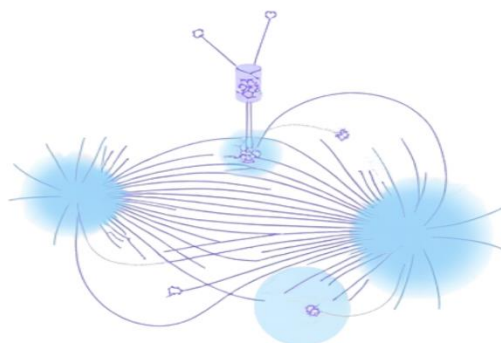




**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**Φωτοκαταλυτική Απολύμανση Επιλεγμένων Παθογόνων Μικροοργανισμών υπό
Συνθήκες Προσομοιωμένου Ηλιακού Φωτός με χρήση TiO_2**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΕΛΕΝΗ Κ. ΜΑΚΡΗ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026

Πρόλογος

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας σε συνεργασία με το εργαστήριο Μικροβιολογίας του τμήματος Ιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η ολοκλήρωση της εργασίας αυτής αποτελεί το επιστέγασμα μιας εντατικής ερευνητικής προσπάθειας στο πεδίο της ετερογενούς φωτοκατάλυσης και της εφαρμογής της στην περιβαλλοντική τεχνολογία. Με την ολοκλήρωση αυτού του κύκλου σπουδών, αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου σε όλους όσοι συνέβαλαν, επιστημονικά και ανθρώπινα, στην πραγματοποίησή της.

Πρωτίστως, εκφράζω τη βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα της διατριβής μου, κ. Τριαντάφυλλο Αλμπάνη, Ομότιμο Καθηγητή του Τμήματος Χημείας, για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση της διατριβής και την πολύτιμη ευκαιρία να εργαστώ σε αυτό το εξαιρετικά ενδιαφέρον ερευνητικό πεδίο. Παράλληλα, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Βασίλειο Σακκά, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας, ο οποίος ανέλαβε την καθημερινή επίβλεψη, την καθοδήγηση και την ουσιαστική υποστήριξη της ερευνητικής μου πορείας. Η διαρκής παρουσία του, η επιστημονική του επάρκεια και η ενθάρρυνσή του σε κάθε στάδιο της εργασίας υπήρξαν καθοριστικές για την επιτυχή ολοκλήρωσή της.

Ένα ξεχωριστό, βαθύτατο και συγκινησιακά φορτισμένο «ευχαριστώ» οφείλω στη μνήμη του αείμνηστου Ηρακλή Σακκά, Επίκουρου Καθηγητή του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας του Τμήματος Ιατρικής, με τον οποίο είχα την τιμή και την τύχη να συνεργαστώ στενά για την πραγματοποίηση των εξειδικευμένων πειραμάτων με τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Η επιστημονική του καθοδήγηση, η γενναιοδωρία των γνώσεών του και η ζεστασιά με την οποία με αγκάλιασε ως νέα ερευνήτρια θα με συντροφεύουν πάντα. Στη φωτεινή του μνήμη, στο ήθος και στο σπουδαίο έργο που άφησε πίσω του, αφιερώνω με βαθύ σεβασμό την παρούσα εργασία.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το τρίτο μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής κύριο Ιωάννη Κωνσταντίνου, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας, για τον χρόνο

που διέθεσε για την ανάγνωση και την αξιολόγηση της παρούσας διατριβής, καθώς και για τις πολύτιμες παρατηρήσεις του.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στους συνεργάτες, μεταπτυχιακούς φοιτητές και υποψήφιους διδάκτορες για την αγαστή συνεργασία, την τεχνική υποστήριξη και το συναδελφικό κλίμα που διαμόρφωσαν καθημερινά στον εργαστηριακό χώρο. Ένα ακόμη μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στις συναδέλφους μου Έλενα και Ελεονώρα, για την πίστη τους σ' εμένα και την υποστήριξη σε πρακτικό και ψυχολογικό επίπεδο, καθώς και στις συναδέλφους μου Έλενα και Άννα Μαρία για την πολύτιμη βοήθειά τους και την πάντα πρόθυμη διάθεσή τους για γόνιμο επιστημονικό διάλογο. Η συμβολή τους και οι συζητήσεις μας γύρω από το μικροβιολογικό σκέλος της έρευνας υπήρξαν εξαιρετικά υποστηρικτικές και ουσιαστικές για την εξέλιξη της εργασίας.

Τέλος, το πιο σημαντικό και βαθύ ευχαριστώ ανήκει στους ανθρώπους της δικής μου καθημερινότητας, οι οποίοι αποτέλεσαν το καταφύγιό μου σε όλη αυτή τη διαδρομή:

Στους γονείς μου, για την ανιδιοτελή και αδιάκοπη αγάπη τους. Τους ευχαριστώ που στέκονται δίπλα μου σε κάθε μου βήμα, στηρίζοντας την προσωπική και επαγγελματική μου εξέλιξη. Η υπομονή τους και η στήριξή τους είναι ανεκτίμητες, προσφέροντάς μου την ηρεμία και την ασφάλεια που χρειάζομαι, ιδιαίτερα στις πιο πιεστικές περιόδους της πορείας μου.

Στους φίλους μου, που ήταν πάντα εκεί για να με ακούσουν, να με εμψυχώσουν και να μοιραστούν τις ανησυχίες μου. Τους ευχαριστώ για την κατανόηση και την υπομονή που έδειξαν στις περιόδους της απουσίας μου, αλλά κυρίως για τη μοναδική τους ικανότητα να με κάνουν να χαμογελώ και να αποσυμπιέζομαι όταν το άγχος της έρευνας γινόταν αβάσταχτο.

Στον αδερφό μου, Πελοπίδα, για την αθόρυβη αλλά ακλόνητη παρουσία του, τη σταθερή του στήριξη και την υπομονή του σε κάθε δύσκολη στιγμή αυτού του ταξιδιού.

Και, τέλος, στον σύντροφό μου, Παύλο, ο οποίος βίωσε από πρώτο χέρι κάθε αγωνία, κάθε ξενύχτι και κάθε ένταση αυτής της διατριβής. Τον ευχαριστώ από καρδιάς για την ανεξάντλητη υπομονή του, την ακλόνητη πίστη του σε μένα και για την ηρεμία που μου μετέδιδε καθημερινά, αποτελώντας τον πιο πολύτιμο συνοδοιπόρο μου.

Ελένη Κ. Μακρή

Ιωάννινα, Ιούνιος 2026

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εστιάζει στη συστηματική πειραματική και θεωρητική μελέτη της αποτελεσματικότητας της ετερογενούς φωτοκαταλυτικής απολύμανσης τεσσάρων αντιπροσωπευτικών παθογόνων μικροοργανισμών σε υδατικό μέσο, με τη χρήση εναιωρήματος διοξειδίου του τιτανίου (TiO₂ Degussa P25, 1,0 g/L) υπό συνθήκες προσομοιωμένου ηλιακού φωτός. Ως πρότυπα βακτηριακά στελέχη επιλέχθηκαν δύο Gram-αρνητικά (*Escherichia coli* ATCC 25922 και *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883) και δύο Gram-θετικά (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 και *Enterococcus faecalis* ATCC 29212).

Η πειραματική διαδικασία περιέλαβε τη διεξαγωγή πειραμάτων ελέγχου (σκοτεινή τοξικότητα και απλή φωτόλυση), τα οποία έδειξαν ότι η συνδυασμένη παρουσία καταλύτη και ακτινοβολίας είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική αδρανοποίηση των μικροβιακών κυττάρων. Η σειρά ευαισθησίας των τεσσάρων μικροοργανισμών ως προς τον χρόνο πλήρους αδρανοποίησης (t_{total}) διαμορφώθηκε ως εξής: *K. pneumoniae* (20 λεπτά) > *S. aureus* (30 λεπτά) > *E. coli* (40 λεπτά) > *E. faecalis* (45 λεπτά).

Η ερμηνεία της κινητικής αδρανοποίησης ανέδειξε τη σημασία των δομικών χαρακτηριστικών του κυτταρικού περιβλήματος. Η *K. pneumoniae* παρουσίασε την υψηλότερη ευαισθησία, γεγονός που ενδέχεται να σχετίζεται με την παρουσία του πολυσακχαριδικού καψυλίου της, το οποίο πιθανώς ευνοεί τις αλληλεπιδράσεις με τα σωματίδια του TiO₂ και κατ' επέκταση την έκθεση του κυττάρου στις παραγόμενες δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS). Αντίθετα, ο *E. faecalis* αναδείχθηκε ως ο πλέον ανθεκτικός μικροοργανισμός, εμφανίζοντας χαρακτηριστική διφασική κινητική συμπεριφορά, η οποία μπορεί να αποδοθεί, μεταξύ άλλων, στο παχύ και υψηλού βαθμού διασύνδεσης στρώμα πεπτιδογλυκάνης που λειτουργεί ως προστατευτικός φραγμός έναντι της δράσης των ROS.

Για τη μαθηματική περιγραφή των μη γραμμικών καμπυλών επιβίωσης εφαρμόστηκε το τριπαραμετρικό τροποποιημένο μοντέλο Hom . Το μοντέλο παρουσίασε εξαιρετική προσαρμογή για τα στελέχη *K. pneumoniae*, *S. aureus* και *E. coli* ($R^2 \geq 0,986$ και χαμηλές τιμές SSE), αποτυπώνοντας με ικανοποιητική ακρίβεια την αρχική φάση υστέρησης και την τελική επιβράδυνση της αδρανοποίησης . Ωστόσο, στην περίπτωση του *E. faecalis* παρατηρήθηκε χαμηλότερη προσαρμογή ($R^2 = 0,946$), γεγονός που αποδίδεται στην αδυναμία της ομαλής σιγμοειδούς συνάρτησης του μοντέλου να περιγράψει πλήρως το ενδιάμεσο στάδιο προσωρινής σταθεροποίησης του μικροβιακού πληθυσμού.

Συμπερασματικά, η ετερογενής φωτοκατάλυση αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματική για την αδρανοποίηση των εξεταζόμενων παθογόνων μικροοργανισμών, καθώς η δράση των παραγόμενων δραστικών μορφών οξυγόνου προκαλεί εκτεταμένες βλάβες σε κρίσιμες κυτταρικές δομές. Η διεργασία αυτή δύναται να περιορίσει σημαντικά τον κίνδυνο επανενεργοποίησης και επαναπολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών σε σύγκριση με συμβατικές μεθόδους απολύμανσης. Τέλος, η αυξημένη ανθεκτικότητα του *E. faecalis* υποδεικνύει ότι το συγκεκριμένο στέλεχος μπορεί να αποτελέσει έναν ιδιαίτερα χρήσιμο βιοδείκτη για την αξιολόγηση της απολυμαντικής ικανότητας προηγμένων οξειδωτικών διεργασιών σε εφαρμογές επεξεργασίας νερού.

ABSTRACT

This master's thesis focuses on the systematic experimental and theoretical study of the efficiency of heterogeneous photocatalytic disinfection of four (4) representative pathogenic microorganisms in an aqueous medium, using a titanium dioxide suspension (TiO₂ Degussa P25, 1.0 g/L) under simulated solar light conditions. Two Gram-negative bacterial strains (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883) and two Gram-positive strains (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) were selected as model microorganisms. The experimental procedure involved control experiments (dark toxicity and photolysis), which demonstrated that the synergy between the catalyst and radiation is essential for rapid cell inactivation, ruling out dark toxicity or sufficient direct photolysis. The sensitivity order of the four microorganisms regarding the time required for complete inactivation (totalt) was experimentally determined as follows: *K. pneumoniae* (20 λεπτά) > *S. aureus* (30 λεπτά) > *E. coli* (40 λεπτά) > *E. faecalis* (45 λεπτά). The biological interpretation of the inactivation kinetics highlighted the significance of the cell envelope structure. *K. pneumoniae* exhibited the highest sensitivity, as its capsular polysaccharide promoted the attachment of TiO₂ nanoparticles via attractive Lewis acid-base interactions (extended XDLVO theory) overriding electrostatic repulsion, bringing the generation of reactive oxygen species (ROS) into direct contact with the cell membrane. Conversely, *E. faecalis* emerged as the most resistant microorganism, displaying characteristic step-like (biphasic) kinetics, with its thick and highly cross-linked peptidoglycan layer acting as a sacrificial physical barrier that significantly retards the diffusion of ROS. For the mathematical description of the non-linear survival curves, the three-parameter modified Hom model was applied. The model showed an excellent fit for *K. pneumoniae*, *S. aureus*, and *E. coli* ($R^2 \geq 0.986$, low SSE), accurately capturing the initial shoulder phase and the final tailing effect. However, an inherent limitation of the model was identified in the case of *E. faecalis* ($R^2 = 0.946$), as the smooth sigmoidal nature of the function fails to mathematically simulate the intermediate experimental stabilization plateau of the population. In conclusion, heterogeneous solar photocatalysis significantly outperforms conventional disinfection methods, as it induces irreversible physicochemical destruction of the cell envelope, eliminating the risk of photoreactivation and regrowth of pathogens. Finally, the high

resistance of *E. faecalis* confirms its suitability as the most reliable indicator organism for evaluating the disinfection capacity of advanced oxidation processes in real-world water treatment applications.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.1 Ρύπανση των υδάτων.....	2
1.2 Μικροβιολογία υδάτινου περιβάλλοντος και παθογένεια.....	4
1.2.1 Βιοδείκτες μόλυνσης.....	7
1.2.2 Η σημασία του καθαρού νερού και οι επιπτώσεις της έλλειψής του στην υγεία	9
1.3 Ηλιακή Ενέργεια και οι εφαρμογές της στην περιβαλλοντική αποκατάσταση	11
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ.....	12
2.1 Γενικές αρχές απολύμανσης	12
2.1.1 Ορισμός και Κριτήρια Επιλογής Απολυμαντικών Μέσων.....	12
2.1.2 Κινητική της Αδρανοποίησης και Μοντελοποίηση	13
2.1.3 Πρωτογενής και Δευτερογενής Απολύμανση	14
2.2 Μηχανισμοί δράσης	14
2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την απολύμανση	16
2.3.1 Επίδραση του <i>pH</i>	17
2.3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας.....	17
Επίδραση της Θολρότητας.....	18
Επίδραση της Οργανικής Ύλης.....	18
2.4 Συμβατικές Μέθοδοι.....	19
2.4.1 Χλωρίωση	20
2.4.2 Οζόνωση.....	20
2.4.3 Υπεριώδης Ακτινοβολία (UV).....	21
2.5 Προχωρημένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ)	22
3. ΕΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΦΩΤΟΚΑΤΑΛΥΣΗ	24
3.1 Θεμελιώδεις Αρχές και Ηλεκτρονιακή Θεωρία Ημιαγωγών	24
3.2 Παραγωγή και Δράση των Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (ROS)	26
3.3 Κινητική Μοντελοποίηση και Παράγοντες Βελτιστοποίησης.....	28
3.4 Διοξείδιο του Τιτανίου (TiO ₂): Ιδιότητες και κρυσταλλικές δομές	29
3.5 Σύγκριση Φωτοκατάλυσης με Συμβατικές Μεθόδους Απολύμανσης.....	30
4. ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....	31

4.1 <i>Escherichia coli</i>	31
4.1.1 Ταξινόμική Κατάταξη και Βιολογικός Ρόλος ως Δείκτης.....	32
4.1.2 Δομή Κυτταρικού Περιβλήματος και Ηλεκτροστατικές Ιδιότητες.....	32
4.1.3 Μηχανισμός Φωτοκαταλυτικής Αδρανοποίησης.....	32
4.1.4 Παθογόνα Στελέχη και Κλινική Σημασία	33
4.1.5 Το Πρόβλημα της Φωτοεπιδιόρθωσης και της Κατάστασης VBNC	33
4.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	34
4.2.1 Δομή και επικινδυνότητα.....	34
4.2.2 Μορφολογία και Δομή του Κυτταρικού Περιβλήματος	34
4.2.3 Παράγοντες Λοιμογόνου Δύναμης και Παθογένεια	35
4.2.4 Μικροβιακή Ανθεκτικότητα και Δημόσια Υγεία	36
4.2.5 Περιβαλλοντική Παρουσία και Ανθεκτικότητα στην Απολύμανση.....	36
4.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	37
4.3.1 Δομή Κυτταρικού Περιβλήματος και Μηχανική Αντοχή	37
4.3.2 Παράγοντες Λοιμογόνου Δύναμης και Επικινδυνότητα	38
4.3.3 Μικροβιακή Ανθεκτικότητα και Περιβαλλοντική Διασπορά.....	38
4.3.4 Μηχανισμοί Αδρανοποίησης κατά τη Φωτοκατάλυση.....	39
4.3.5 Επίδραση της δομής του κυτταρικού τοιχώματος στην ταχύτητα απολύμανσης.....	39
4.4 <i>Enterococcus faecalis</i>	40
4.4.1 Δομική Αρχιτεκτονική του Gram-θετικού Κυτταρικού Τοιχώματος.....	40
4.4.2 Μηχανισμοί Περιβαλλοντικής και Χημικής Ανθεκτικότητας.....	41
4.4.3 Παθογένεια και Κλινική Σημασία στα Υδατικά Συστήματα	41
4.4.4 Μικροβιακή Ανθεκτικότητα και Γονίδια Ανθεκτικότητας (ARGs)	42
4.5 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	42
4.5.1 Gram-αρνητικά Βακτήρια: Η Ευπάθεια της Εξωτερικής Μembrάνης	42
4.5.2 Gram-θετικά Βακτήρια: Το Πεπτιδογλυκανικό Φράγμα.....	43
5. ΣΚΟΠΟΣ	43
6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΜΕΡΟΣ.....	45
6.1 Αντιδραστήρια και Υλικά	45
6.1.1 Πρότυπα Μικροβιακά Στελέχη.....	45

6.1.2 Θρεπτικά Υλικά και Μέσα Καλλιέργειας	45
6.2 Πειραματική Διαδικασία Φωτοκαταλυτικής Αδρανοποίησης	46
6.2.1 Προετοιμασία Αντιδραστήρα και εμβολιασμός.....	46
6.2.2 Φωτοκαταλυτική Διεργασία και Περιοδική Δειγματοληψία.....	47
6.2.3 Επώση και Ποσοτικοποίηση	47
6.2.4 Πειράματα ελέγχου	48
7.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	49
7.0.1. Καθορισμός Χρονικών Οροσήμων Απολύμανσης.....	49
7.0.2. Επιλογή Μοντέλου Μαθηματικής Προσομοίωσης	49
7.1. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	50
7.1.1. Καμπύλες Επιβίωσης.....	50
7.1.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης.....	52
7.1.3. Κινητική Μελέτη	54
7.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	54
7.2.1. Καμπύλες Επιβίωσης.....	54
7.2.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης.....	55
7.2.3. Κινητική Μελέτη	57
7.a Συγκριτική μελέτη Gram αρνητικών βακτηρίων.....	58
7.3. <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 25923	60
7.3.1. Καμπύλες Επιβίωσης.....	60
7.3.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης.....	61
7.4. <i>Enterococcus faecalis</i> ATTC 29212.....	63
7.4.1. Καμπύλες Επιβίωσης.....	63
7.4.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης.....	64
7.4.3. Κινητική Μελέτη	66
7.b Συγκριτική μελέτη Gram θετικών βακτηρίων	66
7.5 Συγκριτική μελέτη και των τεσσάρων μικροοργανισμών.....	68
7.5.1 επίπεδο 1: Βιολογικό επίπεδο – επίδραση της κυτταρικής δομής (Gram- vs Gram+)	68
7.5.2. Επίπεδο 2: Διεργασιακό επίπεδο – σύγκριση φωτόλυσης και φωτοκατάλυσης.....	71

7.5.3. Επίπεδο 3: Κινητικό επίπεδο – σύγκριση πειραματικών παραμέτρων και χρονικών οροσήμων	75
7.5.4. Επίπεδο 4: Θεωρητικό/μαθηματικό Επίπεδο – προσαρμογή στο τροποποιημένο μοντέλο Hom	77
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	81
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	83
ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	91

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ρύπανση των υδάτων

Η υποβάθμιση της ποιότητας των υδατικών πόρων αποτελεί ένα από τα κρισιμότερα περιβαλλοντικά ζητήματα του 21ου αιώνα, με άμεσες επιπτώσεις στη βιωσιμότητα των οικοσυστημάτων και τη δημόσια υγεία. Η ρύπανση των υδάτων δεν είναι ένα στατικό φαινόμενο, αλλά μια δυναμική διεργασία εισροής χημικών και βιολογικών παραγόντων που μεταβάλλουν τη φυσικοχημική σύσταση του νερού. Το νερό, ως οικουμενικός διαλύτης, μεταφέρει ένα εξαιρετικά σύνθετο μείγμα ρύπων, η προέλευση των οποίων κατηγοριοποιείται κυρίως σε αστική, βιομηχανική και γεωργική. Παράλληλα, η ικανότητα των φυσικών αποδεκτών για αυτοκαθαρισμό δεν είναι απεριόριστη, αλλά εξαρτάται άμεσα από τη φύση και τη συγκέντρωση των εισρεόντων ρύπων¹⁻³.

Τα αστικά λύματα αποτελούν την κύρια πηγή μικροβιακού φορτίου στα επιφανειακά ύδατα. Η σύστασή τους χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις οργανικής ύλης (εκφρασμένης ως *BOD* και *COD*), αιωρούμενων στερεών, θρεπτικών συστατικών (άζωτο και φώσφορος) και, κυρίως, παθογόνων μικροοργανισμών εντερικής προέλευσης. Η βιολογική επεξεργασία των λυμάτων αυτών στηρίζεται στη δράση σαπροφυτικών μικροοργανισμών, οι οποίοι αποδομούν τις οργανικές ενώσεις, ωστόσο η παρουσία παθογόνων στελεχών απαιτεί επιπρόσθετα στάδια απολύμανσης³. Οι Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ), αν και εφαρμόζουν προηγμένα στάδια δευτεροβάθμιας και τριτοβάθμιας επεξεργασίας, συχνά λειτουργούν ως σημεία συγκέντρωσης ανθεκτικών παθογόνων. Στις εκροές των ΕΕΛ ανιχνεύονται συστηματικά βακτήρια του είδους *Escherichia coli* και του γένους των Εντερόκοκκων, καθώς και ευκαιριακά παθογόνα όπως η *Klebsiella pneumoniae*, η οποία παρουσιάζει αυξημένη ικανότητα επιβίωσης λόγω της δομής της^{4,5}. Η ανεπαρκής απομάκρυνση αυτών των μικροοργανισμών οδηγεί στη μόλυνση των υδάτινων αποδεκτών, καθιστώντας τους επικίνδυνους για άρδευση ή αναψυχή.

Η βιομηχανική δραστηριότητα εισάγει στα υδατικά συστήματα ρύπους υψηλής τοξικότητας και χαμηλής βιοαποδομησιμότητας. Τα βιομηχανικά λύματα περιέχουν συχνά βαρέα μέταλλα, φαινολικές ενώσεις, αρωματικούς υδρογονάνθρακες και συνθετικές χημικές ουσίες που δρουν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες. Από αναλυτική σκοπιά, η

παρουσία αυτών των χημικών ρύπων περιπλέκει τη διαδικασία απολύμανσης, καθώς οι ουσίες αυτές μπορούν να δράσουν ως «παγίδες» των δραστικών ριζών υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$), μειώνοντας την αποτελεσματικότητα των οξειδωτικών μεθόδων. Επιπλέον, η χημική καταπόνηση που προκαλούν οι βιομηχανικοί ρύποι στους μικροοργανισμούς μπορεί να οδηγήσει σε μεταλλάξεις και ανάπτυξη μηχανισμών ανθεκτικότητας, ενισχύοντας την περιβαλλοντική τους παραμονή^{6,7}.

Η γεωργική ρύπανση, αν και συχνά θεωρείται «διάχυτη», συμβάλλει καθοριστικά στην υποβάθμιση των υδάτων μέσω των απορροών. Η εκτεταμένη χρήση λιπασμάτων προκαλεί το φαινόμενο του ευτροφισμού, το οποίο ευνοεί την ανάπτυξη κυανοβακτηρίων και την παραγωγή τοξινών. Παράλληλα, η κτηνοτροφική δραστηριότητα αποτελεί μια τεράστια δεξαμενή μικροβιακής ρύπανσης. Τα κτηνοτροφικά απόβλητα είναι πλούσια σε *Enterococcus faecalis* και άλλα Gram-θετικά βακτήρια, τα οποία, λόγω του παχέος στρώματος πεπτιδογλυκάνης στο τοίχωμά τους, επιδεικνύουν αξιοσημείωτη αντοχή στις περιβαλλοντικές συνθήκες^{8,9}. Κρίσιμο ζήτημα στη γεωργική ρύπανση είναι η διασπορά γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (ARGs). Η χρήση αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία οδηγεί στην έκκριση ανθεκτικών στελεχών και γενετικού υλικού στο έδαφος και τα ύδατα, δημιουργώντας έναν κύκλο ανθεκτικότητας που είναι εξαιρετικά δύσκολο να σπάσει με τις συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας^{10,11}.

Η συνύπαρξη αυτών των διαφορετικών πηγών ρύπανσης οδηγεί στον σχηματισμό ενός πολύπλοκου «κοκτέιλ» χημικών και βιολογικών προσμίξεων στα υδατικά συστήματα. Η αναλυτική παρακολούθηση αυτών των φαινομένων δείχνει ότι η παραδοσιακή προσέγγιση της απολύμανσης, που βασίζεται μόνο στη μείωση των cfu/mL, είναι πλέον ανεπαρκής. Απαιτείται μια βαθύτερη κατανόηση του πώς η υδατική μήτρα (παρουσία ιόντων, οργανικού φορτίου και θολερότητας) επηρεάζει τη βιωσιμότητα των παθογόνων και την κινητική των οξειδωτικών αντιδράσεων. Η ανάγκη για Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες (AOPs) προκύπτει ακριβώς από αυτή την πολυπλοκότητα, καθώς οι μέθοδοι αυτές στοχεύουν στην ολική καταστροφή των κυτταρικών δομών και του γενετικού υλικού, εξασφαλίζοντας ότι οι ρύποι δεν θα μεταφερθούν στα επόμενα στάδια του υδρολογικού κύκλου^{12,13}.

1.2 Μικροβιολογία υδάτινου περιβάλλοντος και παθογένεια

Το υδάτινο περιβάλλον αποτελεί ένα εξαιρετικά δυναμικό και πολύπλοκο οικοσύστημα, το οποίο λειτουργεί ως φυσικός βιότοπος για μια τεράστια ποικιλία μικροοργανισμών, ενώ παράλληλα αποτελεί την κύρια οδό διασποράς παθογόνων παραγόντων στον ανθρώπινο πληθυσμό. Από τη σκοπιά της περιβαλλοντικής επιστήμης, το νερό δεν αντιμετωπίζεται απλώς ως ανόργανος διαλύτης, αλλά ως μια σύνθετη μήτρα που καθορίζει τη φυσιολογία, τη μεταβολική δραστηριότητα και τη λοιμογόνο δύναμη των μικροβιακών κοινοτήτων. Σύμφωνα με τον Αλμπάνη (1999)³, οι μικροοργανισμοί αυτοί, με τυπικές διαστάσεις από 0.5 έως 10 μm , διαδραματίζουν διττό ρόλο: από τη μία πλευρά συμβάλλουν ενεργά στη διάσπαση των οργανικών ουσιών και στον αυτοκαθαρισμό του νερού, ενώ από την άλλη, ορισμένα παρασιτικά στελέχη προκαλούν σοβαρές παθήσεις σε φυτά, ζώα και στον άνθρωπο. Η βαθιά κατανόηση της μικροβιολογίας του ύδατος είναι θεμελιώδης για τον σχεδιασμό και τη βελτιστοποίηση των συστημάτων απολύμανσης, καθώς η απόκριση των μικροοργανισμών στις οξειδωτικές καταπονήσεις που προκαλούνται από τις Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες εξαρτάται άμεσα από τη δομική τους ακεραιότητα και τους ενδογενείς μηχανισμούς επιβίωσης που διαθέτουν ^{14,15}.

Οι μικροοργανισμοί που απαντώνται στα υδάτινα συστήματα διακρίνονται παραδοσιακά σε αυτόχθονες, οι οποίοι αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα του οικοσυστήματος, και σε αλλόχθονους, οι οποίοι εισέρχονται μέσω της ανθρωπογενούς ρύπανσης. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα βακτηρίων, ιών και πρωτοζώων. Η παθογένεια, δηλαδή η ικανότητα ενός μικροοργανισμού να προκαλεί νόσο στον ξενιστή, αποτελεί μια σύνθετη ιδιότητα που συνδέεται άμεσα με τη λοιμογόνο δύναμη. Η λοιμογόνος δύναμη καθορίζεται από την παρουσία ειδικών παραγόντων, όπως οι εξωτοξίνες, τα ένζυμα αποδόμησης των ιστών και οι δομές προσκόλλησης, οι οποίες επιτρέπουν στον παθογόνο παράγοντα να αποικίζει και να καταβάλλει τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή ^{1,16}.

Στην παρούσα μελέτη, η έμφαση δίνεται στα βακτήρια, τα οποία αποτελούν τους κύριους στόχους της φωτοκαταλυτικής απολύμανσης. Η δομική διαφοροποίηση μεταξύ Gram-αρνητικών και Gram-θετικών βακτηρίων αποτελεί τον κρισιμότερο παράγοντα που επηρεάζει την κινητική της αδρανοποίησης. Τα Gram-αρνητικά βακτήρια, όπως το *Escherichia coli* και η *Klebsiella pneumoniae*, διαθέτουν μια εξελικτικά προηγμένη

πολυστρωματική δομή κυτταρικού τοιχώματος σε αντίθεση με τα Gram-θετικά είδη όπως ο *Staphylococcus aureus* και ο *Enterococcus faecalis*. Αυτή περιλαμβάνει μια εσωτερική κυτταροπλασματική μεμβράνη, ένα λεπτό στρώμα πεπτιδογλυκάνης στον περιπλασματικό χώρο και μια εξωτερική μεμβράνη πλούσια σε λιποπολυσακχαρίτες (LPS).

Η εξωτερική μεμβράνη λειτουργεί ως επιλεκτικός ημιπερατός φραγμός, προστατεύοντας το κύτταρο από υδρόφοβες ουσίες και αντιβιοτικά, αλλά ταυτόχρονα αποτελεί τον κύριο στόχο για τις ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) που παράγονται κατά τη φωτοκατάλυση. Η οξειδωτική προσβολή των λιποπολυσακχαριδίων οδηγεί στην υπεροξείδωση των λιπιδίων, προκαλώντας τη διάρρηξη της μεμβράνης και την κατάρρευση της οσμωτικής ισορροπίας του κυττάρου^{17,18}.

Αντιθέτως, τα Gram-θετικά βακτήρια, με κύριο εκπρόσωπο τον *Enterococcus faecalis*, παρουσιάζουν μια διαφορετική στρατηγική προστασίας. Αν και στερούνται εξωτερικής μεμβράνης, διαθέτουν ένα εξαιρετικά παχύ και σταυροειδώς συνδεδεμένο στρώμα πεπτιδογλυκάνης, το πάχος του οποίου μπορεί να φτάσει τα 80 nm. Αυτό το πολυμερές πλέγμα προσδίδει στο κύτταρο εξαιρετική μηχανική αντοχή και λειτουργεί ως χημικός «σπόγγος» που μπορεί να εξουδετερώσει μέρος των οξειδωτικών μέσων προτού αυτά φτάσουν στην ευαίσθητη κυτταροπλασματική μεμβράνη. Οι εντερόκοκκοι είναι γνωστοί για την ικανότητά τους να επιβιώνουν σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως υψηλές τιμές pH, αλατότητα και θερμική καταπόνηση, γεγονός που τους καθιστά ιδανικούς βιοδείκτες για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των φωτοκαταλυτικών συστημάτων σε πραγματικές συνθήκες^{8,9,19}.

Πέραν των βασικών δομικών χαρακτηριστικών, η παθογένεια και η ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών στο νερό ενισχύονται σημαντικά από την ικανότητα σχηματισμού βιοϋμενίων (biofilms). Ο *Staphylococcus aureus* αποτελεί το πρότυπο μικροοργανισμού που οργανώνεται σε βιοϋμένια, εκκρίνοντας μια εξωκυτταρική πολυμερή ουσία (EPS). Το EPS σχηματίζει μια τρισδιάστατη προστατευτική μήτρα που παγιδεύει τα κύτταρα και εμποδίζει τη διάχυση των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των απολυμαντικών μέσων. Εντός του βιοϋμενίου, οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν μειωμένο μεταβολικό ρυθμό και αυξημένη γενετική ανταλλαγή, γεγονός που τους καθιστά έως και 1000 φορές πιο ανθεκτικούς σε σύγκριση με τα ελεύθερα (planktonic) κύτταρα. Η αναλυτική πρόκληση σε τέτοια συστήματα έγκειται στην ανάγκη για ολική αποδόμηση της μήτρας

EPS, ώστε να καταστεί δυνατή η πρόσβαση του φωτοκαταλύτη στα προστατευμένα κύτταρα ^{20,21}.

Ένα εξίσου κρίσιμο φαινόμενο στην υδάτινη μικροβιολογία είναι η μετάπτωση των παθογόνων στην κατάσταση «Βιώσιμα αλλά μη Καλλιεργήσιμα» (Viable But Non-Culturable – VBNC). Υπό την επίδραση περιβαλλοντικών πιέσεων ή υποθανατηφόρων δόσεων φωτοκαταλυτικής επεξεργασίας, μικροοργανισμοί όπως το *E. coli* και η *K. pneumoniae* εισέρχονται σε μια κατάσταση ληθάργου. Σε αυτή την κατάσταση, τα κύτταρα δεν σχηματίζουν αποικίες στα κλασικά θρεπτικά υποστρώματα (καταμέτρηση CFU), αλλά διατηρούν τη μεταβολική τους δραστηριότητα, την ακεραιότητα του DNA τους και τη λοιμογόνο δύναμή τους. Από αναλυτική σκοπιά, η κατάσταση VBNC αποτελεί μια «ωρολογιακή βόμβα» για τη δημόσια υγεία, καθώς η αποτυχία ανίχνευσής της με τις συμβατικές μεθόδους μπορεί να οδηγήσει στην ψευδή βεβαιότητα ότι το νερό είναι ασφαλές. Η παρούσα εργασία λαμβάνει υπόψη αυτή την παράμετρο, εστιάζοντας στην ανάγκη για ολική οξειδωτική καταστροφή των κυττάρων μέσω της παραγωγής ισχυρών ROS, όπως οι ρίζες $\cdot\text{OH}$ και το H_2O_2 , που αποτρέπουν την αναβίωση των παθογόνων ^{22,23}. Η μοριακή παθογένεια των επιλεγμένων μικροοργανισμών συνδέεται με την ικανότητά τους να αντιστέκονται στη δράση των ελεύθερων ριζών μέσω ενζυμικών συστημάτων, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση και η καταλάση. Η *Klebsiella pneumoniae*, για παράδειγμα, χρησιμοποιεί την παχιά πολυσακχαριδική της κάψα ως ένα «θυσιαστικό» στρώμα, το οποίο καταναλώνει τις παραγόμενες ρίζες προτού αυτές προκαλέσουν μη αναστρέψιμες βλάβες στα ζωτικά οργανίδια. Η φωτοκαταλυτική διεργασία πρέπει, συνεπώς, να παράγει μια ροή οξειδωτικών ειδών που υπερβαίνει την αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου ^{15,17}.

Τέλος, η παθογένεια των μικροοργανισμών στο νερό επηρεάζεται άμεσα από τη χημεία της υδατικής μήτρας. Η παρουσία φυσικής οργανικής ύλης και ανόργανων ιόντων μπορεί να δράσει ανταγωνιστικά, καταναλώνοντας τις παραγόμενες ρίζες ή δημιουργώντας προστατευτικά συμπλέγματα γύρω από τα βακτήρια. Ωστόσο, η χημική καταπόνηση που υφίστανται οι μικροοργανισμοί σε περιβάλλοντα με έλλειψη θρεπτικών συστατικών μπορεί να τους καταστήσει πιο ευάλωτους στην αρχική οξειδωτική προσβολή, αν και συχνά οδηγεί σε συρρίκνωση του μεγέθους τους και σκλήρυνση της μεμβράνης τους ως αμυντικό μηχανισμό. Η αναλυτική παρακολούθηση της αδρανοποίησης πρέπει, συνεπώς,

να συνεκτιμά τη βιολογική κατάσταση του παθογόνου με τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού, ώστε να επιτευχθεί η οριστική και μη αναστρέψιμη απενεργοποίηση του μικροβιακού φορτίου^{1,8,25}.

