

Πανεπιστήμιο
Πατρών
Εργαστήριο
Τεχνολογία του
Περιβάλλοντος



University of
Patras
Environmental
Engineering
Laboratory



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**“ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ ΙΩΝ ΣΕ ΕΛΑΦΙΚΟ ΥΛΙΚΟ
ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΚΟΚΚΟΜΕΤΡΙΑΣ”**

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΑΡΑΒΑΝΤΙΝΟΥ Φ. ΑΝΔΡΙΑΝΑ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΛΟΓΟΣ-ΙΧΘΥΟΛΟΓΟΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΧΡΥΣΙΚΟΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ**

ΠΑΤΡΑ 2010

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας του Περιβάλλοντος στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Πανεπιστημίου Πατρών «Υδατικοί Πόροι και Περιβάλλον». Η παρούσα διατριβή διήρκησε περίπου δυο χρόνια, από τον Μάρτιο 2008 έως τον Ιούνιο 2010.

Επιβλέπων διετέλεσε ο κος Κωνσταντίνος Χρυσικόπουλος, Καθηγητής του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών, τον οποίο και ευχαριστώ θερμά για την ανάθεση και την επίβλεψη αυτής της εργασίας, καθώς επίσης και για τις πολύτιμες συμβουλές.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, τον κο Ιωάννη Μαναριώτη, Λέκτορα του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών και την κα Χρυσή Καραπαναγιώτη, Λέκτορα του Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιου Πατρών, που δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην επιτροπή.

Πολύ σημαντική ήταν η συνεργασία μου με την κα Βασιλική Συγγούνα, Υποψήφια Διδάκτωρ του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών την οποία και ευχαριστώ που με καθοδήγησε με το σωστότερο τρόπο προκειμένου να φέρω εις πέρας την παρούσα μελέτη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Γ. Ψαρά, Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών, που ήταν πρόθυμος να βοηθήσει σε ότι χρειάστηκα. Ευχαριστώ επίσης και τον Α. Βανταράκη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών, για τις πολύτιμες συμβουλές του και την εργαστηριακή υποστήριξη.

Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω τους φοιτητές του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Ασημίνα, Χριστίνα, Παναγιώτη, Ανδρέα, Σταύρο, Ελένη και Ξένια, τα άτομα του Εργαστηρίου Τεχνολογίας του Περιβάλλοντος Ιωάννα, Βασιλική και Κωνσταντίνα, και τη φίλη μου Δέσποινα για την συνεργασία και την αμέριστη συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια των Μεταπτυχιακών Σπουδών μου.

Φυσικά, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, η οποία φέρει ένα μεγάλο μέρος της «ευθύνης» για όλους τους στόχους που διεκπεραιώνω στη ζωή μου και με στηρίζει ηθικά και οικονομικά σε κάθε προσπάθεια μου.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<u>Εικόνα 1.1:</u>	Διάφορα μεγέθη ιών και βακτηρίων σε σχέση με το ανθρώπινο ερυθροκύτταρο (Πηγή: Μαυρίδου και Παπαπετροπούλου, 2001).	3
<u>Εικόνα 1.2:</u>	Πρότυπο καψίδιο Αδενοϊού , στο οποίο φαίνονται τα ινίδια επί των κορυφών του καψιδίου (Πηγή: Karp, 1999).	4
<u>Εικόνα 1.3:</u>	Βακτηριοφάγος με ουρά, στον οποίο φαίνονται τα ινίδια της ουράς τοποθετημένα πάνω στο δίσκο της βάσης (Πηγή: Karp, 1999).	5
<u>Εικόνα 1.4:</u>	Δομή των δύο τύπων ιών : με και χωρίς μανδύα (Πηγή: Καραγκούνη, 1999).	6
<u>Εικόνα 1.5:</u>	Διάφορα είδη βακτηριοφάγων (Πηγή: Prescott <i>et al.</i> , 1996).	7
<u>Εικόνα 1.6:</u>	Διάφοροι μορφολογικοί τύποι βακτηριοφάγων (α - δ, ζ) και γεωμετρικά σχήματα φαγικών κεφαλών (ε, στ) (Πηγή: Καραγκούνη, 1999).	8
<u>Εικόνα 1.7:</u>	Λυτικός (1-4) και λυσιγονικός (1-3 ^α) κύκλος βακτηριοφάγων (Πηγή: Ιακωβίδης, 2007).	9
<u>Εικόνα 1.8:</u>	Υδατογενής μετάδοσης ανθρώπινων εντερικών ιών (Πηγή: Κρικέλης και Βόντας, 2006).	10
<u>Εικόνα 1.9:</u>	Μόλυνση του υπεδάφους με παθογόνους μικροοργανισμούς (Πηγή: Χρυσικόπουλος, 2008).	14
<u>Εικόνα 1.10:</u>	Σχηματική απεικόνιση των διαφορετικών πιθανών μηχανισμών κατά τους οποίους ένας φάγος μπορεί να χάσει την ικανότητα του να μολύνει το βακτήριο- ξενιστή (Πηγή: Harvey and Ryan, 2004).	21
<u>Εικόνα 1.11:</u>	Μηχανισμοί αδρανοποίησης ιού σε μια στερεή επιφάνεια (Πηγή: Gerba, 1984).	22
<u>Εικόνα 2.1:</u>	Μέθοδος διπλής επίστρωσης (Πηγή: Καραγκούνη, 2009).	41
<u>Εικόνα 2.2:</u>	Πλάκες βακτηριοφάγου α) MS2 και β) φX174.	42
<u>Εικόνα 2.3:</u>	α) Λεπτόκοκκη άμμος β) Μεσόκοκκη άμμος γ) Χονδρόκοκκη άμμος.	43
<u>Εικόνα 2.4:</u>	Πείραμα λεπτόκοκκης άμμου σε α) στατική και β) δυναμική κατάσταση.	48
<u>Εικόνα 2.5:</u>	Διάταξη πειραμάτων μεταφοράς με λεπτόκοκκη άμμο.	51
<u>Εικόνα 2.6 :</u>	Διάταξη κοκκομετρικής δοκιμής τύπου Impact, Electromagnetic Sieve, Shakers.	52
<u>Εικόνα 2.7:</u>	Απεικόνιση κόκκου άμμου από δείγμα μεσόκοκκης άμμου (425-600 μm) σε SEM.	62
<u>Εικόνα 2.8:</u>	Φωτογραφίες των φάγων α) MS2 και β) φX174 με τη χρήση TEM	63

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<u>Πίνακας 1.1:</u>	Παράγοντες που επηρεάζουν στην επιβίωση και τη μεταφορά των ιών στο υπέδαφος (Πηγή: Yates <i>et al.</i> , 1987).	18
<u>Πίνακας 1.1:</u>	(Συνέχεια) Παράγοντες που επηρεάζουν στην επιβίωση και τη μεταφορά των ιών στο υπέδαφος (Πηγή: Yates <i>et al.</i> , 1987).	19
<u>Πίνακας 1.2:</u>	Ρυθμός θνησιμότητας (day^{-1}) βακτηριοφάγων στο υπέδαφος (Πηγή: Azadpour-Keeley, 2005).	20
<u>Πίνακας 1.3:</u>	Ρυθμός αδρανοποίησης βακτηριοφάγων στα υπόγεια νερά.	26
<u>Πίνακας 1.4:</u>	Ομαδοποίηση ιών συμφωνά με το ποσοστό προσρόφησης σε εδαφικά στρωματά (Gebra, 1980).	34
<u>Πίνακας 1.5:</u>	Ποσοστό προσρόφησης ιών σε διάφορους προσροφητές (Πηγή: Ferguson, 2003).	35
<u>Πίνακας 1.6:</u>	Συντελεστής προσκόλλησης (α) για διάφορα είδη ιών (Πηγή: Schijven and Hassanizadeh, 2000).	37
<u>Πίνακας 2.1:</u>	Πειράματα που διεξάχθηκαν για τη μελέτη αδρανοποίησης και προσρόφησης ιών σε εδαφικό υλικό.	45
<u>Πίνακας 2.2:</u>	Πειράματα μεταφοράς	50
<u>Πίνακας 3.1:</u>	Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 σε λεπτόκοκκη άμμο.	68
<u>Πίνακας 3.2:</u>	Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 σε μεσόκοκκη άμμο.	72
<u>Πίνακας 3.3:</u>	Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 σε χονδρόκοκκη άμμο.	76
<u>Πίνακας 3.4:</u>	Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φΧ174 σε λεπτόκοκκη άμμο.	80
<u>Πίνακας 3.5:</u>	Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φΧ174 σε μεσόκοκκη άμμο.	84
<u>Πίνακας 3.6:</u>	Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φΧ174 σε χονδρόκοκκη άμμο.	88
<u>Πίνακας 3.7:</u>	Σταθερές ισόθερμης Freundlich	90
<u>Πίνακας 3.8:</u>	Σταθερές ισόθερμης Freundlich	91
<u>Πίνακας 3.9:</u>	Σταθερές ισόθερμης Freundlich	92
<u>Πίνακας 3.10:</u>	Σταθερές ισόθερμης Freundlich	93
<u>Πίνακας 3.11:</u>	Σταθερές ισόθερμης Freundlich	94
<u>Πίνακας 3.12:</u>	Σταθερές ισόθερμης Freundlich	95

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

<u>Γράφημα 2.1:</u>	Κοκκομετρική ανάλυση με Α) ομαλή κλίση Β) ισχυρή κλίση και Γ) τμήματα διαφορετικής καμπυλότητας (Πηγή: Σακελλαρίου και Κοζάνης, 2003).55
<u>Γράφημα 2.2:</u>	Κοκκομετρική ανάλυση λεπτόκοκκης άμμου ($d_{10} = 0.14\text{mm}$, $d_{60} = 0.19\text{mm}$, $C_u = 1.38$, $C_c = 1.0$).58
<u>Γράφημα 2.3:</u>	Κοκκομετρική ανάλυση μεσόκοκκης άμμου ($d_{10} = 0.46\text{mm}$, $d_{60} = 0.68\text{mm}$, $C_u = 1.49$, $C_c = 1.01$).58
<u>Γράφημα 2.4:</u>	Κοκκομετρική ανάλυση χονδρόκοκκης άμμου ($d_{10} = 1.21\text{mm}$, $d_{60} = 1.61\text{mm}$, $C_u = 1.33$, $C_c = 0.94$).58
<u>Γράφημα 3.1:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 2.5×10^3 β) 1.2×10^4 γ) 1.8×10^5 δ) 1.6×10^6 ε) 2.7×10^665
<u>Γράφημα 3.2:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 2.1×10^3 β) 1.3×10^4 γ) 1.8×10^5 δ) 2.5×10^6 ε) 3.6×10^666
<u>Γράφημα 3.3:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 5.3×10^4 β) 6.4×10^5 γ) 5.9×10^667
<u>Γράφημα 3.4:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 8.7×10^3 β) 1.2×10^4 γ) 1.9×10^5 δ) 1.1×10^5 ε) 2.1×10^768
<u>Γράφημα 3.5:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 3.7×10^3 β) 3.9×10^4 γ) 1.9×10^5 δ) 3.0×10^5 ε) 2.4×10^770
<u>Γράφημα 3.6:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 8.9×10^3 β) 1.1×10^5 γ) 1.6×10^6 δ) 5.6×10^671
<u>Γράφημα 3.7:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 0.9×10^3 β) 3.4×10^3 γ) 1.0×10^5 δ) 1.2×10^6 ε) 1.2×10^773
<u>Γράφημα 3.8:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 0.2×10^3 β) 4.2×10^3 γ) 6.8×10^4 δ) 6.6×10^5 ε) 7.3×10^774
<u>Γράφημα 3.9:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 8.5×10^4 β) 5.8×10^5 γ) 6.6×10^675

<u>Γράφημα 3.10:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 5.6×10^3 β) 6.5×10^4 γ) 5.0×10^5 δ) 9.0×10^6 ε) 1.5×10^877
<u>Γράφημα 3.11:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 3.3×10^3 β) 3.4×10^4 γ) 3.4×10^5 δ) 5.0×10^6 ε) 1.5×10^878
<u>Γράφημα 3.12:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 1.06×10^5 β) 1.4×10^6 γ) 2.3×10^779
<u>Γράφημα 3.13:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) $4,5 \times 10^3$ β) 6.9×10^4 γ) 5.9×10^5 δ) 3.6×10^7 ε) 7.1×10^781
<u>Γράφημα 3.14:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 7.5×10^3 β) 5.5×10^4 γ) 5.5×10^5 δ) 9.0×10^4 ε) 6.3×10^582
<u>Γράφημα 3.15:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 4.2×10^3 β) 5.7×10^4 γ) 9.2×10^4 δ) 1.5×10^6 ε) 5.8×10^683
<u>Γράφημα 3.16:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 1.7×10^3 β) 2.5×10^4 γ) 1.5×10^5 δ) 2.0×10^6 ε) 2.0×10^785
<u>Γράφημα 3.17:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 1.7×10^3 β) 2.5×10^4 γ) 1.5×10^5 δ) 2.0×10^6 ε) 2.0×10^786
<u>Γράφημα 3.18:</u>	Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 2.0×10^4 β) 1.7×10^5 γ) 2.0×10^687
<u>Γράφημα 3.19:</u>	Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του MS2 σε λεπτόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).90
<u>Γράφημα 3.20:</u>	Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του MS2 σε μεσόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).91

<u>Γράφημα 3.21:</u>	Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του MS2 σε χονδρόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).92
<u>Γράφημα 3.22:</u>	Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).93
<u>Γράφημα 3.23:</u>	Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του φX174 σε μεσόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).94
<u>Γράφημα 3.24:</u>	Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).95
<u>Γράφημα 3.25:</u>	Πειραματικά δεδομένα βακτηριοφάγου MS2 και φX174, μεταφοράς σε στήλες με a) 2.5, b) 1.5 και c) 0.8 mL/min ρυθμό ροής, σε τρεις διαφορετικές άμμους, υπό κορεσμένες συνθήκες96
<u>Γράφημα 3.26:</u>	Πειραματικά δεδομένα βακτηρίου <i>E.coli</i> CN13, μεταφοράς σε στήλες με 2.5 mL/min ρυθμό ροής, σε τρεις διαφορετικές άμμους, υπό κορεσμένες συνθήκες.96

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο έλεγχος των υπόγειων νερών καθίσταται αναγκαίος τα τελευταία χρόνια, καθότι είναι η κύρια πηγή πόσιμου νερού. Τα υπόγεια νερά συχνά μολύνονται με ιούς και βακτήρια από διαρροές βόθρων, γεωτρήσεων, χωματερών κ.α.. Υπό ευνοϊκές φυσικοχημικές συνθήκες διάφοροι παθογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι έχουν εισέλθει στο υπέδαφος και μολύνουν τον υδροφόρο ορίζοντα μπορούν να παραμείνουν ζωντανοί για αρκετές εβδομάδες ή ακόμα και χρόνια στην περίπτωση των ιών. Εξαιτίας των προβλημάτων Δημόσιας Υγείας που μπορεί να προκύψουν από την μόλυνση του υδροφόρου ορίζοντα, η επιστημονική κοινότητα προέβη στη μελέτη των παραγόντων οι οποίοι καθορίζουν την επιβίωση και την μεταφορά των ιών στο υπέδαφος. Η προσρόφηση και η αδρανοποίηση ιών, είναι οι δύο σημαντικότερες διαδικασίες που ελέγχουν την κινητικότητα των ιών στο υπέδαφος. Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την αδρανοποίηση και την προσρόφηση ιών μετά από την απελευθέρωση τους στο περιβάλλον συμπεριλαμβανομένου του τύπου του ιού, της θερμοκρασίας, καθώς και η αλληλεπίδραση με τις στερεές επιφάνειες.

Στη παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε μελέτη της αδρανοποίησης και της προσρόφησης ιών σε εδαφικό υλικό διαφορετικής κοκκομετρίας, χρησιμοποιώντας τους βακτηριοφάγους MS2 και φX174 ως ιούς – μοντέλα. Από τα πειράματα που διεξήχθησαν μελετήθηκαν και προσδιορίστηκαν οι εξής παράγοντες: το είδος του ιού, η θερμοκρασία, η κοκκομετρία του εδαφικού υλικού, η συγκέντρωση του ιού και η παρουσία αέρα. Για να προσδιοριστεί η επίδραση του κάθε παράγοντα, πραγματοποιήθηκαν περίπου 90 πειράματα διαλείποντος έργου, αδρανοποίησης και προσρόφησης διάρκειας 75 ημερών. Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν υπό σταθερές ελεγχόμενες συνθήκες, με την διαφορά ότι άλλαζε ένας παράγοντας κάθε φορά ενώ οι υπόλοιποι παρέμεναν ίδιοι. Κατά την διάρκεια των πειραμάτων λαμβανόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα δείγμα βακτηριοφάγων, ώστε να ελέγχεται η συγκέντρωση των ιών. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε προσομοίωση των αποτελεσμάτων και υπολογίστηκε η επίδραση του κάθε παράγοντα.

Αρχικά, στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στους ιούς και στη εισαγωγή τους στο υπέδαφος. Επιπλέον, γίνεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση του θέματος των

διεργασιών που ελέγχουν την κινητικότητα των ιόν στο υπέδαφος.

Στη συνέχεια, στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται εκτενής περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας που ακολουθήθηκε, καθώς και του θεωρητικού μέρους και των εξισώσεων που εφαρμόστηκαν για την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Καταγράφεται δηλαδή η προετοιμασία της πειραματικής διαδικασίας και αναφέρεται ο τεχνικός εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή της. Περιγράφονται όλα τα στάδια του πειράματος με λεπτομέρειες στις διάφορες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν.

Στο τρίτο κεφάλαιο επεξεργάστηκαν τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας με τη βοήθεια του προγράμματος Igor Pro. Μετά την ανάλυση των αποτελεσμάτων γίνεται σύγκριση αυτών με τα αποτελέσματα από άλλες παρόμοιες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σύμφωνα με τη βιβλιογραφία στο τέταρτο κεφάλαιο .

Τέλος, στο πέμπτο κεφάλαιο, ακολουθούν τα συμπεράσματα, τα οποία προέκυψαν κατά τη διάρκεια της υλοποίησης της παρούσας μελέτης, καθώς και από τα πειραματικά αποτελέσματα αυτής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	ii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	ix
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1-ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΙΟΙ.....	2
1.1.1 Χημική σύσταση των ιών.....	4
1.1.2 Δομή των ιών.....	5
1.2 ΙΟΙ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ: ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ Ή ΦΑΓΟΙ.....	7
1.3 ΧΡΗΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ.....	10
1.3.1 ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ – ΔΕΙΚΤΕΣ.....	12
1.4 ΠΗΓΕΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΥΠΟΓΕΙΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΑΠΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΥΣ.....	14
1.5 ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ ΣΤΟ ΥΠΕΔΑΦΟΣ.....	17
1.5.1 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ.....	17
1.5.1.1 Αδρανοποίηση στο υδάτινο περιβάλλον.....	21
1.5.1.2 Αδρανοποίηση στο υπέδαφος.....	21
1.5.1.3 Βιολογικοί παράγοντες.....	23
1.5.1.4 Φυσικοί παράγοντες.....	25
1.5.1.5 Χημικοί παράγοντες.....	30
1.5.2 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ.....	31
1.5.2.1 Παράγοντες.....	33
1.5.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ.....	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2- ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	40
2.1 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ.....	44
2.1.1 Πειραματικό μέρος.....	44
2.1.2 Θεωρητικό μέρος.....	46
2.2 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ.....	48
2.2.1 Πειραματικό μέρος.....	48
2.2.2 Θεωρητικό μέρος.....	49
2.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ.....	50

2.4 ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....	52
2.4.1 Κοκκομετρική Ανάλυση Άμμου.....	53
2.4.2 Προσδιορισμός Οργανικής Ουσίας.....	59
2.4.3 Ηλεκτρονική Μικροσκοπία (SEM – TEM).....	61
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3- ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	64
3.1 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ.....	64
3.1.1 Βακτηριοφάγος MS2.....	65
3.1.1.1 Αποτελέσματα λεπτόκοκκης άμμου.....	65
3.1.1.2 Αποτελέσματα μεσόκοκκης άμμου.....	69
3.1.1.3 Αποτελέσματα χονδρόκοκκης άμμου.....	73
3.1.2 Βακτηριοφάγος φX174.....	77
3.1.2.1 Αποτελέσματα λεπτόκοκκης άμμου.....	77
3.1.2.2 Αποτελέσματα μεσόκοκκης άμμου.....	81
3.1.2.3 Αποτελέσματα χονδρόκοκκης άμμου.....	85
3.2 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ.....	89
3.2.1 Βακτηριοφάγος MS2.....	90
3.2.1.1 Αποτελέσματα λεπτόκοκκης άμμου.....	90
3.2.1.2 Αποτελέσματα μεσόκοκκης άμμου.....	91
3.2.1.3 Αποτελέσματα χονδρόκοκκης άμμου.....	92
3.2.2 Βακτηριοφάγος φX174.....	93
3.2.2.1 Αποτελέσματα λεπτόκοκκης άμμου.....	93
3.2.2.2 Αποτελέσματα μεσόκοκκης άμμου.....	94
3.2.2.3 Αποτελέσματα χονδρόκοκκης άμμου.....	95
3.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ.....	96
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	98
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	102

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το νερό αποτελεί βασικό στοιχείο για την ανάπτυξη ενός τόπου και για τη διατήρηση της ισορροπίας στη φύση. Παρά το ότι είναι ανανεώσιμος πόρος, η υπερβολική του χρήση από τον άνθρωπο κατά την άσκηση των δραστηριοτήτων του, οδηγεί σε σημαντική μείωση της διαθέσιμης ποσότητας νερού, ενώ η ποιότητα του έχει ήδη σαφώς υποβαθμιστεί. Ως εκ τούτου, σε ορισμένα ανεπτυγμένα κράτη, όπου η κατανάλωση νερού είναι υπέρμετρη, είναι σχεδόν απαραίτητη η εκμετάλλευση υποβαθμισμένης ποιότητας νερού. Επίσης, η ανάγκη διαχείρισης και καθαρισμού υποβαθμισμένων υδατικών αποθεμάτων γίνεται όλο και πιο έντονη.

Για αρκετά χρόνια οι άνθρωποι θεωρούσαν ότι οι υπάρχοντες υδατικοί πόροι είναι άφθονοι και η ποιότητα του πόσιμου νερού δεν κινδυνεύει ιδιαίτερα. Όμως, μετά το 1960 οι καταναλωτές σε όλο τον κόσμο άρχισαν να συνειδητοποιούν ότι οι υδατικοί πόροι πολύ εύκολα μπορούν να μολυνθούν από παθογόνους μικροοργανισμούς, οργανικά απόβλητα, ανόργανα χημικά, φυτικά θρεπτικά συστατικά, ραδιενεργά συστατικά, ή ακόμα και από θερμική ρύπανση (Χρυσικόπουλος, 2008).

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προκαλούν κρούσματα επιδημικών νόσων (δυσεντερία, τυφοειδής πυρετός, χολέρα, πολιομυελίτιδα, κλπ.), εισέρχονται στο νερό από αποχετεύσεις ή από ζωικά και ανθρώπινα απόβλητα, τα οποία δεν έχουν υποστεί κατάλληλη επεξεργασία. Ερευνητικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την δυνατότητα των ιών να μεταφέρονται από μια πηγή μόλυνσης, μέσω του ακόρεστου πορώδους, στα υπόγεια νερά. Περίπου 70% των υδατογενών λοιμώξεων στις Ηνωμένες Πολιτείες προκαλούνται από την κατανάλωση μολυσμένων υπόγειων νερών. Η μεταφορά των μικροοργανισμών (βακτηριών και ιών) στο υπέδαφος είναι πολύ σημαντική για τη δημόσια υγεία (Jin *et al.*, 2000).

