



Πολυτεχνείο Κρήτης
Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

Διπλωματική Εργασία
**«Προσρόφηση ενδοκρινικών διαταρακτών σε
βιομάζα»**

Μαζιώτη Αικατερίνη-Άννα

Εξεταστική Επιτροπή:
Διαμαντόπουλος Ευάγγελος (επιβλέπων)
Κατσαούνης Αλέξανδρος
Ξεκουκουλωτάκης Νικόλαος

Φεβρουάριος 2010
Χανιά

Ευχαριστίες

- Στον κ. Ευάγγελο Διαμαντόπουλο, για την ανάθεση και την παρακολούθηση της διπλωματικής εργασίας.
- Στην υπεύθυνη του εργαστηρίου «Τεχνολογίας και Διαχείρισης Περιβάλλοντος» κα. Ελισάβετ Κουκουράκη για την καθοδήγηση και βοήθεια για την διεξαγωγή των πειραμάτων.
- Στα μέλη της εξεταστικής επιτροπής για την συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή κ. Αλέξανδρο Κατσαούνη και κ.Νίκο Ξεκουκουλωτάκη.
- Στην Ελευθερία Κλώντζα, στην Έφη Τσολάκη και στον Νίκο Βακόνδιο για την συνύπαρξη στο εργαστήριο και βοήθεια τους.

Περίληψη

Εκτός από τους συμβατικούς ρύπους που έχουν μακροχρόνια μελετηθεί στα υγρά απόβλητα, υπάρχουν και ουσίες που δεν είχαν μέχρι πρόσφατα τραβήξει το επιστημονικό και κοινωνικό ενδιαφέρον, καθώς βρίσκονται σε μικρές ποσότητες και θεωρήθηκαν ακίνδυνες. Με τα διαρκώς αυξανόμενα προβλήματα υγείας που παρουσιάζονται σε πληθυσμούς και με την εξέλιξη της τεχνολογίας γίνεται εφικτή και αναγκαία η διεξοδική μελέτη ύποπτων ουσιών που καταλήγουν στο περιβάλλον. Οι ουσίες αυτές είναι κυρίως φαρμακευτικές και δύσκολα ανιχνεύσιμες καθώς συναντώνται σε απειροελάχιστες ποσότητες.

Κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε η συμπεριφορά τεσσάρων ουσιών σε σύστημα ενεργού ιλύος, με στόχο να προσδιοριστεί ο βαθμός προσρόφησης των ουσιών στην ενεργό ιλύ, σε ασηπτικές συνθήκες. Οι ουσίες bisphenol-A, 17b-estradiol, 17a-ethinylestradiol και estrone λειτουργούν σαν ενδοκρινικοί διαταράκτες και μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στην ομαλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Για να διερευνηθεί η συμπεριφορά τους έγιναν πειράματα προσρόφησης με προσροφητή ενεργό ιλύ που παρήχθηκε στο εργαστήριο. Το βασικό συμπέρασμα που προέκυψε είναι ότι οι ουσίες προσροφώνται σε μεγάλο βαθμό στην ενεργό ιλύ μέσα σε λίγες ώρες.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
2.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	7
2.1 Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στο περιβάλλον και στα λύματα.....	7
2.2 Μέθοδοι απομάκρυνσης.....	9
2.3 Απομάκρυνση μέσω της ενεργού ιλύος.....	10
3.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	11
3.1.Αντιδραστήρια.....	11
3.2.Παραγωγή ενεργού ιλύος.....	11
3.3.Πειράματα προσρόφησης.....	14
3.3.1.Κινητικά πειράματα προσρόφησης.....	15
3.3.2.Πειράματα ισόθερμης προσρόφησης.....	15
3.4 Αναλυτικές μέθοδοι.....	16
3.4.1 Ανάλυση των ουσιών με υγρή χρωματογραφία.....	16
3.4.2 Μέτρηση MLSS.....	17
4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ–ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	18
4.1 Αποτελέσματα ανάπτυξης μεθόδου.....	18
4.2.Κινητικά πειράματα προσρόφησης.....	23
4.2.1 Bisphenol–A (BPA).....	24
4.2.2 17β–Estradiol (E2).....	25
4.2.3 17a–Ethinylestradiol (EE2).....	26
4.2.4 Estrone.....	27
4.3.Ισόθερμη προσρόφησης.....	28
4.3.1 Bisphenol–A (BPA).....	28
4.3.1.1 Ισόθερμη προσρόφησης.....	28
4.3.1.2 Ισόθερμη Langmuir.....	29
4.3.1.3 Ισόθερμη Freundlich.....	30
4.3.2 17β–Estradiol (E2).....	31
4.3.2.1 Ισόθερμη προσρόφησης.....	31
4.3.2.2 Ισόθερμη Langmuir.....	32
4.3.2.3 Ισόθερμη Freundlich.....	33

4.3.3 17a-Ethinylestradiol (EE2).....	34
4.3.3.1 Ισόθερμη προσρόφησης.....	34
4.3.3.2 Ισόθερμη Langmuir.....	35
4.3.3.3 Ισόθερμη Freundlich.....	36
4.3.4 Estrone (E1).....	37
4.3.4.1 Ισόθερμη προσρόφησης.....	37
4.3.4.2 Ισόθερμη Langmuir.....	38
4.3.4.3 Ισόθερμη Freundlich.....	39
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	40
5.1 Συμπεράσματα.....	40
5.2 Προτάσεις για μελλοντική εργασία.....	40
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	41
7.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....	45
7.1 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α (Πειραματικές μετρήσεις).....	45
7.2 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β (Χημικές ιδιότητες ουσιών).....	48

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πιθανότητα κάποιες χημικές ουσίες να διαταράσσουν το ενδοκρινικό σύστημα, τόσο του ανθρώπου όσο και των ζώων έχει αφυπνίσει το κοινωνικό και επιστημονικό ενδιαφέρον, τα τελευταία κυρίως χρόνια. Σε συνδυασμό με το νευρικό και ανοσοποιητικό σύστημα, το ενδοκρινικό κατευθύνει τους μηχανισμούς που ρυθμίζουν βασικές λειτουργίες του σώματος. Η διαταραχή του είναι ένα πολύ ευαίσθητο θέμα καθώς δημιουργεί αλυσιδωτές αντιδράσεις σε πολλούς τομείς και επηρεάζει πολύπλευρα την καθημερινή ζωή του ανθρώπου αλλά και το περιβάλλον του. Η πρώτη προσέγγιση του προβλήματος έγινε το 1962, με μια δημοσίευση του Rachel Carson. Μελέτες ακολούθησαν αλλά παρόλα αυτά, ο ορισμός του ενδοκρινικού διαταράκτη έγινε επίσημα μόλις το 1991.

Υπάρχει μεγάλο εύρος χημικών ουσιών που διαταράσσει το ενδοκρινικό. Κύριες κατηγορίες είναι οι τεχνητές ορμόνες, τα φυτοφάρμακα, πρόσθετα που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή πλαστικών καθώς και άλλα βιομηχανικά υποπροϊόντα και ρύποι. Πολλές από αυτές τις ουσίες μπορούν να μεταφερθούν σε μεγάλες αποστάσεις μέσω των υδάτων και του αέρα, ενώ άλλες διασπώνται στο περιβάλλον ή το ανθρώπινο σώμα με ταχύτερους ρυθμούς.

Μελέτες που έχουν γίνει σε ζώα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η έκθεση σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να επιφέρει παρόμοιες επιπτώσεις στον άνθρωπο. Κάποιες από αυτές είναι: διαταραχές στα φυσιολογικά ορμονικά επίπεδα, προβλήματα στην αναπαραγωγική διαδικασία, πρόωρες γεννήσεις, διαταραχές στην συμπεριφορά και στην εγκεφαλική λειτουργία, ανεπαρκή ανοσοποιητική λειτουργία, καρκίνοι.

Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες δρουν με τρεις τρόπους.

(α) Μιμούνται τις ορμόνες και προκαλούν τις αντίστοιχες αντιδράσεις, παρεμποδίζοντας την φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού.

(β) Μπλοκάρουν τους υποδοχείς που χρησιμοποιούν οι ορμόνες και παρεμποδίζουν τη δράση τους.

(γ) Μεταβάλλουν τη σύνθεση, τη μεταφορά και τον μεταβολισμό των ορμονών, επηρεάζοντας έτσι και τη συγκέντρωσή τους στο σώμα.

Βασικός τρόπος έκθεσης του ανθρώπου στις ουσίες αυτές είναι η διατροφή, καθώς μεγάλο ποσοστό των ουσιών συσσωρεύεται στο λίπος των ζώων καθώς και στα φυτά. Συνεπώς πολλές ουσίες που βρίσκονται στο περιβάλλον, μέσω της μεταβολικής οδού εισέρχονται στο ανθρώπινο σώμα. Το περιβάλλον, επιβαρύνουν κυρίως τα αστικά και βιομηχανικά λύματα, καθώς δεν υπάρχουν ακόμα διαδεδομένοι μηχανισμοί απομάκρυνσης των ουσιών αυτών από τα λύματα.

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη τεσσάρων ουσιών που ανιχνεύονται στα αστικά λύματα και δρουν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες. Οι ουσίες που εξετάστηκαν είναι: η bisphenol-A, η 17β-estradiol, η 17α-ethinylestradiol και η estrone. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η συμπεριφορά των ουσιών στη φάση επεξεργασίας των λυμάτων με ενεργό ιλύ, ώστε να καθοριστεί εάν οι ουσίες προσροφώνται στην ιλύ ή εάν ακολουθούν τη ροή των επεξεργασμένων αποβλήτων με αποτέλεσμα να διατίθενται στην εκροή. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων είναι πολύ χρήσιμα καθώς μας βοηθούν να κατανοήσουμε τον κύκλο που κάνουν οι ουσίες στο περιβάλλον και μπορούμε έτσι να προσδιορίσουμε σαφέστερα με ποιόν τρόπο ο άνθρωπος εκτίθεται σε αυτές. Επιπλέον, γνωρίζοντας τη συμπεριφορά τους, μπορούμε να αναπτύξουμε τις ανάλογες μεθόδους για την απομάκρυνσή τους.

2.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στο περιβάλλον και στα λύματα.

Τόσο στο περιβάλλον, όσο και στα λύματα, οι περισσότεροι ενδοκρινικοί διαταράκτες εμφανίζονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, της τάξης των ng/L . Το γεγονός αυτό καθιστά την ανίχνευση και τη μελέτη τους ένα δύσκολο έργο, ταυτόχρονα όμως απαραίτητο, καθώς μικρές συγκεντρώσεις αρκούν για επιφέρουν διαταραχές στον ανθρώπινο οργανισμό και στα ζώα.

Η bisphenol-A (BPA), ανιχνεύεται στα επιφανειακά ύδατα σε συγκεντρώσεις της τάξεως των μερικών εκατοντάδων ng/L. Στο πόσιμο νερό δεν ξεπερνά τα μερικά ng/L.

Οι 17b-estradiol (E2) και estrone (E1), ανιχνεύονται στα επιφανειακά ύδατα σε συγκεντρώσεις της τάξεως των μερικών δεκάδων ng/L. Στα υπόγεια ύδατα η συγκέντρωσή της E2 δεν ξεπερνά το 1 ng/L. Στο πόσιμο νερό η E2 σπάνια ανιχνεύεται και η E1 δεν ξεπερνά τα 2 ng/L.

Η 17a-ethinylestradiol (EE2), ανιχνεύεται στα επιφανειακά ύδατα σε συγκεντρώσεις της τάξεως των μερικών ng/L. Στο πόσιμο νερό σπάνια ανιχνεύεται. ^[1]

Οι συγκεντρώσεις των παραπάνω ουσιών στα λύματα ποικίλουν, καθώς εξαρτώνται κυρίως από την προέλευση των λυμάτων (αστικά, βιομηχανικά). Παρακάτω παρατίθενται πίνακες με τις συγκεντρώσεις των ουσιών στην εισροή και την εκροή βιολογικών καθαρισμών.

Πίνακας 2.1: Συγκεντρώσεις των E1,E2 και EE2 στην εισροή και εκροή βιολογικών καθαρισμών.

Τοποθεσία	Στάδιο	E1(ng/L)	E2(ng/L)	EE2(ng/L)	Βιβλ.Αναφορά
Γαλλία (Παρίσι)	Εισροή	9.6–17.6	11.1–17.4	4.9–7.1	[2]
	Εκροή	1.1–3.0	1.4–3.2	1.1–2.9	
Ιταλία (Ρώμη)	Εισροή	31.0	9.7	4.8	[3]
	Εκροή	3	1.4	0.6	
Ισπανία	Εισροή	2.5–115	5–30.4	<5	[4]
	εκροή	2.5–8.1	5–14.5	<5	

Πίνακας 2.2: Συγκέντρωση της BPA στην εισροή και εκροή βιολογικών καθαρισμών.

Τοποθεσία	Εισροή (ng/L)	Εκροή (ng/L)	Βιβλ.Αναφορά
Γερμανία	542	162	[5]
Γαλλία	239.1	162.3	[6]
Ελλάδα	680	70	[7]
Αυστραλία	92.4–115.6	4.3–18.9	[8]
Κορέα	70–92	4.1–4.7	[9]

2.2 Μέθοδοι απομάκρυνσης

Στις περισσότερες μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων δεν υπάρχει ειδικό στάδιο υπεύθυνο για την απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών. Ένα μεγάλο ποσοστό απομακρύνεται κατά την επεξεργασία των λυμάτων με ενεργό ιλύ.

Διεργασίες που μπορούν να απομακρύνουν σε ικανοποιητικό βαθμό τις ουσίες ερευνώνται διαρκώς ώστε να βελτιωθούν και να γίνουν εφαρμόσιμες. Κάποιες από αυτές είναι η προσρόφηση σε ενεργό άνθρακα, η επεξεργασία με χρήση μεμβρανών και οι προηγμένες διεργασίες οξείδωσης (AOPs).

Με την επεξεργασία με ενεργό άνθρακα επιτυγχάνεται απομάκρυνση των ουσιών σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90%. Η επεξεργασία όμως αυτή δύσκολα εφαρμόζεται αποτελεσματικά, καθώς οργανικές ενώσεις που πιθανόν να υπάρχουν στο νερό ανταγωνίζονται τους ενδοκρινικούς διαταράκτες για τις θέσεις προσρόφησης. Συνεπώς θα πρέπει να έχει ήδη γίνει πολύ καλή επεξεργασία του νερού. ^[10]

Αποτελεσματική απομάκρυνση επιτυγχάνεται με χρήση μεμβρανών με πόρους μικρότερους των 100nm (nanofiltration). Επιπλέον, με την διεργασία της αντίστροφης όσμωσης η απομάκρυνση μπορεί είναι αρκετά υψηλή ώστε οι ουσίες να μην είναι ανιχνεύσιμες στο επεξεργασμένο νερό.