1.2.1 Βιοδείκτες μόλυνσης

Η αναλυτική παρακολούθηση της μικροβιολογικής ποιότητας των υδάτων βασίζεται διαχρονικά στη χρήση των βιοδεικτών, καθώς η άμεση ανίχνευση του συνόλου των παθογόνων παραγόντων είναι τεχνικά δυσχερής, οικονομικά ασύμφορη και χρονοβόρα. Η έννοια του βιοδείκτη στηρίζεται στην παραδοχή ότι η παρουσία συγκεκριμένων μικροοργανισμών, οι οποίοι απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς στα κόπρανα θερμόαιμων οργανισμών, υποδηλώνει την πιθανή συνύπαρξη παθογόνων ιών, βακτηρίων και πρωτοζώων. Από την πλευρά του αναλυτικού χημικού και του μηχανικού περιβάλλοντος, ένας ιδανικός βιοδείκτης πρέπει να είναι παρών όταν υπάρχει ρύπανση, να επιβιώνει στο υδάτινο περιβάλλον για χρονικό διάστημα ανάλογο με αυτό των παθογόνων και να παρουσιάζει ανθεκτικότητα στις διεργασίες απολύμανσης τουλάχιστον ίση με αυτή των μικροοργανισμών-στόχων^{1,15}.

Η ομάδα των ολικών κολοβακτηριοειδών (*Total Coliforms* – TC) αποτέλεσε ιστορικά την πρώτη γραμμή ελέγχου. Πρόκειται για αερόβια ή προαιρετικά αναερόβια, Gram-αρνητικά, μη σπορογόνα βακτήρια που έχουν την ικανότητα να ζυμώνουν τη λακτόζη με παραγωγή οξέος και αερίου στους 35 °C. Ωστόσο, η αναλυτική αξιοπιστία των ολικών κολοβακτηριοειδών ως αποκλειστικών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης έχει αμφισβητηθεί, καθώς πολλά γένη της ομάδας αυτής (π.χ. *Citrobacter*, *Enterobacter*) απαντώνται φυσικά στο έδαφος και σε οργανικά πλούσια ύδατα χωρίς απαραίτητα να υποδηλώνουν κοπρανώδη ρύπανση. Για τον λόγο αυτό, η επιστημονική κοινότητα στράφηκε στα θερμοανθεκτικά κολοβακτηριοειδή (*Fecal Coliforms* – FC), τα οποία χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να αναπτύσσονται στους 44.5 °C, περιορίζοντας την ομάδα κυρίως σε στελέχη εντερικής προέλευσης¹⁴.

Το *Escherichia coli* αναγνωρίζεται σήμερα ως ο πλέον ειδικός και αξιόπιστος δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης. Η παρουσία του στο νερό αποτελεί αδιαμφισβήτητη απόδειξη πρόσφατης ρύπανσης από λύματα ή κτηνοτροφικά απόβλητα. Η αναλυτική υπεροχή του *E. coli* έγκειται στο γεγονός ότι δεν αναπαράγεται εύκολα στο φυσικό υδάτινο περιβάλλον (εκτός τροπικών κλιμάτων), συνεπώς η ανίχνευσή του υποδεικνύει άμεσο κίνδυνο. Όπως

αναφέρεται χαρακτηριστικά, ένας υγιής ανθρώπινος οργανισμός αποβάλλει καθημερινά περίπου 200 δισεκατομμύρια κύτταρα κολοβακτηριδίων, τα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες συμβιώνουν αρμονικά στο έντερο, αλλά καθίστανται παθογόνα εάν εγκατασταθούν σε άλλα συστήματα, όπως το ουροποιητικό ³. Στο πλαίσιο της φωτοκαταλυτικής απολύμανσης με TiO₂, το *E. coli* χρησιμοποιείται ως το «μοντέλο» Gram-αρνητικού βακτηρίου για τη μελέτη της κινητικής αδρανοποίησης. Η ευαισθησία του στις ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου και η τάση του για φωτοεπιδιόρθωση καθιστούν την παρακολούθησή του απαραίτητη για την αξιολόγηση της κβαντικής απόδοσης των φωτοκαταλυτών^{5,26}.

Παρά τη σημασία των κολοβακτηριοειδών, η περιορισμένη ανθεκτικότητά τους σε ορισμένες μεθόδους απολύμανσης οδήγησε στην υιοθέτηση των Εντεροκόκκων (*Enterococci*) ως συμπληρωματικών βιοδεικτών. Οι εντερόκοκκοι, με κυριότερο εκπρόσωπο τον *Enterococcus faecalis*, είναι Gram-θετικοί κόκκοι που παρουσιάζουν εξαιρετική σταθερότητα στο υδάτινο περιβάλλον και υψηλή αντοχή στην υπεριώδη ακτινοβολία και στα χημικά οξειδωτικά. Η δομή του κυτταρικού τους τοιχώματος, πλούσια σε πεπτιδογλυκάνη, τους επιτρέπει να επιβιώνουν για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε σύγκριση με το *E. coli*, ιδιαίτερα σε θαλάσσια ύδατα ή σε ύδατα με υψηλή αλατότητα. Από αναλυτική άποψη, οι εντερόκοκκοι θεωρούνται καλύτεροι δείκτες για την εκτίμηση του κινδύνου από παθογόνους ιούς και πρωτόζωα, καθώς η κινητική αδρανοποίησή τους προσομοιάζει περισσότερο με αυτή των ανθεκτικών παθογόνων ^{8,9}.

Η επιλογή των βιοδεικτών στην παρούσα συγκριτική μελέτη (*E. coli*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*) δεν είναι τυχαία, αλλά αντανακλά την ανάγκη για μια σφαιρική αναλυτική προσέγγιση. Η *Klebsiella pneumoniae*, αν και ανήκει στα κολοβακτηριοειδή, αντιπροσωπεύει μια κατηγορία παθογόνων με αυξημένη προστασία λόγω της πολυσακχαριδικής της κάψας, ενώ ο *Staphylococcus aureus* λειτουργεί ως δείκτης για την παρουσία βιοϋμενίων και την ανθεκτικότητα σε υλικά με αντιμικροβιακή δράση. Η ταυτόχρονη παρακολούθηση αυτών των μικροοργανισμών επιτρέπει στον ερευνητή να χαρτογραφήσει το φάσμα δράσης του φωτοκαταλυτικού συστήματος, προσδιορίζοντας αν η παραγωγή των ROS είναι επαρκής για την υπέρβαση των διαφορετικών βιολογικών φραγμών^{16,21}. Η παρουσία παρεμποδιστών στη μήτρα μπορεί να μεταβάλει την ιεραρχία

ανθεκτικότητας των βιοδεικτών, καθιστώντας απαραίτητη τη διεξαγωγή πειραμάτων σε ελεγχόμενες συνθήκες αλλά και σε πραγματικά δείγματα ^{12,27}.

1.2.2 Η σημασία του καθαρού νερού και οι επιπτώσεις της έλλειψής του στην υγεία

Η πρόσβαση σε καθαρό και ασφαλές πόσιμο νερό αποτελεί τον θεμέλιο λίθο της δημόσιας υγείας και αναγνωρίζεται διεθνώς ως αναφαίρετο ανθρώπινο δικαίωμα, άρρηκτα συνδεδεμένο με την επιβίωση και την αξιοπρέπεια. Από επιστημονική άποψη, ο όρος «καθαρό νερό» υπερβαίνει την απλή απουσία ορατών προσμίξεων και θολερότητας· ορίζεται ως η κατάσταση της υδατικής μήτρας στην οποία οι φυσικοχημικές, χημικές και μικροβιολογικές παράμετροι διατηρούνται σταθερά κάτω από τα όρια επικινδυνότητας που έχουν θεσπιστεί με βάση επιδημιολογικά δεδομένα. Επομένως, η υποβάθμιση της ποιότητας του νερού, είτε μέσω της εισροής παθογόνων μικροοργανισμών είτε μέσω της συσσώρευσης τοξικών χημικών ενώσεων, αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες απειλές για τον παγκόσμιο πληθυσμό, προκαλώντας σοβαρές υγειονομικές, κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις ^{1,15}.

Η άμεση επίπτωση της έλλειψης καθαρού νερού είναι η εξάπλωση υδατογενών νοσημάτων, τα οποία ευθύνονται για εκατομμύρια θανάτους ετησίως, με τα παιδιά κάτω των πέντε ετών να αποτελούν την πιο ευάλωτη ομάδα. Παθογόνα βακτήρια όπως το *Escherichia coli*, η *Salmonella* και η *Shigella*, καθώς και πρωτόζωα όπως το *Cryptosporidium*, εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της κατανάλωσης μολυσμένου νερού, προκαλώντας οξείες γαστρεντερίτιδες, χολέρα και δυσεντερία. Στη βιβλιογραφία καταγράφεται μια ευρεία γκάμα τέτοιων υδατογενών παθογόνων, στα οποία περιλαμβάνονται το *Vibrio cholerae* (υπεύθυνο για τη χολέρα), η *Salmonella typhi* (υπεύθυνη για τον τυφοειδή πυρετό), καθώς και διάφοροι εντεροϊοί ³. Η αναλυτική παρακολούθηση των υδάτινων αποδεκτών δείχνει ότι η παρουσία παθογόνων δεν περιορίζεται σε περιοχές με ελλιπείς υποδομές· ευκαιριακά παθογόνα όπως η *Klebsiella pneumoniae* και ο *Staphylococcus aureus* ανιχνεύονται πλέον συστηματικά σε αστικά δίκτυα και νοσοκομειακές μονάδες, υποδηλώνοντας ότι οι παραδοσιακές μέθοδοι επεξεργασίας συχνά αποτυγχάνουν να διασφαλίσουν την πλήρη αποστείρωση του νερού ^{4,16}.

Πέραν των οξέων λοιμώξεων, η μακροχρόνια έκθεση σε νερό υποβαθμισμένης ποιότητας ενέχει σοβαρούς κινδύνους για χρόνια νοσήματα. Η χημική ρύπανση, συχνά προερχόμενη από βιομηχανικά και γεωργικά απόβλητα, εισάγει στο νερό ουσίες όπως βαρέα μέταλλα και ενδοκρινικούς διαταράκτες, οι οποίοι συσσωρεύονται στους ιστούς και συνδέονται με νεοπλασίες και διαταραχές του αναπαραγωγικού συστήματος. Επιπλέον, ανακύπτει το κρίσιμο ζήτημα των παραπροϊόντων απολύμανσης. Η χρήση χλωρίου για την εξουδετέρωση του μικροβιακού φορτίου σε ύδατα με υψηλό οργανικό φορτίο οδηγεί στον σχηματισμό τριαλομεθανίων και αλογονοοξικών οξέων. Οι ενώσεις αυτές, αν και προκύπτουν από τη διαδικασία «καθαρισμού», έχουν τεκμηριωθεί ως καρκινογόνες και γονοτοξικές, αναδεικνύοντας την ανάγκη για νέες τεχνολογίες που θα επιτυγχάνουν την απολύμανση χωρίς να αλλοιώνουν τη χημική ασφάλεια του νερού ²⁸.

Μια από τις πλέον ανησυχητικές σύγχρονες επιπτώσεις της ρύπανσης των υδάτων στην υγεία είναι η διασπορά της μικροβιακής ανθεκτικότητας. Το νερό λειτουργεί ως ο κύριος φορέας μεταφοράς γονιδίων ανθεκτικότητας από το περιβάλλον στον άνθρωπο. Όταν οι υδατικοί πόροι μολύνονται από ανθεκτικά στελέχη όπως ο *Enterococcus faecalis* ή πολυανθεκτικά στελέχη της *Klebsiella*, οι κοινές λοιμώξεις καθίστανται εξαιρετικά δύσκολο να θεραπευτούν, αυξάνοντας δραματικά τα ποσοστά θνησιμότητας και το κόστος νοσηλείας. Η αποτυχία των συμβατικών συστημάτων επεξεργασίας να καταστρέψουν το εξωκυτταρικό DNA σημαίνει ότι το νερό μπορεί να μεταφέρει την πληροφορία της ανθεκτικότητας ακόμα και αν τα ίδια τα βακτήρια έχουν αδρανοποιηθεί, γεγονός που απαιτεί την εφαρμογή οξειδωτικών μεθόδων ικανών για πλήρη μοριακή αποδόμηση ^{4,10}.

Η σημασία του καθαρού νερού επεκτείνεται και στο επίπεδο της κοινωνικής και οικονομικής ευημερίας. Η έλλειψη ασφαλούς νερού παγιδεύει ολόκληρες κοινότητες σε έναν κύκλο φτώχειας και ασθένειας, καθώς οι δαπάνες για την υγεία και η απώλεια εργατοωρών λόγω ασθενειών υπονομεύουν κάθε αναπτυξιακή προσπάθεια.

Συμπερασματικά, το καθαρό νερό δεν είναι απλώς μια περιβαλλοντική παράμετρος, αλλά ο καθοριστικός παράγοντας για τη βιολογική ακεραιότητα του ανθρώπινου είδους. Οι επιπτώσεις της έλλειψής του είναι πολυδιάστατες, ξεκινώντας από τις οξείες λοιμώξεις και καταλήγοντας σε μακροχρόνιους κινδύνους από τη χημική τοξικότητα και την παγκόσμια κρίση της αντιβιοτικής ανθεκτικότητας. Η επιστημονική κοινότητα οφείλει να αναπτύξει και να τεκμηριώσει αναλυτικά νέες μεθόδους επεξεργασίας που θα εγγυώνται την ολική

εξάλειψη των παθογόνων και των γενετικών τους αποτυπωμάτων, διασφαλίζοντας ότι το νερό θα παραμείνει πηγή ζωής και όχι φορέας ασθενειών¹¹.

1.3 Ηλιακή Ενέργεια και οι εφαρμογές της στην περιβαλλοντική αποκατάσταση

Η αξιοποίηση της ηλιακής ενέργειας αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους πυλώνες της σύγχρονης περιβαλλοντικής μηχανικής, προσφέροντας μια βιώσιμη και χαμηλού κόστους εναλλακτική για την αποκατάσταση υποβαθμισμένων οικοσυστημάτων. Η ηλιακή ακτινοβολία που φτάνει στην επιφάνεια της Γης δεν αντιμετωπίζεται πλέον μόνο ως πηγή θερμότητας ή ηλεκτρισμού, αλλά ως ένας «πράσινος αντιδραστήρας» φωτονίων ικανός να πυροδοτήσει σύνθετες χημικές και βιολογικές διεργασίες. Από επιστημονική άποψη, η εφαρμογή της ηλιακής ενέργειας στην περιβαλλοντική αποκατάσταση εστιάζεται κυρίως στη χρήση της υπεριώδους (UV) και της ορατής ακτινοβολίας για την αποδόμηση τοξικών ρύπων και την εξάλειψη παθογόνων μικροοργανισμών μέσω φωτοχημικών μηχανισμών^{12,29}.

Το φάσμα της ηλιακής ακτινοβολίας που είναι διαθέσιμο για φωτοκαταλυτικές εφαρμογές αποτελείται από ένα μικρό ποσοστό υπεριώδους ακτινοβολίας (UVA και μέρος της UVB, περίπου 4–5% της συνολικής ενέργειας) και ένα μεγάλο ποσοστό ορατού φωτός (περίπου 45%). Η παραδοσιακή φωτοκατάλυση βασίστηκε επί δεκαετίες στο διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2), το οποίο λόγω του ενεργειακού του χάσματος (bandgap ≈ 3.2 eV για την ανατάση) απαιτεί φωτόνια υψηλής ενέργειας στην περιοχή του UV για να ενεργοποιηθεί. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει τη διέγερση ηλεκτρονίων από τη ζώνη σθένους στη ζώνη αγωγιμότητας, δημιουργώντας οπές (h^+) που αντιδρούν με τα μόρια του νερού για την παραγωγή των εξαιρετικά οξειδωτικών ριζών υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$). Η χρήση της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) αποτελεί μια από τις πλέον διαδεδομένες φυσικές μεθόδους απολύμανσης, η οποία όμως παρουσιάζει περιορισμούς όταν εφαρμόζεται σε ύδατα με υψηλή θολερότητα ή οργανικό φορτίο³. Η εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας σε ηλιακούς αντιδραστήρες επιτρέπει την πλήρη ανοργανοποίηση οργανικών ρύπων, όπως τα παραπροϊόντα απολύμανσης και οι φαρμακευτικές ενώσεις, μετατρέποντάς τα σε διοξείδιο του άνθρακα, νερό και ανόργανα ανιόντα^{28,30}.

Η περιβαλλοντική αποκατάσταση μέσω της ηλιακής ενέργειας επεκτείνεται με ιδιαίτερη επιτυχία στον τομέα της απολύμανσης του νερού. Η ηλιακή απολύμανση βασίζεται στη συνεργιστική δράση της θερμικής ενέργειας και της ακτινοβολίας UV για την πρόκληση μη αναστρέψιμων βλαβών στα κυτταρικά τοιχώματα και το DNA των παθογόνων. Ωστόσο, η ετερογενής ηλιακή φωτοκατάλυση υπερτερεί σημαντικά της απλής φωτολυτικής απολύμανσης, καθώς η παρουσία του ημιαγωγού επιταχύνει την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Η αναλυτική παρακολούθηση αυτών των συστημάτων δείχνει ότι η ηλιακή φωτοκατάλυση είναι ικανή να αδρανοποιήσει ανθεκτικά στελέχη όπως το *Escherichia coli* και ο *Enterococcus faecalis*, ακόμη και σε υδατικές μήτρες με υψηλή θολερότητα, όπου η απλή ακτινοβολία θα αποτύγχανε λόγω σκέδασης^{1,26}.

Η εφαρμογή της ηλιακής ενέργειας δεν περιορίζεται μόνο στην επεξεργασία του νερού, αλλά επεκτείνεται και στον καθαρισμό του αέρα και την αποκατάσταση εδαφών. Φωτοκαταλυτικές επιφάνειες και επιστρώσεις σε κτίρια και υποδομές χρησιμοποιούν το ηλιακό φως για την οξείδωση των οξειδίων του αζώτου (NO_x) και των πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs), συμβάλλοντας στη βελτίωση της ποιότητας του αέρα στις αστικές περιοχές. Από τη σκοπιά του μηχανικού, η σχεδίαση ηλιακών αντιδραστήρων, όπως οι αντιδραστήρες παραβολικής εστίασης (CPCs), αποτελεί το κλειδί για τη μεταφορά της τεχνολογίας από το εργαστήριο στην πραγματική κλίμακα. Οι αντιδραστήρες αυτοί είναι σχεδιασμένοι να συλλέγουν τόσο την άμεση όσο και τη διάχυτη ηλιακή ακτινοβολία, εξασφαλίζοντας υψηλή φωτονική ροή στην επιφάνεια του καταλύτη^{12,30}.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ

2.1 Γενικές αρχές απολύμανσης

2.1.1 Ορισμός και Κριτήρια Επιλογής Απολυμαντικών Μέσων

Η απολύμανση των υδάτων αποτελεί τη στοχευμένη διεργασία αδρανοποίησης ή καταστροφής των παθογόνων μικροοργανισμών, με σκοπό τη διασφάλιση της δημόσιας υγείας και την πρόληψη της διασποράς υδατογενών νοσημάτων. Διαφέρει ουσιαστικά από την αποστείρωση, η οποία συνεπάγεται την ολική εξάλειψη κάθε μορφής ζωής, καθώς στοχεύει στην επιλεκτική μείωση του μικροβιακού φορτίου σε επίπεδα που θεωρούνται

ασφαλή για τον άνθρωπο και το περιβάλλον . Για τον σχεδιασμό μιας αποτελεσματικής διεργασίας, το επιλεγμένο μέσο (χημικό, φυσικό ή μηχανικό) πρέπει να πληροί συγκεκριμένα τεχνικά κριτήρια: να επιδεικνύει υψηλή τοξικότητα έναντι ευρέος φάσματος παθογόνων σε χαμηλές συγκεντρώσεις, να είναι σταθερό κατά την αποθήκευση, ασφαλές κατά τη χρήση και να επιδέχεται ταχύ και ακριβή προσδιορισμό της συγκέντρωσής του σε πραγματικό χρόνο ^{3,5,15}.

2.1.2 Κινητική της Αδρανοποίησης και Μοντελοποίηση

Η θεωρητική προσέγγιση της απολύμανσης βασίζεται στη μελέτη της κινητικής αδρανοποίησης, η οποία περιγράφει τον ρυθμό μείωσης των βιώσιμων κυττάρων συναρτήσει του χρόνου έκθεσης ³. Η θεμελιώδης μαθηματική έκφραση περιγράφεται από τον νόμο του Chick, ο οποίος υποθέτει ότι η ταχύτητα θανάτωσης είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών:

$$\frac{dN}{dt} = -k'N$$

Όπου N είναι ο αριθμός των βιώσιμων μικροοργανισμών τη χρονική στιγμή t και k η σταθερά ταχύτητας αδρανοποίησης. Η εξίσωση αυτή τροποποιήθηκε από τον Watson για να ενσωματώσει την επίδραση της συγκέντρωσης του απολυμαντικού (C), οδηγώντας στο ολοκληρωμένο μοντέλο Chick-Watson:

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -k' C^n t$$

Όπου n είναι ο συντελεστής αποτελεσματικότητας και k' η ειδική σταθερά αδρανοποίησης. Η παράμετρος CT (συγκέντρωση επί χρόνο επαφής) αποτελεί τη βασική σχεδιαστική παράμετρο για τη διαστασιολόγηση των συστημάτων, καθώς επιτρέπει τον υπολογισμό της απαιτούμενης δόσης για την επίτευξη συγκεκριμένης λογαριθμικής μείωσης (π.χ. 2-log ή 4-log μείωση) ³. Ωστόσο, η κινητική αυτή συχνά αποκλίνει από την ιδανική γραμμική συμπεριφορά σε πραγματικές συνθήκες, εμφανίζοντας φαινόμενα αρχικής υστέρησης (shoulder) ή τελικής επιβράδυνσης (tailing) λόγω ανομοιομορφίας του πληθυσμού ή προστασίας των κυττάρων από αιωρούμενα σωματίδια, καθιστώντας αναγκαία τη χρήση πιο εξελιγμένων, μη γραμμικών μοντέλων, όπως το μοντέλο του Hom ^{27,31,32}.

2.1.3 Πρωτογενής και Δευτερογενής Απολύμανση

Στη σύγχρονη τεχνολογία επεξεργασίας υδάτων, η απολύμανση διακρίνεται σε πρωτογενή και δευτερογενή. Η πρωτογενής απολύμανση στοχεύει στην επίτευξη της απαιτούμενης αδρανοποίησης των παθογόνων εντός της μονάδας επεξεργασίας, ενώ η δευτερογενής απολύμανση αποσκοπεί στη διατήρηση μιας ελάχιστης υπολειμματικής συγκέντρωσης απολυμαντικού μέσου στο δίκτυο διανομής για την αποτροπή της επαναμόλυνσης και του σχηματισμού βιοϋμενίων ³. Ενώ οι συμβατικές μέθοδοι, όπως η χλωρίωση, παραμένουν κυρίαρχες λόγω της υπολειμματικής τους δράσης, η αδυναμία τους να αντιμετωπίσουν ανθεκτικά στελέχη και γονίδια ανθεκτικότητας, σε συνδυασμό με τον σχηματισμό τοξικών παραπροϊόντων απολύμανσης, καθιστούν αναγκαία την ανάπτυξη εναλλακτικών τεχνολογιών, όπως οι Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες τεχνολογίες (ΠΟΔ) ^{4,28}.

2.2 Μηχανισμοί δράσης

Η αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών μέσω οξειδωτικών διεργασιών αποτελεί μια σύνθετη και πολυεπίπεδη διαδικασία, η οποία εξελίσσεται ως μια διαδοχική σειρά βιοχημικών αλλοιώσεων. Η επιστημονική προσέγγιση των μηχανισμών αυτών επιβάλλει την ανάλυση της αλληλεπίδρασης των Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (ROS) με τις κυτταρικές δομές, ξεκινώντας από την εξωτερική επιφάνεια και καταλήγοντας στον πυρήνα της βιολογικής πληροφορίας. Η ταχύτητα και το βάθος της οξειδωτικής προσβολής καθορίζονται από τη χημική δραστηριότητα των παραγόμενων ειδών, όπως οι ρίζες υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$), το ανιόν υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), σε συνάρτηση με τη δομική πολυπλοκότητα του μικροοργανισμού-στόχου. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν τη σταδιακή φθορά των εξωτερικών προστατευτικών στρωμάτων, την αλλοίωση της ημιπερατότητας των μεμβρανών, την πήξη των πρωτεϊνών του πρωτοπλάσματος και την αδρανοποίηση των ζωτικών ενζυμικών συστημάτων του κυττάρου ^{3,18,27}.

Το πρώτο και κρίσιμότερο στάδιο της αδρανοποίησης αφορά την οξειδωτική προσβολή του κυτταρικού περιβλήματος, η οποία μπορεί να οδηγήσει στην άμεση διάλυση (λύση) και τον θάνατο του μικροοργανισμού ³. Στα Gram-αρνητικά βακτήρια, όπως το *Escherichia coli* και η *Klebsiella pneumoniae*, η εξωτερική μεμβράνη αποτελεί τον

πρωταρχικό στόχο. Η μεμβράνη αυτή, πλούσια σε λιποπολυσακχαρίτες και ακόρεστα λιπαρά οξέα, υφίσταται μια αλυσιδωτή αντίδραση γνωστή ως υπεροξειδωση των λιπιδίων. Οι ρίζες υδροξυλίου επιτίθενται στους διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα των λιπαρών οξέων, αφαιρώντας άτομα υδρογόνου και σχηματίζοντας ρίζες λιπιδίων, οι οποίες στη συνέχεια αντιδρούν με το διαλυμένο οξυγόνο. Η διεργασία αυτή οδηγεί στον σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων, τα οποία αποσταθεροποιούν τη δομή της διπλοστοιβάδας, προκαλώντας τοπικές ρήξεις και δραστική μείωση της μηχανικής αντοχής του τοιχώματος^{17,18,33}.

Αντιθέτως, στα Gram-θετικά βακτήρια, με κυριότερο εκπρόσωπο τον *Enterococcus faecalis*, ο μηχανισμός προσβολής διαφοροποιείται λόγω της απουσίας εξωτερικής μεμβράνης και της παρουσίας του εξαιρετικά παχέος στρώματος πεπτιδογλυκάνης (έως 80 nm). Το στρώμα αυτό λειτουργεί ως ισχυρός μηχανικός φραγμός και ταυτόχρονα ως χημικός «καταλύτης» που μπορεί να καταναλώσει μέρος των ROS προτού αυτά φτάσουν στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η αδρανοποίηση των Gram-θετικών στελεχών απαιτεί τη σταδιακή αποδόμηση του πολυμερούς πλέγματος της πεπτιδογλυκάνης μέσω της οξειδωσης των σταυροειδών δεσμών αμινοξέων και σακχάρων. Αυτή η δομική διαφορά εξηγεί γιατί οι εντερόκοκκοι παρουσιάζουν συστηματικά χαμηλότερες κινητικές σταθερές αδρανοποίησης (k) σε σύγκριση με τα Gram-αρνητικά βακτήρια υπό τις ίδιες συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης^{9,24}.

Η σταδιακή φθορά του τοιχώματος οδηγεί αναπόφευκτα στη μεταβολή της διαπερατότητας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, η οποία αποτελεί το «σημείο χωρίς επιστροφή» για την επιβίωση του κυττάρου. Η μεμβράνη αυτή είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση της ηλεκτροχημικής βαθμίδας και τη ρύθμιση της ωσμωτικής πίεσης. Η οξειδωτική καταστροφή των πρωτεϊνών μεταφοράς (porins) και η αποδόμηση των φωσφολιπιδίων προκαλούν ανεξέλεγκτη διαφυγή ζωτικών ενδοκυτταρικών θρεπτικών συστατικών, όπως είναι το άζωτο και ο φώσφορος. Ο αναλυτικός προσδιορισμός της διαρροής ιόντων καλίου (K^+) αποτελεί τον πλέον αξιόπιστο δείκτη για την απώλεια της μεμβρανικής ακεραιότητας. Η απώλεια των ιόντων αυτών οδηγεί στην κατάρρευση της πρωτονικής κινητήριας δύναμης (proton motive force), καθιστώντας τον μικροοργανισμό μεταβολικά ανενεργό, ενώ μεγαλύτερα μόρια, όπως νουκλεοτίδια, ένζυμα και RNA,

διαφεύγουν προς την υδατική μήτρα, σηματοδοτώντας την πλήρη δομική κατάρρευση^{16,18,27}.

Μόλις ο μεμβρανικός φραγμός υποστεί σημαντική φθορά, τα ROS αποκτούν πρόσβαση στο εσωτερικό του κυττάρου (κυτταρόπλασμα). Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), λόγω της μεγαλύτερης χημικής του σταθερότητας και της ικανότητας να διαπερνά τις μεμβράνες, παίζει καθοριστικό ρόλο σε αυτό το στάδιο. Στο εσωτερικό του κυττάρου, το H_2O_2 αντιδρά με ιόντα μεταβατικών μετάλλων (κυρίως Fe^{2+}) μέσω της αντίδρασης Fenton, παράγοντας ενδοκυτταρικές ρίζες υδροξυλίου σε άμεση γειτνίαση με το DNA και τις πρωτεΐνες. Η οξείδωση των πρωτεϊνών περιλαμβάνει την προσβολή των αμινοξέων (όπως η κυστεΐνη και η τρυπτοφάνη), οδηγώντας σε απενεργοποίηση των μεταβολικών ενζύμων και των πρωτεϊνών της αναπνευστικής αλυσίδας. Αυτή η μεταβολή της χημικής σύστασης των ενζύμων παρεμποδίζει τη μεταβολική δραστηριότητα και την ικανότητα των κυττάρων να συνθέσουν νέα υλικά³. Ιδιαίτερα κρίσιμη είναι η οξείδωση των ενζύμων επιδιόρθωσης του DNA, η οποία στερεί από το κύτταρο τη δυνατότητα ανάκαμψης^{18,22,24}. Η τελική και πιο καθοριστική φάση της αδρανοποίησης είναι η καταστροφή του γενετικού υλικού (DNA και RNA). Σε αντίθεση με την παραδοσιακή απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία UVC, η οποία προκαλεί κυρίως τον σχηματισμό διμερών πυριμιδίνης (βλάβη που μπορεί να αναιρεθεί μέσω της φωτοεπιδιόρθωσης), η οξειδωτική δράση των ΠΟΔ προκαλεί μη αναστρέψιμες βλάβες. Οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν θραύση του σακχαροφωσφορικού σκελετού του DNA, οδηγώντας σε μονόκλωνες και δίκλωνες θραύσεις. Επιπλέον, συμβαίνει οξείδωση των αζωτούχων βάσεων, με κυριότερο προϊόν την 8-υδροξυ-δεοξυγουανωσίνη (8-OHdG), η οποία προκαλεί μεταλλάξεις και παρεμποδίζει την αντιγραφή. Η αποδόμηση του RNA είναι εξίσου σημαντική, καθώς διακόπτει την πρωτεϊνοσύνθεση, οδηγώντας στον άμεσο θάνατο του μικροοργανισμού. Αναλυτικές μελέτες με χρήση qPCR έχουν επιβεβαιώσει ότι η φωτοκαταλυτική οξείδωση μπορεί να καταστρέψει ακόμη και τα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (ARGs), εξαλείφοντας τον κίνδυνο οριζόντιας μεταφοράς γενετικής πληροφορίας στο περιβάλλον^{22,24,27}.

2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την απολύμανση

Η αποτελεσματικότητα των διεργασιών απολύμανσης, είτε πρόκειται για συμβατικές χημικές μεθόδους είτε για Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ), δεν αποτελεί μια

σταθερή ιδιότητα του συστήματος, αλλά συναρτάται άμεσα από τις φυσικοχημικές παραμέτρους της υδατικής μήτρας. Οι παράγοντες αυτοί επηρεάζουν τη χημική κινητική των οξειδωτικών μέσων, τη φυσιολογική κατάσταση των μικροοργανισμών και τη δραστικότητα των φωτοκαταλυτικών υλικών^{1,27}.

2.3.1 Επίδραση του pH

Η τιμή του pH αποτελεί έναν από τους πλέον καθοριστικούς παράγοντες στην απολύμανση, καθώς επηρεάζει ταυτόχρονα τη χημική μορφή των απολυμαντικών, το επιφανειακό φορτίο των μικροοργανισμών και το σημείο μηδενικού φορτίου (pH_{pzc}) των φωτοκαταλυτικών ημιαγωγών. Στη χημική απολύμανση, το pH ρυθμίζει τη διάσταση των οξειδωτικών μέσων. Για παράδειγμα, στο σύστημα του ελεύθερου χλωρίου, η ισορροπία μετατοπίζεται προς το υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$) σε χαμηλές τιμές pH , ενώ σε αλκαλικό περιβάλλον κυριαρχεί το υποχλωριώδες ανιόν (OCl^-), το οποίο παρουσιάζει σημαντικά χαμηλότερη μικροβιοκτόνο δράση^{1,3}.

Στην ετερογενή φωτοκατάλυση, το pH καθορίζει τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του καταλύτη και των κυττάρων. Για το TiO_2 (P25), το pH_{pzc} εντοπίζεται στην περιοχή 6.2–6.5. Σε τιμές $pH < pH_{pzc}$, η επιφάνεια του καταλύτη φορτίζεται θετικά, ενώ σε $pH > pH_{pzc}$ φορτίζεται αρνητικά. Δεδομένου ότι τα περισσότερα βακτηριακά κύτταρα φέρουν αρνητικό επιφανειακό φορτίο σε ουδέτερο pH λόγω των λειτουργικών ομάδων (καρβοξύλια, φωσφορικά) στο τοίχωμά τους, η φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση είναι πιο αποτελεσματική σε ελαφρώς όξινο περιβάλλον. Υπό αυτές τις συνθήκες, η ηλεκτροστατική έλξη προωθεί την προσρόφηση των μικροοργανισμών στην επιφάνεια του ημιαγωγού, ελαχιστοποιώντας την απόσταση διάχυσης των βραχύβιων ριζών $\cdot OH$ ^{26,34}.

2.3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας

Η θερμοκρασία επηρεάζει την απολύμανση κυρίως μέσω της μεταβολής της κινητικής των χημικών αντιδράσεων και της διαλυτότητας των αερίων. Σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius, η σταθερά ταχύτητας αδρανοποίησης (k) αυξάνεται με την άνοδο της θερμοκρασίας, καθώς αυξάνεται η κινητική ενέργεια των μορίων και η συχνότητα των αποτελεσματικών συγκρούσεων μεταξύ των οξειδωτικών μέσων και των κυτταρικών δομών⁵.

Στη φωτοκατάλυση, αν και η φωτονική διέγερση του ημιαγωγού είναι ανεξάρτητη από τη θερμική ενέργεια, η θερμοκρασία επηρεάζει δευτερογενείς διεργασίες, όπως την προσρόφηση των μικροοργανισμών, την εκρόφηση των προϊόντων οξείδωσης και τη διαλυτότητα του οξυγόνου (O_2). Σε υψηλές θερμοκρασίες, η μείωση της διαλυτότητας του O_2 (ο οποίος λειτουργεί ως δέκτης ηλεκτρονίων) μπορεί να αυξήσει τον ρυθμό επανασύνδεσης των φορέων φορτίου (e^-/h^+), μειώνοντας την κβαντική απόδοση παραγωγής των ROS^{12,35}.

Επίδραση της Θολερότητας

Η θολερότητα συνιστά μία από τις κρισιμότερες παραμέτρους, καθώς σκεδάζει και απορροφά την ακτινοβολία, εμποδίζοντας τη διείσδυσή της στην υδατική μήτρα³. Παρεμβαίνει στις διεργασίες απολύμανσης μέσω δύο κύριων μηχανισμών:

Εξασθένιση της φωτονικής ροής: Η παρουσία αιωρούμενων σωματιδίων (όπως άργιλοι και κολλοειδή) μειώνει εκθετικά την ένταση της ακτινοβολίας με το βάθος (νόμος Beer-Lambert). Αυτό περιορίζει δραστικά τον ρυθμό παραγωγής των ελεύθερων ριζών $\cdot OH$ στις φωτοεπαγόμενες διεργασίες, καθιστώντας αναγκαία την αύξηση της φωτονικής δόσης^{12,36}.