Ο έλεγχος των υπόγειων νερών καθίσταται αναγκαίος τα τελευταία χρόνια, καθότι είναι η κύρια πηγή πόσιμου νερού. Τα υπόγεια νερά συχνά μολύνονται με ιούς και βακτήρια από διαρροές βόθρων, γεωτρήσεων, χωματερών κ.α. (Schijven and Hassanizadeh, 2000). Υπό ευνοϊκές φυσικοχημικές συνθήκες διάφοροι παθογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι έχουν εισέλθει στο υπέδαφος και μολύνουν τον υδροφόρο ορίζοντα μπορούν να παραμείνουν ζωντανοί για αρκετές εβδομάδες (Bitton *et al.*, 1983). Οι ιοί παραμένουν ζωντανοί μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε χαμηλές θερμοκρασίες (1°-8°C) παρά σε υψηλές θερμοκρασίες (20°-32°C) (Reddy *et al.*, 1981, Sobsey, 1983,

Yates *et al.*, 1985). Τα βακτήρια δεν εξαρτώνται όσο οι ιοί από την θερμοκρασία του υπεδάφους αλλά επηρεάζονται από τη χημεία του υπόγειου νερού και την παρουσία άλλων ενδημικών βακτηρίων. Επίσης, η προσκόλληση ιών σε επιφάνειες στερεών στο υπέδαφος μπορεί να επηρεάσει την θνησιμότητα τους. Για παράδειγμα, ο ιός PRD-1 πεθαίνει γρηγορότερα ενώ οι ιοί poliovirus και hepatitis-A επιβιώνουν περισσότερο όταν είναι προσκολλημένοι σε επιφάνειες στερεών παρά όταν είναι αιωρούμενοι στο υπόγειο νερό (John and Rose, 2005). Επομένως, ο στερεός σκελετός του υπεδάφους, τα αιωρούμενα στο νερό στερεά ακόμα και η θολερότητα είναι παράγοντες που επιδρούν προστατευτικά για ορισμένους ιούς.

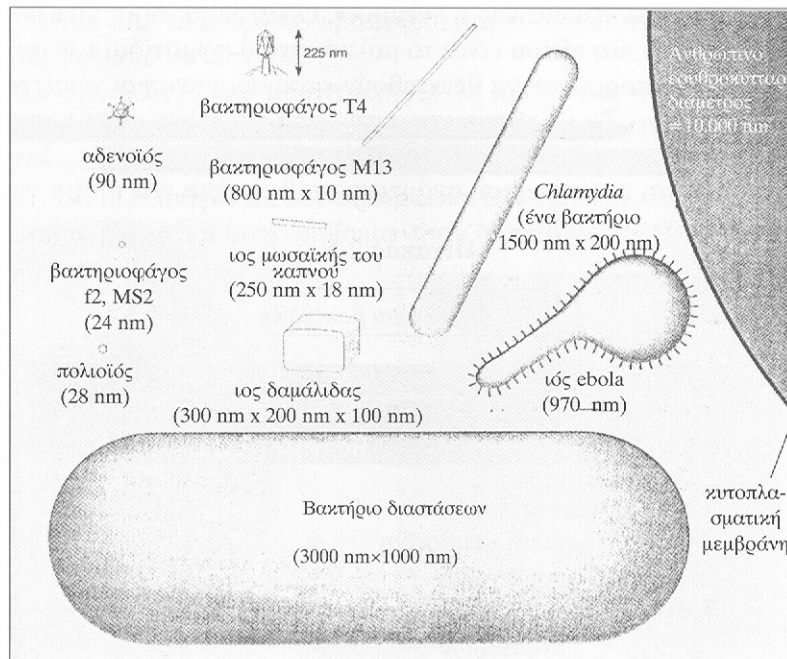
1.1. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΙΟΙ

Μικροοργανισμοί λέγονται οι οργανισμοί που δεν φαίνονται με γυμνό μάτι. Οι περισσότεροι είναι μονοκύτταροι αλλά υπάρχουν και ορισμένοι πολυκύτταροι. Ανάλογα με την δομή του κυττάρου τους χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

Προκαρυωτικοί είναι οι μικροοργανισμοί μεγέθους $< 5 \mu\text{m}$. Το γενετικό τους υλικό αποτελείται από ένα κυκλικό μόριο DNA. Μερικές φορές μέσα στο κύτταρο τους παρατηρείται επιπλέον γενετικό υλικό που ονομάζεται πλασμίδιο. Ο πολλαπλασιασμός αυτών των μικροοργανισμών γίνεται με διχοτόμηση. Προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί είναι τα βακτήρια, οι ακτινομύκητες και τα κυανοφύκη.

Ευκαρυωτικοί είναι μεγαλύτεροι μικροοργανισμοί, με κυτταρική δομή παρόμοια με των ανώτερων οργανισμών. Το γενετικό τους υλικό περιβάλλεται από την πυρηνική μεμβράνη. Η αναπαραγωγή τους μπορεί να είναι σεξουαλική ή μη σεξουαλική και ο κύκλος ζωής τους συχνά είναι πολύ σύνθετος. Σε αυτήν την κατηγορία περιλαμβάνονται οι μύκητες, τα φύκη και τα πρωτόζωα.

Ιοί είναι μια ξεχωριστή κατηγορία μικροοργανισμών που δεν είναι ούτε προ- ούτε ευ-καρυωτικοί. Είναι υποχρεωτικοί ξενιστές των κυττάρων άλλων οργανισμών (Μαυρίδου και Παπαετροπούλου, 2001).



Εικόνα 1.1: Διάφορα μεγέθη ιών και βακτηρίων σε σχέση με το ανθρώπινο ερυθροκύτταρο (Πηγή: Μαυρίδου και Παπαπετροπούλου, 2001).

Οι ιοί ανακαλυφθήκαν πριν από πολλά χρόνια, κυρίως από τη μόλυνση που προκάλεσαν στους ανώτερους οργανισμούς (φυτικούς ή ζωικούς), παρά από τα αποτελέσματα των ερευνητικών πειραμάτων. Προσπάθειες ελέγχου της παιδικής ασθένειας που λέγεται ευλογιά, άρχισαν πριν από 2000 χρόνια στην Κίνα, όπου αναπτύχθηκε η πορεία ανοσοποίησης του ανθρώπου ενάντια στον ιό της ευλογιάς (smallpox). Μικρή πρόοδος είχε επιτευχθεί μέχρι το 1885, την εποχή που ο Louis Pasteur ανέπτυξε το εμβόλιο κατά της λύσσας (rabies) (Καραγκούνη, 1999).

Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι ιοί παρασιτούν σε όλα τα είδη των οργανισμών και ότι υπάρχουν εκατοντάδες ιοί που προκαλούν ανθρώπινες ασθένειες. Πάνω από 100 ιοί προκαλούν το κοινό κρυολόγημα.

Το μήκος των ιών κυμαίνεται από 20 έως 14000 nm. Επομένως, είναι πέρα από το όριο ανάλυσης του οπτικού μικροσκοπίου και είναι ορατά μόνο διαμέσου του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.

Οι ιοί έχουν μέγεθος 0,01 – 0,3 μm και το κύτταρο τους αποτελείται βασικά από νουκλεϊκά οξέα και πρωτεΐνες. Το νουκλεϊκό οξύ του πυρήνα τους είναι συνήθως DNA αλλά υπάρχουν και RNA ιοί. Το βασικό τους χαρακτηριστικό είναι ότι είναι υποχρεωτικά παρασιτικοί οργανισμοί, δηλαδή ακόμα και αν καταφέρνουν να επιβιώνουν για κάποιο χρόνο στο περιβάλλον, δεν πολλαπλασιάζονται παρά μόνο σε κάποιον άλλο ζωντανό

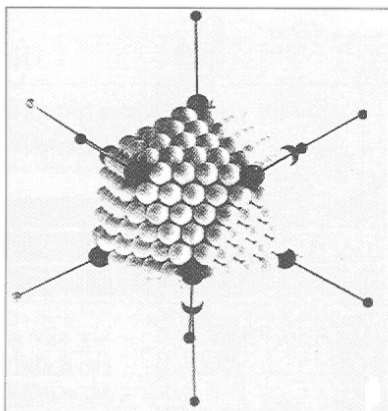
οργανισμό. Υπάρχουν ιοί του ανθρώπου, των ζώων, των φυτών αλλά και των βακτηρίων. Οι ιοί που ζουν μέσα σε βακτήρια λέγονται βακτηριοφάγοι και παίζουν σημαντικό ρόλο στη συστηματική κατάταξη και την μελέτη των βακτηρίων (Μαυρίδου και Παπαπετροπούλου, 2001).

Οι ιοί μπορεί να είναι συμβιωτικοί με τον φορέα τους αλλά μπορεί να είναι και παθογόνοι. Παθογόνοι ιοί του ανθρώπου είναι πάρα πολλοί π.χ. ιός της ηπατίτιδας, του κίτρινου πυρετού, της πολιομυελίτιδας και του AIDS.

1.1.1 Χημική σύσταση των ιών

Οι ιοί περιέχουν όπως ήδη αναφέρθηκε κάποιο (RNA ή DNA) νουκλεϊκό οξύ ως γενετικό υλικό. Το ποσοστό του νουκλεϊκού οξέος που περιέχουν ποικίλει σημαντικά π.χ. το σωματίδιο του ιού της γρίπης περιέχει περίπου 1% RNA, ο ιός της μωσαϊκής του καπνού περίπου 6% RNA και μερικοί ιοί βακτηρίων (Βακτηριοφάγοι ή φάγοι) περιέχουν 50% DNA. Το συνολικό νουκλεϊκό οξύ ποικίλει από μερικές εκατοντάδες νουκλεοτιδίων έως και 250.000 νουκλεοτίδια. Μερικοί ιοί όπως της ευλογιάς μπορεί να έχουν 300 και 400 γονίδια, ενώ άλλοι όπως οι MS2 (ένας μικρός RNAφάγος) μπορεί να έχουν 3 γονίδια.

Η πρωτεΐνη των ιών αποτελεί συνήθως το μεγαλύτερο τμήμα (50-90%) του σωματιδίου τους. Μια από τις βασικές λειτουργίες του πρωτεϊνικού καλύμματος ή καψιδίου είναι να προστατεύει τον ευαίσθητο πυρήνα του νουκλεϊκού οξέος κυρίως στους ιούς που δεν φέρουν μανδύα. Επιπλέον το καψίδιο κάποιων ιών φέρει ειδικούς υποδοχείς για την προσκόλληση του ιού στο ξενιστικό κύτταρο π.χ. τα ινίδια επί του καψιδίου του αδενοϊού (Εικόνα 1.2) και τα ινίδια της ουράς μερικών βακτηριοφάγων (Εικόνα 1.3).

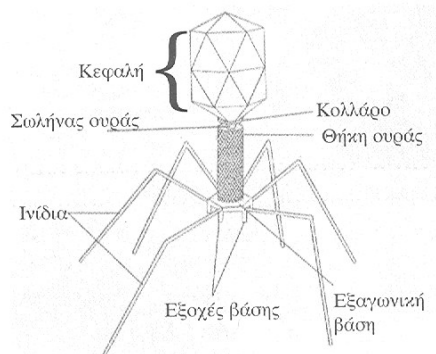


Εικόνα 1.2: Πρότυπο καψίδιο Αδενοϊού , στο οποίο φαίνονται τα ινίδια επί των κορυφών του καψιδίου (Πηγή: Karp, 1999).

Πρέπει να σημειωθεί ότι όταν ένας ξενιστής προσβληθεί από ιό, το ανοσοποιητικό του σύστημα ενεργοποιείται για να δημιουργήσει αντισώματα. Τα αντισώματα είναι πρωτεΐνες που αντιδρούν με τις επιφανειακές πρωτεΐνες των ιών και αυτή η αλληλεπίδραση οδηγεί στην απενεργοποίηση του ιού, οπότε η μόλυνση σταματά. Μερικοί ιοί αποφεύγουν τα αντισώματα γιατί τα γονίδια που κωδικοποιούν για τις επιφανειακές πρωτεΐνες τους είναι επιδεκτικά μεταλλαγών. Ο ιός της γρίπης υφίσταται τέτοιες μεταλλαγές μέσω των ινιδίων του και γι' αυτό το λόγο είναι δυνατή η προσβολή μας από τον ιό της γρίπης περισσότερες από μια φορές.

Ο εσωτερικός νουκλεϊκός πυρήνας μερικών ιών των ζώων περιέχει πολύ βασικές πρωτεΐνες. Αυτές πιθανά εξυπηρετούν στην εξουδετέρωση των όξινων ομάδων του νουκλεϊκού οξέος, ώστε η διεύθετηση του γενετικού υλικού να γίνεται στο μικρότερο δυνατό όγκο μέσα στο σωματίδιο του ιού.

Οι μεγαλύτεροι και πολυπλοκότεροι ιοί εκτός της πρωτεΐνης και του νουκλεϊκού οξέος περιέχουν λιπίδια τα οποία σχηματίζουν ένα εξωτερικό μανδύα λιποπρωτεΐνης.



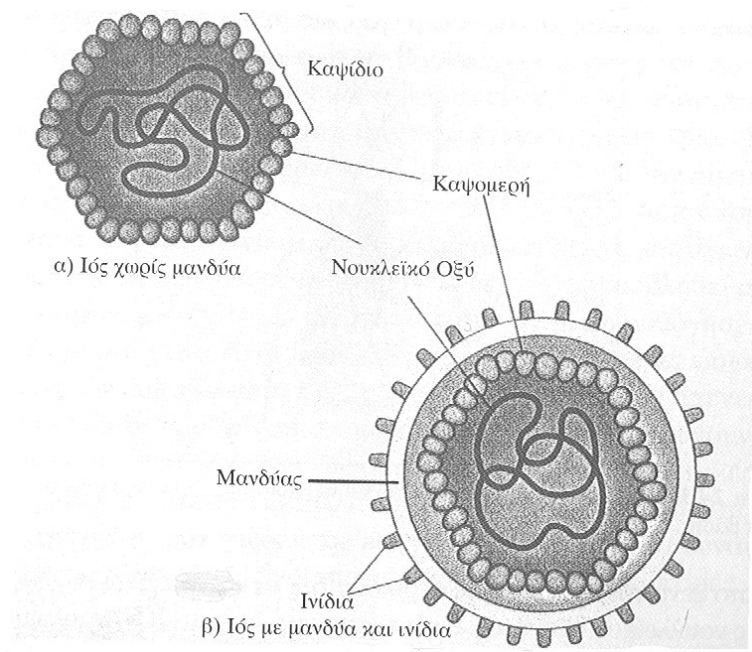
Εικόνα 1.3: Βακτηριοφάγος με ουρά, στον οποίο φαίνονται τα ινίδια της ουράς τοποθετημένα πάνω στο δίσκο της βάσης (Πηγή: Karp, 1999).

1.1.2 Δομή των ιών

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία βοήθησε πολύ στην περιγραφή της δομής των ιών με τεχνικές σκιάσεων δια μετάλλων, αρνητικής χρώσης και περίθλασης ακτινών X.

Ένα ιόσωμα, αποτελείται από νουκλεϊκό οξύ (DNA ή RNA) το οποίο καλύπτεται από πρωτεϊνικό κάλυμμα, το «καψίδιο». Το νουκλεϊκό οξύ μαζί με το καψίδιο καλείται νουκλεοκαψίδιο και μπορεί να είναι είτε γυμνό, είτε να περιβάλλεται από μανδύα (Εικόνα 1.4). Η δομή του νουκλεοκαψιδίου κατατάσσει τους ιούς σε διάφορες κατηγορίες. Είναι

γεγονός ότι σε κάθε ιό υπάρχουν περισσότερα από ένα πανομοιότυπα μόρια πρωτεϊνών μικρού μοριακού βάρους. Οι υπομονάδες αυτές λέγονται καψομερή. Ο αριθμός των καψομερών ποικίλει μεταξύ των διαφόρων ιών από 12 έως και 812 π.χ. το σωματίδιο του φάγου φX174 έχει 12 καψομερή, ενώ εκείνο του ιού του απλού έρπητα έχει 162 καψομερή. Αυτή η δομή απαιτεί μικρότερο γενετικό υλικό και έχει μεγαλύτερη γενετική σταθερότητα. Υπάρχουν δύο τρόποι διευθέτησης των πρωτεϊνικών υπομονάδων ή καψομερών στο χώρο: α) Ελικοειδής διάταξη ή Ελικοειδής συμμετρία β) Σφαιρική διάταξη ή Σφαιρική συμμετρία. Η διευθέτηση των καψομερών γίνεται πολυπλοκότερη όσο μεγαλύτερη είναι ο αριθμός τους.



Εικόνα 1.4: Δομή των δύο τύπων ιών : με και χωρίς μανδύα (Πηγή: Καραγκούνη, 1999).

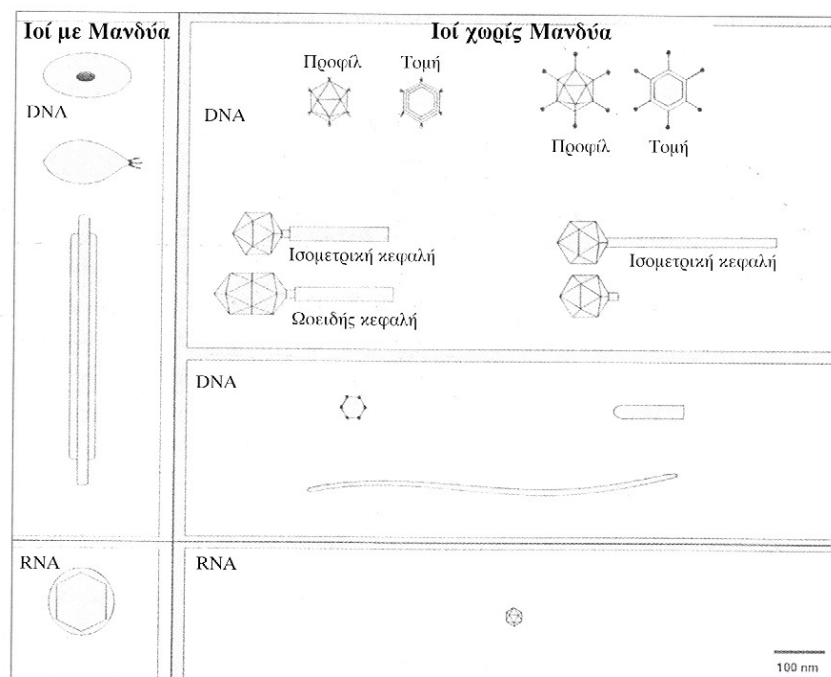
Ιοί με μανδύα: Όπως έχει ήδη αναφερθεί το καψίδιο κάποιων ιών καλύπτεται από ένα μανδύα ή περίβλημα ή για άλλους, φάκελο. Οι ιοί με μανδύα έχουν δομή σφαιρική. Όταν το νουκλεοκαψίδιο αυτών των ιών έχει ελικοειδή συμμετρία καλούνται, ιοί ελικοειδής συμμετρίας με μανδύα, ενώ εκείνοι που έχουν εικοσαεδρικό καψίδιο λέγονται πολυεδρικοί ιοί με μανδύα.

Από λεπτά τμήματα κυττάρων μολυσμένων με ιό, είναι δυνατόν να φανεί ότι ο μανδύας του ιού προέρχεται μορφολογικά από μεμβράνες του ξενιστικού κυττάρου. Για παράδειγμα στην περίπτωση του ιού προέρχεται μορφολογικά από μεμβράνες του ξενιστικού κυττάρου. Για παράδειγμα στην περίπτωση του ιού του απλού έρπητα, ο ιός αποκτά μανδύα από την πυρηνική μεμβράνη του ξενιστή καθώς περνά από τον πυρήνα στο

κυτόπλασμα, ενώ σε άλλους ιούς π.χ. γρίπης και ιλαράς, ο μανδύας αποκτάται από την κυτοπλασματική μεμβράνη καθώς τα σωματίδια του ιού εκβλαστάνουν από το εσωτερικό της κυτταρικής επιφάνειας.

Σύνθετοι ιοί: Μερικοί ιοί κυρίως βακτηρίων έχουν πολύπλοκες δομές και καλούνται σύνθετοι. Σ' αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι βακτηριοφάγοι με ουρά, οι οποίοι έχουν πολυεδρική κεφαλή και ουρά με ελικοειδή συμμετρία. Ένα άλλο παράδειγμα είναι οι ιοί της σύφιλης, οι οποίοι δεν έχουν καψίδια κάποιας συγκεκριμένης συμμετρίας αλλά καλύπτονται από μεμβρανικά στρώματα.

1.2 ΙΟΙ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ: ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ Ή ΦΑΓΟΙ.

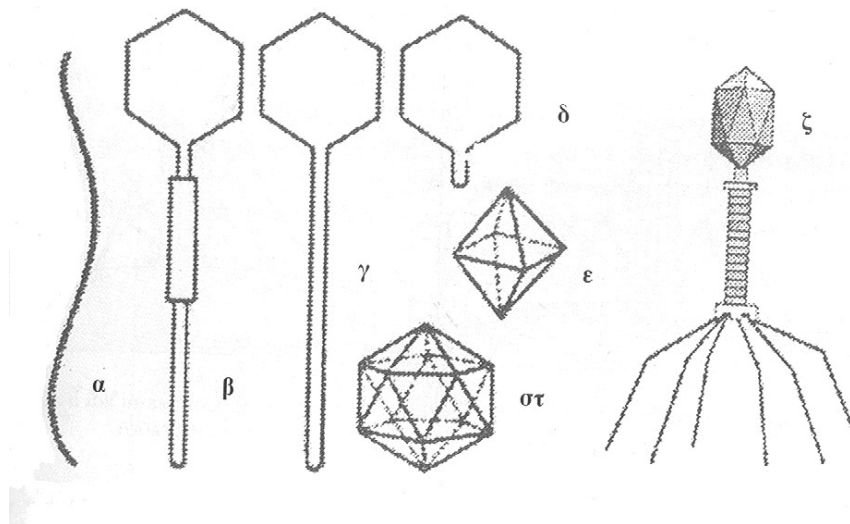


Εικόνα 1.5: Διάφορα είδη βακτηριοφάγων (Πηγή: Prescott *et al.*, 1996).

Ένας μεγάλος αριθμός βακτηριοφάγων (φάγων) είναι γνωστός, αφού όλα τα είδη των προκαρυωτικών, Βακτήρια και Αρχαία, είναι ευαίσθητα σε μόλυνση από ειδικούς ιούς. Οι περισσότεροι βακτηριοφάγοι έχουν μελετηθεί στην *E.coli* και τη *S. typhimurium*. Πολύ λίγοι φάγοι έχουν λιπιδικό μανδύα ενώ οι περισσότεροι τον στερούνται. Η δομή τους γενικά χαρακτηρίζεται ως πολύπλοκη, με κεφαλή και ουρά (Καραγκούνη, 1999). Σχηματική αναπαράσταση των κυριότερων δομών φαίνεται στην Εικόνα 1.5.

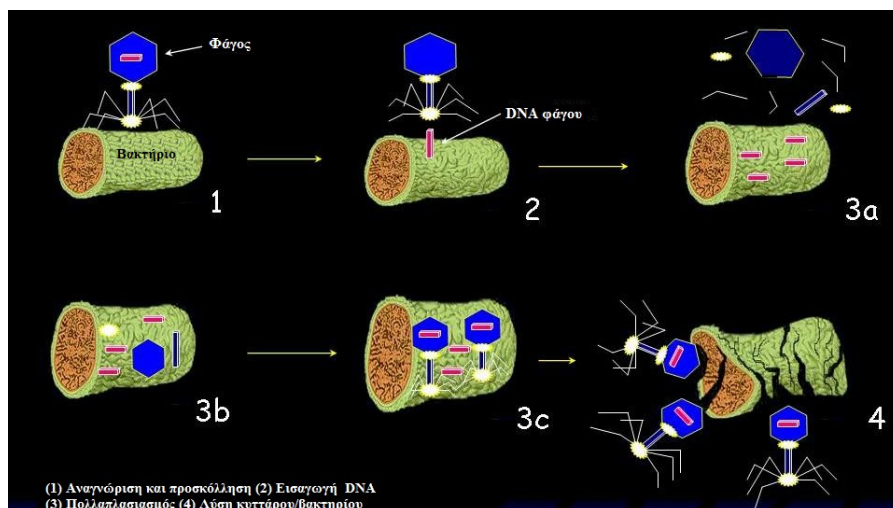
Ενώ οι απλοί ισομετρικοί φάγοι έχουν εικοσαεδρική συμμετρία και οι ραβδοειδείς ή νηματοειδής φάγοι έχουν ελικοειδή συμμετρία, οι φάγοι με «ουρά» έχουν περισσότερο πολύπλοκη δομή.

