γίνεται η υποκατάσταση (Σχήμα 3.30).



**Σχήμα 3.30:** α) Οδός αντιδράσεων υποκατάστασης του χλωρίου μεταξύ της BPA και του HOCl β) σχηματισμός πολυχλωριωμένων φαινοξυφαινολών

### Επίδραση χουμικών

Παρόμοια πειράματα πραγματοποιήθηκαν από τους Gallard et al. (2004) για την επίδραση των χουμικών ενώσεων στην απομάκρυνση της BPA. Οι συγκεντρώσεις της BPA σε όλα τα πειράματα ήταν 114  $\mu\text{g/l}$ . Παρασκευάστηκαν δύο διαλύματα. Το πρώτο διάλυμα με συγκέντρωση NOM 0.5 mg C/l και το δεύτερο με συγκέντρωση 1.0 mg C/l. Και τα δυο διαλύματα ρυθμίστηκαν σε pH 7. Το πρώτο διάλυμα η συγκέντρωση του χλωρίου ήταν 0.54 mg Cl<sub>2</sub>/l. Στο δεύτερο διάλυμα έγιναν δυο πειράματα με δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις χλωρίου: 0.54 και 1.05 mg/Cl<sub>2</sub>. Οι συγκεντρώσεις του χλωρίου, της BPA και των παραπροϊόντων της BPA προσδιορίζονταν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα για 24 ώρες. Στο σχήμα 3.31a φαίνεται η συγκριτική εξέλιξη της BPA για τις τρεις διαφορετικές πειραματικές συνθήκες ενώ το ένθετο του σχήματος 3.31a δείχνει την κατανάλωση χλωρίου. Τα σχήματα 3.31b-d δείχνουν την εξέλιξη των παραπροϊόντων της BPA για κάθε πείραμα.

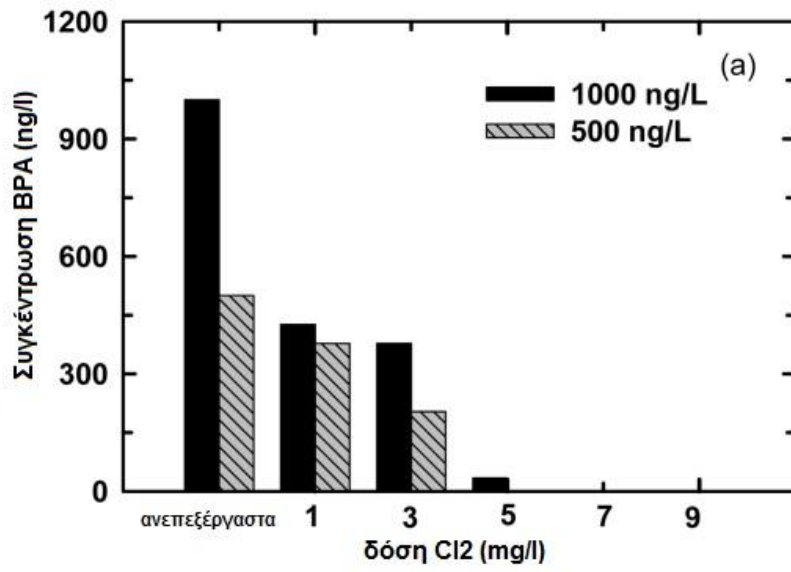


**Σχήμα 3.31:** Χλωρίωση της BPA σε συνθετικό νερό ( $[BPA]_0=500nM$ ,  $pH=7.0$ ) (Gallard et al., 2004)

Τα αποτελέσματα στο σχήμα 3.31α δείχνουν ότι η BPA εξαφανίζεται πλήρως μέσα στις 5 πρώτες ώρες. Επίσης φαίνεται ότι για την ίδια δόση χλωρίου, ο ρυθμός μείωσης της BPA μειώνεται καθώς η συγκέντρωση της DOC αυξάνει. Αυτό πολύ πιθανόν εξηγείται καθώς η παρουσία των DOC μειώνει το χλώριο που θα ήταν διαθέσιμο για την αποδόμηση της BPA.

Όπως και στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν χωρίς DOC, στις Εικόνες 3.31b-d φαίνεται ο γρήγορος σχηματισμός των παραπροϊόντων της BPA και στη συνέχεια η πιο αργή τους μείωση. Η διχλωροBPA ήταν αυτή που σχηματίστηκε σε μεγαλύτερο βαθμό, για αναλογία  $[Cl_2]_0/DOC$  ίση με 1. Για χαμηλότερη συγκέντρωση χλωρίου  $[Cl_2]_0/DOC=0.5mg Cl_2/mg^{-1}C$  η μονοχλωριωμένη BPA ήταν το κύριο παραπροϊόν της BPA καθώς η περιορισμένη συγκέντρωση χλωρίου περιορίζει την ανάπτυξη της διχλωροBPA. Για τις δεδομένες πειραματικές συνθήκες, τα χλωριωμένα προϊόντα της BPA παρέμειναν στο διάλυμα για αρκετές ώρες αλλά δεν μπορούσαν να ανιχνευτούν μια ημέρα μετά και ενώ υπήρχε ακόμα στο διάλυμα υπολειμματικό χλώριο. Η παρουσία υψηλής περιεκτικότητας χλωρίου μπορεί να ενισχύει την παραγωγή των παραπροϊόντων, από την άλλη όμως συμβάλει επίσης και στην εξαφάνισή τους. Για παράδειγμα, σε χρόνο αντίδρασης 5 ωρών, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις των παραπροϊόντων της BPA σχηματίστηκαν με την χαμηλότερη δόση χλωρίου (0.5mg/l), δηλαδή όταν το ποσοστό της αντίδρασης τους με το χλώριο ήταν χαμηλό.

Οι Choi et al. (2006) μελέτησαν επίσης την επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της BPA σε πειράματα batch χρησιμοποιώντας ανεπεξέργαστο νερό από ποτάμι της Κορέας. Η συγκέντρωση της ουσίας ήταν 500 και 1000ng/l και δόσεις χλωρίου που χρησιμοποιήθηκαν κυμαίνονταν από 1-9mg/l για χρόνο επαφής 1 ώρας. Το pH μετρήθηκε στα 8.2-8.5 ενώ η συγκέντρωση του ολικού οργανικού άνθρακα 2.5-3.1 mg/l. Για δόση χλωρίου 1mg/l παρατηρήθηκε 58% απομάκρυνση ενώ για δόσεις χλωρίου από 5mg/l και πάνω παρατηρήθηκε 100% απομάκρυνση (Σχήμα 3.32).



Σχήμα 3.32: Απομάκρυνση της BPA κατά τη διάρκεια χλωρίωσης (Choi et al., 2006)

## Κεφάλαιο 4 Υλικά και Μέθοδοι

Τα πειράματα της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας στο τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Για την ανίχνευση και ταυτοποίηση των παραπροϊόντων χρησιμοποιήθηκε αναλυτής μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας LTQ-Orbitrap της εταιρείας Thermo, του τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του τμήματος Φαρμακευτικής. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το λογισμικό Xcalibur Data System της εταιρείας Thermo στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του τμήματος Χημείας. Η ανίχνευση και ταυτοποίηση παραπροϊόντων καθώς και η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε από την Μαρία-Χρυστίνα Νίκα, μεταπτυχιακή φοιτήτρια του κ. Ν.Θωμαΐδη του τμήματος Χημείας. Τα δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα, προέρχονταν από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων στην Ψυτάλλεια. Μετά την παραλαβή των λυμάτων, γινόταν ο προσδιορισμός του προφίλ των λυμάτων. Πιο συγκεκριμένα γινόταν μέτρηση των ολικών στερεών (TSS), των ολικών αιωρούμενων οργανικών στερεών, προσδιορισμός του Χημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD), της θολότητας και του pH των λυμάτων. Στη συνέχεια ακολουθούσαν τα πειράματα χλωρίωσης και ο προσδιορισμός των ουσιών. Σκοπός των πειραμάτων ήταν να μελετηθεί η επίδραση της χλωρίωσης των ουσιών στην απομάκρυνση τους καθώς και πως επηρεάζουν τα ολικά στερεά (TSS), ο διαλυτός οργανικός άνθρακας (DOM), το pH και η αρχική δόση χλωρίου, κατά την χλωρίωση, στην απομάκρυνση τους. Οι ουσίες που μελετήθηκαν χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: τους ενδοκρινικούς διαταράκτες (τρικλοζάνη, βισφαινόλη, εννεύλοφαινόλη, μονοαιθοξυλιωμένη, διαιθοξυλιωμένη εννεύλοφαινόλη) και τις φαρμακευτικές ουσίες (δικλοφενάκη, ιβουπροφαίνη, ναπροξένη, κετοπροφαίνη)

### 4.1 Προσδιορισμός του προφίλ των λυμάτων

#### 4.1.1 Προσδιορισμός των στερεών

Για το διαχωρισμό του νερού από τα στερεά απαιτείται εξάτμιση. Η εξάτμιση του νερού συνήθως γίνεται στους 103-105°C ή 179-181°C. Οι χαμηλότερες θερμοκρασίες συνήθως χρησιμοποιούνται όταν έχουμε δείγματα που περιέχουν οργανικές ουσίες που μπορεί να εξατμισθούν μαζί με το νερό στους 180°C. Γενικά παρατηρείται πολύ μικρή απώλεια ανόργανων στερεών στους 103°C. Μόνο κάποιες μικρές ποσότητες CO<sub>2</sub> μπορεί να εκλυθούν λόγω μετατροπής των όξινων ανθρακικών σε ανθρακικά. Κάποια προβλήματα παρουσιάζονται κατά τον διαχωρισμό του νερού από τα στερεά στους 103°C, λόγω κάποιων ποσοτήτων νερού που δεν εξατμίζονται πλήρως λόγω παγίδευσης του νερού σε κρυστάλλους ένυδρων ανόργανων αλάτων. Σε αυτές τις περιπτώσεις προτιμάται η μέτρηση των στερεών στους 179-181°C, όπου όμως υπάρχει ο κίνδυνος απώλειας ποσοτήτων ανθρακικού αμμωνίου. Πάντως στις περιπτώσεις προσδιορισμού των στερεών σε λύματα, όπως και στην παρούσα εργασία, προτιμάται ο προσδιορισμός των στερεών στους 103°C.

Για τον διαχωρισμό των στερεών μεταξύ αιωρούμενων και διαλυτών απαιτείται διύλιση. Τα φίλτρα που χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: α) φίλτρα με πόρους και β) στρωματικά φίλτρα. Τα πρώτα (πχ μεμβράνες) φέρουν πόρους συγκεκριμένης διαμέτρου (π.χ 0.22, 0.45 μm) και απομακρύνουν τα σωματίδια στην επιφάνειά τους μη επιτρέποντας την διέλευση

σωματιδίων διαμέτρου μεγαλύτερης της διαμέτρου των πόρων που φέρουν. Τα δεύτερα συγκρατούν τα σωματίδια κατά μήκος του στρώματος του φίλτρου, παγιδεύοντάς τα μέσα σε ένα πλέγμα από ανόργανες ίνες από τις οποίες αποτελείται το φίλτρο (π.χ glass fibre filters GF/C). Συνήθως τα φίλτρα τύπου μεμβρανών και συγκεκριμένα αυτά που φέρουν πόρους διαμέτρου 0.45 μm χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό διαλυτών ενώσεων πχ διαλυτού COD, BOD, φωσφορικών. Τα στρωματικά φίλτρα (πχ GF/C φίλτρα) χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό των διαφόρων κλασμάτων των στερεών.

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

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν:

- ένας αναλυτικός ζυγός (Σχήμα 4.1)
- φούρνοι 103°C και 550°C (Σχήμα 4.2)
- ένας ξηραντήρας και
- φίλτρα GF/C με διάμετρο πόρων 1,2 μm (Σχήμα 4.1)

### **Προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS)**

Ζυγίζεται προξηραμένο φίλτρο GF/C διαμέτρου 4,7 cm (Σχήμα 4.1) με χρήση αναλυτικού ζυγού ακριβείας (Σχήμα 4.1). Τοποθετείται το φίλτρο στη μονάδα διήθησης και χρησιμοποιώντας την αντλία κενού διηθείται ποσότητα δείγματος, 50-100 ml για δείγματα πρωτοβάθμια επεξεργασμένων λυμάτων και δευτεροβάθμιας εκροής και 5 ml όταν πρόκειται για ανάμικτο υγρό. Αφαιρείται το φίλτρο με τη λαβίδα και τοποθετείται το δείγμα στο φούρνο των 103°C για 1 hr (Σχήμα 4. 2). Με την πάροδο μιας ώρας εισάγεται το δείγμα στον ξηραντήρα για περίπου 15min και επαναλαμβάνεται η μέτρηση του βάρους του δείγματος χρησιμοποιώντας τον αναλυτικό ζυγό. Η συγκέντρωση των ολικών αιωρούμενων στερεών προκύπτει από την παρακάτω σχέση:

$$TSS(mg/l) = \frac{m_{103^{\circ}C} - m_{\text{φίλτρου}}}{V} \quad (1)$$

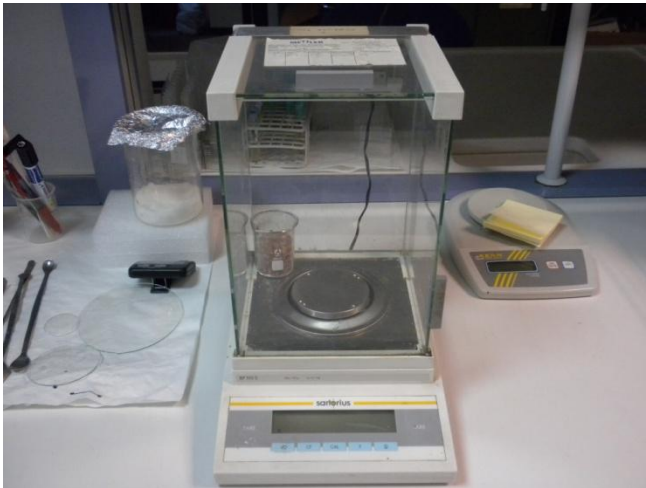
όπου

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

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

V: ο όγκος του δείγματος (l)





**Σχήμα 4.1** Αναλυτικός Ζυγός Ακριβείας και Φίλτρο GF/C διαμέτρου 4,7 cm

### **Προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων οργανικών στερεών (VSS)**

Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία που ακολουθήθηκε στην μέτρηση των ολικών στερεών τοποθετείται το φίλτρο σε φούρνο 550°C για 20 min (Σχήμα 4.2) με σκοπό την καύση των οργανικών στερεών. Αφαιρείται το δείγμα από τον φούρνο και το τοποθετείται σε ξηραντήρα. Στη συνέχεια μετρείται το βάρος του φίλτρου. Η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών υπολογίζεται από τη σχέση:

$$VSS(mg/l) = \frac{m_{103^{\circ}C} - m_{550^{\circ}C}}{V} \quad (2)$$

όπου

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

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

V: ο όγκος του δείγματος (l)



**Σχήμα 4.2:** Φούρνοι για τον προσδιορισμό ολικών (αριστερά) και οργανικών στερεών (δεξιά)

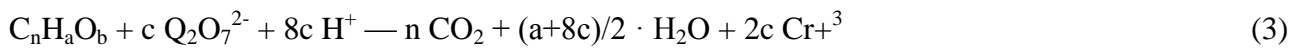
#### 4.1.2 Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD)

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

#### Αρχή της μεθόδου

Η μέτρηση του COD που έχει διάρκεια 2 περίπου ώρες, γίνεται σε έντονα όξινο περιβάλλον (50%  $H_2SO_4$ ), σε θερμοκρασία  $150^{\circ}C$  και παρουσία  $Ag_2SO_4$  που προστίθεται ως καταλύτης για την αποτελεσματικότερη οξείδωση ορισμένων οργανικών ενώσεων. Κάτω από αυτές τις συνθήκες οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται σε  $CO_2$ ,  $H_2O$ ,  $NH_4^{+1}$ ,  $PO_4^{-3}$ ,  $SO_4^{-2}$ , και το διχρωμικό ανιόν  $Cr^{+6}$  (πορτοκαλί) σε χρωμικό  $Cr^{+3}$  (πράσινο). Οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται είτε είναι βιοαποικοδομήσιμες είτε όχι με αποτέλεσμα το COD να εμφανίζεται σχεδόν πάντα μεγαλύτερο από τη μέτρηση του βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) που προσδιορίζει μόνο το κλάσμα των οργανικών ενώσεων που είναι βιοδιασπάσιμο. Οι μόνες ενώσεις που παρουσιάζουν κάποιο μειωμένο ποσοστό οξείδωσης είναι πτητικά οργανικά οξέα που λόγω της πτητικότητάς τους δεν οξειδώνονται τόσο αποτελεσματικά. Για την καλύτερη οξείδωση αυτών των ενώσεων προστίθεται  $Ag_2SO_4$ .

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



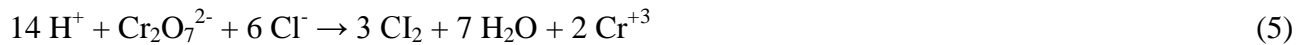
όπου  $c = 2/3 c + a/6 - b/3$

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

α) τα χλωριόντα δεσμεύουν τον άργυρο και ελαττώνουν έτσι την καταλυτική δράση του  $Ag_2SO_4$  σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



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



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



Μετά την οξείδωση της οργανικής ύλης με το διχρωμικό ανιόν, απαιτείται η μέτρηση της υπολειπόμενης συγκέντρωσης διχρωμικού καλίου για τον υπολογισμό της ποσότητας που καταναλώθηκε. Η μέτρηση της περισσειας του διχρωμικού καλίου γίνεται είτε φασματογραφικά.

Χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός και σύμφωνα με το νόμο Beer-Lambert συσχετίζεται η απορροφητικότητα του δείγματος σε δεδομένο μήκος κύματος (620 nm) με τη συγκέντρωση του COD του δείγματος:

$$\log I_0/I = A = a \cdot W \cdot \sigma \nu \gamma \kappa \acute{\epsilon} \nu \tau \rho \omega \sigma \eta \quad (7)$$

όπου

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

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

$A$ , απορροφητικότητα δείγματος

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

$a$ : σταθερά για δεδομένο διάλυμα και μήκος κύματος

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

### **Προσδιορισμός ολικού COD με φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός**

Προστίθενται 2 ml δείγματος στα φιαλίδια που περιέχουν τα αντιδραστήρια και κλείνονται με προσοχή. Τοποθετούνται τα φιαλίδια και ένα δείγμα απεσταγμένου νερού στη συσκευή χώνευσης, όπου θερμαίνονται στους 150<sup>0</sup>C, για περίπου 1.5 hr. Αφήνονται τα δείγματα να κρυώσουν για 20 min και στη συνέχεια μετριέται η συγκέντρωση του COD του κάθε δείγματος χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός τύπου HACH DR2000 (Σχήμα 4.3) σε μήκος κύματος ίσο με 620 nm, αφού πρώτα μηδενίστει με το δείγμα του αποσταμένου νερού.

### **Προσδιορισμός διαλυτού COD με φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός**

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



**Σχήμα 4.3:** Φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός

### **4.1.3 Προσδιορισμός θολότητας**

Η μέτρηση της θολότητας γίνεται νεφελομετρικά με τη χρήση ειδικού οργάνου (θολόμετρο). Κατά τη νεφελομετρική μέθοδο μετράται με τη βοήθεια φωτόμετρων, η ένταση του φωτός που διαθλάται καθώς μια δέσμη φωτός σταθερής έντασης περνά διαμέσου του δείγματος.

#### ***Προσδιορισμός θολότητας με τη νεφελομετρική μέθοδο***

Οι θολότητες που προσδιορίζονται σύμφωνα με τη νεφελομετρική μέθοδο (χρήση θολόμετρου) δίνονται σε Νεφελομετρικές Μονάδες Θολότητας (NTU). Γενικά τα τελευταία χρόνια έχει επικρατήσει η νεφελομετρική μέθοδος σε σχέση με άλλες όπως αυτή της οπτικής, καθώς δίνει

ακριβέστερα αποτελέσματα και σε χαμηλές θολότητες αλλά και λόγω της μεγαλύτερης ευκολίας της μεθόδου. Η νεφελομετρική μέθοδος συχνά χρησιμοποιείται και ως έμμεσος τρόπος συνεχούς (on line) προσδιορισμού της συγκέντρωσης των αιωρούμενων στερεών σε διάφορες θέσεις σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων (πχ επεξεργασμένα λύματα). Στα πειράματα της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε το θολόμετρο Hach Turbidity meter. Η μέτρηση πραγματοποιείται με εισαγωγή 10 ml από το εξεταζόμενο δείγμα στην ειδική κυψελίδα που φέρει το όργανο και η ένδειξη που εμφανίζεται είναι η τιμή της θολότητας σε NTU.

#### **4.1.4 Προσδιορισμός pH**

Το pH μετρήθηκε με φορητό pHμετρο τύπου 315i της WTW (Σχήμα 4.4) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.



**Σχήμα 4.4:** Φορητό pHμετρο

### **4.2 Πειραματικά Πρωτόκολλα**

#### **4.2.1 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες σε διαφορετικά pH**

##### **Σκοπός**

Ο σκοπός των πειραμάτων είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά και απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση σε διαφορετικά pH.

##### **Προετοιμασία Πειράματος**

Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος πλένονταν πολύ καλά με

ακετόνη, απιονισμένο και υπερκάθαρο νερό. Για την παρασκευή διαλύματος χλωρίου χρησιμοποιήθηκε απλή χλωρίνη εμπορίου (NaOCl).

### **Πειραματική διαδικασία**

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τρεις διαφορετικές τιμές pH 6, 7.5 και 10. Η ρύθμιση του pH έγινε με πρότυπα διαλύματα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1N) και NaOH (1N). Σε 2L δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων έγινε προσθήκη των ουσιών : NP, NP1EO, NP2EO, bisphenol A, diclofenac, naproxen , ketoprofen, ibuprofen, ketoprofen σε συγκέντρωση 1000 ng/l. Αφού το δείγμα αφήνεται στην ανάδευση για 30 λεπτά, απομακρύνονται 220ml δείγματος και τοποθετούνται στην ανάδευση για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Για χρόνο t=0, πριν την προσθήκη χλωρίου λαμβάνεται δείγμα 100ml και διηθείται σε μεμβράνες μεγέθους 0.45μm. Έπειτα το δείγμα χλωριώνεται, με διάλυμα χλωρίου, έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να είναι 15mg/l. Μετά από χρόνο t (min), τέτοιο ώστε να έχει διασφαλιστεί ότι η δόση χλωρίου είναι Ct=95 mg/l·min, αποσύρονται 2ml δείγματος για την μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου καθώς και 100 ml δείγματος στα οποία προστίθεται θειώδες νάτριο (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) για να σταματήσει η χλωρίωση. Το δείγμα διηθείται σε μεμβράνη 0.45 μm. Όλες οι μεμβράνες με το στερεό υλικό φυλάσσονται καθώς και τα διηθήματα αφού πρώτα ρυθμιστεί η τιμή του pH στο 2.8 προσθέτοντας υδροχλώριο (HCl~ 1N). Στο διάλυμα επίσης προστίθενται εσωτερικά πρότυπα αναφοράς για να διευκολυνθεί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των ουσιών (BPA<sub>d16</sub> + MFC). Στη συνέχεια οι ουσίες εκχυλίζονται με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και αναλύονται με την μέθοδο αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών GS-MS. Τα πειράματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις για κάθε τιμή του pH.

## **4.2.2 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου.**

### **Σκοπός**

Ο σκοπός των πειραμάτων είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά και απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αρχικής δόσης χλωρίου.

### **Προετοιμασία Πειράματος**

Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος πλένονταν πολύ καλά με ακετόνη, απιονισμένο και υπερκάθαρο νερό. Για την παρασκευή διαλύματος χλωρίου χρησιμοποιήθηκε απλή χλωρίνη εμπορίου (NaOCl).

### **Πειραματική διαδικασία**

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τρεις διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου 5, 10, 15, 20, 30, mg/l. Σε 2400ml διηθημένων δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων έγινε προσθήκη των ουσιών : NP, NP1EO, NP2EO, bisphenol A, diclofenac, naproxen , ketoprofen, ibuprofen, ketoprofen σε συγκέντρωση 1000 ng/l. Αφού το δείγμα αφήνεται στην ανάδευση για 30 λεπτά, απομακρύνονται 200ml δείγματος και τοποθετούνται στην ανάδευση για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Για χρόνο t=0, πριν την προσθήκη χλωρίου λαμβάνεται δείγμα 100ml. Στη συνέχεια λαμβάνεται 100 ml δείγματος και αφού χλωριωθεί, έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να είναι στην εκάστοτε επιθυμητή αρχική συγκέντρωση χλωρίου, αφήνεται για 4min. Αφού αποσύρονται 2ml για τη μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου, προστίθεται θειώδες νάτριο

(Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) στο δείγμα για να σταματήσει η χλωρίωση. Σε όλα τα δείγματα ρυθμίζεται η τιμή του pH στο 2.8 προσθέτοντας υδροχλώριο (HCl~ 1N). Στο διάλυμα επίσης προστίθενται εσωτερικά πρότυπα αναφοράς για να διευκολυνθεί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των ουσιών (BPA<sub>d16</sub> + MFC). Στη συνέχεια οι ουσίες εκχυλίζονται με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και αναλύονται με την μέθοδο αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών GS-MS. Τα πειράματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις για κάθε διαφορετική αρχική δόση χλωρίου.

#### **4.2.3 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες για διαφορετικές συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών.**

##### **Σκοπός**

Ο σκοπός του πειράματος είναι να μελετηθεί η επίδραση των αιωρούμενων στερεών στην απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων.

##### **Προετοιμασία Πειράματος**

Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος πλένονταν πολύ καλά με ακετόνη, απιονισμένο και υπερκάθαρο νερό. Για την παρασκευή διαλύματος χλωρίου χρησιμοποιήθηκε απλή χλωρίνη εμπορίου (NaOCl).

##### **Πειραματική διαδικασία**

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις στερεών, 0 , 10, 70 mg/l για συγκεκριμένη δόση χλωρίου 90 mg/min·l και αρχική δόση χλωρίου 15mg/l. Για να επιτευχθεί μηδενική συγκέντρωση στερεών δείγμα 1400ml δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων διηθείται. Ενώ για να επιτευχθεί συγκέντρωση στερεών 20 και 70 mg/l, δείγμα 1300ml δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων αφού διηθείται, προστίθεται σε αυτό ανάμεικτο υγρό της ίδιας εγκατάστασης, συγκέντρωσης 1300 mg/l, τόσο ώστε να επιτευχθεί η εκάστοτε επιθυμητή δόση στερεών (20 και 70 mg/). Στη συνέχεια έγινε προσθήκη των ουσιών : NP, NP1EO, NP2EO, bisphenol A, diclofenac, naproxen , ketoprofen, ibuprofen, ketoprofen σε συγκέντρωση 1000 ng/l. Αφού το δείγμα αναδευτεί για 30 λεπτά, απομακρύνονται 250 ml και τοποθετούνται στην ανάδευση για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Για χρόνο t=0, πριν τη προσθήκη χλωρίου, λαμβάνεται δείγμα 100 ml. Στη συνέχεια προστίθεται το χλώριο, από το διάλυμα χλωρίου, έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να είναι 15 mg/l. . Μετά από χρόνο t (min), τέτοιο ώστε να έχει διασφαλιστεί ότι η δόση χλωρίου είναι Ct= 90 mg/l·min, αποσύρονται 2ml δείγματος για την μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου καθώς και 100 ml δείγματος στα οποία προστίθεται θειώδες νάτριο (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) για να σταματήσει η χλωρίωση. Τα δείγματα με στερεά διηθούνται με μεμβράνες 0.45μm. Τέλος σε όλα τα δείγματα ρυθμίζεται η τιμή του pH στο 2.8 προσθέτοντας υδροχλώριο (HCl, 1N). Στο διάλυμα επίσης προστίθενται εσωτερικά πρότυπα αναφοράς (BPA<sub>d16</sub> + MFC) για να διευκολυνθεί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των ουσιών. Έπειτα οι ουσίες εκχυλίζονται με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και αναλύονται με την μέθοδο αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών GS-MS. Τα πειράματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις για κάθε συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών.

#### **4.2.4 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με προσθήκη χουμικών οξέων.**

##### ***Σκοπός***

Ο σκοπός του πειράματος είναι να μελετηθεί η επίδραση των χουμικών οξέων στην απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση διηθημένων δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων.

##### ***Προετοιμασία Πειράματος***

Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος πλένονταν πολύ καλά με ακετόνη, απιονισμένο και υπερκάθαρο νερό. Για την παρασκευή διαλύματος χλωρίου χρησιμοποιήθηκε απλή χλωρίνη εμπορίου (NaOCl). Η ανίχνευση, ταυτοποίηση των παραπροϊόντων καθώς και η επεξεργασία των δεδομένων έγιναν από το εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του τμήματος Χημείας (Ε.Κ.Π.Α).

##### ***Πειραματική διαδικασία***

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις χουμικών οξέων, 0 και 20 mg/l για συγκεκριμένη δόση χλωρίου 85 mg/min·l και αρχική δόση χλωρίου 15mg/l. Για να επιτευχθεί μηδενική συγκέντρωση στερεών δείγμα 1400ml δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων διηθείται. Ενώ για να επιτευχθεί συγκέντρωση χουμικών οξέων 20 mg/l, σε δείγμα 900 ml δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων αφού διηθείται, προστίθεται σε αυτό 100ml διαλύματος χουμικών έτσι ώστε στο τελικό διάλυμα (1000 ml), η συγκέντρωση των χουμικών να είναι 20mg/l. Στη συνέχεια προστίθενται οι εξής ουσίες: NP, NP1EO, NP2EO, bisphenol A, diclofenac, naproxen, ketoprofen, ibuprofen, ketoprofen σε συγκέντρωση 1000 ng/l η καθεμία. Αφού το δείγμα αναδευτεί για 30 λεπτά, απομακρύνονται 250 ml και τοποθετούνται στην ανάδευση για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Για χρόνο  $t=0$ , πριν τη προσθήκη χλωρίου, λαμβάνεται δείγμα 100 ml. Στη συνέχεια προστίθεται το χλώριο, από το διάλυμα χλωρίου που παρασκευάστηκε, έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να είναι 15 mg/l και το διάλυμα αφήνεται τόση ώρα έτσι ώστε να διασφαλιστεί αρχική δόση χλωρίου  $Ct=85\text{mg/l}\cdot\text{min}$ . Έπειτα, αποσύρονται 2ml δείγματος για την μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου και συλλέγονται 100ml δείγματος στα οποία προστίθενται  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  για να σταματήσει η χλωρίωση. Τέλος, σε όλα τα δείγματα ρυθμίζεται η τιμή του pH στο 2.8 προσθέτοντας υδροχλώριο (HCl, 1N). Στο διάλυμα επίσης προστίθενται εσωτερικά πρότυπα αναφοράς (BPA<sub>d16</sub> + MFC) για να διευκολυνθεί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των ουσιών. Έπειτα οι ουσίες εκχυλίζονται με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και αναλύονται με την μέθοδο αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών GS-MS. Τα πειράματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις για κάθε συγκέντρωση χουμικών στερεών.

#### **4.2.5 Χλωρίωση Nonyphenol και Bisphenol σε υπερκάθαρο νερό**

##### ***Σκοπός***

Ο σκοπός του πειράματος είναι να ταυτοποιηθούν ορισμένα παραπροϊόντα της Bisphenol και της Nonyphenol κατά τη χλωρίωση.

##### ***Προετοιμασία Πειράματος***



Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος πλένονταν πολύ καλά με ακετόνη, απιονισμένο και υπερκάθαρο νερό. Για την παρασκευή διαλύματος χλωρίου χρησιμοποιήθηκε απλή χλωρίνη εμπορίου (NaOCl).

### ***Πειραματική διαδικασία***

#### **Nonyphenol**

Σε υπερκάθαρο νερό προστίθεται NP (1 mg/l). Αφού το διάλυμα αφήνεται στην ανάδευση για 30 λεπτά, απομακρύνονται κατάλληλος όγκος δείγματος και τοποθετείται στην ανάδευση για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Για χρόνο  $t=0$ , πριν τη προσθήκη χλωρίου, λαμβάνεται δείγμα και φυλάσσεται. Στη συνέχεια προστίθεται το χλώριο, από το διάλυμα χλωρίου που παρασκευάστηκε, έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να είναι 10 mg/l και ο χρόνος αντίδρασης ξεκινάει. Για χρόνους  $t=4, 9, 17, 35$  min, αφού γίνεται μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου, αποσύρεται δείγμα και προστίθενται σε αυτό  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  για να σταματήσει η χλωρίωση. Σε όλα τα δείγματα ρυθμίζεται η τιμή του pH στο 2.8 προσθέτοντας υδροχλώριο (HCl, 1N). Στα δείγματα επίσης προστίθενται εσωτερικά πρότυπα αναφοράς (BPA<sub>d16</sub> + MFC) για να διευκολυνθεί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των ουσιών. Για την ανίχνευση και ταυτοποίηση των παραπροϊόντων χρησιμοποιήθηκε αναλυτής μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας LTQ-Orbitrap της εταιρείας Thermo. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το λογισμικό Xcalibur Data System της εταιρείας Thermo. Τα πειράματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις.

#### **Bisphenol**

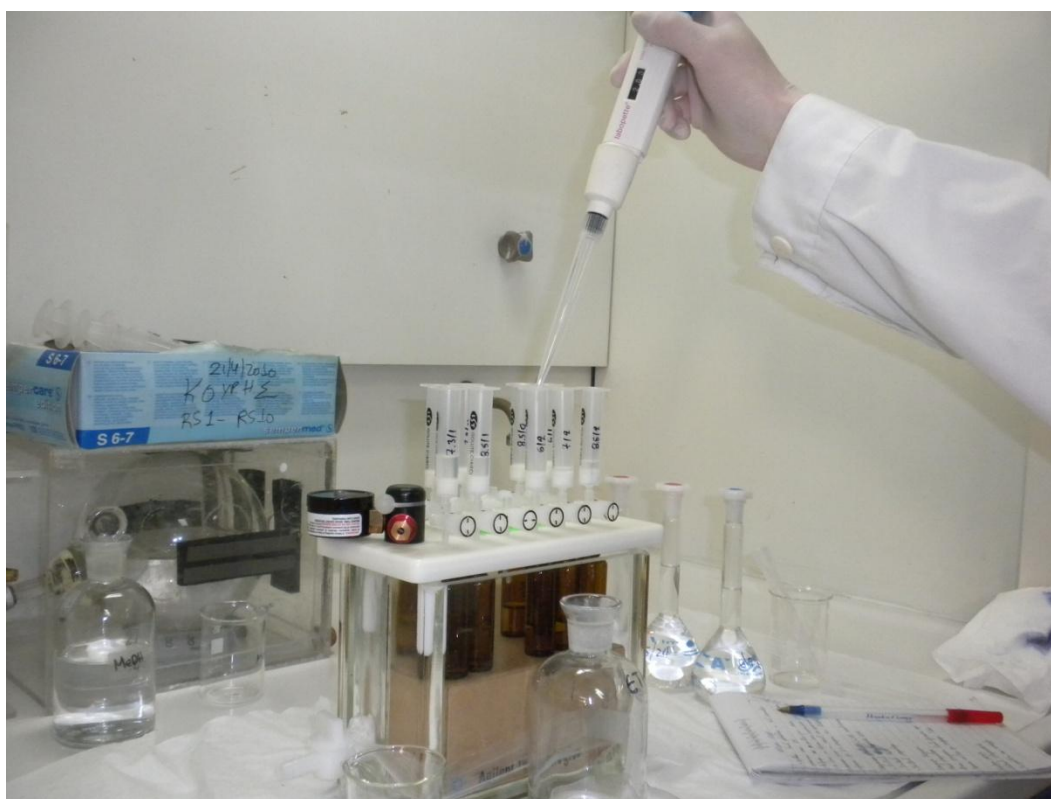
Σε υπερκάθαρο νερό προστίθεται BPA (1 mg/l). Αφού το διάλυμα αφήνεται στην ανάδευση για 30 λεπτά, απομακρύνονται κατάλληλος όγκος δείγματος και τοποθετείται στην ανάδευση για την εκτέλεση του κάθε πειράματος. Για χρόνο  $t=0$ , πριν τη προσθήκη χλωρίου, λαμβάνεται δείγμα και φυλάσσεται. Στη συνέχεια προστίθεται το χλώριο, από το διάλυμα χλωρίου που παρασκευάστηκε, έτσι ώστε η αρχική συγκέντρωση χλωρίου να είναι 10 mg/l και ο χρόνος αντίδρασης ξεκινάει. Για χρόνους  $t=4, 9, 17, 35$  min, αφού γίνεται μέτρηση του υπολειμματικού χλωρίου, αποσύρεται δείγμα και προστίθενται σε αυτό  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  για να σταματήσει η χλωρίωση. Σε όλα τα δείγματα ρυθμίζεται η τιμή του pH στο 2.8 προσθέτοντας υδροχλώριο (HCl, 1N). Στα δείγματα επίσης προστίθενται εσωτερικά πρότυπα αναφοράς (BPA<sub>d16</sub> + MFC) για να διευκολυνθεί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των ουσιών. Για την ανίχνευση και ταυτοποίηση των παραπροϊόντων χρησιμοποιήθηκε αναλυτής μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας LTQ-Orbitrap της εταιρείας Thermo. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το λογισμικό Xcalibur Data System της εταιρείας Thermo. Τα πειράματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις.

## **4.3 Προσδιορισμός φαρμακευτικών ουσιών και ενδοκρινικών διαταρακτών**

### **4.3.1 Προεπεξεργασία**

Για την απομόνωση των 9 υπό εξέταση ουσιών από την υγρή φάση χρησιμοποιείται η μέθοδος της εκχύλισης στερεής φάσης (SPE, Solid Phase Extraction) (Σχήμα 4.5). Για την εκχύλιση του υγρού δείγματος χρησιμοποιούνται φύσιγγες C18 (500mg - 6 ml), οι οποίες προσαρμόζονται σε κατάλληλη συσκευή κενού. Οι φύσιγγες ενεργοποιούνται με τη διέλευση 6 mL οξικού αιθυλεστέρα (3 x 2 ml), 6 mL μεθανόλης (3 x 2 ml) και 6 mL υπερκάθολου νερού (3 x 2 ml), με φυσική ροή. Μόλις τελειώσει

αυτή η διαδικασία προσθέτονται 4 mL υπερκάθαρου νερού, το οποίο θα παραμείνει μέσα στις φύσιγγες. Στη συνέχεια τοποθετούνται πάνω στις φύσιγγες μεγάλες πλαστικές σύριγγες χωρητικότητας 50 mL, και αδειάζονται τα δείγματα. Μόλις περάσει όλο το δείγμα τοποθετείται στη συσκευή εκχύλισης αντλία για να δημιουργηθεί υποπίεση για μερικά δευτερόλεπτα. Μετά την εκχύλιση γίνεται έκπλυση των φυσιγγών με 2 mL όξινου υπερκάθαρου νερού (pH = 2.5) προκειμένου να απομακρυνθούν οι όποιες προσμίξεις έχουν κατακρατηθεί και κατόπιν αφήνονται να ξηραθούν με τη βοήθεια της αντλίας για 60 λεπτά. Έπειτα από την ξήρανση, πραγματοποιείται έκλυση των υπό εξέταση ουσιών που έχουν προσροφηθεί στις φύσιγγες με 6 mL οξικού αιθυλεστέρα (3 x 2 mL). Το έκλουσμα αποθηκεύεται σε σκουρόχρωμα φιαλίδια όγκου 15 ml και αποθηκεύεται στη κατάψυξη.



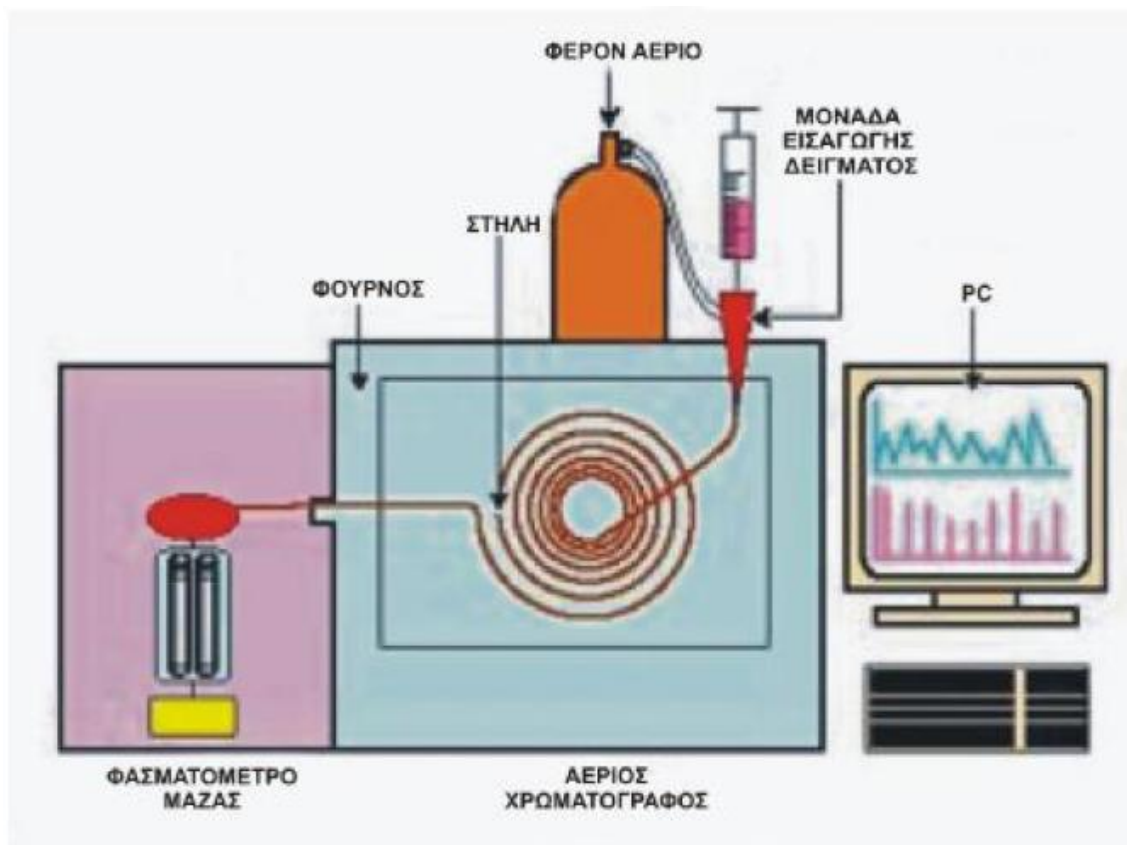
**Σχήμα 4.5:** Εκχύλιση Στερεής Φάσης (SPE, Solid Phase Extraction)

### 4.3.2 Παραγωγοποίηση

Η παραγωγοποίηση ξεκινά με την εξάτμιση του κάθε δείγματος ωστόσο ξηραθεί με βοήθεια αζώτου ( $N_2$ ). Στη συνέχεια προστίθεται 1 mL οξικού αιθυλεστέρα. Το δείγμα μετά αναδεύεται με vortex (δονητή δοκιμαστικών σωλήνων) για 30 sec. Από τα σκουρόχρωμα φιαλίδια μεταγγίζεται 1 ml δείγματος σε διάφανα φιαλίδια κωνικού πάτου. Επαναλαμβάνεται η πλήρης εξάτμιση του δείγματος με άζωτο. Στη συνέχεια γίνεται η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων (60 μl BPA + MCF). Επαναλαμβάνεται η πλήρης εξάτμιση του δείγματος με άζωτο. Στη συνέχεια προσθέτονται 50 μl BSTFA + 1 % TMCS και 10 μl πυριδίνης. Το δείγμα αναδεύεται με vortex και τοποθετείται σε λουτρό στους 70 °C για 20 min. Το παραγωγοποιημένο δείγμα αφήνεται να επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10 min και έπειτα ακολουθεί ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο.

### 4.3.3 Ανάλυση με Αέρια Χρωματογραφία - Φασματομετρία Μάζας

Ένα σύστημα GC/MS αποτελείται από τον αέριο χρωματογράφο, που περιλαμβάνει τη μονάδα εισαγωγής του δείγματος, το τμήμα διασύνδεσης (interface) του αέριου χρωματογράφου και του φασματομέτρου μάζας και το φασματομέτρο μάζας.



Σχήμα 4.6: Σχηματική απεικόνιση αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας

#### Αρχή λειτουργίας αέριου χρωματογράφου

Η αέρια χρωματογραφία ανήκει στις μεθόδους διαχωρισμού και εφαρμόζεται κυρίως σε αναλυτική κλίμακα. Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ταυτότητας (ποιοτική ανάλυση) και της ποσότητας (ποσοτική ανάλυση) των ενώσεων. Ένας αέριος χρωματογράφος αποτελείται από την εξής οργάνολογία : τον εισαγωγέα δείγματος, τη στήλη, τον ανιχνευτή και τον θερμοστατούμενο κλίβανο. Τη διάταξη συμπληρώνουν το φέρον αέριο και το σύστημα επεξεργασίας δεδομένων. Η ανάλυση αρχίζει με την εισαγωγή μικρής ποσότητας δείγματος σε υγρή ή αέρια φάση. Ο ρόλος του εισαγωγέα είναι διπλός. Αφ' ενός μεν να εξατμίσει το δείγμα, αφ' εταίρου να αναμίξει τα συστατικά του δείγματος με την αέρια φάση (φέρον αέριο). Όταν το δείγμα εξατμιστεί παρασύρεται στη στήλη που είναι σωλήνας περιτυλιγμένος μήκους ενός έως εκατό μέτρων. Η στήλη που περιέχει το πληρωτικό υλικό είναι τοποθετημένη σε θερμοστατούμενο κλίβανο. Από την έξοδο της στήλης, η κινητή φάση περνάει από τον ανιχνευτή πριν την τελική έξοδο στην ατμόσφαιρα. Τα δεδομένα που καταγράφει ο ανιχνευτής μεταφέρονται ύστερα στο σύστημα επεξεργασίας δεδομένων για να παραλάβουμε τις πληροφορίες σχετικά με το δείγμα που εισήχθη.

Στην αέρια χρωματογραφία (GC - Gas Chromatography) ο διαχωρισμός των συστατικών (αέριων ή πτητικών) βασίζεται στην κατανομή μεταξύ ενός μη πτητικού υγρού (στατική φάση), καθηλωμένου στα τοιχώματα ανοικτών τριχοειδών στηλών, και ενός αερίου (κινητή φάση, φέρον αέριο). Ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα από τη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες, που εξαρτώνται από τις τάσεις ατμών των συστατικών και από τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση. Η αέρια χρωματογραφία κατανομής βασίζεται στη θεωρία πλακών. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η κίνηση μιας ουσίας μέσα από τη χρωματογραφική στήλη μπορεί να θεωρηθεί ως μετακίνηση μέσω διαδοχικών θαλάμων (ζωνών) εξισορροπήσεως, που ονομάζονται θεωρητικές πλάκες. Μία θεωρητική πλάκα είναι ο απαιτούμενος όγκος της στήλης, ώστε μέσα σε αυτόν να αποκαθίσταται ισορροπία μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης. Η ισορροπία αυτή περιγράφεται από τον συντελεστή κατανομής:

$$K=C_S/C_M \quad (8)$$

όπου  $C_S$ ,  $C_M$  οι συγκεντρώσεις του συστατικού στην στατική και στην κινητή φάση αντίστοιχα.

### Στήλες

Όταν μια ουσία A εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο, παρασυρόμενη από την κινητή φάση εισέρχεται με αυτή στη στήλη. Στο θάλαμο 1, μέρος της ουσίας A διαλύεται στην υγρή φάση με ταχύτερη αποκατάσταση ισορροπίας μεταξύ των δύο φάσεων (συντελεστής K). Την επόμενη στιγμή, το μέρος της ουσίας A, που βρίσκεται στην αέρια φάση, παρασυρόμενο από το φέρον αέριο εισέρχεται στο θάλαμο 2, όπου μέρος του διαλύεται στην υγρή φάση με ταχύτερη αποκατάσταση ισορροπίας, ενώ συγχρόνως νέα αέρια φάση εισέρχεται στο θάλαμο 1, με αποκατάσταση νέας ισορροπίας. Την επόμενη στιγμή, το μέρος της ουσίας A που βρίσκεται στην αέρια φάση του θαλάμου 2, παρασυρόμενο εισέρχεται στο θάλαμο 3, με αποκατάσταση ισορροπίας σε αυτόν κ.ο.κ. στην περίπτωση μίγματος ουσιών, όσο μεγαλύτερος είναι ο συντελεστής K μιας ουσίας, τόσο βραδύτερα κινείται μέσα στη στήλη και τόσο βραδύτερα εξέρχεται από αυτήν, δηλαδή έχει μεγαλύτερο χρόνο συγκρατήσεως,  $t_R$ . Έτσι πετυχαίνεται διαχωρισμός των συστατικών, λόγω διαφορετικών συντελεστών κατανομής. Η επιλογή του είδους της στήλης αποτελεί το πιο ουσιαστικό βήμα στην ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. Τα κύρια χαρακτηριστικά της είναι ο αριθμός θεωρητικών πλακών, το ύψος ισοδύναμο με μία θεωρητική πλάκα, η διαχωριστικότητα, η χωρητικότητα, ο απαιτούμενος χρόνος ανάλυσης.