Διεργασίες οξείδωσης, όπως η οζόνωση, μπορούν να επιτύχουν απομάκρυνση έως 90% των ουσιών.^[11] Απομάκρυνση των ουσιών μπορεί επίσης να γίνει με την χρήση UV ακτινοβολιών. Η επεξεργασία με φωτοκατάλυση και χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και διοξειδίου του τιτανίου (TiO_2) μπορεί να απομακρύνει το 98% της αρχικής συγκέντρωσης των ουσιών. ^[12]

2.3 Απομάκρυνση μέσω της ενεργού ιλύος

Η απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών από τα λύματα στο στάδιο επεξεργασίας με ενεργό ιλύ γίνεται με δυο διεργασίες, της βιοαποδόμησης και της προσρόφησης στη βιομάζα.

Όσον αφορά τη βιοαποδόμηση, έχουν μελετηθεί μικροοργανισμοί που μπορούν να βιοδιασπάσουν αποτελεσματικά κάποιες ουσίες. Με τη διαδικασία συμμεταβολισμού, βακτηρίων που οξειδώνουν την αμμωνία, οι *Rhodococcus zopfii* και *R. equi* μπορούν να απομακρύνουν τις E1 και E2 ενώ το *nitrosomonas europaea* απομακρύνει και την EE2. Έχει επίσης παρατηρηθεί πως εγκαταστάσεις βιολογικών καθαρισμών με στάδιο απονιτροποίησης είναι ικανές να απομακρύνουν διασπάσιμους ενδοκρινικούς διαταράκτες.^[13]

Η προσρόφηση είναι η βασική διεργασία απομάκρυνσης σ' αυτή την περίπτωση και είναι η διεργασία που εξετάζεται πειραματικά στην παρούσα μελέτη. Οι περισσότεροι ενδοκρινικοί διαταράκτες προσροφώνται στην ενεργό ιλύ. Ανάλογα με την θερμοκρασία, το pH, τον χρόνο παραμονής, μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί το συνολικό ποσοστό προσρόφησης. Η BPA για παράδειγμα προσροφάται καλύτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες (10 °C). ^[14] Πείραμα στο οποίο αυξάνεται η συγκέντρωση της βιομάζας (40gr/L), καθώς και ο χρόνος απομάκρυνσης της ιλύος (λάσπη απομακρύνεται από τη δεξαμενή ανά έξι μήνες) και ταυτόχρονα μειώνεται ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας (μείωση κατά μια τάξη μεγέθους σε σχέση με τους κανονικούς ρυθμούς παραγωγής), έδειξε ότι αυξάνει σε μεγάλο βαθμό την απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών. ^[15]

3.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1.Αντιδραστήρια

Ακετονιτρίλιο, υπερκάθαρο νερό, bisphenol-A(Cas: 80-05-7), 17b-estradiol(Cas: 50-28-2), 17a-ethinylestradiol(Cas: 57-63-6), estrone(Cas: 53-16-7), της Sigma Aldrich.

3.2.Παραγωγή ενεργού ιλύος:

Η παραγωγή ενεργού ιλύος έγινε στο εργαστήριο σε ελεγχόμενο περιβάλλον ώστε να μην είναι επιβαρυμένη με τις υπό μελέτη ουσίες. Η παραγωγή έγινε υπό αερόβιες συνθήκες, με την καθημερινή προσθήκη θρεπτικού υλικού. Χρησιμοποιήθηκε αντιδραστήρας που προϋπήρχε στο εργαστήριο, χωρητικότητας 15L.

Ο αντιδραστήρας ήταν κατασκευασμένος από ένα πλαστικό δοχείο, με ένα σύστημα αερισμού προσαρμοσμένο στον πάτο. Για την εύκολη λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος λάσπης υπήρχε μια κάνουλα προσαρμοσμένη λίγο ψηλότερα από τον πάτο. Το δοχείο έκλεινε με καπάκι, στο οποίο υπήρχε μια οπή από την οποία περνούσε ο σωλήνας αερισμού και ο άξονας του συστήματος αερισμού. Το σύστημα αερισμού κατασκευάστηκε από μια ξύλινη βάση, που βρισκόταν στο χαμηλότερο σημείο του δοχείου, προσαρμοσμένη σε έναν μεταλλικό άξονα που κρατούσε την διάταξη στο κέντρο του αντιδραστήρα. Από έναν κεντρικό πλαστικό σωλήνα, προσδεμένο στον άξονα, τροφοδοτούνταν με αέρα μικρότερα σωληνάκια που στην άκρη τους τοποθετήθηκαν αερόπετρες (τύπου ενιδρύου) για την δημιουργία φυσαλίδων μικρής διαμέτρου. Οι αερόπετρες συγκολλήθηκαν με σιλικόνη και προσδέθηκαν στην βάση και τον άξονα.

Σε κάποια φάση της παραγωγής παρατηρήθηκε αλλοίωση της σύστασης της ιλύος και ανάπτυξη αλγών. Για το λόγο αυτό ο αντιδραστήρας επικαλύφθηκε με αλουμινόχαρτο για να ελαχιστοποιηθεί η εισερχόμενη ακτινοβολία και να σταματήσει η ανάπτυξή τους. Επιπλέον έγινε απομάκρυνση ποσότητας λάσπης περιοδικά για κάποιες ημέρες ώστε να απομακρυνθούν τα άλγη και να επανέλθει η αρχική σύσταση της ιλύος.

Η παραγωγή ενεργού ιλύος ξεκίνησε στις 5 Νοεμβρίου 2008. Προστέθηκε σε θρεπτικό υλικό ποσότητα ιλύος που είχε παραχθεί παλιότερα στο εργαστήριο και είχε διατηρηθεί στην κατάψυξη. Χρησιμοποιήθηκε όγκος 1,5L με $MLSS=2700mg/L$, πλήρως αποψυγμένος, 10L θρεπτικό $1000mg/L$ COD και 3,5L νερό.

Παρασκευάστηκε πυκνό διάλυμα θρεπτικού υλικού, που διατηρήθηκε στους $4^{\circ}C$. Η σύσταση του θρεπτικού στα 20L φαίνεται στον πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1: Σύσταση θρεπτικού υλικού.

Peptone	25,60gr
Meat extract	17,60gr
Urea	4,80gr
K_2HPO_4	4,48gr
NaCl	1,12gr
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,64gr
$Mg_2SO_4 \cdot 7H_2O$	0,16gr

Πριν την προσθήκη θρεπτικού γινόταν μέτρηση των στερεών της ιλύος και στην συνέχεια με κατάλληλη αρραίωση, παρασκευή του ανάλογου όγκου θρεπτικού στην επιθυμητή συγκέντρωση.

Κατά τη φάση της ανάπτυξης γινόταν καθημερινή προσθήκη θρεπτικού υλικού, αφού είχε προηγουμένως εκτιμηθεί η ποσότητα στερεών στην ιλύ, με τον ακόλουθο τρόπο. Αρχικά σταματούσε η παροχή αέρα και το σύστημα αερισμού ανυψωνόταν και στερεωνόταν εκτός της υγρής φάσης του αντιδραστήρα. Στη συνέχεια μεσολαβούσε ένα μικρό χρονικό διάστημα κατά το οποίο οι μικροοργανισμοί καθίζαναν. Μετά την καθίζηση γινόταν μέσω της βάνας συλλογή υπερκείμενου υγρού. Στη συνέχεια προσθήκη θρεπτικού υλικού ίσου όγκου με το εξερχόμενο υπερκείμενο και τέλος επαναφορά του συστήματος αερισμού και άνοιγμα της βάνας του αέρα.

Όταν η συγκέντρωση των στερεών έγινε αρκετά υψηλή (2500–3000mg/L) ξεκίνησε η συλλογή ιλύος. Η διαδικασία ήταν η ίδια με την παραπάνω με την διαφορά ότι παραλήφθηκε το στάδιο της καθίζησης. Η συλλογή του δείγματος γινόταν υπό ανάδευση και στη συνέχεια αφηνόταν να καθιζάνει σε ποτήρια ζέσεως. Αφού απομακρυνόταν μέρος του υπερκείμενου υγρού, ώστε να επιταχυνθεί η διαδικασία της ξήρανσης, ακολουθούσε ξήρανση της ιλύος στους 105 °C για περίπου 6 ώρες. Η αποξηραμένη ιλύ φυλασσόταν στη συνέχεια σε αποστειρωμένα δοχεία.

Η παραγωγή ολοκληρώθηκε στις 23 Δεκεμβρίου 2008, με τη διακοπή της λειτουργίας του συστήματος και την ξήρανση όλης της ιλύος που υπήρχε στον αντιδραστήρα.

3.3.Πειράματα προσρόφησης:

Ός προσροφητής χρησιμοποιήθηκε η ξηρή βιομάζα που παράχθηκε στο εργαστήριο. Παρασκευάστηκαν 4 stock διαλύματα, ένα για την κάθε ουσία, συγκέντρωσης περίπου 1 mg/L. Το κάθε διάλυμα παρασκευάστηκε σε αποστειρωμένα με βραστό νερό πλαστικά δοχεία, χωρητικότητας 10L. Σε κάθε δοχείο προστέθηκαν 5L αποστειρωμένο νερό και 5mg της αντίστοιχης κάθε φορά ουσίας. Αποστειρωμένο νερό χρησιμοποιήθηκε για την αποφυγή ανάπτυξης μικροοργανισμών που ίσως μπορούσαν να βιοδιασπάσουν την ουσία. Λόγω της μικρής διαλυτότητας που είχαν οι ουσίες έγινε παρατεταμένη ανάδευση με την ανακίνηση των δοχείων. Στη συνέχεια, πριν από την εκτέλεση κάποιου πειράματος, μετρίοταν η συγκέντρωση του διαλύματος στον χρωματογράφο, ώστε να γνωρίζουμε την ακριβή συγκέντρωση κάθε διαλύματος.

Αρχικά έγιναν τα κινητικά πειράματα προσρόφησης για τον προσδιορισμό του βέλτιστου χρόνου ισορροπίας μεταξύ της συγκέντρωσης του διαλύματος και της προσροφημένης μάζας στην επιφάνεια του στερεού. Στη συνέχεια ακολούθησαν τα πειράματα ισόθερμης προσρόφησης.

3.3.1.Κινητικά πειράματα προσρόφησης

Χρησιμοποιήθηκαν κωνικές φιάλες, οι οποίες είχαν αποστειρωθεί την προηγούμενη μέρα σε θερμοκρασία 450 °C. Κάθε κωνική φιάλη περιείχε 100ml διαλύματος συγκέντρωσης 1 mg/L περίπου και 0,5gr ενεργού ιλύος. Η ανάδευση έγινε στην ειδική συσκευή στις 100rpm. Για κάθε ουσία επιλέχτηκε αριθμός δειγμάτων και χρόνοι ανάλογοι με την προσροφητικότητα που παρατηρήθηκε κατά τα πειράματα. Για την BPA χρησιμοποιήθηκαν 6 δείγματα με χρόνους ανάδευσης 1h, 2h, 6h, 24h, 48h, 72h. Για τις E2 και EE2 χρησιμοποιήθηκαν 5 δείγματα με χρόνους ανάδευσης 1h, 2h, 6h, 24h, 48h. Για την εστρόνη χρησιμοποιήθηκαν 6 δείγματα με χρόνους ανάδευσης 30min, 60min, 90min, 2h, 24h, 48h. Με το πέρας του χρόνου ανάδευσης το δείγμα περνούσε από διήθηση με υαλόφιльтра της εταιρείας WHATMAN τύπου GF/C (μέγεθος πόρων ~1μm). Στην συνέχεια γινόταν προσδιορισμός της συγκέντρωσης στον χρωματογράφο. Χρόνος ισορροπίας για τα πειράματα προσρόφησης επιλέχθηκαν οι 48 ώρες.

3.3.2.Πειράματα ισόθερμης προσρόφησης

Για κάθε ουσία παρασκευάστηκαν 6 δείγματα σε αποστειρωμένες κωνικές φιάλες με 100ml διαλύματος και διαφορετική ποσότητα ενεργού ιλύος κάθε φορά. Η αρχική συγκέντρωση του διαλύματος μετρήθηκε 990μg/L για την BPA, 1050μg/L για την E2, 1030μg/L για την EE2 και 1090μg/L για την εστρόνη. Οι ποσότητες βιομάζας που προστέθηκαν ήταν 0.1gr, 0.2gr, 0.3gr, 0.5gr, 0.7gr και 1gr. Οι φιάλες τοποθετήθηκαν στην συσκευή ανάδευσης για 48 ώρες στις 100rpm. Με το πέρας των 48 ωρών έγινε διήθηση του κάθε δείγματος και μέτρηση της συγκέντρωσης στον χρωματογράφο.

3.4 Αναλυτικές μέθοδοι

Για τον διαχωρισμό και την ποσοτικοποίηση και των τεσσάρων ουσιών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC) κανονικής φάσης με ανιχνευτή φθορισμού.

3.4.1 Ανάλυση των ουσιών με υγρή χρωματογραφία.

Οι μετρήσεις έγιναν σε υγρό χρωματογράφο Hewlett Packard, 1100 series. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Supelcosil LC-18, μήκους 15cm, εσωτερικής διαμέτρου 4,6mm και επίστρωσης υλικού πλήρωσης 5mm. Ο ανιχνευτής φθορισμού ήταν της εταιρείας Hewlett Packard, μοντέλο 1046A, ενώ η λάμπα λειτουργούσε στα 55Hz.

Η εισαγωγή του δείγματος (60μL) έγινε κανονικά στον βρόγχο εισαγωγής. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν υπερκάρθαρο νερό και ακετονιτρίλιο. Για τον βέλτιστο διαχωρισμό των ουσιών στα χρωματογραφήματα χρησιμοποιήθηκε η ακόλουθη μέθοδος. Η ροή διατηρήθηκε σταθερή στα 0,5mL/min. Τα αρχικά ποσοστά των διαλυτών ήταν ίσα (50%Ακετονιτρίλιο-50%Νερό) και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης μεταβαλλόταν σύμφωνα με τον πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: Μεταβολή ποσοστού διαλύτη με το χρόνο.

	Χρόνος (min)	Νερό (%)
1	2.00	40
2	15.00	25
3	20.00	25

Τα τελικά ποσοστά διαλυτών ήταν 75%Ακετονιτρίλιο και 25%Νερό. Η θερμοκρασία της στήλης παρέμενε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων στους 25°C. Λειτουργούσε τέλος πρόγραμμα αλλαγής σήματος στον ανιχνευτή. Στον πίνακα 3.3 φαίνεται η αλλαγή του σήματος που γινόταν στα 7,6min.