Η κεφαλή τέτοιων φάγων περιέχει νουκλεϊκό οξύ και μπορεί να είναι σφαιρική, ελλειψοειδής ή εξαγωγική στο σχήμα. Τα μεγέθη ποικίλουν από 25-100 nm. Η ουρά του φάγου μπορεί να έχει μήκος μέχρι 100 nm είναι στενότερη από τη κεφαλή αλλά ποικίλει σε πολυπλοκότητα. Οι φάγοι με «ουρά» αντιπροσωπεύουν ένα συνδυασμό εικοσαεδρικής και ελικοειδούς δομής της κεφαλής και ουράς αντίστοιχα. Τα ινίδια αγκιστροειδούς σχήματος, εξυπηρετούν στην προσκόλληση του φάγου στο ξενιστικό βακτήριο πριν από τη μόλυνση.



Εικόνα 1.6: Διάφοροι μορφολογικοί τύποι βακτηριοφάγων (α - δ, ζ) και γεωμετρικά σχήματα φαγικών κεφαλών (ε, στ) (Πηγή: Καραγκούνη, 1999).

Οι βακτηριοφάγοι πολλαπλασιάζονται με δυο εναλλακτικούς μηχανισμούς: το λυτικό κύκλο και το λυσιγονικό κύκλο. Στην πρώτη περίπτωση ο λυτικός κύκλος κλείνει με τη λύση (καταστροφή) του ξενιστικού κυττάρου και οι φάγοι λέγονται λοιμογόνοι ή λυτικοί (Εικόνα 1.7) . Στη δεύτερη περίπτωση το ξενιστικό κύτταρο δεν καταστρέφεται, αντίθετα λειτουργεί φυσιολογικά και οι φάγοι σ' αυτήν την περίπτωση λέγονται υπολοιμογόνοι. Το γενετικό υλικό αυτών των φάγων σχετίζονται με αυτό του ξενιστικού κυττάρου, ως προφάγος και μεταφέρεται στα θυγατρικά κύτταρα κατά τη διαίρεση. Συμβαίνει όμως ένα μικρό ποσοστό (από 10^{-2} έως 10^{-7} ανά γενιά) των θυγατρικών κυττάρων να καταστρέφεται και να ελευθερώνει φάγους.



Εικόνα 1.7: Λυτικός (1-4) και λυσιγονικός (1-3^α) κύκλος βακτηριοφάγων (Πηγή: Ιακωβίδης, 2007).

Βακτηριακές καλλιέργειες οι οποίες μεταφέρουν υπολοιμογόνους φάγους ορίζονται ως λυσιγόνες και η πορεία με την οποία ο φάγος εισέρχεται στο στάδιο του προφάγου είναι γνωστή ως «λυσιγονίαση» (Εικόνα 1.7). Οι βακτηριοφάγοι χαρακτηρίζονται από υψηλή εξειδίκευση αφού κάθε βακτηριοφάγος προσβάλλει μια μόνο ομάδα παρόμοιων οργανισμών συνήθως ένα είδος ή συχνά μόνον μερικά στελέχη του είδους. Αυτή η υψηλή εκλεκτική δράση παρέχει μια χρήσιμη πληροφορία για την ταξινόμηση των απομονωθέντων βακτηρίων και των φάγων και χρησιμοποιείται ευρέως στις σύγχρονες επιδημιολογικές μελέτες (Καραγκούνη, 1999).

Η μελέτη τους έχει συμβάλλει πολύ στην ανάπτυξη της Μοριακής Βιολογίας. Λόγω της λιγότερο πολύπλοκης δομής και λειτουργίας τους, συγκριτικά με τα βακτήρια και τα ευκαρυωτικά κύτταρα και του τεράστιου αριθμού μεταλλαγμένων μορφών τους, οι φάγοι είναι εξαιρετικά χρήσιμοι για τη μελέτη του διπλασιασμού του DNA, της μεταγραφής και της ρύθμισης. Μία από τις πυκνότερες φυσικές πηγές για τους φάγους -όπως και άλλους ιούς- είναι το θαλασσινό νερό, όπου βρίσκονται πλέον των 10^9 ιών ανά mL στην επιφάνεια. Το 70% περίπου των θαλάσσιων βακτηρίων είναι μολυσμένο από φάγους (Middelboe *et al.*, 2001). Βρίσκονται επίσης στο πόσιμο νερό και σε ορισμένες τροφές με συντηρημένα λαχανικά και κρέατα, που ευνοούν την ανάπτυξη βακτηρίων.

1.3 ΧΡΗΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ

Ο έλεγχος των υπόγειων νερών καθίσταται αναγκαίος τα τελευταία χρόνια, καθότι η κύρια πηγή πόσιμου νερού. Τα υπόγεια νερά συχνά μολύνονται με ιούς και βακτήρια από διαρροές βόθρων, γεωτρήσεων, χωματερών κ.α.. Ο χρόνος επιβίωσης των παθογόνων μικροοργανισμών στο υδάτινο περιβάλλον μπορεί να είναι από μερικές μέρες μέχρι και ένα χρόνο. Η μολυσματική δόση ποικίλλει από ένα μικροβιακό κύτταρο μέχρι πολλές χιλιάδες και εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του δέκτη (ηλικία, φυσική κατάσταση κ.α.). Στην εικόνα 1.8 φαίνεται η μολυσματική δόση, ο χρόνος επιβίωσης και τα κλινικά σύνδρομα των κυριότερων παθογόνων ιών που απομονώνονται από τα υπόγεια νερά.

Ιός	Μολυσματική Δόση (pfu)	Χρόνος Επώασης	Χρόνος Επιβίωσης
Ιός Ηπατίτιδας Α	10 - 100	2 – 6 εβδομάδες	έως 100 ημέρες
Αδενοϊοί	10 - 100	3 – 5 ημέρες	έως 30 ημέρες
Εντεροϊοί	1 - 10	3 – 15 ημέρες	έως 100 ημέρες
Ιός Norwalk	μικρή	24 – 48 ώρες	-
Ιός Rota	1 - 10	24 – 72 ώρες	έως 100 ημέρες

Εικόνα 1.8: Υδατογενής μετάδοσης ανθρώπινων εντερικών ιών (Πηγή: Κρικέλης και Βόντας, 2006)

Οι βακτηριοφάγοι είναι εξαιρετικά χρήσιμοι για τη μελέτη ελέγχου καταλληλότητας του πόσιμου νερού. Χρησιμοποιούνται ως μικροβιολογικοί - δείκτες παρουσίας ιών στο νερό. Επειδή ο έλεγχος όλων των παθογόνων μικροβίων που προέρχονται από το εντερικό σωλήνα ανθρώπων και ζώων απαιτεί ποικιλία πολύπλοκων, χρονοβόρων και πολυέξοδων αναλύσεων, χρησιμοποιούνται οι μικροβιακοί – δείκτες. Η παρουσία των μικροβιακών – δεικτών στο νερό αποτελεί αδιάψευστο μάρτυρα κοπρανώδους μόλυνσης του και κατά συνέπεια συνιστά ισχυρή πιθανότητα να συνυπάρχουν και παθογόνα μικρόβια. Οι βακτηριοφάγοι προσφέρουν αρκετά πλεονεκτήματα επειδή ανήκουν στη φυσική πανίδα του ανθρώπινου εντερικού συστήματος, δεν είναι επικίνδυνος στους ανθρώπους, οι ποσοτικές δοκιμές των φάγων είναι ανέξοδες και γρήγορες (Bales *et al.*, 1989; Powell *et al.*, 2003), και έχουν παρόμοιες φυσικές ιδιότητες με τους εντεροϊούς (Snowdon and Cliver, 1989).

Οι βακτηριοφάγοι χαρακτηρίζονται από υψηλή εξειδίκευση αφού κάθε βακτηριοφάγος προσβάλλει μια μόνο ομάδα παρόμοιων οργανισμών συνήθως ένα είδος ή συχνά μόνον μερικά στελέχη του είδους. Αυτή η υψηλή εκλεκτική δράση χρησιμοποιείται στη συστηματική κατάταξη και την μελέτη των βακτηρίων (Καραγκούνη, 1999).

Η χρήση των βακτηριοφάγων για την θεραπεία βακτηριακών μολύνσεων, είναι μια πιθανή εναλλακτική λύση στα αντιβιοτικά. Μετά από εκτενή χρήση και ανάπτυξη κυρίως στις πρώην χώρες της Σοβιετικής Ένωσης για περίπου 90 χρόνια, η θεραπεία με φάγους εξετάζεται τώρα αλλού, συμπεριλαμβανομένων των Ηνωμένων Πολιτειών. Η θεραπεία με φάγους έχει πολλές εφαρμογές στην ιατρική καθώς επίσης και την οδοντιατρική, την κτηνιατρική, και τη γεωργία. Ένα σημαντικό όφελος της θεραπείας με φάγους είναι ότι οι φάγοι μπορούν να είναι πιο εξειδικευμένοι και από τα πιο κοινά φάρμακα, μπορούν έτσι να επιλεγτούν για να είναι αβλαβείς όχι μόνο στον οργανισμό των ξενιστών (άνθρωπος, ζώο, ή φυτό) αλλά και σε άλλα βακτηρία, όπως η χλωρίδα εντέρων, που μειώνει τις πιθανότητες των μελλοντικών μολύνσεων. Εξαιτίας της ειδικευμένης θεραπεία με φάγους οι παρενέργειες είναι ελάχιστες έως μηδαμινές, σε σχέση με τα φάρμακα, και δεν επηρεάζει το συκώτι. Κατά συνέπεια, τα μίγματα φάγων εφαρμόζονται συχνά για να βελτιώσουν τις πιθανότητες επιτυχίας, ή μπορούν να ληφθούν δείγματα και να γίνει χρήση ενός κατάλληλου βακτηριοφάγου. Οι βακτηριοφάγοι χρησιμοποιούνται, ιδιαίτερα στη Γεωργία, για να θεραπεύσουν τις βακτηριακές μολύνσεις όταν τα συμβατικά αντιβιοτικά δεν αποκρίνονται (Parfitt, 2005; Thiel, 2004). Στη δύση, καμία θεραπεία δεν εξουσιοδοτείται για τη χρήση στους ανθρώπους, αν και οι βακτηριοφάγοι για την απομάκρυνση των βακτηρίων σε τροφές χρησιμοποιείται ήδη (Pirisi, 2000).

Οι βακτηριοφάγοι που ψεκάζονται στα τρόφιμα προφυλάσσουν από λοιμώξεις. Για παράδειγμα έχει εγκριθεί από την αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων, ένα σπρέι που περιέχει μείγμα ιών οι οποίοι σκοτώνουν βακτηρίδια για χρήση σε προϊόντα κρέατος, όπως τα λουκάνικα και το ζαμπόν. Το σπρέι περιέχει έξι βακτηριοφάγους, ιούς που προσβάλλουν μόνο βακτήρια και όχι τα κύτταρα ζώων ή φυτών. Οι φάγοι επιλέχθηκαν ειδικά κατά του βακτηρίου *Listeria monocytogenes* που προκαλεί τη λιστερίωση, μια λοίμωξη που προσβάλλει 2.500 ανθρώπους στις ΗΠΑ κάθε χρόνο, από τους οποίους οι 500 τελικά πεθαίνουν. Ιδιαίτερα ευπαθείς είναι οι έγκυες γυναίκες, τα παιδιά και οι ενήλικες με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα. Το σπρέι προορίζεται για προϊόντα κρέατος έτοιμα για κατανάλωση, όπως τα αλλαντικά, τα οποία δεν μαγειρεύονται από τους καταναλωτές ώστε να σκοτωθούν τυχόν παθογόνα μικρόβια. Οι βακτηριοφάγοι παράγονται πολλαπλασιαζόμενοι σε καλλιέργειες του ίδιου του βακτηρίου που σκοτώνουν και στη συνέχεια απομονώνονται και καθαρίζονται από υπολείμματα των μικροβίων και των τοξινών της (Walker, 2006).

1.3.1 Βακτηριοφάγοι – Δείκτες

Οι παραπάνω εναλλακτικές χρήσεις των φάγων έχει οδηγήσει τους επιστήμονες στην περαιτέρω μελέτη επιβίωσης τους στο περιβάλλον. Η συμπεριφορά των βακτηριοφάγων στις μελέτες αυτές είναι αντιπροσωπευτική της συμπεριφοράς των παθογόνων ιών, της μεταφοράς τους στο υπέδαφος με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται ως ιοί - μοντέλα. Οι βακτηριοφάγοι που χρησιμοποιούνται συνήθως για τις μελέτες αυτές είναι οι MS2, PRD1, φX174 και FRNAPHs, έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τη μελέτη της μεταφοράς των ιών στο υπέδαφος υπό διαφορετικές συνθήκες. Σ' αυτό το κεφάλαιο εκτιμάται ο ρόλος αυτών των βακτηριοφάγων ως μοντέλα ιών.

MS2

Ο MS2 είναι ένας εικοσαεδρικός φάγος με διάμετρο 27nm και χαμηλό ισοηλεκτρικό σημείο του pI 3.5. Η τρισδιάστατη δομή του καψιδίου είναι γνωστή έως και σε ατομικό επίπεδο (Penrod *et al.*, 1996). Έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε μελέτες αδρανοποίησης, προσρόφησης ιών και θεωρείται καλός ιός - μοντέλο επειδή συμπεριφέρεται πιο συντηρητικά (χαμηλότερη προσρόφηση) από πολλούς παθογόνους ιούς και βρίσκεται για σημαντικές χρονικές περιόδους στα υπόγεια νερά (Ryan *et al.*, 2002; Harvey and Ryan 2004; Anders and Chrysikopoulos 2005). Ο MS2 θεωρείται ότι συμπεριφέρεται συντηρητικά και ως ιχνηθέτης για τη μελέτη μεταφοράς ιών σε κορεσμένα αμμώδη εδάφη με pH 6 έως 8 και μικρό οργανικό φορτίο, λόγω της μικρής έως καθόλου προσρόφησης. (Bales *et al.*, 1989; Powelson *et al.*, 1990; Herbold-Paschke *et al.*, 1991; Kinoshita *et al.*, 1993; Jin *et al.*, 1997; Schijven *et al.*, 1999). Ένα μικρό οργανικό φορτίο σημαίνει μικρή υδροφοβικότητα του εδάφους. Ομοίως και η προσκόλληση του στα περισσότερα εδάφη, είναι χαμηλή σε σχέση με τους άλλους ιούς (Goyal and Gerba, 1979). Οι Herbold-Paschke *et al.* (1991), έδειξαν ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό των βακτηριοφάγων T4, MS2, και φX174 προσκολλήθηκε σε μία στήλη 1m, γεμισμένη με χονδρόκοκκη ή μεσόκοκκη άμμο. Η απομάκρυνση του MS2 ήταν μικρότερη ή περίπου ίση με αυτή των T4 και φX174, και πολύ μικρότερη από αυτή του simian rotavirus SA11.

PRD1

Ο PRD1 είναι ένας εικοσαεδρικός βακτηριοφάγος με 62nm διάμετρο και εσωτερική λιπώδη μεμβράνη (Bales *et al.*, 1991; Caldentey *et al.*, 1990). Το ισοηλεκτρικό του σημείο κυμαίνεται μεταξύ 3 και 4 (Loveland *et al.*, 1996). Ο PRD1 μπορεί να

θεωρηθεί ως ο χειρότερος ιός – μοντέλο λόγω του του χαμηλού ρυθμού αδρανοποίησης μεταξύ των 10°C και 23°C (Blanc and Nasser, 1996). Εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους του, ο PRD1 παρουσιάζει ενδιαφέρον ως αντιπροσωπευτικός ιός των rotaviruses και αδενοϊών (Sinton *et al.*, 1997). Με κριτήριο τα χαρακτηριστικά προσκόλλησης, ο PRD1 φαίνεται να συμπεριφέρεται λιγότερο συντηρητικά από τον MS2 (Bales *et al.*, 1991; Kinoshita *et al.*, 1993; Powelson *et al.*, 1993; Dowd *et al.*, 1998), πιθανόν λόγω του ότι είναι περισσότερο υδροφοβικός από τον MS2 (Shields and Farrah, 1987; Bales *et al.*, 1991; Kinoshita *et al.*, 1993; Lytle and Routson, 1995).

φX174

Ο φX174 είναι λιγότερο υδροφοβικός από τον MS2 (Shields and Farrah, 1987). Για μελέτες για την διατήρηση ιών πάνω σε υλικά όπως μεμβράνες, προφυλακτικά και γάντια εξέτασης, ο φX174 θεωρείται ο καλύτερος ιός - μοντέλο, λόγω του ότι παρουσιάζει την μικρότερη ηλεκτροστατική και υδροφοβική συσχέτιση (Shields and Farrah, 1987; Lytle and Routson, 1995; Fujito and Lytle, 1996). Ο φX174 ουσιαστικά δεν έχει φορτίο σε φυσικό pH (pI = 6.6 to 6.8) και έχει μέγεθος 27 nm (Fujito and Lytle, 1996; Dowd *et al.*, 1998). Οι Jin *et al.* (1997) από πειράματα σε στήλες με άμμο, παρατήρησαν ότι ο φX174 παρουσιάζει σημαντική προσκόλληση, ενώ ο MS2 όχι. Θεωρήθηκε ότι η διαφορά στην συμπεριφορά τους ως προς την προσρόφηση, αντικατοπτρίζει την διαφορά των ισοηλεκτρικών σημείων των δύο ιών. Ο φX174 είναι ένας σχετικά συντηρητικός ιός – μοντέλο λόγω του της μικρής υδροφοβικότητας (Shields and Farrah, 1987) και σταθερότητας του (DeBorde *et al.*, 1998). Στα εδάφη, όπου η υδροφοβικότητα αυξάνει σημαντικά το ποσοστό απομάκρυνσης του ιού, ο φX174 είναι η καλύτερη επιλογή ως ιό – μοντέλο, σε σχέση με τον MS2 ή τον PRD1. Η τιμή του pH είναι καθοριστικός παράγοντας, εάν ο φX174 συμπεριφερθεί συντηρητικά. Ένα pH 6 με 8 είναι πολύ κοινό στα περισσότερα εδάφη, όπου για τιμή pH 6 το ηλεκτρικό φορτίο της επιφάνειας του φX174 είναι θετικό, ενώ για τιμή pH 8 είναι αρνητικό.

FRNAPHs

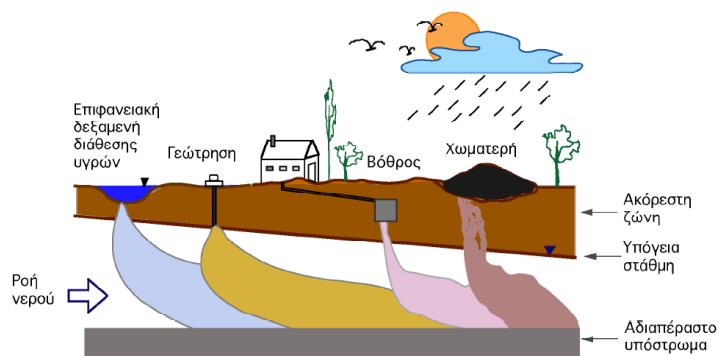
Οι FRNAPHs έχουν παρόμοιες φυσικές ιδιότητες με τους εντεροϊούς, κυρίως όσον αφορά το μέγεθος (Bitton, 1980; Havelaar, 1993). Ο MS2 ανήκει στην ομάδα I των FRNAPHs (Havelaar, 1986). Όπως είναι φυσικό είναι ιοί – μοντέλα με μεγάλο ενδιαφέρον, διότι αντιπροσωπεύουν τους εντεροϊούς σε πολλές διαδικασίες επεξεργασίας

των επιφανειακών υδάτων, συμπεριλαμβανομένου και του περάσματος του στο υπέδαφος. Σε μία μελέτη των Nasser *et al.* (1993), ο FRNAPH παρουσίασε μεγάλη ανθεκτικότητα για θερμοκρασίες από 10 έως 30°C, και δεν επηρεαζόταν από το τύπο του νερού. Ήταν πιο ανθεκτικός και από τον HAV, το οποίο τον χαρακτηρίζει ως έναν ανθεκτικό ιό (Sobsey *et al.*, 1986; Nasser *et al.*, 1993; Blanc and Nasser, 1996). Οι Chung and Sobsey (1992) παρατήρησαν ότι οι FRNAPHs είναι λιγότερο σταθεροί από τον HAV στο θαλασσινό νερό. Συμπερασματικά, οι FRNAPHs είναι μία ομάδα ιών, οι οποίοι βρίσκονται φυσικά στο περιβάλλον και είναι πολύ χρήσιμοι ως ιοί – μοντέλα για την συμπεριφορά των ιών κατά την μεταφορά τους στο υπέδαφος.

1.4 ΠΗΓΕΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΥΠΟΓΕΙΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΑΠΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΥΣ

Η κύρια πηγή εισόδου των φάγων στο νερό είναι ο άνθρωπος και τα κτηνοτροφικά, κατοικίδια και άγρια ζώα. Ο γαστρεντερικός σωλήνας του ανθρώπου και των ζώων φιλοξενεί ιούς οι οποίοι με τα κόπρανα τους ρυπαίνουν το υδάτινο περιβάλλον όπου είναι δυνατόν να επιβιώσουν για μακρύ χρονικό διάστημα. Η υδατογενής μεταφορά πολλών ιών εντερικής προέλευσης έχει τεκμηριωθεί αποτελώντας ένα σημαντικό πρόβλημα για την Δημόσια Υγεία (Μαυρίδου και Παπαπετροπούλου, 2001).

Οι πηγές των μικροοργανισμών είναι τα ανθρώπινα και ζωικά λύματα και απόβλητα. Η ρύπανση των υπόγειων νερών προκαλείται από την εδάφια διάθεση των λυμάτων των σταθμών επεξεργασίας αστικών λυμάτων και σηπτικών δεξαμενών, τις εκπλύσεις από τους σκουπιδότοπους, και τις ποικίλες γεωργικές πρακτικές, όπως η διάθεση στο έδαφος της ζωικής κόπρου για οργανική λίπανση (Schmoll *et al.*, 2006).



Εικόνα 1.9: Μόλυνση του υπεδάφους με παθογόνους μικροοργανισμούς (Πηγή: Χρυσικόπουλος, 2008).

Οι πηγές μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με την προέλευσή τους. Μια σημειακή πηγή βρίσκεται σε καθορισμένη θέση, όπως για παράδειγμα η διαρροή από μια σηπτική δεξαμενή. Δυσκολότερο να ελεγχθούν είναι οι μη σημειακές πηγές, θέτοντας σε μεγαλύτερο κίνδυνο την ποιότητα των υπόγειων νερών. Οι μη σημειακές πηγές δεν βρίσκονται σε συγκεκριμένες τοποθεσίες αλλά είναι αρκετά μεγάλες και προέρχονται είτε από διάχυτη ρύπανση μιας μολυσμένης περιοχής είτε από πολλές μικρότερες πηγές. Το σύνολο των σημειακών πηγών σε ένα σύστημα αποχετεύσεων με διαρροή μπορεί, να αντιπροσωπεύσει μια μη σημειακή πηγή μόλυνσης στα υπόγεια νερά (η οποία περιγράφεται συνήθως ως πολυσημιακή πηγή ρύπανσης) (Schmoll *et al.*, 2006).

Συνήθως, οι υδρογεωλόγοι, και πολλοί επιστήμονες δημόσιας υγείας, έχουν θεωρήσει τα υπόγεια νερά ως σχετικά μικροβιολογικά ασφαλή πηγή κατανάλωσης του νερού. Σε αντίθεση με τα επιφανειακά νερά, που είναι εκτεθειμένα στην άμεση μόλυνση από πολλές πηγές, τα υπόγεια νερά προστατεύονται συχνά από την άμεση εισροή της μόλυνσης από το στρώμα πετρωμάτων και τις ακόρεστες ζώνες. Σε αυτές τις ζώνες, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί έχουν υποτίθεται μειωθεί από τις επικρατούσες φυσικές, χημικές και βιολογικές συνθήκες του περιβάλλοντος. Ο κίνδυνος της μεταφοράς παθογόνων στα υπόγεια νερά δημιουργούν μια απειλή στη δημόσια υγεία, ο οποίος θεωρείται μικρός. Συνεπώς, πολλές πηγές υπόγειων νερών χρησιμοποιούνται για τη κατανάλωση πόσιμου νερού με μια μικρή επεξεργασία, συνήθως χλωρίωση, ή χωρίς επεξεργασία καθόλου.