Βιολογική θωράκιση (Shielding): Οι μικροοργανισμοί συχνά προσροφώνται σε αιωρούμενα στερεά ή εγκλωβίζονται σε συσσωματώματα. Η δομή αυτή τους παρέχει φυσικό καταφύγιο από την ακτινοβολία και τα οξειδωτικά μέσα. Το φαινόμενο αυτό προκαλεί αποκλίσεις από τη γραμμική κινητική Chick-Watson, οδηγώντας στην εμφάνιση του φαινομένου της επιβράδυνσης, όπου η σταθερά k μειώνεται σημαντικά για το προστατευμένο κλάσμα του πληθυσμού^{1,37}.

Για τον σχεδιασμό των συστημάτων επεξεργασίας, η διατήρηση της θολερότητας σε επίπεδα κάτω του 1 NTU αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση, καθώς υψηλότερες τιμές καθιστούν την απολύμανση μη προβλέψιμη^{36,38}.

Επίδραση της Οργανικής Ύλης

Η παρουσία της φυσικής οργανικής ύλης, η οποία αποτελείται κυρίως από χουμικά και φουλβικά οξέα, καταναλώνει άμεσα τα απολυμαντικά μέσα, αυξάνοντας την απαίτησή

τους στο σύστημα³. Η NOM παρεμβαίνει στη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση μέσω τριών ανταγωνιστικών μηχανισμών:

Παγίδευση ριζών: Λόγω της μη εκλεκτικής φύσης των ριζών $\cdot\text{OH}$, η NOM αντιδρά κατά προτεραιότητα με αυτές, μειώνοντας δραστικά τη διαθέσιμη συγκέντρωσή τους για τη μικροβιακή οξείδωση^{6,28}.

Ανταγωνιστική προσρόφηση: Τα μακρομόρια της NOM καλύπτουν τις ενεργές θέσεις του TiO_2 , εμποδίζοντας τη φυσική επαφή των μικροοργανισμών με την επιφάνεια του ημιαγωγού³⁹.

Φαινόμενο εσωτερικού φίλτρου: Η NOM απορροφά μέρος της προσπίπτουσας υπεριώδους ακτινοβολίας που προορίζεται για τη διέγερση του καταλύτη, μειώνοντας την κβαντική απόδοση της διεργασίας⁴⁰

Επιπλέον, η αντίδραση της NOM με συμβατικά χημικά οξειδωτικά (π.χ. χλώριο) οδηγεί στον σχηματισμό τοξικών παραπροϊόντων απολύμανσης, όπως τα τριαλομεθάνια, καθιστώντας την προκατεργασία του νερού επιβεβλημένη σε περιπτώσεις υψηλού οργανικού φορτίου^{3,12,41}.

2.4 Συμβατικές Μέθοδοι

Η απολύμανση των υδάτων συνιστά το κρίσιμότερο στάδιο στην αλυσίδα επεξεργασίας νερού, λειτουργώντας ως η τελική δικλείδα ασφαλείας για την προστασία της δημόσιας υγείας από υδατογενή νοσήματα. Οι συμβατικές μέθοδοι, οι οποίες αναπτύχθηκαν και τυποποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του 20ού αιώνα, βασίζονται στη χρήση χημικών οξειδωτικών μέσων ή φυσικών παραγόντων για την επιλεκτική αδρανοποίηση των παθογόνων³

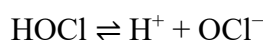
Οι διεργασίες αυτές κατηγοριοποιούνται σε χημικές (χλωρίωση, οζόνωση) και φυσικές (υπεριώδης ακτινοβολία - UV). Κάθε προσέγγιση διέπεται από συγκεκριμένες αρχές χημικής κινητικής και μηχανισμούς δράσης, στοχεύοντας είτε στη διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης και την οξείδωση ενζυμικών συστημάτων, είτε στη φωτοχημική αλλοίωση του γενετικού υλικού (DNA/RNA). Παρά την αποτελεσματικότητά τους, οι συμβατικές μέθοδοι παρουσιάζουν περιορισμούς, όπως ο σχηματισμός τοξικών παραπροϊόντων απολύμανσης και η πλημμελής αδρανοποίηση ανθεκτικών παθογόνων ή γονιδίων ανθεκτικότητας^{1,5,15,42}.

2.4.1 Χλωρίωση

Η χλωρίωση αποτελεί την πλέον διαδεδομένη μέθοδο απολύμανσης παγκοσμίως, εξασφαλίζοντας την εξάλειψη των κλασικών υδατογενών επιδημιών. Η αποτελεσματικότητά της βασίζεται στην προσθήκη αερίου χλωρίου (Cl_2) ή υποχλωριωδών αλάτων (NaOCl ή Ca(OCl)_2), τα οποία υδρολύονται ακαριαία στο νερό παράγοντας υποχλωριώδες οξύ (HOCl):



Το HOCl διίσταται μερικώς προς υποχλωριώδες ανιόν (OCl^-), ανάλογα με το pH και τη θερμοκρασία του συστήματος (σε τυπικές συνθήκες 25 °C, $\text{pK}_a \approx 7.5$):



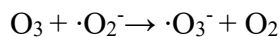
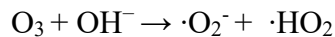
Από αναλυτική σκοπιά, η επικράτηση του ηλεκτρικά ουδέτερου HOCl σε $\text{pH} < 7.5$ είναι καθοριστική, καθώς διαπερνά την αρνητικά φορτισμένη κυτταρική μεμβράνη των βακτηρίων έως και 80 φορές πιο αποτελεσματικά από το φορτισμένο OCl^- . Κατά την εφαρμογή, το χλώριο καταναλώνεται αρχικά για την οξείδωση ανόργανων ενώσεων (σιδήρου, μαγγανίου) και την αντίδραση με την αμμωνία προς σχηματισμό χλωραμινών (συνδυασμένο χλώριο). Η δόση πέραν του «κρίσιμου σημείου» εξασφαλίζει την παρουσία ελεύθερου διαθέσιμου χλωρίου, το οποίο προσφέρει τη μέγιστη απολυμαντική ισχύ και την απαραίτητη υπολειμματική προστασία στο δίκτυο διανομής^{1,3,43,44}.

Ωστόσο, η αντίδραση του ελεύθερου χλωρίου με τη φυσική οργανική ύλη, όπως τα χουμικά οξέα, οδηγεί στον σχηματισμό καρκινογόνων τριαλομεθανίων (THMs) και αλογονοοξικών οξέων (HAAs). Για τον λόγο αυτό, οι σύγχρονες μονάδες επεξεργασίας στοχεύουν στην απομάκρυνση των πρόδρομων οργανικών ενώσεων πριν από τη χλωρίωση ή χρησιμοποιούν εναλλακτικά μέσα για την πρωτογενή απολύμανση, περιορίζοντας το χλώριο αποκλειστικά για τη διατήρηση υπολειμματικής δράσης στο δίκτυο^{41,44}.

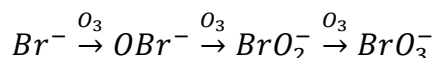
2.4.2 Οζόνωση

Η οζόνωση αποτελεί μια εξαιρετικά ισχυρή μέθοδο απολύμανσης και οξείδωσης. Λόγω του υψηλού οξειδοαναγωγικού δυναμικού του ($E_0 = 2.07 \text{ V}$), το όζον (O_3) προκαλεί άμεση λύση των κυττάρων μέσω της οξείδωσης των λιπιδίων της μεμβράνης και της απενεργοποίησης των ενζύμων, εμφανίζοντας εξαιρετική αποτελεσματικότητα έναντι ιών και ανθεκτικών πρωτοζώων, όπως το *Cryptosporidium parvum*^{35,42,45}. Η χημική δράση του

εξελίσσεται μέσω δύο οδών: της άμεσης οξείδωσης από μοριακό O₃ και της έμμεσης οξείδωσης μέσω των εξαιρετικά δραστικών ριζών υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) που προκύπτουν από την αποσύνθεσή του, η οποία επιταχύνεται σε αλκαλικό περιβάλλον ³ :



Παρά την απουσία σχηματισμού THMs, η οζόνωση σε ύδατα με υψηλή συγκέντρωση βρωμιούχων ιόντων (Br⁻) οδηγεί στον σχηματισμό των δυνητικά καρκινογόνων βρωμικών ιόντων (BrO₃⁻) μέσω της οξειδωτικής πορείας:



Στον σχεδιασμό των Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Νερού, η οζόνωση ενσωματώνεται συνήθως σε πολυσταδιακά συστήματα, όπως ο συνδυασμός της με Βιολογικά Ενεργό Άνθρακα (O₃-BAC), ο οποίος διασπά τα μακρομόρια φυσικής οργανικής ύλης σε βιοαποδομήσιμα κλάσματα και τα απομακρύνει. Λόγω του υψηλού κόστους και της έλλειψης υπολειμματικής δράσης, η οζόνωση ακολουθείται πάντα από δευτερογενή χλωρίωση ^{5,41,42,46}.

2.4.3 Υπεριώδης Ακτινοβολία (UV)

Η απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία (UV) αποτελεί μια φυσική μέθοδο που δεν αλλοιώνει τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού και δεν παράγει DBPs. Η μικροβιοκτόνος δράση εντοπίζεται στην περιοχή UVC (250–270 nm), όπου τα νουκλεϊκά οξέα (DNA/RNA) παρουσιάζουν τη μέγιστη απορρόφηση ³. Τα φωτόνια UVC απορροφώνται από τις βάσεις πυριμιδίνης, προκαλώντας τον σχηματισμό διμερών πυριμιδίνης (CPDs), τα οποία παραμορφώνουν τη διπλή έλικα και εμποδίζουν την αντιγραφή, καθιστώντας τον μικροοργανισμό ανίκανο να πολλαπλασιαστεί ^{47,48}.

Η αποτελεσματικότητα της UV περιγράφεται από τη δόση ακτινοβολίας, γνωστή ως *Fluence* (F), η οποία εκφράζεται σε mJ/cm^2 . Η δόση είναι το γινόμενο της έντασης της ακτινοβολίας (I) και του χρόνου έκθεσης (t):

$$F = I \cdot t$$

Η παρουσία θολερότητας και φυσικής οργανικής ύλης μειώνει δραστικά τη φωτονική ροή που φτάνει στα κύτταρα. Οι βιομηχανικές διατάξεις χρησιμοποιούν λαμπτήρες χαμηλής πίεσης (LP - μονοχρωματική εκπομπή στα 253.7 nm) ή μέσης πίεσης (MP - ευρύ φάσμα εκπομπής). Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι το φαινόμενο της φωτοεπιδιόρθωσης (photoreactivation), κατά το οποίο ένζυμα όπως η φωτολυάση (π.χ. στο *E. coli*) επιδιορθώνουν τις βλάβες υπό την επίδραση του ορατού φωτός. Για τον λόγο αυτό, η UV συνδυάζεται συχνά με δευτερογενή χλωρίωση ή εντάσσεται σε συστήματα UV-AOPs με προσθήκη H_2O_2 ^{4,38,47,49}.

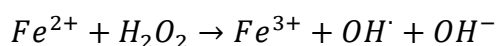
2.5 Προχωρημένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ)

Οι Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ) αποτελούν ένα σύνολο τεχνολογιών επεξεργασίας νερού και λυμάτων που βασίζονται στην επιτόπια (*in-situ*) παραγωγή εξαιρετικά δραστικών και βραχύβιων οξειδωτικών ειδών, με κύριο εκπρόσωπο τη ρίζα υδροξυλίου ($\cdot OH$). Ο όρος καθιερώθηκε από τους Glaze et al. (1987)⁵⁰, οι οποίοι όρισαν τις ΠΟΔ ως διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε θερμοκρασία και πίεση περιβάλλοντος και περιλαμβάνουν τη δημιουργία δραστικών ριζών σε επαρκή συγκέντρωση ώστε να επιτυγχάνεται η οξείδωση οργανικών και βιολογικών ρύπων. Από πλευράς τεχνολογικής εφαρμογής, οι ΠΟΔ αντιπροσωπεύουν μια σημαντική τομή, καθώς επιτρέπουν την πλήρη αποδόμηση και ανοργανοποίηση ρύπων που είναι ανθεκτικοί στις συμβατικές βιολογικές ή φυσικοχημικές μεθόδους επεξεργασίας ^{50,51}.

Η επιστημονική βάση των ΠΟΔ στηρίζεται στο εξαιρετικά υψηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό της ρίζας υδροξυλίου ($E_0=2.80\text{ V vs NHE}$), το οποίο υπολείπεται μόνο του στοιχειακού φθορίου. Η δραστικότητα των ριζών $\cdot OH$ χαρακτηρίζεται από εξαιρετικά υψηλές σταθερές ταχύτητας αντίδρασης (k), οι οποίες κυμαίνονται τυπικά μεταξύ 10^8 και $10^{10}\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$. Λόγω της υψηλής και μη εκλεκτικής δραστικότητάς τους, οι ρίζες επιτίθενται σχεδόν σε κάθε οργανικό μόριο, προκαλώντας την απόσπαση ατόμων υδρογόνου ή την προσθήκη σε διπλούς δεσμούς, οδηγώντας τελικά στον σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα, νερού και ανόργανων αλάτων. Η αναλυτική παρακολούθηση αυτών των αντιδράσεων επιβεβαιώνει ότι οι ΠΟΔ μπορούν να εξαλείψουν ρύπους όπως τα παραπροϊόντα απολύμανσης, τα φάρμακα και τα γονίδια ανθεκτικότητας ^{52,53}.

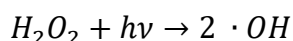
Οι Προχωρημένες Οξειδωτικές Διεργασίες ταξινομούνται σε δύο κύριες κατηγορίες, ανάλογα με τον μηχανισμό παραγωγής των ριζών: τις μη φωτοχημικές και τις φωτοχημικές μεθόδους.

Στις μη φωτοχημικές μεθόδους, η παραγωγή των ριζών βασίζεται αποκλειστικά σε χημικές αντιδράσεις. Η πλέον διαδεδομένη είναι η οζόνωση σε υψηλό pH . Σε αλκαλικές συνθήκες, το όζον (O_3) αποσυντίθεται μέσω μιας αλυσιδωτής αντίδρασης που ξεκινά από τα ιόντα υδροξυλίου (OH^-), παράγοντας ρίζες $\cdot OH$. Μια άλλη κλασική μέθοδος είναι η αντίδραση Fenton, η οποία χρησιμοποιεί ιόντα σιδήρου (Fe^{2+}) ως καταλύτη για την αποσύνθεση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε όξινο περιβάλλον ($pH \approx 3$):



Η μέθοδος Fenton είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική για λύματα με υψηλό οργανικό φορτίο, αν και ο περιορισμός του pH και η ανάγκη απομάκρυνσης της παραγόμενης λάσπης σιδήρου αποτελούν σημαντικές μηχανικές προκλήσεις κατά τη λειτουργία των μονάδων επεξεργασίας^{3,42,54}.

Στις φωτοχημικές μεθόδους, η παραγωγή των ROS ενισχύεται από την απορρόφηση φωτονίων. Τα συστήματα UV/H_2O_2 βασίζονται στην ομολυτική διάσπαση του δεσμού $O-O$ του υπεροξειδίου του υδρογόνου από την ακτινοβολία UVC (254 nm):



Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί λόγω της απουσίας σχηματισμού λάσπης και της υψηλής απόδοσης παραγωγής ριζών, ωστόσο απαιτεί υψηλές δόσεις UV λόγω του χαμηλού συντελεστή μοριακής απορρόφησης του H_2O_2 . Αντίστοιχα, η μέθοδος Φωτο-Fenton (*Photo-Fenton*) αξιοποιεί την ακτινοβολία (UV ή ορατό φως) για την αναγωγή του Fe^{3+} πίσω σε Fe^{2+} , επιτρέποντας τη συνέχιση του καταλυτικού κύκλου και αυξάνοντας δραματικά τον ρυθμό παραγωγής οξειδωτικών μέσων χωρίς την ανάγκη προσθήκης υπερβολικών ποσοτήτων χημικών αντιδραστηρίων^{3,12,55}.

Ένα κρίσιμο πλεονέκτημα των ΠΟΔ, το οποίο τις διαφοροποιεί από τις συμβατικές μεθόδους, είναι ο μηχανισμός αδρανοποίησης των μικροοργανισμών. Ενώ η χλωρίωση ή η απλή ακτινοβολία UV στοχεύουν συχνά σε συγκεκριμένα οργανίδια ή στο DNA, οι ΠΟΔ προκαλούν μια γενικευμένη οξειδωτική επίθεση. Οι ρίζες $\cdot OH$ επιτίθενται ταυτόχρονα στα φωσφολιπίδια της μεμβράνης, τις πρωτεΐνες του κυτταρικού τοιχώματος και στο γενετικό υλικό. Η αναλυτική τεκμηρίωση έχει δείξει ότι η δράση των ΠΟΔ οδηγεί στην πλήρη

αποσύνθεση της κυτταρικής δομής, καθιστώντας αδύνατη τη φωτοεπιδιόρθωση. Αυτό είναι εξαιρετικά σημαντικό για την ασφάλεια του νερού στα δίκτυα διανομής, καθώς αποτρέπει την επαναύξηση των παθογόνων^{18,26}.

Από την οπτική του σχεδιασμού, η αποτελεσματικότητα των ΠΟΔ επηρεάζεται άμεσα από τη σύσταση της υδατικής μήτρας. Η παρουσία παρεμποδιστών, όπως τα διττανθρακικά (HCO_3^-) και τα ανθρακικά (CO_3^{2-}) ιόντα, καθώς και η φυσική οργανική ύλη, μειώνουν τη δραστική συγκέντρωση των ριζών $\cdot\text{OH}$, καθώς αντιδρούν μαζί τους με πολύ υψηλές ταχύτητες³. Για τον υπολογισμό της αποδοτικότητας, οι Μηχανικοί χρησιμοποιούν την παράμετρο της Ηλεκτρικής Ενέργειας ανά Τάξη Μεγέθους (Electrical Energy per Order - E_{EO}), η οποία ορίζεται ως η ηλεκτρική ενέργεια (kWh) που απαιτείται για τη μείωση της συγκέντρωσης του ρύπου κατά μία τάξη μεγέθους σε 1 m³ νερού. Η ελαχιστοποίηση του E_{EO} αποτελεί το κύριο ζητούμενο στη βελτιστοποίηση των αντιδραστήρων^{47,52}.

Η ετερογενής φωτοκατάλυση αποτελεί μια ειδική και εξαιρετικά υποσχόμενη κατηγορία ΠΟΔ. Βασίζεται στη χρήση ημιαγωγών, οι οποίοι όταν εκτίθενται σε ακτινοβολία με ενέργεια μεγαλύτερη από το ενεργειακό της χάσμα (*band gap*), δημιουργούν ζεύγη ηλεκτρονίων-οπών (e^-/h^+). Οι οπές στη ζώνη σθένους αντιδρούν με τα μόρια του νερού ή τα ιόντα OH^- για την παραγωγή ριζών $\cdot\text{OH}$ ενώ τα ηλεκτρονία στη ζώνη αγωγιμότητας ανάγουν το διαλυμένο οξυγόνο της ανιόντα υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$). Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί καθώς μπορεί να χρησιμοποιήσει την ηλιακή ενέργεια ως πηγή ακτινοβολίας, μειώνοντας δραστικά το λειτουργικό κόστος. Επιπλέον, η ανάπτυξη υλικών που παράγουν σταθερά οξειδωτικά μέσα της H_2O_2 ακόμη και μετά τη διακοπή του φωτισμού, προσφέρει λύσεις στο πρόβλημα της συνεχούς απολύμανσης^{12,24,39}.

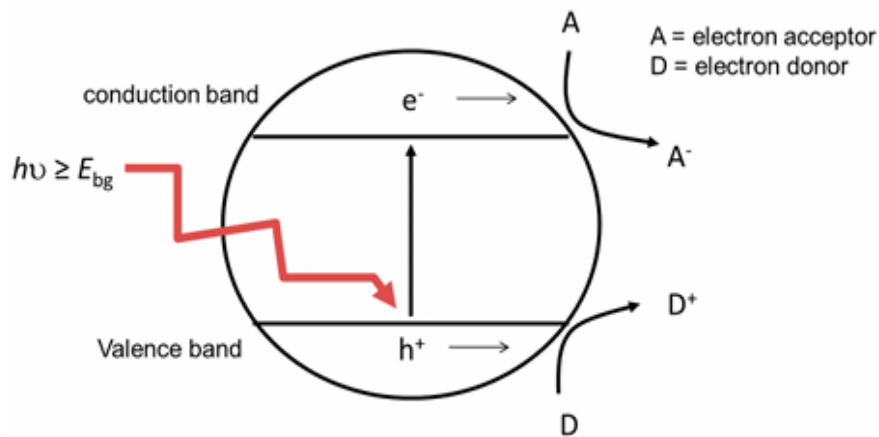
3. ΕΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΦΩΤΟΚΑΤΑΛΥΣΗ

3.1 Θεμελιώδεις Αρχές και Ηλεκτρονιακή Θεωρία Ημιαγωγών

Η ετερογενής φωτοκατάλυση αποτελεί μια πολυδιάστατη διεργασία που εντάσσεται στις Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ). Βασίζεται στην αλληλεπίδραση φωτονικής ακτινοβολίας και στερεών ημιαγωγών για την πρόκληση οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων στη διεπιφάνεια στερεού-υγρού. Σε χημικό επίπεδο, ορίζεται ως η επιτάχυνση μιας φωτοαντίδρασης παρουσία ενός καταλύτη, ο οποίος απορροφά φωτόνια

χωρίς ο ίδιος να υφίσταται μόνιμη χημική μεταβολή. Η θεμελιώδης διαφορά της από την ομογενή φωτοκατάλυση έγκειται στο γεγονός ότι ο ημιαγωγός βρίσκεται σε διαφορετική φάση (στερεή) από τα αντιδρώντα (υγρή φάση), καθιστώντας τη διεπιφάνεια το κέντρο όλων των φυσικοχημικών φαινομένων ²⁹.

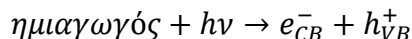
Η ικανότητα ενός υλικού να δρα ως φωτοκαταλύτης καθορίζεται από την ηλεκτρονιακή του δομή, η οποία περιγράφεται μέσω της θεωρίας των ενεργειακών ζωνών ³. Σε αντίθεση με τα μέταλλα, όπου οι ενεργειακές καταστάσεις είναι συνεχείς, οι ημιαγωγοί διαθέτουν ένα ενεργειακό κενό, γνωστό ως ενεργειακό χάσμα ή bandgap (E_g). Το χάσμα αυτό χωρίζει τη χαμηλότερη σε ενέργεια ζώνη σθένους (Valence Band – VB), η οποία είναι πλήρως κατειλημμένη από ηλεκτρόνια, από την υψηλότερη σε ενέργεια ζώνη αγωγιμότητας (Conduction Band – CB), η οποία υπό συνθήκες ηρεμίας παραμένει κενή. Το μέγεθος του E_g αποτελεί την κρίσιμότερη παράμετρο σχεδιασμού, καθώς καθορίζει το ενεργειακό κατώφλι για τη διέγερση του υλικού. Για το διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2), η τιμή του E_g κυμαίνεται από 3.0 eV (για τον ρουτίλιο) έως 3.2 eV (για την ανατάση), γεγονός που περιορίζει τη δραστηρότητά του κυρίως στο υπεριώδες (UV) τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος^{24,29,56,57}.



Εικόνα 1 Βασικός μηχανισμός της ετερογενούς φωτοκατάλυσης (Πηγή: Byrne et al., 2015)

Ο φωτοκαταλυτικός κύκλος εκκινεί με την απορρόφηση της φωτονίου ($h\nu$), η ενέργεια του οποίου πρέπει να ικανοποιεί τη συνθήκη $h\nu \geq E_g$. Η απορρόφηση αυτή προκαλεί τη

μετάπτωση της ηλεκτρονίου (e^-) από τη VB στη CB, αφήνοντας πίσω μια θετικά φορτισμένη οπή (h^+) στη ζώνη σθένους. Η διεργασία αυτή περιγράφεται από τη σχέση:



Μετά τη δημιουργία του ζεύγους ηλεκτρονίου-οπής, λαμβάνουν χώρα τρεις ανταγωνιστικές διεργασίες που καθορίζουν την κβαντική απόδοση του συστήματος:

Επανασύνδεση: Οι φορείς φορτίου τείνουν να επανασυνδεθούν εντός του όγκου ή στην επιφάνεια του ημιαγωγού, απελευθερώνοντας ενέργεια υπό μορφή θερμότητας. Η επανασύνδεση συμβαίνει σε εξαιρετικά σύντομους χρόνους (10^{-9} έως 10^{-12} s), αποτελώντας την κύρια αιτία απώλειας απόδοσης.

Παγίδευση: Οι φορείς παγιδεύονται προσωρινά σε επιφανειακές ατέλειες ή κρυσταλλικές διαταραχές, γεγονός που αυξάνει τον χρόνο ζωής τους.

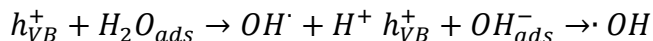
Επιφανειακή Μεταφορά Φορτίου: Οι φορείς μεταναστεύουν στην επιφάνεια του καταλύτη, όπου συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με προσροφημένα είδη^{58,59}.

Στη διεπιφάνεια ημιαγωγού-νερού, δημιουργείται μια περιοχή ανακατανομής φορτίου γνωστή ως στρώμα διαστημικού φορτίου, η οποία προκαλεί την κάμψη των ζωνών. Σε ημιαγωγούς τύπου n (όπως το TiO_2), οι ζώνες κάμπτονται προς τα πάνω, δημιουργώντας ένα εσωτερικό ηλεκτρικό πεδίο που δρα ως διαχωριστής φορτίου, οδηγώντας τις οπές προς την επιφάνεια (για οξείδωση) και τα ηλεκτρόνια προς τον όγκο του ημιαγωγού^{24,39}.

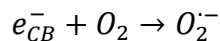
3.2 Παραγωγή και Δράση των Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (ROS)

Η οξειδωτική ισχύς της φωτοκατάλυσης πηγάζει από τη δημιουργία Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species – ROS) στη διεπιφάνεια του ημιαγωγού. Τα είδη αυτά προκύπτουν από τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις των φωτοπαραγόμενων φορέων φορτίου (e^-/h^+) με τα μόρια του νερού και το διαλυμένο οξυγόνο^{29,56}:

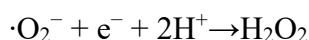
Ρίζες Υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$): Αποτελούν το κυριότερο οξειδωτικό μέσο με εξαιρετικά υψηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό ($E_0=+2.80$ V vs NHE). Παράγονται κυρίως μέσω της άμεσης οξείδωσης των προσροφημένων μορίων νερού ή των ιόντων υδροξυλίου (OH^-) από τις οπές της ζώνης σθένους:



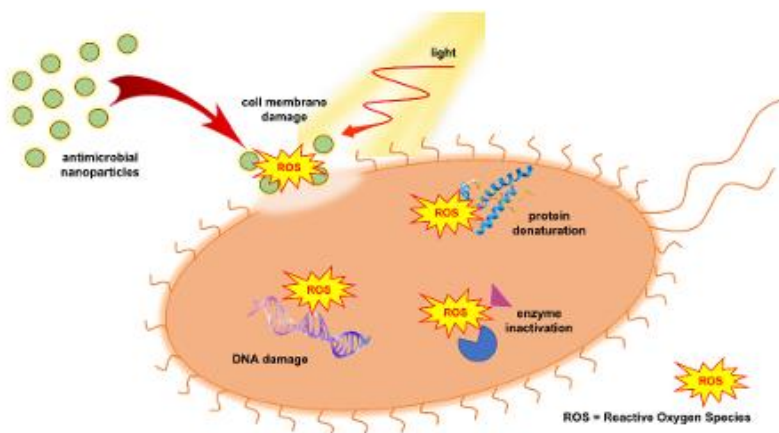
Ανιόν Υπεροξειδίου ($\cdot O_2^-$): Παράγεται μέσω της αναγωγής του διαλυμένου μοριακού οξυγόνου από τα ηλεκτρόνια της ζώνης αγωγιμότητας. Το οξυγόνο δρα ως παγιδευτής ηλεκτρονίων, αποτρέποντας την επανασύνδεση των φορέων:



Υπεροξείδιο του Υδρογόνου (H_2O_2): Παράγεται μέσω διαδοχικών αντιδράσεων αναγωγής και πρωτονίωσης των υπεροξειδικών ριζών:



Λόγω της εξαιρετικά υψηλής δραστηριότητάς της, η ρίζα $\cdot OH$ έχει χρόνο ζωής της τάξης των νανοδευτερολέπτων (ns) και πολύ μικρή ακτίνα διάχυσης, περιορίζοντας τη δράση της σε νανομετρική απόσταση από την επιφάνεια του καταλύτη. Αντίθετα, το H_2O_2 είναι χημικά σταθερότερο και μπορεί να διαχυθεί μακρύτερα από την επιφάνεια επαφής, διαπερνώντας τις κυτταρικές μεμβράνες των παθογόνων.



Εικόνα 2 Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης βακτηριακών κυττάρων με τη χρήση διοξειδίου του τιτανίου (TiO_2) (Lazić et al., 2025)

Η φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση των μικροοργανισμών είναι αποτέλεσμα μιας συνεργιστικής επίθεσης των ROS: οι ρίζες $\cdot OH$ επιτίθενται στην εξωτερική επιφάνεια προκαλώντας υπεροξείδωση των λιπιδίων και καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος, γεγονός που διευκολύνει τη διείσδυση του H_2O_2 στο εσωτερικό του κυττάρου. Εκεί, το H_2O_2 συμμετέχει στην αντίδραση Fenton με ενδοκυτταρικά ιόντα σιδήρου (Fe^{2+}),

παράγοντας ρίζες $\cdot\text{OH}$ *in situ* που επιτίθενται απευθείας στο DNA, το RNA και τα μεταβολικά ένζυμα, οδηγώντας σε μη αναστρέψιμο κυτταρικό θάνατο^{19,24,27,60}

3.3 Κινητική Μοντελοποίηση και Παράγοντες Βελτιστοποίησης

Η ποσοτική ανάλυση της φωτοκαταλυτικής διεργασίας στηρίζεται στο κινητικό μοντέλο Langmuir-Hinshelwood (L-H), το οποίο προϋποθέτει ότι η ταχύτητα της αντίδρασης (r) εξαρτάται από τον βαθμό κάλυψης της επιφάνειας του στερεού καταλύτη³. Η γενική μορφή της εξίσωσης είναι:

$$r = - \frac{dC}{dt} = \frac{k \cdot K \cdot C}{1 + K \cdot C + \sum K_i \cdot C_i}$$

Όπου C είναι η συγκέντρωση του μικροοργανισμού, k η σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης στην επιφάνεια, K η σταθερά ισορροπίας προσρόφησης, και K_i, C_i οι σταθερές και συγκεντρώσεις ανταγωνιστικών ενώσεων της υδατικής μήτρας. Σε συστήματα απολύμανσης υδάτων, όπου οι συγκεντρώσεις των παθογόνων είναι σχετικά χαμηλές, ο όρος $K \cdot C$ στον παρονομαστή είναι αμελητέος ($K \cdot C \ll 1$) και η εξίσωση απλοποιείται σε κινητική ψευδο-πρώτης τάξης:

$$r = k_{app} \cdot C$$

Όπου $k_{app} = k \cdot K$ είναι η φαινόμενη σταθερά ταχύτητας, η οποία επιτρέπει τον υπολογισμό του απαιτούμενου χρόνου παραμονής στον αντιδραστήρα^{6,27,61}.

Η βελτιστοποίηση της φωτοκαταλυτικής απόδοσης εξαρτάται από τις ακόλουθες παραμέτρους³:

Συγκέντρωση Φωτοκαταλύτη : Η αύξηση της δόσης του καταλύτη αυξάνει αρχικά τον ρυθμό παραγωγής των ROS λόγω αύξησης των ενεργών θέσεων. Πέραν όμως μιας βέλτιστης συγκέντρωσης (συνήθως 0.1–0.5 g/L), η απόδοση μειώνεται λόγω του φαινομένου της «σκίασης» και της αυξημένης σκέδασης του φωτός από τα αιωρούμενα σωματίδια^{6,12}.

Ένταση Ακτινοβολίας: Σε χαμηλές εντάσεις, ο ρυθμός είναι ανάλογος της έντασης ($r \propto I^{1.0}$), ενώ σε υψηλές εντάσεις γίνεται ανάλογος της τετραγωνικής ρίζας ($r \propto I^{0.5}$) λόγω της επικράτησης της επανασύνδεσης των φορέων φορτίου^{60,62}.

Επίδραση του pH: Το pH καθορίζει το επιφανειακό φορτίο του καταλύτη με βάση το pH_{pzc} του (για το $\text{TiO}_2 \approx 6.25$). Σε $pH < 6.25$, η επιφάνεια του καταλύτη φορτίζεται

θετικά, ευνοώντας την ηλεκτροστατική προσρόφηση των αρνητικά φορτισμένων βακτηριακών κυττάρων και επιταχύνοντας την αδρανοποίησή τους^{39,63}.

Σύσταση Υδατικής Μήτρας: Η παρουσία ανόργανων ανιόντων (όπως HCO_3^- , Cl^- , PO_4^{3-}) και φυσικής οργανικής ύλης δρα ανασταλτικά, καθώς τα είδη αυτά ανταγωνίζονται τα παθογόνα για τις ενεργές θέσεις του καταλύτη και καταναλώνουν τις παραγόμενες ρίζες $\cdot\text{OH}$ ^{6,28}.

3.4 Διοξείδιο του Τιτανίου (TiO_2): Ιδιότητες και κρυσταλλικές δομές

Το διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2) αποτελεί το πρότυπο υλικό αναφοράς στην ετερογενή φωτοκατάλυση λόγω της υψηλής του δραστηριότητας, της αντοχής του στη φωτοδιάβρωση, του χαμηλού κόστους και της απουσίας τοξικότητας^{56,62}. Απαντάται σε δύο κύριες φωτοκαταλυτικά δραστικές κρυσταλλικές μορφές:

Ρουτίλιο: Διαθέτει τετραγωνική δομή (ομάδα συμμετρίας $P42/mnm$) και αποτελεί τη θερμοδυναμικά σταθερή φάση. Έχει ενεργειακό χάσμα $E_g \approx 3.0 \text{ eV}$ ($\lambda < 413 \text{ nm}$).

Ανατάση (Anatase): Διαθέτει επίσης τετραγωνική δομή (ομάδα συμμετρίας $I41/amd$) αλλά είναι μετασταθής φάση. Έχει ενεργειακό χάσμα $E_g \approx 3.2 \text{ eV}$ ($\lambda < 387 \text{ nm}$).

Παρά το μεγαλύτερο ενεργειακό της χάσμα, η ανατάση επιδεικνύει συστηματικά υψηλότερη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα από το ρουτίλιο. Αυτό οφείλεται στην έμμεση φύση του ενεργειακού της χάσματος, η οποία επιμηκύνει τον χρόνο ζωής των φωτοπαραγόμενων φορέων φορτίου μειώνοντας τον ρυθμό επανασύνδεσης, καθώς και στην αυξημένη ικανότητα προσρόφησης μορίων νερού στην επιφάνειά της^{58,64,65}.

Η πλέον δραστική εμπορική μορφή TiO_2 είναι το **Degussa P25** (Evonik), το οποίο αποτελείται από ένα νανοδομημένο μείγμα ανατάσης και ρουτιλίου σε αναλογία περίπου 80:20 κατά βάρος. Η εξαιρετική του απόδοση οφείλεται στη συνεργιστική δράση των δύο φάσεων στη διεπιφάνεια επαφής τους (ετεροεπαφή). Λόγω της κατάλληλης ευθυγράμμισης των ενεργειακών ζωνών, τα φωτοπαραγόμενα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από τη ζώνη αγωγιμότητας της ανατάσης προς αυτή του ρουτιλίου, ενώ οι οπές παραμένουν στη ζώνη σθένους της ανατάσης. Αυτός ο χωρικός διαχωρισμός των φορέων φορτίου ελαχιστοποιεί την επανασύνδεση, αυξάνοντας δραματικά την κβαντική απόδοση παραγωγής των ROS^{58,66}.

3.5 Σύγκριση Φωτοκατάλυσης με Συμβατικές Μεθόδους Απολύμανσης

Η σύγκριση της ετερογενούς φωτοκατάλυσης με τις παραδοσιακές μεθόδους απολύμανσης (χλωρίωση, οζόνωση, ακτινοβολία UV) αναδεικνύει την υπεροχή των Προηγμένων Οξειδωτικών Διεργασιών στην αντιμετώπιση των σύγχρονων προκλήσεων της επεξεργασίας του νερού ^{3,12,39}.