Πίνακας 3.3: Μεταβολή σήματος.

	Αρχικό	Τελικό
Διέγερση	280 nm	205 nm
Εκπομπή	305 nm	310 nm

Η επεξεργασία των χρωματογραφημάτων έγινε με το λογισμικό HP CHEMSTATION.

3.4.2 Μέτρηση MLSS.

Προσδιορίστηκε η παράμετρος MLSS. Η διαδικασία είχε ως εξής: ζύγισμα υαλόφιλτρου τύπου GF/C και τοποθέτηση στην συσκευή διήθησης. Λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος λάσπης όγκου 25ml και διήθηση συγκεκριμένου όγκου υπό κενό. Στη συνέχεια ξήρανση του φίλτρου στους 105 °C και εκ νέου ζύγιση του φίλτρου. Τέλος υπολογισμός των MLSS με τη διαφορά βάρους του φίλτρου και τον διηθημένο όγκο. Ο υπολογισμός έγινε με τον ακόλουθο τύπο,

$$mg \text{ MLSS}/L = \frac{(\text{Τελικό βάρος Φίλτρου} - \text{Αρχικό βάρος Φίλτρου})}{V \text{ δείγματος σε } L}$$

4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Αποτελέσματα ανάπτυξης μεθόδου

Η επαναληψιμότητα (repeatability) μιας αναλυτικής μεθόδου αναφέρεται στην πιστότητα των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων δοκιμών, που αποκτώνται με τα ίδια δείγματα, στο ίδιο εργαστήριο, από τον ίδιο αναλυτή και τα ίδια μηχανήματα. Επίσης σημαντική παράμετρος αξιοπιστίας μιας μεθόδου είναι η αναπαραγωγικότητα (reproductivity), που εξετάζει την πιστότητα αποτελεσμάτων που αποκτώνται σε διαφορετικά εργαστήρια, από διαφορετικό αναλυτή και μηχανήματα.

Εξετάστηκε στο εργαστήριο η επαναληψιμότητα της μεθόδου, τόσο κατά την διάρκεια μιας ημέρας όσο και σε διαφορετικές ημέρες. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 10μg/L, 100 μg/L και 500μg/L για τις E2, EE2 και BPA, ενώ για την estrone 25μg/L, 100μg/L, 500μg/L. Ακολουθούν οι τιμές τυπικής απόκλισης των συγκεντρώσεων (RSD).

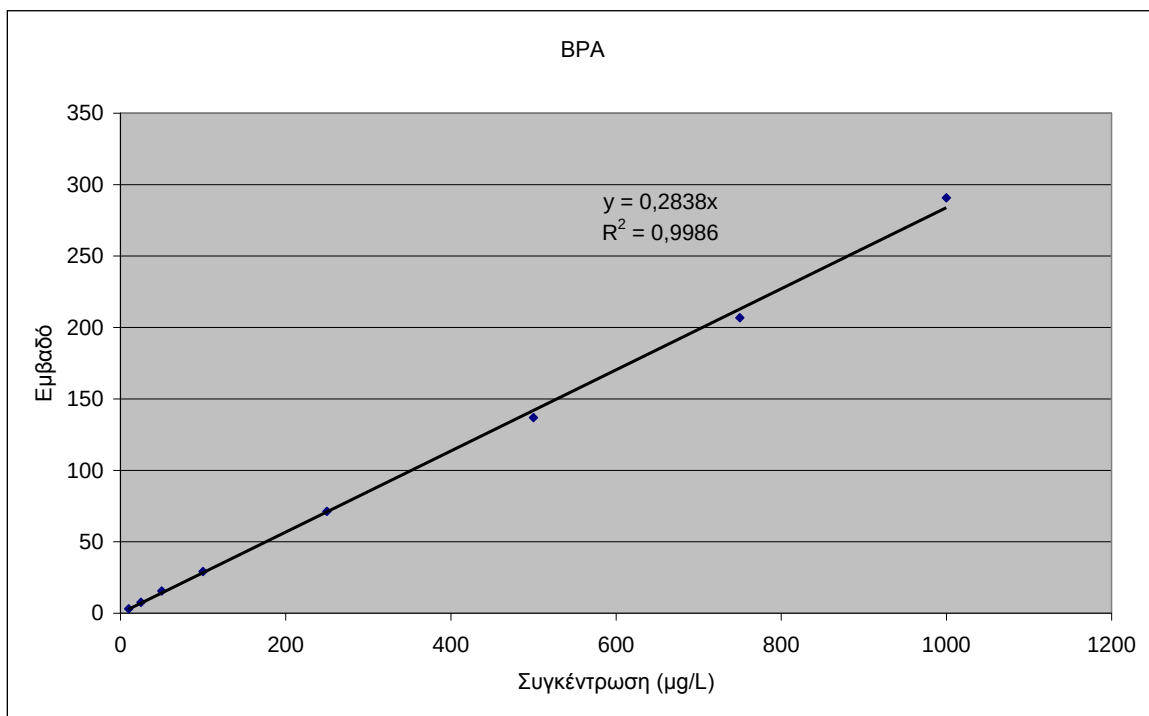
Πίνακας 4.1: Τιμές τυπικής απόκλισης BPA, E2, EE2.

	RSD (%)		
	BPA	E2	EE2
10 μg/L	8,1	8,7	6,8
100 μg/L	7,1	7,9	5,6
500 μg/L	8,9	7,1	7,9

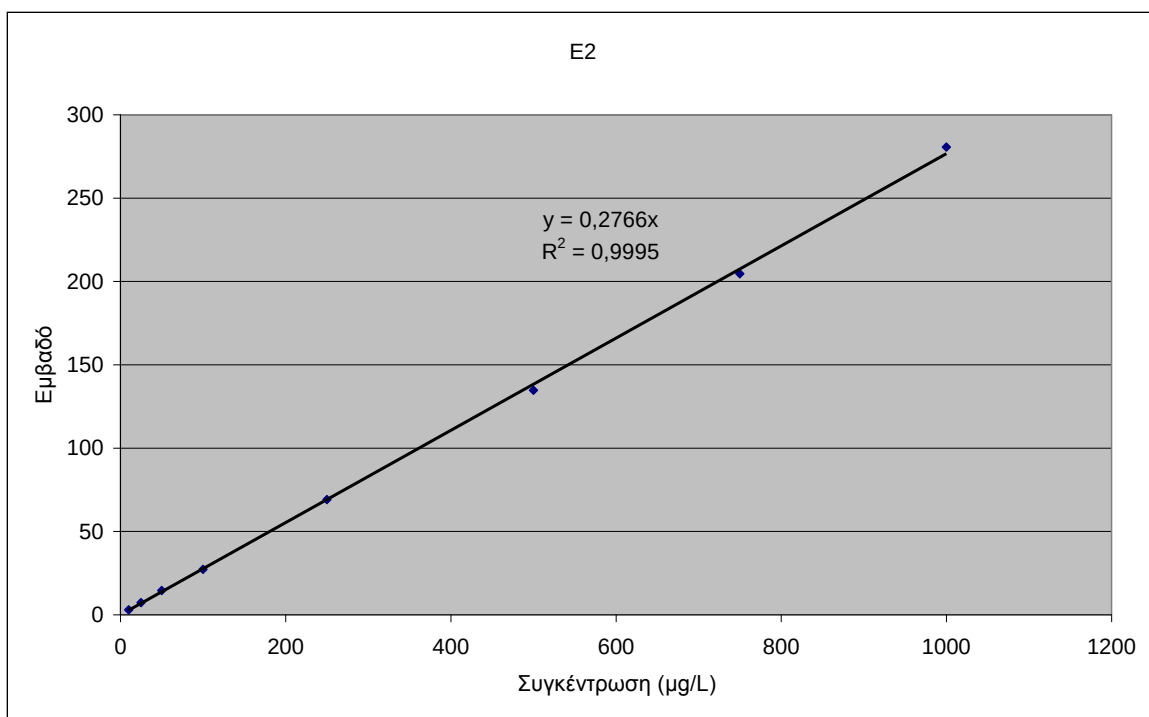
Πίνακας 4.2: Τιμές τυπικής απόκλισης estrone.

estrone	RSD(%)
25 μg/L	8,9
100 μg/L	6,3
500 μg/L	7,4

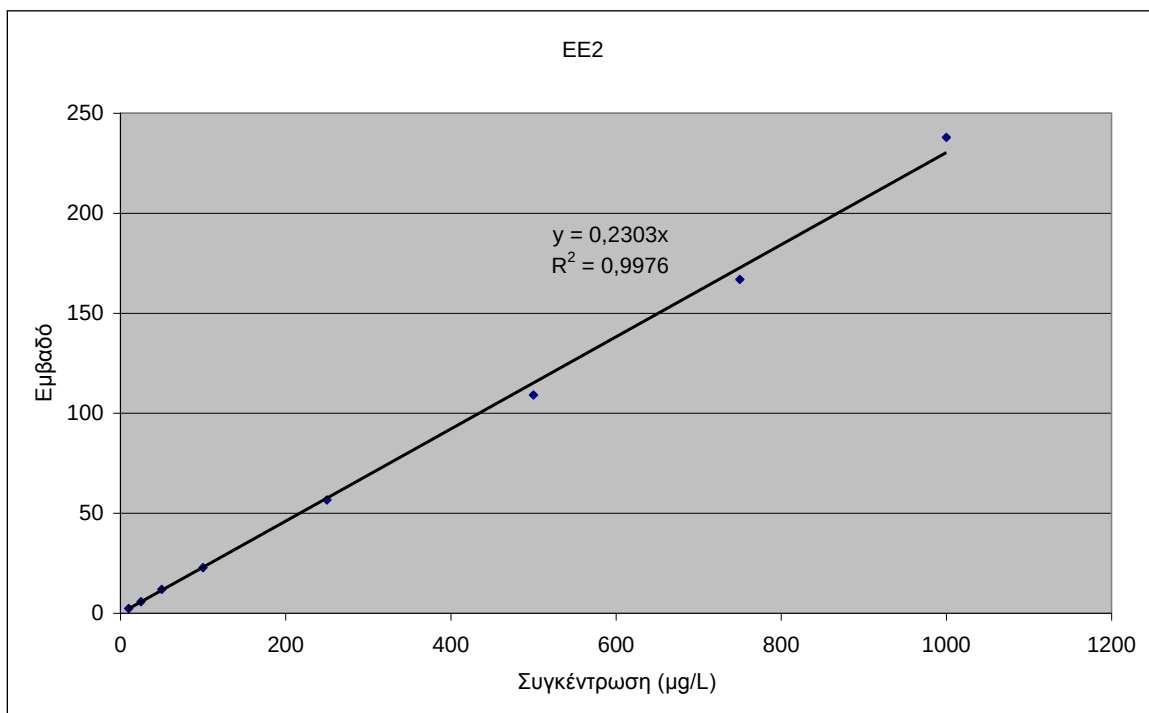
Η γραμμικότητα της μεθόδου εξετάστηκε χρησιμοποιώντας τις συγκεντρώσεις 10, 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/L}$ για τις BPA, E2 και EE2, ενώ για την estrone δεν εξετάστηκε η συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/L}$. Η ανάλυση των διαλυμάτων έγινε τρεις φορές και ο μέσος όρος των τιμών χρησιμοποιήθηκε στο διάγραμμα. Οι συντελεστές συσχέτισης R^2 φαίνονται στα διαγράμματα. Και στις τέσσερις περιπτώσεις το αποτέλεσμα τους είναι ικανοποιητικό, καθιστώντας την μέθοδο γραμμική. Ακολουθούν τα διαγράμματα για τις ουσίες.



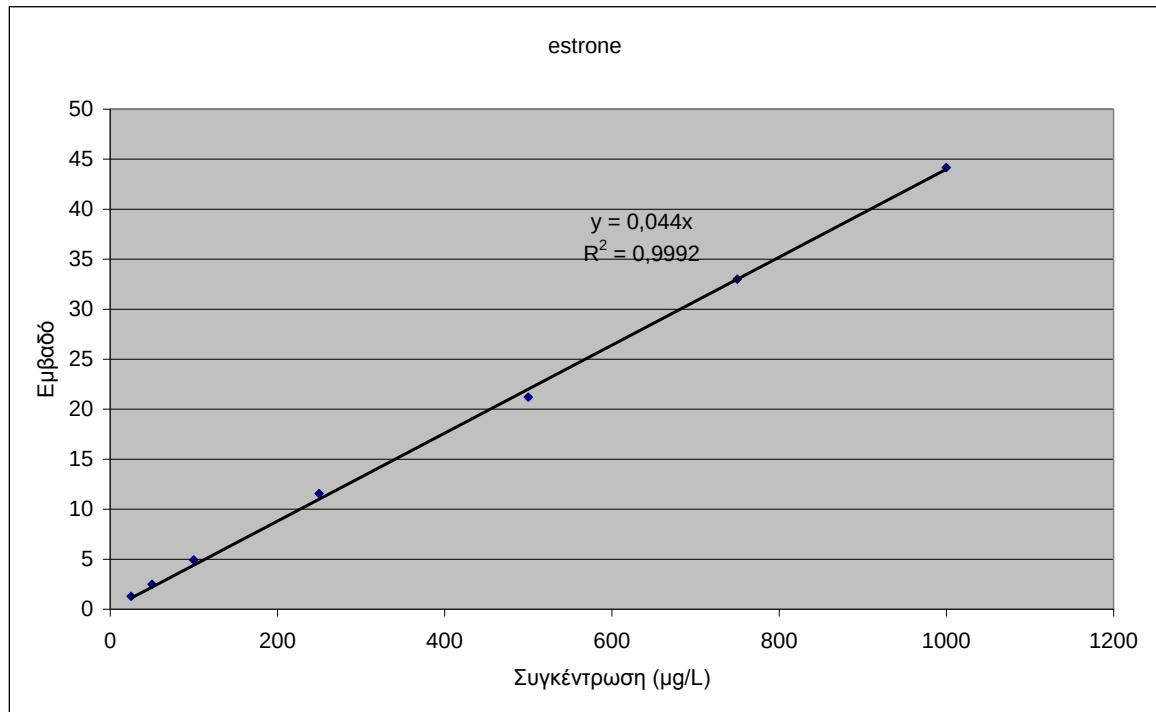
Σχήμα 4.1: Ευθεία βαθμονόμησης της μεθόδου για την BPA.



Σχήμα 4.2: Ευθεία βαθμονόμησης της μεθόδου για την E2.



Σχήμα 4.3: Ευθεία βαθμονόμησης της μεθόδου για την EE2.



Σχήμα 4.4: Ευθεία βαθμονόμησης της μεθόδου για την estrone.