Την δεκαετία του 80, όμως διαψεύστηκε η ασφάλεια των υπόγειων νερών. Εκείνη την περίοδο πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε πηγές υπόγειων νερών και τα στοιχεία έδειξαν ότι ένα σημαντικό ποσοστό, μέχρι 70% σε μερικές περιοχές, των πηγών υπόγειων νερών περιέχει έναν ή περισσότερους μικροβιολογικούς δείκτες κοπρανόδους μόλυνσης (Schmoll *et al.*, 2006). Συγκεκριμένα οι Borchardt *et al.*, (2003) μελέτησαν την μόλυνση από ιούς σε γεωτρήσεις νοικοκυριών στο Wisconsin. Οι γεωτρήσεις συνήθως βρίσκονταν σε απόσταση από τις σηπτικές δεξαμενές που εξυπηρετούν την περιοχή. Πενήντα γεωτρήσεις, σε επτά υδρογεωλογικές περιοχές, επιλέχθηκαν, τέσσερις φορές κατά τη διάρκεια ενός έτους, μια φορά για κάθε εποχή. Στις τέσσερις από τις 50 γεωτρήσεις (το 8%) υπήρχε παρουσία ιών. Από αυτές, τρεις γεωτρήσεις ήταν θετικές για τον ιό ηπατίτιδας Α και η τέταρτη γεώτρηση ήταν θετική για το rotavirus και το norovirus σε ένα δείγμα και για εντεροϊούς σε ένα άλλο δείγμα.

Σαφώς, η κοινή αντίληψη ότι τα υπόγεια νερά είναι μια μικροβιολογικά ασφαλής

πηγή κατανάλωσης του νερού, είναι ανακριβής και είναι τώρα προφανές ότι ένα σημαντικό ποσοστό των πηγών υπόγειων νερών μολύνεται από τους μικροοργανισμούς που προέρχονται από τα περιττώματα. Όπως παρουσιάζεται παραπάνω, η μόλυνση των γεωτρήσεων με γνωστούς μολυσματικούς παθογόνους ιούς, παραδείγματος χάριν, αντιπροσωπεύει ένα σαφές μήνυμα ότι οι ιοί κινούνται στο υπέδαφος, ο χρόνος επιβίωσης τους είναι μεγάλος ώστε να προκαλέσουν μια μολυσματική ασθένεια (Schmoll *et al.*, 2006). Η μεταφορά και η μολυσματική δράση των ιών στο υπέδαφος καθορίζεται από φυσικούς, χημικούς και βιολογικούς παράγοντες, οι οποίοι παρατίθενται στο επόμενο κεφάλαιο.

1.5 ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ ΣΤΟ ΥΠΕΔΑΦΟΣ

Οι παθογόνοι ιοί έχουν βρεθεί στις γεωτρήσεις και το πόσιμο νερό. Ερευνητικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την δυνατότητα των ιών να μεταφέρονται από μια πηγή μόλυνσης, μέσω του ακόρεστου πορώδους, στα υπόγεια νερά. Περίπου 70% των υδατογενών λοιμώξεων στις Ηνωμένες Πολιτείες προκαλούνται από την κατανάλωση μολυσμένων υπόγειων νερών. Η μεταφορά των μικροοργανισμών (βακτηριών και ιών) στο υπέδαφος είναι πολύ σημαντική για τη δημόσια υγεία (Jin *et al.*, 2000). Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να ερευνηθούν την επίδραση διάφορων παραγόντων στην προσρόφιση και την αδρανοποίηση ιών, οι οποίες είναι οι δύο σημαντικότερες διαδικασίες που ελέγχουν την κινητικότητα των ιών στο υπέδαφος (Yates *et al.*, 1987; Bales *et al.*, 1991). Παρακάτω αναλύονται οι παράγοντες που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα (Πίνακας 1.1) και πως επιδρά ο καθένας στις διαδικασίες της αδρανοποίησης των βακτηριοφάγων.

1.5.1 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ

Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την αδρανοποίηση ιών μετά από την απελευθέρωση στο περιβάλλον συμπεριλαμβανομένου του pH, θερμοκρασία, μικροβιακός ανταγωνισμός, παρουσία διαλυτής ουσίας, οργανικές ουσίες, ή αλληλεπίδραση με τις στερεές επιφάνειες, και ο τύπος ιού (Πίνακας 1) (Keswick και Gerba, 1980). Η αδρανοποίηση των ιών στο νερό και το υπέδαφος έχει περιγραφεί συνήθως σαν πρώτη τάξης αντίδραση (Hurst *et al.*, 1980; Reddy *et al.*, 1981; Vilker, 1981; Hejkal *et al.*, 1981; Yates *et al.*, 1985). Μη γραμμικές καμπύλες επιβίωσης παρατηρούνται στην περίπτωση παρουσίας συσσωματωμάτων ιών ή υπάρχει μια σημαντική παράμετρος σε σχέση με το πληθυσμό των ιών και τους παράγοντες που προκαλούν την αδρανοποίηση. Ο συντελεστής αδρανοποίησης περιγράφεται από μια πρώτη τάξης αντίδραση η οποία εκφράζεται ως εξής:

$$\text{Συντελεστής Αδρανοποίησης} = \frac{dC}{dt} = -K \cdot C \quad (1.1)$$

όπου το C: η συγκέντρωση των φάγων στο χρόνο t

K: η πρώτη τάξης σταθερά αδρανοποίησης (time⁻¹)

Στην περίπτωση αυτή το K είναι μια έκφραση του συνόλου από όλους τους παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των φάγων (Yates *et al.*, 1987). Διαπιστώνεται ότι στη πραγματικότητα, ο ρυθμός θνησιμότητας αναφέρεται ως ρυθμός αδρανοποίησης, αποσύνθεσης, ή επιβίωσης και αναφέρεται στη διαδικασία από την οποία οι ιοί χάνουν τη ικανότητα τους να αναπαραχθούν (Πίνακας 1.2) (Azadpour-Keeley, 2005). Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες αδρανοποίησης φάγων για τα επιφανειακά νερά, αλλά τέτοιες πληροφορίες για το υπέδαφος και τα υπόγεια νερά είναι περιορισμένες μέχρι πρόσφατα.

Πίνακας 1.1: Παράγοντες που επηρεάζουν στην επιβίωση και τη μεταφορά των ιών στο υπέδαφος (Πηγή: Yates *et al.*, 1987).

Παράγοντες	Επιδρά στη: Επιβίωση	Μεταφορά
Θερμοκρασία	Οι ιοί επιβιώνουν περισσότερο στις χαμηλότερες θερμοκρασίες.	Άγνωστη
Μικροβιακή δραστηριότητα	Μερικοί ιοί αδρανοποιούνται ευκολότερα παρουσία ορισμένων μικροοργανισμών εντούτοις, η προσρόφηση στην επιφάνεια των βακτηριών μπορεί να είναι προστατευτική.	Άγνωστη
Περιεκτικότητα σε υγρασία	Μερικοί ιοί ζουν περισσότερο σε υγρό υπέδαφος απ' ότι σε ξηρό.	Γενικά, παρατηρείται αύξηση μεταφοράς σε κορεσμένες ροής συνθήκες.
pH	Οι περισσότεροι εντεροϊοί είναι σταθεροί στο εύρος των 3-9 pH; Η επιβίωση τους μπορεί να παραταθεί για τιμές pH κοντά στο 7.	Γενικά, χαμηλό pH ευνοεί την προσρόφηση ενώ υψηλό pH προκαλεί την εκρόφηση των ιών από τους κόκκους ιζήματος.
Ιοντική ισχύς και αλατότητα	Μερικοί ιοί προστατεύονται από την αδρανοποίηση από ορισμένα κατιόντα; Αλλά ισχύει και το αντίστροφο.	Γενικά, αύξηση της συγκέντρωσης των ιοντών αλάτων και αύξηση των κατιόντων ενισχύουν την προσρόφηση ιών.

Πίνακας 1.1: (Συνέχεια) Παράγοντες που επηρεάζουν στην επιβίωση και τη μεταφορά των ιόν στο υπέδαφος (Πηγή: Yates *et al.*, 1987).

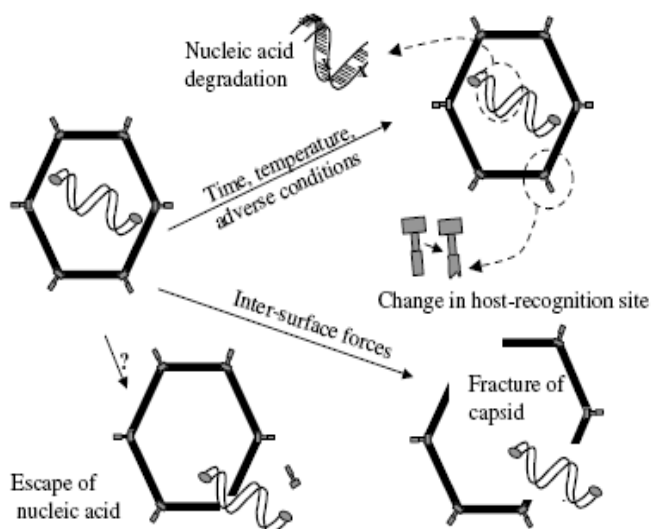
Παράγοντες	Επιδρά στη: Επιβίωση	Μεταφορά
Συσσωμάτωση ιόν με κόκκους ιζήματος και σωματοδιακή ύλη Συσσωμάτωση ιόν Σύσταση εδάφους	Σε πολλές περιπτώσεις, η επιβίωση παρατείνεται από την προσρόφηση στο υπέδαφος εντούτοις, έχει παρατηρηθεί και το αντίθετο. Ενισχύει την επιβίωση. Η επίδραση στην επιβίωση είναι πιθανώς συσχετίζεται με το βαθμό προσρόφησης των ιόν.	Η μετακίνηση των ιόν στο πορώδες επιβραδύνεται ή αποτρέπεται από την ένωση με σωματίδια. Καθυστερεί τη μετακίνηση. Μεγαλύτερη μεταφορά ιόν στα χονδρόκοκκά ιζήματα; υπάρχει ένας μεγάλος βαθμός συγκράτησης των ιόν στο πορώδες αργλικής σύστασης. Η προσρόφηση ιόν στο υπέδαφος συσχετίζεται πιθανώς με φυσικό-χημικές διαφορές στην επιφάνεια της κάψας των ιόν.
Είδος ιού	Διαφορετικά είδη ιόν ποικίλλουν στην ευαισθησία τους ως προς την αδρανοποίηση από τους φυσικούς, χημικούς και βιολογικούς παράγοντες.	Η προσρόφηση ιόν στο υπέδαφος συσχετίζεται πιθανώς με φυσικό-χημικές διαφορές στην επιφάνεια της κάψας των ιόν.
Οργανική ύλη	Η παρουσία οργανικής ουσίας μπορεί να προστατεύσει τους ιούς από την αδρανοποίηση; άλλοι έχουν διαπιστώσει ότι μπορεί να καθυστερήσει τη μολυσματικότητα ιών.	Η διαλυτή οργανική ύλη ανταγωνίζεται με τους ιούς για τις θέσεις προσρόφησης στους κόκκους του ιζήματος.
Υδρολογικές συνθήκες	Άγνωστη	Γενικά, παρατηρούνται αυξήσεις μεταφοράς ιόν με αυξανόμενο ρυθμό υδραυλικής ροής.

Πίνακας 1.2: Ρυθμός θνησιμότητας (day^{-1}) βακτηριοφάγων στο υπέδαφος (Πηγή: Azadpour-Keeley, 2005).

Microorganisms	Die-off	Environmental	Experimental	Reference
	Rate (day^{-1})*	Conditions	Methods	
MS2 bacteriophage	0.05	GW saturated loamy soil; T, 10 EC	Batch test	Blanc & Nasser (1996)
	0.16	GW saturated loamy soil; T, 23 EC		
	0.12	GW saturated sandy soil; T, 10 EC	Batch test	Blanc & Nasser (1996)
	0.19	GW saturated sandy soil; T, 23 EC		
	0.028	N. Carolina GW; pH, 7.9; T, 12 EC	Batch test	Yates & Gerba (1984)
	0.053	Arizona GW; pH, 8.2; T, 12 EC		
	0.032	New York GW; pH, 7.3; T, 12EC		Sobsey et al. (1995)
	^c > 1.45	Clay loam; pH, 4.3; T, 5 EC	Column test	
	^c > 1.45	Clay loam; pH, 4.3; T, 25 EC		Chendorain et al. (1998)
	2.24	Wetland, 0–3 BGS (m); summer	Field test	
	0.15	Wetland, 3–70 BGS (m); summer		Chendorain et al. (1998)
	0.28	Wetland, 0–70 BGS (m); summer	Field test	
	5.82	Wetland, 0–3 BGS (m); winter		Chendorain et al. (1998)
	0.32	Wetland, 3–70 BGS (m); winter		
	0.57	Wetland, 0–70 BGS (m); winter		
PRD-1 bacteriophage	0.028	GW saturated loamy soil; T, 10 EC	Batch test	Blanc & Nasser (1996)
	0.026	GW saturated loamy soil; T, 23 EC		
	0.055	GW saturated sandy soil; T, 10 EC	Batch test	Blanc & Nasser (1996)
	0.034	GW saturated sandy soil; T, 23 EC		
	^d 0.5	Sandy aquifer; pH 5.7; T, 11.5 EC	Field study	Bales et al. (1995)
_X-174 bacteriophage	14.2–17.3	Ottawa sand saturated with phosphate saline solution (pH = 7.5); T, 6–9 EC	Column study	Jin et al. (1997)
MS-2 bacteriophage	0.5	GW with fresh soil; T, 25 EC	Column study	Powelson et al. (1991)
	1.8	GW leached soil; T, 25 EC		
M-1	0	Sand (fine-medium grained)	Field study	Bales et al. (1997)
PRD-1	0	Sand (fine-medium grained)		
Hepatitis A virus	^b 0.06	GW; pH, 7.4; T, 10 EC	Batch test	Nasser & Oman (1999)
	^b 0.016	GW; pH, 7.4; T, 20 EC		
	^b 0.03	GW; pH, 7.4; T, 30 EC		
	0.001	GW saturated loamy soil; T, 10 EC	Batch test	Blanc & Nasser (1996)
	0.01	GW saturated loamy soil; T, 23 EC		
	0.015	GW saturated sandy soil; T, 10 EC	Batch test	Blanc & Nasser (1996)
	0.023	GW saturated sandy soil; T, 23 EC		
	^c 0.42	GW sandy soils; pH, 8.3; T, 5 EC	Column test	Sobsey et al. (1995)
	^c 0.45	GW sandy soils; pH, 8.3; T, 25 EC		
	^c > 0.94	GW clay loam; pH, 8.3; T, 5 EC		
^c > 0.94	GW clay loam; pH, 8.3; T, 25 EC			
Rotavirus SA-11	0.36	GW; pH, 7.8; T, 3–15 EC	Chamber	Keswick et al. (1982)
	^b 0.20	GW; pH, 7.8; T, 23 EC	Batch test	
Coliphage f2 F+ phage	0.39	GW; pH, 7.8; T, 3–15 EC	Chamber	Keswick et al. (1982)
	^b 0.01	GW; pH, 7.4; T, 10 EC	Batch test	
	^b 0.02	GW; pH, 7.4; T, 20 EC		
	^b 0.03	GW; pH, 7.4; T, 30 EC		

1.5.1.1 Αδρανοποίηση στο υδάτινο περιβάλλον.

Οι πιθανοί μηχανισμοί της αδρανοποίησης για ένα ιό βακτηριών απεικονίζονται στην Εικόνα 1.10. Οι ιοί αποτελούνται από ασταθείς οργανικές ενώσεις και, συνεπώς, παρουσιάζουν μια φυσική αποσύνθεση στα υπόγεια νερά. Η αδρανοποίηση στο υδάτινο περιβάλλον εξαρτάται από το χρόνο και τις φυσικοχημικές συνθήκες. Οι αντίξοες συνθήκες και οι υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να επιταχύνουν τη καταστροφή σε συγκεκριμένα δομικά στοιχεία του ιού που απαιτούνται για τη αναπαραγωγή του. Οι σημαντικότερες παραμορφώσεις που μπορούν να γίνουν είναι η υποβάθμιση του γενετικού υλικού του φάγου (το δίκλωνο DNA στην περίπτωση του PRD1) και οι διαμορφωτικές αλλαγές στους υποδοχείς αναγνώρισης του ξενιστή (πρωτεΐνη).

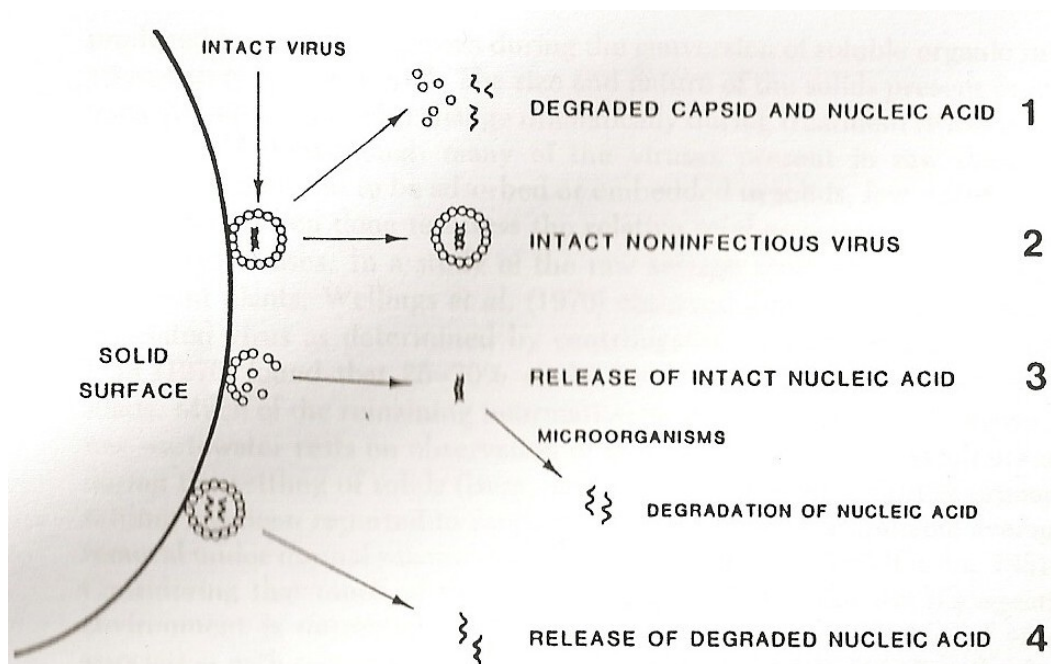


Εικόνα 1.10: Σχηματική απεικόνιση των διαφορετικών πιθανών μηχανισμών κατά τους οποίους ένας φάγος μπορεί να χάσει την ικανότητα του να μολύνει το βακτήριο-ξενιστή. Το ερωτηματικό δείχνει ότι η απώλεια του γενετικού υλικού προκαλείται από τη μετατόπιση της πρωτεϊνικής δομής σε μια επιφάνεια μη-ξενιστή, η οποία είναι άγνωστη (Πηγή: Harvey and Ryan, 2004).

1.5.1.2 Αδρανοποίηση στο υπέδαφος

Αδρανοποίηση ενός βακτηριοφάγου μπορεί να προκληθεί και κατά την διάρκεια της προσκόλλησης του με ένα κόκκο ιζήματος. Μελέτες των Yeager και O'Brien (1979) έδειξαν ότι η αδρανοποίηση του rotovirus σε υγρό και ξηρό υπέδαφος πραγματοποιείται με διαφορετικούς μηχανισμούς. Κατά την μελέτη υπό ξηρές συνθήκες σε αποστειρωμένο υπέδαφος το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA) του ιού απελευθερώνεται από την πρωτεϊνική κάψα ενώ η κάψα παραμένει προσκολλημένη στην επιφάνεια του κόκκου (Εικόνα 1.8).

Υπό υγρές συνθήκες, το RNA του poliovirus μεταλλάσσεται πριν από τον διαχωρισμό του από την πρωτεϊνική κάψα. Από την μελέτη αυτή παρατήρησαν ότι η αδρανοποίηση του ιού σε αποστειρωμένες και μη αποστειρωμένες συνθήκες ήταν ίδια, γι' αυτό εκτιμάται ότι η βιολογική δραστηριότητα δεν ευθύνεται για την αδρανοποίηση του ιού (Εικόνα 1.11). Η προσκόλληση του ιού και μετά την αδρανοποίηση στη στερεή επιφάνεια παρατηρούταν μόνο όταν ο ιός ήταν ξηρός παρουσία της στερεής επιφάνειας. Ενώ αυτές οι μελέτες παρέχουν πληροφορίες για τους γενικούς μηχανισμούς της αδρανοποίησης στο υπέδαφος, δεν διαπιστώνεται ότι μια τέτοια διεργασία είναι καταστρεπτική στην επιβίωση του ιού.



Εικόνα 1.11: Μηχανισμοί αδρανοποίησης ιού σε μια στερεή επιφάνεια. (1) Ο poliovirus που διαχωρίζεται με εκχύλιση από το μέταλλο CuO και αργίλιου διασπάται σε μικρά μόρια RNA και πρωτεϊνικά μόρια. (2) Ο ρετροϊός αδρανοποιείται στο υπέδαφος αλλά παραμένει προσκολλημένος μετά το διαχωρισμό με εκχύλιση. (3) Υπό ξηρές συνθήκες σε αποστειρωμένο υπέδαφος το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA) του ιού απελευθερώνεται από την πρωτεϊνική κάψα ενώ η κάψα παραμένει προσκολλημένη στην επιφάνεια του κόκκου. (4) Υπό υγρές συνθήκες, το RNA του poliovirus μεταλλάσσεται πριν από τον διαχωρισμό από την πρωτεϊνική κάψα και υπό μη αποστειρωμένες συνθήκες η βιολογική δραστηριότητα υποβαθμίζει το RNA του ιού μόλις απελευθερωθεί (Πηγή: Gerba, 1984).

Μελέτες έχουν δείξει ότι η αδρανοποίηση πραγματοποιείται εξαιτίας της φυσικής προσκόλλησης των ιών στους κόκκους πετρωμάτων και αργίλου. Οι Taylor *et al.* (1980) παρατήρησαν ότι ο γεονίους έπειτα από τον διαχωρισμό του από την άργιλο δεν καταστρεφόταν αλλά παρουσίαζε μειωμένη μολυσματική ικανότητα. Οι Moore *et al.* (1982) παρατήρησαν ότι ο γεονίους αδρανοποιούνταν κατά την επαφή του με μια στερεή

επιφάνεια. Δεδομένου ότι η συμπεριφορά ιζηματογένεσης του ανακτημένου ιού ήταν όμοια με αυτήν του ιού εισαγωγής, η απώλεια μολυσματικότητας δεν αποδόθηκε στο σχηματισμό συσσωματωμάτων των ιών. Μόνο η παρουσία χουμικών οργανικών ενώσεων στο υπέδαφος προστάτευε και παρέτεινε το χρόνο επιβίωσης των ιών. Εφόσον η μολυσματικότητα του ιού ήταν σταθερή παρουσία πολυμερών επιφανειακών υποστρωμάτων, οι μελετητές συμπέραναν ότι η παρατηρούμενη μείωση της μολυσματικότητας του ιού οφειλόταν στην φυσική προσρόφηση στις επιφάνειες ανόργανων και οργανικών στερεών. Σε μια παρόμοια μελέτη με poliovirus, δεν παρατηρήθηκε αδρανοποίηση, κατά την προσκόλλησή του στις ίδιες επιφάνειες, κάτι το οποίο αποδεικνύει ότι η αδρανοποίηση μπορεί να οφείλεται στο συγκεκριμένο είδος ιού. Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την αδρανοποίηση των βακτηριοφάγων στο υπέδαφος είναι φυσικοί, χημικοί, και βιολογικοί.