Φάσμα Δράσης: Οι παραδοσιακές μέθοδοι στοχεύουν επιλεκτικά σε συγκεκριμένες κυτταρικές λειτουργίες ή παρουσιάζουν περιορισμένο φάσμα (π.χ. η χλωρίωση είναι ανενεργή έναντι του *Cryptosporidium*, ενώ η UV επιτρέπει τη φωτοεπιδιόρθωση των βακτηρίων). Αντίθετα, η φωτοκατάλυση προκαλεί μια γενικευμένη, μη εκλεκτική οξειδωτική επίθεση σε όλα τα κυτταρικά στρώματα, επιτυγχάνοντας πλήρη λύση του κυττάρου και καθιστώντας αδύνατη την κυτταρική αναβίωση ^{27,35,38}.

Χημική Ασφάλεια: Η χλωρίωση οδηγεί στον σχηματισμό τοξικών και καρκινογόνων παραπροϊόντων (THMs, HAAs), ενώ η οζόνωση μπορεί να παράγει βρωμικά ιόντα (BrO_3^-). Η φωτοκατάλυση πλεονεκτεί, καθώς τα παραγόμενα ROS οδηγούν στην πλήρη ανοργανοποίηση της οργανικής ύλης σε CO_2 , H_2O και ανόργανα άλατα, χωρίς τη δημιουργία επικίνδυνων ενδιάμεσων ενώσεων ^{12,28}.

Αποδόμηση Γονιδίων Ανθεκτικότητας (ARGs): Οι συμβατικές μέθοδοι αδυνατούν να καταστρέψουν το εξωκυτταρικό DNA, επιτρέποντας τη διασπορά της μικροβιακής ανθεκτικότητας μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων. Η φωτοκατάλυση επιτυγχάνει την οξειδωτική θραύση του σακχαροφωσφορικού σκελετού του DNA, εξαλείφοντας πλήρως τα γονίδια ανθεκτικότητας από την υδατική μήτρα ^{4,11}.

Για την ολοκληρωμένη αξιολόγηση των ανωτέρω μεθόδων, στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται μια συνοπτική συγκριτική αποτίμηση των συμβατικών τεχνολογιών απολύμανσης έναντι των Προηγμένων Οξειδωτικών Διεργασιών (ΠΟΔ), με βάση τις κρίσιμες παραμέτρους λειτουργίας, ασφάλειας και κόστους.

Πίνακας 1. Συγκριτική παρουσίαση των παραδοσιακών μεθόδων απολύμανσης και της ετερογενούς φωτοκατάλυσης (ΠΟΔ) ως προς τον μηχανισμό δράσης, την αποτελεσματικότητα, τα παραπροϊόντα και το λειτουργικό κόστος.

Παράμετρος	Χλωρίωση	Οζόνωση	Ακτινοβολία UV	Φωτοκατάλυση (AOPs)
Μηχανισμός	Χημική Οξείδωση	Ισχυρή Οξείδωση	Φωτοχημική Βλάβη	Ρίζες $OH^\cdot$ / ROS
Φάσμα Δράσης	Μέτριο	Ευρύ	Ευρύ	Εξαιρετικά Ευρύ
Παραπροϊόντα	Υψηλά (THMs/HA As)	Βρωμικά (BrO_3^-)	Μηδενικά	Μηδενικά / Ανοργανοποίηση
Υπολειμματική Δράση	Ναι	Όχι	Όχι	Ναι (Memory Effect)
Αποδόμηση ARGs	Χαμηλή	Μέτρια	Χαμηλή	Υψηλή
Κόστος (OPEX)	Χαμηλό	Υψηλό	Μέτριο	Μειούμενο (Solar)

4. ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

4.1 *Escherichia coli*

Το βακτήριο *Escherichia coli* (*E. coli*) αποτελεί τον πλέον αναγνωρισμένο και ευρέως χρησιμοποιούμενο βιοδείκτη για τον έλεγχο της μικροβιολογικής ποιότητας των υδάτων παγκοσμίως. Ως μέλος της οικογένειας των *Enterobacteriaceae*, ταξινομείται στα Gram-αρνητικά, προαιρετικά αναερόβια, μη σπορογόνα βακτηρίδια με τυπική ραβδοειδή μορφή, διαστάσεων περίπου $0.5 \times 2.0 \mu m$. Η επιλογή του ως πρότυπου οργανισμού στις μελέτες απολύμανσης και φωτοκατάλυσης δεν είναι τυχαία, αλλά βασίζεται στην άμεση και αποκλειστική συσχέτισή του με την κοπρανώδη ρύπανση θερμόαιμων οργανισμών, καθώς και στην εκτενή επιστημονική γνώση που διαθέτουμε για τη γενετική, τη φυσιολογία και τη δυναμική της αδρανοποίησής του ^{1,15}.

4.1.1 Ταξινομική Κατάταξη και Βιολογικός Ρόλος ως Δείκτης

Το *E. coli* απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1885 από τον Theodor Escherich και έκτοτε αποτελεί το κύριο εργαλείο της υγειονομικής μηχανικής. Παρόλο που τα περισσότερα στελέχη του αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου και είναι αβλαβή, η παρουσία του στο νερό υποδηλώνει αδιαμφισβήτητα την είσοδο κοπρανώδους ύλης στο σύστημα. Από αναλυτική σκοπιά, η υπεροχή του *E. coli* ως δείκτη έγκειται στο γεγονός ότι οι πληθυσμοί του είναι εξαιρετικά πυκνοί στα λύματα (έως 10^9 κύτταρα ανά γραμμάριο κοπράνων), γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευσή του ακόμη και μετά από μεγάλες αραιώσεις στην υδατική μήτρα. Επιπλέον, η επιβίωσή του στο υδάτινο περιβάλλον προσομοιάζει με αυτή των περισσότερων εντερικών παθογόνων βακτηρίων, καθιστώντας το ένα αξιόπιστο μοντέλο για την εκτίμηση του υγειονομικού κινδύνου ^{5,14}.

4.1.2 Δομή Κυτταρικού Περιβλήματος και Ηλεκτροστατικές Ιδιότητες

Η δομική οργάνωση του *E.coli* καθορίζει την απόκρισή του στις φωτοκαταλυτικές διεργασίες. Ως Gram-αρνητικό βακτήριο, διαθέτει ένα σύνθετο περίβλημα που αποτελείται από τρία διακριτά στρώματα: την εσωτερική κυτταροπλασματική μεμβράνη, το περιπλασματικό στρώμα με τη λεπτή στιβάδα πεπτιδογλυκάνης και την εξωτερική μεμβράνη.

Η εξωτερική μεμβράνη είναι το πρώτο σημείο αλληλεπίδρασης με τον φωτοκαταλύτη. Είναι πλούσια σε λιποπολυσακχαρίτες, οι οποίοι προσδίδουν στο κύτταρο ένα ισχυρό αρνητικό επιφανειακό φορτίο σε ουδέτερο pH. Αυτή η ιδιότητα είναι κρίσιμη για τη φωτοκατάλυση, καθώς ρυθμίζει την ηλεκτροστατική έλξη ή απώθηση με την επιφάνεια του ημιαγωγού (TiO_2). Για παράδειγμα, σε pH χαμηλότερο από το σημείο μηδενικού φορτίου του καταλύτη, η ηλεκτροστατική έλξη προωθεί την προσρόφηση του βακτηρίου, επιταχύνοντας την οξειδωτική προσβολή από τις βραχύβιες ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$). Η εξωτερική μεμβράνη φέρει επίσης τις πορίνες, δηλαδή πρωτεϊνικά κανάλια που επιτρέπουν τη διάχυση μικρών μορίων, τα οποία αποτελούν και σημεία εισόδου για το φωτοπαραγόμενο H_2O_2 στο εσωτερικό του κυττάρου ^{9,17,39}.

4.1.3 Μηχανισμός Φωτοκαταλυτικής Αδρανοποίησης

Η αδρανοποίηση του *E.coli* από τις Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες εξελίσσεται μέσω μιας καταγίδας οξειδωτικών αντιδράσεων. Ο κύριος μηχανισμός είναι η

υπεροξειδωση των λιπιδίων της εξωτερικής μεμβράνης. Οι ρίζες $\text{OH}\cdot$ επιτίθενται στους ακόρεστους δεσμούς των λιπαρών οξέων, προκαλώντας δομικές ρήξεις και πόρους. Η αναλυτική παρακολούθηση της διαρροής ιόντων καλίου (K^+) έχει δείξει ότι η απώλεια της μεμβρανικής ακεραιότητας είναι σχεδόν ακαριαία μετά την έκθεση σε δραστικές μορφές οξυγόνου.

Μόλις καταστραφεί η εξωτερική μεμβράνη, τα ROS εισβάλλουν στο κυτταρόπλασμα. Το H_2O_2 , όντας πιο σταθερό, διαχέεται στο εσωτερικό και, μέσω της αντίδρασης Fenton με ενδογενή ιόντα σιδήρου, παράγει ρίζες $\text{OH}\cdot$ *in situ*, οι οποίες επιτίθενται στο DNA και τις πρωτεΐνες. Αυτή η «εκ των έσω» επίθεση διακρίνει τη φωτοκατάλυση από τη συμβατική απολύμανση, καθώς προκαλεί μη αναστρέψιμες βλάβες που οδηγούν στην πλήρη λύση του κυττάρου^{7,18,24,27}.

4.1.4 Παθογόνα Στελέχη και Κλινική Σημασία

Αν και το *E. coli* χρησιμοποιείται κυρίως ως δείκτης, ορισμένα στελέχη του είναι άκρως παθογόνα και αποτελούν άμεσο στόχο της απολύμανσης. Τα στελέχη αυτά κατηγοριοποιούνται σε παθότυπους, με σημαντικότερους το εντεροαιμορραγικό *E. coli* (EHEC, π.χ. O157:H7), το εντεροπαθογόνο (EPEC) και το εντεροτοξικογόνο (ETEC). Το στέλεχος O157:H7 είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο καθώς παράγει τοξίνες Shiga, προκαλώντας σοβαρές αιμορραγικές κολίτιδες και αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο. Η ανθεκτικότητα αυτών των στελεχών στο περιβάλλον και η εξαιρετικά χαμηλή λοιμογόνος δόση (μόλις 10-100 κύτταρα αρκούν για να προκαλέσουν νόσο) καθιστούν την πλήρη αδρανοποίησή του επιτακτική ανάγκη για κάθε σύστημα επεξεργασίας νερού^{8,16}.

4.1.5 Το Πρόβλημα της Φωτοεπιδιόρθωσης και της Κατάστασης VBNC

Το *E. coli* παρουσιάζει δύο σημαντικές προκλήσεις για τις διεργασίες απολύμανσης:

Φωτοεπιδιόρθωση : Διαθέτει το ένζυμο φωτολύαση, το οποίο, υπό την επίδραση του ορατού φωτός, μπορεί να επιδιορθώσει τις βλάβες στο DNA (διμερή πυριμιδίνης) που προκαλούνται από την ακτινοβολία UV. Στη φωτοκατάλυση, το φαινόμενο αυτό ελαχιστοποιείται, καθώς οι ρίζες $\cdot\text{OH}$ καταστρέφουν και τα ίδια τα ένζυμα επιδιορθώσεως.

Κατάσταση VBNC (*Viable But Non-Culturable*): Υπό συνθήκες στρες, το *E. coli* μπορεί να εισέλθει σε κατάσταση ληθάργου όπου δεν σχηματίζει αποικίες σε συμβατικές καλλιέργειες (CFU), αλλά παραμένει μεταβολικά ενεργό και δυνητικά

λοιμογόνο. Αυτό απαιτεί αναλυτικές μεθόδους πέραν της κλασικής μικροβιολογίας για την επιβεβαίωση της πραγματικής και οριστικής απολύμανσης^{23,27,67}.

4.2 *Klebsiella pneumoniae*

4.2.1 Δομή και επικινδυνότητα

Η *Klebsiella pneumoniae* αποτελεί έναν από τους πλέον σημαντικούς παθογόνους μικροοργανισμούς στη σύγχρονη κλινική μικροβιολογία και την περιβαλλοντική μηχανική. Ως μέλος της οικογένειας των *Enterobacteriaceae*, το βακτήριο αυτό ταξινομείται στα Gram-αρνητικά, προαιρετικά αναερόβια, μη κινητά και εγκυστωμένα βακτηρίδια. Η ικανότητά του να προκαλεί ένα ευρύ φάσμα λοιμώξεων, σε συνδυασμό με τη ραγδαία ανάπτυξη μηχανισμών πολυανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, το κατατάσσει στην ομάδα των παθογόνων «ESKAPE», τα οποία αποτελούν την κύρια απειλή για τα συστήματα υγείας παγκοσμίως.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιείται το κλινικό πρότυπο στέλεχος αναφοράς *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* ATCC 13883 (καψικού οροτύπου K3). Το συγκεκριμένο στέλεχος παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς η παρουσία του προστατευτικού πολυσακχαριδικού ελύτρου (κάψας) του επιτρέπει να ανθίσταται στις συμβατικές μεθόδους απολύμανσης και να επιβιώνει σε απαιτητικές υδάτινες μήτρες, αποτελώντας το ιδανικό μοντέλο για την αξιολόγηση νέων απολυμαντικών τεχνολογιών^{4,65}.

4.2.2 Μορφολογία και Δομή του Κυτταρικού Περιβλήματος

Η δομική οργάνωση της *K.pneumoniae* αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα της ανθεκτικότητάς της. Αν και το κυτταρικό της περίβλημα ακολουθεί το τυπικό πρότυπο των Gram-αρνητικών βακτηρίων (κυτταροπλασματική μεμβράνη, λεπτό στρώμα πεπτιδογλυκάνης και εξωτερική μεμβράνη), διαφοροποιείται σημαντικά από άλλα εντεροβακτήρια, όπως το *E.coli*, λόγω της παρουσίας μιας εξαιρετικά παχιάς πολυσακχαριδικής κάψας (Capsular Polysaccharide – CPS)^{17,66}.

Αποτελούμενη από επαναλαμβανόμενες μονάδες σακχάρων (όπως γλυκόζη, γαλακτόζη και ουρονικά οξέα), η κάψα λειτουργεί ως ένας ισχυρός φυσικοχημικός φραγμός. Πέρα από την προστασία του βακτηρίου από την αφυδάτωση και τη φαγοκυττάρωση, στο

πλαίσιο της απολύμανσης δρα ως «θυσιαστικό στρώμα». Καταναλώνοντας μέρος των δραστικών μορφών οξυγόνου που παράγονται κατά τις οξειδωτικές διεργασίες, η κάψα εμποδίζει την άμεση πρόσβαση των ριζών στην ευαίσθητη κυτταροπλασματική μεμβράνη. Έτσι, η κινητική της αδρανοποίησης δείχνει ότι τα εγκυστωμένα στελέχη εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερες σταθερές ταχύτητας k σε σύγκριση με τα μη εγκυστωμένα^{68,69}.

Ακριβώς κάτω από την κάψα, η εξωτερική μεμβράνη εισάγει επιπλέον προστατευτικούς μηχανισμούς μέσω των λιποπολυσακχαριτών και των πορινών. Οι λιποπολυσακχαρίτες (αποτελούμενοι από το λιπίδιο A, τον κεντρικό πολυσακχαρίτη και το αντιγόνο O) προσδίδουν στο κύτταρο αρνητικό επιφανειακό φορτίο, το οποίο καθορίζει τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με τους φωτοκαταλυτικούς ημιαγωγούς. Παράλληλα, οι πορίνες ρυθμίζουν επιλεκτικά τη διαπερατότητα της μεμβράνης. Η απώλεια ή η τροποποίησή τους αποτελεί βασικό μηχανισμό ανθεκτικότητας, περιορίζοντας τη διάχυση ξενοβιοτικών ουσιών και φαρμάκων στο εσωτερικό του κυττάρου^{17,70}.

4.2.3 Παράγοντες Λοιμογόνου Δύναμης και Παθογένεια

Η επικινδυνότητα της *K.pneumoniae* πηγάζει από ένα οπλοστάσιο λοιμογόνων παραγόντων που της επιτρέπουν να αποικίζει τον ξενιστή και να προκαλεί σοβαρές λοιμώξεις, όπως η πνευμονία, οι ουρολοιμώξεις και η σηψαιμία. Οι κυριότεροι παράγοντες περιλαμβάνουν:

Πολυσακχαριδική Κάψα (CPS): Όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί τον κύριο παράγοντα λοιμογόνου δύναμης, προστατεύοντας το βακτήριο από τη συμπληρωματική δράση του ορού και τη φαγοκυττάρωση.

Ινίδια και Προσκολλητίνες: Επιτρέπουν στο βακτήριο να προσκολλάται στα επιθηλιακά κύτταρα και σε αβιοτικές επιφάνειες (π.χ. καθετήρες), διευκολύνοντας τον σχηματισμό βιοϋμενίων.

Σιδηροφόρα : Μόρια υψηλής συγγένειας με τον σίδηρο (όπως η αεροβακτίνη και η εντεροβακτίνη), τα οποία επιτρέπουν στο βακτήριο να δεσμεύει σίδηρο από το περιβάλλον του ξενιστή, ο οποίος είναι απαραίτητος για τον μεταβολισμό και τον πολλαπλασιασμό του.

Λιποπολυσακχαρίτες : Δρουν ως ενδοτοξίνες, προκαλώντας έντονη φλεγμονώδη απόκριση στον ξενιστή^{17,66}.

Ιδιαίτερη ανησυχία προκαλούν τα υπερλοιμογόνα στελέχη (hypervirulent *K. Pneumoniae* – hνKp), τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές λοιμώξεις ακόμη και σε υγιή άτομα της κοινότητας, σε αντίθεση με τα κλασικά στελέχη που προσβάλλουν κυρίως ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς ⁶⁹.

4.2.4 Μικροβιακή Ανθεκτικότητα και Δημόσια Υγεία

Η *K. pneumoniae* θεωρείται το «μοντέλο» της μικροβιακής ανθεκτικότητας. Η ικανότητά της να φιλοξενεί και να ανταλλάσσει πλασμίδια που φέρουν γονίδια ανθεκτικότητας την καθιστά κεντρικό παίκτη στην εξάπλωση της αντιμικροβιακής αντοχής. Το πλέον κρίσιμο ζήτημα είναι η ανθεκτικότητα στις καρβαπενέμες (Carbapenem-Resistant *K.pneumoniae* – CRKP), οι οποίες αποτελούν αντιβιοτικά «τελευταίας γραμμής».

Οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας περιλαμβάνουν την παραγωγή ενζύμων όπως οι καρβαπενεμάσες (π.χ. KPC – *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, NDM – New Delhi metallo-beta-lactamase). Τα στελέχη αυτά είναι συχνά ανθεκτικά σε όλα σχεδόν τα διαθέσιμα αντιβιοτικά, οδηγώντας σε θεραπευτικά αδιέξοδα και υψηλά ποσοστά θνησιμότητας. Η αναλυτική παρακολούθηση αυτών των στελεχών στα λύματα και το περιβάλλον είναι επιβεβλημένη, καθώς οι Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ) λειτουργούν ως «θερμά σημεία» για τη διασπορά αυτών των πολυανθεκτικών γονιδίων^{4,70}.

4.2.5 Περιβαλλοντική Παρουσία και Ανθεκτικότητα στην Απολύμανση

Η *K.pneumoniae* δεν περιορίζεται μόνο στο κλινικό περιβάλλον, αλλά απαντάται ευρέως στο έδαφος, στα φυτά και στα υδάτινα συστήματα. Η παρουσία της στο νερό και στα λύματα αποτελεί σοβαρό κίνδυνο, καθώς μπορεί να μεταφερθεί στον άνθρωπο μέσω της άρδευσης ή της επαναχρησιμοποίησης των υδάτων.

Η *K.pneumoniae* παρουσιάζει αυξημένη αντοχή στις συμβατικές μεθόδους απολύμανσης (π.χ. χλωρίωση) σε σχέση με το *E. coli*. Η κάψα της και η ικανότητά της να σχηματίζει βιοϋμένια την προστατεύουν από την οξειδωτική προσβολή. Μελέτες έχουν δείξει ότι μετά από φωτοκαταλυτική επεξεργασία, η *K. pneumoniae* μπορεί να εμφανίσει γενετικούς πολυμορφισμούς και μεταβολές στο προφίλ ανθεκτικότητάς της, γεγονός που υποδηλώνει ότι η απολύμανση πρέπει να είναι πλήρης και οριστική για να αποφευχθεί η επιλογή ακόμη πιο ανθεκτικών στελεχών ⁶⁸.

Η ανάγκη για Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ) τεκμηριώνεται ακριβώς από την απαίτηση για ολική καταστροφή των κυτταρικών δομών και του γενετικού υλικού της *Klebsiella*. Η παραγωγή ριζών υδροξυλίου και H_2O_2 στοχεύει στην αποδόμηση της κάψας και της εξωτερικής μεμβράνης, επιτρέποντας την οξείδωση των ARGs και αποτρέποντας την αναβίωση του παθογόνου ^{22,24}.

4.3 *Staphylococcus aureus*

Ο μικροοργανισμός *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) αποτελεί έναν από τους πλέον διαδεδομένους και επικίνδυνους παθογόνους παράγοντες παγκοσμίως, με ιδιαίτερη σημασία τόσο στην κλινική ιατρική όσο και στην περιβαλλοντική μηχανική. Ταξινομείται στα Gram-θετικά βακτήρια, έχει σφαιρικό σχήμα (κόκκος) και διατάσσεται χαρακτηριστικά σε συσσωματώματα που προσομοιάζουν με τσαμπιά σταφυλίου. Ως προαιρετικά αναερόβιος και καταλάση-θετικός οργανισμός, ο *S. aureus* επιδεικνύει εξαιρετική προσαρμοστικότητα σε ποικίλα περιβάλλοντα, γεγονός που καθιστά την αδρανοποίησή του μέσω φωτοκαταλυτικών διεργασιών αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος ^{16,71}.

4.3.1 Δομή Κυτταρικού Περιβλήματος και Μηχανική Αντοχή

Η ανθεκτικότητα του *S. aureus* στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις πηγάζει από τη στιβαρή αρχιτεκτονική του κυτταρικού του τοιχώματος. Ως Gram-θετικό βακτήριο, διαθέτει ένα παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης (murein), το οποίο αποτελεί το 50–90% της μάζας του περιβλήματος. Το στρώμα αυτό είναι ένα τρισδιάστατο πολυμερές πλέγμα από αλυσίδες γλυκάνης που συνδέονται σταυροειδώς με πεπτιδικές γέφυρες, προσδίδοντας στο κύτταρο εξαιρετική μηχανική σταθερότητα και προστασία από την υψηλή εσωτερική οσμωτική πίεση.

Επιπλέον, το τοίχωμα περιέχει τειχοϊκά οξέα, τα οποία είναι πολυμερή φωσφορικής ριβιτόλης ή γλυκερόλης συνδεδεμένα με την πεπτιδογλυκάνη. Τα οξέα αυτά προσδίδουν στην επιφάνεια του βακτηρίου ένα ισχυρό αρνητικό φορτίο, το οποίο παίζει καθοριστικό ρόλο στην ετερογενή φωτοκατάλυση. Το επιφανειακό αυτό φορτίο ρυθμίζει την προσρόφηση του μικροοργανισμού πάνω στον φωτοκαταλύτη, επηρεάζοντας άμεσα την απόδοση της οξειδωτικής προσβολής από τις βραχύβιες ρίζες υδροξυλίου ($\cdot OH$). Η

αναλυτική σύγκριση με Gram-αρνητικά βακτήρια δείχνει ότι ο *S. aureus* απαιτεί συχνά μεγαλύτερες δόσεις ακτινοβολίας για την έναρξη της αδρανοποίησης, καθώς το παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης λειτουργεί ως «θυσιαστικός φραγμός» έναντι των ROS^{9,17,72}.

4.3.2 Παράγοντες Λοιμογόνου Δύναμης και Επικινδυνότητα

Η παθογένεια του *S. aureus* είναι πολυπαραγοντική και βασίζεται σε ένα ευρύ οπλοστάσιο λοιμογόνων παραγόντων που του επιτρέπουν να αποικίζει τον ξενιστή και να προκαλεί σοβαρές λοιμώξεις, όπως η πνευμονία, οι ουρολοιμώξεις και η σηψαιμία. Οι κυριότεροι παράγοντες περιλαμβάνουν:

Πρωτεΐνη Α: Δεσμεύει το κλάσμα Fc των αντισωμάτων, επιτρέποντας στο βακτήριο να διαφεύγει από το ανοσοποιητικό σύστημα.

Τοξίνες: Παραγωγή εντεροτοξινών (υπεύθυνων για τροφικές δηλητηριάσεις), της τοξίνης του συνδρόμου τοξικού σοκ (TSST-1) και αιμολυσινών που καταστρέφουν τις κυτταρικές μεμβράνες του ξενιστή.

Ένζυμα: Παραγωγή πηκτάσης (coagulase), η οποία προκαλεί τον σχηματισμό προστατευτικού θρόμβου γύρω από το βακτήριο, καθώς και DNAσης και λιπάσης που διευκολύνουν τη διείσδυση στους ιστούς^{16,19}.

Ιδιαίτερη σημασία για την περιβαλλοντική μηχανική έχει η ικανότητα του *S. aureus* να σχηματίζει βιοϋμένια σε αβιοτικές επιφάνειες, όπως οι σωληνώσεις των δικτύων ύδρευσης. Εντός του βιοϋμενίου, οι μικροοργανισμοί προστατεύονται από μια μήτρα εξωκυτταρικών πολυμερών ουσιών (EPS), η οποία εμποδίζει τη διάχυση των απολυμαντικών μέσων και των ROS, αυξάνοντας την ανθεκτικότητα του πληθυσμού έως και 1000 φορές σε σχέση με τα ελεύθερα κύτταρα^{21,73}.

4.3.3 Μικροβιακή Ανθεκτικότητα και Περιβαλλοντική Διασπορά

Ο *S. aureus* αποτελεί το πλέον χαρακτηριστικό παράδειγμα ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Τα στελέχη MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) αποτελούν μείζονα απειλή για τη δημόσια υγεία, καθώς είναι ανθεκτικά σε όλες τις ββ-λακτάμες. Η ανθεκτικότητα αυτή κωδικοποιείται συχνά σε κινητά γενετικά στοιχεία, τα οποία μπορούν να μεταφερθούν οριζόντια σε άλλα βακτήρια εντός των υδατικών συστημάτων.

Η παρουσία του *S. aureus* στο νερό, αν και λιγότερο συχνή από αυτή των εντεροβακτηρίων, ανιχνεύεται συστηματικά σε πισίνες, παραθαλάσσιες περιοχές με έντονη ανθρώπινη δραστηριότητα και νοσοκομειακά λύματα. Από αναλυτική σκοπιά, η επιβίωση του βακτηρίου σε υδάτινες μήτρες με υψηλή αλατότητα είναι αξιοσημείωτη, καθιστώντας το έναν κρίσιμο δείκτη για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των ΠΟΔ σε σύνθετα περιβάλλοντα. Η φωτοκαταλυτική επεξεργασία στοχεύει στην ολική οξείδωση όχι μόνο του κυττάρου αλλά και των γονιδίων ανθεκτικότητας, αποτρέποντας τη διασπορά της αντιμικροβιακής αντοχής^{26,72}.

4.3.4 Μηχανισμοί Αδρανοποίησης κατά τη Φωτοκατάλυση

Η αδρανοποίηση του *S. aureus* μέσω φωτοκατάλυσης ακολουθεί μια κλιμακωτή πορεία οξειδωτικής αποδόμησης. Λόγω της απουσίας εξωτερικής μεμβράνης, οι ρίζες $\cdot\text{OH}$ επιτίθενται απευθείας στο παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης. Η οξείδωση των σταυροειδών δεσμών του τοιχώματος προκαλεί τη σταδιακή απώλεια της μηχανικής ακεραιότητας, οδηγώντας τελικά στη διάρρηξη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.

Αναλυτικές μελέτες έχουν δείξει ότι η παραγωγή H_2O_2 παίζει καθοριστικό ρόλο στην εξουδετέρωση του *S. aureus*. Το H_2O_2 διαχέεται μέσω των πόρων της πεπτιδογλυκάνης και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα, όπου προκαλεί οξειδωτικές βλάβες στα ένζυμα και το DNA. Στην περίπτωση υλικών με «φωτοκαταλυτική μνήμη», η συνεχιζόμενη παραγωγή H_2O_2 στο σκοτάδι είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική, καθώς εμποδίζει τους μηχανισμούς επιδιορθώσεως του βακτηρίου, οδηγώντας σε οριστικό κυτταρικό θάνατο^{24,71}.

4.3.5 Επίδραση της δομής του κυτταρικού τοιχώματος στην ταχύτητα απολύμανσης

Η αποτελεσματικότητα της ετερογενούς φωτοκατάλυσης στην αδρανοποίηση των μικροοργανισμών δεν εξαρτάται αποκλειστικά από τον ρυθμό παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), αλλά κυρίως από τη δυνατότητα αυτών των ειδών να έρθουν σε επαφή και να διαπεράσουν το κυτταρικό περίβλημα. Η διεπιφάνεια καταλύτη-κυττάρου αποτελεί το κρίσιμο σημείο ελέγχου της διεργασίας.

Το γεγονός αυτό αποδίδεται στη χωρική δυναμική των ROS και ιδιαίτερα της ρίζας υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$). Λόγω του εξαιρετικά μικρού χρόνου ζωής της, η $\cdot\text{OH}$ χαρακτηρίζεται

από πολύ μικρή ακτίνα διάχυσης, πράγμα που σημαίνει ότι η οξειδωτική της δράση περιορίζεται σε νανομετρική απόσταση από την επιφάνεια του καταλύτη. Συνεπώς, η δομική εγγύτητα και ο βαθμός προσρόφησης του μικροοργανισμού στον ημιαγωγό καθορίζουν την ένταση της οξειδωτικής προσβολής που δέχεται το κύτταρο. Στο σημείο αυτό, η θεμελιώδης διαφοροποίηση μεταξύ Gram-αρνητικών και Gram-θετικών βακτηρίων στη σύσταση και το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος εισάγει σημαντικές παραμέτρους ανθεκτικότητας, οδηγώντας στις αποκλίσεις που παρατηρούνται στις κινητικές σταθερές αδρανοποίησης $k^{27,74,27,30}$.

4.4 *Enterococcus faecalis*

Ο μικροοργανισμός *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) αποτελεί έναν από τους πλέον κρίσιμους βιοδείκτες για την αξιολόγηση της μικροβιολογικής ποιότητας των υδάτων, κατέχοντας κεντρική θέση στις μελέτες απολύμανσης. Ως μέλος του γένους των Εντεροκόκκων, ταξινομείται στα Gram-θετικά, προαιρετικά αναερόβια βακτήρια με σφαιρικό ή ωοειδές σχήμα, τα οποία συνήθως διατάσσονται σε ζεύγη ή βραχείες αλυσίδες. Η επιλογή του *E. faecalis* ως πρότυπου οργανισμού στην παρούσα εργασία βασίζεται στην εξαιρετική του ανθεκτικότητα στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις και τις διεργασίες επεξεργασίας, καθιστώντας τον έναν ιδιαίτερα απαιτητικό στόχο για τις Προηγμένες Οξειδωτικές Διεργασίες (ΠΟΔ) ^{8,15}.

4.4.1 Δομική Αρχιτεκτονική του Gram-θετικού Κυτταρικού Τοιχώματος

Η θεμελιώδης διαφορά που καθορίζει την αυξημένη αντοχή του *E. faecalis* έναντι των Gram-αρνητικών βακτηρίων, όπως το *E. coli*, έγκειται στη δομή του κυτταρικού του περιβλήματος. Ως τυπικός Gram-θετικός μικροοργανισμός, ο *E. faecalis* στερείται εξωτερικής μεμβράνης, αλλά διαθέτει ένα εξαιρετικά παχύ και στιβαρό στρώμα πεπτιδογλυκάνης, το πάχος του οποίου κυμαίνεται τυπικά μεταξύ 20 και 80 nm^{9,17}.

Η πεπτιδογλυκάνη αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες πολυσακχαριτών (N-ακετυλογλυκοζαμίνη και N-ακετυλομουραμικό οξύ), οι οποίες συνδέονται χημικά μέσω πεπτιδικών γεφυρών, σχηματίζοντας ένα τρισδιάστατο, σταυροειδώς συνδεδεμένο δίκτυο υψηλής πολυμερίωσης. Φυσικοχημικά, αυτό το στρώμα λειτουργεί ως ένας πολυμερής «θώρακας» που παρέχει:

Μηχανική Σταθερότητα: Προστασία από την υψηλή εσωτερική ωσμωτική πίεση (έως και 20 atm).

Χημική Προστασία: Η πυκνή δομή του πλέγματος δυσχεραίνει τη διάχυση των βραχύβιων δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), όπως οι ρίζες υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$), προς την ευαίσθητη κυτταροπλασματική μεμβράνη.

Ικανότητα Δέσμευσης: Η παρουσία τειχοϊκών οξέων εντός της πεπτιδογλυκάνης προσδίδει στο τοίχωμα αρνητικό φορτίο, το οποίο ρυθμίζει την προσρόφηση του βακτηρίου στην επιφάνεια των φωτοκαταλυτικών υλικών, όπως το TiO_2 ^{9,17}.

4.4.2 Μηχανισμοί Περιβαλλοντικής και Χημικής Ανθεκτικότητας

Ο *E. faecalis* χαρακτηρίζεται από την ικανότητά του να επιβιώνει σε συνθήκες που θα ήταν θανατηφόρες για τους περισσότερους παθογόνους μικροοργανισμούς. Η ανθεκτικότητά του εκδηλώνεται σε πολλαπλά επίπεδα:

Ανοχή σε ακραίες τιμές pH και αλατότητα: Μπορεί να αναπτυχθεί σε εύρος pH από 4.5 έως 10.0 και να επιβιώσει σε συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου (NaCl) έως και 6.5%. Αυτό τον καθιστά κρίσιμο δείκτη για την απολύμανση υδάτων με υψηλό ιοντικό φορτίο ή βιομηχανικών αποβλήτων^{1,8}.

Θερμική Αντοχή: Παρουσιάζει αξιοσημείωτη σταθερότητα σε θερμοκρασίες έως 60 °C για περιορισμένο χρόνο, επιτρέποντάς του να επιβιώνει σε διεργασίες που βασίζονται στη θερμική αδρανοποίηση.

Απόκριση στο Οξειδωτικό Στρες: Διαθέτει ενδογενή ένζυμα, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση, τα οποία εξουδετερώνουν μέρος των ROS. Στην ετερογενή φωτοκατάλυση, η αδρανοποίηση του *E. faecalis* απαιτεί τη σταδιακή «διάβρωση» του παχέος τοιχώματος προτού τα οξειδωτικά μέσα προκαλέσουν τη διαρροή ενδοκυτταρικών συστατικών και την καταστροφή του DNA^{19,24}.

4.4.3 Παθογένεια και Κλινική Σημασία στα Υδατικά Συστήματα

Αν και ο *E. faecalis* αποτελεί μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του γαστρεντερικού σωλήνα, αναγνωρίζεται ως ένας από τους σημαντικότερους ευκαιριακούς παθογόνους μικροοργανισμούς. Είναι υπεύθυνος για ένα ευρύ φάσμα λοιμώξεων, συμπεριλαμβανομένων των ουρολοιμώξεων, της ενδοκαρδίτιδας και της σηψαιμίας, ιδιαίτερα σε νοσοκομειακό περιβάλλον.

Η επικινδυνότητά του ενισχύεται από την παρουσία λοιμογόνων παραγόντων, όπως η κυτολυσίνη, μια τοξίνη που προκαλεί τη λύση των κυττάρων του ξενιστή. Επιπλέον, η ικανότητά του να σχηματίζει βιοϋμένια σε αβιοτικές επιφάνειες, όπως οι σωληνώσεις των δικτύων ύδρευσης, δυσχεραίνει την εκρίζωσή του. Εντός του βιοϋμένιου, η προστασία που παρέχει η εξωκυτταρική πολυμερής ουσία (EPS) σε συνδυασμό με το Gram-θετικό τοίχωμα δημιουργεί μια συνέργεια ανθεκτικότητας που απαιτεί προηγμένες μεθόδους οξείδωσης για την αντιμετώπισή της^{16,19}.