### Φέρον Αέριο

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

## Εισαγωγή δείγματος

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

## Θερμοστατούμενος Κλίβανος

Ο χώρος εισαγωγής του δείγματος και η στήλη, και σε πολλούς αέριους χρωματογράφους και ο ανιχνευτής, θερμοστατούνται, συνήθως στην περιοχή 50 - 300°C, είτε όλα μαζί είτε χωριστά. Η διαχωριστικότητα αυξάνεται όταν η θερμοκρασία ελαττώνεται, μείωση όμως της θερμοκρασίας προκαλεί αύξηση του χρόνου  $t_R$ , και επομένως αύξηση του χρόνου αναλύσεως. Όταν η θερμοκρασία της στήλης διατηρείται σταθερή σε όλη τη διάρκεια της χρωματογράφησης, συχνά είναι δύσκολο να επιτευχθεί πλήρης διαχωρισμός και ανίχνευση των συστατικών ενός μίγματος όταν τα σημεία ζέσεως τους ή και οι πολικότητες τους καλύπτουν ευρείες περιοχές. Αυτό συμβαίνει γιατί οι κορυφές των πτητικότερων συστατικών (χαμηλά σημεία ζέσεως) εμφανίζονται η μία κοντά στην άλλη ή αλληλεπικαλύπτονται (μικρή διαχωριστικότητα), ενώ οι κορυφές των λιγότερο πτητικών ουσιών, είναι μικρού ύψους, πλατιές και σε ορισμένες περιπτώσεις απέχουν τόσο πολύ μεταξύ τους (υπέρμετρη διαχωριστικότητα), ώστε ενώσεις υψηλού σημείου ζέσεως να μην ανιχνεύονται. Σε τέτοιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται η θερμοπρογραμματιζόμενη αέρια χρωματογραφία, όπου η θερμοκρασία μεταβάλλεται με βάση προκαθορισμένο πρόγραμμα.

## Αρχή λειτουργίας φασματομετρίας μαζών

Η αρχή της φασματομετρίας μάζας βασίζεται στην παραγωγή ιόντων (με διαφορετικούς τρόπους), τα οποία στη συνέχεια ευρισκόμενα στην αέρια φάση και σε υψηλό κενό διαχωρίζονται και καταγράφονται με βάση το λόγο της μάζας τους προς το φορτίο τους. Τα καταγραφόμενα κατιόντα αποτελούν το φάσμα μαζών της ένωσης, που μας δίνει πληροφορίες για το μοριακό βάρος και τη δομή της.

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

Η φασματομετρία μαζών μπορεί να συνδυαστεί με την αέρια χρωματογραφία που σήμερα αποτελεί

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

Στην παρούσα εργασία η ανάλυση πραγματοποιείται με αέριο χρωματογράφο Agilent 7890A συζευγμένο με φασματογράφο μάζας Agilent 5975C (Σχήμα 4.7). Η στήλη που χρησιμοποιείται είναι η DB5MS (30 m x 0,25  $\mu\text{m}$  x 0,32 mm) από τη Supelco, USA. Το φέρον αέριο είναι το ήλιο (99,999 %) με μια σταθερή ροή 0,9 ml/min.

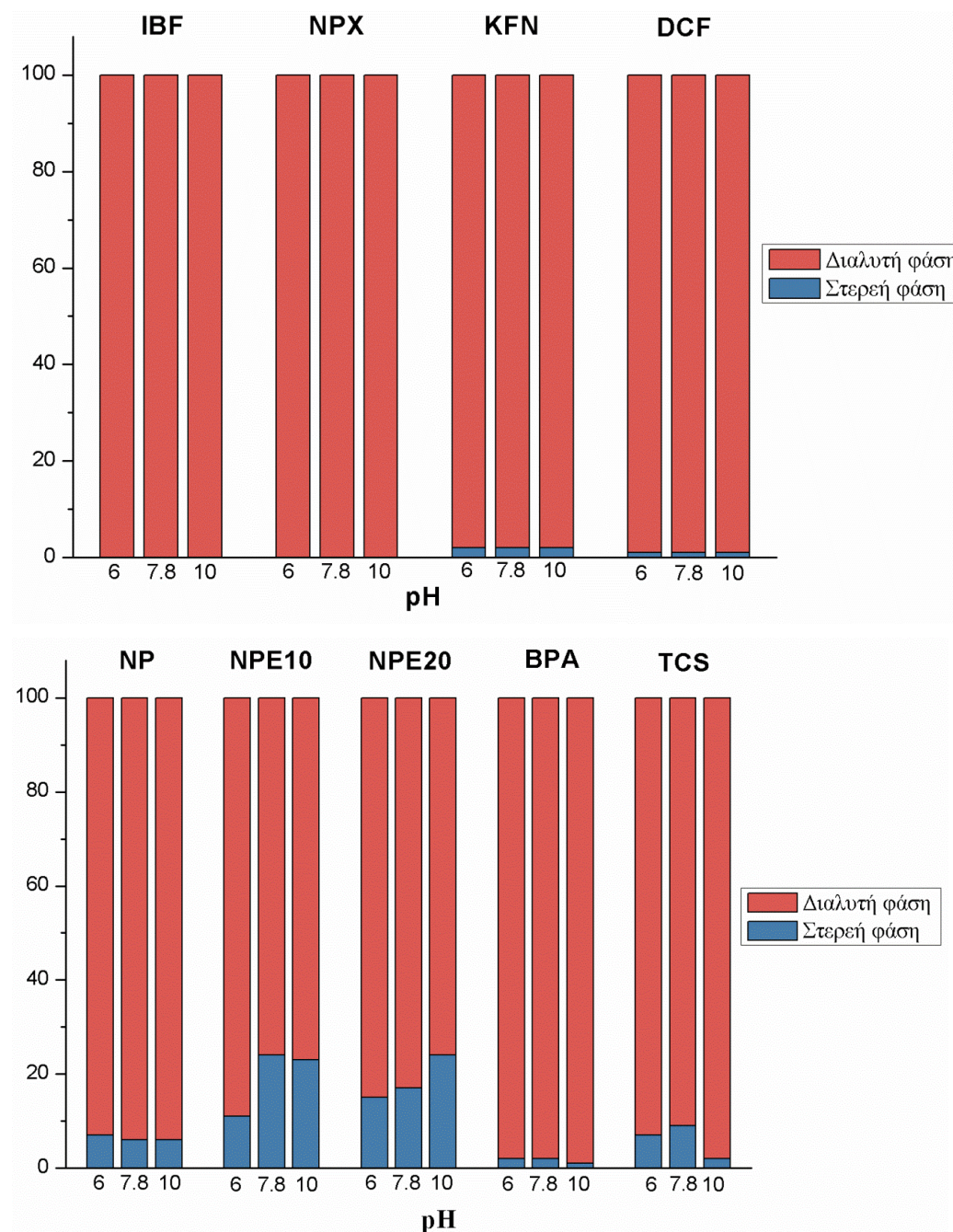


**Σχήμα 4.7:** Αέριος χρωματογράφος τύπου Agilent 7890A συζευγμένος με φασματογράφο μάζας Agilent 5975C

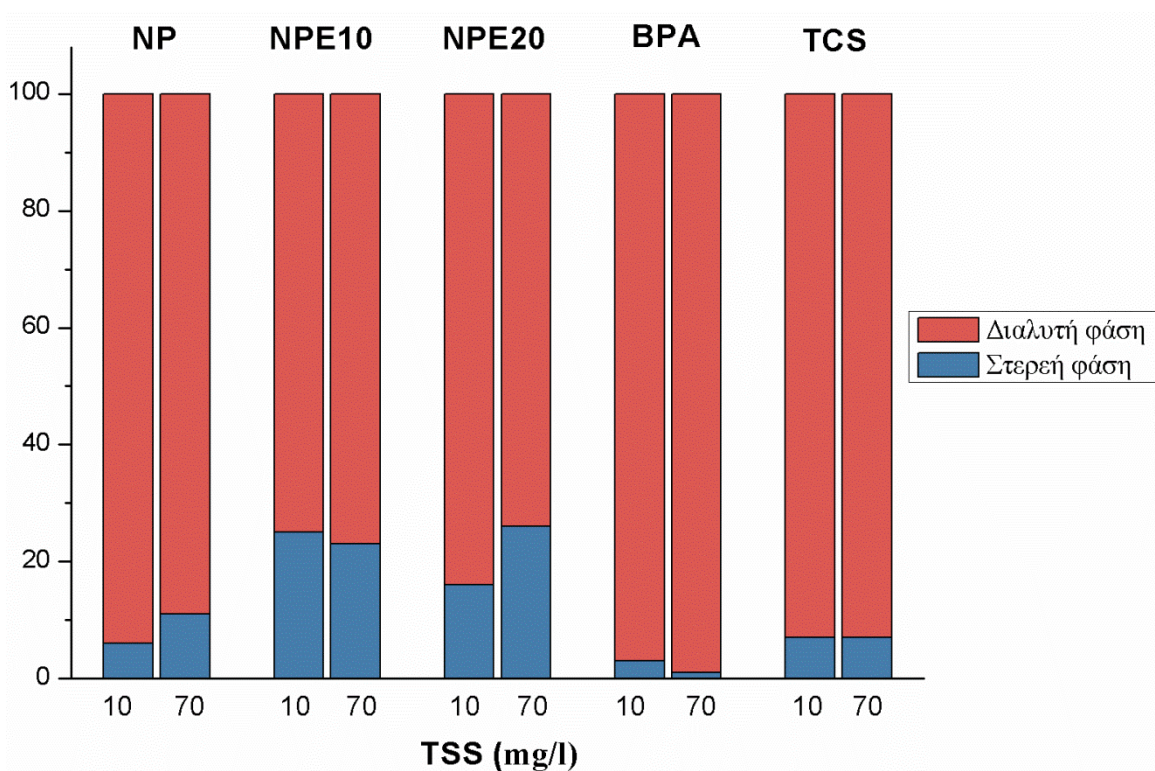
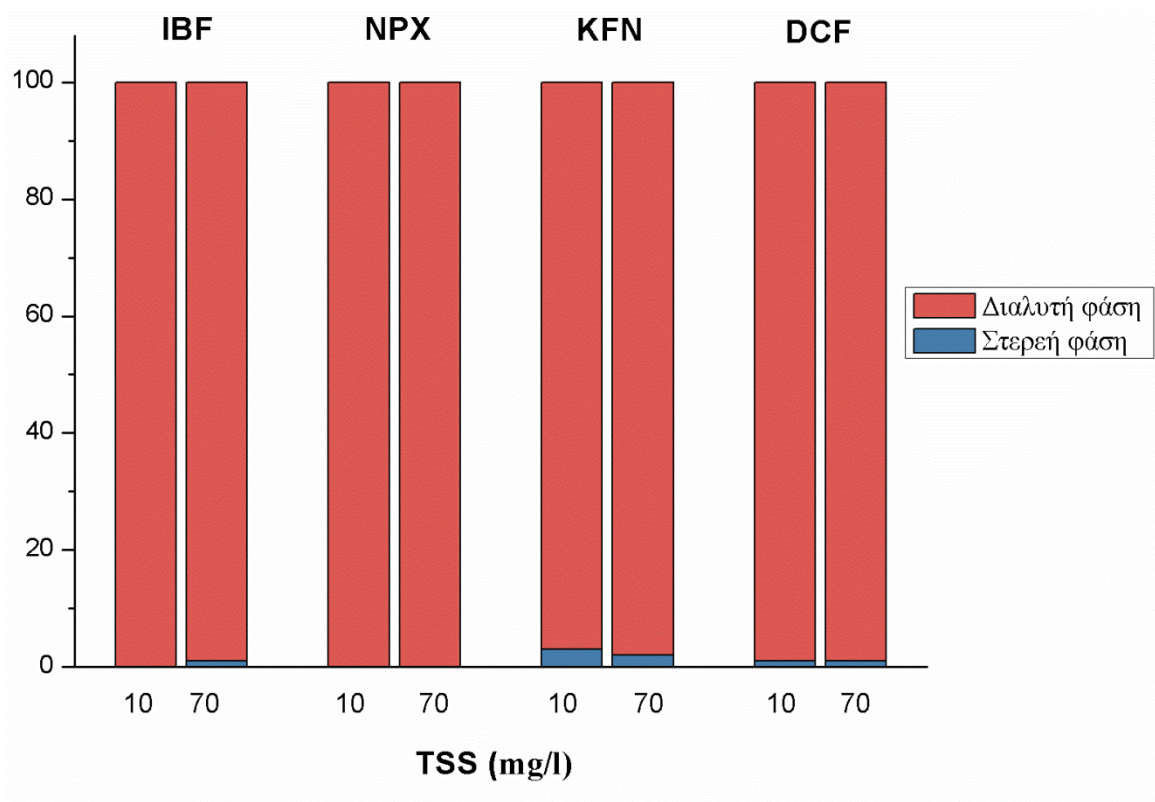
## Κεφάλαιο 5 Ανάλυση Αποτελεσμάτων

### 5.1 Κατανομή των υπό εξέταση ουσιών στην υγρή και στερεή φάση και συσχέτιση με τον συντελεστή οκτανόλης-υγρού

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων χλωρίωσης, θεωρήθηκε σκόπιμο να παρουσιαστούν οι κατανομές των ουσιών στην στερεή και στη διαλυτή φάση, σε δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα για διαφορετικά pH καθώς και για διαφορετική συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών.



Σχήμα 5.1: Κατανομή των υπό μελέτη ουσιών στη διαλυτή και στερεή φάση σε διαφορετικά pH



**Σχήμα 5.2:** Κατανομή των υπό μελέτη ουσιών στη διαλυτή και στερεή φάση σε διαφορετικά TSS

Επισημαίνεται ότι στα ανωτέρω δείγματα που εξετάστηκαν σε διαφορετικά pH (Σχήμα 5.1) η συγκέντρωση στερεών για όλα τα pH ήταν 10 mg/l.

Για τον υπολογισμό της απομάκρυνσης μιας ουσίας μέσω ρόφησης σε αιωρούμενα στερεά και στη



βιομάζα, έχει προταθεί ο συντελεστής διασποράς στερεού-νερού  $K_d$ , που ορίζεται ως ο λόγος μεταξύ της συγκέντρωσης ενός στερεού στην στερεή φάση ως προς συγκέντρωση στην υγρή φάση σε συνθήκες ισορροπίας. Αυτός ο συντελεστής συμπεριλαμβάνει δύο κυρίως μηχανισμούς της ρόφησης α) την απορρόφηση (υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις που χαρακτηρίζονται από την τιμή του  $K_{ow}$ ) και β) την προσρόφηση (ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που χαρακτηρίζονται από την σταθερά διάστασης,  $pK_a$ ). Για αυτό άλλωστε δεν παρατηρείται η ίδια προσρόφηση στα στερεά σε όλες τις τιμές του pH, καθώς οι ουσίες για τιμές  $pH > pK_a$  κυριαρχούν στην ιονισμένη τους μορφή και έτσι έχουν την τάση να διαλύονται περισσότερο.

Ο συντελεστής οκτανόλης νερού είναι ένας δείκτης, ο οποίος αναπαριστά το λόγο της διαλυτότητας μιας ουσίας στην οκτανόλη (έναν μη πολικός διαλύτης) προς τη διαλυτότητά της στο νερό (έναν πολικός διαλύτης). Όσο πιο μεγάλη είναι η τιμή αυτού του δείκτη, τόσο πιο μη πολική είναι η υπό εξέταση ουσία. Ο συντελεστής οκτανόλης - νερού γενικά αντιπροσωπεύει την τάση μιας οργανικής ουσίας να απορροφάται στο έδαφος. Συστατικά με υψηλή τιμή  $K_{ow}$  και κατ'επέκταση υψηλό  $\log K_{ow}$  δείχνουν μεγαλύτερη συνάφεια με το στερεό κλάσμα. Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζονται οι τιμές του  $\log K_{ow}$  για όλες τις υπό εξέταση ουσίες. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, μια ουσία θεωρείται υδροφοβική για τιμές  $\log K_{ow}$  από 4.5 και πάνω. Άρα σύμφωνα με τις τιμές  $\log K_{ow}$  φαίνεται ότι οι περισσότερες υπό εξέταση ουσίες έχουν μεγαλύτερη τάση να βρίσκονται στην διαλυτή φάση παρά στη στερεή.

**Πίνακας 5.1** Τιμές  $\log K_{ow}$  και  $pK_a$  των υπό εξέταση ουσιών

Φαρμακευτικές ουσίες		
Ουσία	$\log K_{ow}$	$pK_a$
IBF	3.72	4.91
NPX	3.22	4.15
KFN	3.12	4.45
DCF	4.5	4.15
Ενδοκρινικοί Διαταράκτες		
Ουσία	$\log K_{ow}$	$pK_a$
NP	4.48	10.28
NPE1O	4.17	
NPE2O	4.21	
BPA	3.4	9.59
TCS	5.4	7.9

Οι ουσίες, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Σχήματος 5.1 και 5.2 καθώς και με τις τιμές του  $\log K_{ow}$ , που προσροφούνται στην στερεή φάση είναι η NP, NPE1O, NPE2O και η TCS. Η TCS αν

και είχε την υψηλότερη τιμή  $\log K_{ow}$  δεν φαίνεται να προσροφάται περισσότερο από τις NP, NPE1O, NPE2O. Ιδιαίτερη εντύπωση δημιουργεί η πολύ μικρή κατανομή της DCF στη στερεή φάση, ιδιαίτερα αν ληφθεί υπόψη η υψηλή τιμή  $\log K_{ow}$  της ένωσης αυτής.

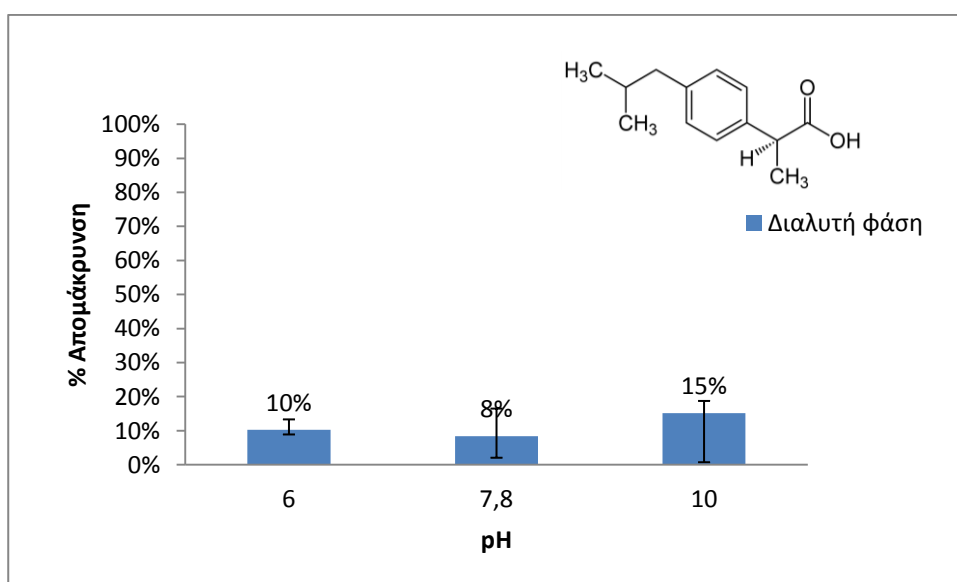
Ο Kanaras (2012) σε μελέτη που έκανε στην κατανομή των ίδιων ουσιών στην στερεή και διαλυτή φάση βρήκε μεγάλα ποσοστά προσρόφησης στην στερεή φάση για την NP, NPE1O, NPE2O, TCS και DCF. Πιο συγκεκριμένα τα ποσοστά που παρατήρησε ήταν 20%, 29%, 29%, 23% και 11% για τις NP, NPE1O, NPE2O, TCS και DCF αντίστοιχα. Στην παρούσα εργασία τα ποσοστά των ίδιων ουσιών, NP, NPE1O, NPE2O, TCS και DCF βρέθηκαν 11%, 23%, 26%, 7% και 1% αντίστοιχα.

## 5.2 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες σε διαφορετικά pH

Ο σκοπός των πειραμάτων είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά και απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση σε διαφορετικά pH. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τρεις διαφορετικές τιμές pH 6, 7.8 και 10. Στα δείγματα προστέθηκαν οι ουσίες σε συγκέντρωση 1000 ng/l και χλωρίνη εμπορίου αρχικής συγκέντρωσης 15 mg/Cl<sub>2</sub>. Το δείγμα αφήνονταν τόση ώρα έτσι ώστε να εξασφαλιστεί δόση κατά μέσο όρο 90 mg/l·min. Τα αποτελέσματα αυτής της σειράς πειραμάτων παρουσιάζονται στις επόμενες ενότητες για κάθε ένωση ξεχωριστά.

### 5.2.1 Ιβουπροφαίνη (IBF)

Η πρώτη ουσία που εξετάστηκε η επίδραση του χλωρίου σε διαφορετικά pH ήταν η IBF. Η σωματιδιακή απομάκρυνση δεν αποτυπώθηκε, καθώς η IBF ως αρκετά υδροφιλική ουσία, προσροφάται ελάχιστα στα στερεά. Έτσι, οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν ήταν σε επίπεδα ιχνών και η μικρή αύξηση ή μείωση μπορεί να οφείλεται σε σφάλμα



Σχήμα 5.3: Απομάκρυνση της ibuprofen στην διαλυτή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Από την Σχήμα 5.3 φαίνεται ότι τα ποσοστά (10%, 8%, 15%) και για τις τρεις διαφορετικές τιμές pH

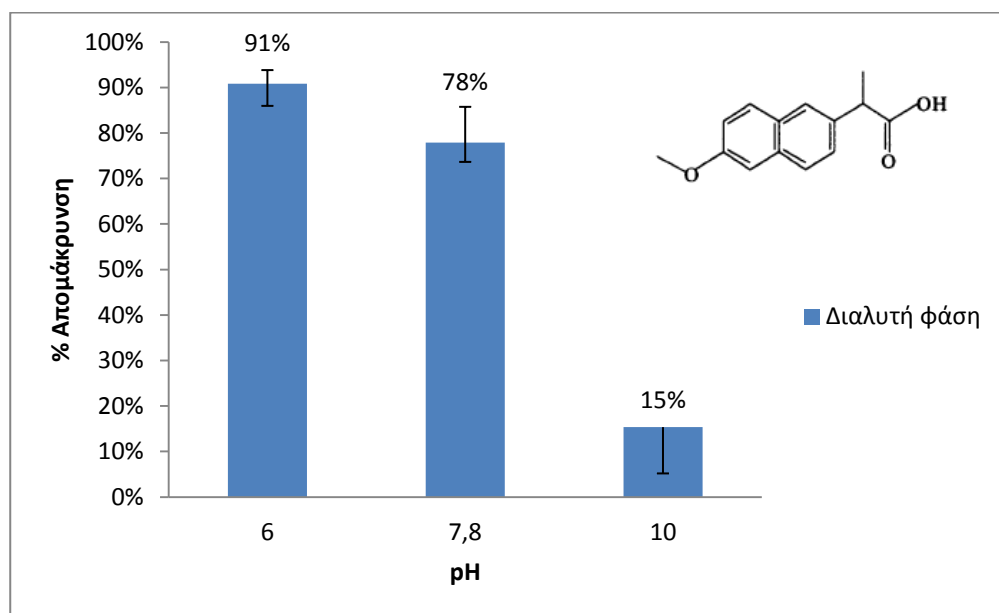
ήταν αρκετά χαμηλά και έτσι η απομάκρυνση της ουσίας δεν ήταν ικανοποιητική για καμιά τιμή του pH, για συγκεκριμένη αρχική δόση χλωρίου και ουσίας. Οι τιμές αυτές είναι σε συμφωνία με πειράματα που πραγματοποίησαν οι Quintana et al. (2010) για 24 ώρες, όπου για pH 7.1, συγκέντρωση χλωρίου 10 mg Cl<sub>2</sub>/l και συγκέντρωση ουσίας 1mg/l παρατήρησαν απομάκρυνση μικρότερη του 10%, αλλά και με πειράματα που πραγματοποίησαν οι Simizaki et al. (2008) σε υπερκάθαρο νερό με συγκέντρωση ουσίας 0.1 mg/l, συγκέντρωση χλωρίου 1 mg/l για pH 7.2 και συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου που κυμαινόταν από 0.64-0.86 mg/l·min, όπου μετά από 24 ώρες παρατηρήθηκε απομάκρυνση λιγότερο από 10%.

Αντιθέτως οι Westerhoff et al. (2005) παρατήρησαν απομάκρυνση που κυμαινόταν 30-80% για πειράματα χλωρίωσης 24 ωρών σε επιφανειακά νερά με συγκέντρωση χλωρίου 3.5-3.8mg/l. Οι μεγάλες αυτές απομακρύνσεις που παρατηρήθηκαν μπορεί να σχετίζονται με το γεγονός ότι αυτά τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε επιφανειακά νερά ποταμού και έτσι μπορεί να έγινε ρόφιση σε συγκεκριμένο υλικό ή βιοδιάσπαση από μικροοργανισμούς που αντέχουν στο χλώριο.

Μια πιθανή αιτία για την γενικά χαμηλή δραστηριότητα της IBF με το χλώριο είναι η δομή της ουσίας. Η IBF περιέχει μια καρβοξυλική ομάδα και υποκαταστάτες που την καθιστά λιγότερο ενεργή με το χλώριο σε σχέση με άλλες δομές μορίων.

### 5.2.2 Ναπροξένη (NPX)

Στη συνέχεια ακολουθεί το διάγραμμα απομάκρυνσης της NPX στην διαλυτή φάση σε τρία διαφορετικά pH με συγκέντρωση αρχικής ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l. Η NPX, όπως και η IBF, είναι επίσης μια υδροφιλική ουσία και έτσι δεν μπόρεσε να αποτυπωθεί η σωματιδιακή απομάκρυνση λόγω ευαισθησίας της μεθόδου μιας και οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν σε πολύ χαμηλές τιμές.



**Σχήμα 5.4:** Απομάκρυνση της naproxen στην διαλυτή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Σύμφωνα με το Σχήμα 5.4. παρατηρείται αρκετά ικανοποιητική απομάκρυνση της ουσίας για όξινες

συνθήκες pH 6 (91%), ελαφρά μείωση για pH 7.8 (78%) και χαμηλή απομάκρυνση της ουσίας για pH 10 (15%).

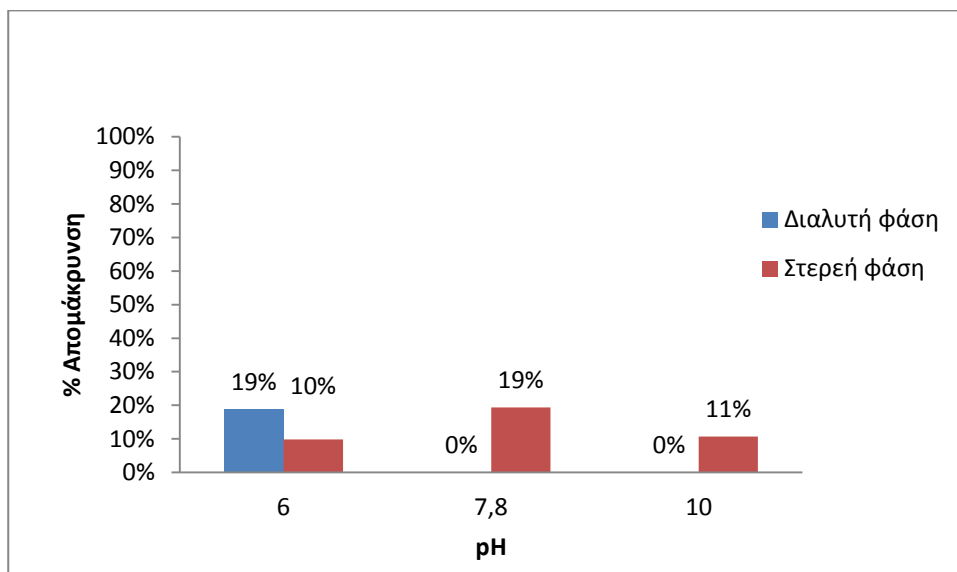
Οι τιμές απομάκρυνσεις που βρέθηκαν είναι σε συμφωνία με την βιβλιογραφία και με απομακρύνσεις που βρέθηκαν σε άλλες μελέτες. Οι Quintana et al. (2010) σε πειράματα που έκαναν για δόση χλωρίου 10 mg/l, συγκέντρωση ουσίας 50 µg/l και για διαφορετικά pH 5.7, 7, 8.3 βρήκαν αντίστοιχα τους εξής χρόνους υποδιπλασιασμού ( $t_{1/2}$ ) 13.1, 19.2, 117.2 min. Επίσης, οι Acero et al. (2010) σε πειράματα κινητικής που πραγματοποίησαν με συγκέντρωση ουσίας  $1 \cdot 10^{-5}$  M και συγκέντρωση χλωρίου  $10^{-6}$ - $7 \cdot 10^{-6}$  M, παρατήρησαν ότι η σταθερά ρυθμού της αντίδρασης μειώνεται καθώς αυξάνει το pH. Για pH 2-4 παρατηρείται ο μέγιστος ρυθμός αντίδρασης, ενώ αρχίζει και μειώνεται για τιμές pH 5-9.

Αντιθέτως, οι Boyd et al. (2005) σε πειράματα που έκαναν με αρχική δόση χλωρίου 50 mg/l  $\text{Cl}_2$ , συγκέντρωση ουσίας 10 mg/l για pH 5, 7 και 9 βρήκαν αντίστοιχα ποσοστά απομάκρυνσης 99.7, 99.2 και 99.2%. Άρα οι απομακρύνσεις που παρατήρησαν ήταν πολύ υψηλές ανεξαρτήτου pH, κάτι το οποίο μπορεί να οφείλεται στην πολύ υψηλή αρχική δόση χλωρίου και ουσίας. Έτσι, τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας που χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις ουσίας που προσομοιάζουν αυτές του περιβάλλοντος.

Συμπεραίνεται, ότι η τιμή του pH παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση της ουσίας. Αυτό οφείλεται σύμφωνα με τους Deborde and Gunten (2008) στην υψηλή δραστηριότητα του HOCl με την πρωτονιομένη μορφή της NPX. Η τιμή της pKa της NPX είναι 4.15, άρα για pH έως 4 επικρατεί η πρωτονιομένη μορφή της ουσίας, όπου σύμφωνα με την βιβλιογραφία παρατηρείται η μέγιστη απομάκρυνση της, και στη συνέχεια, όπου επικρατεί η ιονισμένη μορφή της ουσίας, η σταθερά αντίδρασης μειώνεται σταδιακά και για αλκαλικά pH παρατηρείται απότομη μείωση του ποσοστού απομάκρυνσης. Σύμφωνα με τους Pinkston and Sedlak (2004) η αποπρωτονίωση της καρβοξυλικής ομάδας της ουσίας αν και θα αναμενόταν να αυξάνει την δραστηριότητα της ουσίας, δεν συμβαίνει καθώς έχει μικρή επίδραση στην ηλεκτρονιακή πυκνότητα του αρωματικού δακτυλίου λόγω απόστασης από τον δακτύλιο. Ο λόγος που παρατηρείται μειωμένη απομάκρυνση για αλκαλικά pH, είναι ότι για pH μεγαλύτερο του 7.5, στο διάλυμα υπερισχύει το  $\text{ClO}^-$  καθώς και η ανιονική μορφή της ουσίας. Εκτός ότι το  $\text{ClO}^-$  είναι λιγότερο δραστικό από το HOCl, η αντίδραση μεταξύ δυο ανιονικών μορφών είναι λιγότερο αποτελεσματική.

### 5.2.3 Κετοπροφαίνη (KFN)

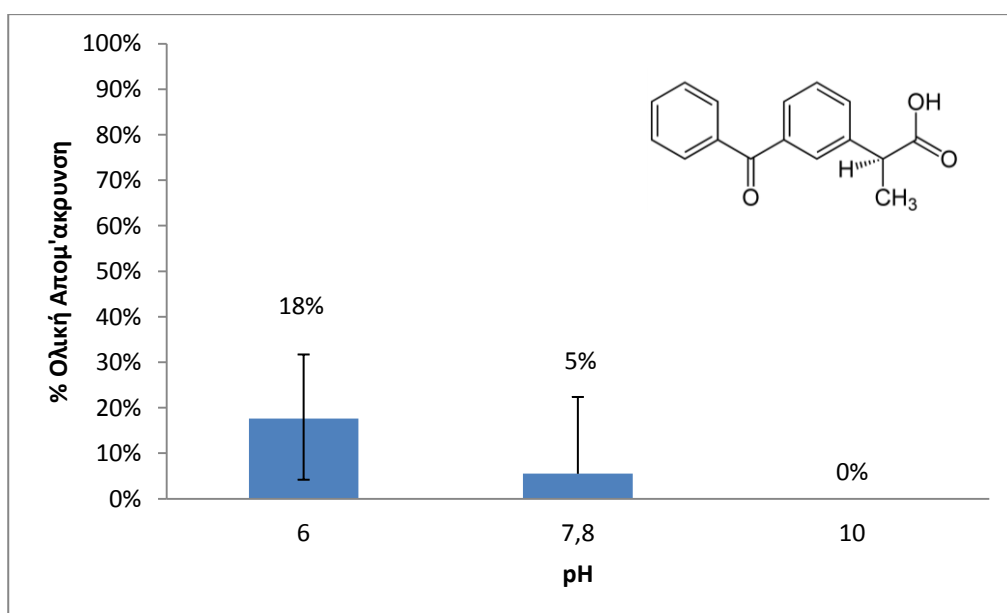
Μια άλλη ουσία που μελετήθηκε η συμπεριφορά της σε επαφή με το χλώριο είναι η KFN σε τρία διαφορετικά pH με συγκέντρωση αρχικής ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l.



**Σχήμα 5.5:** Απομάκρυνση της ketoprofen στην διαλυτή και στην στερεή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Από το Σχήμα 5.5 παρατηρείται μια μικρή απομάκρυνση για όξινες συνθήκες (pH 6) στη διαλυτή φάση και μηδενική απομάκρυνση για pH 7.8 και 10.

Η τιμή του logKow της KFN είναι ίση με 3.12, κάτι το οποίο υποδεικνύει την υδροφιλικότητα της ουσίας της και την τάση της να παραμένει στην διαλυτή φάση. Παρόλο που βρέθηκε ότι η προσρόφηση στα στερεά ήταν περίπου 2% για όλες τις τιμές του pH (Σχήμα 5.1), ωστόσο σημειώθηκε κάποια απομάκρυνση στη στερεή φάση που έφτασε και το 19% για pH 7.8. Παρόλα αυτά επειδή οι απομακρύνσεις είναι σχετικά χαμηλές και οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν ήταν σε επίπεδα ιχνών, η μικρή αύξηση η μείωση μπορεί να οφείλεται σε αναλυτικό σφάλμα και συνεπώς οποιοδήποτε συμπέρασμα καθίσταται επισφαλές.



**Σχήμα 5.6:** Ολική απομάκρυνση της ketoprofen για διαφορετικές τιμές pH

Παρατηρώντας την ολική απομάκρυνση της ουσίας, συμπεραίνεται ότι η απομάκρυνση της είναι ελάχιστη για όξινα και ουδέτερα pH έως και μηδενική για pH 10. Ωστόσο πετυχαίνεται λίγο υψηλότερη απομάκρυνση σε όξινο pH καθώς η KFN είναι όξινη ουσία και έτσι είναι πιο δραστική σε χαμηλότερα pH (Pinkston and Sedlak, 2004).

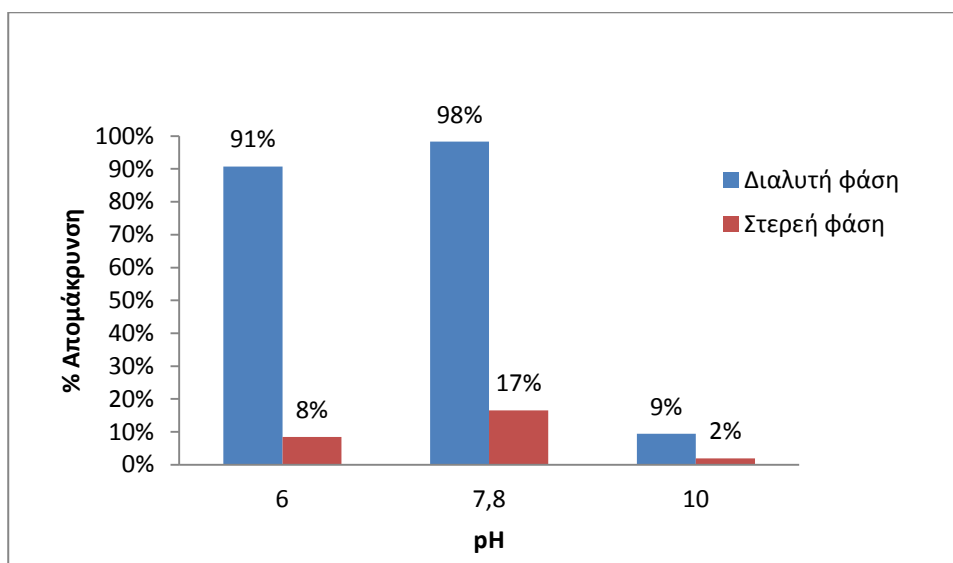
Οι Simizaki et al. (2008) σε πειράματα που πραγματοποίησαν σε υπερκάθαρο νερό με συγκέντρωση KFN 0.1 mg/l, συγκέντρωση χλωρίου 1 mg/l για pH 7.2 και συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου που κυμαινόταν από 0.64-0.86 mg/l, αναφέρουν απομάκρυνση της KFN 10% για 24ωρη αντίδραση.

Οι Nakada et al. (2005) επίσης μέτρησαν την συγκέντρωση της ουσίας σε εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων, η οποία χρησιμοποιεί χλώριο ως απολυμαντικό παράγοντα, πριν και μετά την δεξαμενή χλωρίωσης και δεν παρατήρησαν απομάκρυνση.

Σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές (Pinkston and Sedlak, 2004; Westerhoff et al., 2005), η KFN, όπως και η IBF, ανήκουν στην κατηγορία των όξινων φαρμακευτικών ουσιών, οι οποίες παρουσιάζουν χαμηλή δραστικότητα σε σχέση με το χλώριο. Αν και λόγω της αρωματικής τους δομής θα αναμενόταν υψηλότερη δραστικότητα με το χλώριο, παρόλα αυτά δεν προκαλεί εντύπωση η μικρή απομάκρυνσή της (Deborde and Gunten, 2008). Αυτό οφείλεται στους ασθενείς υποκαταστάτες δότες e- που περιέχουν (αλκύλια  $C_nH_{2n+1}$  και COOH) και δυσχεραίνουν την ηλεκτρονιόφιλη «επίθεση» του χλωρίου.

#### 5.2.4 Δικλοφαινάκη (DCF)

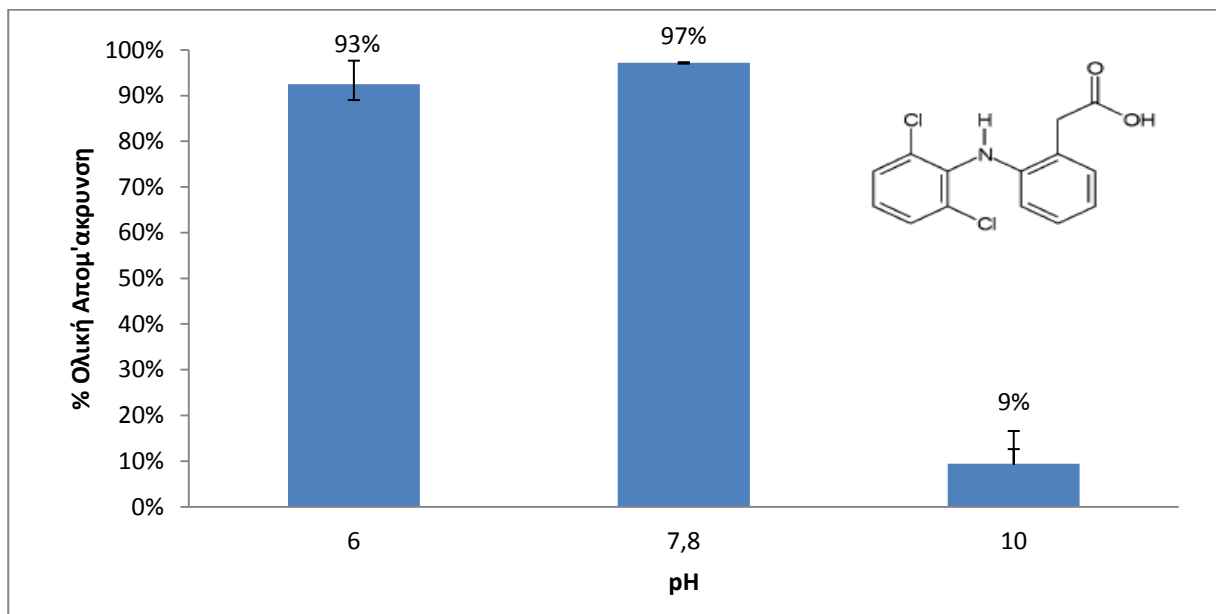
Η επόμενη ουσία που μελετήθηκε ήταν η DCF. Η αρχική δόση χλωρίου ήταν 15 mg/l και η δόση της ουσίας 1000 ng/l.



Σχήμα 5.7: Απομάκρυνση της diclofenac στην διαλυτή και στην στερεή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Παρατηρείται πολύ ικανοποιητική απομάκρυνση της ουσίας για pH 6 και 7.8 (>90%) ενώ για pH 10 φαίνεται μια πολύ απότομη μείωση της απομάκρυνσης της ουσίας στην διαλυτή φάση. Η DCF αν και έχει υψηλή τιμή logKow (4.51) και αναμένεται να έχει ισχυρή προσρόφηση στα στερεά, παρόλα

αυτά για  $pH > pka$  δηλαδή για  $pH > 4.15$  όπου η ουσία βρίσκεται σε ιονισμένη μορφή η τιμή του  $\log K_{ow}$  μειώνεται με συνέπεια η διαλυτότητα της ουσίας να αυξάνεται. Αυτή είναι μια πιθανή εξήγηση γιατί σύμφωνα με το Σχήμα 5.1 η προσρόφηση στα στερεά ήταν ελάχιστη, περίπου 1-2% για όλα τα pH που εξετάστηκαν. Εξαιτίας της χαμηλής περιεκτικότητας των στερεών σε DCF δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την απομάκρυνση της ουσίας στην στερεή φάση.



**Σχήμα 5.8** Ολική απομάκρυνση της diclofenac για διαφορετικές τιμές pH

Η συνολική απομάκρυνση της DCF για pH 6, 7 κυμάνθηκε σε υψηλά επίπεδα (93% και 97%) ενώ για pH 10 παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση της απομάκρυνσης (9%). Η υψηλή απομάκρυνση της DCF που παρατηρήθηκε στην ουσία για τα πιο χαμηλά pH είναι σε συμφωνία με τις απομακρύνσεις που έχουν παρατηρηθεί στην βιβλιογραφία. Σε πείραμα που έκαναν οι Simizaki et al. (2008) σε υπερκάθαρο νερό για pH 7.2, συγκέντρωση ουσίας 0.1 mg/l και συγκέντρωση χλωρίου 1mg/l και συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου 0.64-0.86 mg/l παρατήρησαν απομάκρυνση μεγαλύτερη του 80%. Οι Quintana et al. (2010) για δόση χλωρίου 10 mg/l, δόση ουσίας 50 μg/l και για διαφορετικά pH 5.7, 7, 8.3 παρατήρησαν ότι ο χρόνος υποδιπλασιασμού αυξήθηκε 8.1, 16.9, 23.8 αντίστοιχα. Οι Sufan et al. (2012) σε συνθήκες ψευδο-πρώτης τάξης ( $[HOCl]_T > 10[DCF]_T$ ) βρέθηκε ότι για pH 4.97 και 6.93 η απομάκρυνση ήταν πάνω από 90% ενώ για pH 9.17 αν και η συγκέντρωση χλωρίου ήταν 10πλάσια από ότι χρησιμοποιήθηκε στα προηγούμενα πειράματα (2272 μM) η απομάκρυνση έφτασε το 40%. Στην παρούσα εργασία επίσης παρατηρήθηκε απότομη πτώση της απομάκρυνσης για pH 10, αν και αρκετά μικρότερη από ότι του Sufan et al. (2012) λόγω της πολύ μικρότερης δόσης χλωρίου που χρησιμοποιήθηκε.

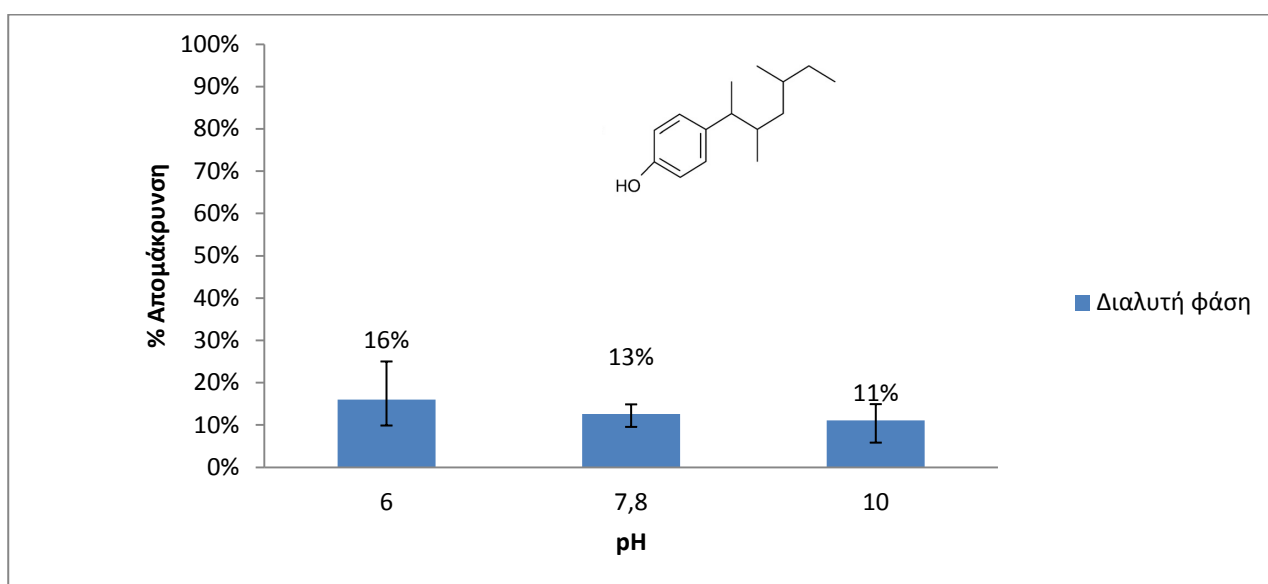
Η DCF αν και ανήκει στην κατηγορία των όξινων φαρμακευτικών ουσιών, όπως η KFN και η IBF, έχει πολύ μεγαλύτερη δραστηριότητα με το χλώριο καθώς είναι δευτεροταγής αμίνη. Αυτό το οφείλει στη δομή της και στην αμινοομάδα που περιέχει (NH). Σύμφωνα με τους Deborde και Gunten (2008) οι αμινοομάδες είναι πολύ πιο δραστικές με το χλώριο από ότι οι φαινόλες. Επίσης σύμφωνα με τους Pinkston and Sedlak (2004), ο ρυθμός αντίδρασης των αμινομάδων αυξάνεται όταν μειώνεται το pH και σύμφωνα με τους Wasterhoff et al. (2005) οι αποπρωτονιωμένες ομάδες έχουν σταθερές ρυθμού

δευτέρας τάξης και είναι αρκετές τάξεις μεγαλύτερες από αυτές των πρωτονιομένων μορφών.

Λαμβάνοντας υπόψη την ηλεκτρονιόφιλη επίθεση του χλωρίου που παρατηρείται συνήθως στα οργανικά συστατικά σύμφωνα με τους Deborde και Gunten (2008), οι ιονισμένες καρβοξυλικές ομάδες είναι πιο ισχυροί δότες ηλεκτρονίων από ότι το καρβοξυλικό οξύ και έτσι η DCF θα είναι πιο δραστική για  $\text{pH} > \text{pK}_a$  δηλαδή για  $\text{pH} > 4.14$  όπου η ουσία αρχίζει να επικρατεί στην ιονισμένη της μορφή. Ωστόσο, παρατηρείται μια μείωση στην απομάκρυνση της ουσίας για  $\text{pH} > 7.8$  όπου μελετήσαμε. Αυτό πολύ πιθανόν να οφείλεται στην αποπροτονίωση του HOCl για να σχηματίσει  $\text{ClO}^-$  σε  $\text{pH} > 7.5$ , του οποίου η δραστικότητα είναι αμελητέα.

### 5.2.5 Εννεϋλοφαινόλη (NP)

Άλλη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της σε τρία διαφορετικά pH ήταν η NP. Η συγκέντρωση της ήταν 1000 ng/l και η αρχική δόση χλωρίου 15mg/l.