1.5.1.3 Βιολογικοί παράγοντες

✓ Είδος ιού

Η προσρόφηση των φάγων, που είναι καθοριστικός παράγοντας για την αδρανοποίηση τους εξαρτάται άμεσα από τη μορφολογία του φάγου, την εξωτερική τριτογενή δομή της πρωτεϊνικής κάψας και την ακολουθία των αμινοξέων (Shein and Devin, 2007). Πολλές μελέτες έχουν παρατηρήσει ότι διαφορετικά είδη ιών ή ακόμα και στελέχη του ίδιου είδους, παρουσιάζουν διαφορετική συμπεριφορά προσρόφησης (Ferguson *et al.*, 2003). Η προσρόφηση των βακτηριοφάγων διαφέρει πολύ και εξαρτάται από το είδος ή το στέλεχος του ιού που μελετάται. Αυτό εξηγείται σε μεγάλο βαθμό από τις διαφορές των μορφολογικών χαρακτηριστικών του κάθε ιού. Αυτές οι διαφορές στην προσρόφηση αποδίδονται σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των ιών, όπως είναι η υδροφοβικότητα και η ηλεκτροαρνητικότητα του κάθε ιού. Οι περισσότεροι ιοί έχουν ένα πολυπεπτιδικό πρωτεϊνικό περίβλημα το οποίο αποτελείται από αμινοξέα. Τα αμινοξέα αποτελούνται από ένα ασθενές οξύ και βασικές ομάδες (π.χ. καρβοξύλιο και αμινοομάδες), τα οποία ιονίζονται και δίνουν στην κάψα του ιού ηλεκτρικό φορτίο. Οι περισσότεροι ιοί έχουν καθαρό φορτίο το οποίο ποικίλει ανάλογα με το pH (Ferguson *et al.*, 2003).

✓ Μικροβιακή δραστηριότητα

Μερικοί ιοί αδρανοποιούνται ευκολότερα παρουσία ορισμένων μικροοργανισμών εντούτοις, η προσρόφηση στην επιφάνεια των βακτηριών μπορεί να είναι προστατευτική (Yates *et al.*, 1987). Οι Hurst *et al.* (1980) διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση των αστικών λυμάτων μέσα το αποσταγμένο νερό, κάτω από αποστειρωμένες αερόβιες και αναερόβιες, καθώς επίσης και υπό μη αποστειρωμένες αναερόβιες συνθήκες επώασης δεν είχε σημαντική επίπτωση στην αδρανοποίηση των ιών. Εντούτοις, σε μη αποστειρωμένες αεροβικές συνθήκες, η αδρανοποίηση του poliovirus 1 ήταν γρηγορότερη. Αυτό δηλώνει την αρνητική επίδραση των αερόβιων μικροοργανισμών στην επιβίωση του poliovirus 1. Επίσης, η αδρανοποίηση των poliovirus 1 και reovirus 3 σε λύματα (Sobsey *et al.*, 1980) και ο poliovirus 1, echovirus 1, και HAV σε υπόγειο νερό (Sobsey *et al.*, 1986), ήταν πιο αργή σε αποστειρωμένες συνθήκες σε σχέση με τις μη αποστειρωμένες συνθήκες στις περισσότερες περιπτώσεις. Οι Jansons *et al.* (1989), πραγματοποίησαν μετρήσεις αδρανοποίησης του poliovirus 1 σε διάφορες γεωτρήσεις μίας περιοχής. Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στα υπόγεια νερά διέφερε από γεώτρηση σε γεώτρηση. Παρατήρησαν ότι ο ρυθμός αδρανοποίησης του poliovirus 1 ήταν τρεις φορές μεγαλύτερος σε μία μέση τιμή συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου των 5.4 mg/L σε σύγκριση με την τιμή των 0.2 mg/L. Επίσης, στις γεωτρήσεις με υψηλή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου βρέθηκε το βακτήριο *Pseudomonas maltophilia* σε μεγάλο αριθμό ατόμων. Η αδρανοποίηση του poliovirus 1 μπορεί να επηρεάστηκε άμεσα από την υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου ή από τη μικροβιολογική δραστηριότητα στα νερά.

Φαινομενικά, ο ρυθμός αδρανοποίησης των ιών δεν επηρεάζεται πάντα από την μικροβιακή δραστηριότητα. Οι Babich and Stotzky (1980) δεν βρήκαν σημαντική διαφορά στον ρυθμό αδρανοποίησης σε φυσικό, αποστειρωμένο ή φιλτραρισμένο γλυκό νερό για τον βακτηριοφάγο Φ11M15. Επίσης, οι Mathess *et al.* (1988) δεν βρήκαν σημαντική διαφορά στον ρυθμό αδρανοποίησης για τους of coxsackievirus A9 and B1, echovirus 7 σε αποστειρωμένο και μη, υπόγειο νερό.

1.5.1.4 Φυσικοί παράγοντες

✓ Θερμοκρασία.

Η θερμοκρασία έχει θεωρηθεί ως ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει την επιβίωση των ιών στο υπέδαφος και τα υπόγεια νερά (Schijven, 2000). Η αδρανοποίηση και επιβίωση των βακτηριοφάγων στο υπέδαφος είναι εξαρτώμενες από τη θερμοκρασία, σε μερικές περιπτώσεις δεν είναι η ίδια με αυτήν των ξενιστών τους. Οι Yeager και O'Brien (1979) μελέτησαν την επίδραση της θερμοκρασίας (4, 22 και 37°C) για την αδρανοποίηση του poliovirus 1 σε κορεσμένο υπέδαφος και διαπίστωσαν ότι οι ιοί ανακτήθηκαν μέχρι και 12 ημέρες στους 37°C, ενώ στους 4°C ανακτήθηκαν από το υπέδαφος μέχρι και 180 ημέρες μετά. Στον πίνακα 3 ότι στις θερμοκρασίες των υπόγειων νερών, που κυμαίνεται στους 10-12 °C ο ρυθμός αδρανοποίησης για τους βακτηριοφάγους που έχουν μελετηθεί είναι στο εύρος των 0.01 – 0.04 day⁻¹.

Οι Yates *et al.* (1985), έπειτα από πολλαπλές αναλύσεις διαπίστωσαν ότι η θερμοκρασία ήταν η μόνη μεταβλητή μεταξύ των πολυάριθμων χημικών και φυσικών παραγόντων που συσχετίζεται σημαντικά με τα ποσοστά θνησιμότητας των poliovirus, echovirus και coliphage στα υπόγεια νερά. Γενικά, οι ιοί παραμένουν ζωντανοί μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε χαμηλές θερμοκρασίες παρά σε υψηλές θερμοκρασίες. Αυτό πιθανόν οφείλεται στις υψηλές ενζυμικές και μικροβιακές δραστηριότητες, όπως η πρωτεΐνωση σε υψηλές υπεδάφειες θερμοκρασίες προκαλεί γρηγορότερη αδρανοποίηση και αποσύνθεση των ιών (Kimura *et al.*, 2008).

✓ Ένταση και είδος βροχοπτώσεων.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ των βροχοπτώσεων και περιστατικών υδατογενών λοιμώξεων στις Η.Π.Α. (Ferguson *et al.*, 2003). Αυτό επιβεβαιώνει την άποψη ότι η ροή των νερών της βροχής είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την μικροβιολογική μεταφορά και συγκέντρωση στα υπόγεια νερά. Οι βροχοπτώσεις και η ένταση των βροχοπτώσεων είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην αποκόλληση των βακτηριοφάγων από τη σωματιδιακή ύλη και στη συνέχεια την κινητοποίηση τους στο υπέδαφος και στα υπόγεια νερά.

Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει, με την χρήση τεχνητής βροχής την αποκόλληση και μεταφορά των μικροβιολογικών δεικτών από σηπτικές δεξαμενές (Ferguson *et al.*, 2003). Μια μελέτη των Wellings *et al.* (1975), έδειξε ότι μετά από περιόδους

βροχοπτώσεων, οι ιοί εντοπίζονταν στις γεωτρήσεις των υπόγειων νερών σε βάθος 3 και 6 m. Ο βαθμός έκπλυσης κατά την διάρκεια της βροχοπτώσης εξαρτιόταν από το είδος και το στέλεχος του ιού (Landry *et al.*, 1979). Οι Hurst *et al.* (1989) συμπέραναν ότι στους 1°C, η θολερότητας, τα αιωρούμενα στερεά και η έντονη βροχόπτωση είχαν θετική επίδραση στην επιβίωση των ιών, ενώ η σκληρότητα του νερού, η αγωγιμότητα και η αργή διήθηση των νερών προς το υπέδαφος έχουν αρνητική επίδραση στην μολυσματικότητα των ιών (Ferguson *et al.*, 2003).

Πίνακας 1.3: Ρυθμός αδρανοποίησης βακτηριοφάγων στα υπόγεια νερά.

Microorganism	Temperature (°C)	Other conditions	Inactivation rate coefficient μ (1/day)	Reference
ϕ X174	5		0.012	Schijven <i>et al.</i> (2002b)
F-specific RNA bacteriophages	10		0.025	Nasser and Oman (1999)
	20		0.0077	Nasser <i>et al.</i> (1993)
	30		0.031	Nasser <i>et al.</i> (1993)
MS2	2-5		0.030	Schijven <i>et al.</i> (1999)
	4		0.037	Meschke (2001)
	4		0.063	Yates <i>et al.</i> (1985)
	5		0.064	Schijven <i>et al.</i> (1999)
	5		0.082	Schijven <i>et al.</i> (2002b)
	7		0.0058 – 0.10	Yahya <i>et al.</i> (1993)
	12	Oxic	0.10	Schijven <i>et al.</i> (2000)
	12	Anoxic	0.024	
	12		0.16	Yates <i>et al.</i> (1985)
	12		0.065	Yates (1992)
	13		0.22	Yates <i>et al.</i> (1985)
	14	70 weeks	0.45	Meschke (2001)
	17		0.17	Yates <i>et al.</i> (1985)
	18		0.19	
	23		0.36	Blanc and Nasser (1996)
	23		0.58 – 1.3	Yahya <i>et al.</i> (1993)
	23		0.73	Yates <i>et al.</i> (1985)
	25	4 weeks	0.41	Meschke (2001)
PRD1	5		0.0094	Schijven <i>et al.</i> (1999)
	5		0.044	Schijven <i>et al.</i> (2002b)
	7		0.010 – 0.10	Yahya <i>et al.</i> (1993)
	12	Oxic	0.054	Schijven <i>et al.</i> (2000)
	23		0.035	Blanc and Nasser (1996)
	23		0.12 – 0.30	Yahya <i>et al.</i> (1993)

✓ Περιεκτικότητα του πορώδους σε νερό.

Ο ρυθμός αδρανοποίησης σε κορεσμένο και ακόρεστο πορώδες συνήθως μελετάται πειραματικά σε ειδικές στήλες. Κατά τον υπολογισμό της προσκόλλησης στο υπόστρωμα σε κορεσμένες στήλες, η αδρανοποίηση των ιών παραβλέπεται συνήθως για το χρονικό διάστημα του πειράματος. Εντούτοις, σε ακόρεστους συνθήκες, η συμβολή της επίδρασης της αδρανοποίησης στη μεταφορά των ιών είναι σημαντικότερη (Schijven and

Hassanizadeh, 2000). Οι Powelson *et al.* (1990) έδειξαν ότι ο MS2 δεν υπέστη προσρόφιση, ή αδρανοποίηση, σε μια κορεσμένη στήλη (1m) με αργιλώδη λεπτόκοκκη άμμο (pH 8), επειδή μετά από μικρό χρονικό διάστημα η εκρέουσα συγκέντρωση ήταν ίδια με τη εισρέουσα συγκέντρωση. Σε αντίθεση, στη στήλη σε ακόρεστες συνθήκες, η εκρέουσα συγκέντρωση μειώθηκε σημαντικά. Από την ανάλυση του υποστρώματος τα δείγματα από την ακόρεστη στήλη, εμφάνισαν ότι ο MS2 προσροφήθηκε ελάχιστα, αλλά αφαιρέθηκε λόγω της αδρανοποίησης. Οι Powelson and Gerba (1994) έδειξαν ότι η απομάκρυνση των MS2, PRD1, και poliovirus 1 σε στήλες υπό ακόρεστες συνθήκες, ήταν τρεις φορές μεγαλύτερη από τις στήλες σε κορεσμένες συνθήκες. Σε άλλες μελέτες παρατηρήθηκε ότι σε ένα «lysimeter» με αδιατάρακτο ακόρεστο υπόστρωμα, ο MS2 προσκολλιόταν ισχυρά και αδρανοποιόταν πιο γρήγορα. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η διεπιφάνεια αέρα-νερού συγκρατεί ή/ και αδρανοποιεί τους ιούς κατά την μεταφορά τους μέσα από το ακόρεστο υπόστρωμα.

Οι Hurst *et al.* (1980) έδειξαν ότι ο ρυθμός αδρανοποίησης του poliovirus 1 αυξήθηκε δεδομένου ότι η περιεκτικότητα του εδάφους σε υγρασία (αμμώδους σύστασης) αυξήθηκε από 5 σε 15% και στη συνέχεια μειώθηκε όταν η περιεκτικότητα του εδάφους σε υγρασία αυξήθηκε από 15 σε 25%. Προφανώς, η αδρανοποίηση ήταν στο μέγιστό της κοντά στο σημείο κορεσμού της εδαφικής υγρασίας. Οι Thompson *et al.* (1998) έδειξαν ότι ο βακτηριοφάγος MS2 προστατευόταν από τις επιφάνειες αέρα- νερό-στερεού όταν ήταν προσκολλημένος στους κόκκους του υποστρώματος. Σε αυτήν την περίπτωση η στερεή επιφάνεια ήταν τα τοιχώματα του υδροφοβικού από πολυπροπυλένιο δοκιμαστικού σωλήνα που περιείχε το αιώρημα των φάγων. Στη γραμμή επαφής αέρα- νερού- πολυπροπυλενίου οι επιφανειακές εντάσεις ήταν πολύ υψηλότερες απ' ό,τι στη γραμμή επαφής αέρα- νερού- γυαλιού. Αυτά τα συμπεράσματα προτείνουν ότι φυσικές δυνάμεις συσχετισμένες με την γραμμή επαφής αέρα -νερού -στερεού μπορεί να είναι υπεύθυνες για την αύξηση της αδρανοποίησης.

Η ξήρανση του εδάφους επιδρά έντονα στη αδρανοποίηση των ιών (Kimura *et al.*, 2008). Η αδρανοποίηση του ιού προκλήθηκε από τις εξής θανατηφόρες επιδράσεις, την διαδικασία της εξάτμισης σε συνεργασία με τα χαμηλά επίπεδα υγρασίας του εδάφους που είχαν ως αποτέλεσμα την ξήρανση του εδάφους. Η εξάτμιση έχει εκτιμηθεί ότι είναι ο πρωταρχικός παράγοντας αρμόδιος για την αδρανοποίηση σε ξηρό έδαφος για τον poliovirus 1 (Yeager and O'Brien, 1979). Για την αξιολόγηση του δημόσιου κινδύνου από τους παθογόνους, εντεροϊούς που βρίσκονται στη ύλη των βιολογικών καθαρισμών, πραγματοποιήθηκαν εργαστηριακές μελέτες για τη μέτρηση του ρυθμού αδρανοποίησης

του poliovirus 1, του MS2 και του PRD-1 σε δύο γεωργικές περιοχές (με αμμώδη και αργιλώδη υπέδαφος). Όταν η θερμοκρασία αυξήθηκε από 15 σε 40°C υπό σταθερή υγρασία (περιεκτικότητας 30%, περίπου -0.05×10^5 Pa και για τα δύο εδάφη), ο ρυθμός αδρανοποίησης αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας για τον poliovirus 1 και τον MS2, ενώ μια σημαντική αύξηση του ρυθμού παρατηρήθηκε μόνο στους 40°C για PRD-1. Και για τους τρεις ιούς, ξήρανση σε λιγότερο από 5% η εδαφικής υγρασίας οδήγησε σε μια γρηγορότερη απώλεια της μολυσματικότητας τους. Η εξάτμιση αδρανοποίησε εντελώς και τους τρεις ιούς μέσα σε 7 ημέρες στους 15°C, μέσα σε 3 ημέρες στους 27°C και μέσα σε 2 ημέρες στους 40°C, ανεξάρτητα από την εδαφική σύσταση (Kimura *et al.*, 2008).

✓ Παρουσία κολλοειδών

Η παρουσία οργανικής ουσίας μπορεί να προστατεύσει τους ιούς από την αδρανοποίηση άλλοι έχουν διαπιστώσει ότι μπορεί ανατρεπτικά να καθυστερήσει τη μολυσματικότητα ιών. Οι ιοί στο περιβάλλον συνδέονται συχνά με τη σωματιδιακή ύλη ή άλλες επιφάνειες και αυτό έχει μια μεγάλη επίδραση στην αδρανοποίησή τους και τη μεταφορά στο περιβάλλον (Gerba, 1984). Η προσρόφηση στη οργανική ύλη, στον άργιλο ή η συσσωμάτωση στο περιβάλλον έχει πραγματοποιηθεί για τον βακτηριοφάγο T2 (Gerba and Schaiberger, 1975), τον T7 (Bitton and Mitchell, 1974), και f2 (Armon and Cabelli, 1988). Κολλοειδή, τα οποία συνήθως καθορίζονται από το μέγεθός των 1 έως 1000 nm, παρατηρούνται σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις (κυμαίνονται από 10⁸ έως 10¹⁷ σωματίδια/ L) σε νερά γεωλογικών περιβαλλόντων. Οι Gerba *et al.* (1978) βρήκαν ότι στις απορροές επεξεργασμένων λυμάτων, η μεγαλύτερη ποσότητα στερεού- coliphages είναι προσκολλημένο σε σωματίδια μεγαλύτερα από 8.0 μm και μικρότερα από 0.65 μm. Εντούτοις, οι Hejkal *et al.* (1981) έδειξαν ότι στα επεξεργασμένα υγρά απόβλητα η πλειοψηφία των εντεροϊών είναι ελεύθεροι ή συνδεδεμένοι με σωματίδια μικρότερα από 0.3 μm. Σωματίδια μικρότερα από 0.3 μm περιλαμβάνουν τους αργίλους, κυτταρικά μόρια, προϊόντα αποβλήτων, και άλλα διάφορα μόρια (Levine *et al.*, 1985). Κατά συνέπεια, ένα μεγάλο ποσοστό ιών είναι συνδεδεμένοι με τα στερεά που περιέχονται στα λύματα και με άλλα κολλοειδή μεγέθους μικρότερο από 0.3 μm.

Η προσκόλληση των ιών στα στερεά έχει παρατηρηθεί ότι στα φυσικά νερά παρουσιάζουν μείωση της αδρανοποίησης τους, αλλά έχουν αναφερθεί και μερικές εξαιρέσεις (Gerba, 1984). Μειωμένη αδρανοποίηση λόγω της προσρόφησης στο

αιωρούμενο υλικό, στο ίζημα των θαλασσινών νερών ή των ποτάμιων εκβολικών νερών έχει αναφερθεί για poliovirus 1, echovirus 1, coxsackieviruses A9 και B3, rotavirus SA11, HAV, FRNAPHs, και βακτηριοφάγοι *Bacterioides fragilis* (Metcalf *et al.*, 1984; Chung and Sobsey, 1992). Οι Mathess *et al.* (1988) έδειξαν ότι η προσθήκη άμμου στα υπόγεια νερά στους 10°C μείωσε το ρυθμό αδρανοποίησης coxsackievirus B1, αλλά ο ρυθμός αδρανοποίησης των coxsackievirus A9 και echovirus 7 δεν επηρεάστηκαν από την προσθήκη της άμμου. Οι Sakoda *et al.* (1997) ανέφεραν σημαντική μειωμένη αδρανοποίηση των βακτηριοφάγων MS2 και Qβ σε διάλυμα PBS (pH 7.2) προσθέτοντας κυτταρίνη, DEAE-cellulose, φωσφορικό άλας κυτταρίνης, καολίνη, άνθρακα, αιωρούμενα στερεά, και ίζημα από έναν ποταμό.

Ο Gerba (1984) ανέφερε ότι η μειωμένη αδρανοποίηση μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της προστασίας από τα proteolytic ένζυμα ή άλλες αδρανοποιητικές για τους ιούς ουσίες. Όταν προσκολλάται ένας ιός αυξάνει τη σταθερότητα της πρωτεϊνικής κάψας, αποφεύγει τη δημιουργία συσσωματωμάτων, και προστατεύεται από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Το τελευταίο είναι σημαντικό για τα επιφανειακά νερά. Οι Sakoda *et al.* (1997) θεωρούν ότι η προσκόλληση των ιών σε μια στερεή επιφάνεια τους αποτρέπει από τη καθίζηση, και την απώλεια δραστηριότητας.

✓ Σύσταση εδάφους.

Μελέτες πεδίου έχουν δείξει ότι οι ιοί που προσροφώνται στις στερεές επιφάνειες μπορούν να αδρανοποιηθούν πιο αργά, με τον ίδιο ρυθμό, ή γρηγορότερα από εκείνους που αιωρούνται στο διάλυμα (Azadpour-Keeley, 2005). Σε μερικές μελέτες, οι οποίες παρατίθενται παρακάτω έχουν παρατηρήσει αυξημένη αδρανοποίηση παρουσία του χώματος. Οι Blanc και Nasser (1996) το παρατήρησαν για τον MS2 και PRD1 στην άμμο και την πηλώδη άμμο. Στη μελέτη των Formentin *et al.* (1997), παρατηρήθηκε ότι οι βακτηριοφάγοι f1, μήκους 100 nm, προσκολλήθηκαν μαζικά με τον ατταπουλγίτη (είδος αργίλου) και παρουσίαζαν συνεχή γρήγορη αδρανοποίηση. Σε αυτήν την μελέτη, διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις ελεύθερων και προσκολλημένων ατόμων MS2 αυξήθηκαν μετά από την προσθήκη του ατταπουλγίτη. Ενδεχομένως, τα συσσωματώματα MS2 αποκολλήθηκαν όταν πραγματοποιήθηκε η προσκόλληση στον ατταπουλγίτη. Η μειωμένη αδρανοποίηση βρέθηκε ότι αναφέρεται περισσότερο σε περιπτώσεις ισχυρού προσκολλητή, ειδικά στους αργίλους (Hurst *et al.*, 1980). Οι Babich και Stotzky (1980) βρήκαν ότι παρουσία των σωματιδίων αργίλου, ο ρυθμός αδρανοποίησης του φάγου

φ11M15 σε γλυκό νερό λίμνης μειώθηκε πολύ, με σειρά προστασίας είναι ατταπουλγίτη > βερμικουλίτη > μοντμοριλλονίτη > каоλινίτη. Εάν παρατηρηθεί μειωμένη αδρανοποίηση, παρουσία αργίλου τότε εξαρτάται και από τη συγκέντρωσή του. Οι Gerba και Schaiberger (1975) δεν παρατήρησαν καμία αύξηση στη διάρκεια επιβίωσης του phage T2 παρουσία μικρών συγκεντρώσεων каоλινίτη σε θαλασσινό νερό. Αργιλώδη ιζήματα είναι καλύτεροι προσροφητές από τα αμμώδη. Στις περιπτώσεις όπου η αδρανοποίηση ιών αυξάνεται, παρουσία χόματος, πιθανώς αυτό μπορεί να είχε προκληθεί από διαδικασίες σύνδεσης και αποσυνδέσεων. Οι ιοί μπορούν να υποβιβαστούν λόγω της σύνδεσης στις περιοχές με τα μεταλλικά οξείδια (Gerba, 1984).

1.5.1.5 Χημικοί παράγοντες

✓ Ιοντική ισχύς και Αλατότητα.

Κάποιοι ιοί προστατεύονται από την ύπαρξη συγκεκριμένων κατιόντων στο περιβάλλον τους. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μείωση ιοντικής ισχύς έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της προσρόφησης και εν συνεχεία την αύξηση αδρανοποίησης (Shein and Devin, 2007). Δύο βακτηριοφάγοι (nt-1 και nt-6) εξετάστηκαν για να καθοριστεί η επίδραση της ιοντικής ισχύς στη σταθερότητα τους. Παρατηρήθηκε ότι ήταν ανθεκτικότεροι σε χαμηλά επίπεδα NaCl από το βακτήριο-ξενιστή τους, το οποίο εμφάνισε περιορισμένη αύξηση στο θαλασσινό νερό λόγω υψηλότερης αλατότητας (Kimura, 2008). Η προσρόφηση των ιών στα σωματίδια της αργίλου είναι μεγαλύτερη σε υψηλή ιοντική ισχύ επειδή η υψηλή ιοντική ισχύς μειώνει την ηλεκτροαρνητικότητα των σωματιδίων αργίλου και ιών. Καθώς επίσης η προσκόλληση του ιού με κολλοειδή και σωματιδιακή ύλη παρατείνει την επιβίωση και τη μολυσματικότητα του ιού. Κατά συνέπεια, η ιοντική ισχύς είναι ένας σημαντικός περιβαλλοντικός παράγοντας στην ένωση των ιών με τα σωματίδια αργίλου και κατά συνέπεια για την επιβίωση των ιών (Kimura, 2008).