Εξετάστηκαν επίσης το όριο ανίχνευσης και το όριο ποσοτικοποίησης για κάθε ουσία. Το LOD (Limit of Detection), είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση της ουσίας που μπορεί να ανιχνευθεί από τον χρωματογράφο. Υπολογίζεται με την βοήθεια της τυπικής απόκλισης (s) επτά αναλύσεων του δείγματος του οποίου η συγκέντρωση είναι η μικρότερη που χρησιμοποιήθηκε στον υπολογισμό της καμπύλης αναφοράς. Αριθμητικά αντιστοιχεί στην τιμή 3s. Το LOQ (Limit of Quantification), είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με ακρίβεια σε ένα χρωματογράφημα. Αριθμητικά αντιστοιχεί στην τιμή 10s. Παρακάτω παρατίθεται πίνακας με τα όρια της μεθόδου για την κάθε ουσία.

Πίνακας 4.3: Όρια μεθόδου (LOQ, LOD).

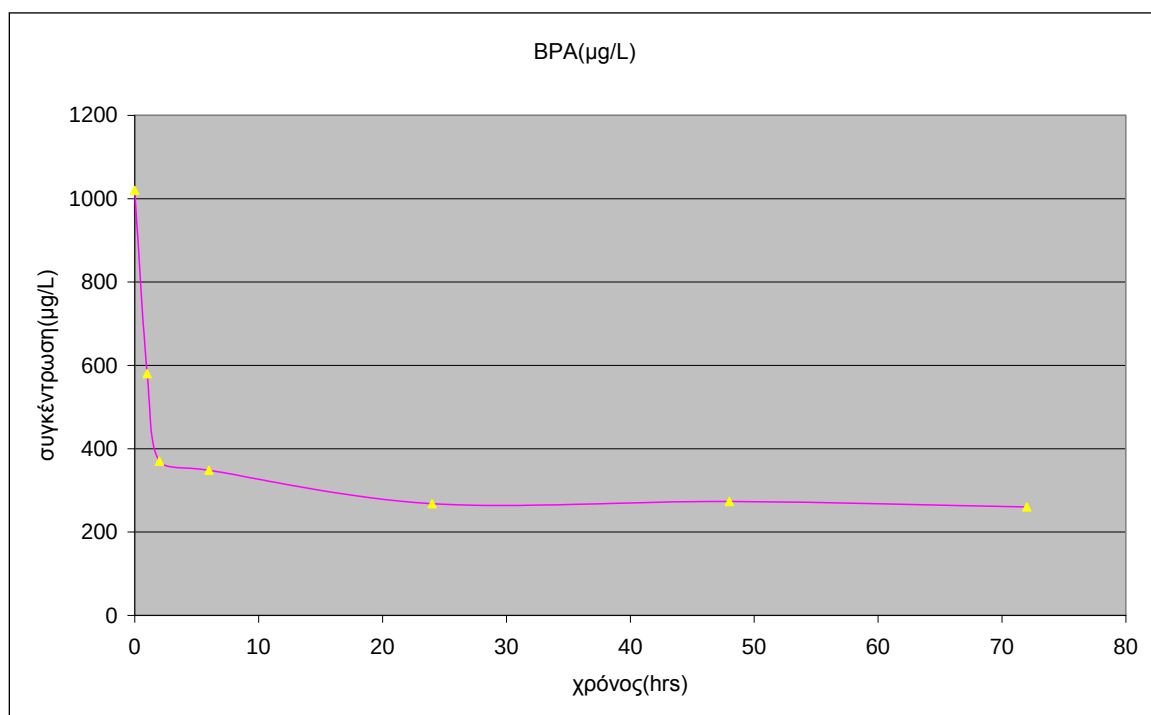
Ουσία	Εύρος Γραμμικότητας	LOQ (µg/L)	LOD (µg/L)
BPA	10-1000 µg/L	8,4	2,5
E2	10-1000 µg/L	8,7	2,6
EE2	10-1000 µg/L	8,6	2,6
estrone	25-1000 µg/L	19,1	5,7

4.2.Κινητικά πειράματα προσρόφησης

Στη συνέχεια παρουσιάζονται γραφικά τα αποτελέσματα των κινητικών πειραμάτων προσρόφησης. Οι μετρήσεις βρίσκονται στο παράρτημα .

4.2.1 Bisphenol-A (BPA)

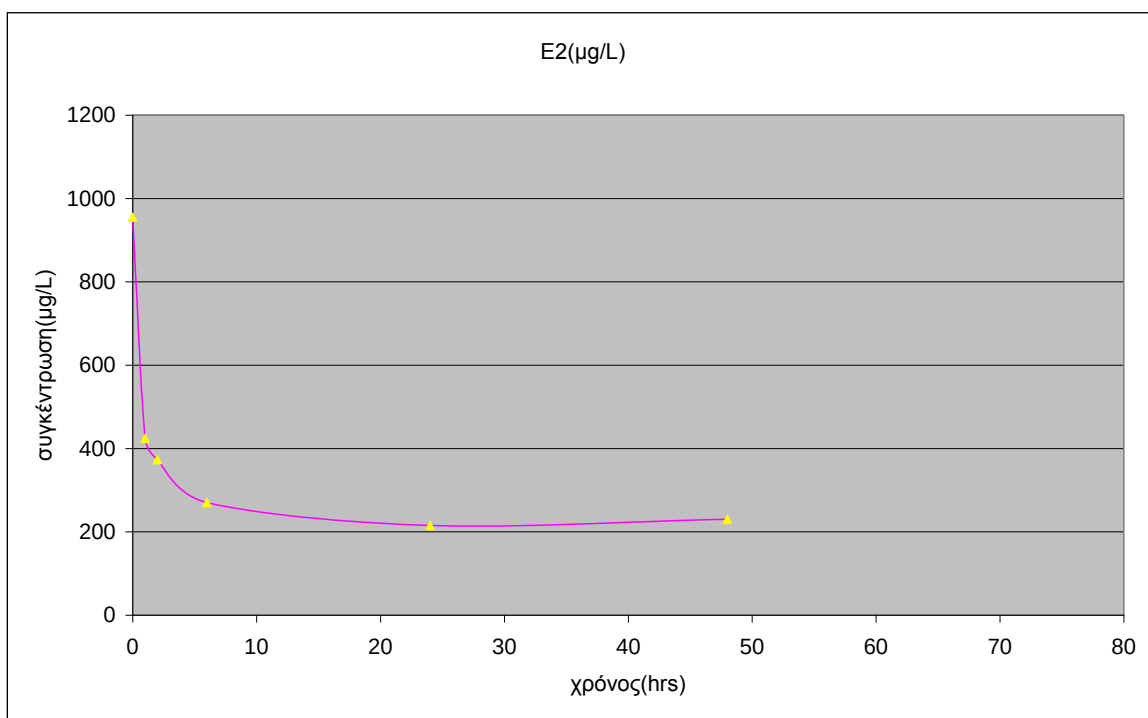
Το παρακάτω διάγραμμα αναπαριστά την συγκέντρωση της BPA στην υγρή φάση, στο διάλυμα που βρίσκεται υπό ανάδευση, με την πάροδο του χρόνου. Παρατηρούμε πως η BPA προσροφάται έντονα τις πρώτες δυο ώρες της ανάδευσης και με την πάροδο 6 ωρών ο ρυθμός προσρόφησης μειώνεται αισθητά και στη συνέχεια αρχίζει σταδιακά η αποκατάσταση της ισορροπίας. Την πρώτη ώρα προσροφάται το 43,1% της BPA. Με το πέρας της δεύτερης ώρας έχει προσροφηθεί το 63,7% και μετά από 72 ώρες, όπου έχει αποκατασταθεί η ισορροπία έχει προσροφηθεί το 74,5% της αρχικής ποσότητας.



Σχήμα 4.5: Αποτελέσματα κινητικού πειράματος προσρόφησης για την BPA.

4.2.2 17β-Estradiol (E2)

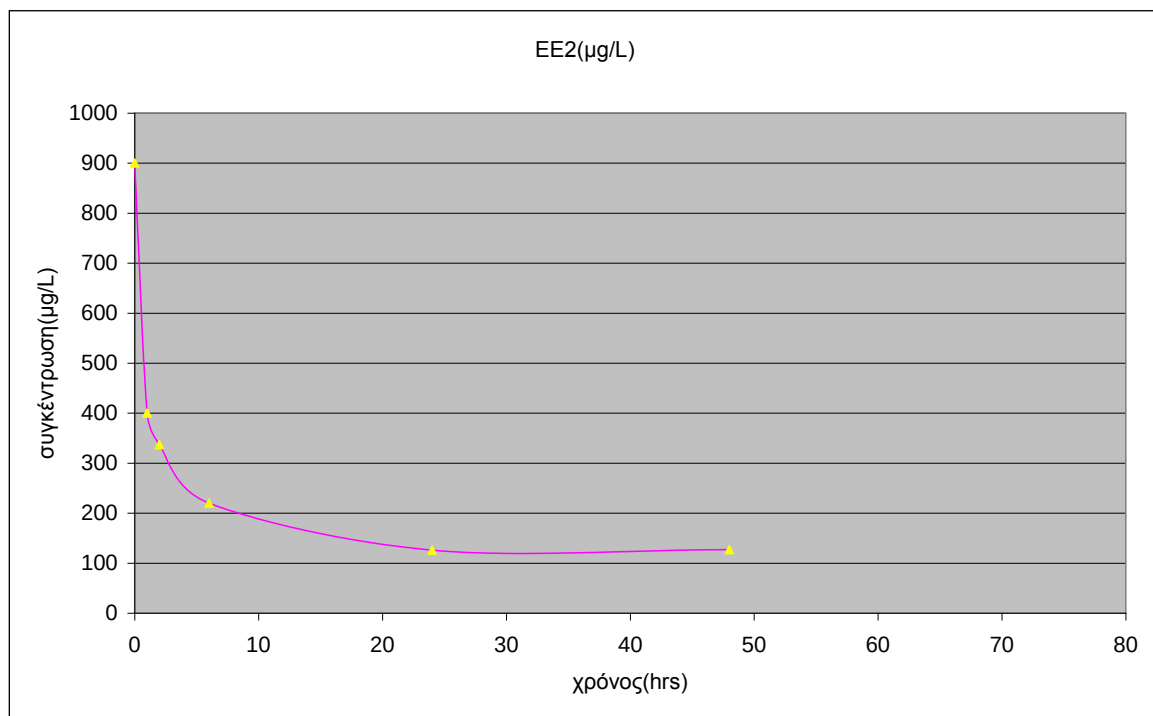
Το παρακάτω διάγραμμα αναπαριστά την συγκέντρωση της E2 στο διάλυμα, στην υγρή φάση, με την πάροδο του χρόνου. Η ουσία παρατηρούμε πως προσροφάται έντονα τις πρώτες ώρες και η ισορροπία επέρχεται με την πάροδο 6 ωρών. Πιο συγκεκριμένα, την πρώτη ώρα προσροφάται το 55,6% της E2. Με το πέρας της δεύτερης ώρας έχει προσροφηθεί το 60,9% και μετά από 48 ώρες, έχει προσροφηθεί το 75,9% της αρχικής ποσότητας. Δεν χρειάστηκε τοποθέτηση δείγματος για 72 ώρες καθώς η ισορροπία έχει φανερά αποκατασταθεί στις 48 ώρες.



Σχήμα 4.6: Αποτελέσματα κινητικού πειράματος προσρόφησης για την E2.

4.2.3 17α-Ethinylestradiol (EE2)

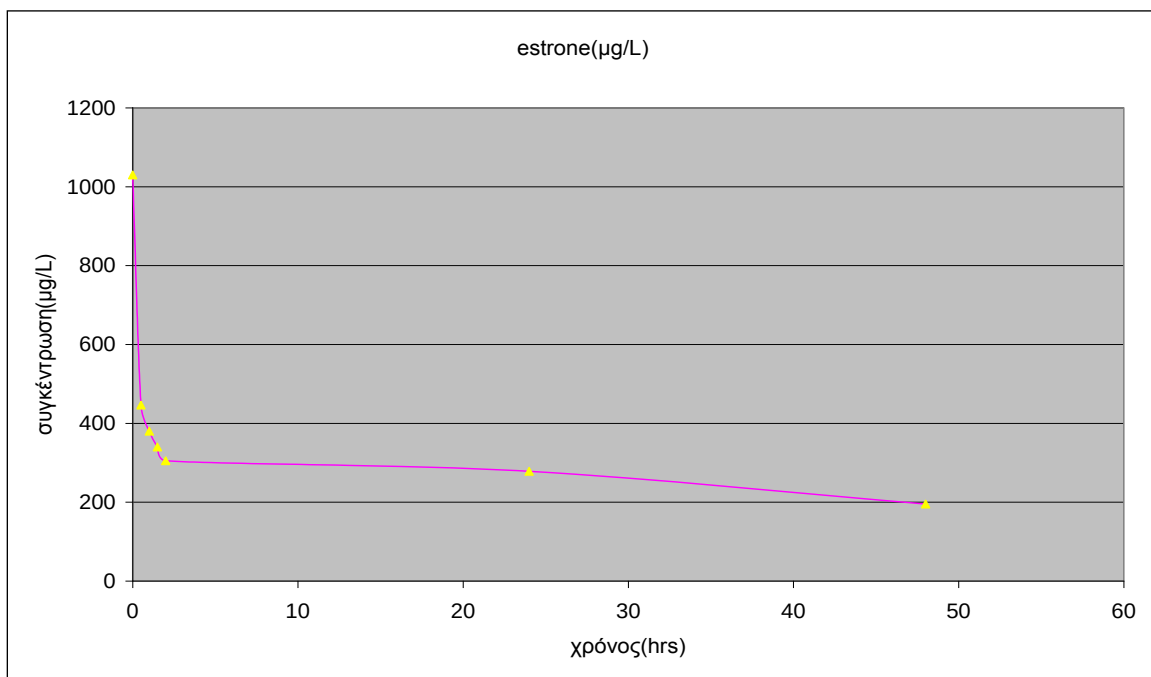
Το παρακάτω διάγραμμα αναπαριστά την συγκέντρωση της EE2 στο διάλυμα, στην υγρή φάση, με την πάροδο του χρόνου. Στο διάγραμμα βλέπουμε την έντονη προσροφητική τάση της ουσίας τις πρώτες ώρες και την σταδιακή αποκατάσταση της ισορροπίας, με την πάροδο ενός 24ώρου. Την πρώτη ώρα προσροφάται το 55,5% της EE2. Με το πέρασ της δεύτερης ώρας έχει προσροφηθεί το 62,5% και μετά από 48 ώρες, έχει προσροφηθεί το 85,8% της αρχικής ποσότητας. Η ισορροπία και σ' αυτή την περίπτωση έχει αποκατασταθεί στις 48 ώρες και δεν χρειάζεται άλλο δείγμα.