Σχήμα 5.9: Απομάκρυνση της nonylphenol στην διαλυτή για διαφορετικές τιμές pH

Στο Σχήμα 5.9 φαίνεται ότι η απομάκρυνση της ουσίας δεν είναι ικανοποιητική για καμία τιμή του pH καθώς και ότι παρατηρείται μια ελαφρά μείωση της απομάκρυνσης καθώς το pH μεγαλώνει. Αυτές οι τιμές δεν είναι αναμενόμενες σύμφωνα με τη βιβλιογραφία καθώς αναμένονται υψηλότερες απομακρύνσεις (μεσαία δραστικότητα) λόγω της φαινολικής δομής της NP. Η προσρόφηση που παρατηρήθηκε ήταν γύρω στο 7% ανεξαρτήτου pH (Σχήμα 5.1).

Οι Deborde και Gunten σε διάγραμμα σχετικό με την δραστικότητα του χλωρίου με την NP παρουσιάζουν ότι η μέγιστη δραστικότητα της ουσίας με το χλώριο είναι για pH από 8-11. Σε συγκριτικό διάγραμμα με άλλες ουσίες (bisphenol, triclosan) φαινόταν η χαμηλότερη δραστικότητα της NP με το χλώριο.

Οι Thurman et al. (2006) σε πειράματα που έκαναν για συγκέντρωση ουσίας σε υπερκάθαρο νερό με συγκέντρωση ουσίας 0.1 mg/l και συγκέντρωση NaOCl 10 mg/l βρέθηκε απομάκρυνση 30%. Οι Chen et al. (2003) στην προσπάθειά τους να προσομοιώσουν την διαδικασία της χλωρίωσης για

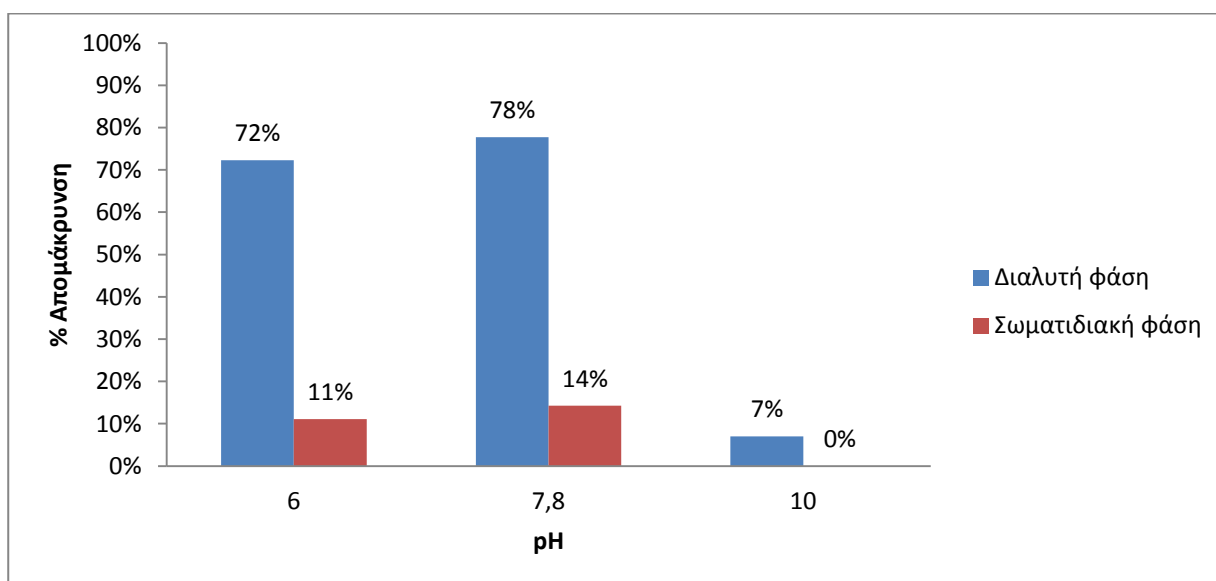


εγκατάσταση επεξεργασίας πόσιμου νερού χρησιμοποίησαν αρχική συγκέντρωση NP 1000 ng/l και 5000ng/l και δόση χλωρίου 1 mg/l σε υπερκάθαρο νερό. Μετά από 6 λεπτά παρατηρήθηκε 43% και 64 % απομάκρυνση αντίστοιχα. Το pH κυμαινόταν από 6.5-8.9. Αντιθέτως οι Choi et al. (2006), όπου μελέτησαν την επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση της NP σε ανεπεξέργαστο νερό παρατήρησαν πλήρη απομάκρυνση της ουσίας. Η συγκέντρωση της ουσίας ήταν 500 ng/l και η δόση χλωρίου 5 mg/l. Για pH 8.2-8.5 και συγκέντρωση ολικού οργανικού άνθρακα 2.5-3.1 mg/l παρατηρήθηκε 100% απομάκρυνση. Πολύ υψηλή απομάκρυνση παρατήρησαν και οι Xu et al. (2002) όπου σε πειράματα που πραγματοποίησαν με 2 mg/l ουσίας, pH 7, συγκέντρωση χλωρίου 1.3 mg/l, απομάκρυναν δείγματα σε 10, 20, 120, 180, 240 και 600 λεπτά. Στα 10 πρώτα λεπτά της αντίδρασης έχει εξαφανιστεί το 84% της NP.

Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα καθώς επικρατούν διαφορετικές συνθήκες πειράματος.

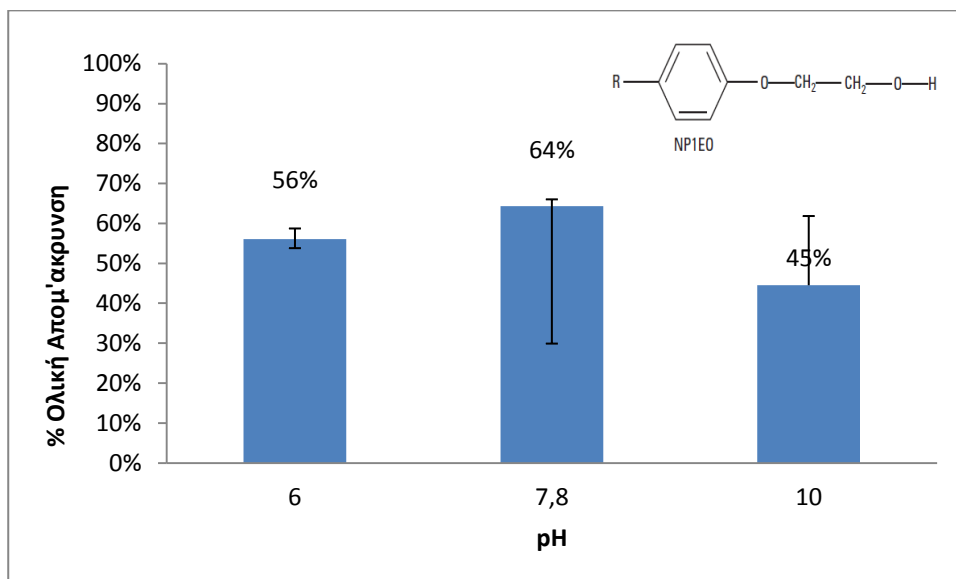
### 5.2.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10)

Μελετήθηκε επίσης η NP1EO και η επίδραση που έχει η χλωρίωση στην απομάκρυνση της ουσία με αρχική συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση 15 mg/l.



**Σχήμα 5.10:** Απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate στην διαλυτή και στη σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Παρατηρείται ότι στην διαλυτή φάση η απομάκρυνση είναι αρκετά υψηλή (72% και 78%) για pH 6 και 7.8 ενώ για pH 10 μειώνεται απότομα στο 7%. Αυτό είναι πολύ πιθανόν να συμβαίνει λόγω στο ότι σε αλκαλικά pH επικρατεί το  $\text{ClO}^-$  του οποίου η δραστηριότητα είναι πολύ μικρότερη από το  $\text{HOCl}$  που επικρατεί για χαμηλότερα pH. Στη σωματιδιακή φάση οι απομακρύνσεις που ανιχνεύτηκαν είναι αρκετά μικρές για pH 6 και 7.8 και μηδενική για pH 10. Η NP1EO είναι μια ουσία με υψηλό  $\log K_{ow}$  4.17 σε σχέση με τις άλλες ουσίες που μελετήθηκαν. Οι τιμές προσρόφησης που βρεθήκαν σε αυτή την εργασία ήταν 11%, 24% και 23% για pH 6, 7.8 και 10 αντίστοιχα (Σχήμα 5.1). Παρόλη την υψηλή προσρόφησης ειδικά για pH 7.8 και 10, η απομάκρυνση ήταν 14% και μηδενική αντίστοιχα.



**Σχήμα 5.11:** Ολική απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate για διαφορετικές τιμές pH

Η ολική απομάκρυνση της NPE1O ήταν κανονική προς υψηλή για όλο το εύρος των τιμών του pH. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε απομάκρυνση 56%, 64% και 45% για pH 6,7.8 και 10 αντίστοιχα.

Οι απομακρύνσεις της NPE1O που καταγράφηκαν ήταν γενικά υψηλότερες από τις αναμενόμενες καθώς θα αναμενόταν χαμηλότερη απομάκρυνση της NPE1O από την NP λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης της αιθοξυλιομάδας.

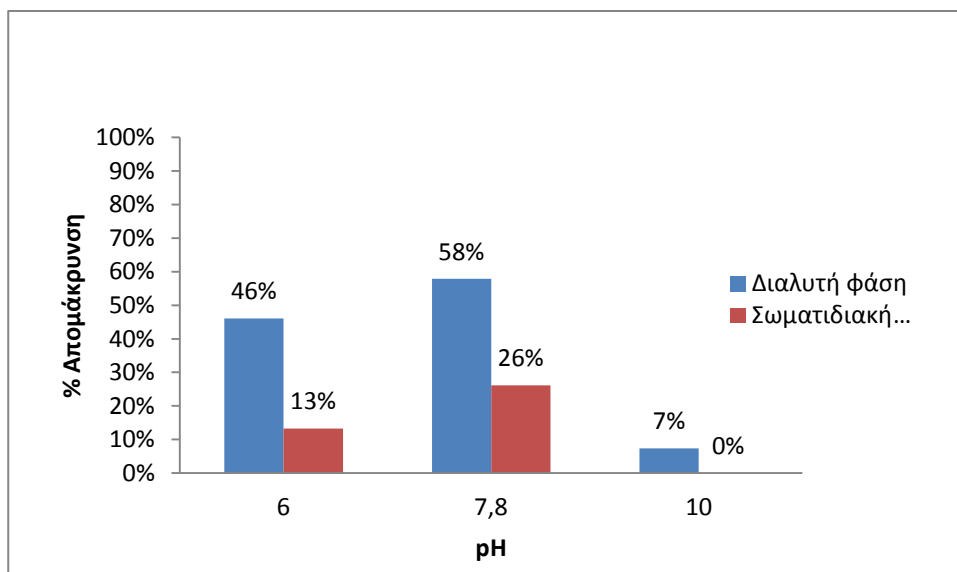
Οι Thurman et al (2006) μελέτησαν την επίδραση του χλωρίου στην NP1EO και βρήκαν ότι για συγκέντρωση ουσίας 100 ng/ml, για pH 7.5 και για συγκέντρωση NaOCl 1, 10, 100 mg/l, δεν παρατηρήθηκε καμία μείωση ακόμα και μετά από μια βδομάδα. Στο ίδιο αποτέλεσμα κατέληξαν και οι Lenz et al. (2004) όπου χρησιμοποίησαν 0.5 mg/l NaOCl και συγκέντρωση NPEnOs και παρατήρησαν οριακή μείωση της ουσίας. Αντίθετα χρησιμοποιώντας ClO<sub>2</sub>, ως οξειδωτικό παράγοντα, παρατήρησαν μειώσεις πάνω από 90%. Αυτό οφείλεται στο ότι το ClO<sub>2</sub> είναι ένα αρκετά ισχυρό οξειδωτικό.

Οι Maki et al. (1998) σε πειράματα που πραγματοποίησαν παρατήρησαν μεγάλες απομακρύνσεις των NPnEOs (>90%) για συγκεντρώσεις ουσίας 50μg/l, pH 7 και συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου 1mg/l μετά από 24 ώρες. Έτσι η μεγάλη απομάκρυνση μπορεί να οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση χλωρίου, έτσι ώστε μετά από 24 ώρες η συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου να είναι 1mg/l. Επίσης παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση των NPnEOs αρχίζει και μειώνεται για pH>7, κάτι το οποίο είναι σε συμφωνία με τα πειράματα της παρούσας εργασίας.

Την χαμηλή δραστηριότητα του χλωρίου με την NP1EO που παρατηρήθηκε στα πειράματα των Thurman et al (2006) και Lenz et al. (2004) δυο πιθανές εξηγήσεις μπορούν να την ερμηνεύσουν. Πρώτον, είναι πολύ λιγότερη η δραστηριότητα στις όρθο θέσεις από τις αιθοξύ ομάδες και δεύτερον υπάρχει αρκετή στερεοχημική παρεμπόδιση από τις αιθοξύ ομάδες σε σχέση με το ομάδα υδροξυλίου του 4-NP. Μοντέλα τριών διαστάσεων του 4-NP, 4NPEO και 4NPEC έδειξαν ότι η περιστροφή γύρω από τον δεσμό του άνθρακα-οξυγόνου δημιουργεί μια μεγάλη ζώνη παρεμπόδισης που εμποδίζει την επίθεση του HOCl για την ηλεκτροφιλική υποκατάσταση του Cl.

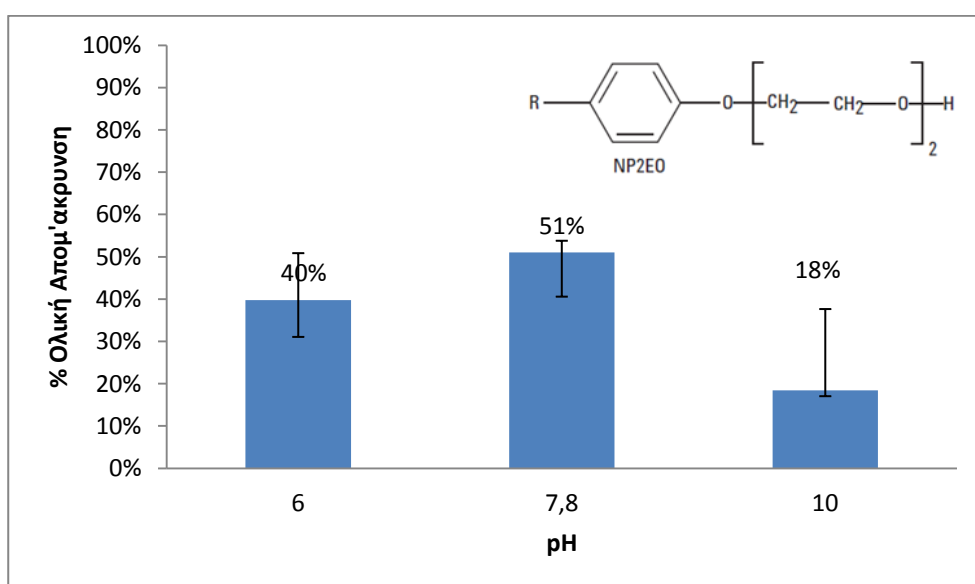
### 5.2.7 Διαιθοξυλιωμένη εννεϋλοφαινόλη (NP2EO)

Έπειτα μελετήθηκε η NP2EO και η επίδραση που έχει η χλωρίωση στην απομάκρυνση της ουσίας με αρχική συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση 15 mg/l.



**Σχήμα 5.12:** Απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate στην διαλυτή και στην στερεή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Παρατηρείται ότι στην διαλυτή φάση η απομάκρυνση είναι σε μέτρια επίπεδα (46% και 58%) για pH 6 και 7.8 ενώ για pH 10 μειώνεται απότομα στο 7%. Ως αναφορά τη σωματιδιακή φάση η ουσία είναι υδρόφοβη σαν την NP1EO με προσρόφηση στα στερεά 15, 17 και 24% για pH 6, 7.8 και 10. Ωστόσο δεν παρατηρείται ικανοποιητική απομάκρυνση για καμία τιμή του pH. Η μεγαλύτερη απομάκρυνση παρατηρείται για pH 7.8 όπως η NP1EO.



**Σχήμα 5.13:** Ολική απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate για διαφορετικές τιμές pH

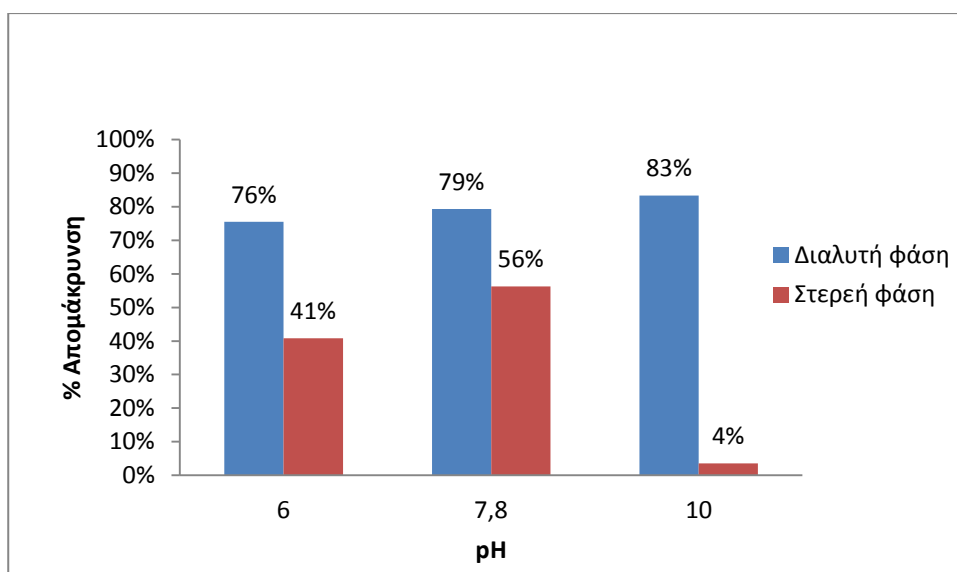
Η ολική απομάκρυνση της NP2EO είναι μεσαία για pH 6 και 7.8 και χαμηλή για pH 10. Παρατηρείται ότι η απομάκρυνση της NP2EO είναι μικρότερη από την NPE1O. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην δομή της ουσίας και στο παραπάνω αιθοξυλιωμένο τμήμα που διαθέτει, το οποίο μπορεί να δημιουργεί μια ζώνη παρεμπόδισης που εμποδίζει την επίθεση του HOCl για την ηλεκτροφιλική υποκατάσταση του Cl.

Οι Maki et al. (1998) παρατήρησαν μεγάλες απομακρύνσεις των NPnEOs (>90%) για συγκεντρώσεις ουσίας 50μg/l, pH 7 και συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου 1mg/l μετά από 24 ώρες. Έτσι η μεγάλη απομάκρυνση μπορεί να οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση χλωρίου, έτσι ώστε μετά από 24 ώρες η συγκέντρωση του υπολειμματικού χλωρίου να είναι 1mg/l. Επίσης παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση των NPnEOs αρχίζει και μειώνεται για pH>7, κάτι το οποίο είναι σε συμφωνία με τα πειράματα της παρούσας εργασίας.

Αντίθετα, οι Lenz et al. (2004) όπου χρησιμοποίησαν 0.5 mg/l NaOCl και συγκέντρωση NPEnOs 500-3000000 ng/l παρατήρησαν οριακή μείωση της ουσίας.

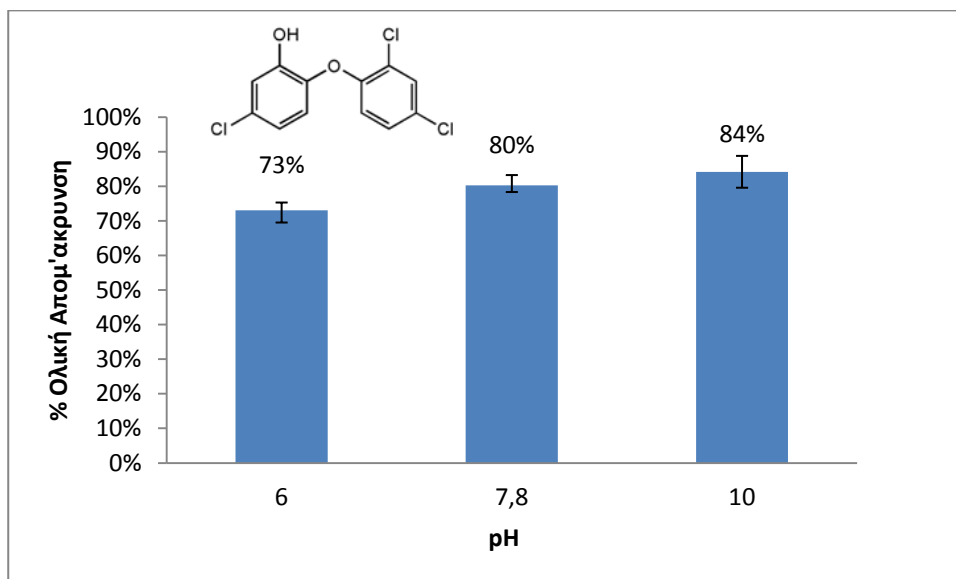
### 5.2.8 Τρικλοζάνη (TCS)

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση του χλωρίου στην TCS σε διαφορετικές τιμές pH με αρχική συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση 15 mg/l.



**Σχήμα 5.14:** Απομάκρυνση της triclosan στην διαλυτή και στην στερεή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Οι τιμές απομάκρυνσης που παρατηρήθηκαν ήταν αρκετά ικανοποιητικές στην διαλυτή φάση για όλες τις τιμές του pH, 76%, 79% και 83% για pH 6, 7.8 και 10 αντίστοιχα. Στην σωματιδιακή φάση παρατηρείται υψηλή απομάκρυνση για pH 6 και 7.8 και μια απότομη μείωση της απομάκρυνσης για pH 10. Η TCS αν και πρόκειται για μια υδροφοβική ουσία ( $\log K_{ow}=5.4$ ), ωστόσο στην παρούσα εργασία βρέθηκε ότι η προσρόφηση ήταν 7%, 9% και 2% για pH 6.7.8 10 αντίστοιχα (Σχήμα 5.1).



**Σχήμα 5.15:** Ολική απομάκρυνση της triclosan για διαφορετικές τιμές pH

Από το Σχήμα 5.15, παρατηρείται μια αύξηση της απομάκρυνσης καθώς αυξάνεται το pH από 6 σε 7.8 και στη συνέχεια σε pH 10. Σύμφωνα με τους Deborde και Gunten (2008), θα αναμενόταν μια μείωση της απομάκρυνσης για pH>9. Και αυτό γιατί για τις φαινόλες, η δραστηριότητα του OCl<sup>-</sup> που υπερισχύει για pH 10 είναι τυπικά αμελητέα σε σχέση με το HOCl.

Επίσης οι Canosa et al. (2005) βρήκαν ότι για αρχική συγκέντρωση TCS 50 ng/l και συγκέντρωση χλωρίου 1mg/l για pH 7.3 και 8.3 παρατηρήθηκε απομάκρυνση 100% ενώ για pH 6.3 και 9 παρατηρήθηκε απομάκρυνση 60% και 10% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα των Canosa et al (2005) για pH 9 όπου παρατήρησε απομάκρυνση 10% είναι σύμφωνα με την παρατήρηση του Deborde von Gunten για την δραστηριότητα της ουσίας για pH>9.

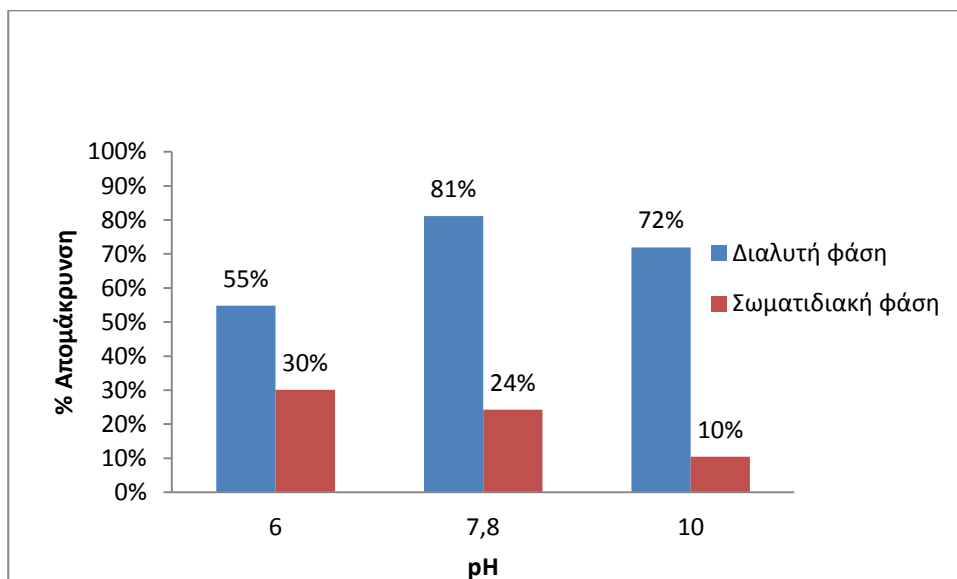
Οι Rule et al. (2005) επίσης βρήκαν ότι το χλώριο αντιδρά με την TCS με μεγαλύτερη απόδοση για pH 7-9. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν κυμαίνονταν από 0,92-1,77mg/l και 0.77-8mg/l για το χλώριο και την TCS αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα των Rule et al. (2005) και των Canosa et al. (2005) είναι σύμφωνα με τις παρατηρήσεις του Deborde και Gunten (2008) ότι η μέγιστη δραστηριότητα της ουσίας με το χλώριο είναι για pH 7-9. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι τα φαινολικά συστατικά, όπως η TCS, είναι πιο δραστικά στην αποπρωτονίωσή τους. Αυτό συμβαίνει γιατί το O<sup>-</sup> ενεργοποιεί περισσότερο τον αρωματικό δακτύλιο σε αντιδράσεις υποκατάστασης από ότι το OH. Έτσι για pH>pKa, δηλαδή για pH>7.9, η TCS αναμένεται να υπερισχύει στην ιοντική της μορφή και έτσι να είναι πιο δραστική.

Στην παρούσα Εργασία φάνηκε ότι για όλες τις τιμές του pH, η δραστηριότητα της ουσίας με το χλώριο ήταν πολύ υψηλή.

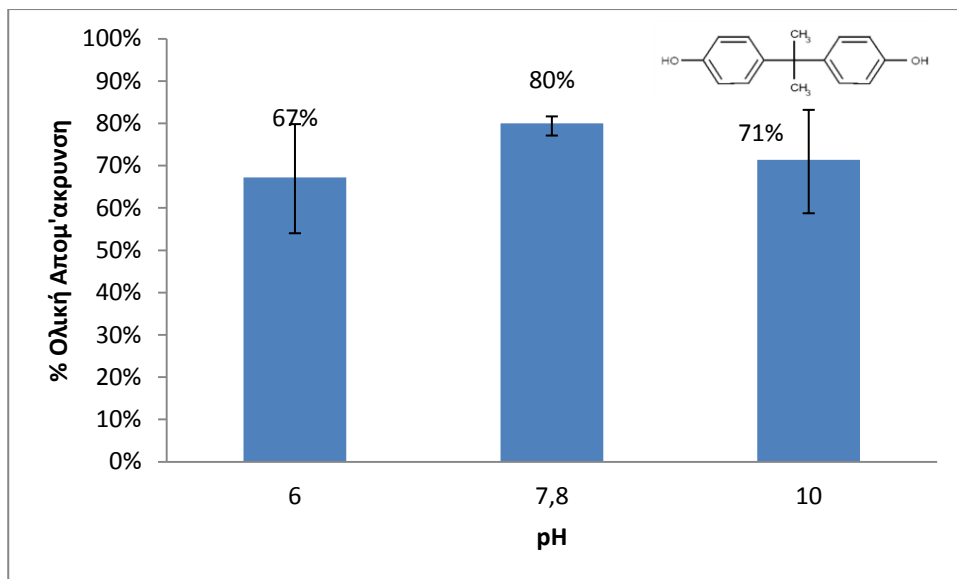
### 5.2.9 Βισφαινόλη (BPA)

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση του χλωρίου στην BPA σε διαφορετικές τιμές pH με αρχική συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση 15 mg/l.



**Σχήμα 5.16:** Απομάκρυνση της bisphenol στην διαλυτή φάση για διαφορετικές τιμές pH

Η BPA είναι ουσία με χαμηλή τιμή  $\log K_{ow}$  (3.4), κάτι που υποδυναμεί τη χαμηλή προσρόφηση στα στερεά. Πράγματι στην παρούσα εργασία τα ποσοστά προσρόφησης που βρέθηκαν για pH 6, 7.8 και 10 ήταν 2%, 2% και 1% αντίστοιχα. Στην σωματιδιακή φάση παρατηρήθηκε απομάκρυνση που για pH 6 και 7.8 ήταν 30% και 24% αντίστοιχα ενώ μειώθηκε στο 10% για pH 10.



**Σχήμα 5.17:** Ολική απομάκρυνση της bisphenol για διαφορετικές τιμές pH

Η BPA, όπως ακριβώς και η TCS, αναμένεται να δεχθεί επίθεση από το χλώριο στο φαινολικό δακτύλιο. Επίσης η BPA, όπως όλα τα φαινολικά συστατικά, είναι πιο δραστήρια στην αποπρωτονιωμένη μορφή της. Αυτό συμβαίνει γιατί το  $O^-$  ενεργοποιεί περισσότερο τον αρωματικό δακτύλιο σε αντιδράσεις υποκατάστασης από ότι το  $OH$ . Έτσι για  $pH > pK_a$ , δηλαδή για  $pH > 9.59$ , η TCS αναμένεται να υπερισχύει στην ιοντική της μορφή και έτσι να είναι πιο δραστήρια. Βέβαια αυτό

έρχεται σε αντιπαράθεση με την χαμηλή δραστηριότητα του  $\text{OCI}^-$ , το οποίο υπερισχύει σε τόσο υψηλό pH για τις φαινόλες. Για αυτό ίσως παρατηρείται μια ελαφρά μείωση στην απομάκρυνση της BPA για pH 10.

Σύμφωνα με τους Deborde και Gunten (2008) , η μέγιστη δραστηριότητα του χλωρίου με την BPA συμβαίνει για pH 8-10. Οι Gallard et al. (2004), σε πειράματα που πραγματοποίησαν, με αρχική συγκέντρωση BPA 1μM και συγκέντρωση  $\text{Cl}_2$  38μM παρατήρησαν ότι για pH 8.15 επιτεύχθηκε συγκέντρωση 80% ενώ για pH 6.75, 10.13 η απομάκρυνση ήταν 25% και 40% αντίστοιχα.

### 5.3 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Ο σκοπός των πειραμάτων είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά και απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αρχικής δόσης χλωρίου. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για πέντε διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου 5 mg/l , 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l και συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l. Η χλωρίωση σε όλα τα πειράματα διαρκούσε 4 min. Επιλέχθηκε σχετικά μικρός χρόνος αντίδρασης διότι σκοπός των πειραμάτων ήταν να μελετηθεί η επιρροή της αρχικής δόσης χλωρίου. Στον Πίνακα 5.2 παρατίθενται οι συγκεντρώσεις του υπολειμματικού χλωρίου καθώς και οι δόσεις χλωρίου που υπολογίστηκαν μέσω του τύπου:

$$CT \text{ (mg/l}\cdot\text{min)} = \text{Υπολειμματικό χλώριο} \times t \quad (1)$$

για όλα τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου αλλά για σταθερό χρόνο 4 min.

**Πίνακας 5.2:** Τιμές συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου και δόσης χλωρίου ως προς την αρχική δόση χλωρίου

Αρχ. δόση χλωρίου (mg/l)	Χρόνος t (min)	Υπολειμματικό χλώριο $\text{Cl}_2$ (mg/l)	Δόση $CT=\text{Cl}_2 \times t$ (mg/l·min)
$C_0= 5\text{mg/l}$	4	1.83	7
$C_0= 10\text{mg/l}$	4	7.20	29
$C_0= 20\text{mg/l}$	4	17.00	68
$C_0= 30\text{mg/l}$	4	25.90	104

Σε προηγούμενη εργασία που έγινε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας (Bouras, 2011) μελετήθηκε η απομάκρυνση ουσιών σε μεταβαλλόμενη δόση χλωρίου, διατηρώντας σταθερή την αρχική δόση χλωρίου, μεταβάλλοντας όμως σταθερό τον χρόνο επαφής των ουσιών με το χλώριο (Πίνακας 5.3). Στον Πίνακα 5.3 παρατίθενται οι συγκεντρώσεις του υπολειμματικού χλωρίου καθώς και οι δόσεις χλωρίου που υπολογίστηκαν μέσω του τύπου (1) για όλα τα πειράματα που

πραγματοποιήθηκαν για σταθερή αρχική δόση χλωρίου αλλά για μεταβαλλόμενο χρόνο χλωρίωσης.

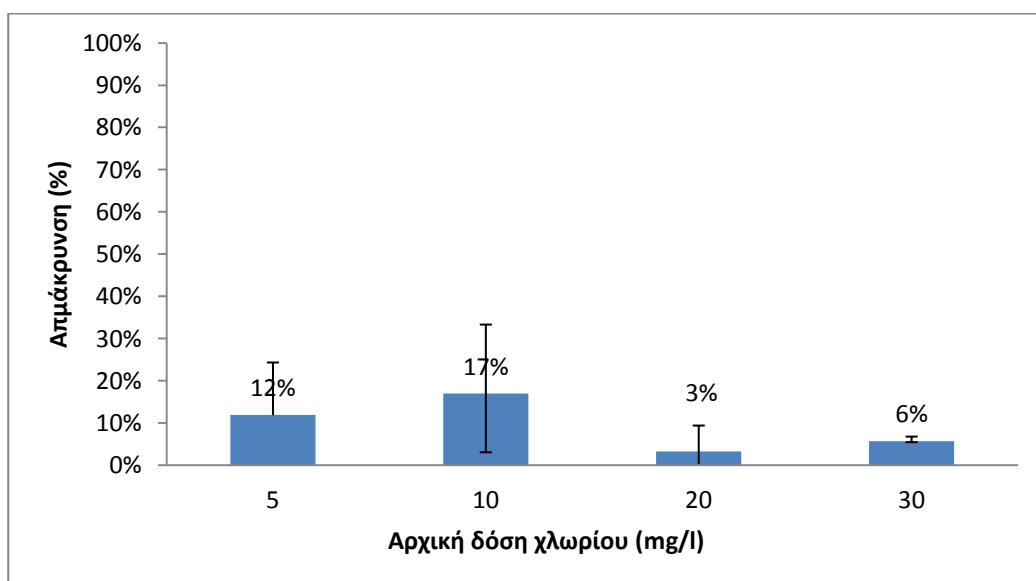
**Πίνακας 5.3:** Τιμές συγκέντρωσης υπολειμματικού χλωρίου και δόσης χλωρίου ως προς τον χρόνο (Bouras, 2011)

Αρχ. δόση χλωρίου (mg/l)	Χρόνος t (min)	Υπολειμματικό χλώριο Cl <sub>2</sub> (mg/l)	Δόση CT=Cl <sub>2</sub> ×t (mg/l·min)
C <sub>0</sub> = 11.5mg/l	5	8.0	40
C <sub>0</sub> = 11.5mg/l	10	7.9	79
C <sub>0</sub> = 11.5mg/l	20	7.3	146
C <sub>0</sub> = 11.5mg/l	30	5.8	174
C <sub>0</sub> = 11.5mg/l	60	4.9	294

Στην συνέχεια, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα αυτής της σειράς πειραμάτων ως προς την διαφορετική αρχική δόση χλωρίου και έπειτα, παρουσιάζονται τα συγκριτικά αποτελέσματα αυτής της σειράς πειραμάτων μαζί με του Bouras (2011) ως προς τη δόση χλωρίου, για κάθε ένωση ξεχωριστά.

### 5.3.1 Ιβουπροφαίνη (IBF)

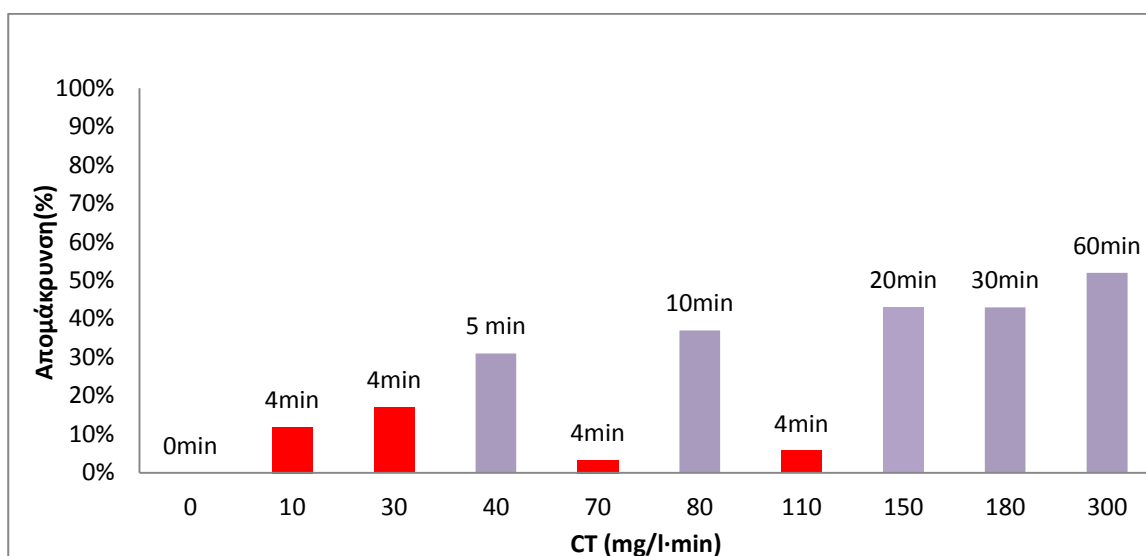
Η πρώτη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση της αρχικής δόσης χλωρίου στην απομάκρυνση της, κατά τη χλωρίωση, είναι η IBF. Η συγκέντρωση της IBF ήταν 1000 ng/l και το πείραμα διήρκησε 4 min για όλες τις αρχικές δόσεις χλωρίου.





**Σχήμα 5.18:** Απομάκρυνση της ibuprofen για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Όπως φαίνεται από το Σχήμα 5.18 η απομάκρυνση της ουσίας ήταν πολύ μικρή για όλες τις αρχικές δόσεις χλωρίου. Τα αποτελέσματα αυτά είναι αναμενόμενα, καθώς όπως φάνηκε στον προηγούμενο κύκλο πειραμάτων, η δραστηριότητα της IBF με το χλώριο είναι πολύ μικρή. Για συγκεντρώση χλωρίου 5 mg/l και 10 mg/l παρατηρήθηκε απομάκρυνση 12% και 17% ενώ για συγκεντρώσεις χλωρίου 20 mg/l και 30 mg/l οι απομακρύνσεις μειώθηκαν στο 3% και 6%. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η αρχική δόση χλωρίου δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση της ουσίας καθώς όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.18 οι απομακρύνσεις είναι χαμηλές για όλες τις τιμές αρχικής δόσης χλωρίου.

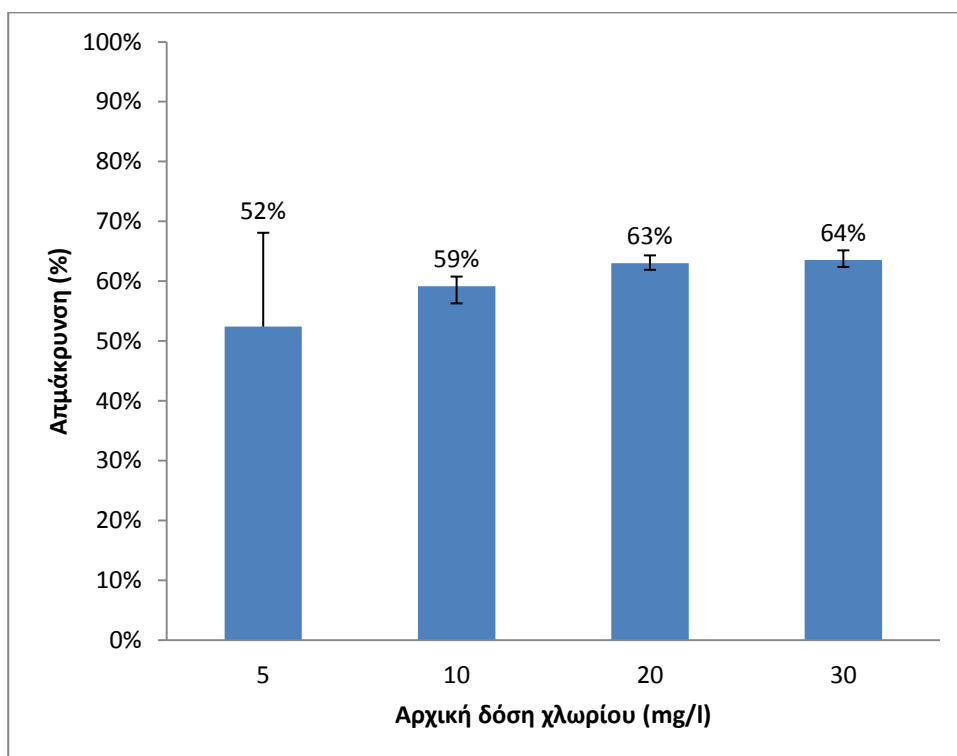


**Σχήμα 5.19:** Απομάκρυνση της ibuprofen για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, ■ Bouras, 2011)

Όπως φαίνεται για την IBF, η οποία έχει χαμηλή δραστηριότητα με το χλώριο, ο χρόνος επιδρά στην συνολική απομάκρυνση της ουσίας. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.18 η μέγιστη απομάκρυνση της ουσίας για χρόνο 4 min για, 17%, παρατηρήθηκε για αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l. Παρόλα αυτά στο σχήμα 5.19 φαίνεται ότι για χρόνο 60 min και αρχική δόση χλωρίου 11.5 mg/l έφτασε το 52%. Καθώς φάνηκε από το Σχήμα 5.18 η αρχική δόση χλωρίου δεν φαίνεται να επηρεάζει την απομάκρυνση της ουσίας. Έτσι ο χρόνος δείχνει να είναι σημαντικός παράγοντας στην απομάκρυνση της ουσίας.

### 5.3.2 Ναπροξένη (NPX)

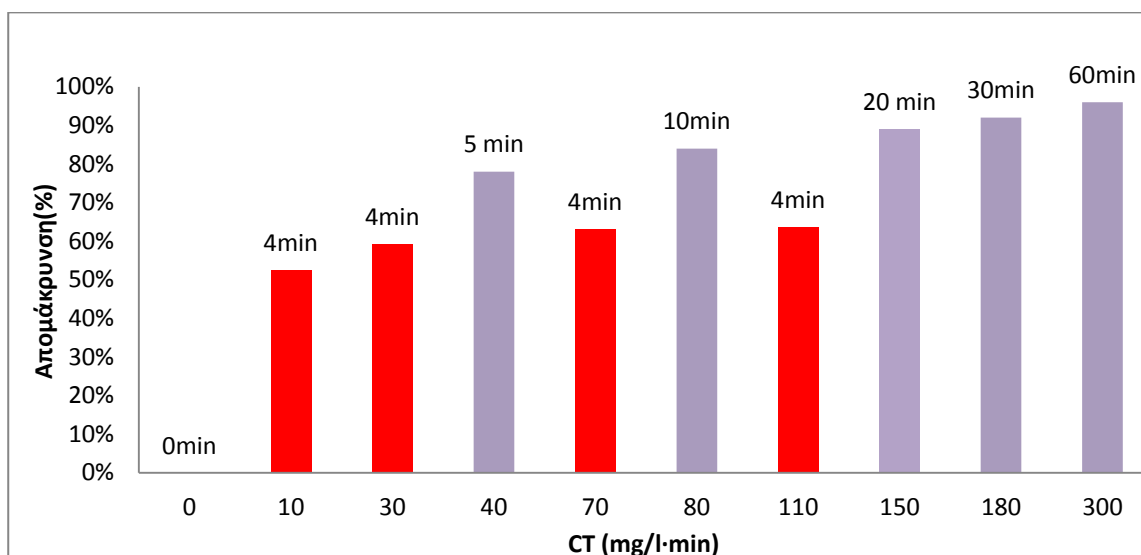
Η επόμενη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση των αρχικών συγκεντρώσεων χλωρίου στο ποσοστό απομάκρυνσης της κατά τη χλωρίωση ήταν η NPX. Η συγκεντρώση της NPX ήταν 1000 ng/l και το πείραμα διήρκεσε 4 min για όλες τις αρχικές δόσεις χλωρίου.



**Σχήμα 5.20:** Απομάκρυνση της παρκοχεν για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Όπως φαίνεται από το Σχήμα 5.20 οι τιμές απομάκρυνσης της NPX είναι ικανοποιητικές. Για αρχική δόση χλωρίου 5 mg/l και 10 mg/l τα ποσοστά απομάκρυνσης ήταν 52% και 59% και για 20 mg/l, 30 mg/l τα ποσοστά απομάκρυνσης έφτασαν στο 63% και 64% αντίστοιχα. Παρατηρείται ότι και στην NPX, η αρχική δόση χλωρίου δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τα ποσοστά απομάκρυνσης.

Αντίθετα, οι Boyd et al. (2005) σε πειράματα που πραγματοποίησαν για την μελέτη του παράγοντα της αρχικής δόσης χλωρίου στην απομάκρυνση της NPX, βρήκαν ότι για συγκέντρωση NPX 10 mg/l σε υπερκάθαρο νερό και δόσεις χλωρίου 1 mg/l, 5mg/l, 10 mg/l οι απομακρύνσεις ήταν αντίστοιχα 10%, 60% και 90% για σταθερό pH 5. Οι Boyd επίσης έδειξαν ότι για να απομακρυνθεί η NPX αποτελεσματικά από την υγρή φάση η γραμμομοριακή αναλογία NPX:χλώριο πρέπει να είναι μικρότερη από 3:1. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Quintana et al. (2010) όπου σε πειράματα που έκαναν υπολόγισαν τον χρόνο υποδιπλασιασμού της NPX για συγκέντρωση ουσίας 50 μg/l, pH 7. Για αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου 1 mg/l, 5.5 mg/l, 10 mg/l οι χρόνοι υπολογίστηκαν 94.4, 48.4 και 19.2 min. Επίσης οι Acero et al. (2010) παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση σε νερά ποταμού όπου ο ολικός οργανικός άνθρακας ήταν 6.9 mg/l, το pH 7 και οι δόσεις χλωρίου  $10^{-5}$  M,  $7 \cdot 10^{-5}$  M τα ποσοστά απομάκρυνσης είναι 10% και 72% αντίστοιχα. Στα παραπάνω πειράματα φάνηκε ότι η αρχική δόση χλωρίου είναι πολύ σημαντικός παράγοντας στην απομάκρυνση της NPX. Ωστόσο δεν είναι συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, όπου χρησιμοποιούνται συγκεντρώσεις ουσίας παραπλήσιες με αυτές που συναντώνται στο περιβάλλον.

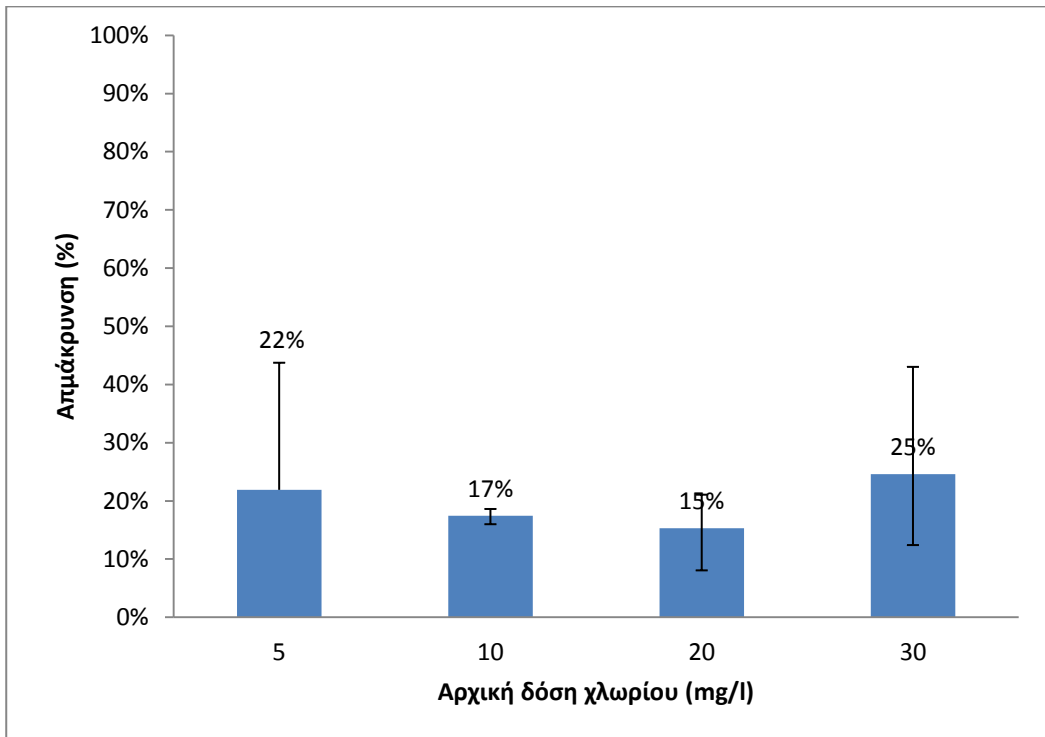


**Σχήμα 5.21:** Απομάκρυνση της naproxen για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Αxiomakarou, ■ Bouras, 2011)

Όσον αναφορά την NPX, η οποία είναι δραστική με το χλώριο, φαίνεται στο Σχήμα 5.21 ότι το μεγαλύτερο μέρος του φαινομένου ολοκληρώνεται στα πρώτα 4 min και στη συνέχεια καθώς αυξάνεται ο χρόνος παρατηρείται ότι η απομάκρυνση της ουσίας αυξάνει. Το μέγιστο ποσοστό απομάκρυνσης για 4 min, 64%, παρατηρήθηκε για δόση χλωρίου 30 mg/l σύμφωνα με το σχήμα 5.20. Στο Σχήμα 5.21 φαίνεται ότι η μέγιστη απομάκρυνση της ουσίας, 96%, παρατηρείται για χρόνο 30 min και αρχική δόση χλωρίου 11.5 mg/l. Έτσι, σύμφωνα με το Σχήμα 5.21 και όσα προαναφέρθηκαν, καθώς η αρχική δόση χλωρίου δεν φαίνεται ότι δεν επηρεάζει τα ποσοστά απομάκρυνσης, ο χρόνος είναι αυτός που επηρεάζει την περαιτέρω απομάκρυνση της NPX.