Οι ιοί σχεδόν πάντα επιζούν περισσότερο στα γλυκά νερά απ' ότι στο νερό της θάλασσας. Αυτό οφείλεται κατά ένα μεγάλο μέρος στην παρουσία ανταγωνιστικών μικροοργανισμών, παρά την αυξανόμενη συγκέντρωση άλατος. Άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο τύπος και η συγκέντρωση των αλάτων στο περιβάλλον μπορούν να έχουν μια μεγάλη επιρροή στην προσρόφηση των φάγων στο υπέδαφος. Κατιόντα (θετικά

φορτισμένα ανόργανα είδη), συγκεκριμένα πολυσθενή κατιόντα όπως το μαγνήσιο (Mg^{2+}) και το ασβέστιο (Ca^{2+}), μπορούν να δημιουργήσουν ένα δεσμό γέφυρας μεταξύ της στερεάς επιφάνειας και του οργανισμού και να ενισχύσουν σημαντικά την προσρόφηση (Shein and Devin, 2007).

✓ pH.

Σε υψηλότερα pH οι ηλεκτροστατικές απωθητικές δυνάμεις αυξάνονται, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μειωμένο ποσοστό επικόλλησης και αυξημένο ποσοστό αποκόλλησης των φάγων στα σωματίδια. Οι φάγοι μπορούν να επιβιώσουν σε τιμές pH των 11.0–11.5 και 1.0–2.0 για μικρό χρονικό διάστημα, παρόλα αυτά υπάρχουν φάγοι οι οποίοι παρουσιάζουν μεγάλο συντελεστή αδρανοποίησης για τιμές pH μεγαλύτερες του 10.

Το pH του εδάφους έχει επιπτώσεις όχι μόνο στην αύξηση των ξενιστών, αλλά και στην επιβίωση των ιών. Η οξύτητα μπορεί να έχει μεγαλύτερες επιπτώσεις στην προσρόφηση, όπως μετά την διείσδυση, να παρουσιάσει της λανθάνουσας περιόδου στις σύνδεση φάγου – ξενιστή (Sykes *et al.*, 1981). Το pH του εδάφους επηρεάζει επίσης την επιβίωση του ιού έμμεσα. Η προσρόφηση των ιών σε μια στερεά επιφάνεια είναι ένα κοινό περιστατικό που οδηγεί σε μια πιο μεγάλης διάρκειας επιβίωση. Οι ιοί είναι υδρόφιλα κολλοειδή υλικά, και η προσρόφησή τους εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος από τις ηλεκτροστατικές ιδιότητες της επιφάνειας του εδάφους στην οποία το pH συμβάλλει κατά πολύ (Kapusinski and Mitchell, 1980).

1.5.2 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ

Η ρόφηση ενός ρύπου (π.χ. ιοί, βακτηρία) διαχωρίζεται στην προσρόφηση και την απορρόφηση. Η προσρόφηση είναι η συσσώρευση του ρύπου σε μια διεπιφάνεια, ενώ η απορρόφηση αναφέρεται στο πέρασμα της διεπιφάνειας και τη συσσώρευση στο εσωτερικό της δεύτερης επιφάνειας. Η προσρόφηση είναι σημαντική στη μεταφορά και στη επιβίωση των φάγων στο υπέδαφος καθώς μελέτες των τελευταίων χρόνων έχουν δείξει ότι η προσκόλληση των φάγων σε επιφάνειες όπως κόκκοι αργίλου, άμμου ή και οργανικής ύλης, συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό.

Βάσει των μηχανισμών οι οποίοι λαμβάνουν λαμβάνουν χώρα, οι διάφοροι τύποι

προσρόφησης κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες: φυσική προσρόφηση, χημική προσρόφηση και εναλλαγή ιόντων. Η φυσική προσρόφηση, η οποία είναι και η πιο σημαντική για την προσρόφηση των φάγων σε στερεή επιφάνεια, οφείλεται στην επίδραση αδύνατων ελκτικών δυνάμεων van der Waals που ασκούνται μεταξύ των ιών και της επιφάνειας των στερεών ή του προσροφητή (Gerba, 1984). Η χημική προσρόφηση οφείλεται σε αρκετά ισχυρές ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των ρύπων και της επιφάνειας των στερεών προσροφητών, οι οποίες οδηγούν στο σχηματισμό χημικών ενώσεων. Η χημική προσρόφηση συνήθως δεν είναι ανατρέψιμη παρά μόνο όταν αυξηθεί η θερμοκρασία της επιφάνειας του προσροφητή. Η εναλλαγή ιόντων είναι ένας μηχανισμός προσρόφησης όπου ένα ιόν εναλλάσσεται με ένα ή περισσότερα ιόντα από την επιφάνεια του προσροφητή με ίδιο συνολικό ηλεκτρικό φορτίο ή σθένος. Η εναλλαγή ιόντων βασίζεται σε ελκτικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις που προκύπτουν λόγω του αντίθετου ηλεκτρικού φορτίου μεταξύ των ρύπων και της στερεάς επιφάνειας του προσροφητή (Χρυσικόπουλος, 2009).

Η συγκέντρωση των προσροφημένων στη στερεά φάση ιών, C^* η οποία υπολογίζεται σε μονάδες $[M/M]$, μάζα ουσίας προς μάζα προσροφητή], εξαρτάται άμεσα από τη συγκέντρωση του ίου στην υδατική φάση, C η οποία υπολογίζεται σε μονάδες $[M/L^3]$. Τα μαθηματικά μοντέλα αυτά ονομάζονται ισοθερμικές συσχετίσεις γιατί αναφέρονται σε υδατικά διαλύματα τα οποία ευρίσκονται σε σταθερή θερμοκρασία και σε χημική ισορροπία. Τέτοια μοντέλα είναι:

Η γραμμική ισοθερμική προσρόφηση: η οποία δίνεται από τη σχέση:

$$C^* = K_d \cdot C \quad (1.2)$$

όπου K_d είναι ο συντελεστής κατανομής μάζας. Η γραφική παράσταση του C^* συναρτήσει του C δίνει μια ευθεία γραμμή. Η κλίση της γραμμής δίνει το συντελεστή K_d .

Η ισοθερμική προσρόφηση τύπου Freundlich: η οποία είναι μια μη-γραμμική σχέση μεταξύ C και C^* η οποία εκφράζεται ως εξής:

$$C^* = K_f C^m \quad (1.3)$$

όπου K_f είναι μια σταθερά και m είναι ο εκθέτης της σχέσης ισοθερμικής προσρόφησης τύπου Freundlich. Η προσρόφηση τύπου Freundlich αντιπροσωπεύει την περίπτωση προσρόφησης όπου πολλαπλά μοριακά στρώματα μπορούν να δημιουργηθούν στα στερεά (πολυστρωματική). Παίρνοντας τους λογάριθμους των δύο σκελών της παραπάνω σχέσης προκύπτει:

$$\log C^* = \log K_f + m \cdot \log C \quad (1.4)$$

Η γραφική παράσταση του $\log C^*$ συναρτήσει του $\log C$ δίνει μια ευθεία γραμμή. Η κλίση της γραμμής δίνει τον εκθέτη m και η τομή της γραμμής με τον άξονα y δίνει την τιμή του $\log K_f$.

Η ισοθερμική προσρόφηση τύπου Langmuir: είναι μη-γραμμική σχέση μεταξύ C^* και C και αντιπροσωπεύει την περίπτωση προσρόφησης όπου μόνο ένα στρώμα μορίων μπορούν να δημιουργηθούν στα στερεά (μόνοστρωματική):

$$C^* = \frac{Q^{\circ} \cdot a_1 \cdot C}{1 + a_1 \cdot C} \quad (1.5)$$

όπου Q° είναι μέγιστη δυνατή ποσότητα προσροφημένης ουσίας σε μονοστρωματική διάταξη στα στερεά και a_1 είναι μια εμπειρική σταθερά η οποία σχετίζεται με την ενέργεια δέσμευσης (ενθαλπία προσρόφησης). Επομένως, C^* και Q° έχουν ακριβώς τις ίδιες μονάδες. Η γραφική παράσταση της C^* συναρτήσει της C είναι μια μη-γραμμική σχέση. Η μέγιστη τιμή της C^* είναι αυτή της Q° .

1.5.2.1 Παράγοντες

Η προσρόφηση των ιόν στο στερεό σκελετό των εδαφικών στρωμάτων εξαρτάται από τη φύση του προσροφητή και του ιού, καθώς και από τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες. Παρακάτω αναλύονται οι κύριοι παράγοντες (είδος του φάγου, η σύσταση του έδαφος, του pH, της ιοντικής ισχύς, των πολυσθενών κατιόντων, και της οργανικής ουσίας) οι οποίοι καθορίζουν το ποσοστό προσρόφησης των βακτηριοφάγων στο στερεό σκελετό των εδαφικών στρωμάτων

✓ Είδος φάγου (μέγεθος, σχήμα και ηλεκτροαρνητικότητα)

Η προσρόφηση των φάγων, εξαρτάται άμεσα από τη μορφολογία του φάγου, την εξωτερική τριτογενή δομή της πρωτεϊνικής κάψας και την ακολουθία των αμινοξέων (Shein and Devin, 2007). Πολλές μελέτες έχουν παρατηρήσει ότι διαφορετικά είδη ιών ή ακόμα και στελέχη του ίδιου είδους, παρουσιάζουν διαφορετική συμπεριφορά προσρόφησης (Ferguson *et al.*, 2003). Η προσρόφηση των βακτηριοφάγων διαφέρει πολύ και εξαρτάται από το είδος ή το στέλεχος του ιού που μελετάται. Αυτό εξηγείται σε μεγάλο βαθμό από τις διαφορές των μορφολογικών χαρακτηριστικών του κάθε ιού. Αυτές οι διαφορές στην προσρόφηση αποδίδονται σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των ιών, όπως

είναι η υδροφοβικότητα και η ηλεκτροαρνητικότητα του κάθε ιού. Οι περισσότεροι ιοί έχουν ένα πολυπεπτιδικό πρωτεϊνικό περίβλημα το οποίο αποτελείται από αμινοξέα. Τα αμινοξέα αποτελούνται από ένα ασθενές οξύ και βασικές ομάδες (π.χ. καρβοξύλιο και αμινοομάδες), τα οποία ιονίζονται και δίνουν στην κάψα του ιού ηλεκτρικό φορτίο. Οι περισσότεροι ιοί έχουν καθαρό φορτίο το οποίο ποικίλει ανάλογα με το pH (Ferguson *et al.*, 2003). Το *ισοηλεκτρικό σημείο* (pI) ενός ιού είναι η τιμή του pH στην οποία το φορτίο του σωματιδίου μηδενίζεται. Το *ισοηλεκτρικό σημείο* ενός ιού μπορεί να ποικίλει όχι μόνο με το είδος του ιού αλλά και από στέλεχος σε στέλεχος (Gebra, 1984). Μικροοργανισμοί με υψηλό pI προσροφούνται σε μεγαλύτερο ποσοστό από μικροοργανισμούς με χαμηλό pI.

Από μελέτες που πραγματοποίησαν οι Gebra *et al.* (1980) ήταν δυνατό να διακριθούν δύο ομάδες ιών σύμφωνα με το μέσο ποσοστό προσρόφησής τους στην ισορροπία. Στην ομάδα I με μέσο ποσοστό προσρόφησης 44% και την II με 78%. Ο φάγος f2 είναι μάλλον μια ειδική περίπτωση με μέσο ποσοστό προσρόφησης 16%, το οποίο ήταν σημαντικά λιγότερο από αυτό των άλλων ιών. Από αυτή την ομαδοποίηση των ιών διαπιστώνεται ότι πράγματι ιοί με υψηλό pI προσροφούνται σε μεγαλύτερο ποσοστό από μικροοργανισμούς με χαμηλό pI. Επίσης παρατηρείται ότι οι φάγοι MS2 και T2 αν και έχουν όμοιο χαμηλό *ισοηλεκτρικό σημείο* παρουσιάζουν διαφορετικό ποσοστό προσρόφησης, με τον T2 να έχει το μεγαλύτερο. Αυτό πιθανόν οφείλεται στη παρουσία ουράς στη δομή του φάγου T2, η οποία μπορεί να επηρεάζει στην προσκόλληση του διαμορφώνοντας το φορτίο της με τις αλλαγές του pH (Cookson, 1970).

Πίνακας 1.4: Ομαδοποίηση ιών συμφωνά με το ποσοστό προσρόφησης σε εδαφικά στρωματά (Gebra, 1980).

Adsorption group	Virus type	Mean % adsorption (SD) ¹	Range
I	E1 Farouk	39.2 (35.0)	11.0 - 99.7
	E1 V212	45.1 (31.8)	1.0 - 99.7
	E1 V239	46.9 (30.0)	5.0 - 98.0
	E1 V248	46.0 (37.6)	0.1 - 99.9
	CB4 V216	38.1 (29.7)	2.0 - 99.3
	CB4 V240	55.8 (36.4)	0.1 - 98.7
	MS2	45.3 (26.6)	16.6 - 99.9
	φX174	34.5 (44.9)	0.0 - 100.0
II	Poliovirus-1 LSc	85.3 (21.6)	42.0 - 99.9
	E7 Wallace	68.1 (40.1)	8.0 - 99.9
	CB3 Nancy	81.1 (22.5)	35.0 - 99.6
	T2	72.1 (31.7)	8.4 - 100.0
	T4	83.1 (32.5)	0.0 - 99.7
III	f2	16.4 (32.4)	0.0 - 99.2

¹ Mean of nine soil types SD: standard deviation CB: coxsackievirus B E: ECHO virus

✓ Σύσταση εδάφους

Η σύσταση του εδάφους παίζει σημαντικό ρόλο στο ποσοστό προσρόφησης των ιών στο έδαφος, διότι αυτή καθορίζει το φορτίο του προσροφητή. Γνωρίζοντας το φορτίο του ιού και του προσροφητή μπορεί να προβλεφθεί και να ελεγχθεί το ποσοστό προσρόφησης του ιού στην επιφάνεια. Το πραγματικό φορτίο του ιού και της επιφάνειας ποικίλει και καθορίζεται από το pH, το είδος και τη συγκέντρωση των ιόντων στα υπόγεια νερά (Gebra, 1984).

Εδαφικά υλικά με υψηλό ισοηλεκτρικό σημείο είναι καλύτεροι προσροφητές ιών από άλλα με χαμηλή τιμή. Αργιλώδη ιζήματα είναι καλύτεροι προσροφητές από τα αμμώδη (Sobsey *et al.*, 1980; Moore *et al.*, 1982). Υψηλή τιμή ισοηλεκτρικού σημείου για ένα εδαφικό υλικό σημαίνει ότι κατά μεγάλη πιθανότητα το φορτίο της επιφάνειας του να είναι θετικό στο pH του φυσικού νερού. Ο ιός έχει αρνητικό φορτίο σε αυτές τις συνθήκες, τότε οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ τους θα είναι ελκτικές με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγαλύτερη προσρόφηση σε σχέση με ένα εδαφικό υλικό το οποίο θα είναι αρνητικά φορτισμένο. Δηλαδή το ποσοστό προσρόφησης καθορίζεται από το φορτίο του προσροφητή αλλά και του ιού (Πίνακας 1.5).

Μελέτες των Ryan και Elimelech (1996) υποστηρίζουν ότι οι ιοί συνδέονται κατά προτίμηση μόνο με ένα μέρος της εδαφικής επιφάνειας που φέρει τα ευνοϊκά χαρακτηριστικά φόρτισης. Περιγράφουν ότι η μεγαλύτερη επιφάνεια των εδαφικών κόκκων έχουν χημικά χαρακτηριστικά δυσμενή για την προσκόλληση σωματιδίων. Επομένως, η προσκόλληση κολλοειδών στα υπόγεια νερά είναι πιθανόν κατά ένα μεγάλο μέρος περιορισμένη σε ένα μικρό μέρος της επιφάνειας του κόκκου που έχει ευνοϊκά χαρακτηριστικά φόρτισης. Αυτές οι ευνοϊκά φορτισμένες επιφάνειες, είναι αποτέλεσμα της ετερογένειας του κόκκου, και συνήθως είναι τοπικά θετικά φορτισμένες σε μια επιφάνεια ενός αρνητικά φορτισμένου κόκκου. Αργιλικά υλικά μπορούν να έχουν επιφάνειες με μεγάλη ετερογένεια φορτίου στην επιφάνεια τους.

Πίνακας 1.5: Ποσοστό προσρόφησης ιών σε διάφορους προσροφητές (Πηγή: Ferguson, 2003).

Virus adsorbed to	% infectious virus							
	T2	T7	MS2	f2	P1	P2	Reo	EMC
Natural solids from lakes	-	-	-	-	-	-	-	87-138
Bentonite	82	76	-	3	93	-	-	
Magnetite	75	-	100	-	100	-	-	
Genesee silt	-	-	-	-	-	98	-	
Beach sand	-	-	-	-	-	-	99	

P: poliovirus Reo: reovirus EMC: encephalomyocarditis virus

✓ pH

Το pH του εδάφους επηρεάζει επίσης στη προσρόφηση των ιόν σε μια στερεά επιφάνεια. Οι ιοί είναι υδρόφιλα κολλοειδή υλικά, και η προσρόφησή τους εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος από τις ηλεκτροστατικές ιδιότητες της επιφάνειας του εδάφους στην οποία το pH συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό (Karuscinski and Mitchell, 1980). Σε υψηλό pH, όταν και οι δύο επιφάνειες είναι αρνητικά φορτισμένες, οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις μπορούν να είναι ο κύριος παράγοντας που διατηρεί τη σύνδεση ιόν (Shields and Farrah, 1983; Gerba, 1984; Bales *et al.*, 1991). Σε τέτοιες τιμές pH οι ηλεκτροστατικές απωθητικές δυνάμεις αυξάνονται, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μειωμένο ποσοστό επικόλλησης και αυξημένο ποσοστό αποκόλλησης των φάγων στα σωματίδια. Σε πολλές μελέτες διαλείποντος έργου, έχει αποδειχθεί ότι, γενικά, οι ιοί προσροφούνται σε μικρότερο ποσοστό σε υψηλές τιμές pH.

Μελέτη των Bales *et al.* (1991) έδειξε ότι ο φάγος MS2 προσροφώταν πολύ λιγότερο σε σφαιρίδια πυριτίου σε ένα πείραμα διαλείποντος έργου, σε pH 7 απ' ό,τι σε pH 5, αλλά όταν τα σφαιρίδια πυριτίου εμποτίστηκαν με C₁₈-trichlorosilane, τότε παρατηρήθηκε 400 φορές περισσότερη προσκόλληση, ανεξαρτήτως από το pH. Οι Bales *et al.* (1991) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι υδροφοβικές ομάδες είναι σημαντικά για την προσρόφηση ακόμη και για των σχετικά υδρόφιλων ιόν. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υδροφοβικών ομάδων σχετικά με τις επιφάνειες του ιού και του στερεού μπορούν να προκαλέσουν μια αύξηση στους δεσμούς προσκόλλησης που αναπτύσσονται.

✓ Ιοντική ισχύς και Αλατότητα

Η μικροβιακή προσρόφηση καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τις ιδιότητες τους διαλύματος στο οποίο πραγματοποιείται η προσρόφηση. Γενικά, αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων αλάτων και αύξηση των κατιόντων ενισχύουν την προσρόφηση ιόν. Ερευνητές υποστηρίζουν ότι ο τύπος και η συγκέντρωση των αλάτων στο περιβάλλον μπορούν να έχουν μια μεγάλη επιρροή στην προσρόφηση των φάγων στο υπέδαφος (Ferguson *et al.*, 2003). Κατιόντα (θετικά φορτισμένα ανόργανα είδη), συγκεκριμένα πολυσθενή κατιόντα όπως το μαγνήσιο (Mg²⁺) και το ασβέστιο (Ca²⁺), μπορούν να δημιουργήσουν ένα δεσμό γέφυρας μεταξύ της στερεάς επιφάνειας και του οργανισμού και να ενισχύσουν σημαντικά την προσρόφηση. Οι Dowd *et al.* (1998) συμπέραναν ότι οι πιο αρνητικά φορτισμένοι ιοί προσκολλούνται περισσότερο από τους λιγότερο αρνητικά φορτισμένους ιούς στην περίπτωση των υψηλών συγκεντρώσεων πολυσθενών κατιόντων.

Οι Bales *et al.* (1991) παρατήρησαν ότι σε ένα πείραμα διαλείποντος έργου για pH 5 η προσκόλληση σε σφαιρίδια πυριτίου του φάγου MS2 ήταν τουλάχιστον 10 φορές υψηλότερη παρουσία Ca^{2+} απ' ό τι χωρίς Ca^{2+} .

Η προσρόφηση των ιών στα σωματίδια της αργίλου είναι μεγαλύτερη σε υψηλή ιοντική ισχύ επειδή η υψηλή ιοντική ισχύς μειώνει την ηλεκτροαρνητικότητα των σωματιδίων αργίλου και ιών. Μια σύγκριση από διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης αλάτων έδειξε ότι υψηλή συγκέντρωση αλάτων έχει σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερη προσρόφηση (Πίνακας 1.6).

Πίνακας 1.6: Συντελεστής προσκόλλησης (α) για διάφορα είδη ιών (Πηγή: Schijven and Hassanizadeh, 2000).

Virus	Soil	pH	NaCl [M]	f_{oc}	α
MS2	Glass beads	5.0	0.01	—	0.0015
		5.0	0.08	—	0.0015 – 0.0028
	Silica beads	5.0	0.05	2.00×10^{-7}	0.018
		7.0	0.05	2.00×10^{-7}	0.0022
	Sand (Cape Cod)	5.7	0.1	$<1.0 \times 10^{-4}$	0.007
		7.0	0.1	$<1.0 \times 10^{-4}$	0.01
		8.2	0.1	$<1.0 \times 10^{-4}$	0 ^a
	Quartz	3.5	0.01	—	0.12
		3.5	0.3	—	0.16
		5.0	0.01	—	0.009
		5.0	0.1	—	0.09
		5.0	0.3	—	0.04
PRD1	Glass beads	5.5	0.01	—	0.0015 – 0.0033
	Sand (Borden)	6.5	0.1	3.0×10^{-4}	0.17
		7.0	0.1	3.0×10^{-4}	0.14
		7.6	0.1	3.0×10^{-4}	0.15
	Sand (Cambridge)	7.0	0.1	5.0×10^{-4}	1.11
	Sand (Cape Cod)	5.7	0.1	$<1.0 \times 10^{-4}$	0.62 – ≥ 0.94
		7.0	0.1	$<1.0 \times 10^{-4}$	0.63 – 0.82
	8.2	0.1	$<1.0 \times 10^{-4}$	0.58	
Polio 1	Silica beads	5.5	0.05	2.00×10^{-7}	0.014
		7.0	0.05	2.00×10^{-7}	0.0040
		7.0	0.05	2.00×10^{-7}	0.0072
λ	Quartz	3.9	0.01	—	1.25
		5.0	0.01	—	0.045
		5.0	0.1	—	0.53
		5.0	0.3	—	0.65

✓ Οργανική ύλη στο πορώδες

Η μετακίνηση των ιών στο πορώδες επιβραδύνεται ή αποτρέπεται από την ένωση με σωματίδια οργανικής ύλης. Η κύρια μορφή διαλυμένης ή αιωρούμενης οργανικής ύλης στο υπέδαφος είναι υπό μορφή χουμικών ουσιών (Shimizu *et al.*, 1998). Συνήθως, οι χουμικές ουσίες είναι, παρόμοια με τους ιούς, αρνητικά φορτισμένα, και ως εκ τούτου ανταγωνίζονται με τους ιούς για τις ίδιες περιοχές προσκόλλησης (Gebra, 1984). Άλλες

μορφές διαλυμένης οργανικής ουσίας αποτελούνται από πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια, και αμινοξέα. Από τα πειράματα διαλείποντος έργου, έχει γίνει σαφές ότι η διαλυμένη ή/και αιωρούμενη οργανική ύλη τείνει να ανταγωνιστεί με τους ιούς για τις περιοχές σύνδεσης στην εδαφολογική επιφάνεια και με αυτόν τον τρόπο να μειώσει τη προσρόφηση ιών (Gebra, 1984). Διαλυμένη αιωρούμενη οργανική ύλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε να διαχωρίσει τους πρόσφατα προσκολλημένους ιούς (Sobsey *et al.*, 1980). Κατά συνέπεια, η αποκόλληση των ιών μπορεί να αυξηθεί έντονα από τη διαλυμένη ή αιωρούμενη οργανική ύλη.