4.4.4 Μικροβιακή Ανθεκτικότητα και Γονίδια Ανθεκτικότητας (ARGs)

Ο *E. faecalis* παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της ικανότητάς του να αναπτύσσει και να μεταδίδει ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Τα στελέχη VRE (*Vancomycin-Resistant Enterococci*) αποτελούν μείζονα απειλή για τη δημόσια υγεία. Η ανθεκτικότητα αυτή κωδικοποιείται συχνά σε πλασμίδια ή τρανσποζόνια, τα οποία μπορούν να μεταφερθούν οριζόντια σε άλλα παθογόνα εντός των υδατικών συστημάτων. Η φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση με TiO_2 στοχεύει όχι μόνο στη θανάτωση του κυττάρου, αλλά και στην αποδόμηση αυτών των γονιδίων ανθεκτικότητας.⁸ Συμπερασματικά, ο *Enterococcus faecalis* αποτελεί τον ιδανικό βιοδείκτη για τη δοκιμασία των ορίων των φωτοκαταλυτικών συστημάτων. Η δομική του στιβαρότητα και η ικανότητά του να ανθίσταται σε χημικές και φυσικές πιέσεις καθιστούν την επιτυχή αδρανοποίησή του ως το απόλυτο κριτήριο για την αποτελεσματικότητα οποιασδήποτε προηγμένης μεθόδου επεξεργασίας νερού.

4.5 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

4.5.1 Gram-αρνητικά Βακτήρια: Η Ευπάθεια της Εξωτερικής Μembrάνης

Τα Gram-αρνητικά βακτήρια, όπως το *Escherichia coli* και η *Klebsiella pneumoniae*, διαθέτουν ένα κυτταρικό περίβλημα που αποτελείται από μια εσωτερική κυτταροπλασματική μεμβράνη, ένα λεπτό στρώμα πεπτιδογλυκάνης και μια σύνθετη εξωτερική μεμβράνη πλούσια σε λιποπολυσακχαρίτες. Παρά την παρουσία της εξωτερικής μεμβράνης, η οποία λειτουργεί ως επιπλέον φραγμός έναντι χημικών παραγόντων, τα Gram-αρνητικά στελέχη εμφανίζουν συχνά αυξημένη ευαισθησία στη φωτοκατάλυση^{9,17}.

Η ευαισθησία αυτή αποδίδεται κυρίως στον μηχανισμό της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Οι ρίζες $\cdot\text{OH}$ επιτίθενται ταχύτατα στους ακόρεστους δεσμούς των λιπαρών οξέων της εξωτερικής μεμβράνης, προκαλώντας δομική αποσταθεροποίηση και αύξηση της διαπερατότητάς της. Η αναλυτική παρακολούθηση της διαρροής ιόντων και ενδοκυτταρικών συστατικών επιβεβαιώνει ότι η κατάρρευση του περιβλήματος στα Gram-αρνητικά βακτήρια είναι μια σχετικά ταχεία διεργασία. Ειδικά για την *K. pneumoniae*, η παρουσία της πολυσακχαριδικής κάψας μπορεί να καθυστερήσει την έναρξη της αδρανοποίησης δρώντας ως «θυσιαστικό στρώμα», ωστόσο η συνολική κινητική της αποδόμησης παραμένει ταχύτερη σε σύγκριση με τα Gram-θετικά στελέχη^{4,16}.

4.5.2 Gram-θετικά Βακτήρια: Το Πεπτιδογλυκανικό Φράγμα

Αντίθετα, τα Gram-θετικά βακτήρια, όπως ο *Staphylococcus aureus* και ο *Enterococcus faecalis*, χαρακτηρίζονται από την απουσία εξωτερικής μεμβράνης αλλά από την παρουσία ενός εξαιρετικά παχέος στρώματος πεπτιδογλυκάνης (20–80 nm). Αυτό το παχύ κυτταρικό τοίχωμα προσφέρει αυξημένη μηχανική σταθερότητα και λειτουργεί ως μερικός φραγμός διάχυσης για τις ελεύθερες ρίζες. Η πεπτιδογλυκάνη, όντας ένα πυκνό πολυμερές πλέγμα, δρα ως «σπόγγος» που καταναλώνει τις βραχύβιες ρίζες $\cdot\text{OH}$ προτού αυτές καταφέρουν να φτάσουν στην ευαίσθητη κυτταροπλασματική μεμβράνη και να προκαλέσουν μη αναστρέψιμες βλάβες.

Επιπλέον, η παρουσία τειχοϊκών οξέων στο τοίχωμα των Gram-θετικών βακτηρίων προσδίδει ένα ισχυρό αρνητικό φορτίο, το οποίο επηρεάζει την προσρόφησή τους στον καταλύτη. Η απόδοση της αδρανοποίησης εξαρτάται έντονα από τη φυσικοχημική αλληλεπίδραση κυττάρου-καταλύτη, η οποία ρυθμίζεται από το pH του συστήματος σε σχέση με το σημείο μηδενικού φορτίου (pH_{pzc}) του TiO_2 . Σε συνθήκες όπου οι ηλεκτροστατικές απωθήσεις είναι έντονες, η αδρανοποίηση των Gram-θετικών βακτηρίων επιβραδύνεται δραματικά, καθώς οι ρίζες $\cdot\text{OH}$ αδυνατούν να γεφυρώσουν το χάσμα μεταξύ της επιφάνειας του ημιαγωγού και του κυττάρου^{16,17,27}.

5. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής είναι η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της ετερογενούς φωτοκαταλυτικής απολύμανσης τεσσάρων

παθογόνων βακτηρίων σε υδατικό μέσο, με χρήση εναιωρήματος διοξειδίου του τιτανίου (TiO_2 , 1,0 g/L) υπό συνθήκες προσομοιωμένου ηλιακού φωτός.

Ειδικότερα, μελετάται η κινητική αδρανοποίηση δύο Gram-αρνητικών (*Escherichia coli* και *Klebsiella pneumoniae*) και δύο Gram-θετικών (*Staphylococcus aureus* και *Enterococcus faecalis*) βακτηρίων, αξιολογείται η συμβολή της φωτόλυσης και της σκοτεινής τοξικότητας μέσω κατάλληλων πειραμάτων ελέγχου, ενώ επιχειρείται η συσχέτιση της φωτοκαταλυτικής συμπεριφοράς των μικροοργανισμών με τα δομικά χαρακτηριστικά του κυτταρικού τους περιβλήματος. Παράλληλα, εφαρμόζεται το τροποποιημένο μοντέλο Hom για τη μαθηματική περιγραφή των καμπυλών επιβίωσης και τον προσδιορισμό των βασικών κινητικών παραμέτρων της διεργασίας.

6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΜΕΡΟΣ

6.1 Αντιδραστήρια και Υλικά

6.1.1 Πρότυπα Μικροβιακά Στελέχη

Για τις ανάγκες των πειραμάτων φωτοκαταλυτικής απολύμανσης χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα (4) πρότυπα στελέχη μικροοργανισμών από τη διεθνή συλλογή ATCC (American Type Culture Collection), τα οποία επιλέχθηκαν με βάση τη δομή του κυτταρικού της περιβλήματος και την περιβαλλοντική της σημασία:

Gram-αρνητικά βακτήρια: *Escherichia coli* ATCC 25922 (πρότυπος οργανισμός-δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (παθογόνο στέλεχος με παχιά πολυσακχαριδική κάψα).

Gram-θετικά βακτήρια: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (πρότυπο παθογόνο βακτήριο με παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (ιδιαίτερα ανθεκτικός περιβαλλοντικός δείκτης).

6.1.2 Θρεπτικά Υλικά και Μέσα Καλλιέργειας

Για τη συντήρηση, την αναζωογόνηση, την ανάπτυξη και την ποσοτικοποίηση των μικροβιακών πληθυσμών χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα θρεπτικά μέσα, κατάλληλα για μικροβιολογική χρήση:

Αιματούχο άγαρ (Blood Agar): Στερεό θρεπτικό μέσο εμπλουτισμένο με απινιδωμένο αίμα προβάτου, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την αρχική ανακαλλιέργεια και αναζωογόνηση των πρότυπων στελεχών μετά την ανάκτησή τους από συνθήκες κατάψυξης.

Ζωμός Mueller–Hinton (Mueller–Hinton Broth, MHB): Υγρό θρεπτικό μέσο, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη των βακτηρίων και την παρασκευή των αρχικών μικροβιακών εναιωρημάτων εργασίας.

Άγαρ Mueller–Hinton (Mueller–Hinton Agar, MHA): Στερεό θρεπτικό μέσο σε τρυβλία Petri, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τον ενοφθαλμισμό των δειγμάτων, την ανάπτυξη των

αποικιών και την τελική ποσοτική καταμέτρησή τους με τη μέθοδο καταμέτρησης αποικιών (plate counting).

6.1.3 Φωτοκαταλύτης (TiO₂)

Ως φωτοκαταλύτης χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό διοξείδιο του τιτανίου TiO₂ P25 (Degussa). Ο συγκεκριμένος φωτοκαταλύτης αποτελεί ένα από τα πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενα υλικά αναφοράς στη φωτοκαταλυτική έρευνα λόγω της υψηλής φωτοκαταλυτικής του δραστηριότητας. Αποτελείται από νανοσωματίδια μίγματος δύο κρυσταλλικών φάσεων, ανατάση (περίπου 80%) και ρουτιλίου (περίπου 20%). Η συνύπαρξη των δύο αυτών φάσεων ευνοεί τον διαχωρισμό των φωτοπαραγόμενων ηλεκτρονίων και οπών (e^-/h^+), περιορίζοντας την επανασύνδεσή τους και ενισχύοντας την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) κατά την ακτινοβολήση του υλικού υπό συνθήκες προσομοιωμένου ηλιακού φωτός.

6.2 Πειραματική Διαδικασία Φωτοκαταλυτικής Αδρανοποίησης

Η πειραματική διαδικασία για την αξιολόγηση της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης των υπό μελέτη παθογόνων μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε σε υδατικά εναιωρήματα υπό ελεγχόμενες συνθήκες προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας και περιλάμβανε τα στάδια που ακολουθούν.

6.2.1 Προετοιμασία Αντιδραστήρα και εμβολιασμός

Σε γυάλινο αντιδραστήρα τύπου Duran ζυγίζονται με ακρίβεια 0,040 g του φωτοκαταλύτη TiO₂ P25 (Degussa). Στη συνέχεια προστίθενται 39,6 mL απεσταγμένου νερού. Το αιώρημα υποβάλλεται σε συνεχή μαγνητική ανάδευση για 10 λεπτά, ώστε να επιτευχθεί πλήρης διασπορά και ομογενοποίηση των νανοσωματιδίων του καταλύτη.

Το φιαλίδιο που περιέχει το εκάστοτε βακτηριακό εναιώρημα πυκνότητας 10⁸ cfu/mL (0,5 McFarland) αναδεύεται σε αναδευτήρα στροβιλισμού (Vortex) για την αποφυγή συσσωματώσεων των κυττάρων.

Στο ομογενοποιημένο αιώρημα του καταλύτη προστίθενται 400 μ L (0,4 mL) από το βακτηριακό εναιώρημα εργασίας. Με τον τρόπο αυτό ο τελικός όγκος του αντιδραστήρα διαμορφώνεται στα 40,0 mL, εξασφαλίζοντας τελική συγκέντρωση φωτοκαταλύτη 1,0 g/L

και αρχική συγκέντρωση μικροοργανισμών της τάξης των $\approx 1,25 \times 10^6$ cfu/mL ($\approx 6,1 \log_{10}$ cfu/mL), τιμή η οποία συμφωνεί με τα πειραματικά δεδομένα.

6.2.2 Φωτοκαταλυτική Διεργασία και Περιοδική Δειγματοληψία

Το μίγμα αναδεύεται για σύντομο χρονικό διάστημα στο σκοτάδι. Στη συνέχεια η ανάδευση διακόπτεται προσωρινά και λαμβάνεται κλάσμα όγκου 20 μ L. Το δείγμα επιστρέφεται άμεσα σε τρυβλίο που περιέχει στερεό θρεπτικό υλικό Mueller–Hinton Agar (MHA), με τη χρήση αποστειρωμένου πλαστικού κρίκου ενοφθαλμισμού (inoculation loop).

Ο αντιδραστήρας μεταφέρεται άμεσα στον προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας. Ενεργοποιείται λυχνία ξένου (Xe) με φίλτρο αποκοπής στα 290 nm (UV cut-off filter), ώστε να προσομοιωθεί το φάσμα της ηλιακής ακτινοβολίας που φθάνει στην επιφάνεια της Γης. Καθ' όλη τη διάρκεια της φωτοκαταλυτικής διεργασίας το εναιώρημα διατηρείται υπό συνεχή μαγνητική ανάδευση, ώστε να εξασφαλίζεται η ομοιόμορφη κατανομή τόσο των νανοσωματιδίων όσο και των μικροοργανισμών.

Ανά χρονικά διαστήματα 10 λεπτά (έως τη συμπλήρωση του συνολικού χρόνου έκθεσης για κάθε μικροοργανισμό) η ανάδευση διακόπτεται στιγμιαία και λαμβάνεται κλάσμα 20 μ L από το υπερκείμενο υγρό, το οποίο επιστρέφεται άμεσα σε αριθμημένα τρυβλία MHA. Μόνο για το *E. faecalis* η δειγματοληψία πραγματοποιείται ανά 15 λεπτά, λόγω της αναμενόμενης βραδύτερης κινητικής αδρανοποίησης.

6.2.3 Επώαση και Ποσοτικοποίηση

Όλα τα ενοφθαλμισμένα τρυβλία Mueller–Hinton Agar (MHA) μεταφέρονται σε επωαστικό θάλαμο και επωάζονται υπό αερόβιες συνθήκες στους 37 °C για 24 ώρες.

Μετά το πέρας της επώασης πραγματοποιείται καταμέτρηση των αποικιών που έχουν αναπτυχθεί. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μονάδες σχηματισμού αποικιών ανά mL (cfu/mL) και στη συνέχεια μετατρέπονται σε λογαριθμική κλίμακα ($\log_{10}$ cfu/mL) για τη μελέτη της κινητικής της μικροβιακής αδρανοποίησης.

6.2.4 Πειράματα ελέγχου

Για την επιβεβαίωση της φωτοκαταλυτικής δράσης και τον αποκλεισμό εξωγενών παραγόντων πραγματοποιήθηκαν τέσσερις (4) ανεξάρτητες σειρές δοκιμών για κάθε μικροοργανισμό:

-Πείραμα στο σκοτάδι

Παρουσία φωτοκαταλύτη (1,0 g/L) χωρίς ακτινοβολία για 60 λεπτά, με σκοπό τον έλεγχο πιθανής σκοτεινής τοξικότητας των νανοσωματιδίων στα βακτηριακά κύτταρα.

-Πείραμα απλής φωτόλυσης

Έκθεση του μικροβιακού εναιωρήματος σε προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία χωρίς την προσθήκη καταλύτη (TiO_2), για την αξιολόγηση της άμεσης επίδρασης της ακτινοβολίας στους μικροοργανισμούς.

-Φωτοκαταλυτικά πειράματα

Δύο (2) ανεξάρτητες επαναληπτικές πειραματικές σειρές υπό ταυτόχρονη παρουσία καταλύτη και ακτινοβολίας, όπως περιγράφηκε ανωτέρω. Οι τελικές καμπύλες επιβίωσης προέκυψαν από τον μέσο όρο των δύο αυτών επαναλήψεων.

7.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Για την αποτελεσματικότερη οπτικοποίηση της βακτηριακής αδρανοποίησης, η οποία εκτείνεται σε αρκετές τάξεις μεγέθους, τα πειραματικά δεδομένα της συγκέντρωσης των βιώσιμων κυττάρων εκφράζονται σε λογαριθμική κλίμακα βάσης 10 ($\log_{10}$ cfu/mL). Με τον τρόπο αυτό διευκολύνεται η γραφική αναπαράσταση της κινητικής της απολύμανσης και ο προσδιορισμός της συνολικής λογαριθμικής μείωσης (Log Μείωση, LR) του μικροβιακού φορτίου, η οποία ορίζεται ως:

$$\text{Log Μείωση} = \log_{10}(N_0/N_t)$$

όπου N_0 είναι η αρχική συγκέντρωση και N_t η συγκέντρωση σε χρόνο t .

7.0.1. Καθορισμός Χρονικών Οροσέμων Απολύμανσης

Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της φωτοκαταλυτικής απολύμανσης πραγματοποιείται μέσω των χρονικών οροσέμων μείωσης του μικροβιακού φορτίου κατά 3-log (99,9%) και 5-log (99,999%), πρακτική ευρέως χρησιμοποιούμενη στη διεθνή βιβλιογραφία και συνδεδεμένη με πρότυπα δημόσιας υγείας και ασφάλειας⁷⁵. Ειδικότερα, η επίτευξη μείωσης 5-log αποτελεί το διεθνές «χρυσό πρότυπο» (gold standard) σύμφωνα με τα Ευρωπαϊκά Πρότυπα EN 1276 και EN 13697 για τον επίσημο χαρακτηρισμό μιας διεργασίας ως πλήρως βακτηριοκτόνου. Παράλληλα, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) και ο Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (US EPA) ορίζουν ότι για την εξασφάλιση ασφαλούς και πόσιμου νερού απαιτούνται μειώσεις της τάξης των 3 έως 4-log για ανθεκτικά πρωτόζωα και ιούς, και έως 5 ή 6-log για βακτηριακά στελέχη⁷⁶. Συνεπώς, η μελέτη των συγκεκριμένων χρονικών οροσέμων ($t_{3\text{-log}}$ και $t_{5\text{-log}}$) επιτρέπει την άμεση και αξιόπιστη σύγκριση της κινητικής αδρανοποίησης μεταξύ Gram-θετικών και Gram-αρνητικών μικροοργανισμών^{32,77} προσφέροντας μια ρεαλιστική εκτίμηση της δυνατότητας εφαρμογής της φωτοκατάλυσης σε πραγματικές μονάδες επεξεργασίας νερού και υγρών αποβλήτων^{77,78}.

7.0.2. Επιλογή Μοντέλου Μαθηματικής Προσομοίωσης

Η κινητική μελέτη της φωτοκαταλυτικής απολύμανσης έχει παραδοσιακά βασιστεί σε κλασικά μοντέλα, όπως τα Chick–Watson και Langmuir–Hinshelwood. Ωστόσο, τα συγκεκριμένα μοντέλα δεν χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, καθώς βασίζονται

σε απλουστευμένες υποθέσεις γραμμικής ή ψευδο-πρώτης τάξης κινητικής και δεν μπορούν να περιγράψουν τις έντονα μη γραμμικές αποκλίσεις που παρατηρούνται στις πειραματικές καμπύλες επιβίωσης των μικροοργανισμών.

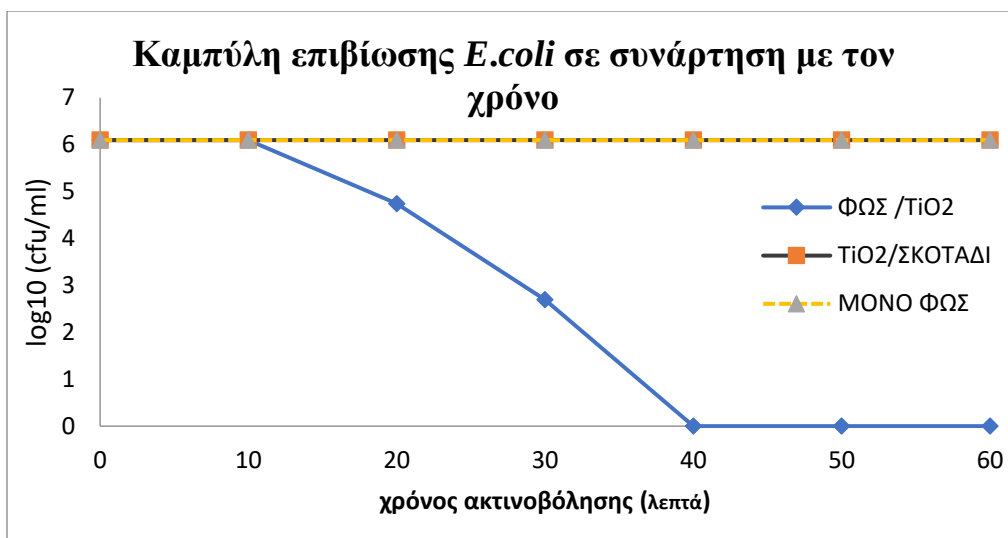
Ειδικότερα, το μοντέλο Langmuir–Hinshelwood, αν και ευρέως χρησιμοποιείται για την περιγραφή της φωτοκαταλυτικής αποικοδόμησης οργανικών ρύπων, παρουσιάζει περιορισμούς στην εφαρμογή του σε διεργασίες απολύμανσης, λόγω της πολυπλοκότητας των φυσικοχημικών και βιολογικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ καταλύτη και μικροβιακών κυττάρων. Αντίστοιχα, το μοντέλο Chick–Watson δεν λαμβάνει υπόψη τη χαρακτηριστική αρχική φάση προσαρμογής (shoulder effect) ούτε την επιβράδυνση της κινητικής σε υψηλούς χρόνους έκθεσης (tailing effect))^{32,79}.

Για την υπέρβαση των παραπάνω περιορισμών επιλέχθηκε το τροποποιημένο μοντέλο Hom⁸⁰. Η καταλληλότητα του μοντέλου αυτού έναντι των κλασικών προσεγγίσεων τεκμηριώνεται εκτενώς στη βιβλιογραφία, καθώς οι πρόσθετες εμπειρικές παράμετροι που ενσωματώνει του προσδίδουν τη δυνατότητα ευέλικτης προσαρμογής στις πειραματικές καμπύλες επιβίωσης. Με τον τρόπο αυτό, το μοντέλο δύναται να περιγράψει με ικανοποιητική ακρίβεια τόσο την αρχική φάση προσαρμογής (φάση «ώμου») όσο και την τελική επιβράδυνση της αδρανοποίησης (φάση «ουράς»), παρέχοντας μια ρεαλιστική και επαρκώς αντιπροσωπευτική μαθηματική περιγραφή της κινητικής απολύμανσης^{78,81}.

7.1. *Escherichia coli* ATCC 25922

7.1.1. Καμπύλες Επιβίωσης

Στην Εικόνα 3 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι καμπύλες επιβίωσης του *E. coli* για τις δοκιμές ελέγχου και τη φωτοκαταλυτική διεργασία.



Εικόνα 3 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου *E. Coli* παρουσία TiO_2 υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα του πειράματος στο σκοτάδι (TiO_2 / απουσία φωτός), η συγκέντρωση του *E. coli* παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια των 60 λεπτών της δοκιμής ($\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$). Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνει ότι ο καταλύτης TiO_2 δεν εμφανίζει τοξικότητα στο σκατάδι και δεν προκαλεί αδρανοποίηση των κυττάρων απουσία ακτινοβολίας. Κατά την ακτινοβόληση (απουσία καταλύτη TiO_2), δεν παρατηρήθηκε μείωση του πληθυσμού του μικροοργανισμού, ο οποίος παρέμεινε σταθερά στα $\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ έως το $t = 60$ λεπτά. Το εύρημα αυτό υποδεικνύει ότι η προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία από μόνη της δεν επαρκεί για την άμεση φωτολυτική αδρανοποίηση των κυττάρων στο συγκεκριμένο χρονικό πλαίσιο, καθιστώντας απαραίτητη τη συνέργεια φωτός και καταλύτη⁸².

Η διεργασία της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης (TiO_2 /Φως), εξελίσσεται σε τρεις διακριτές φάσεις:

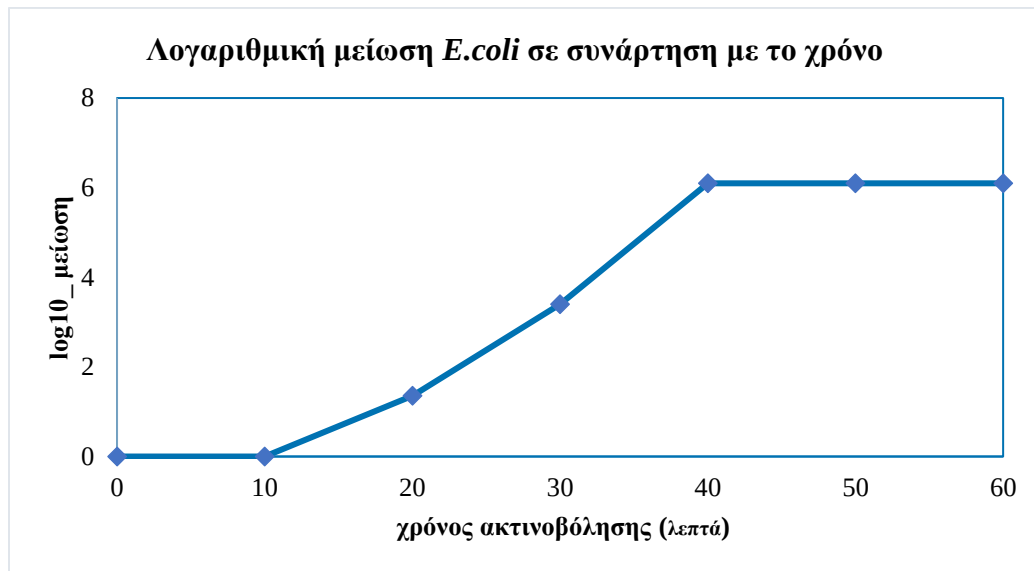
Φάση καθυστέρησης [0–10 λεπτά]: Η συγκέντρωση παραμένει σταθερή στα $6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$.

Φάση ραγδαίας μείωσης [10–40 λεπτά]: Παρατηρείται έντονη μείωση του πληθυσμού. Στο $t = 20$ λεπτά η συγκέντρωση μειώνεται στα $4,7 \log_{10} \text{ cfu/mL}$, στο $t = 30$ λεπτά στα $2,6 \log_{10} \text{ cfu/mL}$, ενώ στο $t = 40$ λεπτά επιτυγχάνεται πλήρης απενεργοποίηση ($0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$).

Φάση πλήρους εξάλειψης [40–60 λεπτά]: Η συγκέντρωση παραμένει μηδενική έως το τέλος του πειράματος, επιβεβαιώνοντας την ολοκλήρωση της απολύμανσης.

7.1.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης

Για την ποσοτική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της διεργασίας κατασκευάστηκε η καμπύλη λογαριθμικής μείωσης σε συνάρτηση με τον χρόνο έκθεσης.



Εικόνα 4 Κινητική αδρανοποίησης του βακτηρίου *E. Coli* σε συνάρτηση με τον χρόνο

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα, υπολογίστηκαν οι κρίσιμες κινητικές παράμετροι αδρανοποίησης του *E. coli*:

Χρόνος δεκαδικής μείωσης (D):

Η τιμή D εκφράζει τον χρόνο που απαιτείται για μείωση του πληθυσμού κατά 90% (1 λογαριθμικός κύκλος) και υπολογίζεται αποκλειστικά κατά την ενεργό φάση αδρανοποίησης από τη σχέση:

$$D = \frac{\Delta t}{\Delta \log} = \frac{(t_2 - t_1)}{LR_2 - LR_1}$$

όπου t_1 και t_2 αντιστοιχούν στους χρόνους έναρξης και λήξης της γραμμικής φάσης, και LR_1 και LR_2 στις αντίστοιχες τιμές λογαριθμικής μείωσης.

Για την ενεργό φάση αδρανοποίησης του *E. coli* ($t = 10\text{--}40$ λεπτά), η τιμή D υπολογίζεται ως:

$$D = \frac{(40 - 10)}{(6,1 - 0)} = \frac{30}{6,1} = 4,9$$

Συνεπώς, κατά την ενεργό φάση της διεργασίας απαιτούνται 4,9 λεπτά για τη μείωση του πληθυσμού των βακτηρίων κατά 90% (1 λογαριθμικός κύκλος).

Υπολογισμός χρόνου 3-log και 5-log μείωσης

Για τον ακριβή προσδιορισμό των χρονικών σημείων επίτευξης των οροσήμων αδρανοποίησης 3-log (99,9%) και 5-log (99,999%) εφαρμόζεται ο γενικός τύπος γραμμικής παρεμβολής:

$$t = t_1 + \frac{(y - y_1) \times (t_2 - t_1)}{(y_2 - y_1)}$$

όπου y η επιθυμητή λογαριθμική μείωση (3 ή 5), t_1 και t_2 τα όρια του χρονικού διαστήματος εντός του οποίου επιτυγχάνεται ο στόχος, και y_1 και y_2 οι αντίστοιχες τιμές λογαριθμικής μείωσης στα όρια αυτά.

Για τη μείωση 3-log (εντός του διαστήματος $t \in [20, 30]$ λεπτά), με $y_1 = 1,36$ ($t = 20$ λεπτά) και $y_2 = 3,40$ ($t = 30$ λεπτά), εφαρμόζεται γραμμική παρεμβολή:

$$t^3 - \log = 20 + \frac{(3 - 1,36) \times (30 - 20)}{(3,40 - 1,36)}$$

$$t_3 - \log = 20 + \frac{1,64 \times 10}{2,04} = 28,0 \text{ λεπτά}$$

Για τη μείωση 5-log (εντός του διαστήματος $t \in [30, 40]$ λεπτά), με $y_1 = 3,40$ ($t = 30$ λεπτά) και $y_2 = 6,10$ ($t = 40$ λεπτά):

$$t_{5-\log} = 30 + \frac{(5 - 3,40) \times (40 - 30)}{(6,10 - 3,40)}$$

$$t_5 - \log = 30 + \frac{1,60 \times 10}{2,70} = 35,9 \text{ λεπτά}$$

7.1.3. Κινητική Μελέτη

Για την ακριβή μαθηματική περιγραφή της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του *E. coli*, τα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν στο τροποποιημένο μοντέλο Hom (Modified Hom model), το οποίο εκφράζεται από την ακόλουθη τριπαραμετρική εξίσωση:

$$\text{Log} (N/N_0) = -k_1 [1 - \exp(-k_2 t)]^{k_3}$$

όπου N_0 και N είναι ο αρχικός και ο τρέχων πληθυσμός των μικροοργανισμών (cfu/mL), k_1 η παράμετρος μέγιστης αδρανοποίησης, k_2 (λεπτά⁻¹) η σταθερά ταχύτητας της εκθετικής φάσης και k_3 ο εκθέτης σχήματος ($k_3 > 1$ υποδηλώνει την ύπαρξη φάσης ώμου).

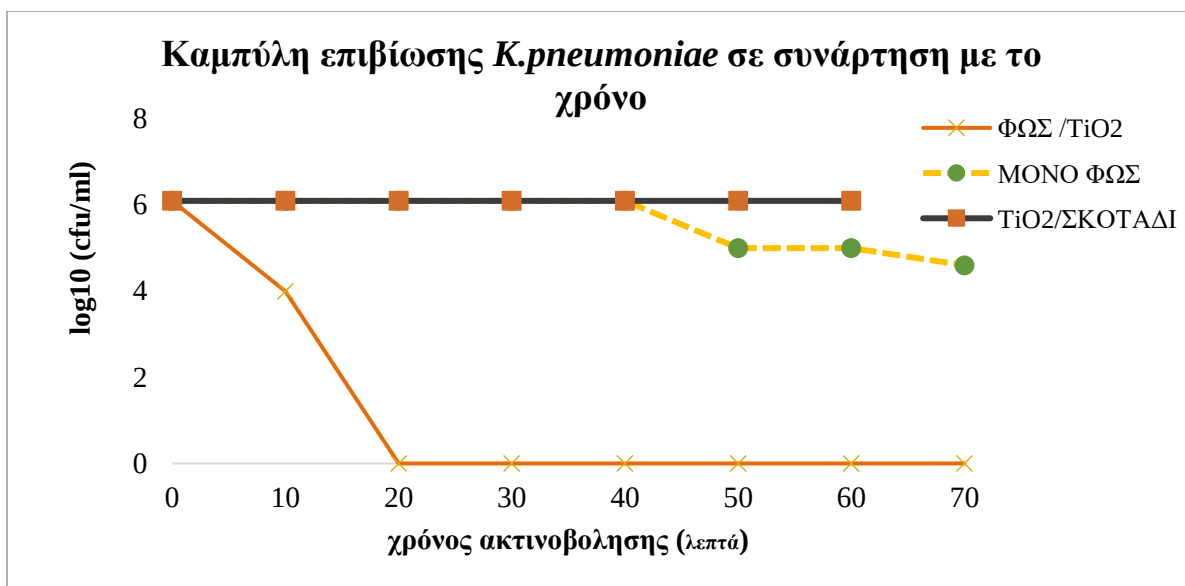
Από την προσαρμογή προέκυψαν οι τιμές $k_1 = 6,43$, $k_2 = 0,118 \text{ λεπτά}^{-1}$ και $k_3 = 17,59$, με υψηλό συντελεστή προσδιορισμού ($R^2 = 0,986$) και χαμηλό σφάλμα ($\text{SSE} = 0,66$). Η υψηλή τιμή του k_3 επιβεβαιώνει την παρουσία έντονης αρχικής φάσης ώμου (διάρκειας περίπου 10 λεπτά), όπως παρατηρήθηκε πειραματικά.

Οι παράμετροι συνοψίζονται στον Πίνακα 2 (Ενότητα 6.5), όπου ακολουθεί λεπτομερής σύγκριση και ερμηνεία τους σε σχέση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς.

7.2. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883

7.2.1. Καμπύλες Επιβίωσης

Στην Εικόνα 5 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι καμπύλες επιβίωσης της *K. pneumoniae* για τις δοκιμές ελέγχου και τη φωτοκαταλυτική διεργασία.



Εικόνα 5 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου *K.pneumoniae* παρουσία TiO_2 υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.

Από τα πειραματικά δεδομένα προκύπτουν τα εξής:

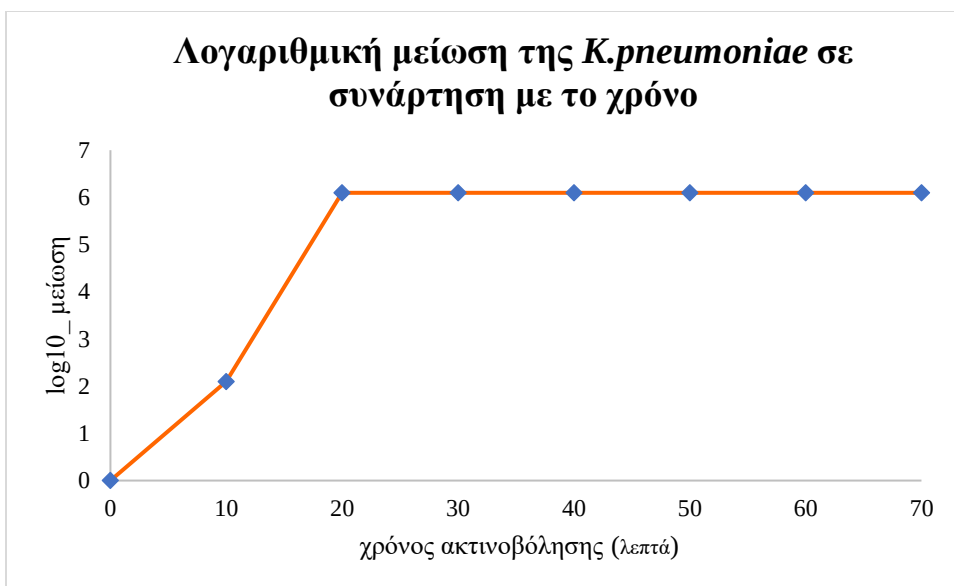
Πείραμα στο σκοτάδι (TiO_2 / απουσία φωτός): Η συγκέντρωση της *K. pneumoniae* παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια των 60 λεπτών της δοκιμής ($\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$). Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνει την απουσία σκοτεινής τοξικότητας του καταλύτη.

Πείραμα μόνο με φως (απουσία καταλύτη TiO_2): Παρατηρήθηκε σταδιακή, μερική μείωση του πληθυσμού (από $\approx 6,10 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ σε $\approx 4,6 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ έως το $t = 70$ λεπτά). Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει σχετική ευαισθησία του συγκεκριμένου στελέχους στην υπεριώδη ακτινοβολία (φωτόλυση), η οποία ωστόσο δεν επαρκεί για την πλήρη απολύμανση του μέσου.

Φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση (TiO_2 / φως): Η διεργασία οδηγεί σε ταχεία και πλήρη αδρανοποίηση του παθογόνου σε 20 λεπτά. Η *K. pneumoniae* παρουσιάζει ήπιο φαινόμενο ώμου κατά τα πρώτα 10 λεπτά (μείωση περίπου 2,1 log), μετά το οποίο ακολουθεί απότομη μείωση έως το όριο πλήρους αδρανοποίησης ($0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$) στο $t = 20$ λεπτά.

7.2.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης

Η κινητική της λογαριθμικής μείωσης της *K. pneumoniae* σε συνάρτηση με τον χρόνο ακτινοβολήσης απεικονίζεται στην Εικόνα 6



Εικόνα 6 Καμπύλη λογαριθμικής μείωσης του πληθυσμού του *K.pneumoniae* σε συνάρτηση με τον χρόνο ακτινοβολίας (λεπτά).