### 5.3.3 Κετοπροφαίνη (KFN)

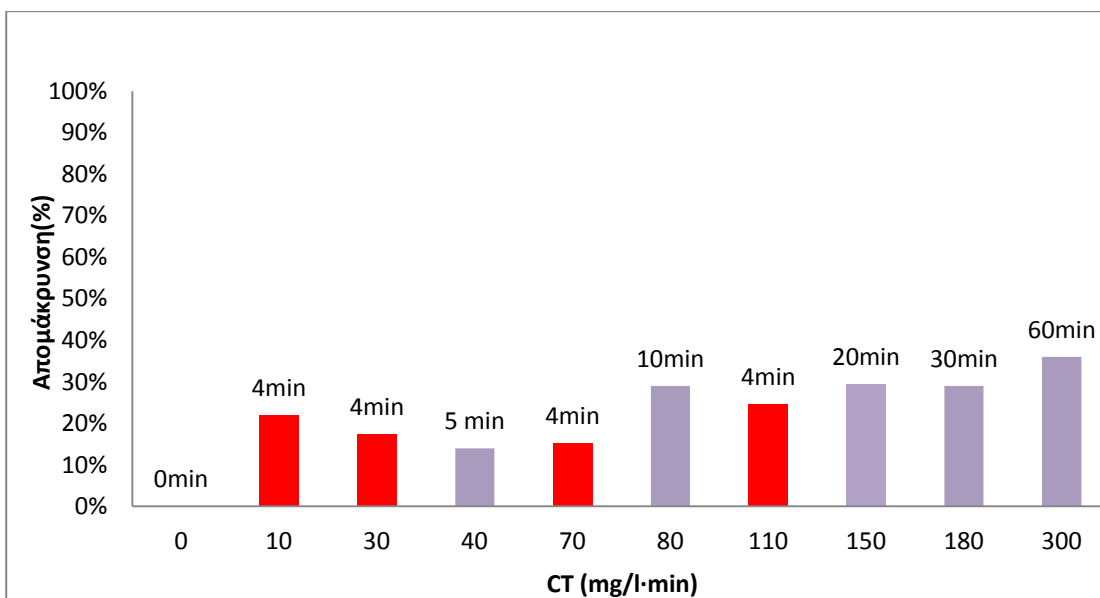
Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης χλωρίου στην απομάκρυνση της KFN κατά την χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, pH 7-8, η συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και ο χρόνος χλωρίωσης 4 min.



**Σχήμα 5.22:** Απομάκρυνση της ketoprofen για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.22, οι απομακρύνσεις για αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου 5 mg/l , 10 mg/l, 15 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l ήταν 22%, 17%, 15%, 25% αντίστοιχα.

Άρα τα ποσοστά απομάκρυνσης της ουσίας είναι χαμηλά για όλες τις αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου, όπως ήταν αναμενόμενο καθώς η KFN δεν αντιδρά αποτελεσματικά με το χλώριο. Παρόλα αυτά οι διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου δεν φαίνεται να επηρέασαν ουσιαστικά την απομάκρυνση της ουσίας.

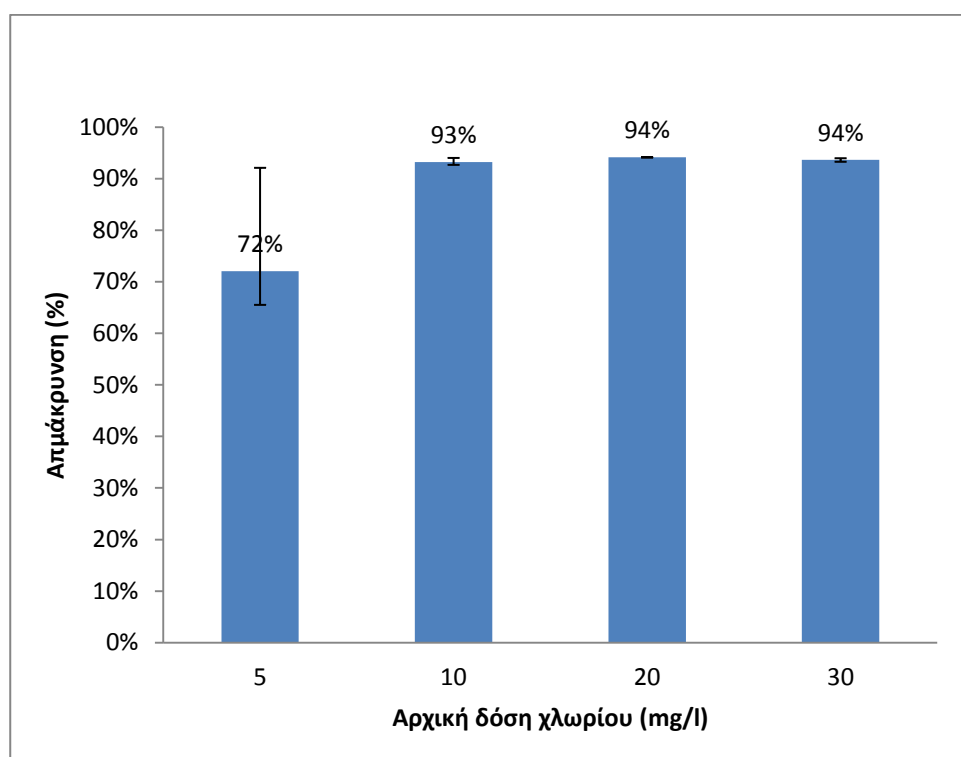


**Σχήμα 5.23:** Απομάκρυνση της ketoprofen για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, ■ Bouras, 2011)

Όπως φαίνεται στο σχήμα 5.23, η δραστηκότητα της KFN με το χλώριο είναι μικρή για όλες τις δόσεις χλωρίου. Το φαινόμενο φαίνεται ότι σχεδόν ολοκληρώνεται στα πρώτα 4 λεπτά της αντίδρασης ενώ στη συνέχεια παρατηρείται μικρή αύξηση. Πιο συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.22 η μέγιστη απομάκρυνση για 4 min αντίδρασης, 25%, παρατηρείται για αρχική δόση χλωρίου 30 mg/l. Η μέγιστη απομάκρυνση συνολικά, 36%, παρατηρείται για 60 min και αρχική δόση χλωρίου 11.5 mg/l. Όπως φαίνεται δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά η χαμηλή δραστηκότητα της KFN από τον χρόνο και από την αρχική δόση χλωρίου.

### 5.3.4 Δικλοφαινάκη (DCF)

Η τελευταία φαρμακευτική ουσία που μελετήθηκε ήταν η DCF. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, και η συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και χρόνο χλωρίωσης 4 min.



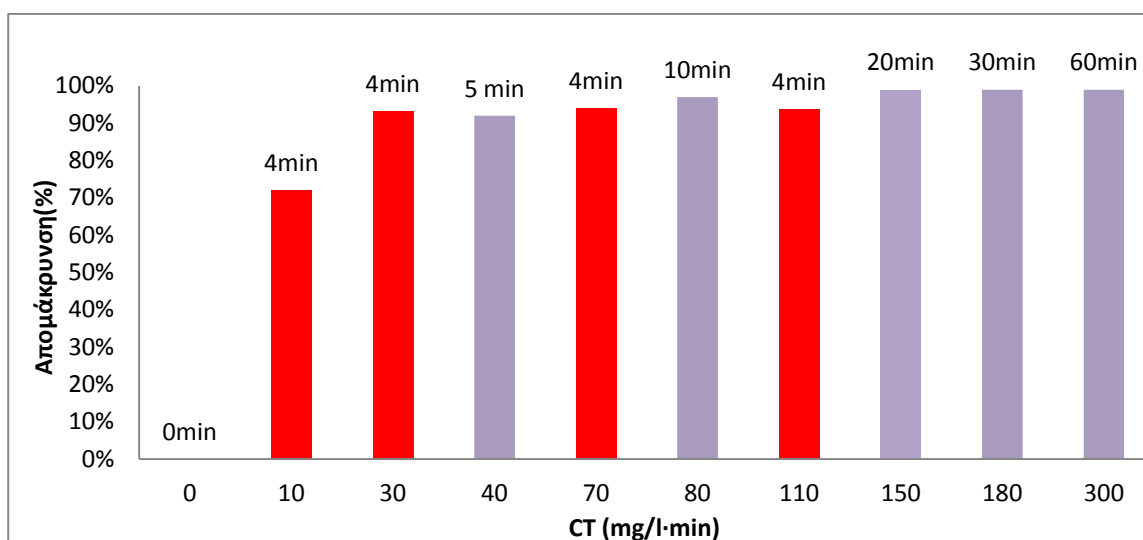
**Σχήμα 5.24:** Απομάκρυνση της diclofenac για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Όπως φαίνεται από το Σχήμα 5.24 τα ποσοστά απομάκρυνσης της DCF είναι αρκετά ικανοποιητικά κατά την χλωρίωση για όλες τις συγκεντρώσεις χλωρίου και πιο υψηλά για δόσεις χλωρίου 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l. Πιο συγκεκριμένα τα ποσοστά απομάκρυνσης που παρατηρήθηκαν ήταν 72%, 93%, 94% και 94% για αρχικές δόσεις χλωρίου 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l και 30 mg/l. Οι υψηλές απομακρύνσεις είναι αναμενόμενες καθώς η DCF έχει μεγάλη δραστηκότητα με το χλώριο.

Η αρχική δόση χλωρίου φαίνεται ότι επηρεάζεται όταν αυξάνεται η αρχική δόση χλωρίου από 5 mg/l

σε 10 mg/l καθώς το ποσοστό απομάκρυνσης αυξάνεται κατά 20%. Με το διπλασιασμό της αρχικής δόσης χλωρίου, παρατηρήθηκε αύξηση της τάξης 20% και πολύ υψηλή απομάκρυνση της ουσίας. Για δόσεις χλωρίου 10 mg/l, 20 mg/l και 30 mg/l, φαίνεται στο Σχήμα 5.24, ότι τα ποσοστά απομάκρυνσης παραμένουν το ίδιο υψηλά.

Οι Quintana et al. (2010) σε πειράματα που έκαναν υπολόγισαν τον χρόνο υποδιπλασιασμού της DCF για συγκέντρωση ουσίας 50 µg/l, pH 7. Για αρχική συγκέντρωση χλωρίου 1 mg/l, 5.5 mg/l, 10 mg/l οι χρόνοι υπολογίστηκαν 325.2, 18.9 και 51.3 min. Φαίνεται στα αποτελέσματα τους πόσο μεγάλη επιρροή στην απομάκρυνση της ουσίας έχει η αρχική δόση χλωρίου ειδικά όταν αυξάνεται από 1 mg/l σε 5 mg/l. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δεν είναι συγκρίσιμα καθώς οι συγκεντρώσεις ουσίας που χρησιμοποιούνται είναι πολύ μικρότερες.

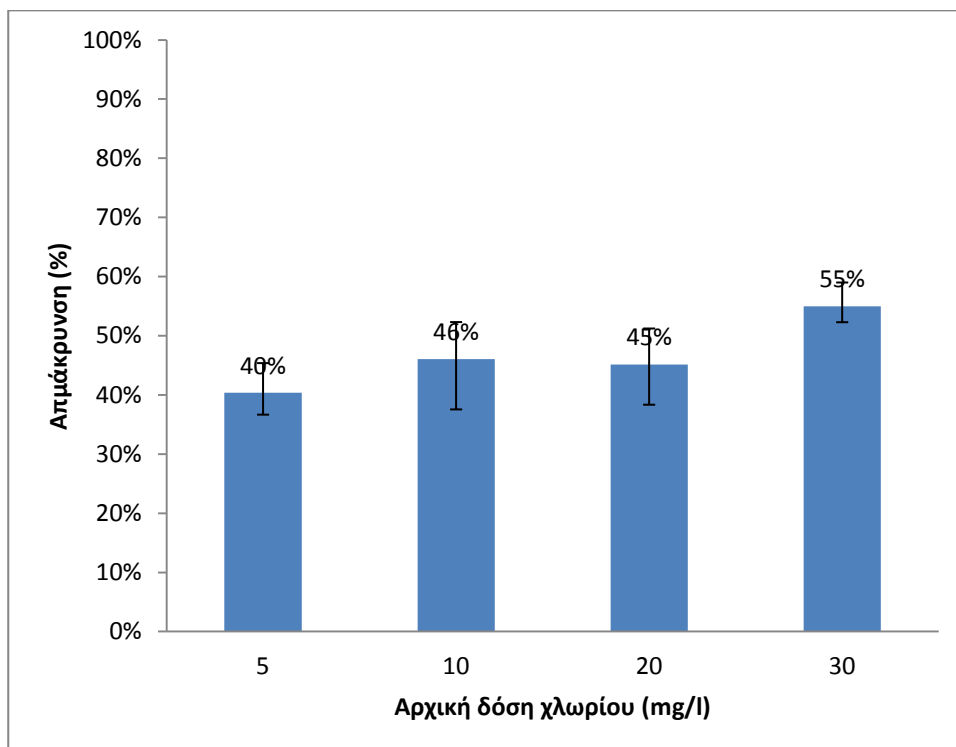


**Σχήμα 5.25** Απομάκρυνση της diclofenac για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, ■ Bouras, 2011)

Όπως φαίνεται στο σχήμα 5.25, τα ποσοστά απομάκρυνσης της DCF, κυμάνθηκαν σε πολύ υψηλά επίπεδα για όλα τις δόσεις χλωρίου. Έτσι φαίνεται ότι η αρχική δόση χλωρίου και ο χρόνος δεν επηρεάζουν την υψηλή δραστηριότητα της DCF.

### 5.3.5 Εννεϋλοφαινόλη (NP)

Μια άλλη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση των διαφορετικών αρχικών δόσεων χλωρίου στην απομάκρυνση της κατά τη χλωρίωσης ήταν η NP. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, η αρχική δόση ουσίας 1000 ng/l και ο χρόνος χλωρίωσης 4 min.

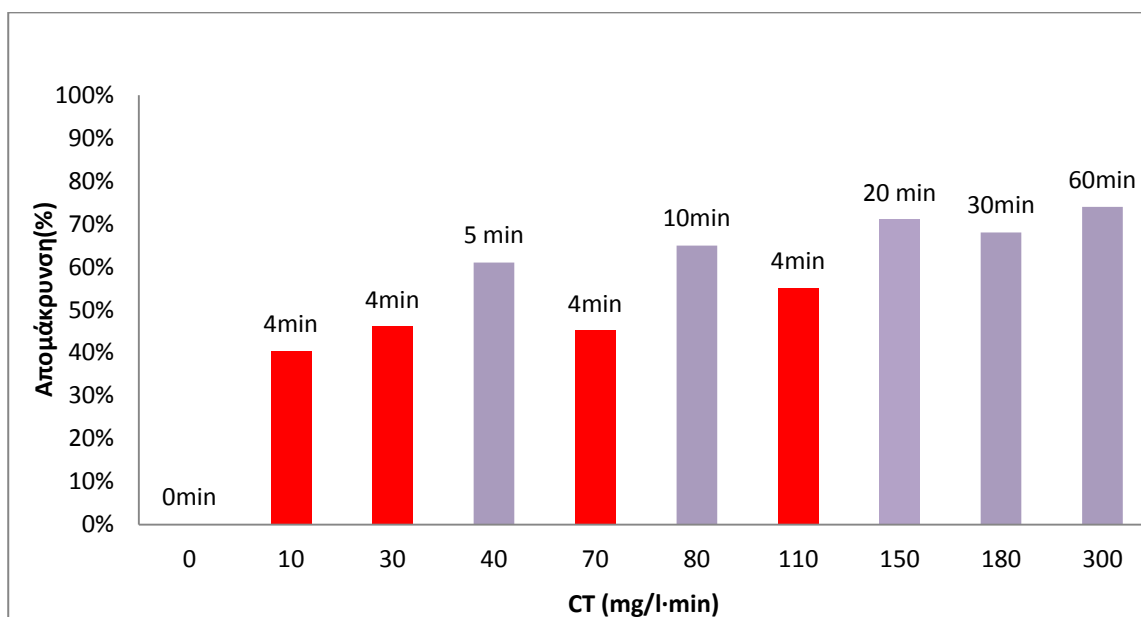


**Σχήμα 5.26:** Απομάκρυνση της nonyphenol για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.26 παρατηρήθηκαν ποσοστά απομάκρυνσης 40%, 46%, 45% και 55% για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l και 30 mg/l. Και στην περίπτωση της NP δεν φαίνεται να είναι η αρχική δόση χλωρίου καθοριστικός παράγοντας στην απομάκρυνση της.

Τα ποσοστά απομάκρυνσης ήταν πιο υψηλά από προηγούμενο κύκλο πειραμάτων για την NP και σε συμφωνία με την βιβλιογραφία όπου αναμένεται η NP λόγω της φαινολικής της δομής να είναι δραστική με το χλώριο.

Οι Thurman et al. (2006) μελέτησαν την απομάκρυνση της NP κατά τη χλωρίωση για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου. Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε υπερκίθαρο νερό και συγκέντρωση ουσίας 100 ng/ml σε θερμοκρασία 25<sup>0</sup>C για pH 7.5 και υποχλωριώδες νάτριο σε συγκεντρώσεις 1 mg/l, 10 mg/l και 100 mg/l. Για χρόνο αντίδρασης 3hr παρατηρήθηκαν ποσοστά απομάκρυνσης 2%, 30% και 97% για αρχικές δόσεις χλωρίου 1mg/l, 10 mg/l και 100 mg/l. Στα πειράματα αυτά φαίνεται ότι η αρχική συγκέντρωση είναι καθοριστικός παράγοντας στην απομάκρυνση της ουσίας. Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας καθώς οι πειραματικές συνθήκες είναι τελείως διαφορετικές.



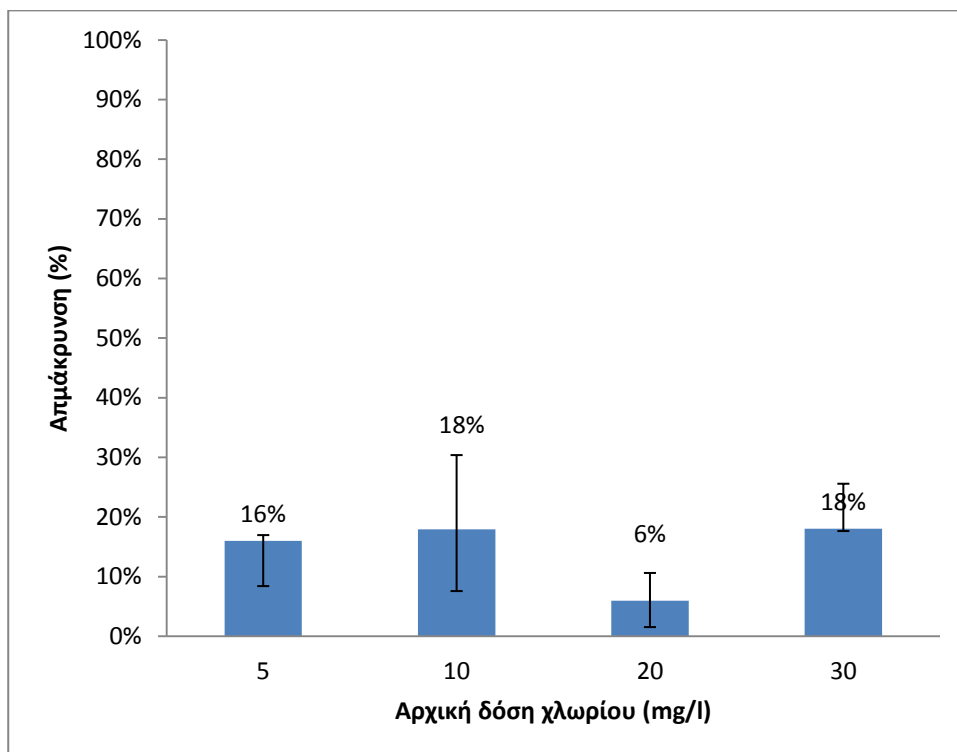
**Σχήμα 5.27:** Απομάκρυνση της nonylphenol για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, ■ Bouras, 2011)

Στο σχήμα 5.27, φαίνεται ότι η για τν NP, η οποία παρουσιάζει δραστηριότητα με το χλώριο, μεγαλύτερο μέρος του φαινομένου ολοκληρώνεται στα πρώτα 4 min και στη συνέχεια καθώς αυξάνεται ο χρόνος παρατηρείται ότι η απομάκρυνση της ουσίας αυξάνει. Το μέγιστο ποσοστό απομάκρυνσης για 4 min, 55%, παρατηρήθηκε για δόση χλωρίου 30 mg/l σύμφωνα με το σχήμα 5.3.9. Στο Σχήμα 5.27 φαίνεται ότι η μέγιστη απομάκρυνση της ουσίας, 74%, παρατηρείται για χρόνο 60 min και αρχική δόση χλωρίου 11.5 mg/l. Έτσι, σύμφωνα με το Σχήμα 5.26 και όσα προαναφέρθηκαν, καθώς η αρχική δόση χλωρίου δεν φαίνεται ότι δεν επηρεάζει τα ποσοστά απομάκρυνσης, ο χρόνος είναι αυτός που επηρεάζει την περαιτέρω απομάκρυνση της NPX.

### 5.3.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10)

Έπειτα μελετήθηκε η NPE10 και η επίδραση των διαφορετικών αρχικών δόσεων χλωρίου στην απομάκρυνση της κατά τη χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l και ο χρόνος χλωρίωσης 4 min.



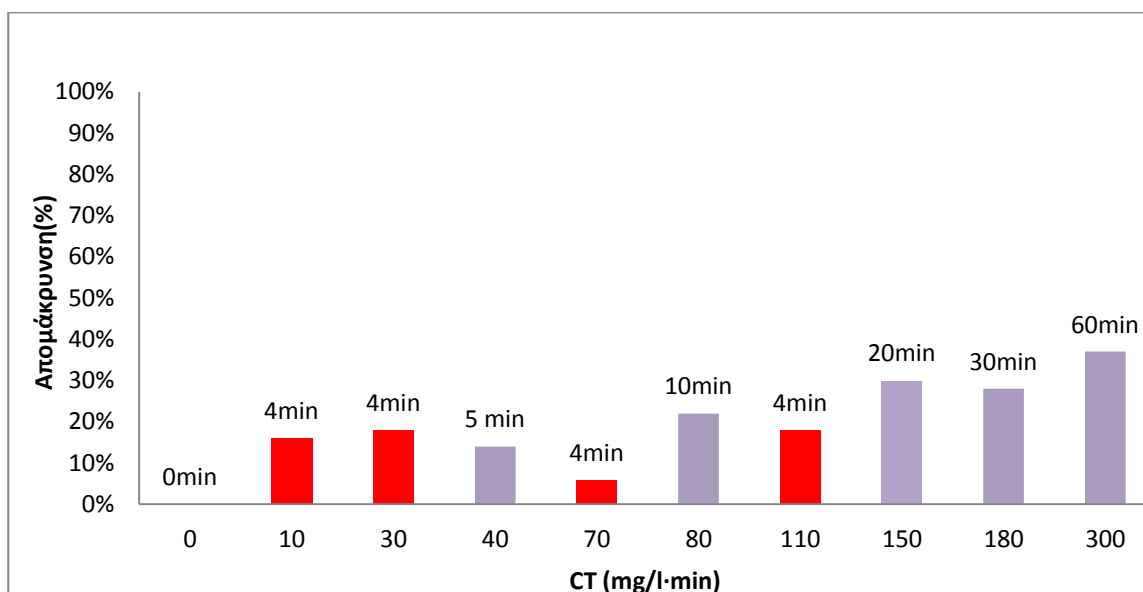


**Σχήμα 5.28:** Απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Στο Σχήμα 5.28 παρατηρείται ότι οι απομακρύνσεις είναι 16%, 18%, και 18% για αρχικές δόσεις χλωρίου 5 mg/l, 10 mg/l και 30 mg/l ενώ παρατηρείται μείωση του ποσοστού απομάκρυνσης στο 6% για δόση χλωρίου 20 mg/l.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η αρχική δόση χλωρίου δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση της ουσίας. Φαίνεται επίσης ότι τα ποσοστά απομάκρυνση της ουσίας κυμαίνονται σε πολύ πιο χαμηλά επίπεδα απ ότi είχε βρεθεί στον κύκλο πειραμάτων με διαφορετικά pH. Αυτά τα ποσοστά έρχονται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, όπου αναμένονται γενικά χαμηλότερα ποσοστά της NPE10 από την NP λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης λόγω των αιθοξύ-ομάδων.

Όμως και οι Thurman et al. (2006) και οι Lenz et al. (2004) παρατήρησαν μικρή δραστικότητα της ουσίας ανεξαρτήτου δόσης χλωρίου. Πιο συγκεκριμένα οι Thurman et al. (2006) για συγκέντρωση NPE10 100 ng/ml, pH 7.5 και δόσεις χλωρίου 1 mg/l, 10 mg/l και 100 mg/l δεν παρατήρησαν καμία απομάκρυνση της ουσίας.

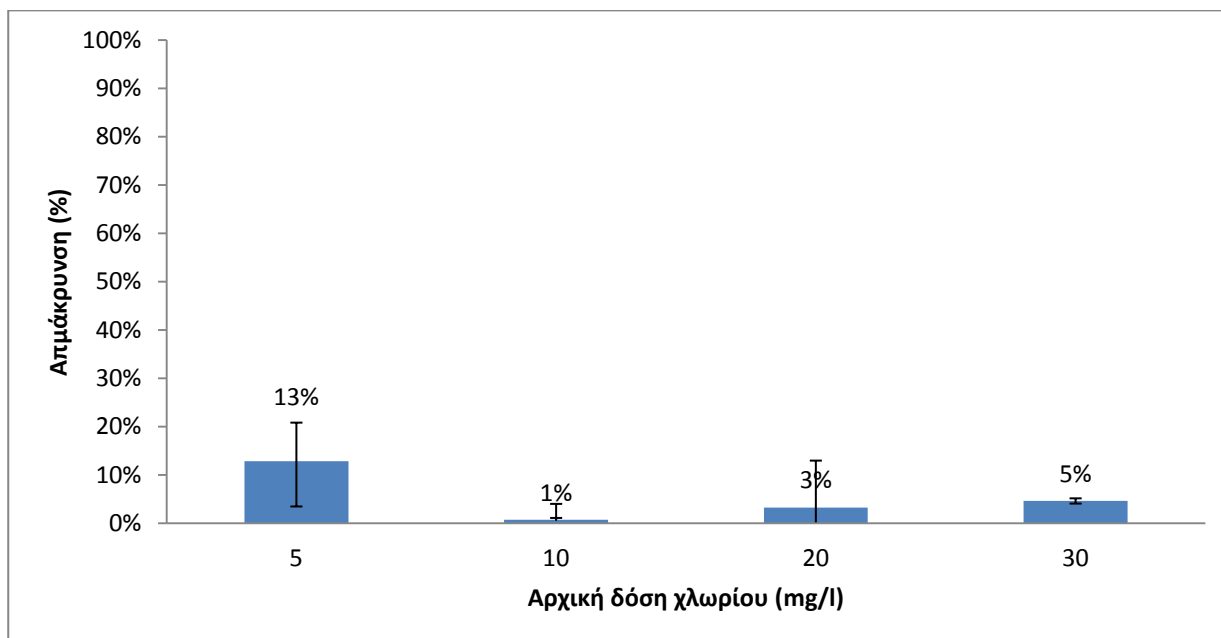


**Σχήμα 5.29:** Απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, ■ Bouras, 2011)

Όπως φαίνεται στο σχήμα 5.29, η δραστηριότητα της NPE1O με το χλώριο είναι μικρή για όλες τις δόσεις χλωρίου. Το φαινόμενο φαίνεται ότι σχεδόν ολοκληρώνεται στα πρώτα 4 λεπτά της αντίδρασης ενώ στη συνέχεια παρατηρείται μικρή αύξηση. Πιο συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.28 η μέγιστη απομάκρυνση για 4 min αντίδρασης, 18%, παρατηρείται για αρχική δόση χλωρίου 30 και 10 mg/l. Η μέγιστη απομάκρυνση συνολικά, 37%, παρατηρείται για 60 min και αρχική δόση χλωρίου 11.5 mg/l. Όπως φαίνεται δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά η χαμηλή δραστηριότητα της NPE1O από τον χρόνο και από την αρχική δόση χλωρίου.

### 5.2.7 Διαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE2O)

Μελετήθηκε επίσης και η NPE2O και η επίδραση των διαφορετικών αρχικών δόσεων χλωρίου στην απομάκρυνση της κατά τη χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l και ο χρόνος χλωρίωσης 4 min.



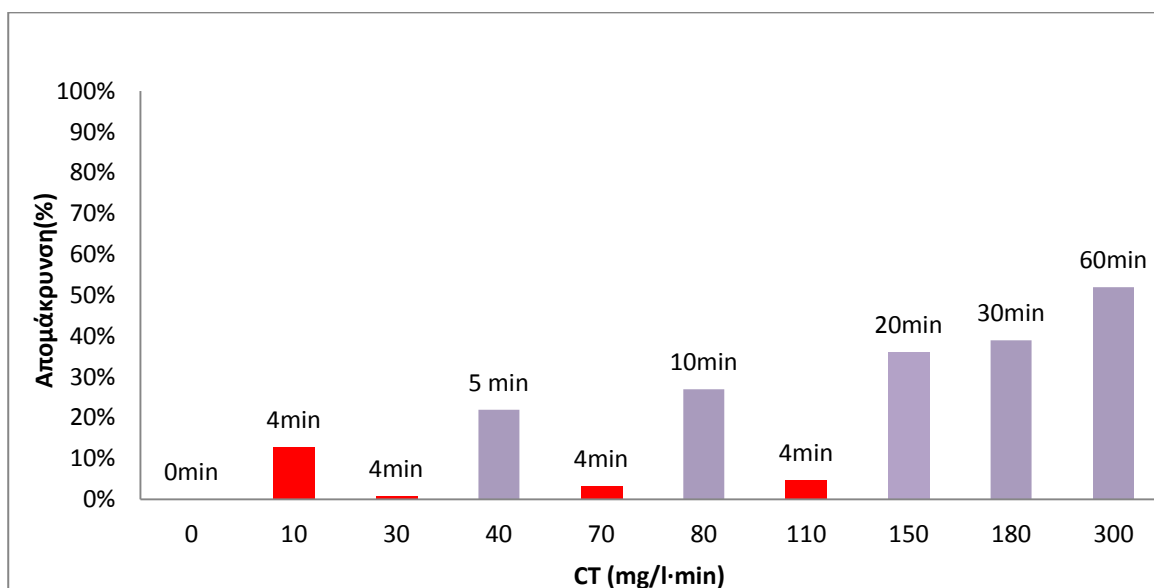
**Σχήμα 5.30:** Απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Στο Σχήμα 5.30 φαίνεται ότι το ποσοστό απομάκρυνσης για αρχική δόση χλωρίου 5 mg/l ήταν 13 % ενώ για συγκεντρώσεις χλωρίου 10 mg/l , 20 mg/l και 30 mg/l ήταν αντίστοιχα 1%, 3% και 5%.

Φαίνεται ότι τα ποσοστά απομάκρυνση της ουσίας κυμαίνονται σε πιο χαμηλά επίπεδα απ ότι είχε βρεθεί στον κύκλο πειραμάτων με διαφορετικά pH που όμως είναι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία όπου οι αιθοξύ ομάδες των αιθοξυλιωμένων εννεύλοφαινολών δυσχαιρένουν την υποκατάσταση του χλωρίου.

Οι Thurman et al. (2006) επίσης σε πειράματα που έκανα και για της NPE1O αλλά για την NPE2O με συγκέντρωση 100 ng/ml, pH 7.5 και δόσεις χλωρίου 1 mg/l ,10 mg/l και 100 mg/l δεν παρατήρησαν καμία απομάκρυνση της ουσίας.

Άρα η αρχική δόση χλωρίου δεν επηρεάζει καθόλου την ήδη χαμηλή απομάκρυνση της NPE1O και της NPE2O.

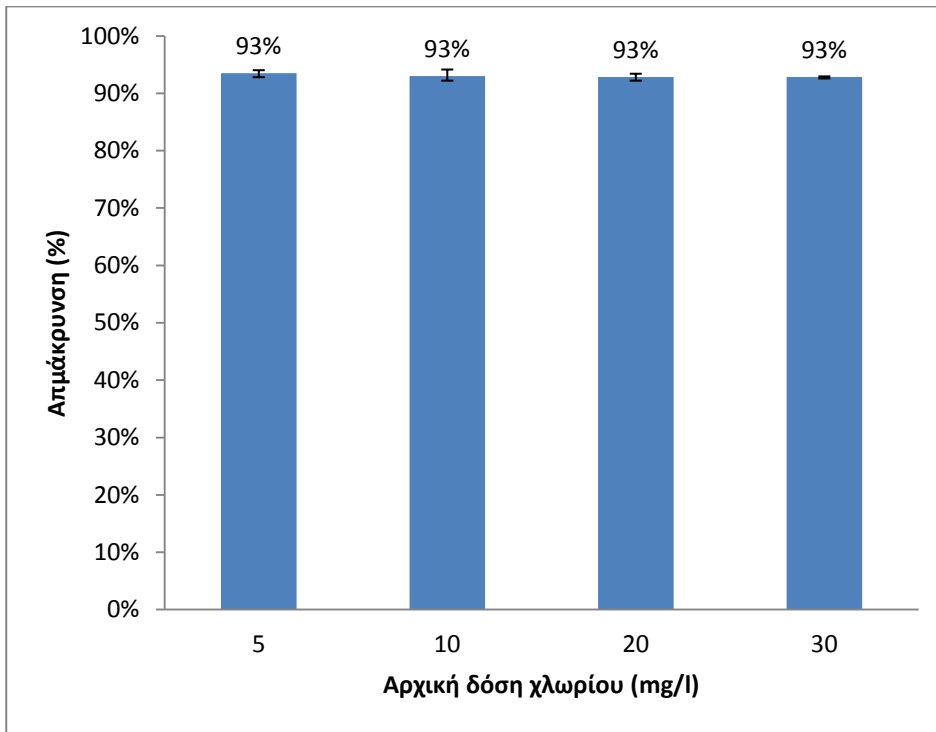


**Σχήμα 5.31:** Απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, Bouras, 2011)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.30, τα 4 min δεν είναι αρκετά για την απομάκρυνση της ουσίας. Για 4min η μέγιστη απομάκρυνση, σύμφωνα με το Σχήμα 5.30, είναι 13% για αρχική δόση χλωρίου 10 mg/l, ενώ για χρόνο 60 min σύμφωνα με το σχήμα 5.31 η απομάκρυνση φτάνει το 52%. Άρα ο χρόνος χλωρίωσης φαίνεται να επηρεάζει την απομάκρυνση της ουσίας.

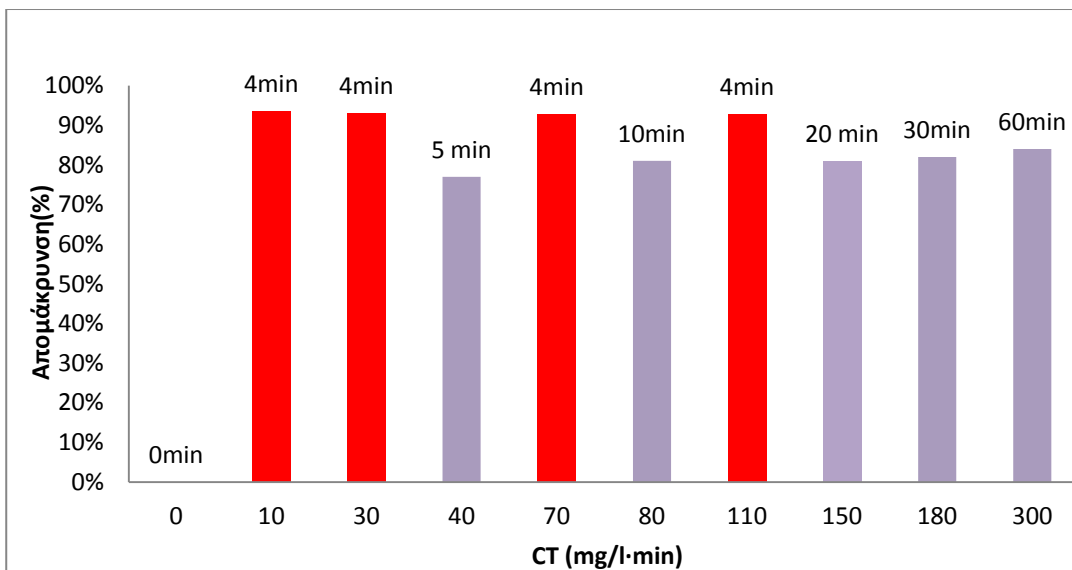
### 5.3.8 Τρικλοζάνη (TCS)

Κατόπιν μελετήθηκε η επίδραση της αρχικής δόσης χλωρίου στην απομάκρυνση της TCS κατά την χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l και ο χρόνος χλωρίωσης 4 min.



**Σχήμα 5.32:** Απομάκρυνση της triclosan για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Η απομάκρυνση της ουσίας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.32, είναι πολύ υψηλή 93-94% για όλες τις αρχικές δόσεις χλωρίου. Η TCS, όπως φάνηκε στον προηγούμενο κύκλο πειραμάτων, αλλά και στη βιβλιογραφία είναι πολύ δραστική ουσία με το χλώριο. Έτσι τα υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης δεν επηρεάζονται από την αρχική δόση χλωρίου καθώς ήδη από τα 5 mg/l αρχική δόση χλωρίου η απομάκρυνση είναι πολύ υψηλή. Και οι Canosa et al. (2005) σε πειράματα που έκανα για διαφορετικά pH και διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου, φάνηκε ότι η δόση επηρέασε ελάχιστα την απομάκρυνση της ουσίας για κάθε τιμή του pH.

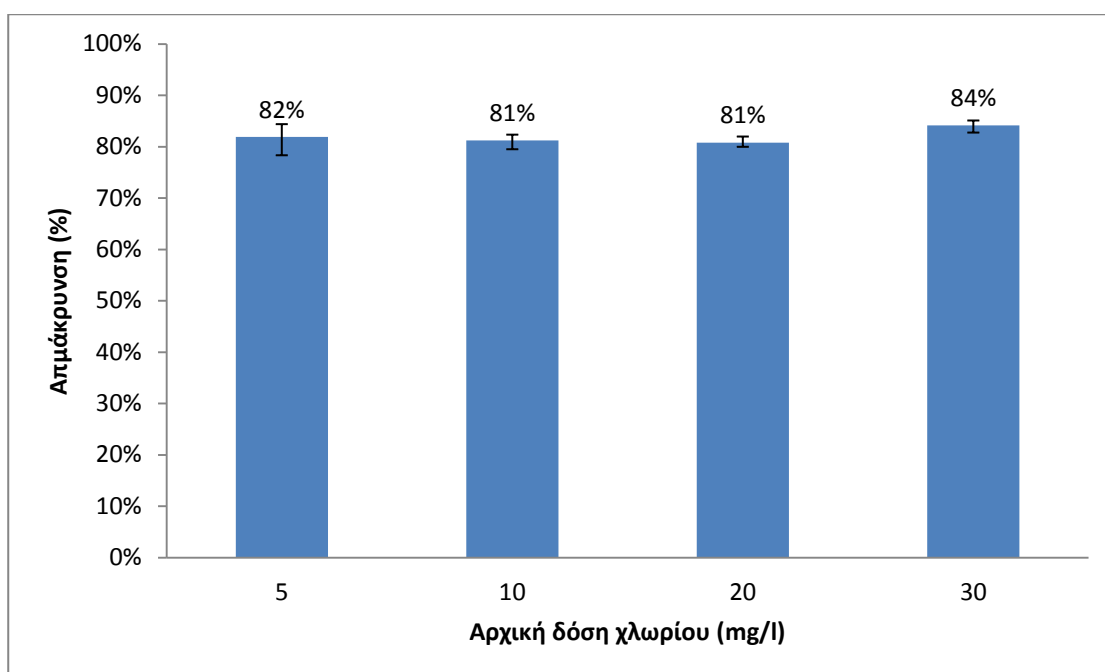


**Σχήμα 5.33:** Απομάκρυνση της triclosan για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Αχιωμακαρου, ■ Bouras, 2011)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.33, τα ποσοστά απομάκρυνσης της DCF, κυμάνθηκαν σε πολύ υψηλά επίπεδα για όλα τις δόσεις χλωρίου. Έτσι φαίνεται ότι η αρχική δόση χλωρίου και ο χρόνος δεν επηρεάζουν την υψηλή δραστηριότητα της DCF.

### 5.3.9 Βισφαινόλη (BPA)

Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση της αρχικής δόσης χλωρίου στην απομάκρυνση της BPA κατά τη χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου που μελετήθηκαν ήταν 5 mg/l , 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l και ο χρόνος χλωρίωσης 4 min.



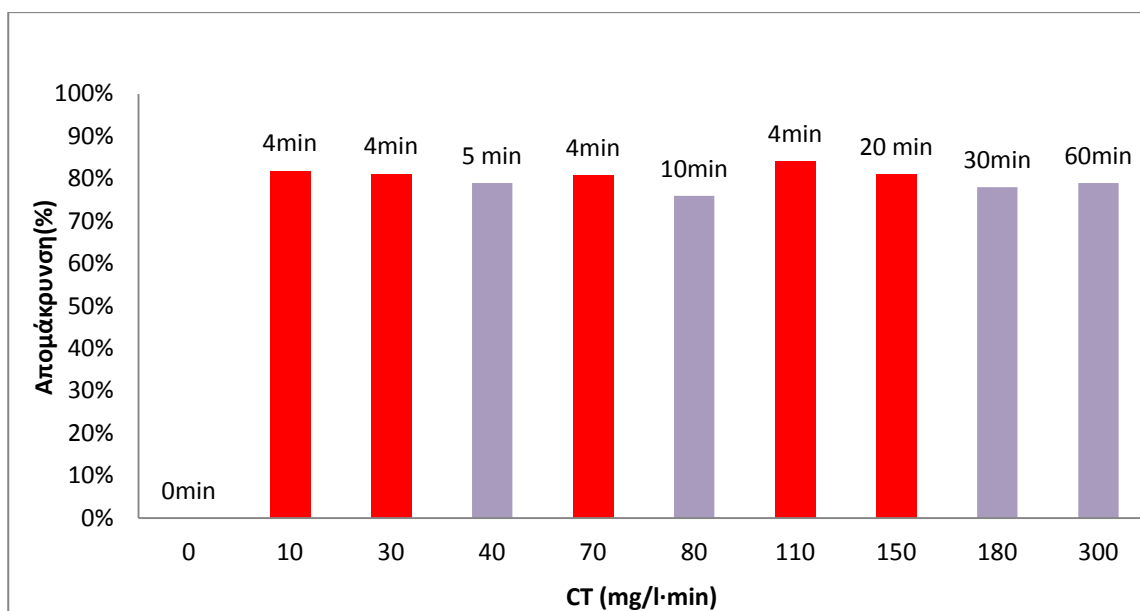
**Σχήμα 5.34:** Απομάκρυνση της bisphenol για διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου

Η BPA, όπως αναμένεται και από την βιβλιογραφία και από τον προηγούμενο κύκλο πειραμάτων εμφάνισε υψηλή δραστηριότητα με το χλώριο. Έτσι παρατηρήθηκαν απομακρύνσεις 82%, 81%, 81% και 84% για αρχικές δόσεις χλωρίου 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l. Φαίνεται ότι οι διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου δεν επηρεάζουν την απομάκρυνση της ουσίας τουλάχιστον για τις συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν.

Οι Gallard et al. (2004) σε πειράματα που έκαναν, για αρχική συγκέντρωση ουσίας 1μM, pH 7.5 και δόσεις χλωρίου 0.2 mg/l, 1 mg/l και 2 mg/l παρατήρησαν τους αντίστοιχους χρόνους υποδιπλασιασμού 55, 8 και 6 min. Οι χρόνοι φαίνεται ότι μειώνονται καθώς αυξάνει η δόση χλωρίου αλλά μεγάλη μείωση παρατηρείται μόνο για αύξηση της αρχικής δόσης από 0.2 mg/l σε 1 mg/l . Από 1 mg/l σε 2 mg/l , η μείωση του χρόνου υποδιπλασιασμού είναι αμελητέα.

Οι Yamamoto και Yasuhara et al. (2002) για συγκέντρωση BPA 1 mg/l σε υπερκάθαρο νερό για pH 7-9 και χρόνο αντίδρασης 60 min παρατήρησαν ότι για δόσεις χλωρίου 1.03 mg/l, 2.07 mg/l, 5.12 mg/l και 10.24 mg/l τα ποσοστά απομάκρυνσης ήταν 71%, 100%, 100%, 100%. Άρα αύξηση στα

ποσοστά απομάκρυνσης παρατηρήθηκε μόνο όταν η δόση χλωρίου αυξήθηκε από 1.03 mg/l σε 2.07 mg/l. Στη συνέχεια τα ποσοστά απομάκρυνσης παραμείναν ίδια. Άρα η ποσότητα χλωρίου που χρειαζόταν για την οξείδωση της φαρμακευτικής ουσίας είχε καλυφθεί από τα 2.07 mg/l.



**Σχήμα 5.35:** Απομάκρυνση της bisphenol για διαφορετικές δόσεις χλωρίου (■ Axiomakarou, ■ Bouras, 2011)

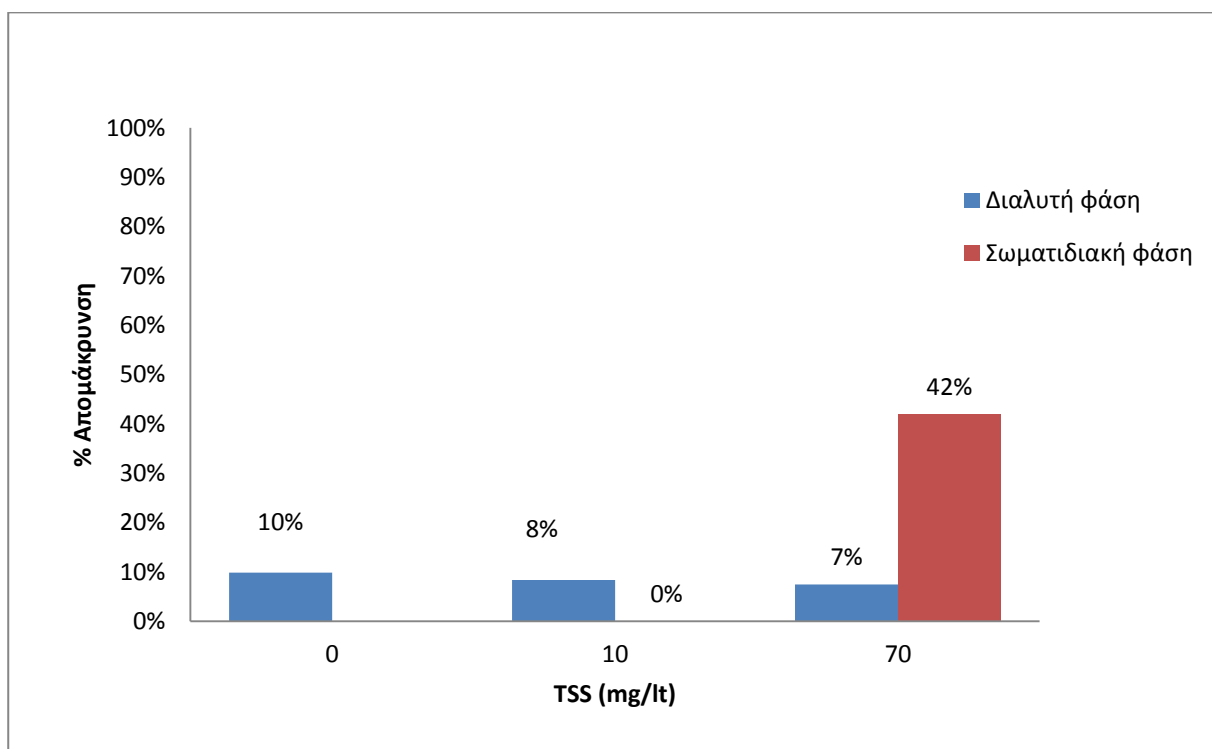
Όπως για την BPA, τα ποσοστά της TCS κυμάνθηκαν σε πολύ υψηλά επίπεδα για όλα τις δόσεις χλωρίου. Έτσι φαίνεται ότι η αρχική δόση χλωρίου και ο χρόνος δεν επηρεάζουν την υψηλή δραστηριότητα της TCS.