Σχήμα 4.7: Αποτελέσματα κινητικού πειράματος προσρόφησης για την EE2.

4.2.4 Estrone

Το παρακάτω διάγραμμα αναπαριστά την συγκέντρωση της εστρόνης στο διάλυμα, στην υγρή φάση, με την πάροδο του χρόνου. Η εστρόνη παρουσιάζει ακόμα ταχύτερη κινητική τις πρώτες ώρες από τις τρεις προηγούμενες ουσίες. Παρατηρούμε την απότομη πτώση της συγκέντρωσης τις πρώτες δυο ώρες και σταδιακά την μείωση της κλίσης της ευθείας. Με την πάροδο 48 ωρών η συγκέντρωση δεν έχει σταθεροποιηθεί εντελώς, πιθανόν λόγω πειραματικού σφάλματος, καθώς οι δυο τελευταίες μετρήσεις αποκλίνουν αρκετά. Με την πάροδο 30 λεπτών έχει ήδη προσροφηθεί το 56,7%. Στην μια ώρα έχει προσροφηθεί το 63,1% και στις δυο ώρες το 70,4%. Τελικά το ποσοστό προσρόφησης που αντιστοιχεί στην τελευταία μέτρηση είναι 81%.



Σχήμα 4.8: Αποτελέσματα κινητικού πειράματος προσρόφησης για την estrone.

4.3.Ισόθερμη προσρόφησης

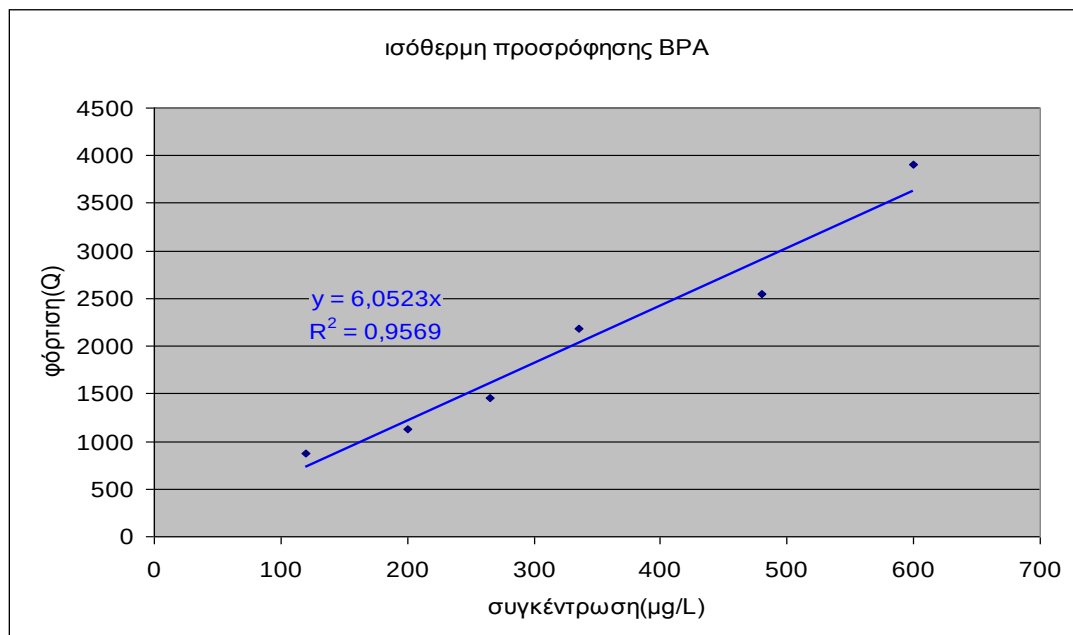
Στη συνέχεια παρατίθενται τα αποτελέσματα των πειραμάτων προσρόφησης. Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα διαγραμματικά, ενώ οι μετρήσεις βρίσκονται στο παράρτημα.

4.3.1 Bisphenol-A (BPA)

4.3.1.1 Ισόθερμη προσρόφησης

Ακολουθεί το διάγραμμα της φόρτισης συναρτήσει της συγκέντρωσης στην υγρή φάση για την BPA. Εξετάζεται η περίπτωση όπου η ισόθερμη διέρχεται από την αρχή των αξόνων και προκύπτει γραμμική. Ο βαθμός κατανομής (κλίση της ευθείας) δείχνει πως η ουσία βρίσκεται περισσότερο στην στερεή φάση.

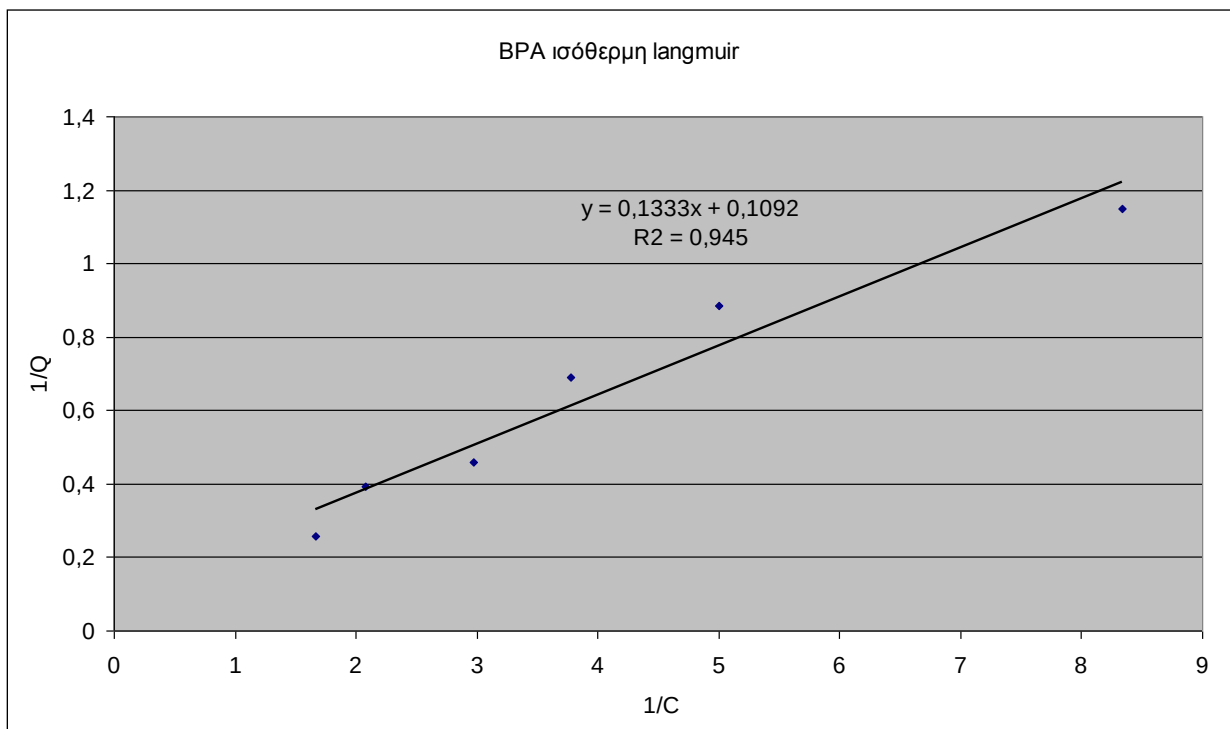
Το συνολικό ποσοστό προσρόφησης της BPA στην ιλύ είναι 60,5%. Αντίστοιχη βιβλιογραφία αναφέρει απομάκρυνση της BPA με ενεργό ιλύ κατά 75%, χωρίς όμως να υπάρχει διαχωρισμός λόγω προσρόφησης και βιοαποδόμησης της ουσίας.^[16]



Σχήμα 4.9: Ισόθερμη προσρόφησης BPA.

4.3.1.2 Ισόθερμη Langmuir

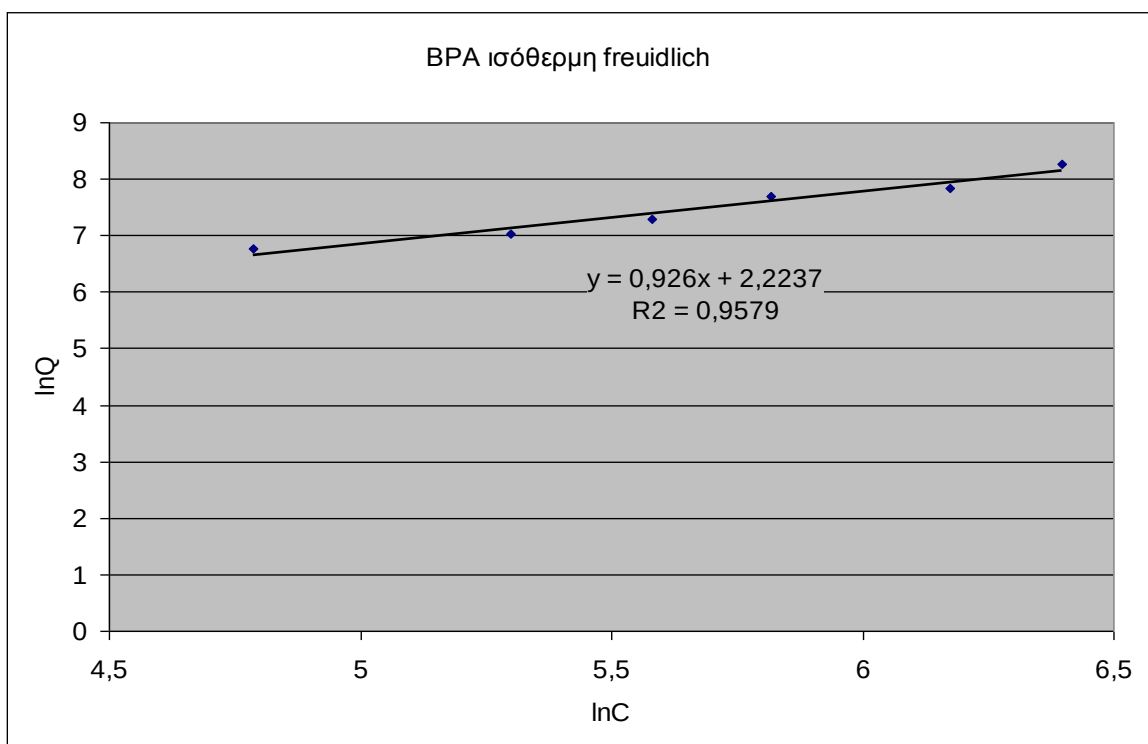
Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Langmuir, όπου παρουσιάζεται η αντίστροφη φόρτιση συναρτήσει της αντίστροφης συγκέντρωσης. Παρατηρούμε ότι οι παράμετροι της ισόθερμης είναι θετικοί (κλίση, τομή με $y'y$), συνεπώς η ισόθερμη Langmuir προσομοιάζει την προσρόφηση της BPA στην ιλύ.



Σχήμα 4.10: Ισόθερμη Langmuir BPA.

4.3.1.3 Ισόθερμη Freundlich

Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Freundlich. Απεικονίζεται ο δεκαδικός λογάριθμος της φόρτισης συναρτήσει του δεκαδικού λογαρίθμου της συγκέντρωσης στην υγρή φάση. Η ισόθερμη προκύπτει ευνοϊκή, καθώς η κλίση της ευθείας ($1/n$) είναι μικρότερη της μονάδας.



Σχήμα 4.11: Ισόθερμη Freundlich BPA.

Ακολουθούν συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα για τις τρεις ισόθερμες. Στην ισόθερμη Freundlich ο συντελεστής $1/n$ είναι πολύ κοντά στην μονάδα, επιβεβαιώνεται δηλαδή η γραμμική σχέση.

Πίνακας 4.4: Παράμετροι των τριών μοντέλων για την BPA.

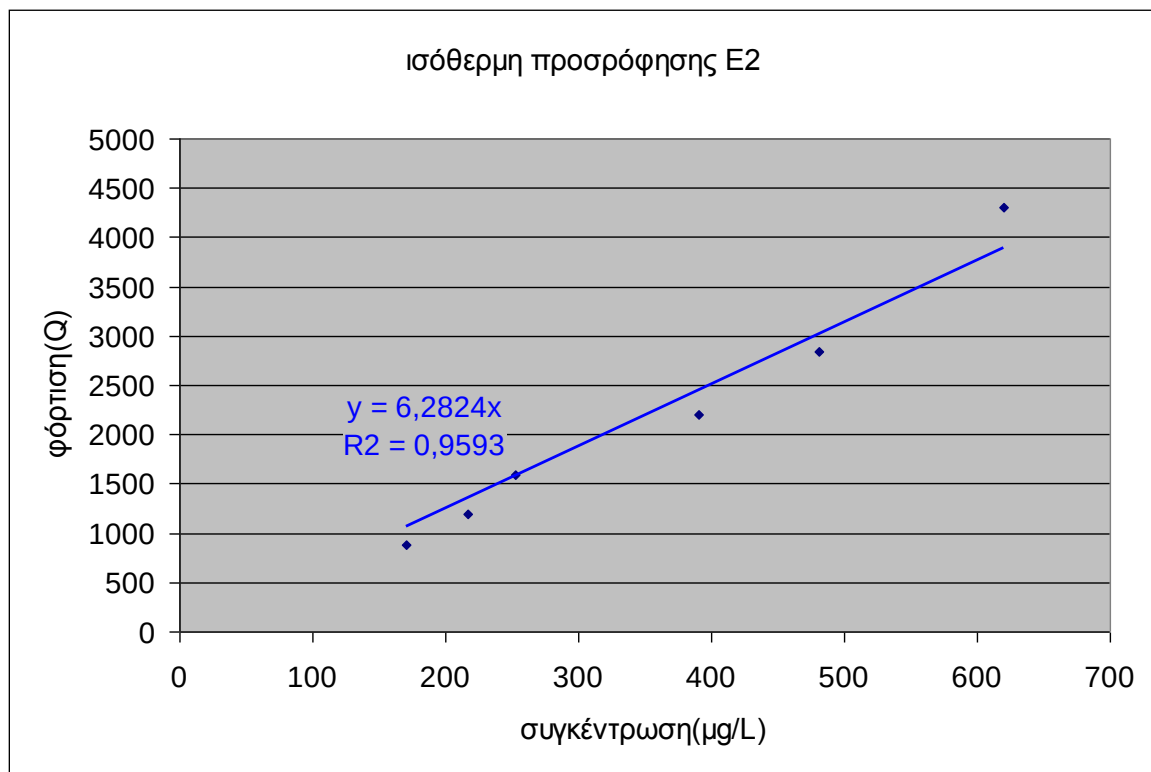
Langmuir			Freundlich			Γραμμική	
b	Q	R2	K	1/n	R2	k	R2
0,819	9,158	0,945	9,241	0,926	0,958	6,052	0,957

4.3.2 17β-Estradiol (E2)

4.3.2.1 Ισόθερμη προσρόφησης

Ακολουθεί το διάγραμμα της φόρτισης συναρτήσει της συγκέντρωσης στην υγρή φάση για την E2. Εξετάζεται η περίπτωση όπου η ισόθερμη διέρχεται από την αρχή των αξόνων και προκύπτει γραμμική. Ο βαθμός κατανομής (κλίση της ευθείας) δείχνει πως η ουσία βρίσκεται πολύ περισσότερο στην στερεή φάση.