1.5.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ

Η μεταφορά των ιόν στο υπέδαφος έχει μελετηθεί έχει παρακολουθηθεί σε πολλές περιπτώσεις είτε υπό ελεγχόμενες, είτε μη-ελεγχόμενες συνθήκες πεδίου. Οι Keswick και Gerba (1980) μελέτησαν τις περιπτώσεις απομόνωσης ιών σε γεωτρήσεις πόσιμου νερού και στο υπέδαφος στις εγκαταστάσεις απόθεσης αποβλήτων και συμπέραναν ότι οι ιοί μπορούν να μεταφερθούν για τουλάχιστον 67 m κάθετα και 408 m οριζόντια στο υπέδαφος, ενώ συνεχίζουν να παραμένουν μολυσματικοί. Επίσης οι Goyal *et al.* (1984), απομονώσαν ιούς από γεωτρήσεις βάθους 27,5 m σε περιοχή όπου το έδαφος αποτελούνταν κυρίως από αργιλώδη λάσπη. Από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί βρέθηκε ότι οι ιοί επιβιώνουν για πάνω από 100 ημέρες στα υπόγεια νερά από όταν διαφύγει από τη σηπτική δεξαμενή και ότι μεταφέρεται με ρυθμό 4.45 m/day (Yates *et al.*, 1987).

Η μεταφορά των ιών στο υπέδαφος καθορίζεται από την προσρόφηση ή εκρόφηση τους στους εδαφικούς κόκκους και από το ρυθμό αδρανοποίησης τους. Η εκρόφηση των ιών επηρεάζεται άμεσα από τις υδρολογικές συνθήκες στο υπέδαφος. Επίσης από πειραματικές μελέτες οι τρεις κύριοι χημικοί παράγοντες οι οποίοι ευνοούν την προσκόλληση και έτσι καθυστερούν την μεταφορά των ιών είναι: α) το χαμηλό pH β) υψηλή ιοντική ισχύς και γ) υψηλός οργανικός άνθρακας στο έδαφος (Ferguson *et al.*, 2003). Οι ιοί, εξαρτώμενοι από την εδαφολογική ετερογένεια, μπορούν να μεταφερθούν γρηγορότερα από τη μέση ροή του νερού και να παρουσιάσουν μικρότερη διασπορά από μια διαλυτή ουσία, επειδή μπορούν να αποκλειστούν από τους μικρούς πόρους και, επομένως, να ακολουθήσουν κατά προτίμηση τις πιο διαπερατές διαδρομές (Bales *et al.*, 1991). Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ των βροχοπτώσεων και περιστατικών υδατογενών λοιμώξεων στις Η.Π.Α. (Ferguson *et al.*, 2003). Αυτό επιβεβαιώνει την άποψη ότι η ροή των νερών της βροχής είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την μικροβιολογική μεταφορά και συγκέντρωση στα υπόγεια νερά. Οι βροχοπτώσεις και η ένταση των βροχοπτώσεων είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην αποκόλληση των βακτηριοφάγων από τη σωματιδιακή ύλη και στη συνέχεια την κινητοποίηση τους στο υπέδαφος και στα υπόγεια νερά. Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει, με την χρήση τεχνητής βροχής την αποκόλληση και μεταφορά των μικροβιολογικών δεικτών από σηπτικές δεξαμενές (Ferguson *et al.*, 2003). Ο βαθμός έκπλυσης κατά την διάρκεια της βροχόπτωσης εξαρτιόταν από το είδος και το στέλεχος του ιού (Landry *et al.*, 1979).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

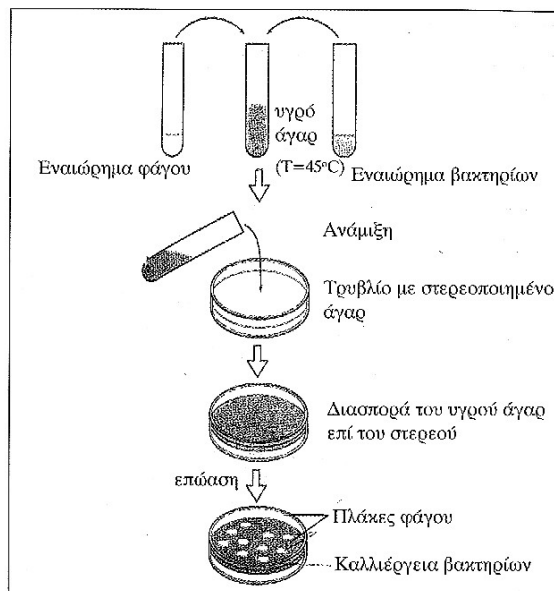
Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η μελέτη της συμπεριφοράς (αδρανοποίησης και προσρόφησης) ιών σε εδαφικό υλικό με τη χρήση δύο ιών – μοντέλων, των βακτηριοφάγων MS2 και φX174, και τριών άμμων, διαφορετικής κοκκομετρίας.

Οι βακτηριοφάγοι MS2 και φX174, επιλέχθηκαν με κριτήριο τη συμπεριφορά τους στο υπέδαφος. Ο MS2 έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε μελέτες αδρανοποίησης, προσρόφησης ιών και θεωρείται καλός ιός - μοντέλο επειδή συμπεριφέρεται πιο συντηρητικά (χαμηλότερη προσρόφηση) από πολλούς παθογόνους ιούς και βρίσκεται για σημαντικές χρονικές περιόδους στα υπόγεια νερά. Ο φX174 θεωρείται ο καλύτερος ιός - μοντέλο, λόγω του ότι παρουσιάζει την μικρότερη ηλεκτροστατική και υδροφοβική συσχέτιση. Ο MS2 είναι ένας F-specific coliphage μονόκλωνου RNA, με ποσοστό 31% περιεκτικότητας νουκλεϊκού οξέος, το οποίο περιβάλλεται από μια υδροφοβική πρωτεϊνική κάψα. Το μέγεθος του MS2 κυμαίνεται, με διάμετρο 24 με 27 nm. Για την ανάλυση του βακτηριοφάγου MS2, χρησιμοποιήθηκε ως βακτήριο-ξενιστής το *E. coli* (ATTC 15597-B1). Ο φX174, είναι ένας εικοσαεδρικός φάγος, μονόκλωνου DNA με ποσοστό 26% περιεκτικότητας νουκλεϊκού οξέος, το οποίο περιβάλλεται από μια υδροφιλική πρωτεϊνική κάψα. Το μέγεθος του φX174 κυμαίνεται, με διάμετρο 25 με 27 nm. Για την ανάλυση του βακτηριοφάγου φX174, χρησιμοποιήθηκε ως βακτήριο- ξενιστής το *E. coli* (ATTC 13706-B1). Η μικροβιολογική μέθοδος που εφαρμόστηκε για την ανίχνευση και καταμέτρηση των βακτηριοφάγων έγινε με τη μέθοδο της διπλής επίστρωσης σύμφωνα με τις οδηγίες της USEPA (2001). Κατά αυτήν τη μέθοδο, εναιώρημα φάγων αναμιγνύεται με εναιώρημα βακτηρίων-ξενιστών και γίνεται επίστρωση του μίγματος στην επιφάνεια του τρυβλίου που έχει θρεπτικό άγαρ.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αναλυτικά είναι η εξής:

1. Αρχικά, παρασκευάστηκε το εναιώρημα του βακτηρίου - ξενιστή, το οποίο αποτελείται από μια καθαρή καλλιέργεια του βακτηρίου - ξενιστή σε εκθετική φάση αύξησης. Οι καλλιέργειες των βακτηρίων – ξενιστών έγιναν σύμφωνα με τις σύνηθες μικροβιολογικές μεθόδους: σε ένα αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 10 mL θρεπτικού Tryptic Soy Broth (Biolife), 0,1 mL βακτηρίων-ξενιστών και 0,1 mL του αντίστοιχου αντιβιοτικού για το βακτήριο ξενιστή, ώστε να εμποδίσει την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων στην καλλιέργεια. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε έναν αναδευτήρα (τύπου

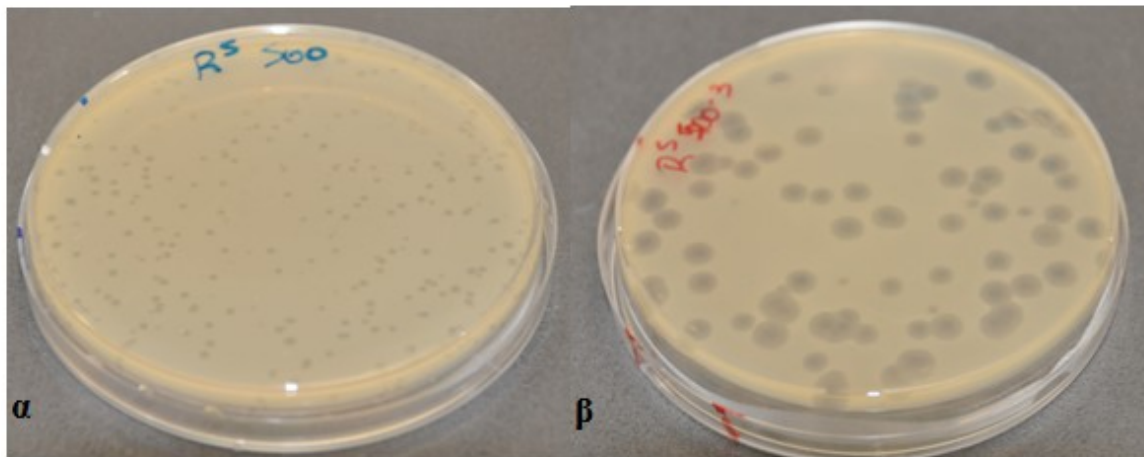
New Brunswick Scientific Co, Inc, Incubator Shaker Series, innova™ 43) στους 37 °C για 4 ώρες έως ότου οι αποικίες να ήταν ορατά θολές. Έπειτα από δοκιμές που έγιναν στις 4 ώρες ανάδευσης, στους 37°C, τα βακτήρια ήταν σε εκθετική φάση αύξησης.



Εικόνα 2.1: Μέθοδος διπλής επίστρωσης (Καραγκούνη, 2009).

2. Έπειτα παρασκευάζονται αραιώσεις για όποια δείγματα είναι αναγκαίο. Στην παρούσα εργασία οι αραιώσεις πραγματοποιούνταν σε Tryptic Soy Broth (Biolife).

3. Εκτελέστηκε η μέθοδος διπλής επίστρωσης με την προετοιμασία ενός μίγματος 0,5 mL βακτηρίων-ξενιστών, 4 mL του υγρού άγαρ - Molten (45 °C), και 0,5 mL δείγματος. Το μίγμα κουνήθηκε ήπια και χύθηκε σε τρυβλίο με στερεό θρεπτικό υλικό Tryptic Soy Agar (Biolife). Τα τρυβλία επώαστηκαν σε κλίβανο για 24 h, στους 37 °C. Κατά τη διάρκεια της επώασης του τρυβλίου τα βακτήρια αναπτύσσονται και δημιουργούν ένα συνεχές, λεπτό, αδιαφανές, επιφανειακό στρώμα πάνω στην επιφάνεια του θρεπτικού άγαρ, το οποίο είναι ορατό δια γυμνού οφθαλμού. Ο κάθε φάγος που βρίσκεται μέσα στην καλλιέργεια έχει την δυνατότητα να μολύνει με επιτυχία βακτηριακά κύτταρα. Καθένα από τα προσβληθέντα βακτήρια διαρρηγνύεται, μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, ελευθερώνοντας εκατοντάδες απογόνους του φάγου. Τα νέα σωματίδια του φάγου προσβάλλουν γειτονικά βακτήρια τα οποία επίσης λύνονται και κατ' αυτόν τον τρόπο δημιουργείται η πλάκα. Η διαφανή περιοχή καλείται “πλάκα” και προέρχεται από τη λυτική δράση ενός βακτηριοφάγου. Οι πλάκες συμπεριφέρονται όπως οι αποικίες, μπορεί να παρουσιάζουν διαφορές σε μέγεθος και στη γενική μορφολογία.



Εικόνα 2.2: Πλάκες βακτηριοφάγου α) MS2 και β) φX174.

4. Οι συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν με τον υπολογισμό του αριθμού πλακών από κάθε τρυβλίο σε pfu/mL (plaque-forming units per milliliter). Σύμφωνα με την μεθοδολογία της USEPA (2001), αποδεκτές τιμές πλακών ήταν μόνο τα τρυβλία των οποίων ο αριθμός των πλακών ήταν από 30 – 300. Τα τρυβλία έγιναν εις τριπλούν, και η συγκέντρωση υπολογίστηκε κατά μέσο όρο από τις πλάκες που βρέθηκαν σε κάθε τρυβλίο.

Η άμμος που χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν τριών διαφορετικών κοκκομετρικών διαστάσεων. Η άμμος ήταν: i) η λεπτόκοκκη, διαστάσεων 150 – 212 μm (κόσκινου No100) ii) η μεσόκοκκη, διαστάσεων 425 - 600 μm (κόσκινου No 40) και iii) η χονδρόκοκκη, διαστάσεων 1180 - 1700 μm (κόσκινου No 16). Οι κατηγορίες αυτές, λήφθηκαν έπειτα από κοσκίνισμα χαλαζιακής άμμου (από την εταιρία Filcom Filterzand and Grind) με χημική σύσταση: 96,2% SiO_2 , 0.15% Na_2O , 0.11% CaO , 0.02% MgO , 1.75% Al_2O_3 , 0.78% K_2O , 0.06% SO_3 , 0.46% Fe_2O_3 , 0.03% P_2O_5 , 0.02% BaO , και 0.01% Mn_3O_4 .

Η άμμος πριν από τη χρήση της σε κάθε πείραμα, δεχόταν μια επεξεργασία ώστε να απομακρυνθούν υπολείμματα τα οποία πιθανόν να επηρέαζαν την συμπεριφορά των ιών κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων. Η διαδικασία καθαρισμού της άμμου έγινε όπως περιγράφεται από τους Loveland *et al.* (1996):

1. Μετά από τον διαχωρισμό της άμμου, συλλέχθηκε η άμμος με το επιθυμητό μέγεθος και τοποθετήθηκε σε ένα ποτήρι ζέσεως 2L.

2. Έπειτα, ενυδατώθηκε με MilliQ-απιονισμένο νερό για αρκετές ημέρες για την αφαίρεση οποιωνδήποτε αλάτων και ξηράθηκε στο φούρνο για 24 ώρες στους 105 °C.

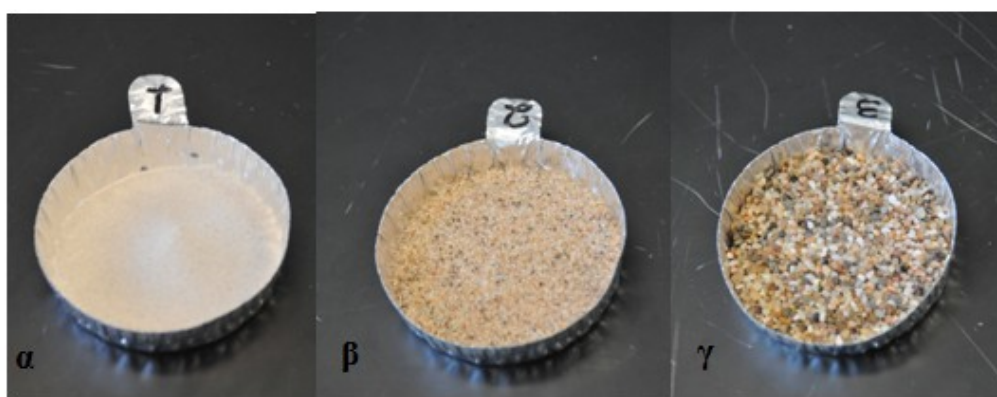
3. Στη συνέχεια, σε 800 mL διαλύματος 0,1M NaOH προστέθηκαν 300 gr άμμου και αναδεύτηκαν για 3 h.

4. Ξεπλύθηκε με MilliQ-απιονισμένο νερό αρκετές φορές, έως ότου φτάσει το pH της άμμου στο 7.

5. Επαναλήφθηκε η διαδικασία με διάλυμα 0,1 M HNO₃.

6. Στη συνέχεια έγινε ξήρανση της άμμου στους 105 °C και τοποθετήθηκε σε αποστειρωμένα δοχεία για τη μείωση της πιθανότητας μικροβιακής μόλυνσης.

7. Τέλος, πριν από κάθε πείραμα γινόταν ξηρή αποστείρωση της άμμου, ώστε να εξασφαλιστεί η μικροβιακή καθαρότητα της άμμου.



Εικόνα 2.3: α) Λεπτόκοκκη άμμος β) Μεσόκοκκη άμμος γ) Χονδρόκοκκη άμμος.

Το pH των πειραμάτων που διεξάχθηκαν, έγιναν με συγκεκριμένη τιμή pH, του οποίου γινόταν μέτρηση καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων και σε όλες τις δειγματοληψίες όσο το δυνατόν πιο γρήγορα μετά τη λήψη κάθε δείγματος προς αποφυγή αλλοιώσεως της παραμέτρου. Η μέτρηση γινόταν με τη χρήση ηλεκτρονικού πεχαμέτρου τύπου HANNA Instruments (Microprocessor pHmeter, pH211).

2.1 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ

Η αδρανοποίηση των ιών είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζει την τύχη των ιών στο υπέδαφος. Για τον προσδιορισμό του συντελεστή αδρανοποίησης πραγματοποιήθηκαν πειράματα ώστε να προσδιοριστεί κατά πόσο επιδρά στην αδρανοποίηση: i) ο τύπος του ιού, για να επιτευχθεί ο προσδιορισμός κατά πόσο επιδρά ο τύπος του ιού πραγματοποιήθηκαν πειράματα με δυο διαφορετικούς ιούς, τους βακτηριοφάγους MS2 και φX174. ii) Το μέγεθος των κόκκων του εδάφους. Ο προσδιορισμός έγινε κάνοντας πειράματα με λεπτόκοκκη (150 – 212 μm), μεσόκοκκη (425 - 600 μm) και χονδρόκοκκη (1180 - 1700 μm) άμμο. iii) Η θερμοκρασία προσδιορίστηκε πραγματοποιώντας πειράματα στους 4 °C και 20 °C, δεδομένου ότι στους 4 °C η αδρανοποίηση των ιών είναι μικρή λόγω της θερμοκρασίας, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. iv) Τέλος, η κινητικότητα των κόκκων άμμου, προσδιορίστηκε πραγματοποιώντας στατικά και δυναμικά πειράματα.

Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν ήταν με όλους τους πιθανούς συνδυασμούς των παραπάνω παραμέτρων (Πίνακας 2.1) κρατώντας σταθερή τη τιμή του pH στο 7 καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων, ώστε να μην προκαλείται αδρανοποίηση από τις μεταβολές του pH.

2.1.1 Πειραματικό μέρος

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την διεξαγωγή των πειραμάτων περιγράφεται παρακάτω.

1. Παρασκευάστηκε ένα χαμηλής ιοντικής ισχύος διάλυμα phosphate buffered solution (PBS) με 0,25 gr/L NaCl, 0.00145 gr/L KH_2PO_4 , 0.059 gr/L K_2HPO_4 με απιονισμένο νερό με μια συγκεκριμένη αγωγιμότητα 17,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ και προσαρμόστηκε σε ένα pH 7,5 με HCl, αν ήταν αυτό αναγκαίο. Η προκύπτουσα ειδική αγωγιμότητα του διαλύματος PBS προσαρμοσμένου pH ήταν περίπου 212 $\mu\text{S}/\text{cm}$ και αντιστοιχεί σε μια ιοντική ισχύ περίπου 2 mM.

2. Στη συνέχεια παρασκευάστηκε το διάλυμα του κάθε φάγου, αραιώνοντας τέτοια ποσότητα από το καθαρό απόθεμα φάγου σε αποστειρωμένο διάλυμα PBS, ώστε να προκύψουν συγκεντρώσεις από 10^3 έως 10^8 pfu/mL. Χρησιμοποιήθηκαν τουλάχιστον 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις για τα δυναμικά πειράματα και τουλάχιστον 5 για τα στατικά.

3. Σε κάθε πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 30 δοκιμαστικοί σωλήνες των 20 mL τύπου Pyrex glass screw-cap tubes (Fisher Scientific). Στους 15 προστέθηκαν 14 gr άμμου και 14 mL διαλύματος φάγου (με αναλογία άμμου και διαλύματος φάγου, 1:1), ενώ στους υπόλοιπους 15 δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκε μόνο το διάλυμα του φάγου και χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα αναφοράς (control). Πριν προστεθεί το διάλυμα του φάγου πραγματοποιήθηκε ξηρή αποστείρωση των δοκιμαστικών σωλήνων στους 150 °C για 2 h. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες προσθέτοντας το διάλυμα του φάγου γέμισαν πλήρως ώστε να αποφευχθεί ο εγκλωβισμός αέρα που μπορεί να προκαλέσει πρόσθετη αδρανοποίηση και στη συνέχεια περιστράφηκαν από το ένα άκρο στα άλλο, για να επιτραπεί στην άμμο να αναμιχθεί με το διάλυμα PBS που περιείχε τους βακτηριοφάγους.

Πίνακας 2.1: Πειράματα που διεξάχθηκαν για τη μελέτη αδρανοποίησης και προσρόφησης ιών σε εδαφικό υλικό.

ΦΑΓΟΣ		pH	ΘΕΡΜΟΚΡ	ΑΜΜΟΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΑΓΟΥ	ΑΜΜΟΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΑΓΟΥ	ΑΜΜΟΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΑΓΟΥ
MS2	ΣΤΑΤΙΚΑ	7	4 °C	No100 (212-150µm)	2.5x10 ³	No40 (600-425µm)	8.7x10 ³	No16 (1700-1180µm)	0.9x10 ³
					1.2x10 ⁴		1.2x10 ⁴		3.4x10 ³
					1.8x10 ⁵		1.9x10 ⁵		1.0x10 ⁵
	1.6x10 ⁶	1.1x10 ⁶	1.2x10 ⁶						
	2.7x10 ⁶	2.1x10 ⁷	1.2x10 ⁷						
	2.1x10 ³	3.7x10 ⁴	0.2x10 ³						
7	20 °C	1.3x10 ⁴	3.9x10 ⁴	4.2x10 ³					
		1.8x10 ⁵	1.9x10 ⁵	6.8x10 ⁴					
		2.5x10 ⁶	3.0x10 ⁵	6.6x10 ⁵					
ΔΥΝΑΜΙΚΑ	7	4 °C	No100 (212-150µm)	5.3x10 ⁴	No40 (600-425µm)	8.9x10 ³	No16 (1700-1180µm)	8.5x10 ⁴	
				6.4x10 ⁵		1.1x10 ⁵		5.8x10 ⁵	
				5.9x10 ⁶		1.6x10 ⁶		6.6x10 ⁶	
1.06x10 ⁵	4.2x10 ³	2.0x10 ⁴							
1.4x10 ⁶	5.7x10 ⁴	1.7x10 ⁵							
2.3x10 ⁷	9.2x10 ⁴	2.0x10 ⁶							
φX174	ΔΥΝΑΜΙΚΑ	7	4 °C	No100 (212-150µm)	5.6x10 ³	No40 (600-425µm)	4.5x10 ³	No16 (1700-1180µm)	1.7x10 ³
					6.5x10 ⁴		6.9x10 ⁴		2.5x10 ⁴
					5.0x10 ⁵		5.9x10 ⁵		1.5x10 ⁵
	9.0x10 ⁶	3.6x10 ⁷	2.0x10 ⁶						
	1.5x10 ⁸	7.1x10 ⁷	2.0x10 ⁷						
	3.3x10 ³	7.5x10 ³	1.7x10 ³						
ΣΤΑΤΙΚΑ	7	4 °C	No100 (212-150µm)	3.4x10 ⁴	No40 (600-425µm)	5.5x10 ⁴	No16 (1700-1180µm)	2.5x10 ⁴	
				3.4x10 ⁵		9.0x10 ⁴		1.5x10 ⁵	
				5.0x10 ⁶		5.5x10 ⁴		2.0x10 ⁶	
1.5x10 ⁸	6.3x10 ⁵	2.0x10 ⁷							
3.3x10 ³	7.5x10 ³	1.7x10 ³							
7	20 °C	3.4x10 ⁴		5.5x10 ⁴		2.5x10 ⁴			
		3.4x10 ⁵	9.0x10 ⁴	1.5x10 ⁵					
		5.0x10 ⁶	5.5x10 ⁴	2.0x10 ⁶					
1.5x10 ⁸	6.3x10 ⁵	2.0x10 ⁷							

4. Στη συνέχεια επωάστηκαν στους 4 °C και 20 °C για τα στατικά πειράματα και στους 4 °C για τα δυναμικά πειράματα, σε σκοτεινές συνθήκες ώστε να αποφευχθεί η πρόσθετη αδρανοποίηση από την ηλιακή ακτινοβολία. Τα στατικά παρέμειναν ακούνητα καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων, ενώ τα δυναμικά περιστρέφονταν καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων με τη χρήση ενός αναδευτήρα τύπου Selecta, Agitador orbit, cod. 3002512. .