## 5.4 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες σε διαφορετικά συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών

Ο σκοπός του πειράματος είναι να μελετηθεί η επίδραση των αιωρούμενων στερεών στην απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις στερεών, 0, 10, 70 mg/l για συγκεκριμένη δόση χλωρίου 85 mg/min·l, αρχική δόση χλωρίου 15mg/l και pH 7. Για να επιτευχθεί η εκάστοτε επιθυμητή συγκέντρωση στερεών χρησιμοποιείται ανάμεικτο υγρό.

### 5.4.1 Ιβουπροφαίνη (IBF)

Η πρώτη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση των αιωρούμενων στερεών κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης ήταν η IBF. Γενικά, όπως προαναφέρθηκε σε προηγούμενο κύκλο πειραμάτων, το χλώριο δεν έχει μεγάλη επίδραση στην απομάκρυνση της IBF.

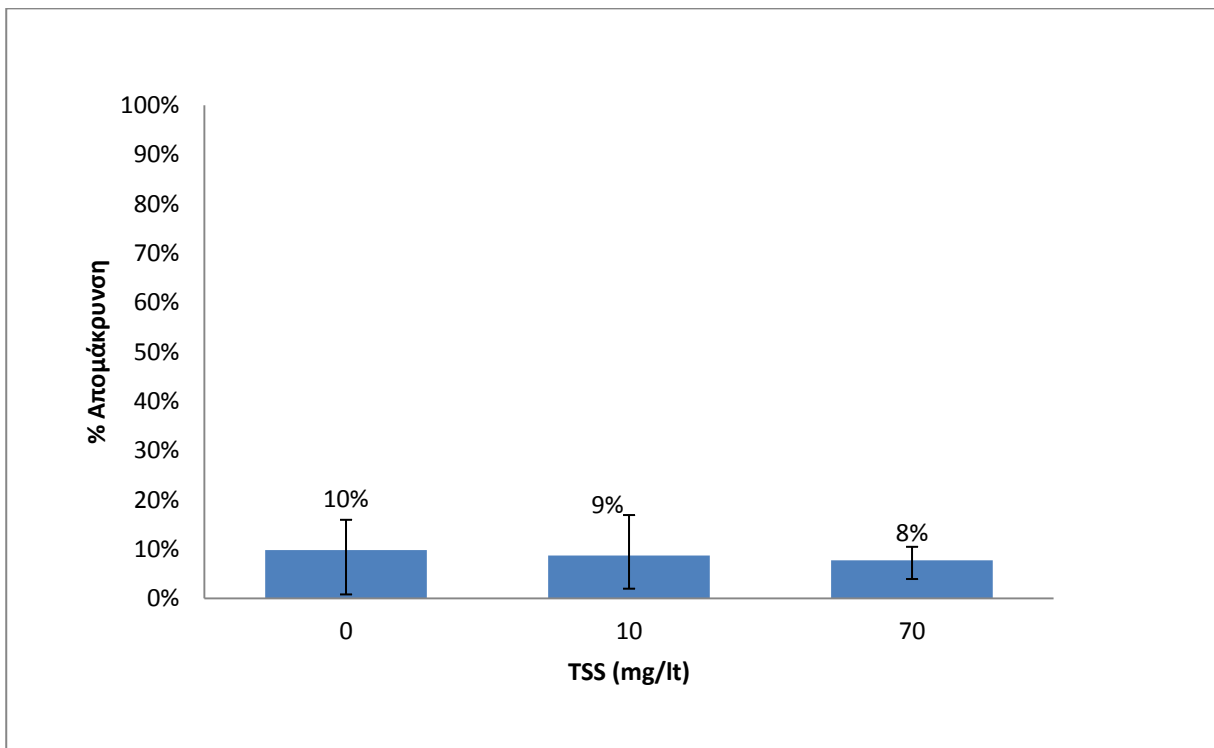


**Σχήμα 5.35:** Απομάκρυνση της ibuprofen στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Αυτό φαίνεται και στο Σχήμα 5.35 όπου οι απομακρύνσεις κινούνται σε χαμηλά επίπεδα. Πιο συγκεκριμένα στην διαλυτή φάση παρατηρείται απομάκρυνση 10%, 8% και 7% για TSS 0, 10 mg/l και 70 mg/l αντίστοιχα, ενώ στην σωματιδιακή φάση μηδενική απομάκρυνση και για τις δυο τιμές αιωρούμενων στερεών. Για TSS 70 mg/l παρατηρείται απομάκρυνση 42% για την σωματιδιακή φάση. Ωστόσο είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι αυτή η απομάκρυνση της τάξεως 42% αντιστοιχεί σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις ουσίας της τάξης των μερικών ng/l.

Η IBF γενικά είναι υδρόφιλη ουσία ( $\log K_{ow}=3.9$ ) και δεν έχει την τάση να προσροφάται στα στερεά. Στα πειράματα της παρούσας εργασίας βρέθηκε ότι η προσρόφηση ήταν 0% για TSS 10 mg/l και 1% για TSS 70 mg/l. Άρα η ποσότητα που προσροφήθηκε στα στερεά ήταν ελάχιστη και έτσι λόγω ευαισθησίας της μεθόδου σε τόσο χαμηλές συγκεντρώσεις δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.



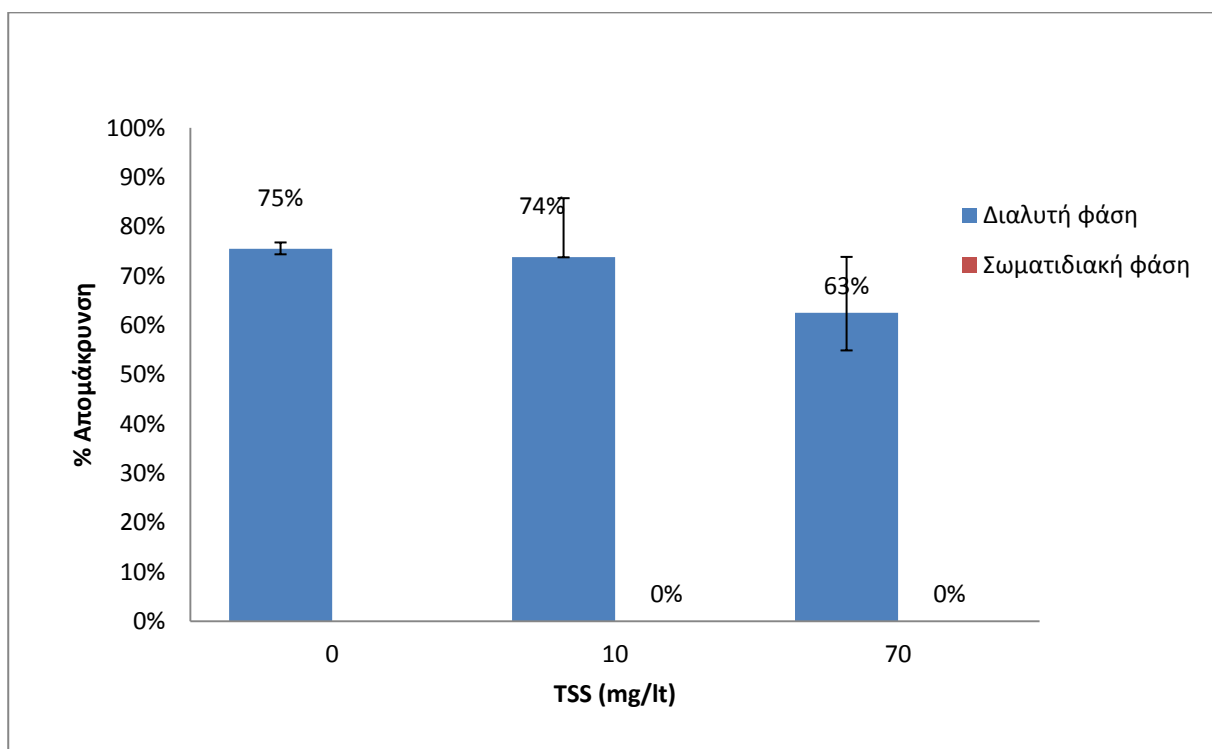


**Σχήμα 5.36:** Ολική Απομάκρυνση της ibuprofen για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Η ολική απομάκρυνση της IBF, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.36, κυμαίνεται όπως αναμενόταν σε χαμηλά επίπεδα, 10%, 9% και 8% για TSS 0, 10, 70 mg/l, καθώς το η IBF δεν αντιδρά αποτελεσματικά με το χλώριο.

#### 5.4.2 Ναπροξένη (NPX)

Κατόπιν η ουσία που μελετήθηκε κατά τη χλωρίωση της για τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις στερεών (0,10 και 70 mg/l) ήταν η NPX. Η αρχική συγκέντρωση της ουσίας ήταν 1000 ng/l και η δόση χλωρίου 15 mg/l.



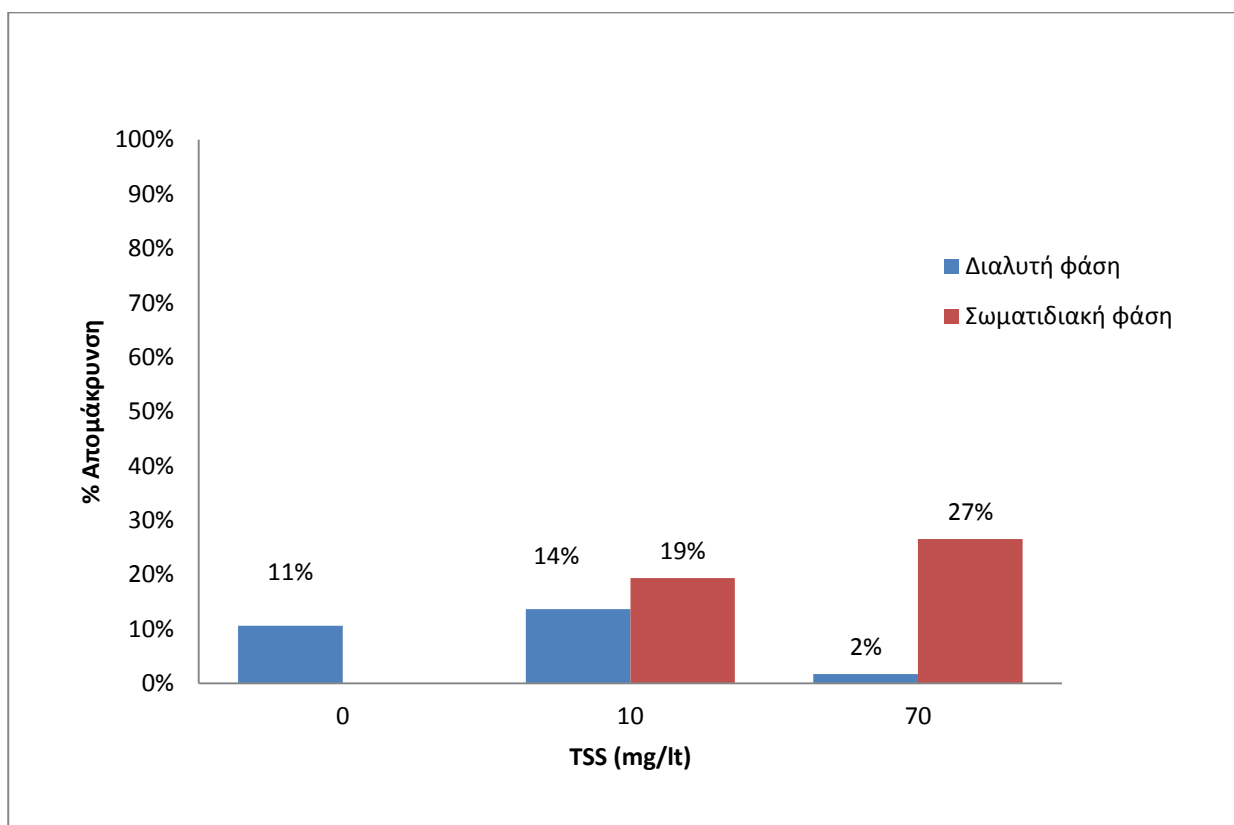
**Σχήμα 5.37:** Απομάκρυνση της παροξεν στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.37 η απομάκρυνση είναι αρκετά ικανοποιητική, όπως αναμενόταν από προηγούμενων κύκλων πειραμάτων, για όλες τις τιμές αιωρούμενων στερεών. Πιο συγκεκριμένα καταγράφηκε 75%, 74% και 63% για συγκεντρώσεις στερεών 0, 10, 70 mg/l. Παρόλα αυτά δεν παρατηρήθηκε καμία απομάκρυνση στην σωματιδιακή φάση. Αυτό είναι αναμενόμενο, αν πάρουμε υπόψιν ότι η NPX είναι μια αρκετά υδροφιλική ουσία (log Kow 3.2) που δεν προσροφάται σχεδόν καθόλου στα στερεά. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν ότι για τιμές αιωρούμενων στερεών 10 και 70 mg/l οι προσροφήσεις ήταν αμελητέες.

Παρατηρείται ότι όσο αυξάνει η συγκέντρωση του ολικού οργανικού άνθρακα τόσο μειώνεται το ποσοστό απομάκρυνσης και για τις δύο διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου. Αυτό οφείλεται, στο ότι τα οργανικά υλικά απαιτούν χλώριο για την οξείδωσή τους και έτσι λιγότερο διαθέσιμο χλώριο παραμένει για την οξείδωση των φαρμακευτικών ουσιών. Παρόλα αυτά φαίνεται ότι δεν επηρεάζεται σημαντικά το ποσοστό απομάκρυνσης.

### 5.4.3 Κετοπροφαίνη (KFN)

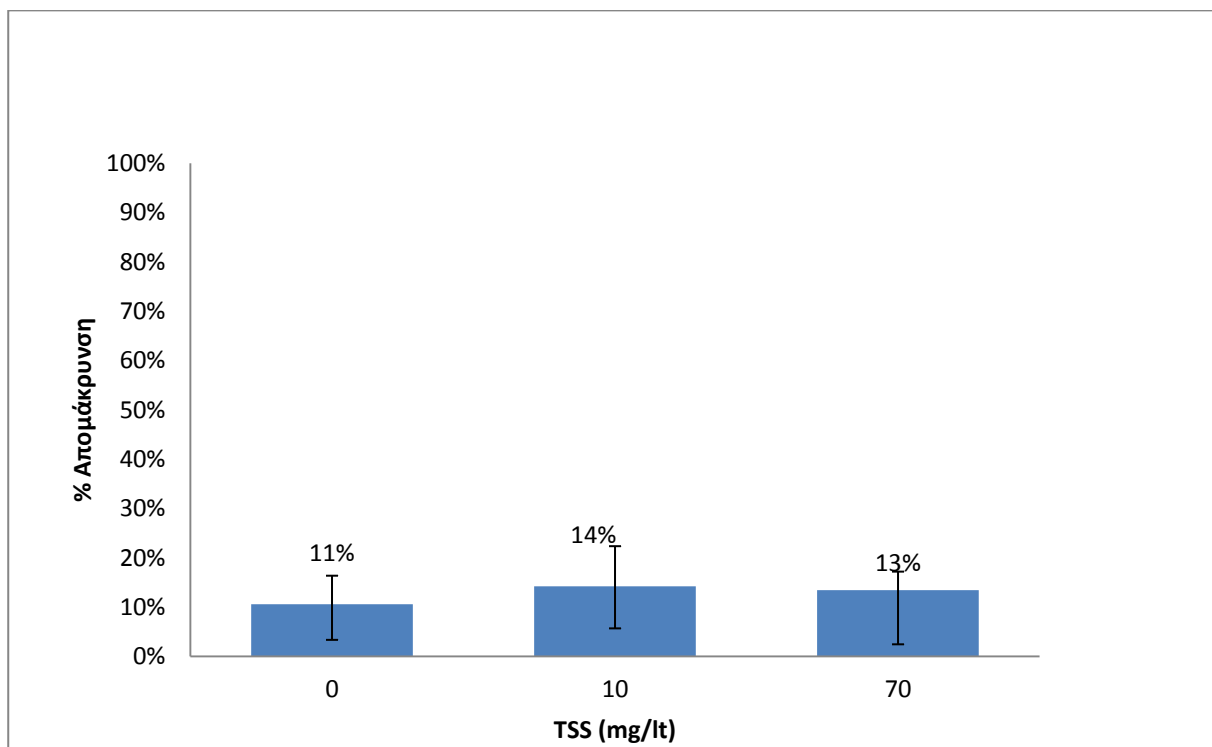
Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση του χλωρίου στην KFN για διαφορετικές συγκεντρώσεις ολικών στερεών. Η αρχική δόση της ουσίας ήταν 1000 ng/l και του χλωρίου 15mg/l.



**Σχήμα 5.38:** Απομάκρυνση της ketoprofen στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Η KFN, όπως και η IBF, έχει ελάχιστη δραστηριότητα με το χλώριο λόγω της δομής της, όπως έχει αναφερθεί στον προηγούμενο κύκλο πειραμάτων. Σε αυτό οφείλονται οι χαμηλές τιμές απομάκρυνσης που παρατηρούνται τόσο στη διαλυτή όσο και στη στερεή φάση. Ωστόσο, παρατηρείται αυξημένη σωματιδιακή απομάκρυνση 19% και 27% για TSS 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Θεωρείται σκόπιμο να αναφερθεί ότι αν και η ποσοστιαία απομάκρυνση φαίνεται να είναι υπολογίσιμη, εν τούτοις οι συγκεντρώσεις που αντιστοιχούν οι απομακρύνσεις είναι αμελητέες της τάξης των ng/l. Αυτό φαίνεται και στην χαμηλή ολική απομάκρυνση της ουσίας (Σχήμα 5.38) για TSS 70 mg/l.

Η KFN είναι υδρόφιλη ουσία με χαμηλή προσρόφηση στα στερεά. Στα πειράματα της παρούσας εργασίας βρέθηκε προσρόφηση 3% και 2% για TSS 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Οπότε είναι αντιληπτό ότι οι συγκεντρώσεις στην σωματιδιακή φάση είναι σε επίπεδο ιχνών, που καθιστά δύσκολη τη διεξαγωγή αξιόπιστων συμπερασμάτων.

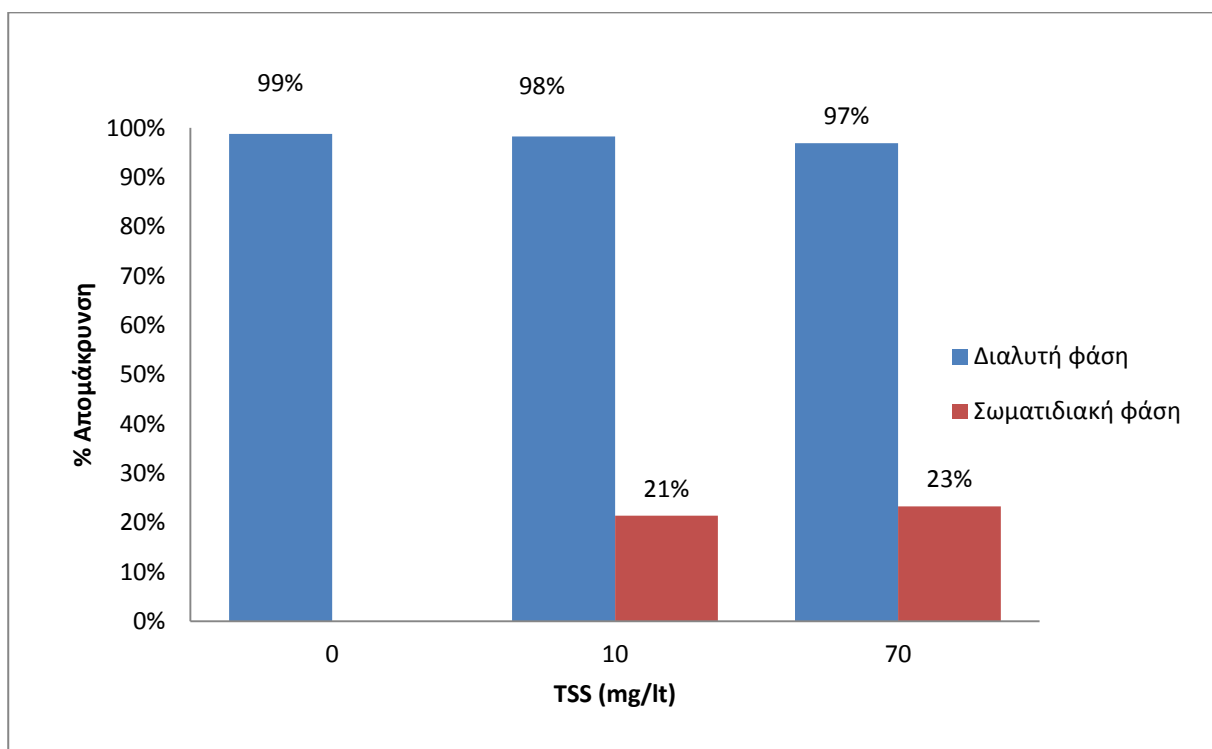


**Σχήμα 5.39:** Ολική Απομάκρυνση της ketoprofen για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Στο Σχήμα 5.39 φαίνεται ότι η ολική απομάκρυνση της KFN , όπως αναμενόταν από προηγούμενο κύκλο πειραμάτων, είναι αρκετά χαμηλή ανεξαρτήτου συγκεντρώσεως στερεών. Πιο συγκεκριμένα, τα ποσοστά απομάκρυνσης είναι 11%, 14% και 13% για TSS 0 mg/l, 10 mg/l και 70 mg/l αντίστοιχα. Φαίνεται ότι η συγκέντρωση των στερεών δεν επηρεάζει την χαμηλή απομάκρυνση της ουσίας.

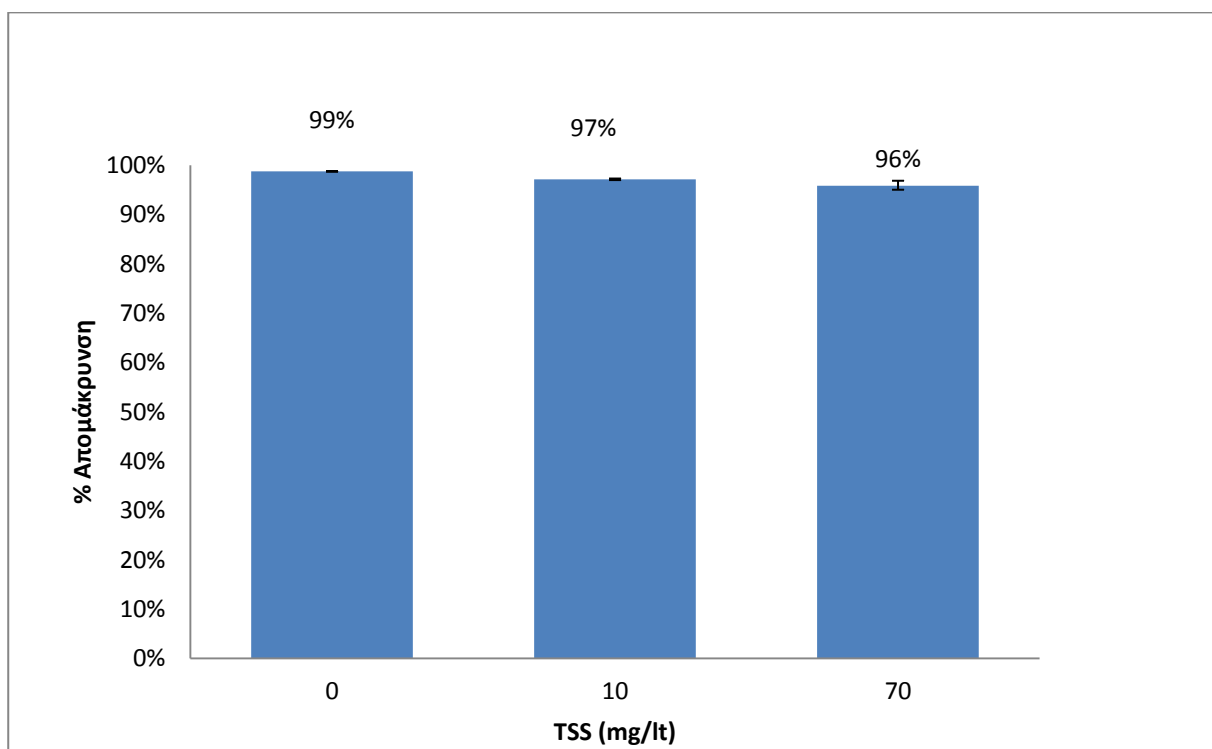
#### 5.4.4 Δικλοφαινάκη (DCF)

Επίσης μελετήθηκε η επίδραση του χλωρίου στην DCF για διαφορετικές συγκεντρώσεις ολικών στερεών. Η αρχική δόση της ουσίας ήταν 1000 ng/l και του χλωρίου 15mg/l.



**Σχήμα 5.40:** Απομάκρυνση της diclofenac στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Παρατηρείται ότι η απομάκρυνση της DCF στην διαλυτή φάση ήταν αρκετά υψηλή για όλες τις συγκεντρώσεις των στερεών. Για TSS 0, 20 και 70 mg/l έφτασε τα 99%, 98% και 97%. Αυτό υποδεικνύει ότι τα στερεά, τουλάχιστον για τις συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, δεν επηρεάζουν την απομάκρυνση της DCF. Στη σωματιδιακή φάση, παρατηρείται απομάκρυνση 21% και 23% για TSS 10 και 70 mg/l. Η απομάκρυνση αυτή δεν είναι ικανοποιητική αλλά η DCF είναι μια ουσία υδρόφιλη, η οποία προσροφάται ελάχιστα στα στερεά. Βρέθηκε ότι για TSS 10 και 70 mg/l η προσρόφηση ήταν 1%. Άρα τα επίπεδα των συγκεντρώσεων στην σωματιδιακή απομάκρυνση ήταν πολύ μικρά και έτσι δεν μπορούν να εξαχθούν αξιόπιστα συμπεράσματα.

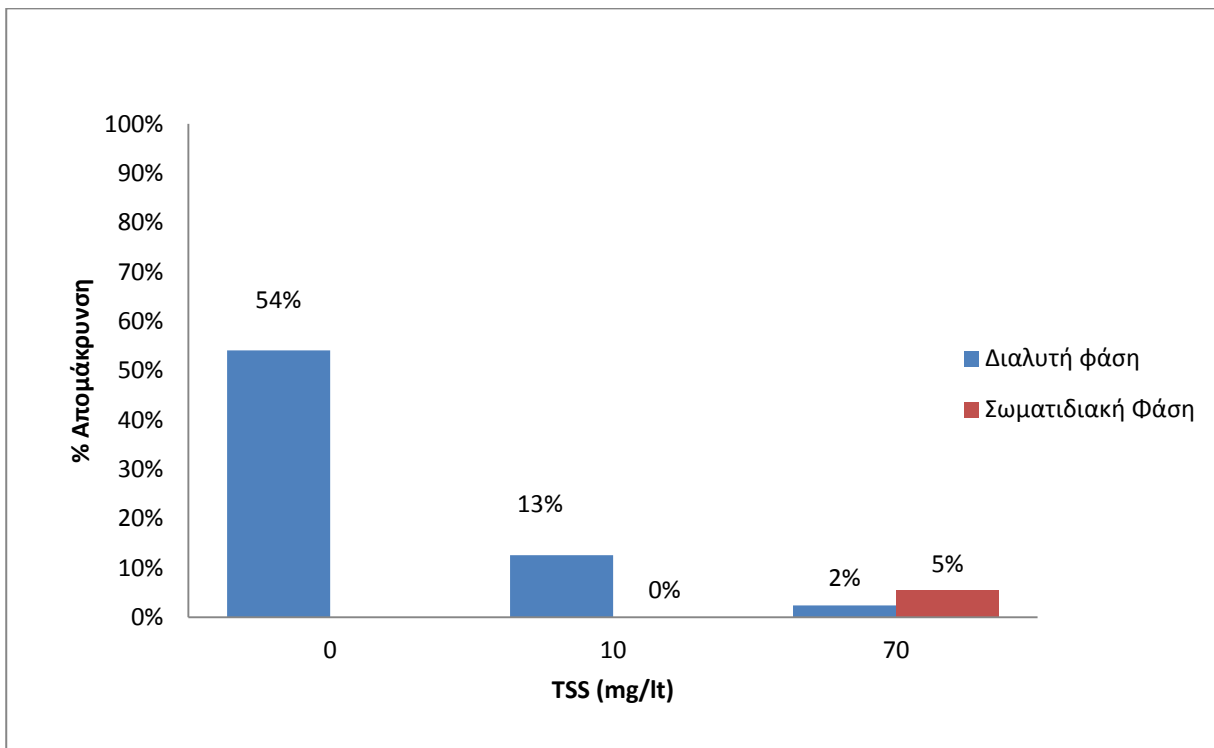


**Σχήμα 5.41:** Ολική Απομάκρυνση της diclofenac για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Η ολική απομάκρυνση της DCF φαίνεται ότι και για τις τρεις συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών ήταν πολύ υψηλή, 99%, 97% και 96% για TSS 0, 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Έτσι συμπεραίνεται ότι για αυτές τις συγκεντρώσεις στερεών δεν επηρεάζεται η υψηλή απομάκρυνση της DCF. Η DCF, σύμφωνα με την βιβλιογραφία και τον προηγούμενο κύκλο πειραμάτων, στο pH που εκτελέστηκαν τα πειράματα, παρουσιάζει μεγάλη δραστηριότητα με το χλώριο. Άρα, είναι αναμενόμενες οι υψηλές απομακρύνσεις που παρατηρήθηκαν.

#### 5.4.5 Εννεϋλοφαινόλη (NP)

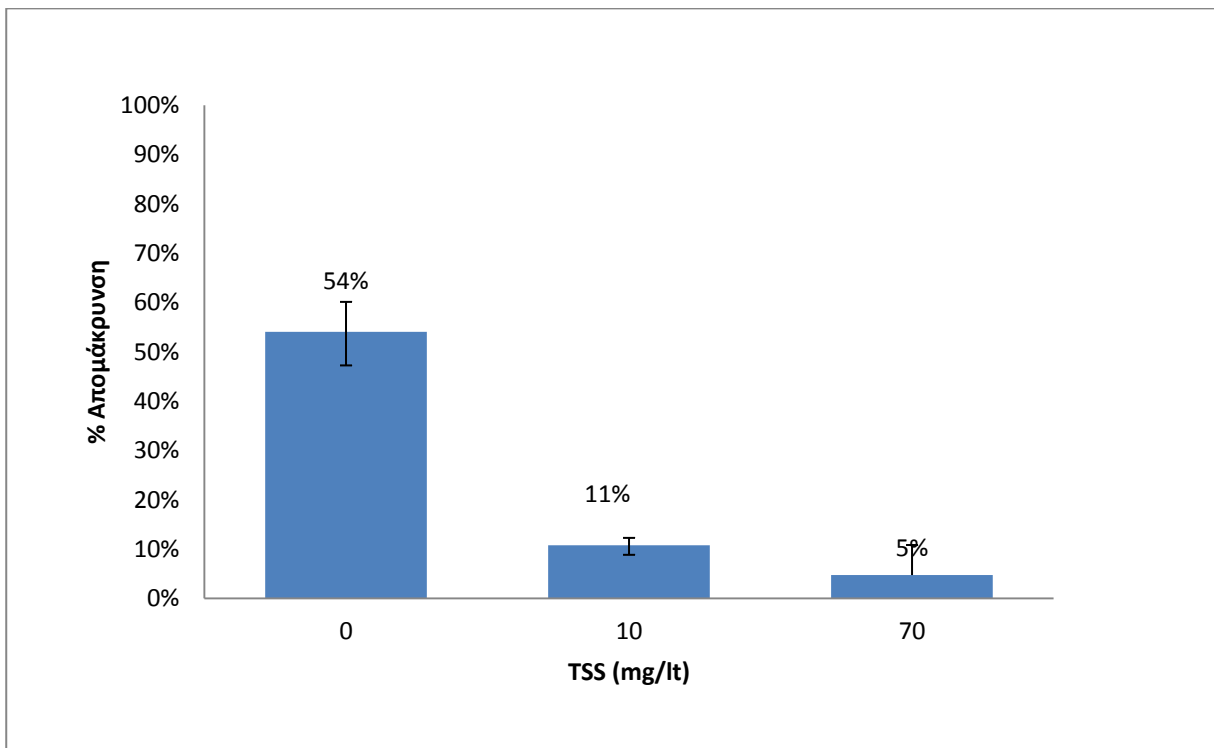
Κατόπιν η ουσία που μελετήθηκε κατά τη χλωρίωση της για τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις στερεών (0,10 και 70 mg/l) ήταν η NP.



**Σχήμα 5.42:** Απομάκρυνση της polyphenol στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Για την NP παρατηρήθηκε απομάκρυνση 54%, 13% και 2% για TSS 0, 10 και 70 mg/l στην διαλυτή φάση και μόλις 5% απομάκρυνση για TSS 70 mg/l στην σωματιδιακή φάση.

Αξίζει να επαναληφθεί ότι αυτόν τον κύκλο πειραμάτων καθώς και σε προηγούμενους κύκλους υπήρξε πρόβλημα στην μέτρηση και καταγραφή της συγκέντρωσης των στερεών κατά την πειραματική διαδικασία. Για αυτό το λόγο παρουσιάστηκαν κάποιες εσφαλμένες τιμές στα πειράματα που υπήρχαν στερεά στα δείγματα (πειράματα για διαφορετικές τιμές pH και πειράματα με προθήκη στερεών) στις ουσίες που προσροφώνται ισχυρά στη στερεή φάση όπως η NP, η NPE1O, η NPE2O και η TCS. Είναι πολύ πιθανόν ουσία που προσροφάται στερεά να μην μπόρεσε να καταγραφεί σε πολλά δείγματα και έτσι οι τιμές απομάκρυνσης να είναι εσφαλμένες. Ωστόσο στην TCS το σφάλμα δεν είναι ορατό, λόγω της πολύ υψηλής απομάκρυνσης της ουσίας.



**Σχήμα 5.43:** Ολική Απομάκρυνση της polystyrene για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

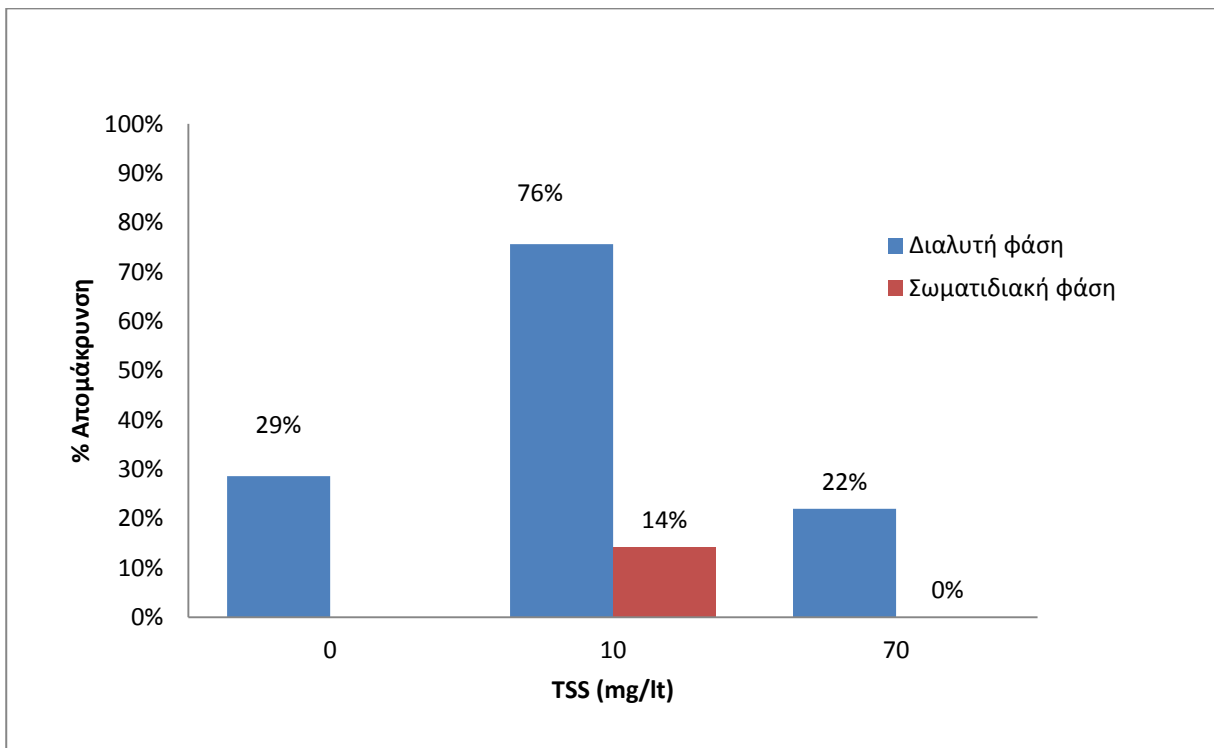
Οι ολικές απομακρύνσεις της NP που παρατηρήθηκαν για TSS 0,10 και 70 mg/l ήταν αντίστοιχα 54, 11 και 5%.

Οι Choi et al. (2006) σε πειράματα που έκαναν σε νερό από ποτάμι της Κορέας, για αρχική συγκέντρωση NP 5.25 ng/l, αρχική δόση χλωρίου 1mg/l ,ολικό οργανικό άνθρακα 2.5-3.1 mg/l, και pH 8.2-8.5 παρατήρησαν απομάκρυνση 5%. Βέβαια οι τιμές δεν είναι συγκρίσιμες καθώς οι πειραματικές συνθήκες είναι διαφορετικές.

#### **5.4.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10)**

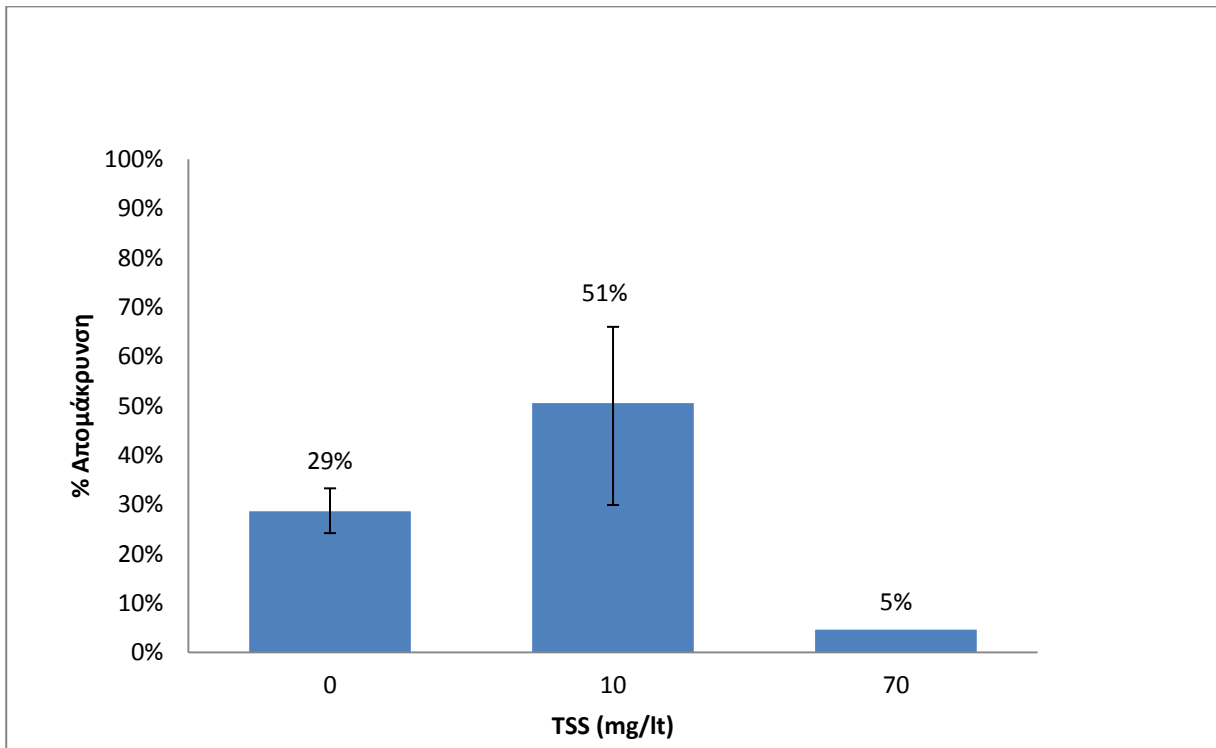
Μελετήθηκε επίσης η NPE10 και η επίδραση που έχει η συγκέντρωση των αιωρούμενων στερεών στην απομάκρυνση της ουσίας με αρχική συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση 15 mg/l.





**Σχήμα 5.44:** Απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Οι απομακρύνσεις που καταγράφηκαν στην διαλυτή φάση είναι 29%, 76% και 22% για TSS 0, 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Αυτή η αλματώδη αύξηση της απομάκρυνσης που παρατηρείται για TSS 10 mg/l είναι μη αναμενόμενη, καθώς εκτός του ότι δεν αναμένεται αύξηση, υπάρχει απότομη αύξηση για την προσθήκη μόνο 10 mg/l στερεών. Η NPE10 βρέθηκε, ως υδροφοβική ουσία, ότι προσροφήθηκε 23% και 25% για TSS 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Ωστόσο απομάκρυνση παρατηρήθηκε μόνο μόνο για TSS 10 mg/l 14%. Για TSS 70 mg/l δεν παρατηρήθηκε καμία απομάκρυνση στη σωματιδιακή φάση.

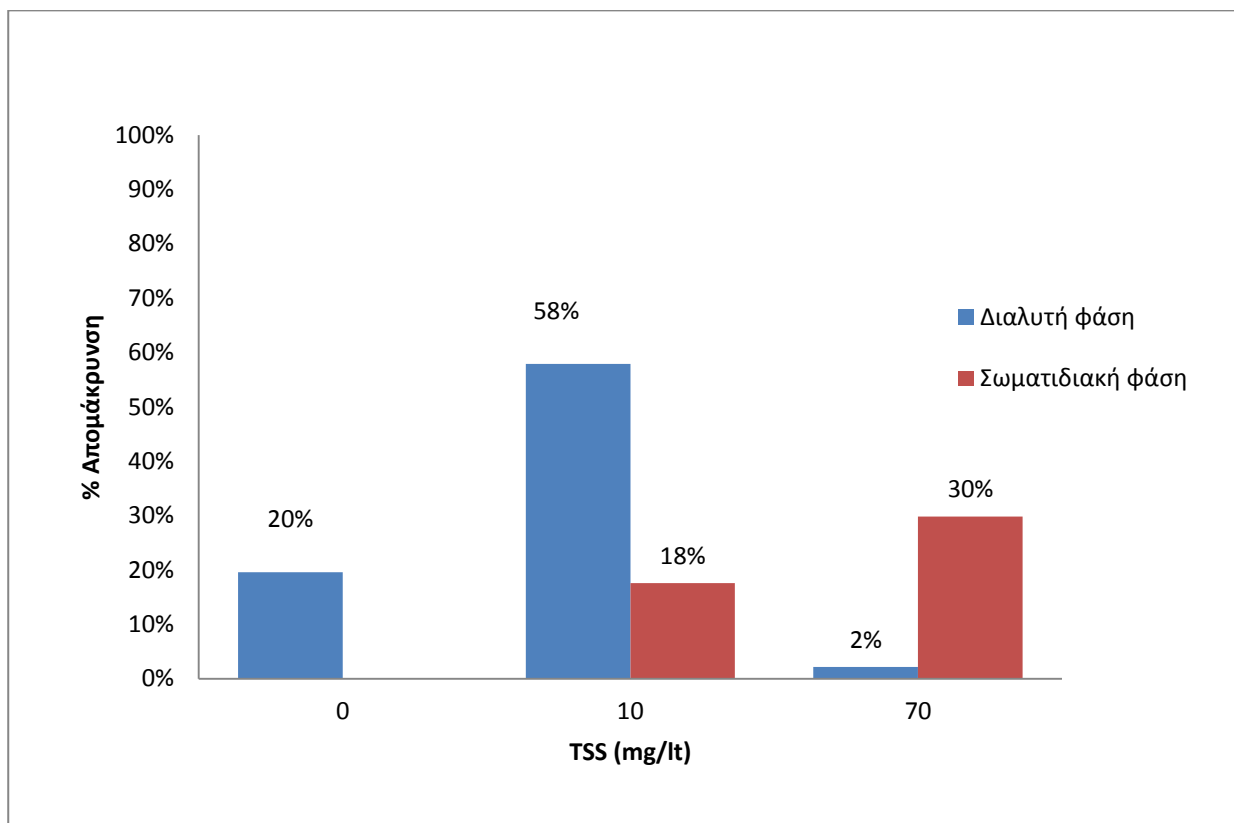


**Σχήμα 5.45:** Ολική Απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Όσον αναφορά την ολική απομάκρυνση παρατηρείται μια μέγιστη απομάκρυνση 68% για TSS 10 mg/l ενώ για TSS 70 mg/l η απομάκρυνση της ουσίας φτάνει στο 5%.

#### 5.4.7 Διαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE2O)

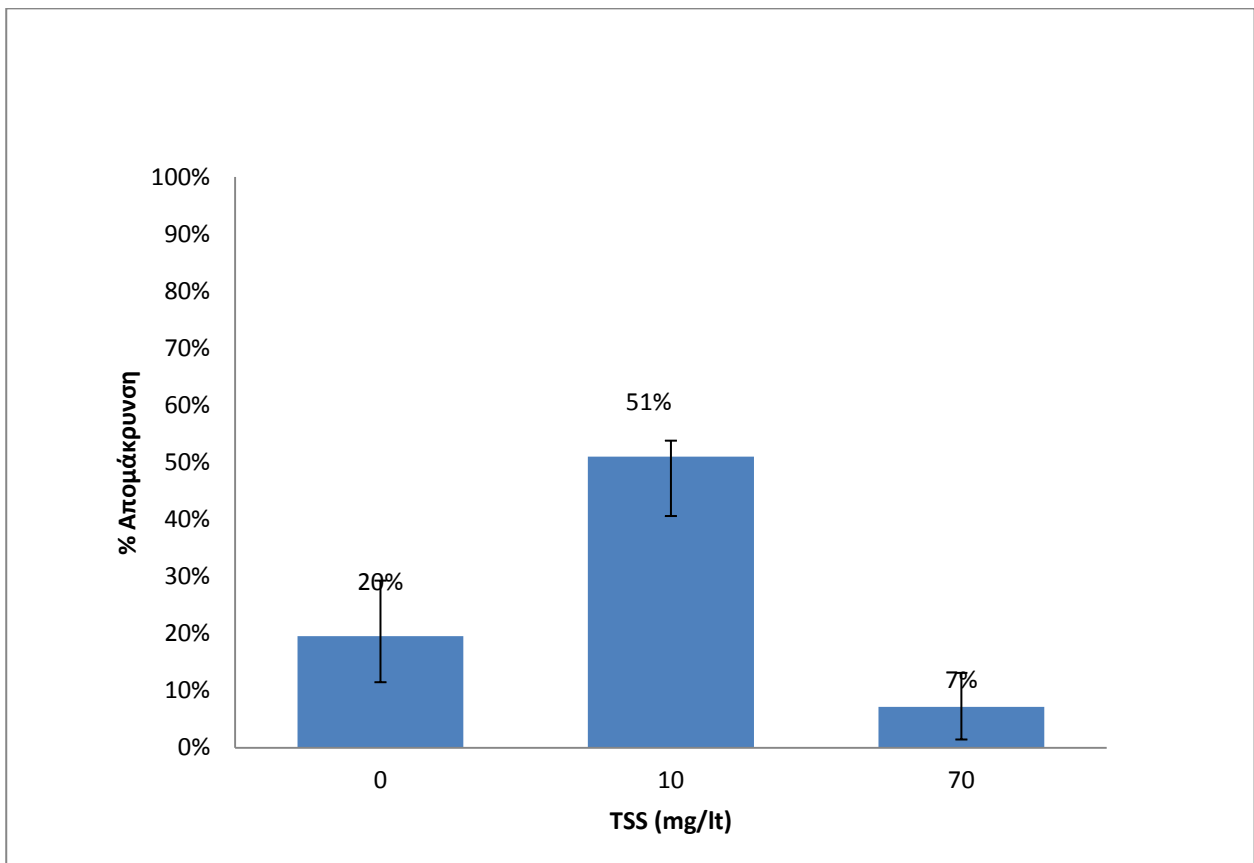
Έπειτα μελετήθηκε η NP2EO και η επίδραση που έχουν οι διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών στην απομάκρυνση της ουσίας για αρχική συγκέντρωση ουσίας 1000 ng/l και αρχική δόση 15 mg/l.