Υπολογισμός του Χρόνου Δεκαδικής Μείωσης (Τιμή D):

Λόγω της μη γραμμικότητας της καμπύλης, οι υπολογισμοί των κινητικών παραμέτρων πραγματοποιήθηκαν διακριτά για τις επιμέρους φάσεις της διεργασίας ($t = 0-10$ λεπτά και $t = 10-20$ λεπτά), όπου η μείωση προσεγγίζεται ως γραμμική.

Συνεπώς, για το χρονικό διάστημα $t = 0-10$ λεπτά ισχύει:

$$D1 = \frac{(10 - 0)}{(2.1 - 0)} = \frac{10}{2.1} = 4.76 \text{ λεπτά}$$

Για το χρονικό διάστημα από $t=10$ έως $t=20$ λεπτά ισχύει:

$$D2 = \frac{(20 - 10)}{(6.1 - 2.1)} = \frac{10}{4} = 2.5 \text{ λεπτά}$$

Τέλος, εάν επιθυμούμε μια μακροσκοπική απεικόνιση του χρόνου δεκαδικής μείωσης για τη συνολική διάρκεια της φωτοκαταλυτικής διεργασίας, ισχύει:

Για το χρονικό διάστημα $t = 0-20$ λεπτά ισχύει:

$$D_{total} = \frac{(20 - 0)}{(6.1 - 0)} = \frac{20}{6.1} = 3.28 \text{ λεπτά}$$

Υπολογισμός του Χρόνου 3-log και 5-log μείωση

Επειδή και οι δύο τιμές στόχου (3-log και 5-log) βρίσκονται εντός της δεύτερης γραμμικής φάσης ταχείας αδρανοποίησης ($t \in [10, 20]$ λεπτά), με σταθερό ρυθμό μείωσης ($D = 2,5$ λεπτά, δηλαδή $0,4 \log/\text{λεπτά}$), οι αντίστοιχοι χρόνοι υπολογίζονται λαμβάνοντας ως σημείο αναφοράς τη μείωση 2,1-log που έχει ήδη επιτευχθεί στο $t = 10$ λεπτά.

3-log μείωση:

$$t_{3\text{-log}} = 10 + (3 - 2,1) \times 2,5 = 12,25 \text{ λεπτά}$$

5-log μείωση:

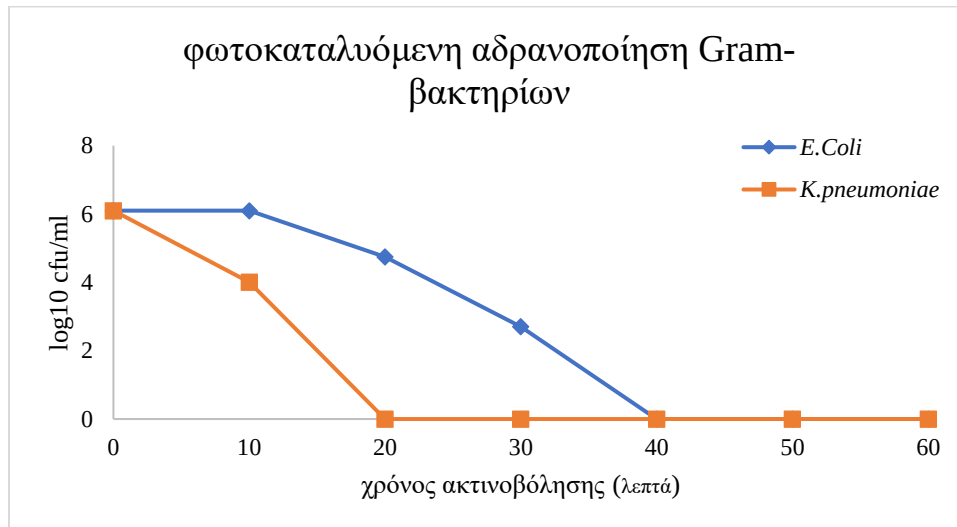
$$t_{5\text{-log}} = 10 + (5 - 2,1) \times 2,5 = 17,25 \text{ λεπτά}$$

7.2.3. Κινητική Μελέτη

Για την κινητική μελέτη της αδρανοποίησης του βακτηρίου *K. pneumoniae* τα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν επίσης στο τροποποιημένο μοντέλο Hom. Από την ανάλυση προέκυψαν οι τιμές $k_1 = 6,10$, $k_2 = 0,590 \text{ λεπτά}^{-1}$ και $k_3 = 380,78$, με άριστη προσαρμογή στα δεδομένα ($R^2 = 1,000$ και $SSE = 0,0003$).

Η υψηλή τιμή του k_3 αποτυπώνει μαθηματικά την έντονη συμπεριφορά κατωφλίου του συγκεκριμένου βακτηρίου κατά την έναρξη της διεργασίας, ενώ η τιμή της σταθεράς k_2 υποδεικνύει ταχεία κινητική αδρανοποίησης μετά τη φάση προσαρμογής. Συγκριτικά με το *E. coli*, η *K. pneumoniae* εμφανίζει σημαντικά ταχύτερη εξουδετέρωση στην κύρια φάση της διεργασίας, όπως παρουσιάζεται στον συγκεντρωτικό Πίνακα 3 (Ενότητα 7.5.4).

7.a Συγκριτική μελέτη Gram αρνητικών βακτηρίων



Εικόνα 7 Συγκριτική απεικόνιση φωτοκαταλυόμενης αδρανοποίησης Gram- βακτηρίων με TiO₂ προσομοιωμένο ηλιακό φως

Η συγκριτική ανάλυση των καμπυλών επιβίωσης των δύο Gram-αρνητικών βακτηρίων αποκαλύπτει σαφείς διαφοροποιήσεις στη συμπεριφορά τους κατά τη φωτοκαταλυτική διεργασία:

Φάση ώμου: Το *E. coli* εμφανίζει διακριτή αρχική φάση σταθερότητας διάρκειας περίπου 10 λεπτά, κατά την οποία ο πληθυσμός παραμένει ουσιαστικά αμετάβλητος. Αντίθετα, η *K. pneumoniae* παρουσιάζει σχεδόν άμεση έναρξη αδρανοποίησης, με ήπια αλλά μετρήσιμη μείωση ήδη στο 10ο λεπτό (από $\approx 6,1$ σε $4,0 \log_{10} \text{cfu/mL}$).

Ταχύτητα και χρόνος πλήρους αδρανοποίησης: Μετά την αρχική φάση, η *K. pneumoniae* εμφανίζει ταχεία κινητική αδρανοποίησης, επιτυγχάνοντας πλήρη εξάλειψη ($6,1\text{-log}$ μείωση) σε 20 λεπτά. Ο χρόνος αυτός είναι περίπου ο μισός από τον αντίστοιχο του *E. coli* (40 λεπτά)⁸³. Η διαφοροποίηση αυτή αποτυπώνεται και στους μέσους χρόνους δεκαδικής μείωσης, με την *K. pneumoniae* ($D_{\text{total}} = 3,28$ λεπτά) να παρουσιάζει χαμηλότερη τιμή από το *E. coli* ($D = 4,92$ λεπτά).

Η διαφορετική συμπεριφορά ερμηνεύεται από τη δομή της κυτταρικής επιφάνειας και τον τρόπο αλληλεπίδρασης με τον φωτοκαταλύτη. Η *K. pneumoniae* περιβάλλεται από παχιά πολυσακχαριδική κάψα, η οποία επηρεάζει διαφορετικά τη διεργασία ανάλογα με τις συνθήκες. Στην απλή φωτόλυση (απουσία καταλύτη): η κάψα λειτουργεί ως φυσικό και

οπτικό φράγμα, απορροφώντας και διασκορπίζοντας την υπεριώδη ακτινοβολία και περιορίζοντας τη βλάβη στο DNA. Αυτό εξηγεί την περιορισμένη αδρανοποίηση στο πείραμα ελέγχου.

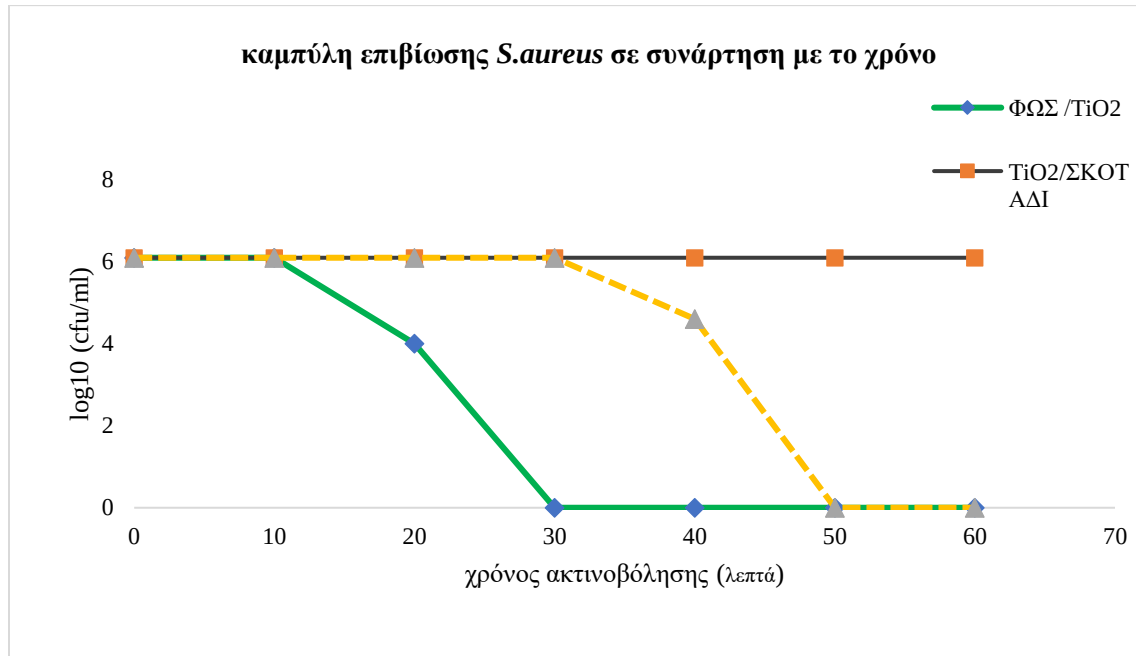
Στη φωτοκατάλυση, η ίδια δομή διευκολύνει την προσρόφηση και συγκέντρωση νανοσωματιδίων TiO_2 στην κυτταρική επιφάνεια. Παρόλο που σε ουδέτερο pH τόσο το TiO_2 όσο και η πολυσακχαριδική κάψα φέρουν αρνητικό φορτίο (προκαλώντας ηλεκτροστατική απώθηση)^{77,84}, η προσκόλληση ερμηνεύεται μέσω της Εκτεταμένης Θεωρίας DLVO (XDLVO)⁸⁵. Σύμφωνα με τη θεωρία XDLVO, σε μικρές αποστάσεις διαχωρισμού (<5 nm), οι ελκτικές οξεοβασικές αλληλεπιδράσεις κατά Lewis (*GAB*, υδρόφοβη έλξη και δεσμοί υδρογόνου) υπερνικούν την ηλεκτροστατική απώθηση, οδηγώντας στη δημιουργία πρωτεύοντος ελαχίστου ενέργειας και στη σταθερή προσκόλληση του καταλύτη στο πολυσακχαριδικό καψίδιο. Αυτό συνεπάγεται αυξημένη τοπική παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) σε άμεση γειτνίαση με το κύτταρο⁸⁵⁻⁸⁷.

Στο *E. coli*, η απουσία εκτεταμένης πολυσακχαριδικής κάψας οδηγεί σε πιο διάχυτη κατανομή του καταλύτη στο μέσο. Η αδρανοποίηση εξαρτάται κυρίως από τη διάχυση των ROS προς το κύτταρο, γεγονός που επιβραδύνει την αρχική δράση λόγω φαινομένων μεταφοράς μάζας. Επιπλέον, τα ενδοκυττάρια αντιοξειδωτικά συστήματα (καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση) μπορούν προσωρινά να μετριάσουν το οξειδωτικό στρες, οδηγώντας στην παρατηρούμενη φάση ώμου (~10 λεπτά) μέχρι την εξάντληση των αμυντικών μηχανισμών και την ταχεία κατάρρευση του κυτταρικού περιβλήματος⁸⁶.

Η παραπάνω συμπεριφορά υποστηρίζεται από τις παραμέτρους του τροποποιημένου μοντέλου Hom (Πίνακας 3). Η σταθερά k_2 της *K. pneumoniae* (0,590 λεπτά⁻¹) είναι σημαντικά υψηλότερη από εκείνη του *E. coli* (0,118 λεπτά⁻¹), υποδηλώνοντας ταχύτερη κινητική αδρανοποίησης μετά την αρχική φάση. Αντίστοιχα, η πολύ υψηλή τιμή του k_3 για την *K. pneumoniae* (380,78 έναντι 17,59) αντικατοπτρίζει έντονη συμπεριφορά κατωφλίου κατά την έναρξη της διεργασίας.

7.3. *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923

7.3.1. Καμπύλες Επιβίωσης



Εικόνα 8 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου *S.aureus* παρουσία TiO_2 υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.

Από τα πειραματικά δεδομένα προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

Πείραμα στο σκοτάδι (TiO_2 / απουσία φωτός): Η συγκέντρωση του *S. aureus* παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια των 60 λεπτών της δοκιμής ($\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$), επιβεβαιώνοντας την απουσία σκοτεινής τοξικότητας του καταλύτη.

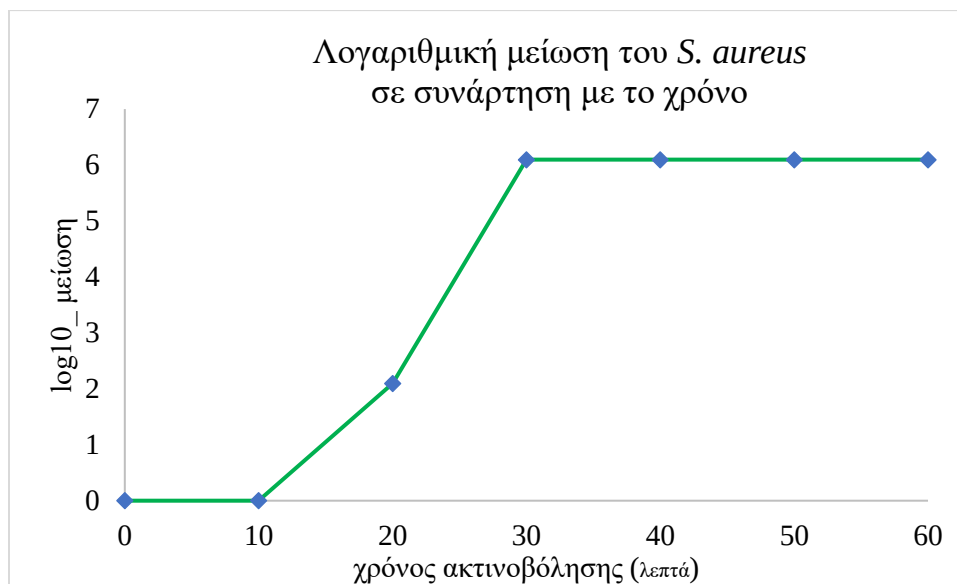
Πείραμα μόνο με φως (απουσία καταλύτη): Παρατηρήθηκε παρατεταμένη φάση ώμου διάρκειας περίπου 30 λεπτών, κατά την οποία ο πληθυσμός παρέμεινε σταθερός στα $\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$. Η φάση αυτή υποδηλώνει την ύπαρξη ισχυρών ενδογενών μηχανισμών άμυνας και επιδιόρθωσης των αρχικών υποθανατηφόρων βλαβών που προκαλεί η ακτινοβολία 88. Μετά το 30ό λεπτό ξεκίνησε η φάση εκθετικής αδρανοποίησης, οδηγώντας σε πλήρη εξάλειψη ($0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$) στο $t = 50$ λεπτά.

Φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση (TiO_2 /φως): Η φωτοκατάλυση επιταχύνει σημαντικά τη διεργασία απολύμανσης. Κατά τα πρώτα 10 λεπτά παρατηρείται φάση ώμου, όπου ο πληθυσμός παραμένει σταθερός στα $\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ λόγω της αρχικής αντίστασης των

εξωτερικών προστατευτικών στρωμάτων του βακτηρίου 86. Στη συνέχεια, οι αμυντικοί μηχανισμοί εξασθενούν, οδηγώντας σε μείωση του πληθυσμού στα $4,6 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ στο $t = 20$ λεπτά (μείωση περίπου $2,1 \log$) και σε πλήρη αδρανοποίηση ($0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$) στο $t = 30$ λεπτά.

7.3.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης

Η κινητική της λογαριθμικής μείωσης του *S. aureus* σε συνάρτηση με τον χρόνο έκθεσης απεικονίζεται στην Εικόνα 9.



Εικόνα 9 Λογαριθμική μείωση ($\log_{10}$ μείωση) του πληθυσμού του Gram-θετικού βακτηρίου *S.aureus* κατά τη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση, σε συνάρτηση με τον χρόνο

Υπολογισμός Χρόνου Δεκαδικής Μείωσης (Τιμή D):

Λόγω της μεταβολής της κλίσης της καμπύλης, η ενεργός φάση αδρανοποίησης ($t = 10$ – 30 λεπτά) αναλύθηκε σε δύο επιμέρους στάδια, αναδεικνύοντας τον διαφασικό χαρακτήρα της διεργασίας.

Χρόνος δεκαδικής μείωσης (D):

Πρώτο στάδιο ενεργού αδρανοποίησης ($t = 10$ – 20 λεπτά):

$$D1 = \frac{(20 - 10)}{(6.1 - 4)} = \frac{10}{2.1} = 4.76 \text{ λεπτά}$$

Δεύτερο στάδιο ενεργού αδρανοποίησης ($t = 20\text{--}30$ λεπτά):

$$D2 = \frac{(30 - 20)}{(6.1 - 2.1)} = \frac{10}{4} = 2.5 \text{ λεπτά}$$

Συνολική αδρανοποίηση ($t=10\text{--}30$ λεπτά): Θεωρώντας ενιαία τη φάση αδρανοποίησης από το τέλος της φάσης ώμου έως την πλήρη εξάλειψη, ο συνολικός χρόνος δεκαδικής μείωσης (D_{total}) υπολογίζεται ως:

$$D_{\text{total}} = \frac{(30 - 10)}{(6.1 - 0)} = \frac{20}{6.1} = 3.48 \text{ λεπτά}$$

Υπολογισμός του Χρόνου 3-log και 5-log μείωση

Λόγω του ότι και οι δύο τιμές στόχου (3-log και 5-log) βρίσκονται εντός της δεύτερης γραμμικής φάσης ταχείας αδρανοποίησης ($t \in [20, 30]$ λεπτά), με σταθερό ρυθμό μείωσης ($D = 2,5$ λεπτά, δηλαδή $0,4 \text{ log/λεπτά}$), οι αντίστοιχοι χρόνοι υπολογίζονται με βάση τη μείωση 2,1-log που έχει ήδη επιτευχθεί στο $t = 10$ λεπτά:

3-log μείωση:

$$t_{3\text{-log}} = 20 + (3 - 2,1) \times 2,5 = 22,25 \text{ λεπτά}$$

5-log μείωση:

$$t_{5\text{-log}} = 20 + (5 - 2,1) \times 2,5 = 27,25 \text{ λεπτά}$$

7.3.3. Κινητική Μελέτη

Για την κινητική μελέτη της αδρανοποίησης του *S. aureus*, τα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν στο τροποποιημένο μοντέλο Hom. Από την ανάλυση προέκυψαν οι τιμές $k_1 = 6,11$, $k_2 = 0,50 \text{ λεπτά}^{-1}$ και $k_3 = 25648,23$, με άριστη προσαρμογή στα δεδομένα ($R^2 = 1,000$ και $\text{SSE} = 0,0013$).

Η ιδιαίτερα υψηλή τιμή του εκθέτη σχήματος k_3 ($k_3 \gg 1$) αποτελεί μαθηματική ένδειξη ενός εξαιρετικά απότομου, σχεδόν «τετραγωνισμένου» ώμου στην καμπύλη επιβίωσης του *S. aureus*. Παράλληλα, η τιμή της σταθεράς k_2 υποδηλώνει ότι, μετά την υπέρβαση των

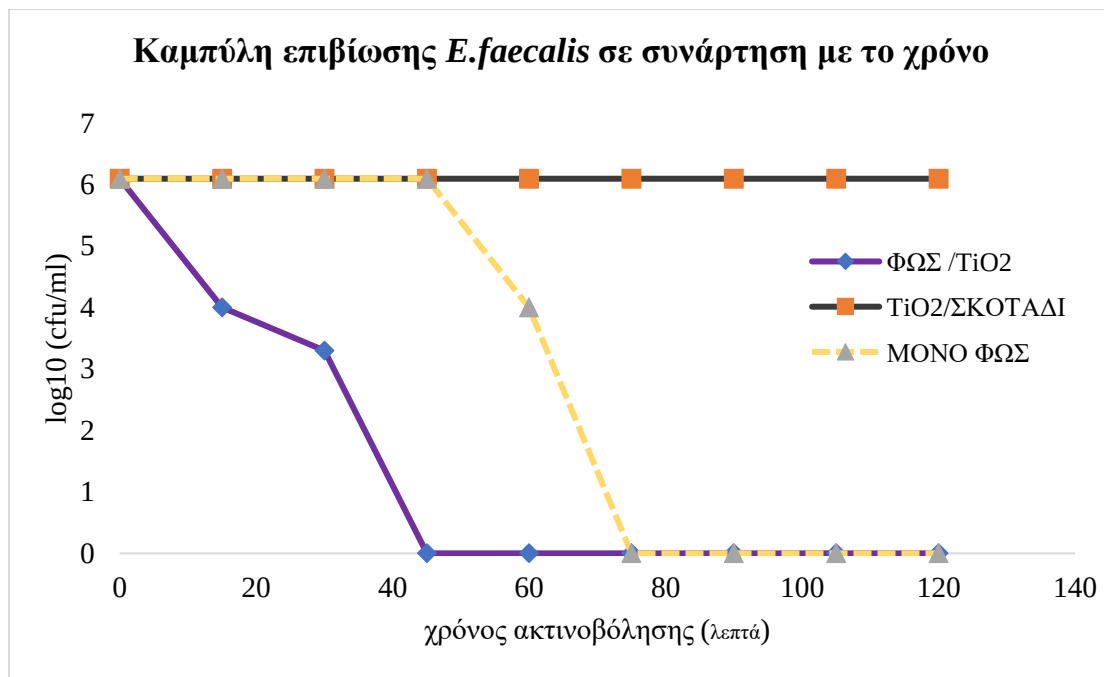
αρχικών μηχανισμών άμυνας του βακτηρίου, η οξειδωτική διεργασία εξελίσσεται ταχέως, οδηγώντας σε απότομη κυτταρική αδρανοποίηση.

Οι παράμετροι συνοψίζονται στον Πίνακα 3 (Ενότητα 7.5.4), όπου ακολουθεί αναλυτική σύγκριση και βιολογική ερμηνεία τους.

7.4. *Enterococcus faecalis* ATTC 29212

7.4.1. Καμπύλες Επιβίωσης

Στην Εικόνα 10 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι καμπύλες επιβίωσης του *E. faecalis* για τις δοκιμές ελέγχου και τη φωτοκαταλυτική διεργασία.



Εικόνα 10 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου *E. faecalis* παρουσία TiO₂ υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.

Από τα πειραματικά δεδομένα προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

Πείραμα στο σκοτάδι (TiO₂ / απουσία φωτός): Η συγκέντρωση του *E. faecalis* παρέμεινε απόλυτα σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια των 120 λεπτών της δοκιμής ($\approx 6,1 \log_{10}$ cfu/mL), επιβεβαιώνοντας τη μηδενική κυτταροτοξικότητα του καταλύτη απουσία ακτινοβολίας.

Πείραμα μόνο με φως (απουσία καταλύτη): Παρατηρήθηκε εκτεταμένη φάση ώμου διάρκειας περίπου 45 λεπτά, κατά την οποία ο πληθυσμός παρέμεινε σταθερός στα $\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$. Η συμπεριφορά αυτή αναδεικνύει την ισχυρή εγγενή ανθεκτικότητα του βακτηρίου και την αποτελεσματικότητα των αμυντικών και επιδιορθωτικών μηχανισμών του έναντι της υπερϊώδους και ηλιακής ακτινοβολίας 89. Μετά το 45ο λεπτό, οι μηχανισμοί αυτοί εξασθενούν, οδηγώντας σε ταχεία μείωση και πλήρη αδρανοποίηση ($0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$) στο $t = 75 \text{ λεπτά}$.

Φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση (TiO_2 / φως): Η παρουσία του φωτοκαταλύτη εξαλείφει τη φάση ώμου, με τη μείωση του πληθυσμού να ξεκινά άμεσα από το πρώτο λεπτό 90. Η διεργασία ακολουθεί διφασική κινητική:

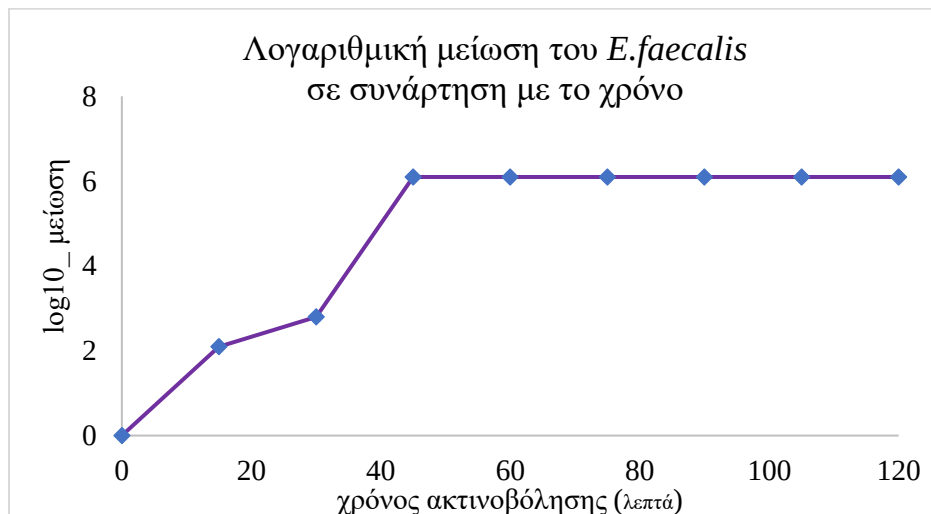
Αρχικό στάδιο ($t = 0\text{--}15 \text{ λεπτά}$): ραγδαία μείωση από 6,1 σε $4,0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ($\approx 2,1\text{-log}$ μείωση).

Ενδιάμεσο στάδιο ($t = 15\text{--}30 \text{ λεπτά}$): επιβράδυνση του ρυθμού αδρανοποίησης, με μείωση από 4,0 σε $3,3 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ ($\approx 0,7\text{-log}$ επιπλέον).

Τελικό στάδιο ($t = 30\text{--}45 \text{ λεπτά}$): κατάρρευση των υπολειπόμενων κυτταρικών πληθυσμών και επίτευξη πλήρους αδρανοποίησης ($0 \log_{10} \text{ cfu/mL}$) στο $t = 45 \text{ λεπτά}$.

7.4.2. Αποτελεσματικότητα Αδρανοποίησης

Η κινητική της λογαριθμικής μείωσης του *E. faecalis* σε συνάρτηση με τον χρόνο ακτινοβολήσης απεικονίζεται στην Εικόνα 11.



Εικόνα 11 Λογαριθμική μείωση ($\log_{10}$ μείωση) του πληθυσμού του Gram-θετικού βακτηρίου *E. Faecalis* κατά τη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση, σε συνάρτηση με τον χρόνο

Λόγω της πολυφασικής κινητικής συμπεριφοράς του μικροοργανισμού, ο υπολογισμός των παραμέτρων έγινε διακριτά για τα τρία στάδια της διεργασίας:

Χρόνος Δεκαδικής Μείωσης (D)

Πρώτο στάδιο ενεργού αδρανοποίησης ($t=0-15$ λεπτά)

$$D1 = \frac{(15 - 0)}{(2.1 - 0)} = \frac{15}{2.1} = 7.14 \text{ λεπτά}$$

Δεύτερο στάδιο ενεργού αδρανοποίησης ($t=15-30$ λεπτά):

$$D2 = \frac{(30 - 15)}{(2.8 - 2.1)} = \frac{15}{0.7} = 21.43 \text{ λεπτά}$$

Τρίτο στάδιο ενεργού αδρανοποίησης ($t=30-45$ λεπτά):

$$D3 = \frac{(45 - 30)}{(6.1 - 2.8)} = \frac{15}{3.3} = 4.54 \text{ λεπτά}$$

Συνολική αδρανοποίηση ($t=0-45$ λεπτά): Θεωρώντας ενιαία τη φάση της αδρανοποίησης από την αρχή της διεργασίας έως την πλήρη εξάλειψη, ο συνολικός χρόνος δεκαδικής μείωσης D_{total} είναι:

$$D_{\text{total}} = \frac{(45 - 0)}{(6.1 - 0)} = \frac{45}{6.1} = 7.37 \text{ λεπτά}$$

Η διακύμανση των τιμών ($D1 < D2 > D3$) επιβεβαιώνει την πολυφασική κινητική συμπεριφορά του *E. faecalis*.

Υπολογισμός του Χρόνου 3-log και 5-log μείωση

Για τον υπολογισμό του χρόνου που απαιτείται για την επίτευξη 3-log και 5-log μείωσης, χρησιμοποιούνται οι τιμές D που υπολογίστηκαν προηγουμένως για κάθε στάδιο.

Και οι δύο μειώσεις εντάσσονται στο εύρος μεταξύ 2,8-log ($t = 30$ λεπτά) και 6,1-log ($t = 45$ λεπτά), επομένως οι υπολογισμοί αφορούν αποκλειστικά το τρίτο στάδιο αδρανοποίησης ($t = 30-45$ λεπτά), για το οποίο η τιμή $D_3 = 4.55$ λεπτά.

Εφαρμόζοντας τη σχέση $t = t_0 + (\log N_0/N - \log N_0/N_0) \cdot D$:

3-log μείωση: $t_{3-\log} = 30 + (3 - 2.8) \cdot 4.55 = 30.91$ λεπτά

5-log μείωση: $t_{5-\log} = 30 + (5 - 2.8) \cdot 4.55 = 40.00$ λεπτά

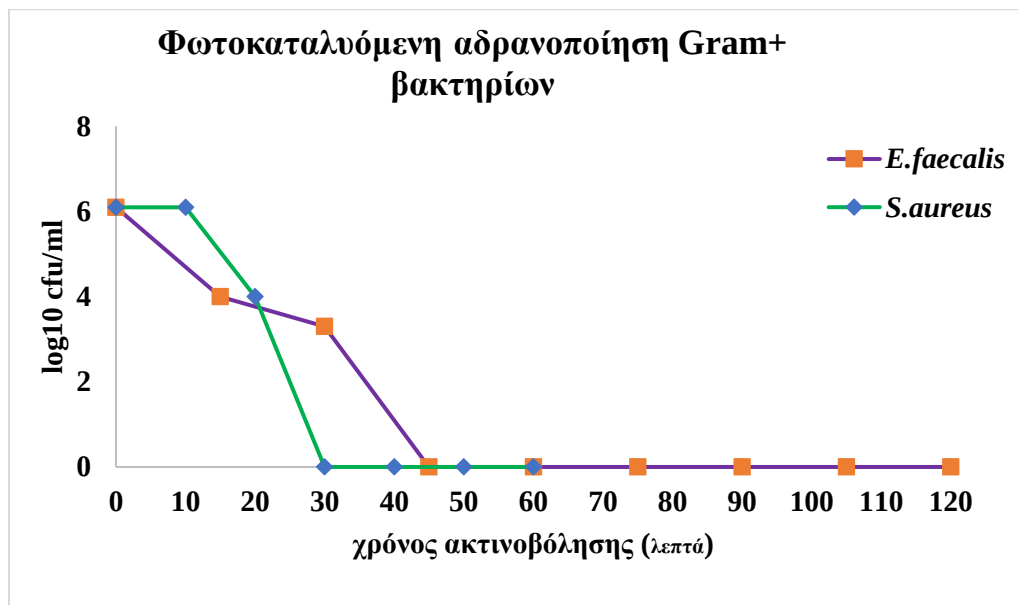
7.4.3. Κινητική Μελέτη

Για την κινητική μελέτη της αδρανοποίησης του *E. faecalis* εφαρμόστηκε το τροποποιημένο μοντέλο Hom. Από την ανάλυση προέκυψαν οι παράμετροι $k_1 = 6,29$, $k_2 = 0,059 \text{ λεπτά}^{-1}$ και $k_3 = 2,56$, με συντελεστή προσδιορισμού $R^2 = 0,946$ και άθροισμα τετραγώνων σφαλμάτων $SSE = 2,37$.

Η χαμηλότερη τιμή R^2 και το αυξημένο σφάλμα προσαρμογής σε σχέση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς αναδεικνύουν έναν εγγενή περιορισμό του μοντέλου Hom. Ως λεία σιγμοειδής συνάρτηση, αδυνατεί να προσομοιώσει ικανοποιητικά την έντονα διφασική κινητική και το ενδιάμεσο πλατό σταθεροποίησης που παρατηρείται πειραματικά για τον εντερόκοκκο, με αποτέλεσμα έναν μαθηματικό συμβιβασμό κατά την προσαρμογή της καμπύλης.

Οι παράμετροι αυτοί παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 3 (Ενότητα 7.5.4), όπου ακολουθεί η λεπτομερής σύγκριση και η βιολογική τους ερμηνεία.

7.b Συγκριτική μελέτη Gram θετικών βακτηρίων



Εικόνα 12 Συγκριτική απεικόνιση φωτοκαταλύσιμης αδρανοποίησης Gram+ βακτηρίων με TiO_2 προσομοιωμένο ηλιακό φως

Η συγκριτική εξέταση των καμπυλών επιβίωσης των δύο Gram-θετικών βακτηρίων αναδεικνύει δύο διακριτά πρότυπα κινητικής συμπεριφοράς απέναντι στη φωτοκαταλυτική διεργασία. Ο *S. aureus* παρουσιάζει σαφή αρχική φάση ώμου διάρκειας 10 λεπτά, κατά την οποία ο πληθυσμός παραμένει ανεπηρέαστος. Αντίθετα, ο *E. faecalis* δεν εμφανίζει αρχική φάση υστέρησης, καθώς η λογαριθμική μείωση ξεκινά από το πρώτο λεπτό της ακτινοβολήσεως⁹⁰. Για τον *S. aureus*, μόλις το κυτταρικό τοίχωμα υποστεί κρίσιμη αποδιοργάνωση, η μείωση του πληθυσμού εξελίσσεται με ιδιαίτερα υψηλό ρυθμό ($D_2 = 2,50$ λεπτά), οδηγώντας σε πλήρη απολύμανση στα 30 λεπτά⁹¹. Ο *E. faecalis*, αντίθετα, παρουσιάζει χαρακτηριστική διφασική κινητική. Μετά την αρχική ταχεία πτώση (0–15 λεπτά), ο ρυθμός αδρανοποίησης επιβραδύνεται σημαντικά μεταξύ 15 και 30 λεπτά ($D_2 = 21,43$ λεπτά), πριν από την τελική απότομη πτώση και την πλήρη αδρανοποίηση στα 45 λεπτά^{88,89}.

Ο *E. faecalis* εμφανίζεται συνολικά πιο ανθεκτικός στη φωτοκαταλυτική διεργασία, καθώς απαιτείται 15 λεπτά επιπλέον ακτινοβολήσεως για την πλήρη αδρανοποίησή του σε σχέση με τον *S. aureus* (45 λεπτά έναντι 30 λεπτά)⁸⁹. Η διαφορά αυτή αποτυπώνεται ανάγλυφα και στις συνολικές μέσες τιμές D , με τον χρόνο δεκαδικής μείωσης του εντερόκοκκου *E. faecalis* ($D_{\text{total}}=7,38$ λεπτά) να είναι υπερδιπλάσιος από αυτόν του σταφυλόκοκκου *S. aureus* ($D_{\text{total}}=3,28$ λεπτά).