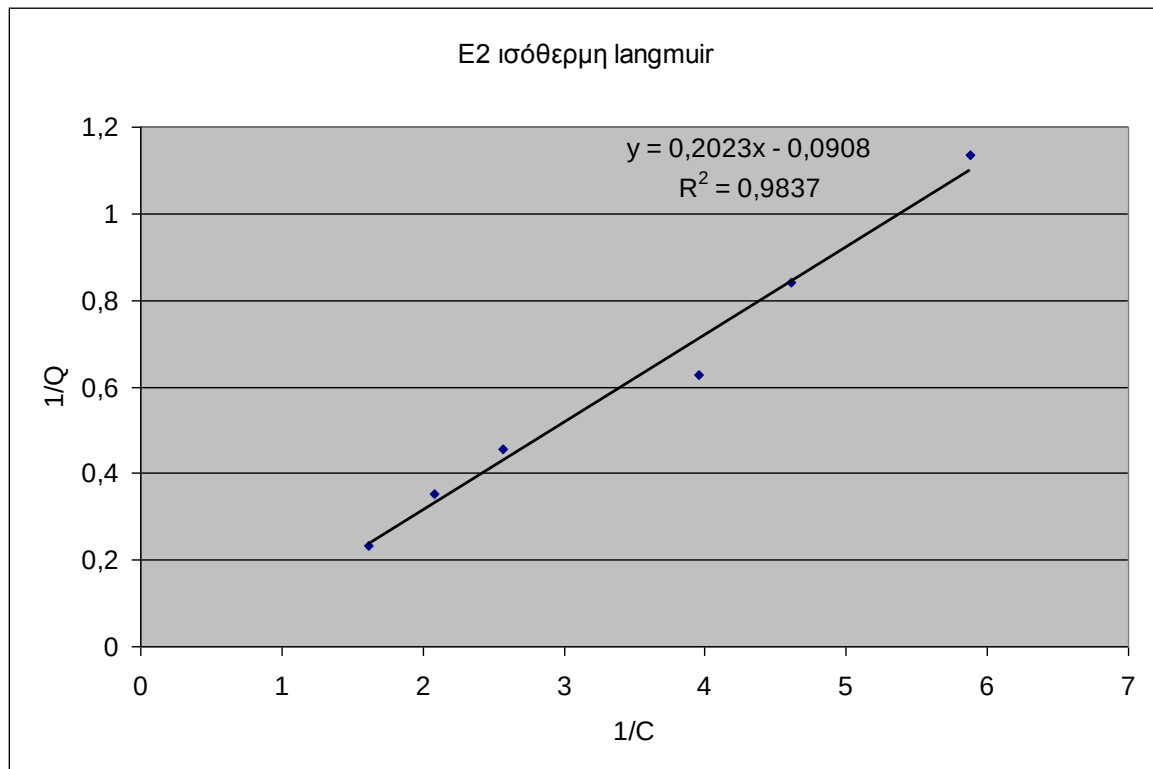
Το συνολικό ποσοστό προσρόφησης της ουσίας είναι 62,8%. Παρόμοια πειράματα έδειξαν ότι η απομάκρυνση της E2 από την ενεργό ιλύ έφτασε το 96%. Η διαφορά οφείλεται στο ότι στα πειράματα αυτά δεν υπήρξε διαχωρισμός της απομάκρυνσης λόγω προσρόφησης και βακτηριακής δράσης, συνεπώς είναι λογικό το ποσοστό να είναι υψηλότερο.^[17]



Σχήμα 4.12: Ισόθερμη προσρόφησης E2.

4.3.2.2 Ισόθερμη Langmuir

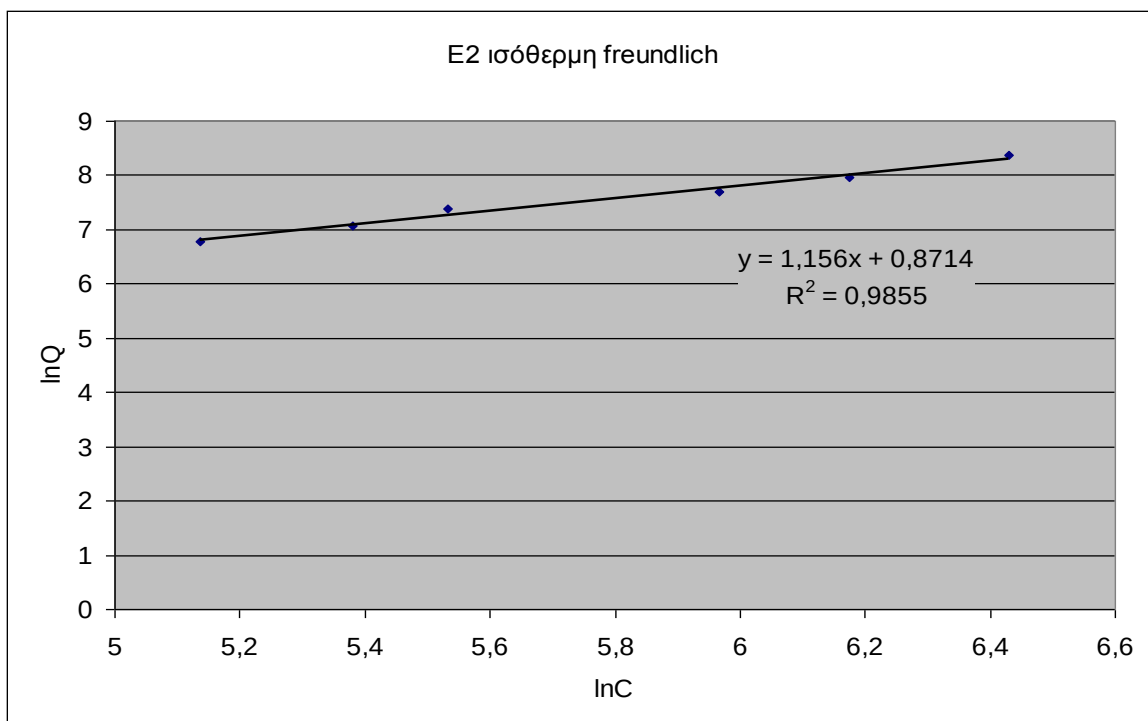
Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Langmuir, όπου παρουσιάζεται η αντίστροφη φόρτιση συναρτήσει της αντίστροφης συγκέντρωσης. Παρατηρούμε ότι οι παράμετροι της ισόθερμης δεν είναι όλοι θετικοί (αρνητική τομή με γ'γ), συνεπώς η ισόθερμη Langmuir δεν προσομοιάζει την προσρόφηση της E2 στην ιλύ, διότι δεν έχει φυσική σημασία η ύπαρξη αρνητικών τιμών.



Σχήμα 4.13: Ισόθερμη Langmuir E2.

4.3.2.3 Ισόθερμη Freundlich

Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Freundlich. Απεικονίζεται ο δεκαδικός λογάριθμος της φόρτισης συναρτήσει του δεκαδικού λογαρίθμου της συγκέντρωσης της E2 στην υγρή φάση. Η ισόθερμη προκύπτει μη ευνοϊκή καθώς η κλίση της ευθείας ($1/n$) είναι μεγαλύτερη του ένα.



Σχήμα 4.14: Ισόθερμη Freundlich E2.

Ακολουθούν συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα για τις τρεις ισόθερμες. Στην ισόθερμη Freundlich ο συντελεστής $1/n$ είναι πολύ κοντά στην μονάδα, επιβεβαιώνεται δηλαδή η γραμμική σχέση.

Πίνακας 4.5: Παράμετροι των τριών μοντέλων για την E2.

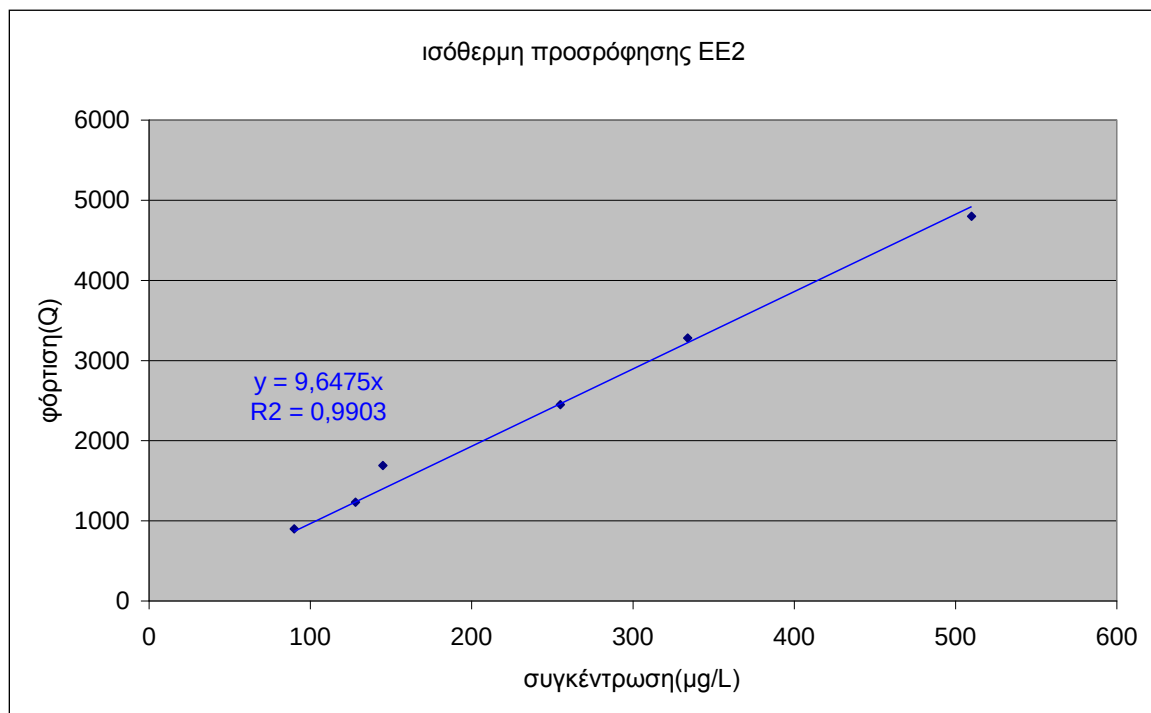
Langmuir			Freundlich			Γραμμική	
b	Q	R2	K	1/n	R2	k	R2
-0,449	-11,013	0,984	2,390	1,156	0,986	6,282	0,959

4.3.3 17α-Ethinylestradiol (EE2)

4.3.3.1 Ισόθερμη προσρόφησης

Ακολουθεί το διάγραμμα της φόρτισης συναρτήσει της συγκέντρωσης στην υγρή φάση για την EE2. Εξετάζεται η περίπτωση όπου η ισόθερμη διέρχεται από την αρχή των αξόνων και προκύπτει γραμμική. Ο βαθμός κατανομής (κλίση της ευθείας) δείχνει πως η ουσία βρίσκεται πολύ περισσότερο στην στερεή φάση απ'ότι στην υγρή.

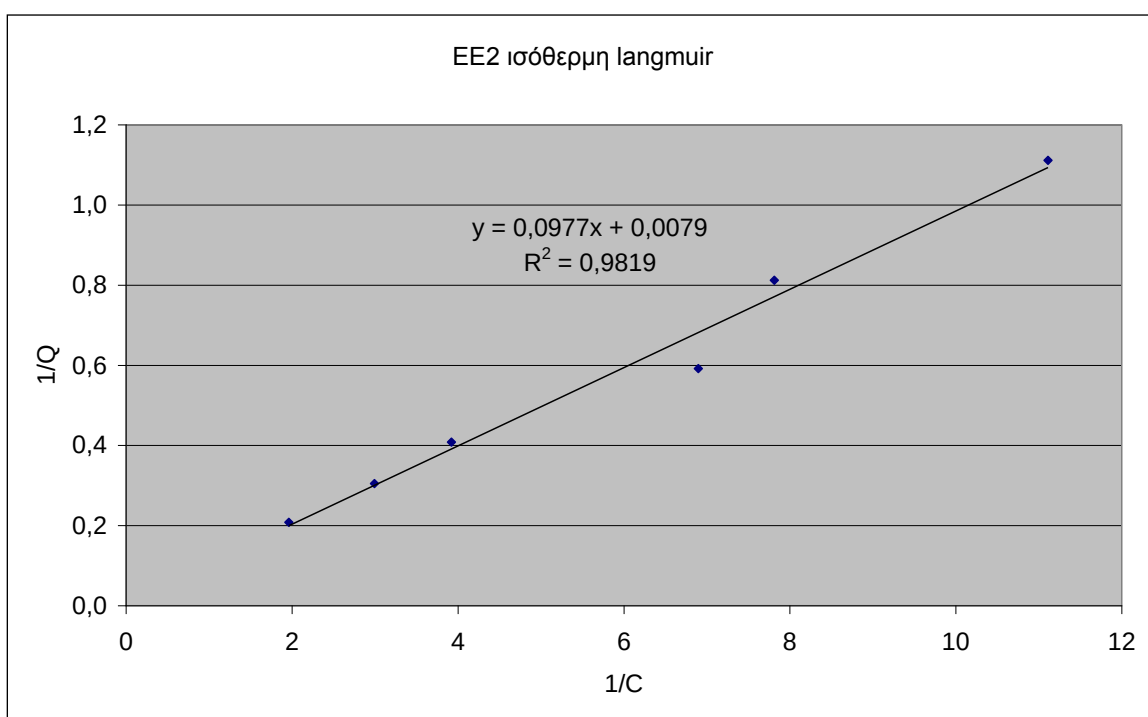
Το ποσοστό προσρόφησης της ουσίας είναι 96,5%. Αντίστοιχα πειράματα που εξετάζουν την προσρόφηση της EE2 στην ιλύ επιτυγχάνουν προσρόφηση 83,8% .^[18] Η διαφορά πιθανόν να οφείλεται σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία, το pH των διαλυμάτων κ.α.



Σχήμα 4.15: Ισόθερμη προσρόφησης EE2.