**Σχήμα 5.46:** Απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Παρατηρείται μια ομοιότητα στην τάση της απομάκρυνσης της ουσίας με αυτής της NP2EO στην διαλυτή φάση. Πράγματι στο Σχήμα 5.46 φαίνεται μια πολύ μεγάλη αύξηση του ποσοστού απομάκρυνσης για TSS 0 mg/l σε 10 mg/l, από 20% σε 58%. Στη συνέχεια διακρίνεται μια αισθητή μείωση για TSS 70 mg/l στο 2%

Στη σωματιδιακή φάση, η NP2EO προσροφήθηκε 16% και 26% για TSS 10 και 70 mg/l αντίστοιχα.

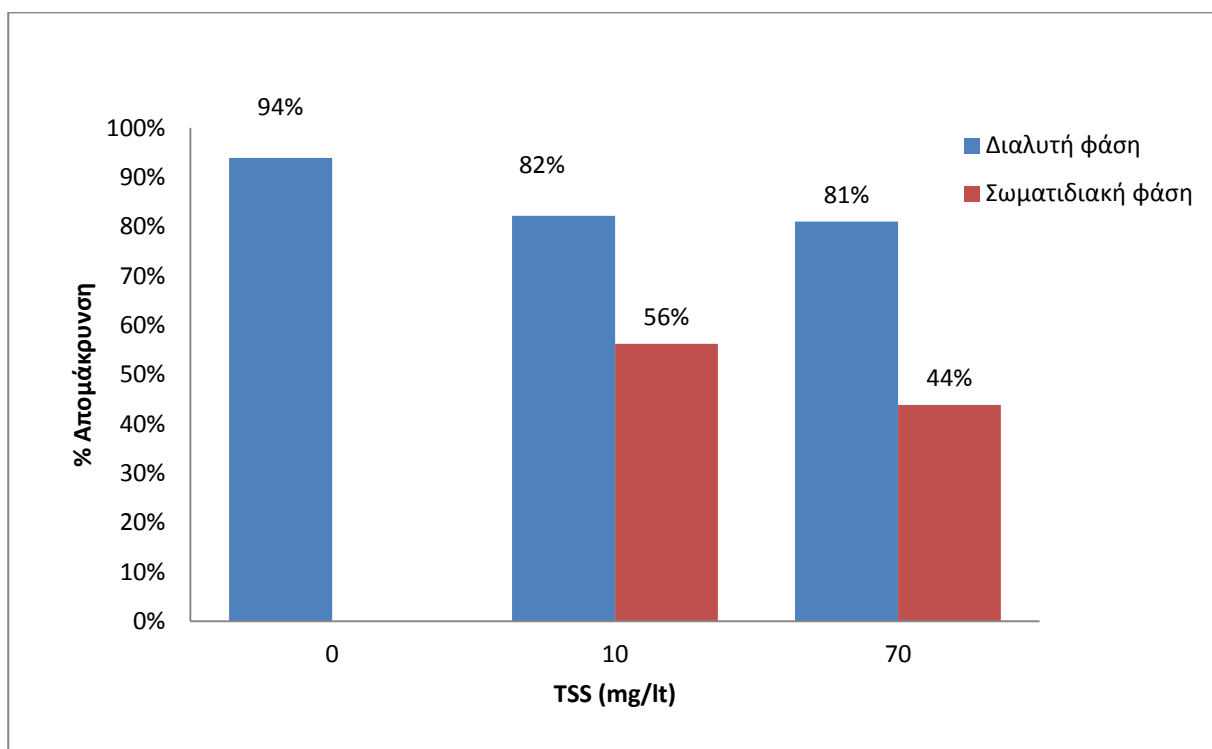


**Σχήμα 5.47:** Ολική Απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Η ολική απομάκρυνση της NPE2O ακολουθεί την τάση της NPE1O. Παρατηρούνται απομακρύνσεις 20%, 51% και 7% για TSS 0 mg/l, 10 mg/l και 70 mg/l. Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι αναμενόμενα, καθώς σύμφωνα με προηγούμενο κύκλο πειραμάτων η δραστηριότητα της NPE20 είναι χαμηλή με το χλώριο και έτσι αναμενότουσαν χαμηλότερες απομακρύνσεις.

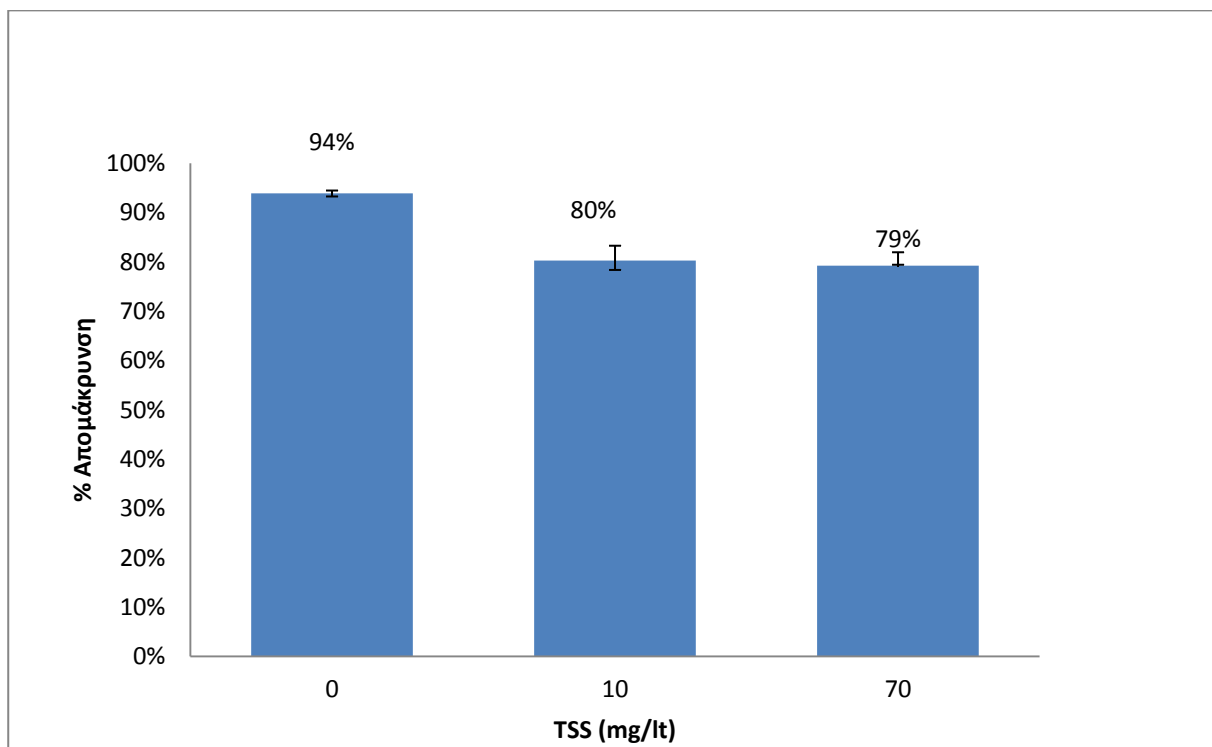
#### 5.4.8 Τρικλοζάνη (TCS)

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση του χλωρίου στην απομάκρυνση της TCS για διαφορετικές δόσεις αιωρούμενων στερεών 0, 10 και 70 mg/l. Η αρχική συγκέντρωση της ουσίας ήταν 1000 ng/l ενώ η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l.



**Σχήμα 5.48:** Απομάκρυνση της triclosan στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Η ουσία παρουσίασε υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης για όλες τις τιμές των αιωρούμενων στερεών. Παρατηρήθηκε όμως μια μικρή μείωση από 94% σε 82% ενώ δεν φαίνεται να επηρεάστηκε η αύξηση των αιωρούμενων στερεών σε 70 mg/l όπου σημειώθηκε ποσοστό απμάκρυνσης 81%. Στα στερεά η προσρόφιση ήταν 7% και για τις δυο τιμές αιωρούμενων στερεών και η απομάκρυνση που παρατηρήθηκε ήταν 56 % και 44% για TSS 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Γενικά, φαίνεται από το Σχήμα 5.48 ότι τα ποσοστά απομάκρυνσης δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την παρουσία των στερεών.

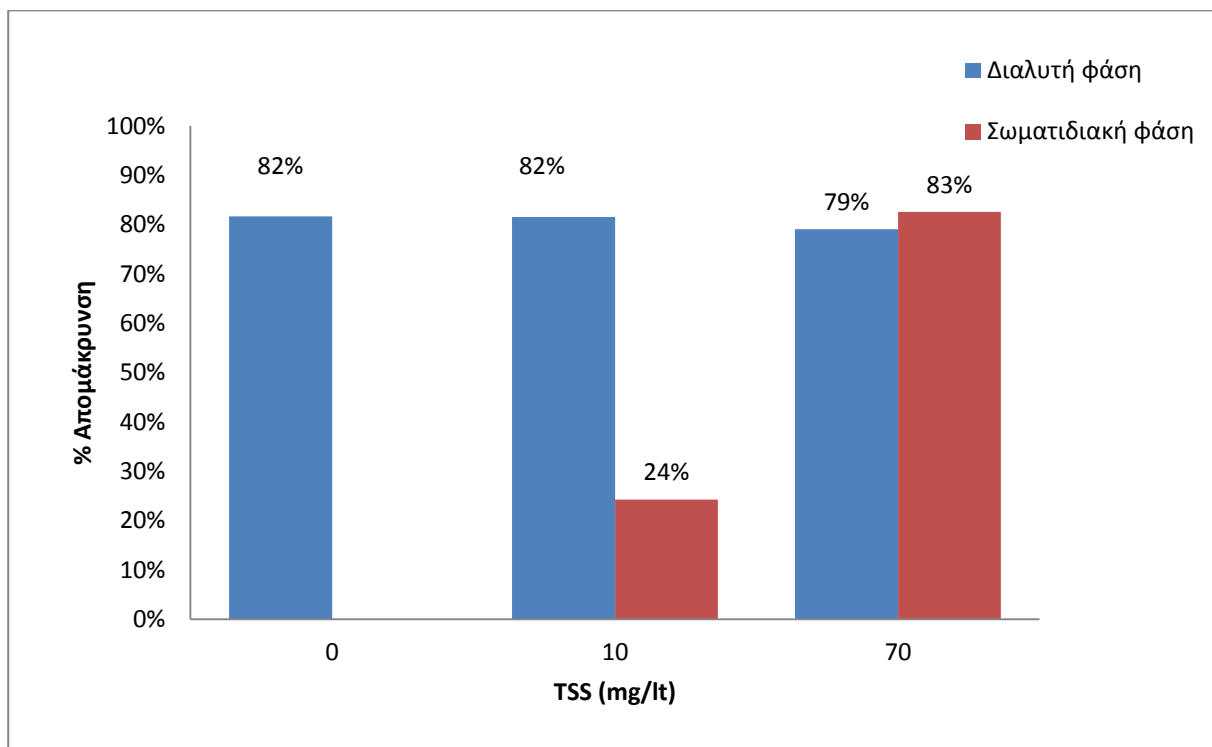


**Σχήμα 5.49:** Ολική Απομάκρυνση της triclosan για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Όσον αφορά την ολική απομάκρυνση της TCS τα αποτελέσματα ήταν αρκετά ικανοποιητικά, 94%, 80 και 79% για TSS 0, 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν αναμενόμενα, δεδομένου της μεγάλης δραστηριότητας του χλωρίου με την ουσία. Τα στερεά, στις συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, φαίνεται να έχουν μικρή επιρροή στα ποσοστά απομάκρυνσης της ουσίας.

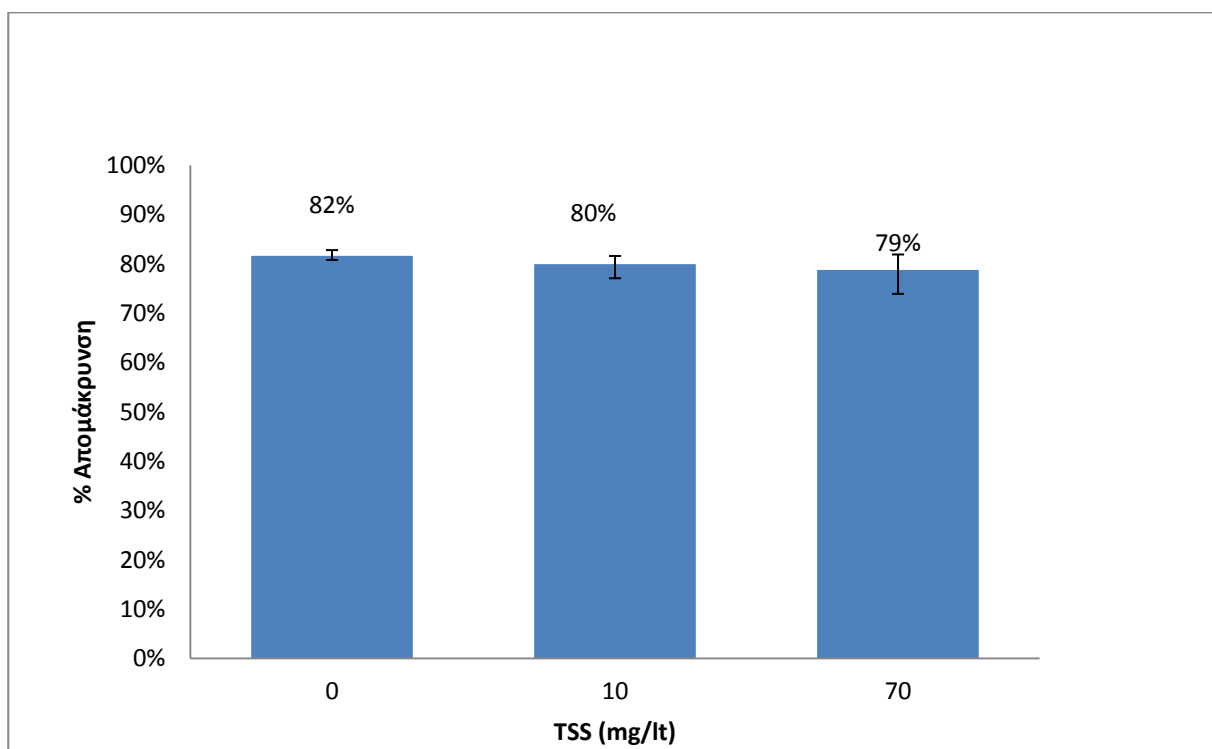
#### 5.4.9 Βισφαινόλη (BPA)

Τέλος, μελετήθηκε η συμπεριφορά της φαρμακευτικής ουσίας BPA κατά τη χλωρίωση σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αιωρούμενων στερεών.



**Σχήμα 5.50:** Απομάκρυνση της bisphenol στην διαλυτή και σωματιδιακή φάση για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Παρατηρήθηκε, ότι στη διαλυτή φάση, η διαφορετική συγκέντρωση στερεών δεν επηρέασε τα ποσοστά απομάκρυνσης της ουσίας τα οποία ήταν αρκετά ικανοποιητικά, 82%, 82% και 79% για TSS 0, 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Αντίθετα, στην σωματιδιακή φάση παρατηρείται απομάκρυνση 24% για TSS 10 mg/l και 83% για TSS 70 mg/l. Όμως έχοντας υπόψη ότι η προσρόφηση στα στερεά της ουσίας είναι πολύ χαμηλή 3% και 1% για TSS 10 mg/l και 70 mg/l, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα λόγω ευαισθησίας της μεθόδου καθώς οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν είναι σε επίπεδα ιχνών.



**Σχήμα 5.51:** Ολική Απομάκρυνση της bisphenol για διαφορετικές τιμές αιωρούμενων στερεών

Όπως φαίνεται από το Σχήμα 5.51 η συνολική απομάκρυνση της BPA είναι αρκετά υψηλή ανεξαρτήτου συγκέντρωσης στερεών: 82%, 80% και 79% για TSS 0, 10 και 70 mg/l αντίστοιχα. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα αιωρούμενα στερεά, τουλάχιστον για τις συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν, δεν επηρεάζουν τα ποσοστά απομάκρυνσης της ουσίας, τα οποία είναι αρκετά ικανοποιητικά. Αυτό είναι πολύ πιθανόν να οφείλεται στην μεγάλη δραστηριότητα της ουσίας, για το συγκεκριμένο pH που έγιναν τα πειράματα με το χλώριο.

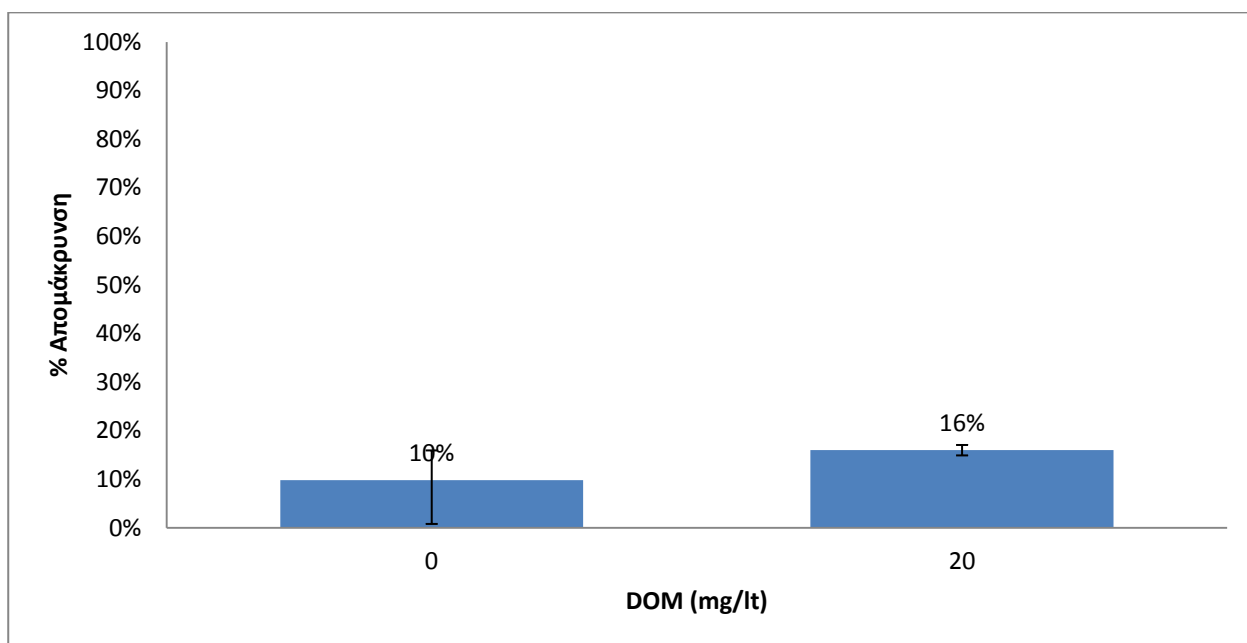
## **5.5 Χλωρίωση δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων με φαρμακευτικές και ενδοκρινικές ουσίες με προσθήκη χουμικών οξέων**

Ο σκοπός του πειράματος είναι να μελετηθεί η επίδραση των χουμικών οξέων στην απομάκρυνση των ουσιών κατά τη χλωρίωση διηθημένων δευτεροβάθμιων επεξεργασμένων λυμάτων. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις χουμικών οξέων, 0 και 20 mg/l για συγκεκριμένη δόση χλωρίου 85 mg/min·l, αρχική δόση χλωρίου 15mg/l και pH 7.5.

### **5.5.1 Ιβουπροφαίνη (IBF)**

Η πρώτη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση των χουμικών οξέων στην απομάκρυνση της κατά τη χλωρίωση ήταν η IBF. Οι συγκεντρώσεις χουμικών οξέων που μελετήθηκαν ήταν 0 και 20 mg/l, η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.





**Σχήμα 5.52:** Απομάκρυνση της ibuprofen για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων.

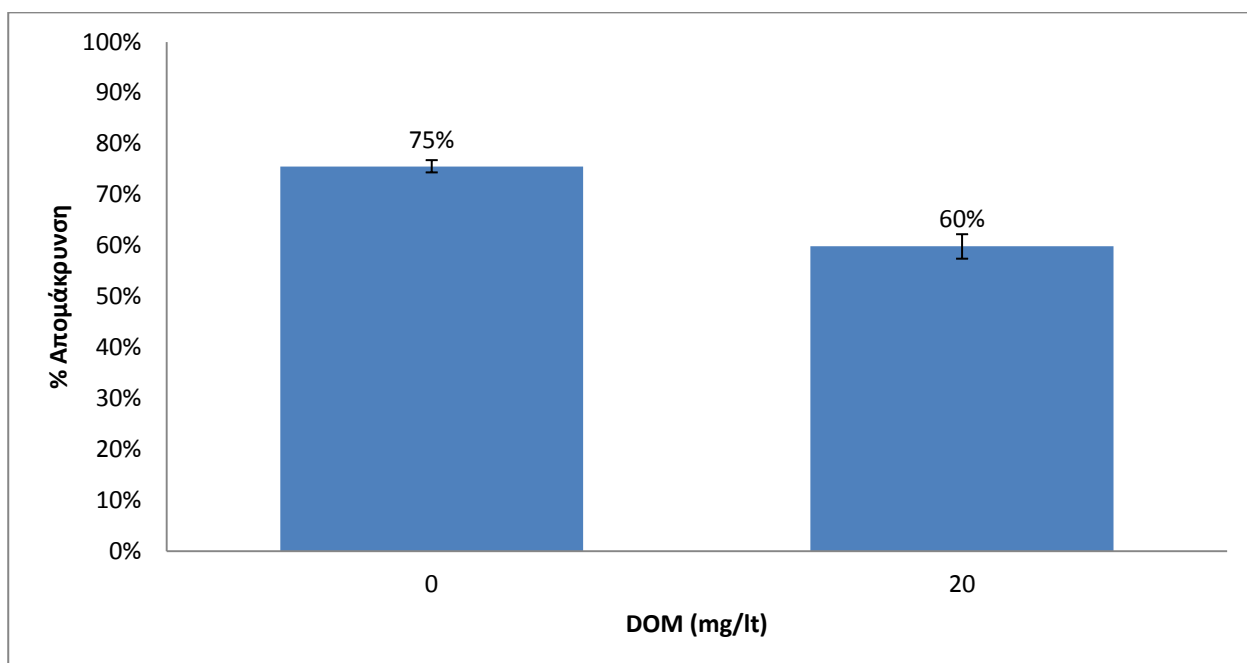
Παρατηρείται από το Σχήμα 5.52 ότι η προσθήκη χουμικών οξέων δεν επηρέασε σημαντικά την απομάκρυνση της ibuprofen. Η απομάκρυνση πριν την προσθήκη χουμικών ήταν 10% ενώ για συγκέντρωση χουμικών οξέων 20 mg/l, η απομάκρυνση ανέβηκε μόλις στο 16%. Η δραστηριότητα της IBF με το χλώριο είναι γενικά χαμηλή, όπως έχει προαναφερθεί, και η προσθήκη των χουμικών δεν φάνηκε να επηρεάζει το ήδη χαμηλό ποσοστό απομάκρυνσης.

Αντιθέτως οι Wasterhoff et al. (2005) σε πειράματα που έκαναν σε νερά δυο διαφορετικών ποταμών βρήκαν για DOM (dissolved organic matter) =3 mg/l, δόση χλωρίου 3.5 mg/l και χρόνο επαφής 24 ώρες ότι παρατηρήθηκε για την IBF απομάκρυνση 75% ενώ για DOM=3.5 mg/l, δόση χλωρίου 3.8 mg/l και χρόνο επαφής 24 ώρες παρατηρήθηκε απομάκρυνση 30%. Παρατηρείται ότι για λίγο μεγαλύτερη συγκέντρωση DOM, η απομάκρυνση μειώνεται αρκετά.

Βέβαια τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας καθώς πρώτον χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές μήτρες νερού για τα δυο πειράματα και έτσι δεν μπορούν να βγουν ασφαλή συμπεράσματα και δεύτερον τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πραγματικά δείγματα νερού, οπότε μπορεί να έγινε ρόφηση σε συγκεκριμένο υλικό ή βιοδιάσπαση από μικροοργανισμούς που αντέχουν στο χλώριο. Γι αυτό άλλωστε παρατηρούνται υψηλές τιμές απομάκρυνσης της IBF κατι το οποίο δεν είναι αναμενόμενο.

### 5.5.2 Ναπροξένη (NPX)

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση των χουμικών οξέων στην απομάκρυνση της NPX κατά τη χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χουμικών οξέων που μελετήθηκαν ήταν 0 και 20 mg/l, η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.



**Σχήμα 5.53:** Απομάκρυνση της naproxen για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων.

Η NPX όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.53 παρουσιάζει αρκετά ικανοποιητική απομάκρυνση 75% πριν την προσθήκη χουμικών οξέων. Αυτή η τιμή είναι αναμενόμενη για το pH στο οποίο εκτελέστηκαν τα πειράματα και όπως παρατηρήθηκε σε προηγούμενο κύκλο πειραμάτων. Ωστόσο, μετά την προσθήκη χουμικών συγκέντρωσης 20 mg/l, παρατηρήθηκε μείωση στο ποσοστό απομάκρυνσης στο 60%. Η προσθήκη των χουμικών οξέων είναι πολύ πιθανόν να κατανάλωσε κάποια ποσότητα χλωρίου και έτσι το διαθέσιμο χλώριο για την απομάκρυνση της NPX να μειώθηκε. Για αυτό παρατηρείται μειωμένο ποσοστό απομάκρυνσης.

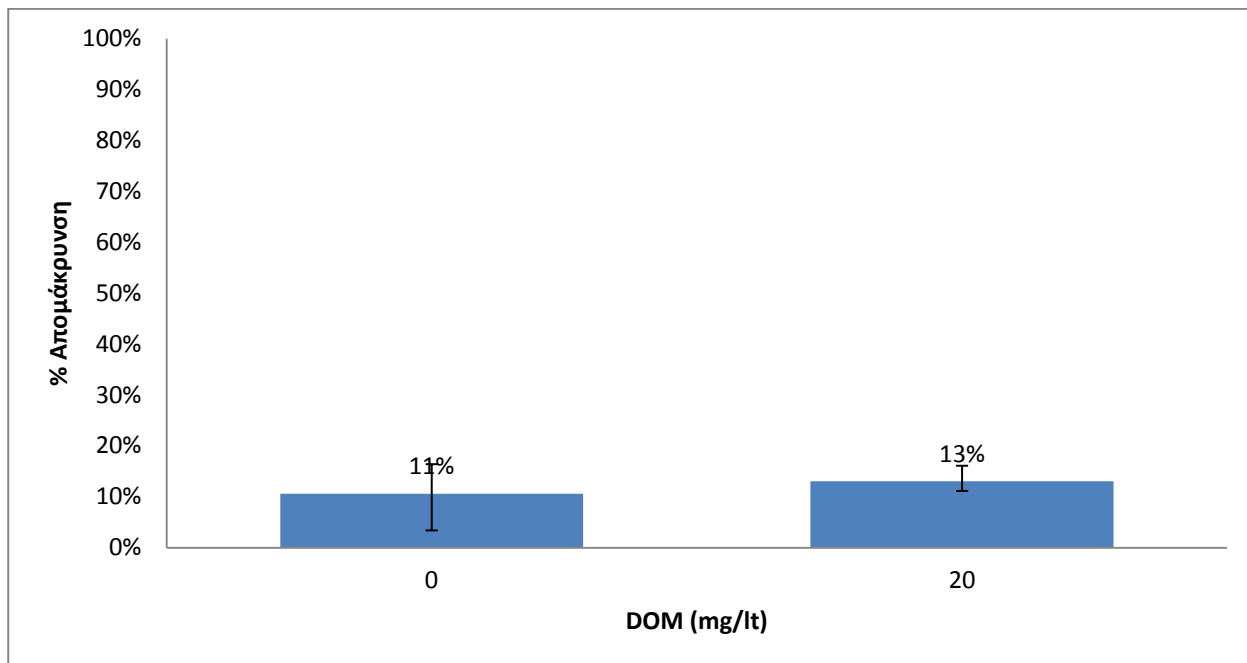
Οι Wasterhoff et al. (2005) σε πειράματα που έκαναν σε νερά δυο διαφορετικών ποταμών βρήκαν για DOM (dissolved organic matter) =3 mg/l, δόση χλωρίου 3.5 mg/l και χρόνο επαφής 24 ώρες καθώς και για DOM=3.5 mg/l, δόση χλωρίου 3.8 mg/l και χρόνο επαφής 24 ώρες παρατηρήθηκε απομάκρυνση 95%. Έτσι φαίνεται ότι η μικρή αύξηση του διαλυτού οργανικού άνθρακα δεν επηρέασε την πολύ υψηλή απομάκρυνση της NPX.

Οι Acero et al.(2010) πραγματοποίησαν πειράματα σε τέσσερις διαφορετικές μήτρες νερού σε δύο αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου. Για  $10^{-5}M$  αρχική δόση χλωρίου, 1μM NPX, pH 7-8 και για μήτρες νερού που περιείχαν 1, 6.9, 16, 22 mg/l ολικό οργανικό άνθρακα παρατηρήθηκαν απομακρύνσεις 15%, 9%, 1%, 0 % αντίστοιχα. Για  $7 \cdot 10^{-5}M$  (5 mg/l) αρχική δόση χλωρίου και για μήτρες νερού που περιείχαν 1, 6.9, 16, 22 mg/l ολικό οργανικό άνθρακα παρατηρήθηκαν απομακρύνσεις 93%, 72%, 56% , 27 % αντίστοιχα.

Παρόλα αυτά πρέπει να σημειωθεί ότι τα παραπάνω αποτελέσματα δεν είναι συγκρίσιμα με αυτά της παρούσας εργασίας, διότι όπως προαναφέρθηκε στην IBF χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές μήτρες νερού για τα δυο πειράματα και έτσι δεν μπορούν να βγουν ασφαλή συμπεράσματα και δεύτερον τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πραγματικά δείγματα νερού οπότε μπορεί να έγινε ρόφηση σε συγκεκριμένο υλικό ή βιοδιάσπαση από μικροοργανισμούς που αντέχουν στο χλώριο.

### 5.5.3 Κετοπροφαίνη (KFN)

Έπειτα μελετήθηκε μια άλλη φαρμακευτική ουσία, η IBF, και η επίδραση των χουμικών οξέων στο ποσοστό απομάκρυνση της κατά τη χλωρίωση. Οι συγκεντρώσεις χουμικών οξέων που μελετήθηκαν ήταν 0 και 20 mg/l, η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.

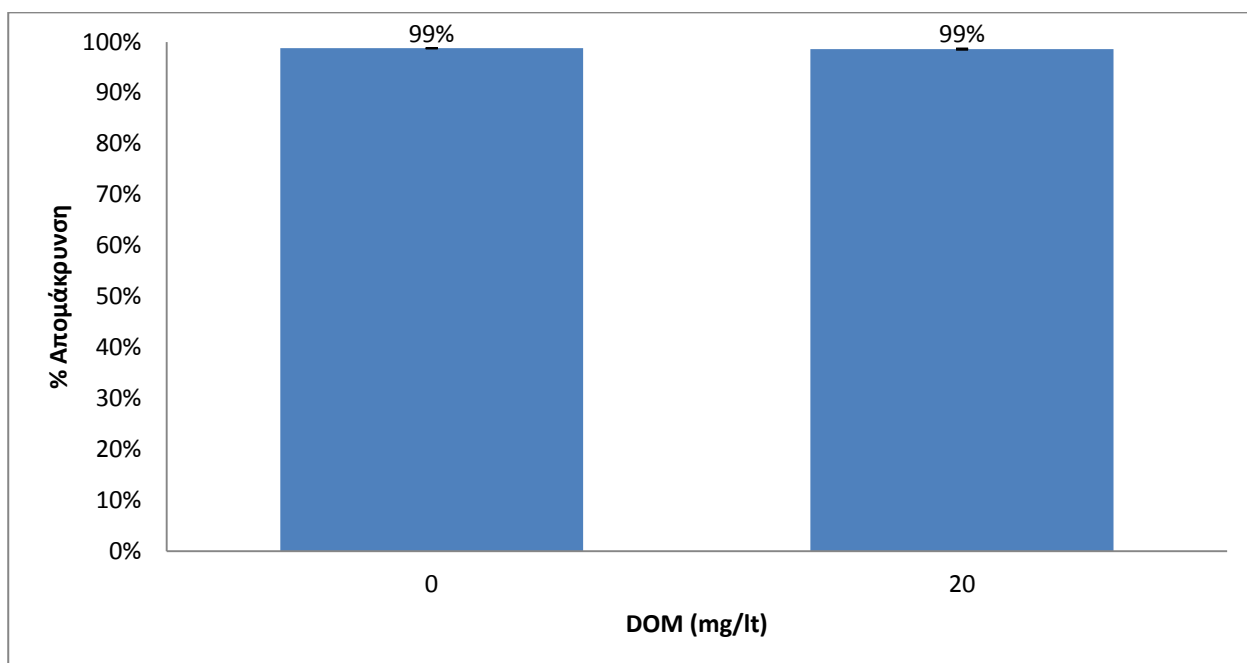


**Σχήμα 5.54:** Απομάκρυνση της παροξεν για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων.

Παρατηρείται ότι για συγκέντρωση 0 και 20 mg/l η απομάκρυνση είναι 11 και 13%. Τα χαμηλά ποσοστά απομάκρυνσης ήταν αναμενόμενα καθώς η δραστηριότητα της KFN με το χλώριο είναι πολύ χαμηλή, όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κύκλο πειραμάτων. Ωστόσο συμπεραίνεται ότι η προσθήκη χουμικών οξέων δεν επηρεάζει το χαμηλό ποσοστό απομάκρυνσης της ουσίας.

### 5.5.4 Δικλοφαινάκη (DCF)

Η τελευταία φαρμακευτική ουσία που μελετήθηκε ήταν η DCF. Οι συγκεντρώσεις χουμικών οξέων που μελετήθηκαν ήταν 0 και 20 mg/l, η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.



**Σχήμα 5.55:** Απομάκρυνση της diclofenac για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων

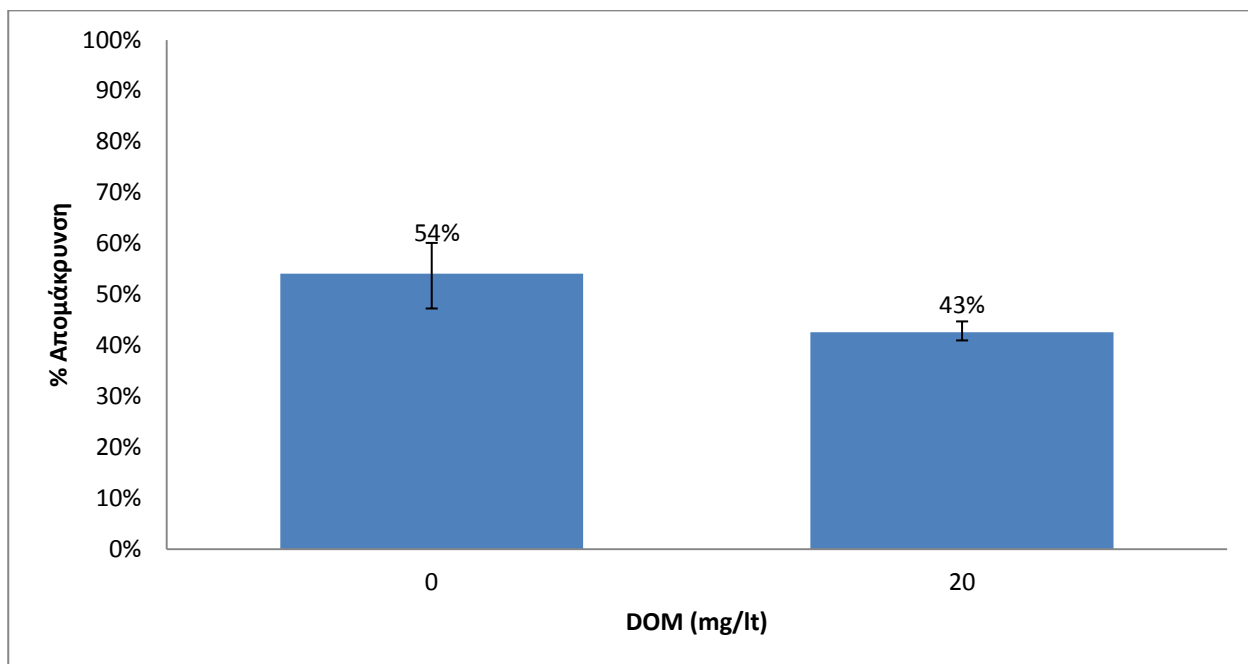
Παρατηρείται ότι και για τις δυο τιμές συγκεντρώσεων του διαλυτού οργανικού άνθρακα 0, 20 mg/l παρατηρήθηκε σχεδόν πλήρη απομάκρυνση της ουσίας (99%). Η υψηλή απομάκρυνση της ουσίας είναι αναμενόμενη για το pH στο οποίο πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα.

Επίσης, οι Wasterhoff et al. (2005) σε πειράματα που έκαναν σε νερά δυο διαφορετικών ποταμών βρήκαν για DOM (dissolved organic matter) =3 mg/l, δόση χλωρίου 3.5 mg/l και χρόνο επαφής 24 ώρες καθώς και για DOM=3.5 mg/l, δόση χλωρίου 3.8 mg/l και χρόνο επαφής 24 ώρες παρατηρήθηκε απομάκρυνση 94% και 97%. Έτσι φαίνεται ότι η μικρή αύξηση του διαλυτού οργανικού άνθρακα δεν επηρέασε την πολύ υψηλή απομάκρυνση της NPX.

Παρόλα αυτά πρέπει να σημειωθεί ότι τα παραπάνω αποτελέσματα δεν είναι συγκρίσιμα με αυτά της παρούσας εργασίας, διότι όπως προαναφέρθηκε στην IBF και στην NPX χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές μήτρες νερού για τα δυο πειράματα και έτσι δεν μπορούν να βγουν ασφαλή συμπεράσματα και δεύτερον τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πραγματικά δείγματα νερού οπότε μπορεί να έγινε ρόφηση σε συγκεκριμένο υλικό ή βιοδιάσπαση από μικροοργανισμούς που αντέχουν στο χλώριο.

### 5.5.5 Εννεϋλοφαινόλη (NP)

Μια άλλη ουσία που μελετήθηκε η επίδραση της χλωρίωσης ήταν η NP. Οι συγκεντρώσεις χουμικών οξέων που μελετήθηκαν ήταν 0 και 20 mg/l, η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.



**Σχήμα 5.56:** Απομάκρυνση της nonylphenol για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων

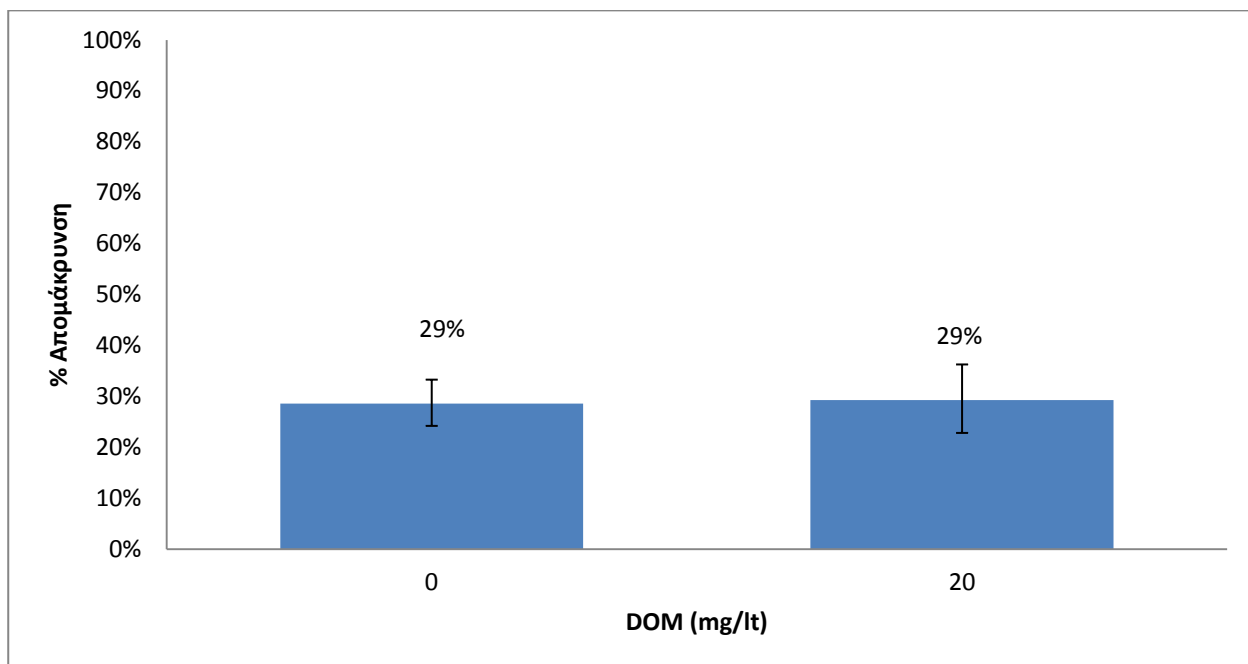
Στο Σχήμα 5.56 φαίνεται ότι η απομάκρυνση της NP χωρίς την προσθήκη χουμικών οξέων είναι 54% και για συγκέντρωση χουμικών οξέων 20 mg/l, η απομάκρυνση μειώνεται στα 43%. Παρατηρείται μια μικρή μείωση του ποσοστού απομάκρυνσης της τάξης του 10% που πιθανότατα οφείλεται στην κατανάλωση μέρος του χλωρίου στην οξείδωση του διαλυτού οργανικού άνθρακα και έτσι λιγότερο χλώριο είναι διαθέσιμο για την οξείδωση τα NP.

Επίσης οι Chen et al. (2013) σε πειράματα που πραγματοποίησαν με αρχική συγκέντρωση NP 1000 ng/l και δόση Cl<sub>2</sub> 1mg/l για t=6 min σε υπερκάθαρο νερό παρατήρησαν απομάκρυνση της ουσίας 43%.

Οι Kantana et al. (2003) μελέτησαν επίσης την επίδραση των χουμικών στην απομάκρυνση της NP. Βρήκαν ότι σε 15 λεπτά αντίδρασης χωρίς την προσθήκη χουμικών το ποσοστό απομάκρυνσης ήταν 75%, για 2.5 mg/l άνθρακα ήταν 70% ενώ για 8.1 mg/l η απομάκρυνση ήταν 60%. Συμπεραίνεται ότι η παρουσία αυξημένων οργανικών υλικών απαιτεί μεγαλύτερη ποσότητα οξειδωτικού παράγοντα (χλώριο), και για αυτό λιγότερη ποσότητα χλωρίου είναι διαθέσιμη για την οξείδωση των φαρμακευτικών ουσιών. Γιαυτό ανιχνεύονται υψηλότερες υπολειμματικές συγκεντρώσεις φαρμακευτικών ουσιών.

### 5.5.6 Μονοαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE10)

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της χλωρίωσης ήταν η DCF. Οι συγκεντρώσεις χουμικών οξέων που μελετήθηκαν ήταν 0 και 20 mg/l, η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.

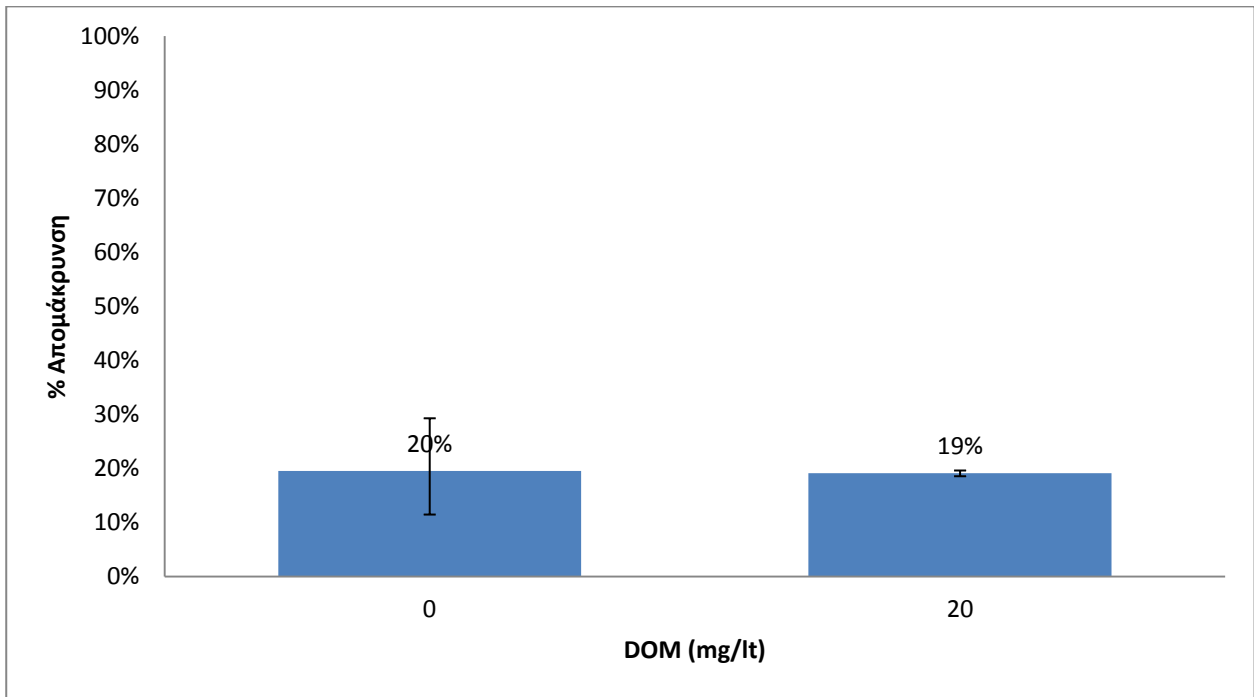


**Σχήμα 5.57:** Απομάκρυνση της nonylphenol monoethoxylate για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων

Στο Σχήμα 5.57 φαίνεται ότι το ποσοστό απομάκρυνσης της NPE10 παραμένει ίδιο (29%) πριν και μετά την προσθήκη χουμικών συγκέντρωσης 20 mg/l. Φαίνεται ότι για την συγκεκριμένη ουσία και για την συγκέντρωση που μελετήσαμε, τα χουμικά οξέα δεν επηρέασαν καθόλου την απομάκρυνση της ουσίας.

### 5.5.7 Διαιθοξυλιωμένη Εννεύλοφαινόλη (NPE20)

Μελετήθηκε ακόμα και η NPE20 και η απομάκρυνση της κατά την χλωρίωση χωρίς και με την προσθήκη χουμικών (20 mg/l). Η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.

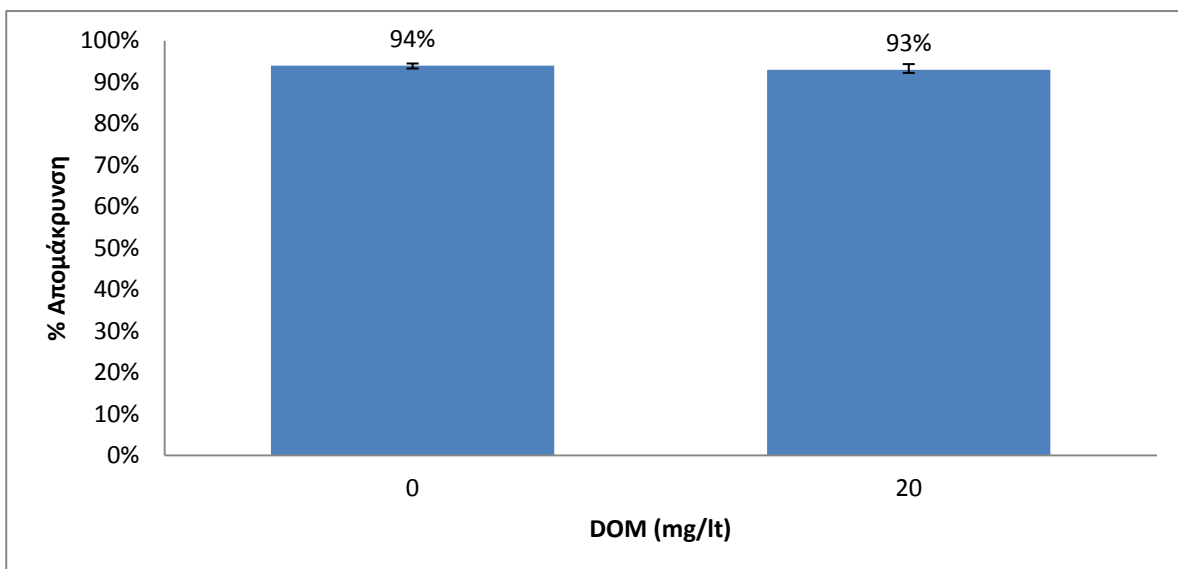


**Σχήμα 5.58:** Απομάκρυνση της nonylphenol diethoxylate για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.58, η συμπεριφορά της NPE2O είναι παρόμοια με τη συμπεριφορά της NPE1O. Πιο συγκεκριμένα το ποσοστό απομάκρυνσης της NPE2O για συγκεντρώσεις 0 και 20 mg/l χουμικών ήταν 20% και 19% αντίστοιχα.

### 5.5.8 Τρικλοζάνη (TCS)

Κατόπιν μελετήθηκε η TCS και το ποσοστό απομάκρυνση της κατά την χλωρίωση χωρίς και με την προσθήκη χουμικών (20 mg/l). Η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng/l.