Η γενικότερη ανθεκτικότητα των Gram-θετικών βακτηρίων αποδίδεται κυρίως στο παχύ και δομικά ανθεκτικό στρώμα πεπτιδογλυκάνης (20–80 nm), το οποίο λειτουργεί ως φυσικός φραγμός που προστατεύει την ευαίσθητη κυτταροπλασματική μεμβράνη⁸⁶. Ωστόσο, η διαφορετική αρχιτεκτονική του κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ των δύο μικροοργανισμών καθορίζει τη διακριτή κινητική συμπεριφορά τους.

Στην περίπτωση του *S. aureus*, η παρουσία του παχέος στρώματος πεπτιδογλυκάνης, σε συνδυασμό με την τάση σχηματισμού κυτταρικών συσσωματωμάτων, περιορίζει τη διάχυση και την άμεση πρόσβαση των ROS στα εσωτερικά κυτταρικά στρώματα. Αυτό ερμηνεύει την παρατεταμένη αρχική φάση ώμου (~10 λεπτά), κατά την οποία οι εξωκυττάρια παραγόμενες ρίζες $\cdot\text{OH}$ καταναλώνονται στη σταδιακή αποδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος. Μετά την επαρκή δομική αποσταθεροποίηση, η οξειδωτική δράση στη μεμβράνη καθίσταται ραγδαία, οδηγώντας σε ταχεία κυτταρική λύση^{90,91}.

Αντίθετα, ο *E. faecalis* δεν εμφανίζει αρχική φάση υστέρησης, γεγονός που υποδηλώνει άμεση έκθεση των εξωτερικών δομών του στην αρχική δράση των ριζών ·OH στην επιφάνεια του καταλύτη⁸⁸.

Ωστόσο, η πεπτιδογλυκάνη του εντερόκοκκου δρα ως «θυσιαζόμενος» φραγμός κατά την ενδιάμεση φάση της διεργασίας (15–30 λεπτά). Παρά τη μερική οξειδωτική της αποδόμηση, καθυστερεί τη διάχυση των ROS προς την κυτταροπλασματική μεμβράνη, οδηγώντας στο χαρακτηριστικό “σκαλοπάτι” της καμπύλης. Η πλήρης αδρανοποίηση επιτυγχάνεται μετά το 30ό λεπτό, όταν ξεπεραστεί το κρίσιμο όριο δομικής αποδιάταξης του κυτταρικού τοιχώματος και της μεμβράνης^{86,92}.

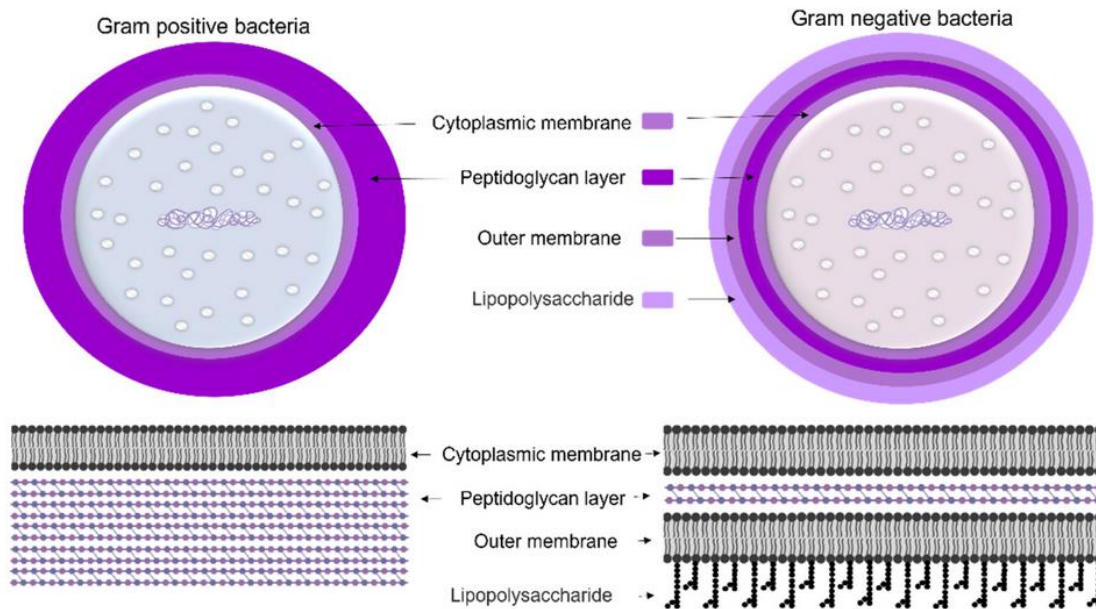
Η παραπάνω βιολογική συμπεριφορά υποστηρίζεται από τις παραμέτρους του τροποποιημένου μοντέλου Hom (Πίνακας 3). Η σταθερά k_2 του *S. aureus* (0,504 λεπτά⁻¹) είναι σημαντικά υψηλότερη από εκείνη του *E. faecalis* (0,059 λεπτά⁻¹), υποδηλώνοντας ταχύτερη κινητική κατάρρευση μετά τη διάρρηξη του κυτταρικού φραγμού. Παράλληλα, η ιδιαίτερα υψηλή τιμή του k_3 για τον *S. aureus* (25.648,23) αντικατοπτρίζει την έντονα απότομη φάση ώμου, ενώ η χαμηλή τιμή του k_3 για τον *E. faecalis* (2,56) συνάδει με την απουσία σημαντικής αρχικής υστέρησης και την άμεση έναρξη της αδρανοποίησης.

7.5 Συγκριτική μελέτη και των τεσσάρων μικροοργανισμών

7.5.1 επίπεδο 1: Βιολογικό επίπεδο – επίδραση της κυτταρικής δομής (Gram- vs Gram+)

Η πειραματική σύγκριση μεταξύ των δύο Gram-αρνητικών βακτηρίων (*E. coli* και *K. pneumoniae*) και των δύο Gram-θετικών (*S. aureus* και *E. faecalis*) αναδεικνύει ότι οι θεμελιώδεις διαφορές στη χημική σύσταση και στη χωρική οργάνωση του κυτταρικού περιβλήματος καθορίζουν την ανθεκτικότητα ή την ευαισθησία κάθε είδους απέναντι στην οξειδωτική καταπόνηση.^{85,93}

Οι βασικές αυτές δομικές διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών βακτηρίων απεικονίζονται σχηματικά στην Εικόνα 13.



Εικόνα 13 Δομικές διαφορές μεταξύ του κυτταρικού περιβλήματος Gram-θετικών (αριστερά) και Gram-αρνητικών (δεξιά) βακτηρίων. Διακρίνεται το παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης στα Gram-θετικά και η διπλή μεμβράνη με την παρουσία λιποπολυσακχαριτών στα Gram-αρνητικά. Πηγή: Dalrymple et al., 2010).

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 13 (αριστερά), το κυτταρικό περίβλημα των Gram-θετικών βακτηρίων χαρακτηρίζεται από την απουσία εξωτερικής μεμβράνης και την παρουσία ενός ιδιαίτερα παχέος στρώματος πεπτιδογλυκάνης, με πάχος που κυμαίνεται μεταξύ 20–80 nm. Η δομή αυτή αποτελεί ένα εξαιρετικά σταθερό, τρισδιάστατο και υψηλού βαθμού διασύνδεσης δίκτυο, το οποίο λειτουργεί ως φυσικός φραγμός («ασπίδα») που προστατεύει την κυτταροπλασματική μεμβράνη.

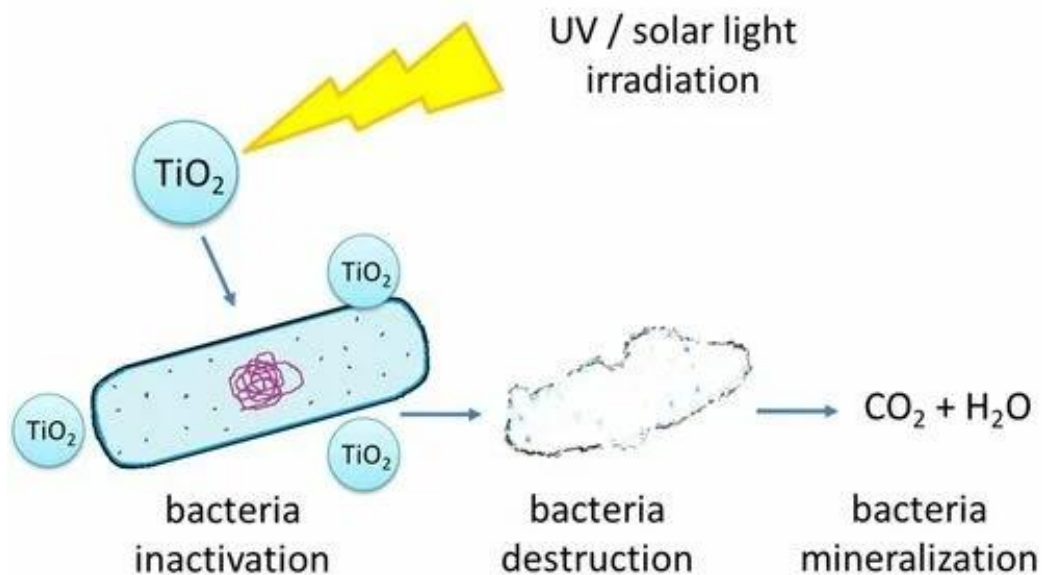
Στον *S. aureus*, η προστατευτική αυτή δράση ενισχύεται από την τάση σχηματισμού κυτταρικών συσσωματωμάτων, γεγονός που περιορίζει τη διάχυση των ROS προς τα εσωτερικά κύτταρα της αποικίας και εξηγεί την αρχική φάση ώμου διάρκειας περίπου 10 λεπτά. Αντίστοιχα, στον *E. faecalis*, αν και η αδρανοποίηση ξεκινά χωρίς εμφανή υστέρηση λόγω πιο άμεσης έκθεσης της κυτταρικής επιφάνειας, η στιβαρή πεπτιδογλυκάνη λειτουργεί ως «θυσιαζόμενος» φραγμός κατά την ενδιάμεση φάση (15–30 λεπτά), επιβραδύνοντας σημαντικά τον ρυθμό θανάτωσης^{88,92}.

Αντίθετα, όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 13 (δεξιά), το κυτταρικό περίβλημα των Gram-αρνητικών βακτηρίων παρουσιάζει πιο σύνθετη, πολυστρωματική οργάνωση, η οποία όμως αποδεικνύεται πιο ευάλωτη στη φωτοκαταλυτική επεξεργασία. Αποτελείται από μια

εσωτερική μεμβράνη, ένα λεπτό στρώμα πεπτιδογλυκάνης (2–8 nm) εντός του περιπλασματικού χώρου και μια εξωτερική μεμβράνη πλούσια σε λιποπολυσακχαρίτες και φωσφολιπίδια με υψηλά ποσοστά ακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα λιπιδικά αυτά συστατικά αποτελούν κύριους στόχους των ριζών $\cdot\text{OH}$, οι οποίες προκαλούν αλυσιδωτές αντιδράσεις λιπιδικής υπεροξειδωσης, οδηγώντας σε ταχεία απώλεια της μεμβρανικής ακεραιότητας⁸⁶. Ο μηχανισμός αυτός εξηγεί την απουσία ή τον περιορισμό της φάσης ώμου στο *E. coli*, το οποίο δεν διαθέτει ισχυρά δομικά στοιχεία προστασίας έναντι της αρχικής οξειδωτικής προσβολής.

Στην περίπτωση της *K. pneumoniae*, η παρουσία του παχέος εξωκυττάριου πολυσακχαριδικού καψιδίου δεσμεύει προσωρινά τις ελεύθερες ρίζες κατά τα πρώτα 10 λεπτά^{88,93}. Ωστόσο, μετά την οξείδωσή του, το Gram-αρνητικό κυτταρικό περίβλημα καταρρέει με εξαιρετικά ταχύ ρυθμό, οδηγώντας στη συντομότερη πλήρη αδρανοποίηση (20 λεπτά) μεταξύ των υπό μελέτη μικροοργανισμών^{88,94}.

Η σταδιακή αυτή αποδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος από την επίθεση των ROS και η επακόλουθη απώλεια της βιωσιμότητας των κυττάρων παρουσιάζεται σχηματικά στην Εικόνα 14.



Εικόνα 14 Σχηματική αναπαράσταση της σταδιακής καταστροφής του κυτταρικού περιβλήματος και της επακόλουθης διαρροής ενδοκυττάριων συστατικών (ιόντων, πρωτεϊνών και DNA) λόγω της δράσης των ROS στην επιφάνεια του καταλύτη. Πηγή: Rokicka-Konieczna & Morawski, 2024).

Όπως αποτυπώνεται στην Εικόνα 14, η φωτοκαταλυτική δράση εξελίσσεται σταδιακά από την εξωτερική προς την εσωτερική δομή του κυττάρου. Οι ROS επιτίθενται αρχικά στα εξωτερικά κυτταρικά συστατικά (LPS στα Gram-αρνητικά, καθώς και πρωτεΐνες και λιποτειχοϊκά οξέα στα Gram-θετικά). Ακολουθεί μερική αποδόμηση του δικτύου της πεπτιδογλυκάνης, με αποτέλεσμα τοπικές αστοχίες και απώλεια της μηχανικής ακεραιότητας του κυτταρικού τοιχώματος. Η κυτταροπλασματική μεμβράνη υφίσταται εκτεταμένη λιπιδική υπεροξείδωση, με επακόλουθη διαταραχή της δομής και της λειτουργικότητάς της. Η καταστροφή της μεμβράνης οδηγεί σε απώλεια του ηλεκτροχημικού δυναμικού, διαρροή ενδοκυττάρων συστατικών (ιόντων K^+ , πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων) στο υδατικό περιβάλλον και, τελικά, σε πλήρη καταστροφή και αποδόμηση των κυτταρικών υπολειμμάτων προς CO_2 και H_2O .

Η διαφορά στην ανθεκτικότητα που καταγράφεται στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει ότι το παχύ, τρισδιάστατο οργανωμένο κυτταρικό τοίχωμα των Gram-θετικών βακτηρίων αποτελεί σημαντικά ισχυρότερο φραγμό έναντι της εξωτερικά επαγόμενης οξειδωτικής καταπόνησης σε σύγκριση με το λεπτότερο και δομικά πιο ευάλωτο περίβλημα των Gram-αρνητικών βακτηρίων.^{92,95}

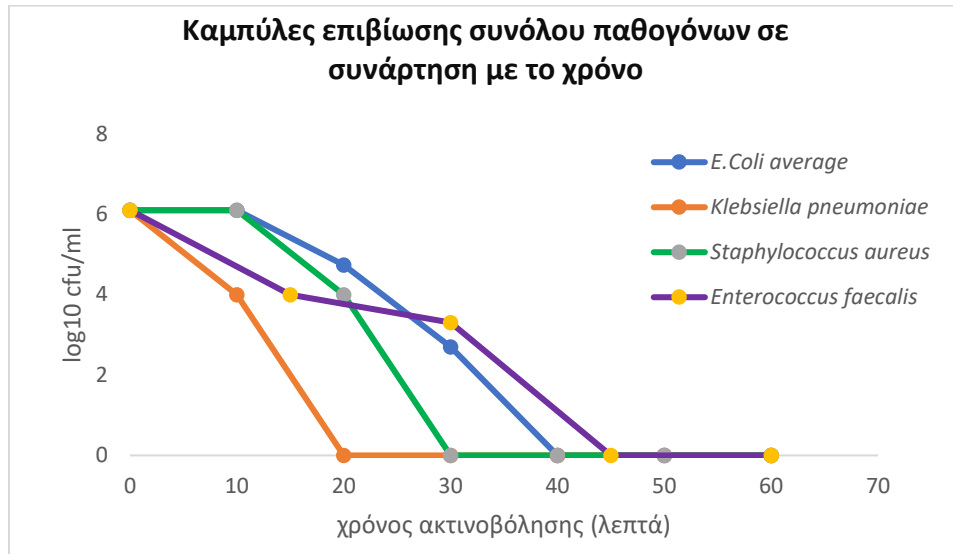
Με βάση τον χρόνο πλήρους αδρανοποίησης, η σειρά ευαισθησίας των τεσσάρων μικροοργανισμών διαμορφώνεται ως εξής:

K. pneumoniae (20 λεπτά) > *S. aureus* (30 λεπτά) > *E. coli* (40 λεπτά) > *E. faecalis* (45 λεπτά)

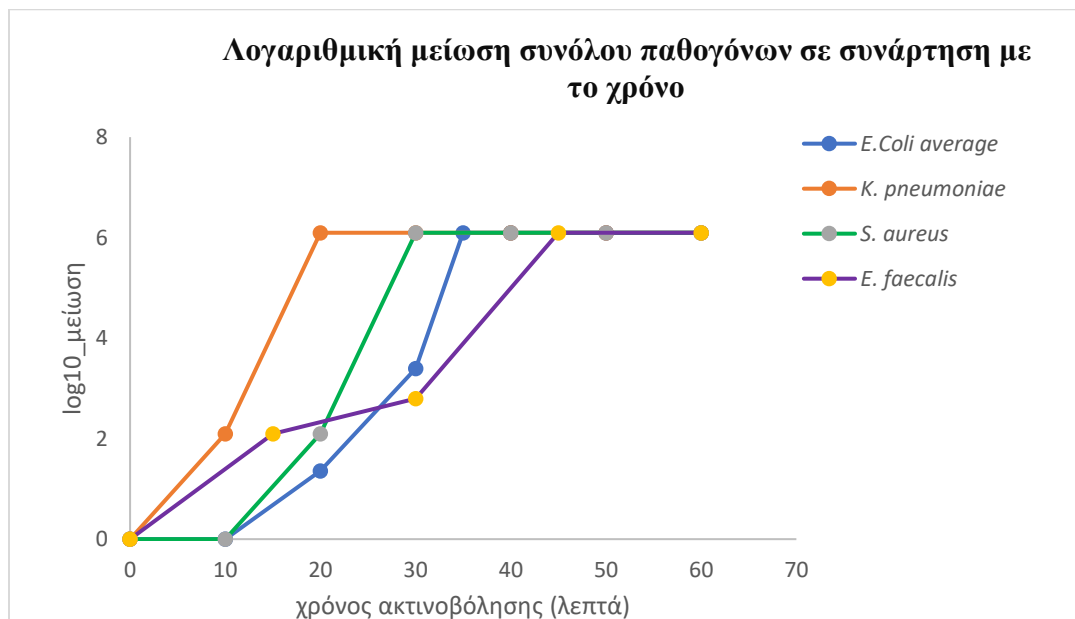
7.5.2. Επίπεδο 2: Διεργασιακό επίπεδο – σύγκριση φωτόλυσης και φωτοκατάλυσης

Η κατανόηση της προστιθέμενης αξίας της ετερογενούς φωτοκατάλυσης απαιτεί τη λεπτομερή σύγκριση της κινητικής της με εκείνη της απλής φωτόλυσης (έκθεση των μικροοργανισμών μόνο σε ακτινοβολία, απουσία καταλύτη). Η πειραματική σύγκριση των δύο διεργασιών για τα τέσσερα βακτηριακά μοντέλα αναδεικνύει ότι η παρουσία του διοξειδίου του τιτανίου (TiO_2) μεταβάλλει ουσιωδώς όχι μόνο την ταχύτητα, αλλά και τον κυρίαρχο μηχανισμό αδρανοποίησης των κυττάρων^{86,88}. Η συνολική αυτή σύγκριση

αποτυπώνεται παραστατικά στις καμπύλες επιβίωσης (Εικόνα 15) και στις καμπύλες λογαριθμικής μείωσης (Εικόνα 16) για τους τέσσερις υπό μελέτη μικροοργανισμούς.



Εικόνα 15 Συγκριτική απεικόνιση των πειραματικών καμπυλών επιβίωσης ($\log_{10}\text{cfu/ml}$ vs t) των τεσσάρων υπό μελέτη παθογόνων μικροοργανισμών κατά τη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση παρουσία TiO_2 και προσομοιωμένου ηλιακού φωτός.



Εικόνα 16 Συγκριτική απεικόνιση της λογαριθμικής μείωσης ($\log_{10}\text{μείωση}$ vs t) των τεσσάρων υπό μελέτη παθογόνων μικροοργανισμών σε συνάρτηση με τον χρόνο φωτοκαταλυτικής επεξεργασίας.

Κατά την απλή φωτόλυση, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία διεισδύει απευθείας στο εσωτερικό των κυττάρων, παρακάμπτοντας σε μεγάλο βαθμό τα εξωτερικά προστατευτικά στρώματα (πεπτιδογλυκάνη, καψίδιο ή εξωτερική μεμβράνη). Η αδρανοποίηση των βακτηρίων σε αυτή την περίπτωση βασίζεται σε δύο κύριους μηχανισμούς α) άμεση βλάβη στο DNA και β) έμμεσο ενδοκυττάριο οξειδωτικό στρες. Πιο συγκεκριμένα, η απορρόφηση φωτονίων (κυρίως στο UV φάσμα) από τα νουκλεϊκά οξέα οδηγεί στον σχηματισμό διμερών θυμίνης, με αποτέλεσμα την αναστολή της αντιγραφής και της μεταγραφής του γενετικού υλικού. Παράλληλα, η διέγερση ενδογενών φωτοευαισθητοποιητών του κυττάρου (π.χ. πορφυρίνες, ριβοφλαβίνες και κυτοχρώματα) μεταφέρει ενέργεια στο μοριακό οξυγόνο, οδηγώντας στον σχηματισμό ενδοκυττάρων ROS, όπως μονήρες οξυγόνο ($^1\text{O}_2$) και ανιόν υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$)⁹⁶.

Όπως φαίνεται στις Εικόνες 15 και 16, η εκτεταμένη φάση ώμου που παρατηρείται κατά τη φωτόλυση (έως 30 λεπτά για *S. aureus* και έως 45 λεπτά για *E. faecalis*) αντιπροσωπεύει το χρονικό διάστημα κατά το οποίο ενεργοποιούνται επιτυχώς οι αμυντικοί μηχανισμοί των κυττάρων. Οι μικροοργανισμοί διαθέτουν ενζυμικά συστήματα εξουδετέρωσης των ROS (καταλάση, υπεροξειδική δισμουτάση), καθώς και μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA (φωτοεπανενεργοποίηση μέσω φωτολύσης και επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίων). Η εκθετική μείωση του πληθυσμού ξεκινά όταν η συσσωρευμένη δόση ακτινοβολίας υπερβεί την ικανότητα αυτών των συστημάτων επιδιόρθωσης και αντιοξειδωτικής άμυνας.^{96,97}

Με την προσθήκη του φωτοκαταλύτη TiO_2 , ο μηχανισμός αδρανοποίησης μετατοπίζεται από ενδοκυττάριο σε κυρίως εξωκυττάριο επίπεδο. Η φωτοδιέγερση του ημιαγωγού οδηγεί στον σχηματισμό οπών στην ταινία σθένους (h^+) και ηλεκτρονίων στην ταινία αγωγιμότητας (e^-), τα οποία συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με το νερό και το διαλυμένο οξυγόνο, παράγοντας υψηλές συγκεντρώσεις δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), κυρίως ριζών υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) και ανιόντων υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$)⁸⁶.

Η μαζική αυτή εξωκυττάρια παραγωγή ROS μεταβάλλει ουσιαστικά την κινητική της απολύμανσης. Οι ρίζες $\cdot\text{OH}$ αντιδρούν ταχέως και μη εκλεκτικά με τα εξωτερικά δομικά συστατικά των κυττάρων, όπως λιποπολυσακχαρίτες, λιποτειχοϊκά οξέα και την πεπτιδογλυκάνη. Η άμεση αυτή οξειδωτική διάβρωση παρακάμπτει τις ενδοκυττάρια

αμυντικές και επιδιορθωτικές διεργασίες. Ως αποτέλεσμα, στον *E. faecalis* η φάση ώμου πρακτικά εκμηδενίζεται, ενώ στον *S. aureus* περιορίζεται σημαντικά (~10 λεπτά) λόγω της αρχικής προστατευτικής δράσης του παχέος κυτταρικού τοιχώματος.

Στην απλή φωτόλυση, οι προκαλούμενες βλάβες είναι κυρίως γενετικού τύπου και δυνητικά αναστρέψιμες μέσω μηχανισμών όπως η φωτοεπανενεργοποίηση, γεγονός που μπορεί να δημιουργήσει κίνδυνο επαναβλάστησης του πληθυσμού. Αντιθέτως, η φωτοκατάλυση οδηγεί σε εκτεταμένη και μη αναστρέψιμη οξειδωση των λιπιδίων και καταστροφή τόσο της κυτταροπλασματικής μεμβράνης όσο και του κυτταρικού τοιχώματος. Η δομική αυτή αποδιοργάνωση προκαλεί μηχανική κατάρρευση και λύση του κυττάρου, καθιστώντας αδύνατη την ενζυμική αυτοεπιδιόρθωση και εξασφαλίζοντας μόνιμο απολυμαντικό αποτέλεσμα.^{88,97}

Συμπερασματικά, η ετερογενής φωτοκατάλυση υπερέχει σαφώς της απλής φωτόλυσης, καθώς μετατοπίζει τον κυρίαρχο μηχανισμό αδρανοποίησης από ενδοκυττάρια, κυρίως γενετική και εν μέρει αναστρέψιμη βλάβη, σε ταχεία και μη αναστρέψιμη εξωκυττάρια φυσικοχημική καταστροφή του κυτταρικού περιβλήματος. Η έντονη παραγωγή ROS στην επιφάνεια του καταλύτη οδηγεί σε άμεση οξειδωση κρίσιμων δομικών στοιχείων και, κατά συνέπεια, σε σημαντικό περιορισμό ή πλήρη εκμηδένιση της φάσης ώμου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αποτελεσματική αποτροπή του φαινομένου επαναπολλαπλασιασμού και την επίτευξη πλήρους αδρανοποίησης σε σημαντικά μικρότερους χρόνους έκθεσης^{88,98}.

Να σημειωθεί ότι η επιλογή της συγκέντρωσης καταλύτη (1,0 g/L) βασίστηκε σε προηγούμενη εμπειρία του εργαστηρίου σχετικά με τη βέλτιστη ισορροπία μεταξύ φωτοδραστικότητας και διαπερατότητας της ακτινοβολίας. Η τιμή αυτή μεγιστοποιεί την παραγωγή ROS στην επιφάνεια του TiO₂, ενώ αποφεύγεται η υπερβολική σκέδαση και απορρόφηση της ακτινοβολίας από το αιώρημα, εξασφαλίζοντας επαρκή διείσδυση φωτονίων και αποδοτική κινητική απολύμανσης.^{91,99}

7.5.3. Επίπεδο 3: Κινητικό επίπεδο – σύγκριση πειραματικών παραμέτρων και χρονικών οροσήμων

Η ποσοτική αξιολόγηση της φωτοκαταλυτικής αποτελεσματικότητας βασίζεται στη συγκριτική ανάλυση των κινητικών παραμέτρων αδρανοποίησης. Ο συνδυασμός του χρόνου δεκαδικής μείωσης (D) και των χρονικών οροσήμων επίτευξης συγκεκριμένων επιπέδων απολύμανσης ($t_3\text{-log}$, $t_5\text{-log}$ και t_{total}) επιτρέπει την αξιόπιστη εκτίμηση της σχετικής ανθεκτικότητας των τεσσάρων υπό μελέτη μικροοργανισμών. Οι αντίστοιχες παράμετροι παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 2.2.

Πίνακας 2 Συγκριτικός Πίνακας Κινητικών Παραμέτρων και χρονικών οροσήμων φωτοκαταλυόμενης αδρανοποίησης για τους Gram-αρνητικούς και Gram-θετικούς μικροοργανισμούς.

Παράμετρος Κινητικής	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E. faecalis</i>
D (Χρόνος δεκαδικής μείωσης)	4.92 λεπτά	3.28 λεπτά	3.28 λεπτά	7.38 λεπτά
$t_3\text{-log}$ (Χρόνος για 99.9% αδρανοποίηση)	28.00 λεπτά	12.25 λεπτά	22.25 λεπτά	30.91 λεπτά
$t_5\text{-log}$ (Χρόνος για 99.999% αδρανοποίηση)	35.93 λεπτά	17.25 λεπτά	27.25 λεπτά	40.00 λεπτά
t_{total} (Χρόνος πλήρους αδρανοποίησης)	40.00 λεπτά	20.00 λεπτά	30.00 λεπτά	45.00 λεπτά

Ο χρόνος δεκαδικής μείωσης της ενεργού φάσης (D) αποτελεί τον πιο αξιόπιστο δείκτη σύγκρισης του καθαρού ρυθμού βακτηριακής αδρανοποίησης, καθώς εκφράζει τον χρόνο που απαιτείται για μείωση του πληθυσμού κατά 90% (1 log), μετά την κάμψη των αρχικών μηχανισμών άμυνας. Με βάση τις τιμές D, η ιεραρχία ευαισθησίας διαμορφώνεται ως εξής: *K. pneumoniae* (3,28 λεπτά) $\approx$ *S. aureus* (3,28 λεπτά) > *E. coli*

(4,92 λεπτά) > *E. faecalis* (7,38 λεπτά). Η *K. pneumoniae* και ο *S. aureus* εμφανίζουν τις χαμηλότερες και σχεδόν ταυτόσημες τιμές D, υποδεικνύοντας ταχύτερη κινητική αδρανοποίησης μετά την έναρξη της ενεργού φάσης. Αντίθετα, ο *E. faecalis* παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα, με σημαντικά υψηλότερη τιμή D, γεγονός που αποδίδεται στη διφασική του κινητική και στην προσωρινή επιβράδυνση που επιβάλλει το κυτταρικό του περίβλημα^{88,98}.

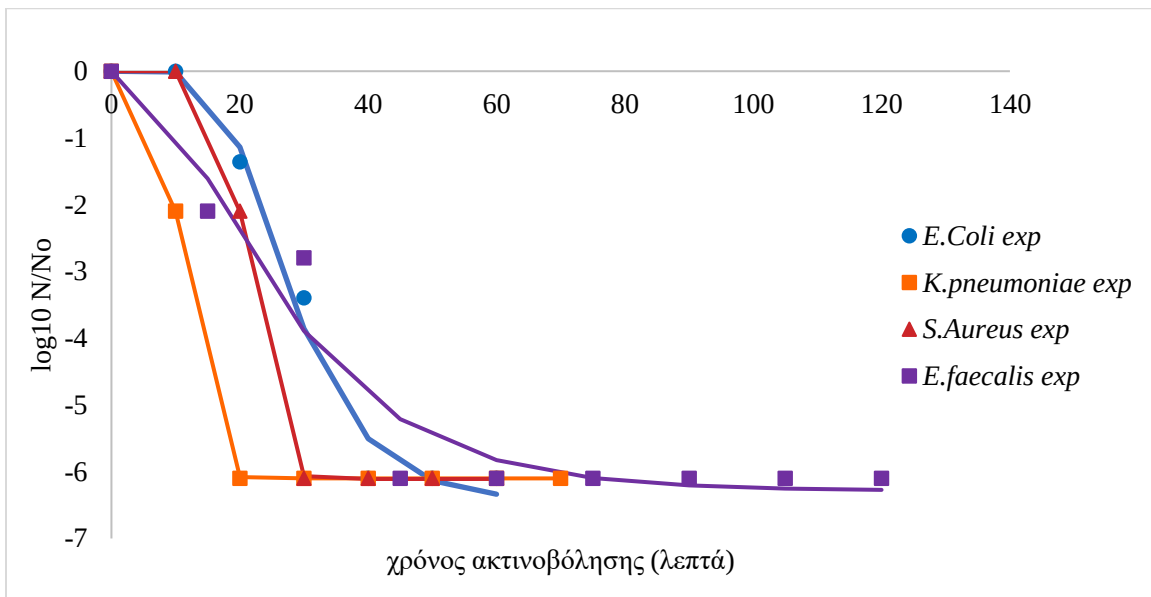
Η κινητική υπεροχή της *K. pneumoniae* και του *S. aureus* έναντι των άλλων δύο βακτηρίων αποτυπώνεται ανάγλυφα και στα χρονικά ορόσημα της απολύμανσης. Η επίτευξη μείωσης 3-log (99,9%), κρίσιμου δείκτη μικροβιακής ασφάλειας, ολοκληρώνεται ταχύτερα για την *K. pneumoniae* (12,25 λεπτά) και τον *S. aureus* (22,25 λεπτά), ενώ το *E. coli* (28,00 λεπτά) και ο *E. faecalis* (30,91 λεπτά) απαιτούν μεγαλύτερους χρόνους έκθεσης. Αντίστοιχα, για τη μείωση 5-log (99,999%), η *K. pneumoniae* και ο *S. aureus* παρουσιάζουν επίσης ταχύτερη ανταπόκριση (17,25 λεπτά και 27,25 λεπτά), έναντι του *E. coli* (35,93 λεπτά) και κυρίως του *E. faecalis* (40,00 λεπτά). Ο χρόνος πλήρους αδρανοποίησης (t.total) επιβεβαιώνει την ίδια κατάταξη ανθεκτικότητας: *K. pneumoniae* (20 λεπτά) < *S. aureus* (30 λεπτά) < *E. coli* (40 λεπτά) < *E. faecalis* (45 λεπτά). Η συμπεριφορά αυτή αναδεικνύει τον *E. faecalis* ως τον πλέον ανθεκτικό μικροοργανισμό και συνεπώς ως τον πιο αυστηρό δείκτη αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας της φωτοκαταλυτικής απολύμανσης^{89,94,97}. Στο σημείο αυτό απαιτείται κρίσιμη διάκριση ως προς τη φυσική ερμηνεία του χρόνου πλήρους αδρανοποίησης που προσδιορίστηκε πειραματικά. Η μέθοδος καταμέτρησης αποικιών αποτυπώνει την απώλεια καλλιεργησιμότητας και όχι κατ' ανάγκη τον άμεσο κυτταρικό θάνατο ή τη λύση των μικροοργανισμών. Υπό συνθήκες έντονου φωτοκαταλυτικού οξειδωτικού στρες, βακτήρια όπως ο *S. aureus* και ο *E. faecalis* μπορούν να μεταπέσουν σε κατάσταση VBNC (Viable But Non-Culturable), στην οποία δεν σχηματίζουν αποικίες σε θρεπτικά υποστρώματα, αλλά διατηρούν μεταβολική δραστηριότητα, μεμβρανική ακεραιότητα και γενετικό υλικό, αποτελώντας δυνητικά εστίες επαναμόλυνσης. Η μετάβαση από την απώλεια καλλιεργησιμότητας προς τον πραγματικό κυτταρικό θάνατο και τη λύση αποτελεί προοδευτική διεργασία. Ενώ το t.total αντιστοιχεί στο πρακτικό όριο μη ανιχνεύσιμης καλλιεργησιμότητας (30–45 λεπτά), η πλήρης καταστροφή κυτταρικών δομών και η αποδόμηση του DNA απαιτούν συνήθως παρατεταμένη έκθεση, προκειμένου να αποκλειστεί οποιοδήποτε ενδεχόμενο

αναζωογόνησης ή μεταφοράς γενετικού υλικού. Συνεπώς, τα t_{total} πρέπει να ερμηνεύονται ως λειτουργικά όρια απολύμανσης και όχι ως απόλυτο μέτρο πλήρους βιολογικής εξάλειψης.^{93,97,98}

7.5.4. Επίπεδο 4: Θεωρητικό/μαθηματικό Επίπεδο – προσαρμογή στο τροποποιημένο μοντέλο Hom

Προκειμένου να αποδοθεί μια ολοκληρωμένη και ποσοτική περιγραφή της κινητικής της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης, τα πειραματικά δεδομένα και των τεσσάρων μικροοργανισμών προσαρμόστηκαν στο τριπαραμετρικό τροποποιημένο μοντέλο Hom. Η προσέγγιση αυτή επιτρέπει τη συσχέτιση των κινητικών παραμέτρων του μοντέλου με τις πραγματικές φυσικοχημικές και δομικές ιδιότητες των βακτηρίων, καθώς και με τη δυναμική της αλληλεπίδρασής τους με τα φωτοκαταλυτικά παραγόμενα δραστικά είδη κατά τη διεργασία^{32,100}.

Η ποιότητα προσαρμογής του τροποποιημένου μοντέλου Hom στα πειραματικά δεδομένα αδρανοποίησης για όλους τους μικροοργανισμούς παρουσιάζεται γραφικά στην Εικόνα 17.



Εικόνα 17 Προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων αδρανοποίησης των τεσσάρων υπό μελέτη μικροοργανισμών στο Τροποποιημένο Μοντέλο Hom.