4.3.3.2 Ισόθερμη Langmuir

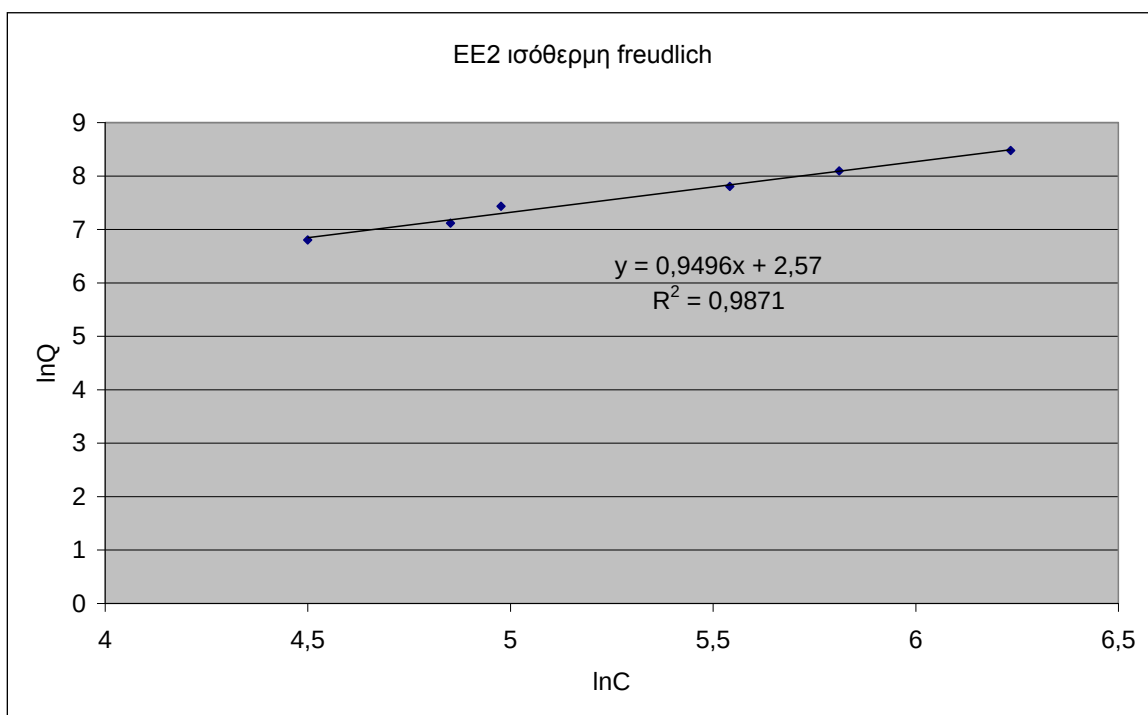
Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Langmuir, όπου παρουσιάζεται η αντίστροφη φόρτιση συναρτήσει της αντίστροφης συγκέντρωσης. Παρατηρούμε ότι οι παράμετροι της ισόθερμης είναι θετικοί (κλίση, τομή με y'), συνεπώς η ισόθερμη Langmuir προσομοιάζει την προσρόφηση της EE2 στην ιλύ.



Σχήμα 4.16: Ισόθερμη Langmuir EE2.

4.3.3.3 Ισόθερμη Freundlich

Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Freundlich. Απεικονίζεται ο δεκαδικός λογάριθμος της φόρτισης συναρτήσει του δεκαδικού λογαρίθμου της συγκέντρωσης της ΕΕ2 στην υγρή φάση. Η ισόθερμη προκύπτει ευνοϊκή, καθώς η κλίση της ευθείας ($1/n$) είναι μικρότερη της μονάδας.



Σχήμα 4.17: Ισόθερμη Freundlich EE2.

Ακολουθούν συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα για τις τρεις ισόθερμες. Στην ισόθερμη Freundlich ο συντελεστής $1/n$ είναι πολύ κοντά στην μονάδα, επιβεβαιώνεται δηλαδή η γραμμική σχέση.

Πίνακας 4.6: Παράμετροι των τριών μοντέλων για την ΕΕ2.

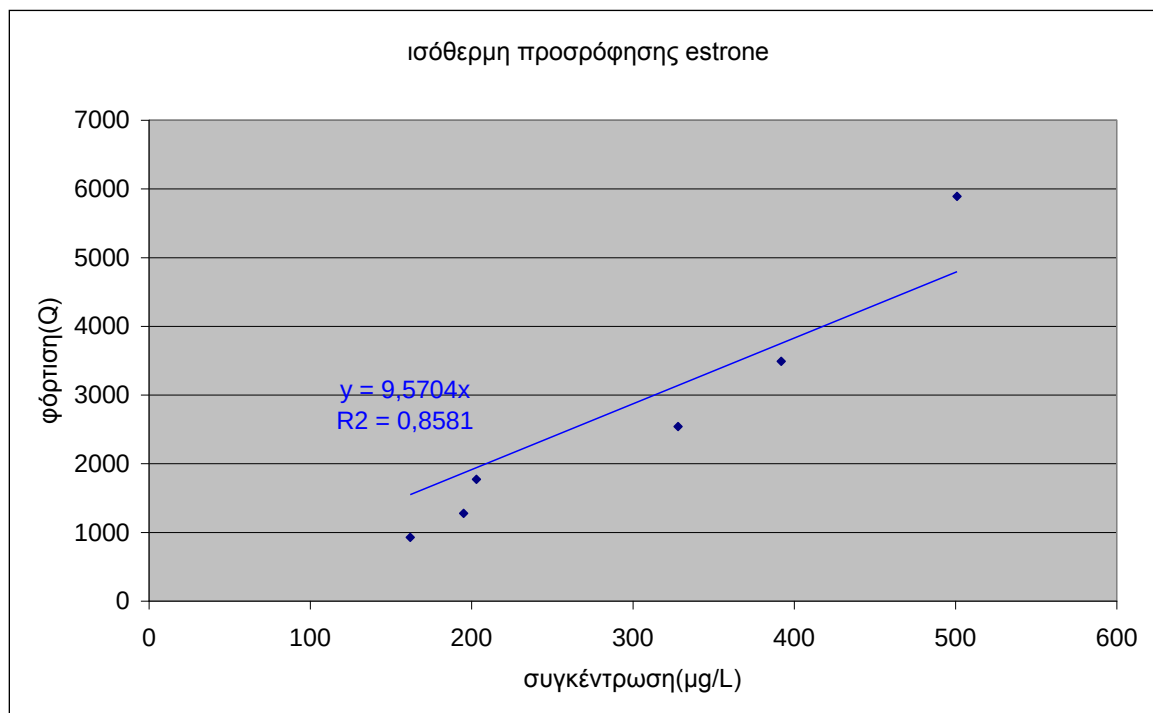
Langmuir			Freundlich			Γραμμική	
b	Q	R2	K	1/n	R2	k	R2
0,080	126,582	0,982	13,066	0,949	0,987	9,648	0,990

4.3.4 Estrone (E1)

4.3.4.1 Ισόθερμη προσρόφησης

Ακολουθεί το διάγραμμα της φόρτισης συναρτήσει της συγκέντρωσης στην υγρή φάση για την εστρόνη. Εξετάζεται η περίπτωση όπου η ισόθερμη διέρχεται από την αρχή των αξόνων και προκύπτει γραμμική. Ο βαθμός κατανομής (κλίση της ευθείας) δείχνει πως η ουσία βρίσκεται πολύ περισσότερο στην στερεή φάση.

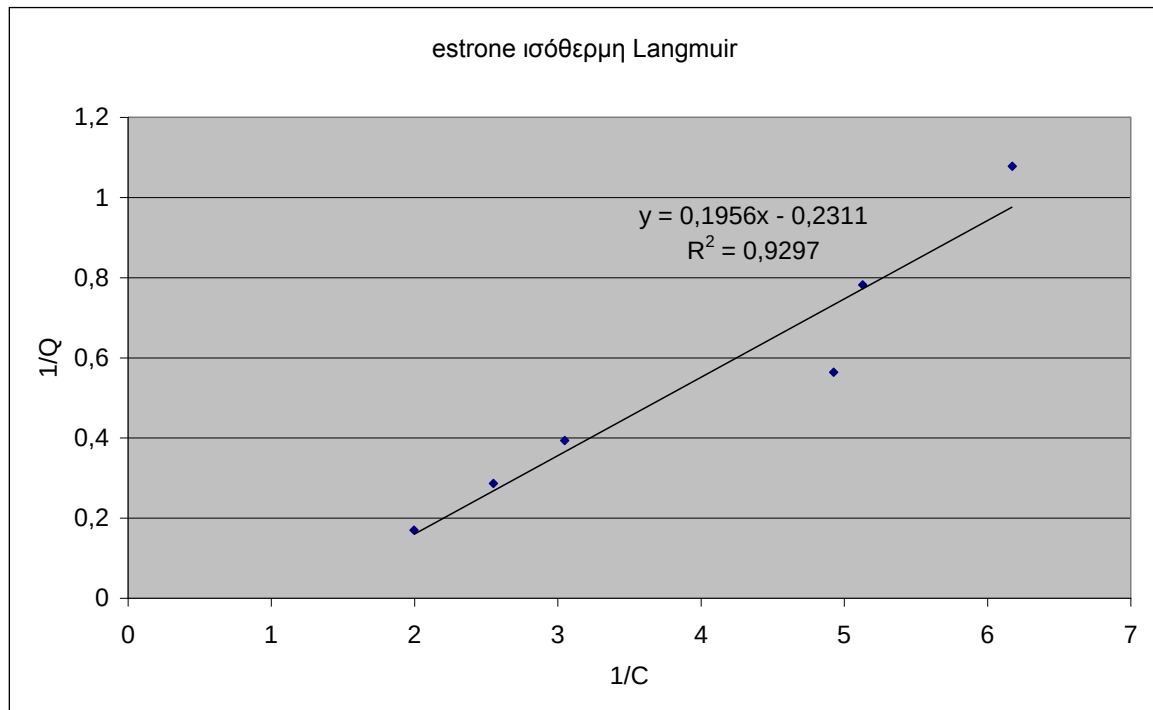
Το συνολικό ποσοστό προσρόφησης είναι 95,7%. Παρόμοια πειράματα έδειξαν ότι η απομάκρυνση της εστρόνης από την ενεργό ιλύ λόγω προσρόφησης και βιοαποδόμησης είναι το 85% της αρχικής ουσίας. ^[17] Η μεγάλη διαφορά στα αποτελέσματα πιθανότατα οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα καθώς ο συντελεστής διασποράς R^2 στα πειράματά μας ήταν μικρός.



Σχήμα 4.18: Ισόθερμη προσρόφησης estrone.

4.3.4.2 Ισόθερμη Langmuir

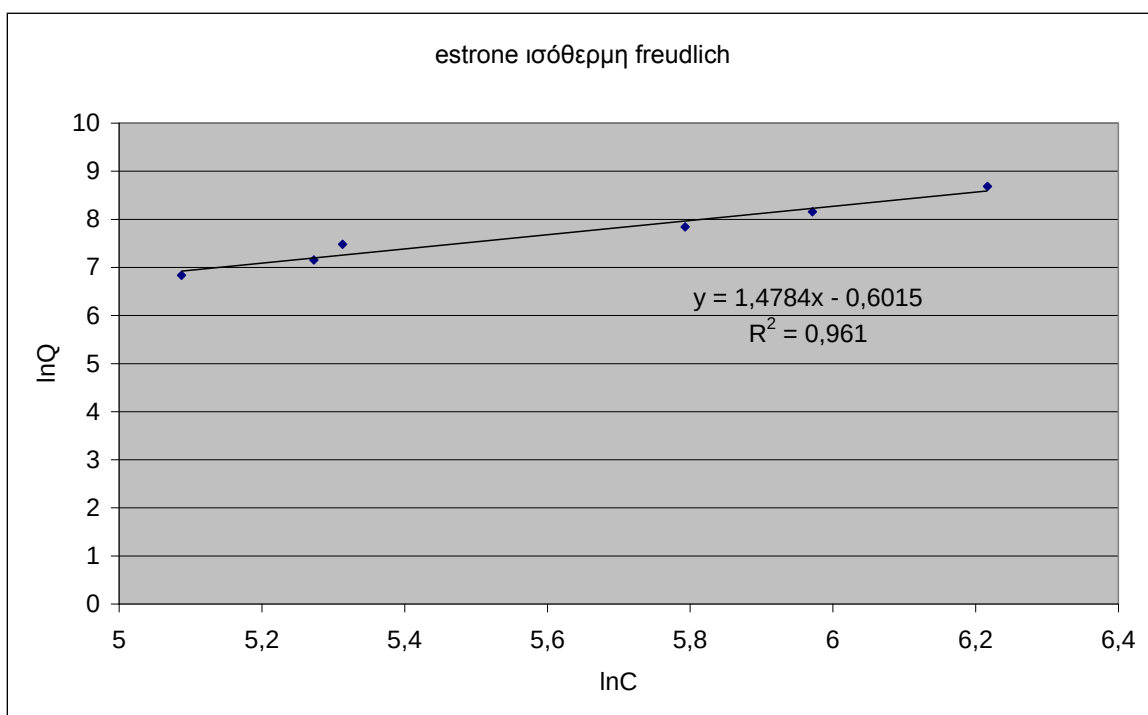
Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Langmuir, όπου παρουσιάζεται η αντίστροφη φόρτιση συναρτήσει της αντίστροφης συγκέντρωσης. Παρατηρούμε ότι οι παράμετροι της ισόθερμης δεν είναι όλοι θετικοί (αρνητική τομή με γ'γ), συνεπώς η ισόθερμη Langmuir δεν προσομοιάζει την προσρόφηση της εστρόνης στην ιλύ, διότι δεν έχει φυσική σημασία η ύπαρξη αρνητικών τιμών.



Σχήμα 4.19: Ισόθερμη Langmuir estrone.

4.3.4.3 Ισόθερμη Freundlich

Ακολουθεί το γράφημα της ισόθερμης Freundlich. Απεικονίζεται ο δεκαδικός λογάριθμος της φόρτισης συναρτήσει του δεκαδικού λογαρίθμου της συγκέντρωσης της εστρόνης στην υγρή φάση. Η ισόθερμη προκύπτει μη ευνοϊκή καθώς η κλίση της ευθείας ($1/n$) είναι μεγαλύτερη του ένα.



Σχήμα 4.20: Ισόθερμη Freundlich estrone.

Ακολουθούν συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα για τις τρεις ισόθερμες.

Πίνακας 4.7: Παράμετροι των τριών μοντέλων για την estrone.