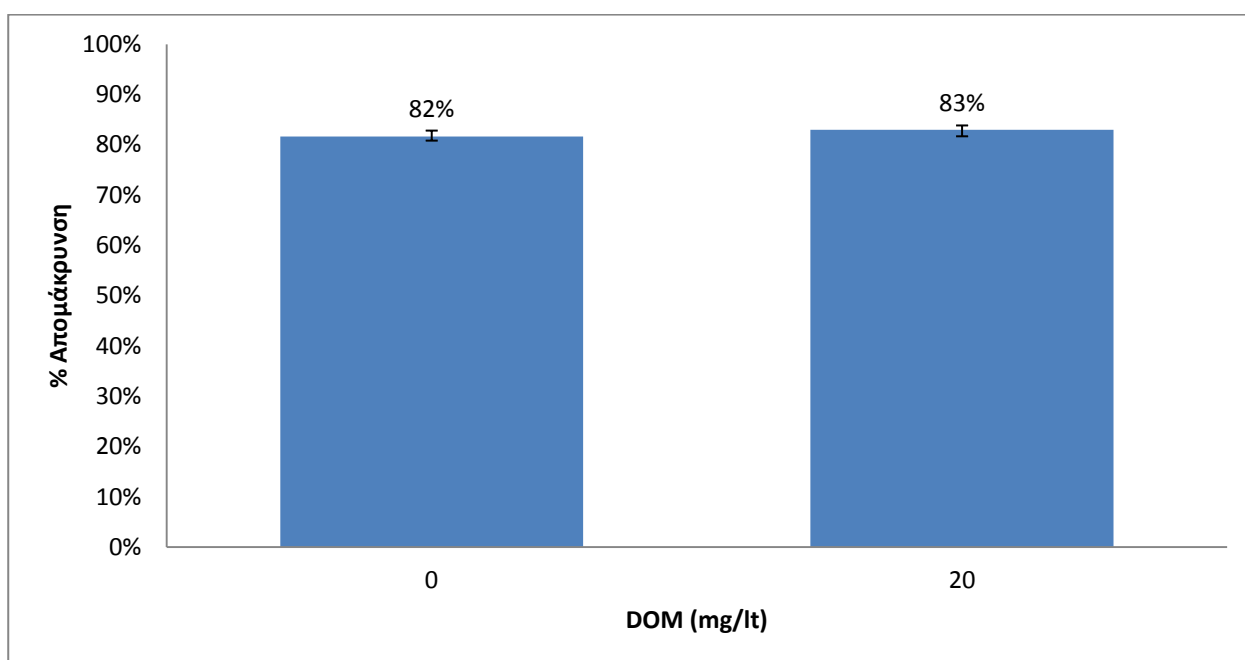


**Σχήμα 5.59:** Απομάκρυνση της triclosan για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων

Η απομάκρυνση της ουσία ήταν πολύ υψηλή και χωρίς την προσθήκη χουμικών οξέων, 94% και με την προσθήκη χουμικών συγκέντρωσης 20 mg/l, 93%. Η υψηλή απομάκρυνση της ουσία ήταν αναμενόμενη λόγω της μεγάλης δραστηριότητας της με το χλώριο. Ωστόσο φαίνεται ότι το ποσοστό απομάκρυνσης της ουσίας δεν επηρεάζεται καθόλου από την προσθήκη χουμικών, τουλάχιστον για την συγκέντρωση που μελετήσαμε.

### 5.5.9 Βισφαινόλη (BPA)

Τέλος μελετήθηκε η επίδραση των χουμικών στερεών κατά τη χλωρίωση στην απομάκρυνση της BPA. Η αρχική δόση χλωρίου 15 mg/l και η αρχική δόση ουσίας 1000 ng /l.



**Σχήμα 5.60:** Απομάκρυνση της bisphenol για διαφορετικές τιμές χουμικών οξέων

Η απομάκρυνση της ουσία ήταν αρκετά υψηλή και χωρίς την προσθήκη χουμικών οξέων, 82% και με την προσθήκη χουμικών συγκέντρωσης 20 mg/l, 83%. Η υψηλή απομάκρυνση της ουσία ήταν αναμενόμενη λόγω της μεγάλης δραστηριότητας της με το χλώριο. Ωστόσο και εδώ φαίνεται ότι το ποσοστό απομάκρυνσης της ουσίας δεν επηρεάζεται καθόλου από την προσθήκη χουμικών, τουλάχιστον για την συγκέντρωση χουμικών που μελετήσαμε.

Οι Gallard et al. (2004) μελέτησαν την επίδραση των χουμικών στην απομάκρυνση της BPA. Έτσι για συγκέντρωση ουσίας 114 µg/l, pH 7, δόση χλωρίου 0.54 mg/l, χρόνο αντίδρασης 2 hr Για συγκέντρωση χουμικών 0.5 mg/l παρατηρήθηκε απομάκρυνση 98%, ενώ για συγκέντρωση χουμικών 95% η απομάκρυνση μειώθηκε στο 85%. Το ποσοστό απομάκρυνσης μειώθηκε αν και πολύ λίγο με την μικρή αύξηση της συγκέντρωσης των χουμικών . Ωστόσο τα αποτελέσματα δεν είναι συγκρίσιμα καθώς η αρχική συγκέντρωση ουσίας των Gallard et al. (2004) είναι πολύ μεγάλη.

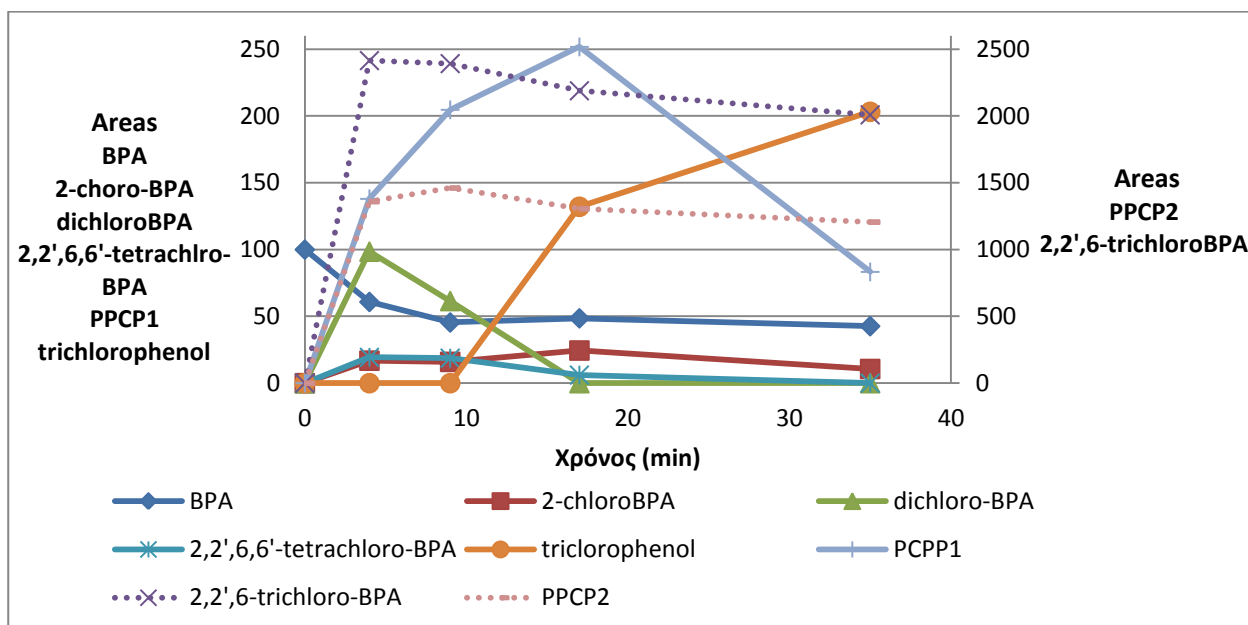


## Κεφάλαιο 5.6 Χλωρίωση Nonyphenol και Bisphenol σε υπερκάθαρο νερό

Ο σκοπός του πειράματος ήταν να γίνει ταυτοποίηση κάποιων παρα-προϊόντων της BPA και της NP κατά τη χλωρίωση. Στα πειράματα χλωρίωσης που πραγματοποιήθηκαν σε υπερκάθαρο νερό, η συγκέντρωση ουσιών ήταν 1 mg/l, η συγκέντρωση χλωρίου 10 mg/l και οι χρόνοι ταυτοποίησης παρα-προϊόντων  $t=4, 9, 17, 35$  min.

### 5.6.1 Βισφαινόλη (BPA)

Στο Σχήμα 5.6.1 παρουσιάζεται ο σχηματισμός διαφόρων παρα-προϊόντων της BPA. Τα παρα-προϊόντα που ανιχνεύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ήταν η 2-χλωρο-BPA, η διχλωροBPA, η 2,2',6,6'-τετραχλωρο-BPA, η τριχλωροφαινόλη και οι πολυχλωριωμένες φαινοξυφαινόλες PPCP1 και PPCP2.



Σχήμα 5.6.1: Σχηματισμός παρα-προϊόντων της BPA σε σχέση με τον χρόνο

Παρατηρείται ότι στα 10 πρώτα λεπτά της αντίδρασης έχει απομακρυνθεί σχεδόν ολόκληρη η ποσότητα της BPA που απομακρύνθηκε συνολικά κατά τη διάρκεια του πειράματος. Σε όλους τους χρόνους υπερισχύουν η 2,2',6-τριχλωρο-BPA και η PPCP2, οι οποίες σχηματίζονται τα πρώτα 5 λεπτά και στη συνέχεια παραμένουν σταθερά στο διάλυμα. Η PPCP1 σχηματίζεται στα πρώτα 15 λεπτά, όπου φτάνει και στο μέγιστο, και στη συνέχεια παραμένει σταθερή μέσα στο διάλυμα. Παρατηρείται ότι για  $t>10$  αυξάνει η περιοχή της τριχλωροφαινόλης ενώ η BPA παραμένει σταθερή μέσα στο διάλυμα. Έτσι και σύμφωνα με την βιβλιογραφία μπορεί να υποτεθεί ότι ο σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης είναι αποτέλεσμα της αντίδρασης του χλωρίου με κάποιο παραπροϊόν. Παρατηρείται ότι η τετραχλωρο-BPA μειώνεται για  $t>10$  και μηδενίζεται για  $t=18$ . Μπορεί να υποτεθεί ότι ο σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης σε αυτούς τους χρόνους προκύπτει από την αντίδραση της τετραχλωρο-BPA με το χλώριο, όπου συμβαίνει ρήξη του  $\alpha$ -άνθρακα της

ισοπροπυλικής ομάδας και του β' άνθρακα του βενζολικού δακτυλίου.

Σε μελέτη των Korshin et al (2006) μελετήθηκε επίσης η δημιουργία παραπροϊόντων της BPA κατά τη χλωρίωση. Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα υποχλωριώδες νατρίου (5% διαθέσιο χλώριο) σε υψηλής καθαρότητας νερό με παρουσία 0.03 M ρυθμιστικό διάλυμα φωσφόρου για pH 7. Επίσης υπήρχε συγκέντρωση διαλυτού οργανικού άνθρακα <0.1mg/L. Οι χρόνοι αντίδρασης ποικίλουν από 5 λεπτά σε 24 ώρες. Η χλωρίωση της BPA είχε ως αποτέλεσμα να προκληθούν αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης της ουσίας. Οι αλλαγές αυτές στο φάσμα απορρόφησης είναι ενδεικτικές των οξειδωτικών μετασχηματισμών της BPA και του σχηματισμού επίσης χλωριωμένων μορφών της BPA. Πράγματι, μετρήσεις στις συγκεντρώσεις του TOX και ανίχνευση χαμηλού μοριακού βάρους χλωριωμένων ειδών προέκυψαν από την ενσωμάτωση του χλωρίου στο οργανικό υπόστρωμα και από τη ρήξη του μορίου της BPA σε μικρότερα κομμάτια. Από τα TOX (total organic halogen) το 84% ήταν μη ταυτοποιημένες ουσίες που εικάζεται ότι προήλθαν από την χλωρίωση της μητρικής ένωσης, το 14% μη πτητικές ταυτοποιημένες ουσίες (χλωροοξικά οξέα) και 2% πτητικές ταυτοποιημένες ουσίες (κυρίως χλωροφόρμιο CH<sub>3</sub>Cl). Η μείωση της συγκέντρωσης των TOX για χρόνους αντίδρασης >4 ώρες υποδεικνύει ότι τα συστατικά τείνουν να αποδομούνται. Μετά από 24 ώρες η σχετική μείωση των TOX ήταν 30%.

Σε μελέτη των Hu et al. (2002) πάνω στην χλωρίωση της BPA και τον σχηματισμό παραπροϊόντων, η συγκέντρωση της BPA στο υδατικό μέσο ήταν 500 µg/l ενώ η συγκέντρωση του υποχλωριώδες νατρίου 1.46 mg/l. Δείγματα λήφθηκαν κάθε 10, 30, 60, 180, 360 και 1440 min. Η θερμοκρασία είχε ρυθμιστεί στους 25°C και το pH στους 7.5. Κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης εμφανίστηκαν 13 προϊόντα εκ των οποίων η 4-χλωρο-BPA, η 2,6'-διχλωρο-BPA, η 2,6-διχλωρο-BPA, η 2,2',6'-τριχλωρο-BPA, η 2,2',6,6'-τετραχλωρο-BPA, η τριχλωροφαινόλη, η 4-ισοπροπυλο-2-υδροξύ-φαινόλη και έξι είδη πολυχλωριωμένων φαινοξυφαινολών. Παρατηρήθηκε πως στα πρώτα 10 λεπτά της χλωρίωσης απομακρύνθηκε το 80% της BPA ενώ στο διάλυμα η τριχλωροφαινόλης, μετά από 360min, χλωρίωσης αποτελούσε το κύριο προϊόν της διάσπασης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η τριχλωροφαινόλη ήταν παρούσα στο διάλυμα ακόμα και όταν δεν είχε ανιχνευτεί καθόλου BPA.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι Hu et al. (2002) πρότειναν τους εξής μηχανισμούς χλωρίωσης:

α) αντιδράσεις υποκατάστασης χλωρίου και αφυδάτωσης

β) αντιδράσεις υποκατάστασης χλωρίου σε συνδυασμό με ρήξη του α-C της ισοπροπυλικής ομάδας και του β' C του βενζολικού τμήματος

γ) σχηματισμός PCPPS (πολυχλωριωμένες φαινοξυφαινόλες)

Σύμφωνα με τα παραπάνω το HOCl κάνει ηλεκτροφιλική επίθεση στο ιόν του φαινοξειδίου και σχηματίζονται τα χλωριωμένα παραπροϊόντα. Σύμφωνα με αυτό τον μηχανισμό, η παρουσία αρνητικού φορτίου στο πυρηνόφιλο υπόστρωμα διευκολύνει αυτήν την αντίδραση. Για αυτό η υποκατάσταση του χλωρίου ακολουθείται από αφυδάτωση. Το 2-χλωρο-BPA αφού σχηματιστεί αντιδρά με το υποχλωριώδες νάτριο με υποκατάσταση του χλωρίου και σχηματίζεται 2,6 διχλωρο-BPA. Η υποκατάσταση χλωρίου μπορεί να γίνει σε άλλον άνθρακα του 2-χλωρο-BPA και έτσι να σχηματιστεί το άλλο διχλωρο-BPA (2,6 διχλωρο-BPA) παρόλο που θα είναι σε λιγότερη αφθονία από το 2-6'-χλωρο BPA λόγω μικρότερης αρνητικής φόρτισης του άνθρακα που γίνεται η υποκατάσταση. Κατά την αντίδραση της τετραχλωρο-BPA με το HOCl η ρήξη του α-C της

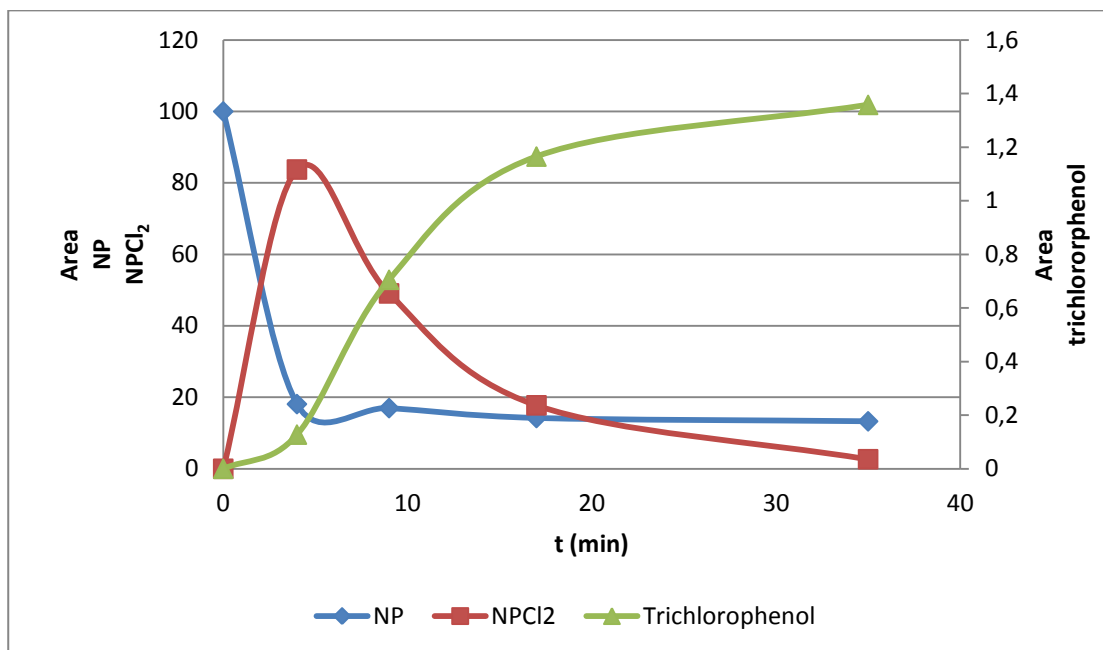
ισοπροπυλικής ομάδας και του β' C του βενζολικού τμήματος θα γίνει με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να σχηματιστεί τριχλωροφαινόλη και ένα άλλο προϊόν.

Οι Yamamoto και Yasuhara (2002) κατά τη μελέτη χλωρίωσης της BPA χρησιμοποίησαν 1 mg/l ουσίας και διαφορετικές δόσεις χλωρίου. Τα παραπροϊόντα που κατέγραψαν ήταν τετραχλωρο-BPA και τριχλωροφαινόλη. Δεν ανιχνεύτηκαν άλλα προϊόντα χλωρίωσης λόγω έλλειψης πρότυπων δειγμάτων. Η BPA αντέδρασε ταχύτατα σε υψηλά χλωριωμένο νερό. Όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 10.24 mg/l, η BPA εξαφανίστηκε πλήρως μέσα σε 5 λεπτά, όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 5.12 mg/l μόνο το 1.3% της BPA παρέμεινε μετά από 5 λεπτά και δεν ανιχνεύτηκε καθόλου μετά από 30 λεπτά χλωρίωσης. Στην περίπτωση αρχικής συγκέντρωσης χλωρίου 1.03 mg/l το 9.3% της BPA παρέμεινε μετά από χρόνο αντίδρασης 60 min. Ένα από τα κύρια προϊόντα χλωρίωσης που σχηματίστηκαν ήταν η τετραχλωρο-BPA. Η συμπεριφορά του T4CBPA ήταν διαφορετική για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις χλωρίου. Όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 10.24 mg/l, η ποσότητα του τετραχλωρο-BPA που σχηματιζόταν μειωνόταν με τον χρόνο αντίδρασης. Αντιθέτως, όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου ήταν 2.07 και 5.12 mg/l, η συγκέντρωση της τετραχλωρο-BPA μεγιστοποιήθηκε στα 30 και 15 λεπτά αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι όταν η αρχική συγκέντρωση χλωρίου δεν είναι αρκετή για την ποσότητα της BPA, το χλώριο καταναλώνεται για τον σχηματισμό των χλωριωμένων παραγώγων της BPA και η χλωρίωση θα σταματήσει εκεί. Σε περίπτωση που το χλώριο επαρκούσε η χλωρίωση συνεχίστηκε με την αποσύνθεση του τετραχλωρο-BPA. Η απόδοση της τριχλωροφαινόλης ήταν πολύ μικρή (μικρότερη από 1% της αρχικής BPA) για όλες τις πειραματικές συνθήκες. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στο ότι ο μηχανισμός σχηματισμού της τριχλωροφαινόλης είναι λιγότερο αποδοτικός σε σχέση με τον σχηματισμό της τετραχλωρο-BPA είτε ότι ο ρυθμός αποδόμησης της τριχλωροφαινόλης είναι ταχύτερος από τον σχηματισμό του.

Οι Gallard et al. (2004) μελέτησαν το σχηματισμό παραπροϊόντων της BPA σε υπερκάθαρο νερό για συγκέντρωση χλωρίου 1.14 mg/l και αρχική δόση χλωρίου 2.7 mg/l. Η πλήρης αποδόμηση της BPA επιτεύχθηκε για κατανάλωση χλωρίου που αντιστοιχούσε σε κατανάλωση 4 mol χλωρίου ανά mol BPA. Κατά τη διάρκεια του χρόνου αντίδρασης, σχηματίστηκαν τα εξής παραπροϊόντα: μονοχλωριωμένη BPA (MCBPA), διχλωροBPA (DiCBPA: άθροισμα του 2,6- και 2,2'-D<sub>2</sub>CBPA) και του τριχλωροBPA (T<sub>3</sub>CBPA) κατά τη διάρκεια των πρώτων 10 λεπτών και στη συνέχεια άρχισαν να αποδομούνται αργά. Η τετραχλωρο-BPA (T4CBPA) σχηματιζόταν κατά τη διάρκεια των 40 λεπτών της αντίδρασης όπου έφτασε και στο μέγιστο της. Μετά από το 60 λεπτά της αντίδρασης η T4CBPA ήταν το μόνο χλωριωμένο ομοειδές της BPA στο διάλυμα. Αυτό είναι σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα του Hu et al. (2002) και Yamamoto και Yasuhara (2004).

### 5.6.2 Εννεύλοφαινόλη

Στο Σχήμα 5.62 παρουσιάζεται ο σχηματισμός διαφόρων παρα-προϊόντων της NP. Τα παρα-προϊόντα που ανιχνεύτηκαν και ταυτοποιήθηκαν ήταν η NPCl<sub>2</sub> και η τριχλωροφαινόλη.



**Σχήμα 5.62:** Σχηματισμός παρα-προϊόντων της NP σε σχέση με τον χρόνο

Παρατηρείται ότι στα πρώτα 5 λεπτά έχει απομακρυνθεί σχεδόν ολόκληρη η ποσότητα της NP που απομακρύνεται συνολικά κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η τριχλωροφαινόλη δημιουργείται συνεχώς μέσα στο διάλυμα, ενώ η NPCl<sub>2</sub> παρουσιάζει μέγιστο στα 5 λεπτά και στη συνέχεια αποδομείται. Επίσης είναι αξιοσημείωτο ότι τη στιγμή που αρχίζει και δημιουργείται η τριχλωροφαινόλη, αρχίζει και μειώνεται η διχλωριωμένη NP. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία και καθώς η NP παραμένει σταθερή στο διάλυμα, μπορεί να υποτεθεί ότι η NPCl<sub>2</sub> αντιδρά με το χλώριο, γίνεται ρήξη του α-άνθρακα της εννεύλοομάδας και του β-άνθρακα του βενζολίου και σχηματίζεται η τριχλωροφαινόλη.

Οι Xu et al. (2002) μελέτησαν τα προϊόντα που δημιουργούνται κατά την χλωρίωση της 4-NP. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε 4L υπερκάθαρου νερού με 2mg/l ουσίας, σε pH 7 και θερμοκρασία 25°C. Για την χλωρίωση, χρησιμοποιήθηκε υποχλωριώδες νάτριο συγκέντρωσης 1.3 mg/l και δείγματα απομακρύνοντουσαν κάθε 10, 60, 120, 180, 240 και 600 λεπτά. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η 4-NP αντιδρά ταχύτατα με το υποχλωριώδες νάτριο σχηματίζοντας πολλά παραπροϊόντα. Έτσι ανιχνεύθηκαν συνολικά 7 προϊόντα, η 2-χλώρο-4-NP, η 2,6-διχλωρο-4-NP, η 2,4,6-τριχλωροφαινόλη, η 4-προπυλο-2-υδροξυφαινόλη, η 4-ισοβουτυλο-2-υδροξυφαινόλη, η 4-ισοαμυλική-2-υδροξυφαινόλη και η 4-ισοπεντυλική-2-υδροξυφαινόλη. Στα 10 πρώτα λεπτά της αντίδρασης έχει εξαφανιστεί το 84% της NP. Στα 12 πρώτα λεπτά της αντίδρασης ανιχνεύτηκαν από το GS-MS κορυφές που αντιστοιχούν στο σχηματισμό της 2-μονοχλωρο-4-NP (MCNP) ενώ στα 14.2 λεπτά της αντίδρασης ανιχνεύτηκαν κορυφές που αντιστοιχούσαν στην ύπαρξη της 2,6-διχλωρο-NP (DCNP). Στα 60 λεπτά αντίδρασης παρατηρείται σχηματισμός της τριχλωροφαινόλης και τεσσάρων άλλων προϊόντων. Αξίζει να σημειωθεί ότι την ώρα του σχηματισμού της τριχλωροφαινόλης (TCP), απουσίαζαν τα προϊόντα MNCP και NP από το διάλυμα ενώ παρατηρήθηκε μείωση της DCNP. Ο σχηματισμός της TCP υποδεικνύει την ρήξη ανάμεσα στον α-C της εννεύλοομάδας και του β-άνθρακα του βενζολίου του DCNP όπως και στην BPA. Επίσης ο σχηματισμός των τεσσάρων προϊόντων (A-D) προέκυψε ακριβώς με τον ίδιο τρόπο. Ενώ τα

παραπροϊόντα MCNP και DCNP κυριαρχούν στα 10 και 60 λεπτά χλωρίωσης, η TCP και τα τέσσερα προϊόντα (A-D) είναι τα κυρίως προϊόντα αποδόμησης που προκύπτουν από την χλωρίωση της NP για εκτεταμένο χρόνο χλωρίωσης 120 λεπτών.

Ο Thurman (2006) επίσης μελέτησε τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται από την χλωρίωση της 4-NP. Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό και συγκέντρωση ουσίας 100 ng/ml σε θερμοκρασία 25<sup>0</sup>C για pH 7.5 και υποχλωριώδες νάτριο σε συγκεντρώσεις 1, 10 και 100 ppm. Για 10 ppm NaOCl παρατηρήθηκε ταχύτερη αντίδραση του χλωρίου με την NP και σχηματισμός παραπροϊόντων 30% της ολικής NP. Τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται με σειρά αφθονίας είναι 4-NP-Cl > 4-NP-Cl<sub>2</sub> > διμερές 4NP-DPE (4-εννεύλοφαινόλο-διφαινυλαιθέρας > διμερές 4-NP-Cl-DPE (μονοχλωρο-εννεύλοφαινόλο διφαινυλαιθέρα).

## Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα

Στα πλαίσια της εργασίας πραγματοποιήθηκαν τέσσερις κύκλοι πειραμάτων, με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση: (α) των διαφορετικών τιμών pH (β) των διαφορετικών αρχικών δόσεων χλωρίου (γ) των διαφορετικών συγκεντρώσεων αιωρούμενων στερεών και τέλος (δ) η προσθήκη των χουμικών οξέων στην απομάκρυνση των εξεταζόμενων ουσιών στα λύματα κατά τη χλωρίωση. Επίσης μελετήθηκε ο σχηματισμός παρα-προϊόντων της BPA και της NP κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης. Τα σημαντικότερα συμπεράσματα της παρούσας εργασίας συνοψίζονται στα ακόλουθα:

- Από τα πειράματα χλωρίωσης που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικά pH φάνηκε ότι οι απομακρύνσεις των ουσιών σε διαφορετικά pH είναι πολυπαραγοντικό ζήτημα. Πολύ σημαντικό ρόλο παίζει η δομή των ουσιών καθώς πολλές φορές γνωρίζοντας τη δομή των ουσιών μπορεί να προβλεφθεί η συμπεριφορά τους κατά τη χλωρίωση σε διαφορετικές τιμές του pH. Επίσης σημαντικό ρόλο παίζει η μορφή του χλωρίου που υπερισχύει σε δεδομένο pH. Τέλος πολύ σημαντικός παράγοντας είναι οι πειραματικές συνθήκες που πραγματοποιούνται τα πειράματα. Γενικά στις αρωματικές ενώσεις που εξετάστηκαν η σειρά δραστηριότητας ήταν αμίνες > υδροξύλια (φαινόλες) > καρβοξύλια, οι ιονισμένες μορφές των ουσιών ήταν πιο δραστικές και το OCl ήταν λιγότερο ισχυρό οξειδωτικό από το HOCl. Πιο συγκεκριμένα η IBF και η KFN, οι οποίες είναι όξινες φαρμακευτικές ουσίες παρουσίασαν χαμηλή δραστηριότητα της τάξης 8-15% και 0-18% αντίστοιχα λόγω των υποκαταστατών τους (CH<sub>3</sub>, COOH) που τις καθιστούν λιγότερο δραστικές με το χλώριο. Οι όξινες φαρμακευτικές ουσίες NPX και η δευτροταγής αμίνη DCF παρουσίασαν μεγάλη δραστηριότητα με το χλώριο για pH 6-7.8, 78-91% και 93-97% και πολύ χαμηλή απομάκρυνση για pH 10 καθώς στο συγκεκριμένο pH επικρατεί η λιγότερο δραστική μορφή του χλωρίου (ClO<sup>-</sup>). Στην NP παρατηρήθηκε πολύ χαμηλή απομάκρυνση και για τις τρεις τιμές του pH, 16%, 13% και 11% ενώ για την NPE10 και την NPE20 παρατηρήθηκε απομάκρυνση 56%, 64%, 4% και 40, 51%, 4% αντίστοιχα για τιμές του pH 6, 7.8 και 10. Η BPA, ως φαινόλη, και η TCS ως φαινόλικός αιθέρας, παρουσίασαν μεγάλη δραστηριότητα με το χλώριο και παρατηρήθηκαν απομακρύνσεις 67-81% και 73-84% αντίστοιχα. Η δραστηριότητα αυτών των ουσιών ήταν υψηλή και για pH 10 καθώς οι ιονισμένες τους μορφές επικρατούσαν σε υψηλό pH (υψηλό pKa ουσιών).
- Στα πειράματα με διαφορετικές αρχικές δόσεις χλωρίου και φάνηκε, ότι καμιά ουσία δεν επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από την αρχική δόση χλωρίου αφού οι απομακρύνσεις κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα σε 5 διαφορετικές δόσεις χλωρίου (5, 10, 15, 20, 30 mg/l). Πιο συγκεκριμένα στις IBF και KFN, οι οποίες είναι λιγότερο δραστικές με το χλώριο, τα ποσοστά απομάκρυνσης κυμαίνονται 3-17% και 11-25% ενώ στη NPX και DCF τα ποσοστά κυμαίνονται 52-75% και 72-99%. Στην NP, NP, NPE10 τα ποσοστά κυμάνθηκαν 40-55%, 6-29% και 1-20% αντίστοιχα. Τέλος, οι δυο φαινολικές ουσίες, η BPA και η TCS παρουσίασαν ποσοστά απομάκρυνσης 81-84% και 93-94% αντίστοιχα. Κατά συνέπεια φαίνεται ότι κρίσιμος παράγοντας που επιδρά στην αποτελεσματικότητα της χλωρίωσης στην απομάκρυνση των ενώσεων-στόχων είναι ο χρόνος επαφή τους με το χλώριο. Σε συγκριτικά διαγράμματα με παλιότερη εργασία, για πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με σταθερή αρχική δόση χλωρίου αλλά διαφορετικούς χρόνους χλωρίωσης (5, 10, 20, 30, 60 min) διαπιστώθηκε ότι στις ουσίες που ήταν αρκετά δραστικές με το χλώριο (DCF, TCS,

BPA) το φαινόμενο είχε ολοκληρωθεί στα πρώτα 4 min, ενώ για τις υπόλοιπες ουσίες παρατηρείται ότι στα πρώτα 4 min έχει ολοκληρωθεί μεγάλο μέρος του φαινομένου αλλά η οξείδωση συνεχίζεται μέχρι το τέλος των πειραμάτων. Εξαιρεση αποτελεί η IBF που φάνηκε ότι ο χρόνος είχε μεγάλη επίδραση στην απομάκρυνση της ουσίας.

- Στα πειράματα με διαφορετική συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών παρατηρήθηκε ότι οι απομακρύνσεις στις ουσίες που εξετάστηκαν κυμάνθηκαν στα ίδια επίπεδα ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης στερεών εκτός από τις NP, NPE10 και NPE20. Έτσι φάνηκε ότι τα αιωρούμενα στερεά, στις συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν (0, 20, 70 mg/l), δεν επηρεάζουν την απομάκρυνση των ουσιών IBF, KFN, NPX, KFN, TCS, BPA. Πιο συγκεκριμένα η IBF και η KFN παρουσίασαν απομακρύνσεις που κυμαίνονταν 8-11% και 11-14% αντίστοιχα. Η NPX και η DCF παρουσίασαν απομακρύνσεις 63-75% και 96-99% αντίστοιχα, ενώ στην NPE10, NPE20 και NPE20 παρατηρήθηκαν απομακρύνσεις με μεγάλες διακυμάνσεις 5-54%, 5-68% και 7-51% αντίστοιχα. Τα ποσοστά απομάκρυνσης, για τις πολύ δραστηκές με το χλώριο TCS και BPA, κυμάνθηκαν στα 79-94% και 79-82% αντίστοιχα.
- Στα πειράματα προσθήκης χουμικών οξέων φάνηκε ότι η προσθήκη συγκέντρωσης χουμικών οξέων στα λύματα δεν έδειξε να επηρεάζει τα ποσοστά απομάκρυνσης των ουσιών. Έτσι πριν και μετά την προσθήκη χουμικών οξέων παρατηρήθηκαν απομακρύνσεις για την IBF 10% και 16% και για την KFN 11% και 13%. Για την NP, NPE10, NPE20 σημειώθηκαν ποσοστά απομάκρυνσης 54% και 43%, 29% και 29%, 20% και 19% αντίστοιχα, πριν και μετά την προσθήκη χουμικών ενώ για την BPA 82% και 83% και για την TCS 94% και 93%.
- Στα πειράματα ταυτοποίησης παραπροϊόντων της BPA και της NP, φάνηκε ότι για τη BPA υπερισχύουν η 2,2',6-τριχλωρο-BPA και η πολυχλωριωμένη φαινοξυφαινόλη PPCP2. Όσον αφορά την NP, το παραπροϊόν που επικράτησε κατά τη διάρκεια όλου του χρόνου της χλωρίωσης ήταν η NPCl<sub>2</sub>.

Συνοψίζοντας τα ανωτέρω σημειώνεται ότι από τους παράγοντες που εξετάστηκαν, όσον αφορά την επίδραση πιο κρίσιμος φαίνεται ότι είναι η τιμή του pH των λυμάτων.

## Βιβλιογραφία

### *Διεθνής Βιβλιογραφία*

- Acero, J.L., Benitez, F.J., Real, J. and Roldan, G., 2010. Kinetics of aqueous chlorination of some pharmaceuticals and their elimination from water matrices. *Water Research*, 44(14), 4158-4170.
- Adolfsson-Erici, M., Petterson, M., Parkkonen, J. and Sturve, J., 2002. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere*, 46, 1485–1489.
- Ahel, M. and Giger, W., 1993. Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates between water and organic solvents. *Chemosphere*, 26, 1471-1478.
- Ahel, M., Giger, W. and Koch, M., 1994. Behavior of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment-I. Occurrence and Transformation in Sewage-treatment. *Water Research*, 28, 1131–1142.
- Ahel, M., McEvoy, J. and Giger, W., 1993. Bioaccumulation of the lipophilic metabolites of nonionic surfactants in fresh-water organisms. *Environmental Pollution*, 79, 243–248.
- Ahmed, S., Javed, M.A., Tanvir, S. and Hameed, A., 2001. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* strain that degrades 4-acetamidophenol and 4-aminophenol. *Biodegradation*, 12, 303–309.
- Alexander, H.C., Dill, D.C., Smith, L.W., Guiney P.D. and Dorn, P.B., 1988. Bisphenol A: Acute Aquatic Toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7, 19-26.
- Allmyr, M., Adolfsson-Erici, M., McLachlan, M.S. and Sandborgh-Englund, G., 2006. Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. *Science of the Total Environment*, 372, 87-93.
- Allmyr, M., Harden, F., Toms, L.M.L., Mueller, J.F., McLachlan, M.S., Adolfsson-Erici, M. and Sandborgh-Englund, G., 2008. The influence of age and gender on triclosan concentrations in Australian human body serum. *Science of the Total Environment*, 393, 162-167.
- Andreozzi, R., Raffaele, M. and Nicklas, P., 2003. Pharmaceuticals in STP effluents and their photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50, 1319 – 1330.
- Aranami, K. and Readman, J.W., 2007. Photolytic degradation of triclosan in freshwater and seawater. *Chemosphere*, 66, 1052–1056.
- Ashton, D., Hilton, M. and Thomas, K.V., 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Science of the Total Environment*, 333, 167-184.
- Balch, G. and Metcalfe, C., 2006. Developmental effects in Japanese medaka (*Oryzia latipes*) exposed to nonylphenol ethoxylated and their degradation products, *Chemosphere*, 62, 1214-1223.
- Balmer, M.E., Poiger, T., Droz, C., Romanin, K., Bergqvist, P.A., Müller, M.D. and Buser, H.R., 2004. Occurrence of methyl triclosan, a transformation product of the bactericide triclosan, in fish from various lakes in Switzerland. *Environmental Science and Technology*, 38, 390–395.
- Barret, M., Carrere, H., Latrille, E., Wisniewski, H. and Patureau, D., 2010. Micropollutant and sludge characterization for modeling sorption equilibria. *Environmental Science and Technology*, 44, 1100–1106.
- Bedoux, G., Roig, B., Thomas, O., Dupont, V. and Le Bot, B., 2012. Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment. *Environmental Science and Pollution*



Research, 19(4), 1044-1065.

Belfroid, A., Van Velzen M., Van de Horst, B. and Vethaak, D., 2002. Occurrence of bisphenol A in surface water and uptake in fish: evaluation of field measurements. *Cheemosphere*, 49, 97-103.

Bendz, D., Paxéus, N.A., Ginn, T.R. and Loge, F.J., 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Hörje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*, 122, 195-204.

Bennett, E.R. and Metcalfe, C.D., 2000. Distribution of degradation products of alkylphenol ethoxylates near sewage treatment plants in the Lower Great Lakes, North America. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 784–792.

Benoit, E., Jaussaud, P., Besse, S., Videmann, B., Courtot, D., Delatour, P., Bonnaire, Y., 1992. Identification of benzhydrolic metabolite of KFN in horses by gas chromatography- mass spectrometry and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 583, 167–173.

Bester, K., 2003. Triclosan in a sewage treatment process—balances and monitoring data. *Water Research*, 37, 3891–3896.

Birkett, J.W. and Lester, J.N., 2003. *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes*. CRC Press LLC, Boca Raton, 295 pp.

Bund/Landerausschuss für Chemikaliensicherheit (BLAC), 2003. *Arzneimittel in der Umwelt Auswertung der Untersuchungsergebnisse*. Hamburg, 173 p (in German)

Blom, A., Ekman, E., Johannisson, A., Norrgren, L. and Pesonen, M., 1998. Effects of xenoestrogenic environmental pollutants on the proliferation of a human breast cancer cell line (MCF-7). *Arch Environ Contam Toxicol*, 34, 306–310.

Boillot, C., 2008. *Évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans les milieux aquatiques. Contribution à l'amélioration de la phase "caratérisation des effets"*. PhD Thesis, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, France, 292 pp. (in French)

Bosma, T.N.P., Middeldorp, P.J.M., Schraa, G. and Zehnder, A.J.B., 1997. Mass transfer limitation of biotransformation: quantifying bioavailability. *Environmental Science and Technology*, 31, 248–252.

Boyd, G., Zhang, S. and Grimm, D., 2005. Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes. *Water Research*, 39, 668–676.

Boyd, G.R., Palmeri, J.M., Zhang, S. and Grimm, D.A., 2004. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine disrupting chemicals (EDCs) in stormwater canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA. *Science of the Total Environment*, 333, 137–148.

Boyd, G.R., Reemtsma, H., Grimm, D.A. and Mitra, S., 2003. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*, 311(1–2), 135–149.

Brooke, L., Thursby, G., 2005. *Ambient aquatic life water quality criteria for nonylphenol*. Environmental Protection Agency, Washington DC, 88 pp.

Brown, J.N., Paxéus, N., Förlin, L. and Larsson, D.G.J., 2007. Variations in bioconcentration of human pharmaceuticals from sewage effluents into fish blood plasma. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24, 267–274.

Brown, K.D., Kulis, J., Thomson, B., Chapman, T.H. and Mawhinney, D.B., 2006. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy, effluent, municipal waste water, and the Rio Grande in New Mexico. *Science of the Total Environment*, 366, 772–783.

- Brueggemeier, R.W., Hackett, J.C. and Diaz-Cruz, E.S., 2005. Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *Endocrine Reviews*, 26, 331–345.
- Brune, K., Geisslinger, G. and Menzen-Soglowek, S., 1992. Pure enantiomers of 2-arylpropionic acids: Tools in pain research and improved drugs in rheumatology. *Journal of Clinical Pharmacology*, 32, 944–952.
- Burkhardt-Holm, P., Wahli, T. and Mejer, W., 2000. Nonylphenol affects the granulation pattern of epidermal mucous cells in rainbowtrout, *Onchorynchus mykiss*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46, 34–40.
- Burttschell, R.H., Rosen, A.A., Middleton, F.M. and Ettinger, M.B., 1959. Chlorine derivatives of phenol causing taste and odor. *Journal of American Water Works Association*, 51, 205-214.
- Buser, H.R., Boiger, T. and Müller M.D., 1998. Occurrence and Fate of the Pharmaceutical Drug DCF in Surface Waters: Rapid Photodegradation in a Lake. *Environmental Science and Technology*, 32(22), 188-192.
- Buth, J.M., Ross, M.R., McNeil, K. and Arnold, W.A., 2011. Reprint of: Removal and formation of chlorinated triclosan derivatives in wastewater treatment plants using chlorine and UV disinfection, *Chemosphere*, 85, 284–289.
- Buth, J.M., Steen, P.O., Sueper, C., Blumentritt, D., Vikesland, P.J., Arnold, W.A. and McNeill, K., 2010. Dioxin photoproducts of triclosan and its chlorinated derivatives in sediment cores. *Environmental Science and Technology*, 44, 4545–4551.
- Buth, J.M., Grandbois, M., Vikesland, J.P, McNeill, K. and Arnold, W.A, 2009. Aquatic photochemistry of chlorinated triclosan derivatives: Potential Source of polychlorodibenzo-p-dioxins. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2555-2563.
- Calafat, A.M., Ye, X., Wong, L.Y., Reidy, J.A. and Needham, L.L., 2008. Urinary concentrations of triclosan in the U.S. population: 2003-2004. *Environmental Health Perspectives*, 116, 303-307
- Canosa, P., Morales, S., Rodriguez, I., Rubi, E., Cela, R. and Gomez, M., 2005. Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383, 1119-1126.
- Canosa, P., Rodriguez, I., Rubi, E. and Cela, R., 2007. Determination of parabens and triclosan in indoor dust using matrix solid-phase dispersion and gas chromatography with tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 79, 1675-1681.
- Cantabrana, B., Perez-Vallina, J.R., Menendez, L. and Hidalgo, A., 1995. Spasmolytic and calmodulin inhibitory effect on nonsteroidal anti-inflammatory drugs in vitro. *Life Sciences*, 57(14), 1333–1341.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Llopart, M., Garcia-Jares, C., Rodriguez, I., Gomez, M. and Ternes, T., 2004. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, 38(12), 2918–2926.
- Carlisle, J., Chan, D., Golub, M., Henkel, S., Painter, P. and Wu, L., 2009. Toxicological Profile for Bisphenol A. California Environmental Protection Agency, 47 pp.
- Carlsson, C., Johansson, A.K., Alvan, G., Bergman, K. and Kuhler, T., 2006. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Journal of Science of the Total Environment*, 364, 67-87.
- Caspers, N., 1998. No Estrogenic Effects of Bisphenol A in *Daphnia magna* STRAUS. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 143-148.
- Caunter, J.E., 2000. Bisphenol A: Multigeneration Study with Fathead Minnow (*Pimephales*

promelas), Study No. BL6878/B, 91 pp.

Chang, B.V., Yang, C.M., Cheng, C.H. and Yuan, S.Y., 2004. Biodegradation of phthalate esters by two bacteria strains. *Chemosphere*, 55, 533–538.

Chang, B.V., Yu, C.H. and Yuan, S.Y., 2004. Degradation of nonylphenol by anaerobic microorganisms from river sediment. *Chemosphere*, 55, 493–500.

Chen, C.S., Shieh, W.R., Lu, P.H., Harriman, S. and Chen, C.Y., 1991. Metabolic stereoisomeric inversion of ibuprofen in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1078(3), 411–417.

Chen, H.W., Liang, C.H., Wu, Z.M., Lin, T.F., Chiang, P.C. and Wang, G.S., 2013. Occurrence and assessment of treatment efficiency of nonylphenol, octylphenol and bisphenol A on drinking water in Taiwan. *Science of the Total Environment*, 449, 20–28.

Chen, J., Ahn, K.C., Gee, N.A., Gee, S.J., Hammock, B.D. and Lasley, B.L., 2007. Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221, 278–284.

Cho, E.S., Zhu, J. and Yang, P.Y., 2007. Intermittently aerated EMMC-bio-barrel (entrapped mixed microbial cell with bio-barrel) process for concurrent organic and nitrogen removal. *Journal of Environmental Management*, 84, 257–265.

Clara, M., Strenna, B., Gansb, O., Martinezb, E., Kreuzingera, N., Kroissa, H., 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*, 39, 4797–4807.

Clark, L.B., Rosen, R.T., Hartman, T.G., Louis, J.B., Suffet, I.H., Lippincott, R.L. and Rosen, J.D., 1992. Determination of Alkylphenol Ethoxylates and Their Acetic Acid Derivatives in Drinking Water by Particle Beam Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 47, 167–180.

Cleuvers, M., 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(3), 309–315.

Coldham, N.G., Sivapathasundaram, S., Dave, M., Ashfield, L.A., Pottinger, T.G., Goodall, C., 1998. Biotransformation, tissue distribution, and persistence of 4-nonylphenol residues in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Drug Metabolism and Disposition*, 26, 347–354.

Colerangle, J.B. and Roy, D., 1996. Exposure of environmental estrogenic compound nonylphenol to 20 noble rats alters cell-cycle kinetics in the mammary gland. *Endocrine*, 4, 115–122.

Corvini, P.F.X., Vinken, R., Hommes, G., Schmidt, B. and Dohmann, M., 2004. Degradation of the radioactive and non-labelled branched 4(3',5'-dimethyl 3'-heptyl)-phenol nonylphenol isomer by *Sphingomonas* TTNP3. *Biodegradation*, 15, 9–18.

Crescenzi, C., Di Corcia, A. and Samperi, R., 1995. Determination of non-ionic polyethoxylate surfactants in environmental waters by liquid chromatography/ electrospray mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 67, 1797–1804.

Cuthbert, R., Parry-Jones, J., Green, R.E. and Pain, D.J., 2007. NSAIDs and scavenging birds: potential impacts beyond Asia's critically endangered vultures. *Biol. Lett.*, 3, 91–94.

Danish Environmental Protection Agency, 1998. Effects of Organic Chemicals in Sludge Applied to Soil: Degradation and Toxicity to Organisms Living in Soil, Ministry of Environment and Energy, Copenhagen, 36 pp.

Dann, A.B. and Hontela, A., 2011. Triclosan: environmental exposure toxicity and mechanisms of action. *Journal of Applied Toxicology*, 31, 285–311.

- Daughton, C.J. and Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change, *Environmental Health Perspectives*, 107(6), 907–938.
- Dayan, A.D., 2007. Risk assessment of triclosan in human breast milk. *Food Chemical Toxicology*, 45, 125-129.
- De Souza, S.M.L., De Vasconcelos, E.C. and Dzedzic, M., 2009. Environmental risk assessment of antibiotics: an intensive care unit analysis. *Chemosphere*, 77, 962–967.
- Deborde, M. and Von Gunten, U., 2008. Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment- Kinetics and mechanism: a critical review. *Water Research*, 42, 13-51.
- Di Corcia, A. and Samperi, R., 1994. Monitoring aromatic surfactants and their biodegradation intermediates in raw and treated sewages by solid-phase extraction and liquid chromatography. *Environmental Science and Technology*, 28, 850–858.
- Dirtu, A.C., Roosens, L., Geens, T., Gheorge, A., Neels, H. and Covaci, A., 2008. Simultaneous determination of bisphenol a, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391, 1175-1181.
- Dodds, E.C. and Lawson, W., 1938. Molecular structure in relation to estrogenic activity: compounds without a phenanthrene nucleus. *Proceedings of the Royal Society, Series B, Biological Sciences*, 125(839), 222–232.
- Drewes, J.E., Hemming, J., Ladenburger, S. J., Schauer, J. and Sonzogni, W., 2004. An Assessment of Endocrine Disrupting Activity Changes in Water Reclamation Systems Through the Use of Bioassays and Chemical Measurements. *Proceedings of the 77th Annual WEFTEC Conference, New Orleans, 1*, 77-88.
- Ekelund, R., Granmo, A., Magnusson, K. and Berggren, M., 1993. Biodegradation of 4-nonylphenol in seawater and sediment. *Environmental Pollution*, 79, 59–61.
- Elliott, S.N., McKnight, W., Cirino, G. and Wallace, J.L., 1995. A nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug accelerates gastric ulcer healing in rats. *Gastroenterology*, 109, 524–530.
- European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), 2001. Draft Discussion Paper on Environmental Risk Assessment of Non-Genetically Modified Organism (non-GMO) Containing Medicinal Products for Human Use, Brussels, 22 pp.
- Fang, T.H., Nan, F.H., Chin, T.S. and Feng, H.M., 2012. The occurrence and distribution of pharmaceutical compounds in the effluents of a major sewage treatment plant in Northern Taiwan and the receiving coastal waters, *Marine Pollution Bulletin*, 64(7), 1435-1444.
- Farré, M., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olivella, L. and Tirapu, L., 2001. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography A*, 938, 187–197.
- Federle, T.W., Kaiser, S.K. and Nuck, B.A., 2002. Fate and effects of triclosan in activated sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 1330–1337.
- Felis, E., Marciocha, D., Surmacz-Gorska, J. and Miksch, K., 2007. Photochemical degradation of naproxen in the aquatic environment. *Water Science and Technology*, 55, 281-286.
- Fent, K., Weston, A. and Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76, 122-159.
- Ferrari, B, et al., Envirpharma Conference, Lyon, April 2003.