Όπως αποτυπώνεται στην Εικόνα 17, τα πειραματικά δεδομένα απεικονίζονται με διακριτά σημεία, ενώ οι θεωρητικές καμπύλες του τροποποιημένου μοντέλου Hom με συνεχείς γραμμές αντίστοιχου χρωματισμού. Η σύγκριση αυτή καταδεικνύει την υψηλή συμφωνία μεταξύ πειραματικών μετρήσεων και θεωρητικής προσομοίωσης. Οι αντίστοιχες κινητικές παράμετροι και οι δείκτες προσαρμογής (SSE, R^2) παρατίθενται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3 Κινητικές παράμετροι και στατιστικοί δείκτες προσαρμογής του τροποποιημένου μοντέλου Hom για τους τέσσερις υπό μελέτη μικροοργανισμούς στην παρούσα εργασία.

Παράμετρος						
Μοντέλου	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>	Φυσική / Βιολογική Σημασία	
Hom						
k_1	6.40	6.10	6.11	6.29	Εκφράζει τη μέγιστη δυνατή λογαριθμική μείωση. Επιβεβαιώνει ότι και τα τέσσερα συστήματα προσεγγίζουν την πλήρη απολύμανση.	
(Ασύμπτωτο Όριο)						
k_2	0.119	0.590	0.504	0.059	Σταθερά ταχύτητας αδρανοποίησης. Η <i>K. pneumoniae</i> και ο <i>S. aureus</i> εξουδετερώνονται ταχύτερα μετά την κάμψη των αρχικών τους αμυνών.	
(λεπτά ⁻¹)						
k_3	17.65	380.78	25648.23	2.56	Καθορίζει τη μορφή του όμου. Οι υψηλές τιμές αποτυπώνουν τη συμπεριφορά	
(Εκθέτης Σχήματος)						

Παράμετρος						
Μοντέλου	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>	Φυσική / Βιολογική Σημασία	
Hom						
					κατωφλίου (ώμος), ενώ η χαμηλή τιμή δείχνει άμεση έναρξη αδρανοποίησης.	
<i>SSE</i>	0.664	0.0003		0.0013	2.366	Ποσοτικοποιεί τη συνολική απόκλιση μεταξύ πειραματικών και προβλεπόμενων τιμών (goodness-of-fit).
<i>R</i> ²	0.986	1.000		1.000	0.946	Συντελεστής προσδιορισμού. Πιστοποιεί την ποιότητα προσαρμογής του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα.

Η παράμετρος k_1 προσδιορίστηκε σε ένα εξαιρετικά στενό εύρος (6,10–6,40) για όλους τους μικροοργανισμούς. Η εγγύτητα των τιμών αυτών με το αρχικό πειραματικό φορτίο ($\approx 6,1 \log_{10} \text{ cfu/mL}$) επιβεβαιώνει τη συνέπεια του μοντέλου ως προς την περιγραφή της αρχικής συνθήκης και την αξιόπιστη αναπαράσταση της μετάβασης προς την πλήρη απολύμανση. Η σταθερά k_2 (λεπτά⁻¹) παρουσιάζει σαφή αντίστροφη συσχέτιση με τον χρόνο δεκαδικής μείωσης (D) της ενεργής φάσης. Οι υψηλότερες τιμές για την *K. pneumoniae* (0,590 λεπτά⁻¹) και τον *S. aureus* (0,504 λεπτά⁻¹) υποδηλώνουν ταχύτερη κινητική αδρανοποίησης μετά την υπέρβαση των αρχικών προστατευτικών φραγμών (καψίδιο και πεπτιδογλυκάνη αντίστοιχα), όπου η οξειδωτική δράση των ROS οδηγεί σε ταχεία κατάρρευση της κυτταρικής ακεραιότητας και επιταχυνόμενη λύση.^{90,99} Αντίθετα, η χαμηλή τιμή της σταθεράς k_2 για τον *E. faecalis* (0,059 λεπτά⁻¹) επιβεβαιώνει την υψηλή

ανθεκτικότητά του, υποδηλώνοντας ότι η απώλεια βιωσιμότητας εξελίσσεται με σαφώς βραδύτερο ρυθμό. Η παράμετρος k_3 αποτελεί την πλέον ευαίσθητη συνιστώσα του μοντέλου, καθώς αποτυπώνει με ακρίβεια τη διάρκεια και την ένταση της αρχικής φάσης ώμου, η οποία καθορίζεται από τις δομικές ιδιαιτερότητες των κυτταρικών περιβλημάτων. Η εξαιρετικά υψηλή τιμή για τον *S. aureus* ($k_3 = 25648,23$) και η επίσης υψηλή τιμή για την *K. pneumoniae* ($k_3 = 380,78$) αντικατοπτρίζουν την ισχυρή αρχική αντίσταση που προκύπτει από το παχύ, υψηλού βαθμού διασύνδεσης στρώμα πεπτιδογλυκάνης και το πολυσακχαριδικό καψίδιο, αντίστοιχα ^{90,91}. Μέσω των υψηλών τιμών του εκθέτη k_3 , το μοντέλο Hom αναπαράγει μαθηματικά την αρχική ψευδο-σταθερή κατάσταση (μηδενική λογαριθμική μείωση), κατά την οποία οι προκαλούμενες βλάβες παραμένουν υποθανατηφόρες και δεν οδηγούν άμεσα σε απώλεια καλλιεργησιμότητας. Αντίθετα, η χαμηλή τιμή του k_3 για τον *E. faecalis* (2,56) επιβεβαιώνει την απουσία ουσιαστικής φάσης υστέρησης και την άμεση έναρξη της αδρανοποίησης, με το μοντέλο να αποτυπώνει τη σχεδόν εξ αρχής ενεργοποίηση της κινητικής φθοράς. ⁸⁸.

Οι υψηλοί συντελεστές προσδιορισμού ($R^2 \geq 0,986$) και τα χαμηλά σφάλματα ($SSE \leq 0,664$) για την *K. pneumoniae*, τον *S. aureus* και το *E. coli* επιβεβαιώνουν την πολύ καλή προσαρμογή του τροποποιημένου μοντέλου Hom στις μη γραμμικές, σιγμοειδείς καμπύλες επιβίωσης των συγκεκριμένων μικροοργανισμών. ^{32,100}. Ωστόσο, στην περίπτωση του *E. faecalis* καταγράφεται η χαμηλότερη τιμή ($R^2 = 0,946$) και το υψηλότερο σφάλμα ($SSE = 2,366$). Η απόκλιση αυτή αναδεικνύει έναν εγγενή περιορισμό του τροποποιημένου μοντέλου Hom για το συγκεκριμένο σύστημα. Ως λεία σιγμοειδής συνάρτηση, το μοντέλο δεν μπορεί να αναπαραγάγει με απόλυτη ακρίβεια την έντονα διφασική κινητική του εντερόκοκκου, η οποία χαρακτηρίζεται από εμφανές ενδιάμεσο πλατό μεταξύ 15 και 30 λεπτά. Κατά συνέπεια, η μαθηματική προσαρμογή καταλήγει σε έναν συμβιβασμό βέλτιστης προσέγγισης των δεδομένων.

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε συστηματική πειραματική και μαθηματική διερεύνηση της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης τεσσάρων αντιπροσωπευτικών παθογόνων μικροοργανισμών (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* και *Enterococcus faecalis*) σε αιώρημα TiO_2 υπό προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία.

Η προσθήκη του φωτοκαταλύτη TiO_2 (1,0 g/L) αναβαθμίζει καθοριστικά τη διεργασία απολύμανσης σε σύγκριση με την απλή φωτόλυση. Η *in situ* παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) στην επιφάνεια του καταλύτη οδηγεί σε εξωκυττάρια, μη ειδική οξειδωτική επίθεση στα δομικά στοιχεία του κυτταρικού περιβλήματος. Η διεργασία αυτή παρακάμπτει τις ενδοκυττάριας αντιοξειδωτικές άμυνες και τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης (π.χ. φωτοεπανενεργοποίηση), οδηγώντας σε μη αναστρέψιμη βλάβη της μεμβράνης μέσω λιπιδικής υπεροξειδωσίας και τελική κυτταρική λύση. Ως εκ τούτου, εξαλείφεται ουσιαστικά ο κίνδυνος επαναπολλαπλασιασμού των παθογόνων.

Η κινητική και η χρονική εξέλιξη της αδρανοποίησης καθορίζονται από τη δομή του κυτταρικού περιβλήματος. Η σειρά ευαισθησίας που προέκυψε πειραματικά ήταν:

K. pneumoniae (20 λεπτά) > *S. aureus* (30 λεπτά) > *E. coli* (40 λεπτά) > *E. faecalis* (45 λεπτά). Η *K. pneumoniae* εμφανίζει τη μεγαλύτερη ευαισθησία, καθώς η παρουσία της πολυσακχαριδικής κάψας ευνοεί την προσκόλληση των σωματιδίων TiO_2 μέσω ελκτικών οξοβασικών αλληλεπιδράσεων κατά Lewis (θεωρία XDLVO), υπερνικώντας τις ηλεκτροστατικές απωθήσεις και ενισχύοντας την τοπική παραγωγή ROS στην κυτταρική επιφάνεια⁸⁵. Αντίθετα, ο *E. faecalis* παρουσιάζει τη μέγιστη ανθεκτικότητα, αποδίδοντας μια χαρακτηριστική διφασική κινητική, η οποία σχετίζεται με το παχύ και έντονα διασυνδεδεμένο στρώμα πεπτιδογλυκάνης που επιβραδύνει τη διάχυση των οξειδωτικών ειδών.

Το τροποποιημένο μοντέλο Hom αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην περιγραφή των μη γραμμικών καμπυλών επιβίωσης, με υψηλές τιμές προσαρμογής ($R^2 \geq 0,986$ για *K. pneumoniae*, *S. aureus* και *E. coli*). Οι παράμετροι του μοντέλου παρουσιάζουν σαφή φυσικοχημική ερμηνεία, με τη σταθερά k_2 να συσχετίζεται αντιστρόφως με τον χρόνο δεκαδικής μείωσης (D) και τον εκθέτη k_3 να αποτυπώνει τη διάρκεια και ένταση της φάσης ώμου. Ωστόσο, για τον *E. faecalis* παρατηρήθηκε μειωμένη προσαρμογή ($R^2 = 0,946$),

γεγονός που αποδίδεται στην αδυναμία της λείας σιγμοειδούς μορφής του μοντέλου να αναπαραγάγει πλήρως τη διφασική κινητική με ενδιαμέσο πλατό.

Για την περαιτέρω ανάπτυξη και εφαρμογή της τεχνολογίας προτείνονται οι ακόλουθες κατευθύνσεις: α) αξιολόγηση σε πραγματικές υδατικές μήτρες: μελέτη της απόδοσης σε φυσικά ύδατα και αστικά λύματα, με στόχο την ποσοτικοποίηση της επίδρασης ανόργανων ιόντων και διαλυμένης οργανικής ύλης ως δεσμευτών των δραστικών μορφών οξυγόνου, β) μοριακή επιβεβαίωση της απολύμανσης: εφαρμογή τεχνικών qPCR για την παρακολούθηση της ακεραιότητας του βακτηριακού DNA και τον εντοπισμό πιθανής μετάβασης σε κατάσταση VBNC, γ) σταθερότητα και αναγεννησιμότητα του καταλύτη: διερεύνηση της μακροχρόνιας σταθερότητας του TiO_2 , του φαινομένου «δηλητηρίασης» ενεργών θέσεων από οργανικά υπολείμματα κυτταρικής λύσης, καθώς και ανάπτυξη στρατηγικών αναγέννησης της καταλυτικής επιφάνειας.

Συνολικά, η παρούσα εργασία τεκμηριώνει ότι η ετερογενής φωτοκατάλυση με TiO_2 αποτελεί αποτελεσματική τεχνολογία απολύμανσης, με σαφή συσχέτιση μεταξύ μικροβιακής δομής, κινητικής απόκρισης και φωτοχημικών μηχανισμών.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Boyd CE. *Water Quality: An Introduction*. Springer International Publishing; 2015. doi:10.1007/978-3-319-17446-4
2. Manahan SE. *Environmental Chemistry*. Tenth ed. CRC press; 2017.
3. Αλμπάνης Τριαντάφυλλος. *Ρύπανση Και Τεχνολογίες Προστασίας Περιβάλλοντος*. Εκδόσεις Τζιόλα.
4. Venieri D, Gounaki I, Bikouvaraki M, et al. Solar photocatalysis as disinfection technique: Inactivation of *Klebsiella pneumoniae* in sewage and investigation of changes in antibiotic resistance profile. *J Environ Manage*. 2017;195:140-147. doi:10.1016/j.jenvman.2016.06.009
5. Tchobanoglous G, Stensel DH, Tsuchihashi R, et al., eds. *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery*. Fifth Edition. McGraw-Hill Education; 2014.
6. Konstantinou IK, Albanis TA. TiO₂-assisted photocatalytic degradation of azo dyes in aqueous solution: kinetic and mechanistic investigations. *Appl Catal B Environ*. 2004;49(1):1-14. doi:10.1016/j.apcatb.2003.11.010
7. Shannon MA, Bohn PW, Elimelech M, Georgiadis JG, Marinas BJ, Mayes AM. Science and technology for water purification in the coming decades. 2008;452.
8. Wei L, Wu Q, Zhang J, et al. Prevalence and Genetic Diversity of *Enterococcus faecalis* Isolates from Mineral Water and Spring Water in China. *Front Microbiol*. 2017;8:1109. doi:10.3389/fmicb.2017.01109
9. Rohde M. The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Braunstein M, Rood JJ, eds. *Microbiol Spectr*. 2019;7(3):7.3.10. doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0044-2018
10. Pruden A, Pei R, Storteboom H, Carlson KH. Antibiotic Resistance Genes as Emerging Contaminants: Studies in Northern Colorado. *Environ Sci Technol*. 2006;40(23):7445-7450. doi:10.1021/es060413l
11. Rizzo L, Manaia C, Merlin C, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Sci Total Environ*. 2013;447:345-360. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.01.032
12. Malato S, Fernández-Ibáñez P, Maldonado MI, Blanco J, Gernjak W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catal Today*. 2009;147(1):1-59. doi:10.1016/j.cattod.2009.06.018

13. Schwarzenbach RP, Escher BI, Fenner K, et al. The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems. *Science*. 2006;313(5790):1072-1077. doi:10.1126/science.1127291
14. Pepper IL, Gerba CP, Gentry TJ. Introduction to Environmental Microbiology. In: *Environmental Microbiology*. Elsevier; 2015:3-8. doi:10.1016/B978-0-12-394626-3.00001-6
15. Mara DD, Horan NJ. *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Academic Press; 2003.
16. Touaitia R, Mairi A, Ibrahim NA, Basher NS, Idres T, Touati A. Staphylococcus aureus: A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. *Antibiotics*. 2025;14(5):470. doi:10.3390/antibiotics14050470
17. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(5):a000414-a000414. doi:10.1101/cshperspect.a000414
18. Carré G, Hamon E, Ennahar S, et al. TiO₂ Photocatalysis Damages Lipids and Proteins in Escherichia coli. Schottel JL, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(8):2573-2581. doi:10.1128/AEM.03995-13
19. Van Tyne D, Martin M, Gilmore M. Structure, Function, and Biology of the Enterococcus faecalis Cytolysin. *Toxins*. 2013;5(5):895-911. doi:10.3390/toxins5050895
20. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Sci New Ser*. 1999;284(5418):1318-1322.
21. Mark Welch JL, Rossetti BJ, Rieken CW, Dewhirst FE, Borisy GG. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proc Natl Acad Sci*. 2016;113(6). doi:10.1073/pnas.1522149113
22. Venieri D, Fraggadaki A, Binas V, Zachopoulos A, Kiriakidis G, Mantzavinos D. Study of the generated genetic polymorphisms during the photocatalytic elimination of Klebsiella pneumoniae in water. *Photochem Photobiol Sci*. 2015;14(3):506-513. doi:10.1039/c4pp00291a
23. Oliver JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev*. 2010;34(4):415-425. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x
24. Liu L, Sun W, Yang W, Li Q, Shang JK. Post-illumination activity of SnO₂ nanoparticle-decorated Cu₂O nanocubes by H₂O₂ production in dark from photocatalytic “memory.” *Sci Rep*. 2016;6(1):20878. doi:10.1038/srep20878

25. Hajipour MJ, Fromm KM, Akbar Ashkarran A, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 2012;30(10):499-511. doi:10.1016/j.tibtech.2012.06.004
26. Venieri D, Fraggadaki A, Kostadima M, et al. Solar light and metal-doped TiO₂ to eliminate water-transmitted bacterial pathogens: Photocatalyst characterization and disinfection performance. *Appl Catal B Environ.* 2014;154-155:93-101. doi:10.1016/j.apcatb.2014.02.007
27. Dalrymple OK, Stefanakos E, Trotz MA, Goswami DY. A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. *Appl Catal B Environ.* 2010;98(1-2):27-38. doi:10.1016/j.apcatb.2010.05.001
28. Pérez-Lucas G, Martínez-Menchón M, Vela N, Navarro S. Removal assessment of disinfection by-products (DBPs) from drinking water supplies by solar heterogeneous photocatalysis: A case study of trihalomethanes (THMs). *J Environ Manage.* 2022;321:115936. doi:10.1016/j.jenvman.2022.115936
29. Fujishima A, Zhang X, Tryk D. TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surf Sci Rep.* 2008;63(12):515-582. doi:10.1016/j.surfrep.2008.10.001
30. Nakata K, Fujishima A. TiO₂ photocatalysis: Design and applications. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev.* 2012;13(3):169-189. doi:10.1016/j.jphotochemrev.2012.06.001
31. Gyürék LL, Finch GR. Modeling Water Treatment Chemical Disinfection Kinetics. *J Environ Eng.* 1998;124(9):783-793. doi:10.1061/(ASCE)0733-9372(1998)124:9(783)
32. Marugán J, Van Grieken R, Sordo C, Cruz C. Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions. *Appl Catal B Environ.* 2008;82(1-2):27-36. doi:10.1016/j.apcatb.2008.01.002
33. Lazić V, Nikšić V, Nedeljković JM. Application of TiO₂ in Photocatalytic Bacterial Inactivation: Review. *Int J Mol Sci.* 2025;26(21):10593. doi:10.3390/ijms262110593
34. Gaya UI, Abdullah AH. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev.* 2008;9(1):1-12. doi:10.1016/j.jphotochemrev.2007.12.003
35. Hijnen WAM, Beerendonk EF, Medema GJ. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Res.* 2006;40(1):3-22. doi:10.1016/j.watres.2005.10.030

36. Passantino L, Malley J, Knudson M, Ward R, Kim J. Effect of Low Turbidity and Algae on UV Disinfection Performance. *JAWWA*. 2004;96(6):128-137. doi:10.1002/j.1551-8833.2004.tb10786.x
37. Templeton MR, Andrews RC, Hofmann R. Particle-Associated Viruses in Water: Impacts on Disinfection Processes. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 2008;38(3):137-164. doi:10.1080/10643380601174764
38. Christensen J, Linden KG. How particles affect UV light in the UV Disinfection of Unfiltered Drinking Water. *JAWWA*. 2003;95(4):179-189. doi:10.1002/j.1551-8833.2003.tb10344.x
39. Rengifo-Herrera JA, Pulgarin C. Why five decades of massive research on heterogeneous photocatalysis, especially on TiO₂, has not yet driven to water disinfection and detoxification applications? Critical review of drawbacks and challenges. *Chem Eng J*. 2023;477:146875. doi:10.1016/j.cej.2023.146875
40. Lee E, Lee H, Jung W, Park S, Yang D, Lee K. Influences of humic acids and photoreactivation on the disinfection of Escherichia coli by a high-power pulsed UV irradiation. *Korean J Chem Eng*. 2009;26(5):1301-1307. doi:10.1007/s11814-009-0208-5
41. Krasner SW, Weinberg HS, Richardson SD, et al. Occurrence of a New Generation of Disinfection Byproducts. *Environ Sci Technol*. 2006;40(23):7175-7185. doi:10.1021/es060353j
42. Von Gunten U. Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. *Water Res*. 2003;37(7):1469-1487. doi:10.1016/S0043-1354(02)00458-X
43. Black & Veatch Corporation. *White's Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants*. 1st ed. Wiley; 2009. doi:10.1002/9780470561331
44. Sedlak DL, Von Gunten U. The Chlorine Dilemma. *Science*. 2011;331(6013):42-43. doi:10.1126/science.1196397
45. Morrison CM, Hogard S, Pearce R, Gerrity D, Von Gunten U, Wert EC. Ozone disinfection of waterborne pathogens and their surrogates: A critical review. *Water Res*. 2022;214:118206. doi:10.1016/j.watres.2022.118206
46. Mahmoodi M, Pishbin E. Ozone-based advanced oxidation processes in water treatment: recent advances, challenges, and perspective. *Environ Sci Pollut Res*. 2025;32(7):3531-3570. doi:10.1007/s11356-024-35835-w
47. Bolton JR, Bircher KG, Tumas W, Tolman CA. Figures-of-merit for the technical development and application of advanced oxidation technologies for both electric- and solar-driven systems (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem*. 2001;73(4):627-637. doi:10.1351/pac200173040627

48. Meulemans CCE. The Basic Principles of UV–Disinfection of Water. *Ozone Sci Eng.* 1987;9(4):299-313. doi:10.1080/01919518708552146
49. Lei X, Lei Y, Zhang X, Yang X. Treating disinfection byproducts with UV or solar irradiation and in UV advanced oxidation processes: A review. *J Hazard Mater.* 2021;408:124435. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124435
50. Glaze WH, Kang JW, Chapin DH. The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation. *Ozone Sci Eng.* 1987;9(4):335-352. doi:10.1080/01919518708552148
51. Andreozzi R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal Today.* 1999;53(1):51-59. doi:10.1016/S0920-5861(99)00102-9
52. Miklos DB, Remy C, Jekel M, Linden KG, Drewes JE, Hübner U. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Res.* 2018;139:118-131. doi:10.1016/j.watres.2018.03.042
53. Poyatos JM, Muñoz MM, Almecija MC, Torres JC, Hontoria E, Osorio F. Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. *Water Air Soil Pollut.* 2010;205(1-4):187-204. doi:10.1007/s11270-009-0065-1
54. Deng Y, Zhao R. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. *Curr Pollut Rep.* 2015;1(3):167-176. doi:10.1007/s40726-015-0015-z
55. Pignatello JJ, Oliveros E, MacKay A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Crit Rev Environ Sci Technol.* 2006;36(1):1-84. doi:10.1080/10643380500326564
56. Hoffmann MR, Martin ST, Choi W, Bahnemann DW. Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis. *Chem Rev.* 1995;95(1):69-96. doi:10.1021/cr00033a004
57. Linsebigler L, Lu G, Yates JT. Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results.
58. Ohtani B. Photocatalysis A to Z—What we know and what we do not know in a scientific sense. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev.* 2010;11(4):157-178. doi:10.1016/j.jphotochemrev.2011.02.001
59. Fujishima A, Zhang X, Tryk D. TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surf Sci Rep.* 2008;63(12):515-582. doi:10.1016/j.surfrep.2008.10.001
60. Herrmann JM. Fundamentals and misconceptions in photocatalysis. *J Photochem Photobiol Chem.* 2010;216(2-3):85-93. doi:10.1016/j.jphotochem.2010.05.015

61. Serpone N, Emeline AV. Suggested terms and definitions in photocatalysis and radiocatalysis. *Int J Photoenergy*. 2002;4(3):91-131. doi:10.1155/S1110662X02000144
62. Landmann M, Rauls E, Schmidt WG. The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO₂. *J Phys Condens Matter*. 2012;24(19):195503. doi:10.1088/0953-8984/24/19/195503
63. Luttrell T, Halpegamage S, Tao J, Kramer A, Sutter E, Batzill M. Why is anatase a better photocatalyst than rutile? - Model studies on epitaxial TiO₂ films. *Sci Rep*. 2014;4(1):4043. doi:10.1038/srep04043
64. Ohno T, Sarukawa K, Tokieda K, Matsumura M. Morphology of a TiO₂ Photocatalyst (Degussa, P-25) Consisting of Anatase and Rutile Crystalline Phases. *J Catal*. 2001;203(1):82-86. doi:10.1006/jcat.2001.3316
65. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(4):589-603. doi:10.1128/CMR.11.4.589
66. Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:4. doi:10.3389/fcimb.2018.00004
67. Benabbou AK, Derriche Z, Felix C, Lejeune P, Guillard C. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli*. *Appl Catal B Environ*. 2007;76(3-4):257-263. doi:10.1016/j.apcatb.2007.05.026
68. Huang SM, Weng CH, Tzeng JH, et al. Photocatalytic inactivation of *Klebsiella pneumoniae* by visible-light-responsive N/C-doped and N-tourmaline/palladium-C-codoped TiO₂. *Chem Eng J*. 2020;379:122345. doi:10.1016/j.cej.2019.122345
69. Wyres KL, Holt KE. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2018;45:131-139. doi:10.1016/j.mib.2018.04.004
70. Morgado S, Fonseca E, Vicente AC. Genomics of *Klebsiella pneumoniae* Species Complex Reveals the Circulation of High-Risk Multidrug-Resistant Pandemic Clones in Human, Animal, and Environmental Sources. *Microorganisms*. 2022;10(11):2281. doi:10.3390/microorganisms10112281
71. Nakano R, Hara M, Ishiguro H, et al. Broad Spectrum Microbicidal Activity of Photocatalysis by TiO₂. *Catalysts*. 2013;3(1):310-323. doi:10.3390/catal3010310
72. Mohamed NAN, Wan Mansor WS. UV PHOTOCATALYSIS AND METAL DOPED TITANIUM DIOXIDE: ELIMINATION OF *E. COLI* AND *S. AUREUS* IN WATER. *Univ Malays Teren J Undergrad Res*. 2022;4(1):39-52. doi:10.46754/umtjur.v4i1.259

73. Bonetta S, Bonetta S, Motta F, Strini A, Carraro E. Photocatalytic bacterial inactivation by TiO₂-coated surfaces. *AMB Express*. 2013;3(1):59. doi:10.1186/2191-0855-3-59
74. Foster HA, Ditta IB, Varghese S, Steele A. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;90(6):1847-1868. doi:10.1007/s00253-011-3213-7
75. Dunlop PSM, Ciavola M, Rizzo L, McDowell DA, Byrne JA. Effect of photocatalysis on the transfer of antibiotic resistance genes in urban wastewater. *Catal Today*. 2015;240:55-60. doi:10.1016/j.cattod.2014.03.049
76. World Health Organization, ed. *Guidelines for Drinking-Water Quality*. Fourth edition incorporating the first and second addenda. World Health Organization; 2022.
77. Malato S, Fernández-Ibáñez P, Maldonado MI, Blanco J, Gernjak W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catal Today*. 2009;147(1):1-59. doi:10.1016/j.cattod.2009.06.018
78. Janus M, Kusiak-Nejman E, Rokicka-Konieczna P, Markowska-Szczupak A, Zając K, Morawski AW. Bacterial Inactivation on Concrete Plates Loaded with Modified TiO₂ Photocatalysts under Visible Light Irradiation. *Molecules*. 2019;24(17):3026. doi:10.3390/molecules24173026
79. Ateia M, Alalm MG, Awfa D, Johnson MS, Yoshimura C. Modeling the degradation and disinfection of water pollutants by photocatalysts and composites: A critical review. *Sci Total Environ*. 2020;698:134197. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134197
80. Geeraerd AH, Herremans CH, Van Impe JF. Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. *Int J Food Microbiol*. 2000;59(3):185-209. doi:10.1016/S0168-1605(00)00362-7
81. Moreno R, Moles S, Ormad MP, Mosteo R, Monzón A. Modeling TiO₂/UV-vis bacterial inactivation: Useful tools for reactor optimization and design. *Catal Today*. 2024;430:114520. doi:10.1016/j.cattod.2024.114520
82. Liu Y, Gilchrist A, Zhang J, Li XF. Detection of Viable but Nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 Bacteria in Drinking Water and River Water. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(5):1502-1507. doi:10.1128/AEM.02125-07
83. Venieri D, Fraggadaki A, Kostadima M, et al. Solar light and metal-doped TiO₂ to eliminate water-transmitted bacterial pathogens: Photocatalyst characterization and disinfection performance. *Appl Catal B Environ*. 2014;154-155:93-101. doi:10.1016/j.apcatb.2014.02.007

84. Lazić V, Nikšić V, Nedeljković JM. Application of TiO₂ in Photocatalytic Bacterial Inactivation: Review. *Int J Mol Sci.* 2025;26(21):10593. doi:10.3390/ijms262110593
85. Huang G, Xia D, An T, et al. Dual Roles of Capsular Extracellular Polymeric Substances in Photocatalytic Inactivation of Escherichia coli: Comparison of E. coli BW25113 and Isogenic Mutants. Kivisaar M, ed. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(15):5174-5183. doi:10.1128/AEM.00775-15
86. Foster HA, Ditta IB, Varghese S, Steele A. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;90(6):1847-1868. doi:10.1007/s00253-011-3213-7
87. Chen GQ, Wu YH, Wang YH, et al. Effects of microbial inactivation approaches on quantity and properties of extracellular polymeric substances in the process of wastewater treatment and reclamation: A review. *J Hazard Mater.* 2021;413:125283. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.125283
88. Van Grieken R, Marugán J, Pablos C, Furones L, López A. Comparison between the photocatalytic inactivation of Gram-positive E. faecalis and Gram-negative E. coli faecal contamination indicator microorganisms. *Appl Catal B Environ.* 2010;100(1-2):212-220. doi:10.1016/j.apcatb.2010.07.034
89. Venieri D, Chatzisyneon E, Gonzalo MS, Rosal R, Mantzavinos D. Inactivation of Enterococcus faecalis by TiO₂-mediated UV and solar irradiation in water and wastewater: culture techniques never say the whole truth. *Photochem Photobiol Sci.* 2011;10(11):1744-1750. doi:10.1039/c1pp05198a
90. Saikachi A, Sugawara K, Suzuki T. Analyses of the Effect of Peptidoglycan on Photocatalytic Bactericidal Activity Using Different Growth Phases Cells of Gram-Positive Bacterium and Spheroplast Cells of Gram-Negative Bacterium. *Catalysts.* 2021;11(2):147. doi:10.3390/catal11020147
91. Kanata E, Paspaltsis I, Sotiriadis S, et al. Photo-Fenton and TiO₂ Photocatalytic Inactivation of Model Microorganisms under UV-A; Comparative Efficacy and Optimization. *Molecules.* 2023;28(3):1199. doi:10.3390/molecules28031199
92. Paluch E, Seniuk A, Plesh G, et al. Mechanism of Action and Efficiency of Ag₃PO₄-Based Photocatalysts for the Control of Hazardous Gram-Positive Pathogens. *Int J Mol Sci.* 2023;24(17):13553. doi:10.3390/ijms241713553
93. Rokicka-Konieczna P, Morawski AW. Photocatalytic Bacterial Destruction and Mineralization by TiO₂-Based Photocatalysts: A Mini Review. *Molecules.* 2024;29(10):2221. doi:10.3390/molecules29102221
94. Liu N, Ming J, Sharma A, et al. Sustainable photocatalytic disinfection of four representative pathogenic bacteria isolated from real water environment by

immobilized TiO₂-based composite and its mechanism. *Chem Eng J*. 2021;426:131217. doi:10.1016/j.cej.2021.131217

95. Kozak M, Mazierski P, Żebrowska J, et al. Detailed Insight into Photocatalytic Inactivation of Pathogenic Bacteria in the Presence of Visible-Light-Active Multicomponent Photocatalysts. *Nanomaterials*. 2024;14(5):409. doi:10.3390/nano14050409
96. McClary JS, Sassoubre LM, Boehm AB. Staphylococcus aureus Strain Newman Photoinactivation and Cellular Response to Sunlight Exposure. Voordouw G, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83(17):e01052-17. doi:10.1128/AEM.01052-17
97. Paspaltsis I, Kanata E, Sotiriadis S, et al. Titanium Dioxide Solar Photocatalytic Microbial Inactivation Assessment Utilizing Viability Tests and a Novel Triplex qPCR Assay for Nucleic Acid Degradation Determination. *Molecules*. 2025;30(22):4333. doi:10.3390/molecules30224333
98. He J, Kumar A, Khan M, Lo IMC. Critical review of photocatalytic disinfection of bacteria: from noble metals- and carbon nanomaterials-TiO₂ composites to challenges of water characteristics and strategic solutions. *Sci Total Environ*. 2021;758:143953. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143953
99. Kozak M, Mazierski P, Żebrowska J, et al. Detailed Insight into Photocatalytic Inactivation of Pathogenic Bacteria in the Presence of Visible-Light-Active Multicomponent Photocatalysts. *Nanomaterials*. 2024;14(5):409. doi:10.3390/nano14050409
100. Marugán J, Van Grieken R, Pablos C, Satuf ML, Cassano AE, Alfano OM. Rigorous kinetic modelling with explicit radiation absorption effects of the photocatalytic inactivation of bacteria in water using suspended titanium dioxide. *Appl Catal B Environ*. 2011;102(3-4):404-416. doi:10.1016/j.apcatb.2010.12.012

ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 Βασικός μηχανισμός της ετερογενούς φωτοκατάλυσης (Πηγή: Byrne et al., 2015)	25
Εικόνα 2 Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης βακτηριακών κυττάρων με τη χρήση διοξειδίου του τιτανίου (TiO ₂) (Lazić et al., 2025)27	
Εικόνα 3 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου <i>E. Coli</i> παρουσία TiO ₂ υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.	51
Εικόνα 4 Κινητική αδρανοποίησης του βακτηρίου <i>E. Coli</i> σε συνάρτηση με τον χρόνο	52
Εικόνα 5 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου <i>K.pneumoniae</i> παρουσία TiO ₂ υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.....	55

Εικόνα 6 Καμπύλη λογαριθμικής μείωσης του πληθυσμού του <i>K.pneumoniae</i> σε συνάρτηση με τον χρόνο ακτινοβολίας (λεπτά).	56
Εικόνα 7 Συγκριτική απεικόνιση φωτοκαταλυόμενης αδρανοποίησης Gram- βακτηρίων με TiO ₂ προσομοιωμένο ηλιακό φως	58
Εικόνα 8 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου <i>S.aureus</i> παρουσία TiO ₂ υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.	60
Εικόνα 9 Λογαριθμική μείωση (log10μείωση) του πληθυσμού του Gram-θετικού βακτηρίου <i>S.aureus</i> κατά τη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση, σε συνάρτηση με τον χρόνο	61
Εικόνα 10 Κινητική της φωτοκαταλυτικής αδρανοποίησης του βακτηρίου <i>E.faecalis</i> παρουσία TiO ₂ υπό συνθήκες φωτισμού, σε σύγκριση με τα πειράματα ελέγχου (control) στο σκοτάδι και απουσία καταλύτη.	63
Εικόνα 11 Λογαριθμική μείωση (log10μείωση) του πληθυσμού του Gram-θετικού βακτηρίου <i>E. Faecalis</i> κατά τη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση, σε συνάρτηση με τον χρόνο	64
Εικόνα 12 Συγκριτική απεικόνιση φωτοκαταλυόμενης αδρανοποίησης Gram+ βακτηρίων με TiO ₂ προσομοιωμένο ηλιακό φως.....	66
Εικόνα 13 Δομικές διαφορές μεταξύ του κυτταρικού περιβλήματος Gram-θετικών (αριστερά) και Gram-αρνητικών (δεξιά) βακτηρίων. Διακρίνεται το παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης στα Gram-θετικά και η διπλή μεμβράνη με την παρουσία λιποπολυσακχαριτών στα Gram-αρνητικά. Πηγή: Dalrymple et al., 2010).	69
Εικόνα 14 Σχηματική αναπαράσταση της σταδιακής καταστροφής του κυτταρικού περιβλήματος και της επακόλουθης διαρροής ενδοκυττάρων συστατικών (ιόντων, πρωτεϊνών και DNA) λόγω της δράσης των ROS στην επιφάνεια του καταλύτη. Πηγή: Rokicka-Konieczna & Morawski, 2024).	70
Εικόνα 15 Συγκριτική απεικόνιση των πειραματικών καμπυλών επιβίωσης (log ₁₀ cfu/ml vs t) των τεσσάρων υπό μελέτη παθογόνων μικροοργανισμών κατά τη φωτοκαταλυτική αδρανοποίηση παρουσία TiO ₂ και προσομοιωμένου ηλιακού φωτός. .	72
Εικόνα 16 Συγκριτική απεικόνιση της λογαριθμικής μείωσης (log ₁₀ μείωση vs t) των τεσσάρων υπό μελέτη παθογόνων μικροοργανισμών σε συνάρτηση με τον χρόνο φωτοκαταλυτικής επεξεργασίας.	72
Εικόνα 17 Προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων αδρανοποίησης των τεσσάρων υπό μελέτη μικροοργανισμών στο Τροποποιημένο Μοντέλο Hom.	77