Langmuir			Freundlich			Γραμμική	
b	Q	R2	K	1/n	R2	k	R2
-1,181	-4,327	0,929	0,548	1,478	0,961	9,570	0,858

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

5.1 Συμπεράσματα

- Μεγαλύτερο ποσοστό προσρόφησης παρατηρείται στην E1 και EE2, με προσρόφηση στην ιλύ σε ποσοστά μεγαλύτερα του 95%.
- Μικρότερη προσροφητική τάση έχουν οι BPA και E2, με ποσοστά προσρόφησης μικρότερα του 65%.
- Η προσρόφηση μπορεί να προσομοιωθεί πολύ ικανοποιητικά με το μοντέλο γραμμικής προσρόφησης ή με το μοντέλο Freundlich.
- Δεν φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της υδροφοβικότητας των ουσιών και της προσροφητικής τάσης. Η υδροφοβικότητα καθορίζεται από τον συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού (K_{ow}) και κυμαίνεται στις ίδιες περίπου τιμές για τις τέσσερις ουσίες.

Πίνακας 5.1: Συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού K_{ow} και προσρόφηση για κάθε ουσία.

	K_{ow}	average K_{ow}	adsorption %
BPA	2.2-3.4	2.8	60.5
estrone	2.5-3.4	2.95	95.7
E2	3.1-4	3.55	62.8
EE2	3.5-4.2	3.85	96.5

5.2 Προτάσεις για μελλοντική εργασία

- Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη της προσρόφησης των ουσιών μεταβάλλοντας κάθε φορά πειραματικές παραμέτρους όπως η θερμοκρασία και το pH των διαλυμάτων, καθώς φαίνεται να επηρεάζει τον βαθμό προσρόφησης των ουσιών.
- Ενδιαφέρουσα θα ήταν επίσης η παράλληλη μελέτη της απομάκρυνσης λόγω προσρόφησης στην ιλύ και της απομάκρυνση λόγω βιοαποδόμησης.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής

1. Andrea Wenzel, Josef Müller, Thomas Ternes. "Study of Endocrine Disrupters in drinking water", Final Report, 79,86,88 (2003)
http://ec.europa.eu/research/endocrine/pdf/drinking_water_en.pdf
2. Cargouët M, Perdiz D, Monatassin-Sonali A, Tamisier-Karolak S, Levi Y. "Assesment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France)", Sci.Total Environ. ,324 ,55-66 (2004)
3. Johnson A.C, Belfroid A, Di Corcia A."Estimating steroid estrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent", Sci.Total Environ. ,256, 163-173 (2000)
4. Petrovic M, Sole M, Lopez de Alda M.J, Barcelo D. "Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integradation of chemical analysis and biological effects on feral carp", Environ.Toxicol.Chem.,21, 2146-2156 (2002)
5. Kömer W, Bolz U, Süßmuth W, Hiller G, Schuller W, Hauf V, Hagenmaier H. "Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany" Chemosphere, 40, 9-11,1131-1142 (2000)
6. Stavrakakis C, Colin R, Hequet V, Faur C, LeCloirrec P. "Analysis of endocrine disrupting compounds in wastewater and drinking water treatment plants at the nanogram per litre level" Environmental Technology,29,3,279-286 (2008)

7. Stasinakis A.S, Gatidou G, Mamais D, Thomaidis N.S, Lekkas T.D. "Occurrence and fate of endocrine disrupters in Greek sewage treatment plants" *Water Research*, 42, 6–7, 1796–1804 (2008)
8. Tan B.L.L, Hawker D.W, Müller J.F, Leusch F.D.L, Tremblay L.A, Chapman H.F. "Comprehensive study of endocrine disrupting compounds using grab and passive sampling at selected wastewater treatment plants in South East Queensland, Australia" *Environmental International*, 33, 5, 654–669 (2007)
9. Duong C.N, Ra J.S, Cho J, Kim S.D, Choi H.K, Park J.H, Kim K.W, Inam E, Kim S.D. "Estrogenic chemicals and estrogenicity in river waters of South Korea and seven Asian countries" *Chemosphere*, 78, 3, 186–293 (2010)
10. Snyder S.A, Adham S, Redding A.M., Cannon F.S, DeCarolis J, Oppenheimer J, Wert E.C, Yoon Y. "Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals", *Desalination*, 202, 1–3, 156–181 (2007)
11. Huang C.H, Sedlak D.L. "Analysis of estrogenic hormones in municipal wastewater effluent and surface water using enzyme-linked immunosorbent assay and gas chromatography/tandem mass spectrometry" *Environ.Toxicol.Chem*, 20, 133–139 (2001)
12. Esplugas S, Bila D.M, Gustavo L, Krause T, Dezotti M. "Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents", *Journal of Hazardous Materials*, 149, 3, 631–642 (2007)
13. Yong-Xiang Ren, Kazunori Nakano, Munehiro Nomura, Nobuo Chiba, Osamu Nishimura "Effects of bacterial activity on estrogen removal in nitrifying activated sludge" *Water Research*, 41, 14, 3089–3096 (2007)

14. Jumming Zhao, Youngmei Li, Chaojie Zhang, Qingling Zeng, Qi Zhou. "Sorption and degradation of bisphenol A by aerobic activated sludge" *Journal of Hazardous Materials*, 155, 1–2, 305–311 (2008)
15. Balest M, Mascolo G, Iaconi C.D, Lopez A. "Removal of endocrine disrupter compounds from municipal wastewater by an innovative biological technology" *Water Science and Technology*, 58, 4, 953–956 (2008)
16. Ivashechkin P." Behaviour of endocrine disrupting chemicals during the treatment of municipal sewage sludge", *Water Sci.Technol.* 50,5,133–140 (2004)
17. Braga O, Smythe GA, Schafer AI, Feltz AJ. "Steroid estrogens in primary and tertiary wastewater treatment plants" *Water Science and Technology* 52 (8), 273–278 (2005)
18. Yujie Feng, Zhaohan Zhang, Peng Gao, Hui Su, Yanling Yu, Nanqi Ren. "Adsorption behavior of EE2 (17 α -ethinylestradiol) onto the inactivated sludge: Kinetics, thermodynamics and influence factors" *Journal of Hazardous Materials*, 175, 1–3, 970–976 (2010)
21. Casey F.X.M, Simunek J, Lee J, Larsen G.L, Hakk H. "Sorption, Mobility and Transformation of Estrogenic Hormones in Natural Soil" *J.Environ.Qual.*34, 1372–1379 (2005)
22. Gregory Sayles, Tamara Marsh "Biological Fate of Estrogenic Compounds Associated with sewage treatment: A Review"
http://www.epa.gov/ord/NRMRL/EDC/pdf/sayles2_09192001.txt
23. Lintelmann J, Katayama A, Kurihara N, Shore L, Wenzel A. "Endocrine Disruptors in the Environment" *Pure Appl.Chem*, 75,5 631–681 (2003)

24. Ali Shareef, Michael J. Angove, John D. Wells, and Bruce B. Johnson. "Aqueous Solubilities of Estrone, 17 β -Estradiol, 17 α -Ethinylestradiol, and Bisphenol" J. Chem. Eng. Data, 51, 3, 879–881 (2006)

25. Robert B. Young and Thomas Borch. "Sources, Presence, Analysis and Fate of Steroid Sex Hormones in Freshwater Ecosystems". Aquatic Ecosystem Research Trends, p. 103–164

Διαδίκτυο

19 www.wikipedia.org

20 www.wiki.medpedia.com

7.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

7.1 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α (Πειραματικές μετρήσεις)

Πίνακας 7.1.1: Μετρήσεις των εμβαδών κορυφής για την εύρεση ορίων μεθόδου (LOQ, LOD).

	10ppb	10ppb	10ppb	25ppb
	BPA	E2	EE2	estrone
1	11,6	11,9	13,5	18,5
2	10,6	10	12,6	24,5
3	10,7	9,9	11,5	22,8
4	10,3	9,2	11,8	20,2
5	11	9,6	13,7	21,4
6	9,8	10,1	13	22,3
7	9	9,6	12	21,4
s	0,84205	0,873416935	0,855235974	1,914356786
3s(LOD)	2,526149	2,620250806	2,565707922	5,743070359
10s(LOQ)	8,420497	8,734169353	8,552359741	19,14356786
Average	10,42857	10,04285714	12,58571429	21,58571429
RSD	8,074449	8,696896937	6,795291508	8,868628394

Πίνακας 7.1.2: Μετρήσεις των εμβαδών κορυφής για συγκέντρωση 100ppb.

	100ppb			
	BPA	E2	EE2	estrone
1	107	99	115	102
2	93	85	104	90
3	103	96	105	98
Average	101	93,33333	108	96,66667
s	7,211103	7,371115	6,082763	6,110101
RSD	7,139705	7,897623	5,632188	6,320794

Πίνακας 7.1.3: Μετρήσεις των εμβαδών κορυφής για συγκέντρωση 500ppb.

	500ppb			
	BPA	E2	EE2	estrone
1	534	529	529	501
2	447	461	479	463
3	490	482	453	432
Average	490,3333	490,6667	487	465,3333
s	43,50096	34,81858	38,62642	34,55913
RSD	8,871711	7,096177	7,931502	7,426747

Πίνακας 7.1.4: Μετρήσεις των εμβαδών κορυφής για την ευθεία βαθμονόμησης.

BPA		E2		EE2		estrone	
amount	area	amount	area	amount	area	amount	area
10	3,06959	10	2,91400	10	2,34300	25	1,27979
25	7,59743	25	7,23271	25	5,76326	50	2,47399
50	15,48086	50	14,53925	50	11,89145	100	4,91600
100	29,11718	100	27,27313	100	22,83325	250	11,55246
250	71,18267	250	69,08410	250	56,62707	500	21,20400
500	136,88860	500	134,66191	500	109,10000	750	32,99100
750	206,81239	750	204,61191	750	166,87706	1000	44,15800
1000	290,64000	1000	280,61000	1000	237,93000		

Πίνακας 7.1.5: Αποτελέσματα κινητικού πειράματος προσρόφησης.

time	BPA(ppb)	E2(ppb)	EE2(ppb)	estrone(ppb)
0'	1020	955	900	1030
30'	-	-	-	446
60'	580	424	400	380
90'	-	-	-	340
120'	370	373	337	305
6hrs	348	270	220	-
24hrs	268	215	126	278
48hrs	273	230	127	195
72hrs	260	-	-	-

Πίνακας 7.1.6: Αποτελέσματα πειράματος προσρόφησης.

gr λάσπης		0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	1
	Co(ppb)	C1	C2	C3	C4	C5	C6
E2	1050	620	481	390	253	217	170
BPA	990	600	480	336	265	200	120
EE2	1030	510	334	255	145	128	90
estrone	1090	501	392	328	203	195	162

Πίνακας 7.1.7: Υπολογισμός φόρτισης Q.

gr λάσπης	0,1	0,2	0,3	0,5	0,7	1
Q(E2)	4300	2845	2200	1594	1190	880
Q(BPA)	3900	2550	2180	1450	1128,571	870
Q(EE2)	4800	3280	2450	1690	1231,429	900
Q(estrone)	5890	3490	2540	1774	1278,571	928

Πίνακας 7.1.8: Υπολογισμός παραμέτρων για την κατασκευή των ισόθερμων Langmuir και Freundlich.

BPA						
1/Q	0,25641	0,392157	0,458716	0,689655	0,886076	1,149425
1/C	1,666667	2,083333	2,97619	3,773585	5	8,333333
lnQ	8,268732	7,843849	7,68708	7,279319	7,028708	6,768493
lnC	6,39693	6,173786	5,817111	5,57973	5,298317	4,787492
E2						
1/Q	0,232558	0,351494	0,454545	0,627353	0,840336	1,136364
1/C	1,612903	2,079002	2,564103	3,952569	4,608295	5,882353
lnQ	8,36637	7,953318	7,696213	7,374002	7,081709	6,779922
lnC	6,429719	6,175867	5,966147	5,533389	5,379897	5,135798
EE2						
1/Q	0,208333	0,304878	0,408163	0,591716	0,812065	1,111111
1/C	1,960784	2,994012	3,921569	6,896552	7,8125	11,11111
lnQ	8,476371	8,095599	7,803843	7,432484	7,11593	6,802395
lnC	6,234411	5,811141	5,541264	4,976734	4,85203	4,49981
Estrone						
1/Q	0,169779	0,286533	0,393701	0,563698	0,782123	1,077586
1/C	1,996008	2,55102	3,04878	4,926108	5,128205	6,17284
lnQ	8,681011	8,157657	7,839919	7,480992	7,153499	6,833032
lnC	6,216606	5,971262	5,793014	5,313206	5,273	5,087596

7.2 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β (Χημικές ιδιότητες ουσιών)

Πίνακας 7.2.1: Χημικές ιδιότητες BPA ^{[19] [20]}

Χημικός τύπος	Μοριακό βάρος	Διαλυτότητα στο νερό (21.5 οC)	Kow
C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228.29 g/mol	120–300mg/L	2.2–3.4

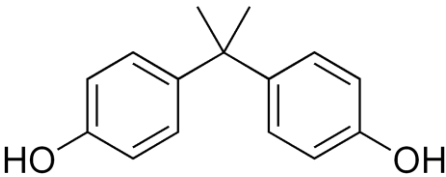
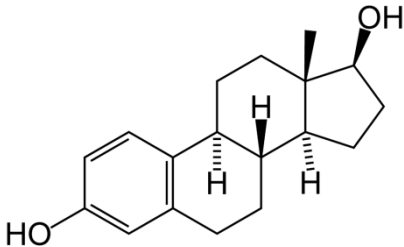
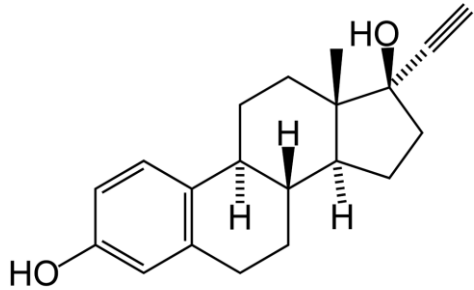
Πίνακας 7.2.2: Χημικές ιδιότητες E2, EE2 και estrone ^{[19] [21] [22]}

	Χημικός τύπος	Μοριακό βάρος	Kow
E2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,382 g/mol	3.1–4
EE2	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,403 g/mol	3.5–4.2
estrone	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,366 g/mol	2.5–3.4

Πίνακας 7.2.3: Διαλυτότητα οιστρογόνων και EE2 στο νερό (Sw) απο διαφορετικές πηγές.^{[23] [24] [25]}

	[23]	[24]	[25]
17β-Estradiol (E2)	12960μg/L	1510μg/L	1500-3100μg/L
17α-Ethinylestradiol (EE2)	-	9200μg/L	3100-9200μg/L
estrone	12420μg/L	1300μg/L	1300-2100μg/L

Πίνακας 7.2.4: Χημική δομή ουσιών.^[19]

Ουσία	Χημική δομή
BPA	
E2	
EE2	
estrone	