- Ferrari, B., Paxéus, N., Giudice, R.L., Pollio, A. and Garric, J., 2003. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and DCF. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55, 359–370.
- Fick, J., Lindberg, R.H., Parkkonen, J., Arvidsson, B., Tysklind, M. and Larsson D.G.J., 2010. Therapeutic levels of levonorgestrel detected in blood plasma of fish: results from screening rainbow trout exposed to treated sewage effluents. *Environmental Science and Technology*, 44, 2661–2666.
- Fiss, E.M., 2007. Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by the chlorination of antibacterial products. *Environmental Science and Technology*, 41(7), 2387-2394.
- FitzGerald, G.A., Patrono, C., 2001. Drug therapy: the coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *New England Journal of Medicine*, 345, 433–442.
- Flippin, J.L., Huggett, D. and Foran, C.M., 2007. Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology*, 81, 73–78.
- Fries, E. and Puttmann, W., 2004. Occurrence of 4-nonylphenol in rain and snow. *Atmospheric Environment*, 38, 2013–2016.
- Fujii, K., Urano, N., Kimura, S., Nomura, Y. and Karube, I., 2000. Microbial degradation of nonylphenol in some aquatic environments. *Fisheries Science*, 66, 44–48.
- Fujii, K., Urano, N., Ushio, H., Satomi, M., Iida, H., Ushio-Sata, N. and Kimura, S., 2000. Profile of a nonylphenol-degrading microflora and its potential for bioremediation applications. *Journal of Biochemistry*, 128, 909–916.
- Fukazawa, H., Hoshino K., Shiozawa T., Matsushita, H. and Terao Y., 2001. Identification and quantification of chlorinated bisphenol A in wastewater from wastepaper recycling plants. *Chemosphere*, 44, 973-979.
- Gabriel, F.L.P., Giger, W., Guenther, K., Kohler, H.P.E., 2005. Differential degradation of nonylphenol isomers by *Sphingomonas xenophaga* Bayram. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1123–1129.
- Gallard, H. and Von-Gunten, U., 2002. Chlorination of phenols: kinetics and formation of chloroform. *Environmental Science and Technology*, 36, 884–890.
- Gallard, H., Leclercq, A. and Croué, J.P., 2004. Chlorination of bisphenol A: kinetics and by-products formation, *Chemosphere*. 56(5), 465-73.
- Gangadharan Puthiya Veetil, P., Vijaya Nadaraja, A., Bhasi, A., Khan, S., Bhaskaran, K., 2012. Degradation of triclosan under aerobic, anoxic and anaerobic conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(6), 1603-1612.
- Gao, X., Chen, H., Schwarzschild, M.A. and Ascherio, A., 2011. Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology*, 76(10), 863–869.
- Gee, R.H., Charles, A., Taylor, N. and Darbre, P.D., 2008. Oestrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. *Journal of Applied Toxicology*, 27, 78-91.
- Geens, T., Roosens, L., Neels, H. and Covaci, A., 2009. Assessment of human exposure to bisphenol-A, triclosan and tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. *Chemosphere*, 76, 755-760.
- Ghezzi, P., Mellino, G., Meazza, C., Sacco, S., Pellegrini, L., Asti, C., Porzio, S., Marullo, A., Sabbatini, V., Caselli, G., Bertini, R., 1998. Differential Contribution of R and S Isomers in KFN Anti-inflammatory Activity: Role of Cytokine Modulation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 287(3), 969-974.

- Gimeno, S., Komen, H., Gerritsen, A. and Bowmer, T., 1998. Feminization of common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during sexual differentiation. *Aquatic Toxicology*, 43, 77–92.
- Gomez, C., Constantine, L., Moen, M., Vaz, A. and Huggett, D.B., 2011. Ibuprofen metabolism in the liver and gill of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86, 247–251.
- Gomez, C., Constantine, L., Moen, M., Vaz, A., Huggett, D.B., 2010. The influence of gill and liver metabolism on the predicted bioconcentration in fish. *Chemosphere*, 81, 1189–1195.
- Gomez, M.J., Martinez-Bueno, M.J., Lacorte, S., Fernandez-Alba, A.R., Aguera, A., 2006. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere*, 66, 993-1002.
- Gray, M.A. and Metcalfe, C.D., 1997. Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol. *Environmental Toxicology*, 16(5), 1082–1086.
- Hager, C.D., 1998. Alkylphenol ethoxylates - biodegradability, aquatic toxicity and environmental activity. In: *Annual surfactant review*, Sheffield Academic Press, Sheffield.
- Halden, R.U. and Paull, D.H., 2005. Co-occurrence of triclocarban and triclosan in US water resources. *Environmental Science and Technology*, 39, 1420–1426.
- Han, S., Choi, K., Kim, J., Ji, K., Kim, S., Ahn, B., Yun, J., Choi, K., Khim, J.S., Zhang, X.W. and Giesy, J.P., 2010. Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. *Aquatic Toxicology*, 98, 256–264.
- Hargus, S.J., Martin, B.M., George, J.W., Pohl, L.R., 1995. Covalent modification of rat liver dipeptidyl peptidase IV (CD26) by the nonsteroidal anti-inflammatory drug DCF. *Chemical Research in Toxicology*, 8, 993–996.
- Hay, A.G., Dees, P.M., Sayler, G.S., 2001. Growth of a bacterial consortium on triclosan. *FEMS Microbiology Ecology*, 36, 105–112.
- Hayashi, Y., Heckmann, L.H., Callaghan, A. and Sibly, R.M., 2008. Reproduction recovery of the crustacean *Daphnia magna* after chronic exposure to ibuprofen. *Ecotoxicology*, 17, 246–251.
- Heberer, T., Mechlinski, A., Franck, B., Knappe, A., Massmann, G., Pekdeger, A. and Fritz, B., 2004. Field Studies on the Fate and Transport of Pharmaceutical Residues in Bank Filtration, Ground Water Monitoring and Remediation, 24, 70–77.
- Heckmann, L.H., Callaghan, A., Hooper, H., Connon, R., Hutchinson, T., Maund, S. and Sibly, R., 2007. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology Letters*, 172, 137–145.
- Heidler, J., Halden, R.U., 2007. Mass balance assessment of triclosan removal during conventional sewage treatment. *Chemosphere*, 66, 362–369.
- Heinonen, J., Honkanen, J., Kukkonen J.V.K. and Holopainen, I.J., 2002. Bisphenol A Accumulation in the Freshwater Clam *Pisidium amnicum* at Low Temperatures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43, 50-55.
- Heppell, S.A., Denslow, N.D., Folmar, L.C. and Sullivan, C.V., 1995. Universal assay of vitellogenin as a biomarker for environmental estrogens. *Environmental Health Perspectives*, 103(7), 9-15.
- Hernandez-Raquet, G., Soef, A., Delgenes, N., Balaguer, P., 2007. Removal of the endocrine disrupter nonylphenol and its estrogenic activity in sludge treatment processes. *Water Research*, 41, 2643–2651.

- Hernando, M.D., Mezcuca, M., Fernandez-Alba, A.R. and Barcelo, D., 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Journal of Talanta*, 69, 334–342.
- Hesselsoe, M., Jensen, D., Skals, K., Olesen, T., Moldrup, P. and Roslev, P., 2001. Degradation of 4-nonylphenol in homogeneous and nonhomogeneous mixtures of soil and sewage sludge. *Environmental Science and Technology*, 35, 3695–3700.
- Hess-Wilson, J.K. and Knudsen, K.E., 2006. Endocrine disruptin compounds and prostate cancer. *Cancer Letters*, 241, 1–12.
- Hickey, E.J., Raje, R.R., Reid, V.E., Gross, S.M. and Ray, S.D., 2001. Diclofenac induced in vivo nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation apoptotic cell death. *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 139–152.
- Hoeger, B., Kollner, B., Dietrich, D.R. and Hitzfeld B.C., 2005. Water-borne DCF affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). *Aquatic Toxicology*, 75, 53–64.
- Hoss, S., Juttner, I., Traunspurger, W., Pfister, G., Schramm, K.W. and Steinberg, C.E.W., 2002. Enhanced growth and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in the presence of 4-nonylphenol. *Environmental Pollution*, 120, 169–172.
- Hu, J.Y., Xie, G.H. and Aizawa, T., 2002. Products of aqueous chlorination of 4-nonylphenol and their estrogenic activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 2034–2039.
- Hu, J.Y., Aizawa, T. and Ookubo, S., 2002. Products of aqueous chlorination of bisphenol A and their estrogenic activity. *Environmental Science and Technology*, 36(9), 1980–1987.
- Hua, J.M., An, P.L., Winter, J. and Gallert, C., 2003. Elimination of COD, microorganisms and pharmaceuticals from sewage by trickling through sandy soil below leaking sewers. *Water Research*, 37(18), 4395–4404.
- Ishibashi, H., Hirano, M., Matsumura, N., Watanabe, N., Takao, Y. and Arizono, K., 2006. Reproductive effects and bioconcentration of 4-nonylphenol in medaka fish (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 65, 1019–1026.
- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtera, L. and Rubino, M., 2005. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Science of the Total Environment*, 348(1–3), 93–101.
- Isobe, T., Nishiyama, H., Nakashima, A. and Takada, H., 2001. Distribution and behavior of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoethoxylate in Tokyo metropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions. *Environmental Science and Technology*, 35, 1041–1049.
- Jelic, A., Gros, M., Ginebrenda, A., Cespedes-Sánchez, R., Ventura, F. and Petrovic, M., 2011. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research*, 45, 1165–1176.
- Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J.A., Matthissen, P. and Sumpter, J.P., 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(2), 194–202.
- John, D.M., House, W.A. and White, G.F., 2000. Environmental fate of nonylphenol ethoxylates: differential adsorption of homologs components of river sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 293–300.
- Johnson, A.C., Aerni, H.R., Gerritsen, A., Gibert, M., Giger, W., Hylland, K., Jurgens, M., Nakarni,

- T., Pickering, A., Suter, M.J.F., Svenson, A. and Wettstein, F.E., 2005. Comparing Steroid Estrogen and Nonylphenol Content Across a Range of European Sewage Plants with Different Treatment and Management Practices. *Water Research*, 39, 47-58.
- Jones, O.A.H., Voulvoulis, N. and Lester, J.N., 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals., *Water Research*, 36, 5013–5022.
- Joss, A., Keller, E., Alder, A., Göbel, A., Mcardell, C. and Ternes, T., 2005. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research*, 39, 3139–3152.
- Joss, A., Zabaczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C.S., Ternes, T.A., Thomsen, A., Siegrist, H., 2006. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: proposing a classification scheme. *Water Research*, 40, 1686–1696.
- Kanda, R., Griffin, P., James, H.A. and Fothergill, J., 2003. Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works. *Journal of Environmental Monitoring*, 5, 823–830.
- Kang, J.H., Kondo, F., 2006. Bisphenol A in the surface water and freshwater snail collected from rivers around a secure landfill. *Bull. Environ.Contam.Toxicol*, 76, 113-118.
- Kathpalia, V., 2011. Degradation of ibuprofen in wastewater by ozonation and catalytic ozonation. MSc thesis, Thapar University, India. 42 pp.
- Kawaguchi, M., Ito, R., Honda, H., Endo, N., Okanouchi, N., Saito, K., Seto, Y. and Nakazawa, H., 2008. Determination of urinary triclosan by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 875, 577-580.
- Kelsey, J.W., Kottler, B.D. and Alexander, M., 1997. Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. *Environmental Science and Technology*, 31, 214–217.
- Keun, J.C., Sang, G.K., Chang, W.K. and Jae, K.P., 2006. Removal efficiencies of endocrine disrupting chemicals by coagulation/flocculation, ozonation, powdered/granular activated carbon adsorption, and chlorination. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 23(3), 399-408.
- Khan, S.J. and Ongerth, J.E., 2004. Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere*, 54, 355–367.
- Kimura, K., Hara, H. and Watanabe, Y., 2005. Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs). *Desalination*, 178, 135–140.
- Kimura, K., Hara, H. and Watanabe, Y., 2007. Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. *Environmental Science and Technology*, 41, 3708–3714.
- Kimura, K., Hara, H. and Watanabe, Y., 2007. Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. *Science and Technology*, 41, 3708–3714.
- Kitanaka, A., Ogoshi, M. and Suzuki, Y., 2003. Degradation of Nonylphenol Using Chlorine and Ozone. *Journal of Japan Society on Water Environment*, 26(5), 307-313.
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B. and Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, 36, 1202–1211.
- Körner, W., Hanf, V., Schuller, W., Bartsch, H., Zwirner, M. and Hagenmaier, H., 1998. Validation and application of a rapid in vitro assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. *Chemosphere*, 37, 2395-2407.
- Kosjek, H., Heath, E. and Krbavcic, A., 2005. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug



- (NSAIDs) residues in water samples. *Environmental International*, 31(5), 679–685.
- Kreuzinger, N., Clara, M., Strenn, B. and Kroiss, H., 2004. Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for wastewater treatment plants for the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals from wastewater. *Water Science and Technology*, 50(5), 149–156.
- Kristensen, D.M., Lesne, L., Le Fol, V., Desdoits-Lethimonier, C., Dejuq-Rainsford, N., Leffers, H. and Jegou, B., 2012. Paracetamol (acetaminophen), aspirin (acetylsalicylic acid) and indomethacin are anti-androgenic in the rat foetal testis. *International Journal of Andrology*, 35, 377–384.
- Kuch, H.M. and Ballschmiter K., 2001. Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC-(NCI)-MS in the Picogram per Liter Range. *Environmental Science and Technology*, 35, 3201–3206.
- Kudo, C., Wada, K., Masuda, T., Yonemura, T., Shibuya, A. and Fujimoto, Y., 2004. Nonylphenol induces the death of neural stem cells due to activation of the caspase cascade and regulation of the cell cycle. *Journal of Neurochemistry*, 88, 1416–1423.
- Kumar, K.S., Priya, S.M., Peck, A.M. and Sajwan K.S., 2010. Mass loadings of triclosan and triclocarban from four wastewater treatment plants to three rivers and landfill in Savannah, Georgia, USA. *Archives of Environmental Contamination Toxicology*, 58, 275–285.
- Kumar, V., Balomajumder, C. and Roy, P., 2008. Disruption of LH-induced testosterone biosynthesis in testicular leydig cells by triclosan: probable mechanism of action. *Toxicology*, 250, 124–131.
- La Guardia, M.J., Hale, R.C, Harvey, E., Bush, E. and Ciparis S., 2009. Persistence and Migration of Alkylphenol Ethoxylate Degradation Products Associated with Land-applied Biosolids. *Microconstituents and Industrial Water Quality*, 495–510.
- Langford, K.H. and Lester, J.N., 2002. Fate and behaviour of endocrine disrupters in wastewater treatment processes. In: *Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes*. CRC Press Inc., Boca Raton, 295 pp.
- Larsson, D.G.J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A.H., Olsson, P.E and Förlin, L., 1999. Ethinyloestradiol-an undesired fish contraceptive. *Aquatic Toxicology*, 45, 91–97.
- Lattier, D.L., Gordon, D.A., Burks, D.J. and Toth, G.P., 2001. Vitellogenin gene transcription: a relative quantitative exposure indicator of environmental estrogens. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1979–1985.
- LeBlanc, G.A., Mu, X.Y. and Rider, C.V., 2000. Embryotoxicity of the alkylphenol degradation product 4-nonylphenol to the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Health Perspectives*, 108:1133–1138.
- Lee, H.J., Chattopadhyay, S., Gong, E.Y., Ahn, R.S. and Lee, K., 2003. Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor. *Toxicological Sciences*, 75, 40–46.
- Lee, P.C. and Lee, W., 1996. In vivo estrogenic action of nonylphenol in immature female rats. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 57, 341–348.
- Legler, J., Van den Brink, C.E., Brouwer, A., Murk, A.J., Van der Saag, P.T., Vethaak, A.D. and Van der Burg, B., 1999. Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene assaying the human T47D breast cancer cell line. *Toxicological Sciences*, 48(1), 55–56.
- Leiker, T.J., Abney, S.R., Goodbred, S.L. and Rosen, M.R., 2009. Identification of methyl triclosan and halogenated analogues in male common carp (*Cyprinus carpio*) from Las Vegas Bay and semipermeable membrane devices from Las Vegas Wash, Nevada. *Science of the Total Environment*, 407, 2102–2114.

- Lenz, K., Beck, V. and Fuerhacker, M., 2004. Behaviour of bisphenol A (BPA), 4-nonylphenol (4-NP) and 4-nonylphenol ethoxylates (4-NP1EO, 4-NP2EO) in oxidative water treatment processes. *Water Science and Technology*, 50(5), 141-147.
- Lian, J. and Liu, J., 2013. Fate and degradation of nonylphenolic compounds during wastewater treatment process. *Journal of Environmental Science (Accepted Manuscript)*
- Liber, K., Knuth, M.L. and Stay, F.S., 1999. An integrated evaluation of the persistence and effects of 4-nonylphenol in an experimental littoral ecosystem. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 357-362.
- Lindqvist, N., Tuhkanen, T. and Kronberg, L., 2005. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Research*, 39, 2219-2228.
- Lishman, L., Smyth, S.A., Sarafin, K., Kleywegt, S., Toito, J., Peart, T., Lee, B., Servos, M., Beland, M. and Seto, P., 2006. Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*, 367, 544-558.
- Lister, A.L. and Van Der Kraak, G., 2008. An investigation into the role of prostaglandins in zebrafish oocyte maturation and ovulation. *General Comparative Endocrinology*, 159, 46-57.
- Lister, A.L. and Van Der Kraak, G.J., 2009. Regulation of prostaglandin synthesis in ovaries of sexually-mature zebrafish (*Danio rerio*). *Molecular Reproduction and Development*, 76, 1064-1075.
- Loos, R., Hanke, G., Umlauf, G. and Eisenreich, J.S., 2007. LC-MS-MS analysis and occurrence of octyl- and nonylphenol, their ethoxylates and their carboxylates in Belgian and Italian textile industry, waste water treatment plant effluents and surface waters. *Chemosphere*, 66, 690-699.
- Lu, J., Jin, Q., He, Y., Wu, J., Zhang, W. and Zhao, J., 2008. Anaerobic degradation behavior of nonylphenol polyethoxylates in sludge, *Chemosphere*, 71, 345-351.
- Maeng, S.K., Choi, G.B., Lee, T.K. and Song, K.G., 2013. Influences of solid retention time, nitrification and microbial activity on the attenuation of pharmaceuticals and estrogens in membrane reactors, *Water Research*, 47, 3151-3162.
- Maki, H., Okamura, H., Aoyama, I. and Fujita, M., 1998. Halogenation and toxicity of the biodegradation products of a nonionic surfactant, nonylphenol ethoxylate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 650-654.
- Manzano, M.A., Perales, J.A., Sales, D. and Quiroga, J.M., 1999. The effect of temperature on the biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate in river water. *Water Research*, 33(11), 2593-2600.
- Marcomini, A., Capel, P.D., Lichtensteiger, T.H., Brunner, P.H. and Giger, W., 1989. Behaviour of aromatic surfactants and PCBs in sludge-treated soil and landfills. *Journal of Environmental Quality*, 18, 523-528.
- Marcomini, A., Pojana, G., Sfriso, A. and Alonoso, J.M.Q., 2000. Behaviour of anionic and non-ionic surfactants and their persistent metabolites in the Venice Lagoon, Italy. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 2000-2007.
- Marco-Urrea, E., Perez-Trujillo, M., Blanquez, P., Vicent, T. and Caminal, G., 2010. Biodegradation of the analgesic naproxen by *Trametes versicolor* and identification of intermediates using HPLC-DAD-MS and NMR. *Bioresource Technology*, 101, 2159-2166.
- Mascolo, G., Balest, L., Cassano, D., Laera, G., Lopez, A., Pollice, A. and Salerno, C., 2010. Biodegradability of pharmaceutical industrial wastewater and formation of recalcitrant organic compounds during aerobic biological treatment. *Bioresource Technology*, 101(8), 2585-2591.
- Matamoros, V., Hijosa, M. and Bayona, J.M., 2009. Assessment of the pharmaceutical active

- compounds removal in wastewater treatment systems at enantiomeric, *Chemosphere*, 75, 200-205.
- Matozzo, V., Gagne, F., Marin, M.G., Ricciardi, F. and Blaise C., 2007. Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: A review. *Environmental International*, 34(4), 531-545.
- McMurry, L.M., Oethinger, M. and Levy, S.B., 1998. Overexpression of marA, soxS, or acrAB produces resistance to triclosan in laboratory and clinical strains of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, 166, 305–309.
- Melcer, H., Monteith, H., Staples, C. and Klecka, G., 2006. The Removal of Alkylphenol Ethoxylate Surfactants in Activated Sludge Systems. *Proceedings of the Water Environmental Federation WEFTEC 2006, Session 21 through Session 30*, 1695-1708(14).
- Mennigen, J.A., Sassine, J., Trudeau, V.L. and Moon, T.W., 2010. Waterborne fluoxetine disrupts feeding and energy metabolism in the goldfish *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology*, 100, 128–137.
- Mensink, B.J.W.G., Montforts, M., Wijkhuizen-Maslankiewicz, H., Tibosch, H. and Linders, J.B.H.J., 1995. Manual for summarising and evaluating the environmental aspects of pesticides. Bilthoven, 117 pp.
- Metcalf, C.D., Miao, X., Hua, W., Letcher, R. and Servos, M., 2004. Pharmaceuticals in the Canadian environment. In: Kummerer K, editor. *Pharmaceuticals in the environment*. Verlag-Springer, Berlin, 491 pp.
- Metcalf, C.D., Gray, M.A., Kiparissis, Y., 1999. The Japanese medaka (*Oryzias latipes*): an in vivo model for assessing the impacts of aquatic contaminants on the reproductive success of fish. In: *Impact Assessment of Hazardous Aquatic Contaminants: Concepts and Approaches*. CRC Press, Boca Raton, 219 pp.
- Metcalf, C.D., Koenig, B.G., Bennie, D.T., Servos, M., Ternes, T.A. and Hirsch, R., 2003. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(12), 2872–2880.
- Miller, T.L., Lorusso, D.J., Walsh, M.L. and Deinzer, M.L., 1983. The acute toxicity of penta-, hexa-, and heptachlorohydroxydiphenyl ethers in mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 12, 245-253.
- Mink, P.J., Adami, H.O., Trichopoulos, D., Britton, N.L. and Mandel, J.S., 2008. Pesticides and prostate cancer: a review of epidemiologic studies with specific agricultural exposure information. *European Journal of Cancer Prevention*, 17, 97-110.
- Mohapatra, D.B, Brar, S.K, Tyagi, R., Surampalli, R., 2011. Occurrence of bisphenol A in wastewater and wastewater sludge of CUQ treatment plant. *Journal of Xenobiotics*, 1, 9-16.
- Mompelat, S., Le Bot, B. and Thomas, O., 2009. Occurrence and fate of pharmaceutical products and byproducts, from resource to drinking water. *Environment International*, 35, 803–814.
- Morthorst, J.E., Lister, A., Bjerregaard, P. and Der Kraak, G.V., 2013. Ibuprofen reduces zebrafish PGE(2) levels but steroid hormone levels and reproductive parameters are not affected. *Comparative Biochemistry and Physiology part C: Toxicology and Pharmacology*, 157(2), 251-257
- Mulcahy, D.M., Tuomi, P. and Larsen, R.S., 2003. Differential mortality of male spectacled eiders (*Somateria fischeri*) and king eiders (*Somateria spectabilis*) subsequent to anesthesia with propofol, bupivacaine, and KFN. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 1(7), 117–123.
- Nadaka, N., Komori, K., Suzuki, Y., 2005. Occurrence and Fate Anti-inflammatory Drugs in Wastewater Treatment Plants in Japan. *Environmental Sciences*, 12(6), 359-369.
- Naidoo, V., Wolter, K., Cromarty, D., Diekmann, M., Duncan, N., Meharg, A.A , Taggart, M.A.,

- Venter, L., Cuthbert, R., 2010. Toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs to Gyps vultures: a new threat from KFN. *Biology Letters*, 6, 339–341.
- Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. and Takada, H., 2006. Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment. *Water Research*, 40, 3297–3303.
- Nallani, G., Paulos, P., Constantine, L., Venables, B. and Huggett, D., 2011. Bioconcentration of ibuprofen in fathead minnow (*Pimephales promelas*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Chemosphere*, 84, 1371–1377.
- Nasu, M., Goto, M., Kato, H., Oshima, Y. and Tanaka, H., 2001. Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*, 43(2), 101–108.
- National Institute for Occupational Safety and Health, 1975. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. U.S.A., 1405 pp.
- National Research Council, 2002. Biosolids Applied to Land: Advancing Standards and Practices National Academy Press. Washington D.C., 266 pp.
- Navas, J.M. and Segner, H., 2006. Vitellogenin synthesis in primary cultures of fish liver cells as endpoint for in vitro screening of the (anti)estrogenic activity of chemical substances. *Aquatic Toxicology*, 80, 1-22.
- Naylor, C.G., 1995. Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates. *Textile Chemist and Colorist*, 27(4), 29–33.
- Nilsson, C.A., Andersson, K., Rappe, C. and Westermark, S.O., 1974. Chromatographic evidence for the formation of chlorodioxins from chloro-2-phenoxyphenols. *Journal of Chromatography*, 96, 137-147.
- Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudhry, M.J.I., Arshad, M., Mahmoud, S., All, A. and Khan, A.A., 2004. DCF residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Journal of Nature*, 427, 630-633.
- Ossipov, M.H., Jerussi, T.P, Ren, K., Sun, H. and Porreca, F., 2000. Differential effects of spinal (R)-KFN and (S)- KFN against signs of neuropathic pain and tonic nociception: evidence for a novel mechanism of action of (R) – KFN against tactile allodynia. *Pain*, 87(2), 193-199.
- Paterakis, N., Chiu, T.Y., Koh, Y.K.K., Lester, J.N., McAdam, E.J., Scrimshaw, M.D., Soares, A. and Cartmell, E., 2012. The effectiveness of anaerobic digestion in removing estrogens and nonylphenol ethoxylates. *Journal of Hazardous Materials*, 199–200, 88–95.
- Patureau, D., Delgenes, N., Delgenes, J.P., 2008. Impact of sewage sludge treatment processes on the removal of the endocrine disrupters nonylphenol ethoxylates. *Chemosphere*, 72, 586–591.
- Pinkston, K.E. and Sedlak, D.L., 2004. Transformation of aromatic ether- and amine-containing pharmaceuticals during chlorine disinfection. *Environmental Science and Technology*, 38(14), 4019–4025.
- Pollock, C., Carpenter J.W. and Antino, V.N., 2005. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs used in birds. In: *Exotic animal formulary*, Elsevier Saunders, 3rd edition., St. Louise, 592 pp.
- Quinn, B., Gagné, F. and Blaise, C., 2008. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarians, *Hydra attenuate*. *Science of the Total Environment*, 389, 306–314.
- Quintana, J.B., Weiss, S. and Reemtsma, T., 2005. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Research*, 39, 2654–2664.

- Quintana, J.B., Rodil, R., Lopez-Mahia, P., Muniategui-Lorenzo, S. and Prada-Rodriguez, P., 2010. Investigating the chlorination of acidic pharmaceuticals and by-product formation aided by an experimental design methodology. *Water Research*, 44, 243 – 255.
- Quintana, J.B., Weiss, S. and Reemtsma, T., 2005. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Research*, 39(12), 2654–2664.
- Radjenovic, J., Petrovic, M. and Barceló, D., 2007. Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 1365–1377.
- Ramirez, A.J., Brain, R.A., Usenko, S., Mottaleb, M.A., O'Donnell, J.G., Stahl, L.L., Wathen, J.B., Snyder, B.D., Pitt, J.L., Perez-Hurtado, P., Dobbins, L.L., Brooks, B.W. and Chambliss, C.K., 2009. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in fish: results of a national pilot study in the U.S. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 1–10.
- Rao, P. and Knaus, E.E., 2008. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 81–110.
- Rebenne, M., Gonzalez, A.C., and Olson, M., 1996. Aqueous chlorination kinetics and mechanism of substituted dihydroxybenzenes. *Environmental Science and Technology*, 30, 2235–2242.
- Reiss, R., Mackay, N., Habig, C. and Griffin, J., 2002. An ecological risk assessment for triclosan in lotic systems following discharge from wastewater treatment plants in the United States. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 2483-2492.
- Renner, R., 1997. European bans on surfactant trigger transatlantic debate. *Environmental Science and Technology*, 31, 316–320.
- Rice, C.P., Schmitz-Afonso, I., Loyo-Rosales, J.E., Link, E., Thoma, R. and Fay, L., 2003. Alkylphenol and alkylphenol-ethoxylates in carp, water, and sediment from the Cuyahoga River, Ohio. *Environmental Science and Technology*, 37, 3747–3754.
- Rivera-Jimenez, S.M., Lehner, M.M., Cabrera-Lafaurie, W.A. and Hernandez-Maldonado, A.J., 2011. Removal of naproxen, salicylic acid, clofibrac acid, and carbamazepine by water phase adsorption onto inorganic-organic-intercalated bentonites modified with transition metal cations. *Environmental Engineering Science*, 28, 171-182.
- Rosal, R., Rodriguez, A., Pedrigon-Melon, J.A., Petre, A., Garcia-Calvo, E., Gomez, M.J., Aguera, A. and Fernandez-Alba, A.R., 2010 Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Research*, 44(2), 578-588.
- Roy, D., Colerangle, J.B. and Singh, K.P., 1998. Is exposure to environmental or industrial endocrine disrupting estrogen-like chemicals able to cause genomic instability? *Frontiers in Bioscience*, 3, 913–921.
- Rudel, R.A., Melly, S.J., Geno, P.W., Sun, G. and Brody, J.G., 1998. Identification of Alkylphenols and Other Estrogenic Phenolic Compounds and Wastewater, Septage, and Groundwater on Cape Cod, Massachusetts. *Environmental Science and Technology*, 32, 861-869.
- Rule, K.L., Ebbet, V.R. and Vikesland, P., 2005. Formation of chloroform and chlorinated Organics by free chlorine-mediated Oxidation of Triclosan, *Environmental Science and Technology*, 39, 3176-3185.
- Saagua, M.C., Baeta-Hall, L. and Anselmo, A.M., 2002. Microbiological characterization of a coke oven contaminated site and evaluation of its potential for bioremediation. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 18, 841–845.

- Sabaliunas, D., Webb, S.F., Hauk, A., Jacob, M. and Eckhoff, W.S., 2003. Environmental fate of triclosan in the River Aire Basin, UK. *Water Research*, 37, 3145–3154.
- Sabik, H., Gagne, F., Blaise, C., Marcogliese, D.J. and Jeannot, R., 2003. Occurrence of alkylphenol polyethoxylates in the St. Lawrence River and their bioconcentration by mussels (*Elliptio complanata*). *Chemosphere*, 51, 349–356.
- Sali, T., 2005. Prostaglandins. In: Vohr, H.-W. (Ed.), *Encyclopedic Reference of Immunotoxicology*. Springer, Heidelberg, 730 pp.
- Samaras, V., Stasinakis, A., Mamais, D., Thomaidis, N. and Lekkas T., 2013. Fate of selected pharmaceuticals and synthetic endocrine disrupting compounds during wastewater treatment and sludge anaerobic digestion. *Journal of Hazardous Materials*, 224-225, 259-267.
- Sanchez, S., Alarcon de la Lastra, C., Ortiz, P., Motilva, V., Martin, M.J., 2002. Gastrointestinal tolerability of metamizol, acetaminophen, and DCF in subchronic treatment in rats. *Digestive Diseases Sciences*, 47, 2791–2798.
- Sanderson, H., Johnson, D.J., Wilson, C.J., Brain, R.A. and Solomon, K.R., 2003. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. *Toxicology Letters*, 144, 383-395.
- Santos, J.L., Aparicio, I. and Alonso, E., 2007. Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). *Environmental International*, 33, 596–601.
- Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E., Callejon, M., 2005. Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Analytica Chimica Acta*, 550, 116–122.
- Santos, J.L., Aparicio, I., Callejon, M. and Alonso E., 2009. Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewater from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). *Journal of Hazardous Materials*, 164,1509–1516.
- Saravanan, M., Karthika, S., Malarvizhi, A., Ramesh, M., 2011. Ecotoxicological impacts of clofibric acid and DCF in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological response. *Journal of Hazardous Materials*, 195, 188–194.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H. and Negele, R.D., 2004. Toxic effects of the non-steroidal antiinflammatory drug DCF: Part I. Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 68, 141-150.
- Servos, M.R., Maguire, R.J., Bennie, D.T., Lee, H.B., Cureton, P.M. and Davidson, N., 2003. An ecological risk assessment of nonylphenol and its ethoxylates in the aquatic environment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9, 569–587.
- Shang, D.Y., MacDonald, R.W. and Ikonou, M.G., 1999. Persistence of nonylphenol ethoxylate surfactants and their primary degradation products in sediments from near a municipal outfall in the Strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Environmental Science and Technology*, 33, 1366–1372.
- Shao, B., Hu, J. and Yang, M., 2003. Nonylphenol ethoxylates and their biodegradation intermediates in water and sludge of a sewage treatment plant. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70, 527–532.
- Simazaki, D., Fujiwara, J., Manabe, S., Matsuda, M., Asami, M. and Kunikane, S., 2008. Removal of selected pharmaceuticals by chlorination, coagulation-sedimentation and powdered activated carbon

treatment, *Water Science and Technology*, 58(5), 1129-1135.

Singer, H., Müller, S., Tixier, C. and Pillonel, L., 2002. Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental Science and Technology*, 36, 4998–5004.

Sipma, J., Osuna, B., Collado, N., Monclus, H., Ferrero, G. and Comas, J., 2010. Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems. *Desalination*, 250, 653–659.

Skakkebaek, N.E., Meyts, E.R.D., Jorgensen, N., Carlsen, E., Petersen, P.M., Giwercman, A., Andersen, A.G., Jensen, T.K., Andersson, A.M. and Muller, J., 1998. Germ cell cancer and disorders of spermatogenesis: an environmental connection? *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica (APMIS)*, 106(1), 3–11.

Soares, A., Guieysse, B., Delgado, O. and Mattiasson, B., 2003. Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria. *Biotechnology Letters*, 25, 731–738.

Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E. and Lester, J.N, 2008. Nonyphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters, *Environmental International*, 34, 1033-1049.

Sohoni, P., Tyler, C.R., Hurd, K., Caunter, J., Hethridge, M., Williams, T., Woods, C., Evans, M., Toy, R., Gargas, M. and Sumpter, J.P., 2001. Reproductive effects of long-term exposure to bisphenol A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Science and Technology*, 35, 2917-2925.

Sole, M., Lopez de Alda, M.J., Castillo, M., Porte, C., Ladegaard-Pedersen, K. and Barcelo, D., 2000. Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the Catalanian area (NE Spain). *Environmental Science and Technology*, 34, 5076–5083.

Sorbera, L.A., Asturiano, J.F., Carrillo, M. and Zanuy, S., 2001. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocyte maturation in a marine teleost, the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of Reproduction*, 64, 382–389.

Sorensen, P.W., Goetz, F.W., 1993. Pheromonal and reproductive function of F-prostaglandins and their metabolites in teleost fish. *Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling*, 6, 385–393.

Soto, A.M., Justicia, H., Wray, J.W. and Sonnenschein, C., 1991. P-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene. *Environmental Health Perspectives*, 92, 167–173.

Soufan, M., Deborde, M. and Legube, B., 2012. Aqueous chlorination of diclofenac: Kinetic study and transformation products identification. *Water Research*, 46, 3377-3386.

Stacey, N., 2003. Hormones, pheromones and reproductive behavior. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28, 229–235.

Stamm, C., Alder, A.C., Fenner, K., Hollender, J., Krauss, M., McArdell, C.S., Ort, C. and Schneider, M.K., 2008. Spatial and temporal patterns of pharmaceuticals in the aquatic environment: a review. *Geography Compass*, 2(3), 920-955.

Staples, C.A., Dorn, P.B., Klecka, G.M., Branson, D.R., O’Block, S.T. and Harris L.R., 1998. A Review of the Environmental Fate, Effects and Exposures of Bisphenol A. *Chemosphere*, 36, 2149-2173.

Staples, C.A., Dorn, P.B., Klecka, G.M., O’Block, S.T., Branson, D.R., and Harris L.R., 2000. Bisphenol A Concentrations in Receiving Waters Near U.S. Manufacturing and Processing Facilities. *Chemosphere*, 40, 521-525.

Staples, C.A., Naylor, C.G., Williams, J.B. and Gledhill, W.E., 2001. Ultimate biodegradation of alkylphenol ethoxylate surfactants and their biodegradation intermediates. *Environmental*

Toxicology and Chemistry, 20, 2450–2455.

Stasinakis, A.S., Kordoutis, C.I., Tsiouma, V.C., Gatidou, G. and Thomaidis, N.S., 2010. Removal of selected endocrine disrupters in activated sludge systems: effect of sludge retention time on their sorption and biodegradation. *Bioresource Technology*, 101, 2090–2095.

Stasinakis, A.S., Petalas, A.V., Mamais, D., Thomaidis, N.S., Gatidou, G. and Lekkas, T.D., 2007. Investigation of triclosan fate and toxicity in continuous-flow activated sludge systems. *Chemosphere*, 68, 375–381.

Strenn, B., Clara, M., Gans, O. and Kreuzinger, N., 2004. Carbamazepine, DCF, ibuprofen and bezafibrate – investigations on the behaviour of selected pharmaceuticals during wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 50, 269–276.

Stuart, N.J. and Sanders, A.S., 1968. assigned to Boots Pure Drug Company

Stumpf, M., Ternes, T.A., Wilken, R.D., Rodrigues, S.V. and Baumann, W., 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro. Brazil, *Science of the Total Environment*, 225(1-2), 135-141.

Suárez, S., Ramil, M., Omil, F. and Lema, J.M., 2005. Removal of pharmaceutically active compounds in nitrifying–denitrifying plants. *Water Science and Technology*, 52, 9-14.

Sumpter, J.P. and Jobling, S., 1995. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environmental Health Perspectives*, 103, Suppl 7, 173-178.

Svenningsen, H., Henriksen, T., Prieme, A. and Johnsen, A.R., 2011. Triclosan affects the microbial community in simulated sewage-drain-field soil and slows down xenobiotic degradation. *Environmental Pollution*, 159, 1599–1605.

Tamage, S.S., 1994. *Environmental and Human Safety of Major Surfactants: Alcohol Ethoxylates and Alkylphenol Ethoxylates*, Lewis Publisher, USA, 400 pp.

Tanghe, T., Dhooge, W. and Verstraete, W., 1999. Isolation of a bacterial strain able to degrade branched nonylphenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 746–751.

Tanghe, T., Dhooge, W. and Verstraete, W., 2000. Formation of the metabolic intermediate 2,4,4-trimethyl-2-pentanol during incubation of a *Sphingomonas* sp. strain with the xeno-estrogenic octylphenol. *Biodegradation*, 11, 1–19.

Taxe-Wuersch, A., De Alencastro, L.F., Grandjean, D. and Taradellas, J., 2005. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Research* 39, 1761- 1772.

Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32, 3245–3260.

Ternes, T.A., Stuber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M. and Teiser, B., 2003. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Research*, 37, 1976–1982.

Thiele, B., Heinke, V., Kleist, E. and Guenther, K., 2004. Contribution to the structural elucidation of 10 isomers of technical p-nonylphenol. *Environmental Science and Technology*, 38, 3405–3411.

Thomas, K.V., Hurst, M.R., Matthiessen, P., Sheahan, D. and Williams, R.J., 2001. Toxicity characterisation of organic contaminants in stormwaters from an agricultural headwater stream in South East England. *Water Research*, 35, 2411–2416.

Thomas, P.M. and Foster, G.D., 2004. Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, caffeine, and triclosan in wastewater by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of*



- Environmental Science and Health part: A, 39(8), 1969–1978.
- Thurman, M., 2006. Accurate-mass identification of chlorinated and brominated products of 4-nonylphenol, nonylphenol, nonylphenol dimmers, and other endocrine disrupters, *Journal of Mass Spectrometry*, 41, 1287-1297.
- Tixier, C., Singer, H.P., Canonica, S. and Muller, S.R., 2002. Phototransformation of triclosan in surface waters: A relevant elimination process for this widely used-biocide-Laboratory studies, field measurements and modeling. *Environmental Science and Technology*, 36, 3482-3489.
- Tixier, C., Singer, H.P., Oellers, S. and Müller, R., 2003. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, KFN, and naproxen in surface waters. *Environmental Science and Technology*, 37, 1061–1068.
- Tixier, C., Singer, H.P., Oellers, S. and Muller, S.R., 2003. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental Science and Technology*, 37, 1061–1068.
- Topp, E. and Starratt, A., 2000. Rapid mineralization of the endocrine disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 313–318.
- Triebkorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Kohler, H.R. and Schwaiger, J., 2004. Toxic effects of non-steroidal antiinflammatory drug DCF: Part II. Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 68, 151-166.
- U.S. Environmental Protection Agency, 1990. Testing consent order on 4-nonylphenol, branched. *Federal Register* 35, 5991–5994.
- U.S. Environmental Protection Agency, 1991. Technical support document for water quality-based toxics control. Washington D.C., 145 pp.
- U.S. Environmental Protection Agency, 1993. The Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge, eCFR Title 40, Part 503.
- U.S. Environmental Protection Agency, 2009. Targeted National Sewage Sludge Survey Statistical Analysis Report, EPA-822-R-08-018. Washington D.C., 79 pp.
- Uguz, C., Iscan, M., Erguven, A., Isgor, B. and Togan, I., 2003. The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Research*, 92, 262-270.
- Valters, K., Li, H., Alaei, M., D'Sa, I., Marsh, G., Bergman, A. and Letcher, R.J., 2005. Polybrominated diphenyl ethers and hydroxylated and methoxylated brominated and chlorinated analogues in the plasma of fish from the Detroit River. *Environmental Science and Technology*, 39, 5612–5619.
- Van Der Kraak, G. and Chang, J.P., 1990. Arachidonic-acid stimulates steroidogenesis in goldfish preovulatory ovarian follicles. *General and Comparative Endocrinology*, 77, 221–228.
- Vane, J.R., 1971. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature - New Biology*, 231, 232–235.
- Verlicchi, P., Aukidy, A.M. and Zambello, E., 2012. Occurrence of pharmaceuticals in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment- A review. *Science of the Total Environment*, 429, 123-155.
- Vieno, N.M., Tuhkanen, T. and Kronberg, L., 2005. Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environmental Science and Technology*, 39, 8220–8226.

- Vilchez, J.L., Zafra, A., González-Casado, A., Hontoria, E., Olmo, M., 2001. Determination of trace amounts of bisphenol F, bisphenol A and their diglycidyl ethers in wastewater by gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 431, 31–40.
- Watanabe, H., Suzuki, A., Goto, M., Lubahn, D.B., Handa, H. and Iguchi, T., 2004. Tissuespecific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. *Journal of Molecular Endocrinology*, 33, 243–252.
- Watkinson, A.J., Murby, E.J., Costanzo, S.D., 2007. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*, 41, 4164–4176.
- Weigel, S., Berger, U., Jensen, E., Kallenborn, R., Thoresen, H. and Huhnerfuss, H., 2004. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. *Chemosphere*, 56, 583-592.
- Westerhoff, P., Yoon, Y., Snyder, S. and Wert, E., 2005. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environmental Science and Technology*, 39(17), 6649–6663.
- Wilson, K., 2006. Detection of triclosan in Central Virginia Wastewater and identification of resistant microorganisms, thesis.
- Wishart, D.S., Knox, C., Guo, A.C., Shrivastava, S., Hassanali, M., Stothard, P., Chang, Z. and Woolsey, J., 2006. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Research*, 34, D668–D672.
- Wolff, M.S., Teitelbaum, S.L., Windham, G., Pinney, S.M., Britton, J.A. and Chelimo, C., 2007. Pilot study of urinary biomarkers of phytoestrogens, phthalates, and phenols in girls. *Environmental Health Perspectives*, 115(1), 116-121.
- Xiaochun, Wang, Sujana Mittapalli, 2011, University of Minnesota
- Xu, W.H., Zhang, G., Li, X.D., Zou, S.C., Li, P. and Hu, Z.H., 2007. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl river delta (PRD), South China. *Water Research*, 41, 4526–4534.
- Yamamoto, T. and Yasuhara, A., 2002. Chlorination of BPA in aqueous media: formation of chlorinated BPA congeners and degradation to chlorinated phenolic compounds. *Chemosphere* 46, 1215–1223.
- Yamashita, N., Kannan, K., Imagawa, T., Villeneuve, D., Hasimoto, S., Miyazaki, A. and Giesy, J.P., 2000. Vertical Profile of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, Dibenzofurans, Naphthalenes, Biphenyls, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, and Alkylphenols in a Sediment Core from Tokyo Bay. *Environmental Science and Technology*, 34, 3560 - 3567.
- Yang, P.Y., Su, R. and Kim, S.J., 2003. EMMC process for combined removal of organics, nitrogen and an odor producing substance. *Journal of Environmental Management*, 69, 381–389.
- Ying, G.G. and Kookana, R.S., 2007. Triclosan in wastewaters and biosolids from Australian wastewater treatment plants. *Environmental International*, 33(2), 199-205.
- Ying, G.G., Kookana R.S. and Kolpin, D.W., 2009. Occurrence and removal of pharmaceutically active compounds in sewage treatment plants with different technologies. *Journal of Environmental Monitoring*, 8, 1498-1505.
- Ying, G.G., Williams, B. and Kookana, R., 2002. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates- a review. *Environmental International*, 28(3), 215-226.
- Ying-Hu, J., Xie, G.H. and Aizawa, T., 2002. Products of aqueous chlorination of 4-nonylphenol and

- their estrogenic activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(10), 2034–2039.
- Yokota, H., Seki, M., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H. and Honjo, T., 2001. Life-cycle toxicity of 4-nonylphenol to medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 2552–2560.
- Yu, J.T., Bouwer, E.J. and Coelhan, M., 2006. Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agricultural Water Management*, 86, 72–80.
- Yu, J.T., Bouwer, E.J. and Coelhan, M., 2006. Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. *Agricultural Water Management*, 86, 72–80.
- Yu, T.H., Lin, A.Y.C., Lateef, S.K., Lin, C.F. and Yang, P.Y., 2009. Removal of antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs by extended sludge age biological process. *Chemosphere*, 77, 175–181.
- Yuan, S.Y., Yu, C.H. and Chang, B.V., 2004. Biodegradation of nonylphenol in river sediment. *Environmental Pollution*, 127, 425–430.
- Zhang, Y., Geißen, S.U. and Gal, C., 2008. Carbamazepine and DCF: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8), 1151–1161.
- Zhao, F., 2006. Biodegradation of triclosan by a triclosan-degrading isolate and an ammonia-oxidizing bacterium. MSc Thesis, Office of Graduate Studies of Texas A&M University, U.S.A., 69 pp.
- Zoller, U. and Hushan, M., 2000. The Nonionic Surfactant Pollution Profile of Israel's Mediterranean Sea Coastal Water. *Water Science and Technology*, 42, 429–435.
- Zorita, S., Martensson, L. and Mathiasson, L., 2009. Occurrence and removal of pharmaceuticals in municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Science of the Total Environment*, 407, 2760–2770.
- Zwiener, C., Frimmel, F.H., 2003. Short-term tests with a pilot sewage plant and biofilm reactors for the biological degradation of the pharmaceutical compounds clofibric acid, ibuprofen, and DCF. *Science of the Total Environment*, 309, 201–211.

### ***Ελληνική Βιβλιογραφία***

- Καναράς, Α., 2012. Επίδραση της χλωρίωσης στην απομάκρυνση μικροοργανικών ρυπαντών σε βιολογικώς επεξεργασμένα λύματα. *Μεταπτυχιακή Εργασία*, 152 σελ.
- Μπούρας, Α., 2011. Διερεύνηση της τύχης ενδοκρινικών διαταρακτών & φαρμακευτικών ουσιών κατά τη χλωρίωση επεξεργασμένων αστικών λυμάτων. *Μεταπτυχιακή Εργασία*, 219 σελ.