5. Η διάρκεια των πειραμάτων ήταν 75 ημέρες. Οι λήψεις δειγμάτων έγιναν στις 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 30, 45, 60, 75 ημέρες. Το δείγμα μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένα erpendolf των 2 mL, και φυγοκεντρήθηκε για 15 min στα 2000g (6000 rpm) σε φυγόκεντρο μοντέλου Cole Palmer mini microcentrifuge.

6. Έπειτα πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός και η καταμέτρηση των βακτηριοφάγων με τη μέθοδο της διπλής επίστρωσης. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα δείγματα αναφοράς.

2.1.2 Θεωρητικό μέρος

Οι Sim and Chrysikopoulos (1996) και Chrysikopoulos and Vogler (2004) έχουν δείξει ότι τα πειραματικά δεδομένα από τις πολυάριθμες μελέτες διαλείποντος έργου αδρανοποίησης μπορούν να περιγραφούν από μια έκφραση ψευδο-πρώτης-τάξης με έναν χρονικά εξαρτημένο συντελεστή ρυθμού αδρανοποίησης ως εξής:

$$\frac{dC(t)}{dt} = -\lambda(t)C(t) \quad (2.1)$$

όπου το C είναι η συγκέντρωση των αιωρούμενων ιών στην υγρή φάση, t είναι ο χρόνος, και λ είναι ο χρονικά εξαρτημένος συντελεστής ρυθμού αδρανοποίησης των αιωρούμενων ιών που δίνεται από:

$$\lambda(t) = \lambda_0 e^{-\alpha t} \quad (2.2)$$

Όπου λ_0 είναι ο αρχικός συντελεστής ρυθμού αδρανοποίησης, και το α είναι ο συντελεστής ανθεκτικότητας.

Αντικαθιστώντας την εξίσωση (2.2) στην (2.1) και λύνοντας την προκύπτουσα έκφραση λαμβάνοντας υπόψη την αρχική συνθήκη $C(0)=C_0$, όπου C_0 είναι η αρχική συγκέντρωση ιών, παίρνουμε:

$$\ln \left[\frac{C(t)}{C_0} \right] = \frac{\lambda_0}{\alpha} [\exp(-\alpha t) - 1] \quad (2.3)$$

Για την περιοριστική περίπτωση όπου ο συντελεστής ρυθμού αδρανοποίησης θεωρείται σταθερά ($\lambda(t)=\lambda$), η προηγούμενη εξίσωση καταλήγει στη μορφή:

$$\left[\frac{Ct}{Co}\right] = -\lambda t \quad (2.4)$$

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι παράμετροι λ_0 και a μπορούν να ληφθούν με εγκατάσταση στην εξίσωση (2.3), και με εγκατάσταση στην εξίσωση (2.4), των συλλεχθέντων δεδομένων από τα στατικά ή δυναμικά διαλείποντος έργου πειράματα αδρανοποίησης ιών.

2.2 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ

Η προσρόφηση των ιών, όπως και η αδρανοποίηση είναι από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζει την τύχη των ιών στο υπέδαφος. Για τον προσδιορισμό της προσρόφησης πραγματοποιήθηκαν πειράματα ώστε να προσδιοριστεί το ποσοστό προσρόφησης των βακτηριοφάγων MS2 και φX174. Μελέτες έχουν δείξει ότι η προσρόφηση επηρεάζεται από τη σύσταση του εδαφικού υλικού, τη θερμοκρασία, το pH, την ιοντική ισχύς, και της οργανικής ουσίας. Στη παρούσα εργασία γίνεται προσδιορισμός της προσρόφησης των ιών πραγματοποιώντας πειράματα κάτω από ελεγχόμενες και σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες

Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν (Πίνακας 2.1), ήταν ίδια με αυτά που έγιναν για τον προσδιορισμό της αδρανοποίησης, έτσι ώστε σε περίπτωση μείωσης της συγκέντρωσης των ιών η οποία οφείλεται σε αδρανοποίηση τους να μην λαμβάνεται ως προσροφημένη ποσότητα.

2.2.1 Πειραματικό μέρος

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την διεξαγωγή των πειραμάτων είναι η ίδια διαδικασία με αυτή που ακολουθήθηκε για τα πειράματα αδρανοποίησης, με την διαφορά ότι η διάρκεια τους ήταν μικρότερη, η οποία ήταν όταν θεωρούσαμε ότι το σύστημα είχε επέλθει σε ισορροπία.



Εικόνα 2.4: Πείραμα λεπτόκοκκης άμμου σε α) στατική και β) δυναμική κατάσταση.

2.2.2 Θεωρητικό μέρος

Οι Thompson et al. (1998) έχουν δείξει έπειτα από πολυάριθμες μελέτες διαλείποντος έργου προσρόφησης ότι η συγκέντρωση των προσροφημένων στη στερεά φάση ιών, C_s , δίνεται από τη σχέση:

$$C_s = [(C_i - C_L)/M] \quad (2.5)$$

όπου C_i είναι η συγκέντρωση των ιών στα δείγματα αναφοράς, στην υγρή φάση (pfu/mL), C_L είναι η συγκέντρωση των ιών στο υπερκείμενο υγρό των δειγμάτων με άμμο (pfu/mL), και M είναι η ολική ποσότητα του εδαφικού υλικού προς τον όγκο του διαλύματος φάγου που προστέθηκε (gr/mL), όπου για τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν το M ισούται με 1 gr/mL. Στις περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση των φάγων στα δείγματα αναφοράς ήταν μικρότερη από τη συγκέντρωση των φάγων στο υπερκείμενο υγρό των δειγμάτων με άμμο, η προσροφημένη συγκέντρωση δεν ήταν δυνατόν να προσδιοριστεί λόγω αρνητικής συγκεντρώσεως, αυτές οι τιμές δεν λήφθηκαν υπόψη.

Η συγκέντρωση των προσροφημένων στη στερεά φάση ιών όταν το σύστημα βρίσκεται σε κατάσταση ισορροπίας συμβολίζεται ως C^* , η οποία υπολογίζεται σε μονάδες [M/M, μάζα ουσίας προς μάζα προσροφητή], και εξαρτάται άμεσα από τη συγκέντρωση του ίου στην υδατική φάση, C η οποία υπολογίζεται σε μονάδες [M/L³].

Το μαθηματικό μοντέλο που κρίθηκε κατάλληλο για την εφαρμογή των πειραμάτων προσρόφησης που διεξάχθηκαν ήταν η ισοθερμική προσρόφηση τύπου Freundlich, η οποία είναι μια μη-γραμμική σχέση μεταξύ C και C^* η οποία εκφράζεται ως εξής:

$$C^* = K_f C^m \quad (2.6)$$

όπου K_f είναι μια σταθερά και m είναι ο εκθέτης της σχέσης ισοθερμικής προσρόφησης τύπου Freundlich. Η προσρόφηση τύπου Freundlich αντιπροσωπεύει την περίπτωση προσρόφησης όπου πολλαπλά μοριακά στρώματα μπορούν να δημιουργηθούν στα στερεά (πολυστρωματική). Παίρνοντας τους λογάριθμους των δύο σκελών της παραπάνω σχέσης προκύπτει:

$$\log C^* = \log K_f + m \cdot \log C \quad (2.7)$$

Η γραφική παράσταση του $\log C^*$ συναρτήσει του $\log C$ δίνει μια ευθεία γραμμή. Η κλίση της γραμμής δίνει τον εκθέτη m και η τομή της γραμμής με τον άξονα y δίνει την τιμή του $\log K_f$.

2.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ

Η μεταφορά των ιών στο υπέδαφος καθορίζεται από την προσρόφηση ή εκρόφηση τους στους εδαφικούς κόκκους και από το ρυθμό αδρανοποίησης τους. Η εκρόφηση των ιών επηρεάζεται άμεσα από τις υδρολογικές συνθήκες στο υπέδαφος. Οι τρεις αυτές διεργασίες (αδρανοποίηση, προσρόφηση/εκρόφηση, και μεταφορά) είναι άμεσα συνδεδεμένες μεταξύ τους. Γι' αυτό το λόγο πραγματοποιήθηκαν πειράματα (Πίνακας 2.2) στο ίδιο εδαφικό υλικό και τους ίδιους ιούς – μοντέλα που έγιναν και τα πειράματα αδρανοποίησης και προσρόφησης.

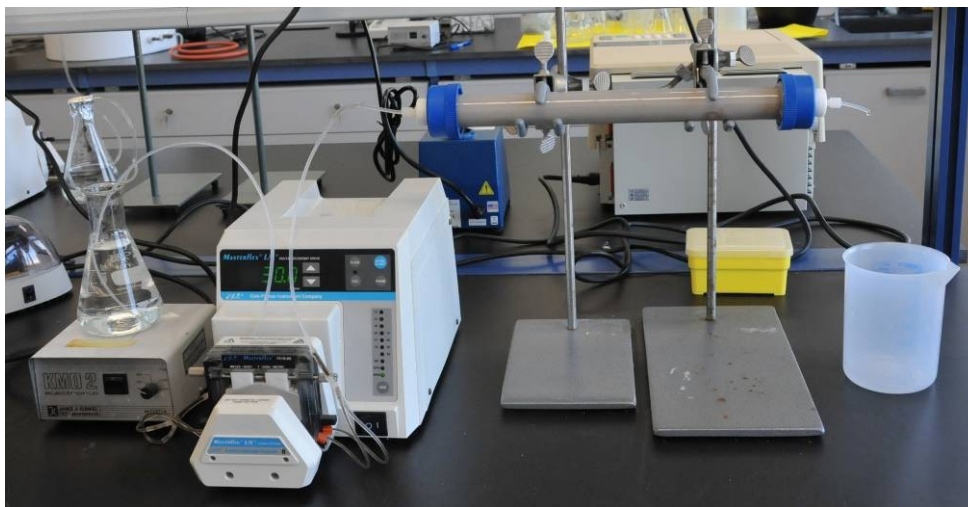
Πίνακας 2.2: Πειράματα μεταφοράς

ΑΜΜΟΣ		pH	Ταχύτητα	Θερμοκρασία
No16 (1700-1180 μ m)	MS2	7	2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	20-25 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
	φX174		2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	20-25 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
	E.coli		2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	20-25 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
No40 (600-425 μ m)	MS2	7	2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	10-15 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
	φX174		2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	10-15 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
	E.coli		2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	10-15 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
No100 (212-150 μ m)	MS2	7	2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	10-15 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
	φX174		2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	10-15 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C
	E.coli		2.5 mL/min	20-25 °C
			1.5 mL/min	10-15 °C
			0.8 mL/min	10-15 °C

Τα πειράματα μεταφοράς σε στήλες πραγματοποιήθηκαν υπό κορεσμένες συνθήκες με τρεις διαφορετικούς ρυθμούς ροής (2.5, 1.5 και 0.8 mL/min). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τα πειράματα μεταφοράς περιγράφεται παρακάτω.

1. Αρχικά παρασκευάστηκαν τα διαλύματα των φάγων καθώς και το βακτηρίου *E.*

coli (ATTC 13706-B1), όπως παρασκευάστηκαν και για τα πειράματα αδρανοποίησης και προσρόφησης.



Εικόνα 2.5: Διάταξη πειραμάτων μεταφοράς με λεπτόκοκκη άμμο.

2. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η πλήρωση της στήλης με καθαρή και αποστειρωμένη άμμο. Για κάθε πείραμα, η άμμος τοποθετούταν σε γυάλινη στήλη (μήκους 30 cm και διαμέτρου 2.5 cm) με δονήσεις, ώστε να μην εγκλωβίζεται αέρας κατά την διάρκεια της πλήρωσης. Το πορώδες και το φαινόμενο ειδικό βάρος κάθε στήλης προσδιορίστηκαν με τη διαφορά βάρους πριν και μετά από τον πλήρη κορεσμό της στήλης με αποστειρωμένο διάλυμα PBS.

3. Οι αρχικές συγκεντρώσεις των βακτηριοφάγων μετρήθηκαν από τα δείγματα που συλλέχθηκαν πριν η ροή του διαλύματος στη στήλη. Τα δείγματα εκροής συλλέχθηκαν από την έξοδο της στήλης.

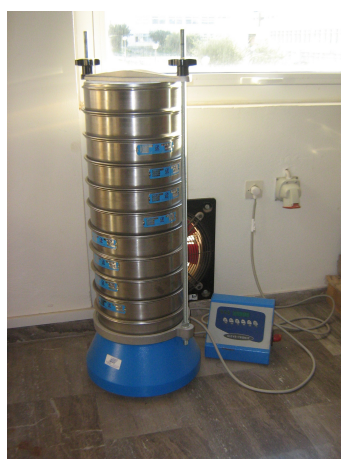
4. Οι συγκεντρώσεις κάθε βακτηριοφάγου στην εκροή μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο διπλής επίστρωσης (USEPA, 2001).

2.4 ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων μελέτης της αδρανοποίησης, προσρόφησης και μεταφοράς ιόν σε εδαφικό υλικό, πραγματοποιήθηκαν κάποιες αναγκαίες επιπλέον αναλύσεις, όσον αφορά το χρησιμοποιηθέντα εδαφικό υλικό και τους ιούς – μοντέλα, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά παρακάτω.

2.4.1 Κοκκομετρική Ανάλυση Άμμου

Η κοκκομετρική ανάλυση θεωρείται διεθνώς η καταλληλότερη εργαστηριακή δοκιμή για την μηχανική κατάταξη των εδαφών. Οι πληροφορίες που παίρνουμε από την κοκκομετρική ανάλυση μπορούν να μας διευκολύνουν στο να προβλέψουμε την συμπεριφορά εδαφών, όσον αφορά την αντοχή και παραμόρφωση, και την κίνηση του υπόγειου νερού (διήθηση). Η σωστή ταξινόμηση των εδαφών μας βοηθά στην επιλογή των κατάλληλων υλικών για φίλτρα προστασίας και συγκράτησης γύρω από τεχνητές και φυσικές αποστραγγίσεις. Στην πραγματικότητα δεν είναι δυνατόν να προσδιορίσουμε το κάθε ένα διαφορετικό κοκκομετρικό μέγεθος αλλά το εύρος των διαφόρων μεγεθών που συμμετέχουν στο δείγμα. Αυτό ολοκληρώνεται με το να πάρουμε την ποσότητα του υλικού που διέρχεται μέσα από ένα κόσκινο συγκεκριμένου ανοίγματος και συγκρατείται στο αμέσως μικρότερου ανοίγματος κόσκινο της σειράς. Στη συνέχεια συσχετίζουμε την ποσότητα αυτή με το συνολικό δείγμα.



Εικόνα 2.6 : Διάταξη κοκκομετρικής δοκιμής τύπου Impact, Electromagnetic Sieve, Shakers.

Τα κόσκινα είναι κατασκευασμένα από πεπλεγμένο σύρμα, τετραγωνικών ανοιγμάτων των οποίων το μέγεθος κυμαίνεται από 101.6 mm, το οποίο κατακρατεί τα

πλέον χονδρόκοκκα υλικά έως και 0.075 mm (τυποποιημένο φίλτρο No200), το οποίο είναι το φίλτρο με τις μικρότερες διαστάσεις και διαχωρίζει τα ιλυώδη- αργιλώδη υλικά από τα αμμώδη - χαλικώδη και έχει ουσιαστική σημασία στην ταξινόμηση του εδάφους. Συχνά είναι απαραίτητη η γνώση της κοκκομετρικής κατανομής του υλικού που διέρχεται το φίλτρο No200 (ειδικά όταν το διερχόμενο ξεπερνάει το 12% του συνολικού δείγματος). Σε αυτήν την περίπτωση εφαρμόζεται η υδραυλική δοκιμή (η οποία δεν βασίζεται στον μηχανικό διαχωρισμό αλλά στην ανάλυση με πυκνόμετρο και αραιόμετρο - μέθοδος Stokes). Συχνά οι κόκκοι είναι κατά τέτοιο τρόπο προσανατολισμένοι ώστε παρόλο που το άνοιγμα του κόσκινου είναι μεγαλύτερο, δεν μπορούν να διέλθουν μέσα από αυτό και έτσι παραμένουν στο μεγαλύτερου μεγέθους κλάσμα. Αυτό μπορεί να αποφευχθεί με κατάλληλη διάταξη δόνησης.

Τα αποτελέσματα της κοκκομετρικής δοκιμής παρουσιάζονται με την **μορφή καμπύλης**. Για να έχουμε καλύτερη εποπτεία της κατανομής και δυνατότητα σύγκρισης των διαφόρων εδαφών, χρησιμοποιείται η λογαριθμική κλίμακα, καθώς η λεπτόκοκκη μάζα έχει κλάσματα της τάξης των 2.00 mm (και μεγαλύτερα) έως και 0.075 mm (No200) και έτσι απαιτείται μεγάλη κλίμακα για να αποδοθούν όλα τα μεγέθη με την ίδια ακρίβεια. Η συνήθης πρακτική είναι η απεικόνιση του διερχόμενου ποσοστού στον κατακόρυφο άξονα και της διαμέτρου στον οριζόντιο. Επιπλέον, τα μεγέθη των κόκκων αυξάνονται από αριστερά προς τα δεξιά. Είναι προφανές πως η κατανομή της κοκκομετρικής καμπύλης είναι προσεγγιστική. Αυτό οφείλεται στις αντικειμενικές δυσκολίες στο να συλλέξουμε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα, επιπλέον, στο γεγονός της παρουσίας συσσωματώσεων κόκκων, στην ανομοιομορφία στο σχήμα των κόκκων και στον προσανατολισμό τους και τέλος στο γεγονός πως το πρόβλημα πρέπει να αντιμετωπιστεί με ένα περιορισμένο αριθμό κόσκινων. Η ακρίβεια της ανάλυσης θα μπορούσε να αμφισβητηθεί κυρίως για τα δείγματα με μεγάλο ποσοστό λεπτόκοκκου υλικού. Η συνήθης πρακτική είναι η διαδικασία της ξήρανσης σε φούρνο, η οποία ελάχιστα επηρεάζει τελικά τα αποτελέσματα της ανάλυσης. Η ορθότητα των αποτελεσμάτων εξαρτάται από το αν το δείγμα είναι αντιπροσωπευτικό και από το αν το δείγμα περιέχει συσσωματώματα κόκκων και όχι τα πιο στοιχειώδη κομμάτια. Η καμπύλη που παίρνουμε από την παραπάνω διαδικασία είναι ικανοποιητική για να προβλέψουμε τη συμπεριφορά μη συνεκτικών εδαφών, για την εύρεση του σχετικού ποσοστού κόκκων που περνά από το κόσκινο No200 καθώς και για την ταξινόμηση των εδαφών. Μία σειρά κόσκινων αποτελείται εν γένει από 6-7 κόσκινα με άνοιγμα το οποίο διπλασιάζεται από το κατώτερο στο ανώτερα (6, 12, 24 mm) ώστε να

απεικονίζονται στο λογαριθμικό διάγραμμα σε ίσες αποστάσεις. Για απλοποίηση της διαδικασίας, επιτρέπεται κάποια από τα κόσκινα να παραληφθούν. Κάτι τέτοιο είναι αποδεκτό αφού η αυστηρή ακολουθία διπλασιασμού του μεγέθους δεν επηρεάζει την καμπύλη κατανομής και εξακολουθεί να διασφαλίζεται η στατιστική αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Η γενικότερη έκφραση της διαβάθμισης των εδαφών εκφράζεται με δύο όρους με το **ενεργό μέγεθος** και το **συντελεστή ομοιομορφίας**. Το ενεργό μέγεθος των κόκκων (d_{10}) ορίζεται ως η μέγιστη διάμετρος από την οποία διέρχεται το 10% κατά βάρος εδαφικών κόκκων και συνδέεται με την ευκολία που περνάει το νερό από το έδαφος. Το d αναφέρεται στο μέγεθος του κόκκου, τη φαινομενική μέση διάμετρο των κόκκων του εδάφους και ο δείκτης 10 δηλώνει το ποσοστό που είναι μικρότερο. Μία ένδειξη για το εύρος του μεγέθους των κόκκων μας δίνεται από τον συντελεστή ομοιομορφίας, που είναι ο λόγος που λαμβάνεται με την διαίρεση της μέγιστης διαμέτρου του 60% διερχόμενου κατά βάρος εδαφικών κόκκων προς το ενεργό μέγεθος και δίνεται από την παρακάτω σχέση (Hazen):

$$C_u = d_{60} / d_{10} \quad (2.8)$$

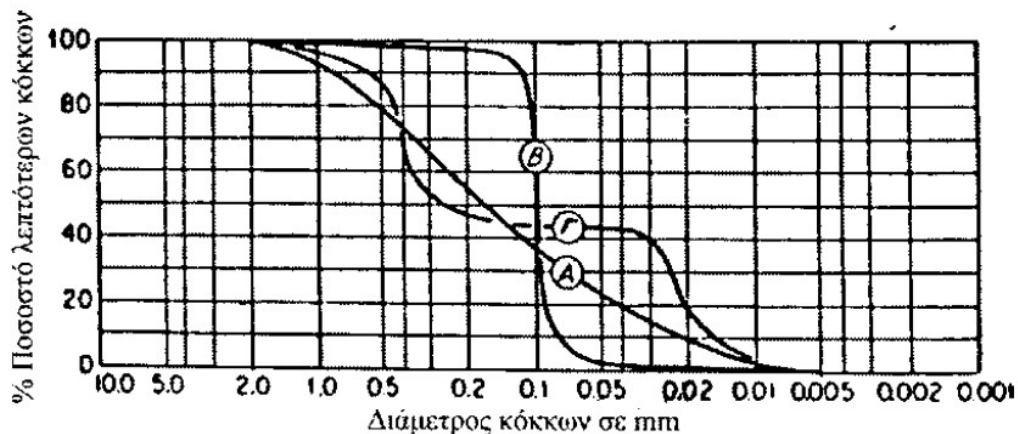
Μεγάλη τιμή του συντελεστή C_u δηλώνει ότι τα d_{10} και d_{60} διαφέρουν αισθητά. Δεν μας δίνει πληροφορίες για τυχόν χάσματα στη διαβάθμιση όπως όταν απουσιάζει ή υπάρχει σε μικρές ποσότητες το ποσοστό ενός μεγέθους. Μεγάλη τιμή του συντελεστή ομοιομορφίας δείχνει ότι τα μεγέθη των κόκκων είναι καλά κατανομημένα από τους μικρότερους κόκκους προς τους μεγαλύτερους κόκκους και δίνει μία γενική εικόνα του μεγίστου μεγέθους κόκκων. Το έδαφος με συντελεστή ομοιομορφίας 1 αποτελείται από κόκκους της ίδιας διαμέτρου ενώ όταν ο συντελεστής ομοιομορφίας παίρνει την τιμή 300 το έδαφος δείχνει καλή διαβάθμιση και έχει μέγιστο μέγεθος κόκκων 25.4 mm. Εδάφη που έχουν τιμές C_u μικρότερους 4 ή 5 καλούνται ομοιόμορφα και αυτά με τιμές C_u μεγαλύτερες του 10 καλούνται καλώς διαβαθμισμένα. Μικρή τιμή του ενεργού μεγέθους δείχνει ότι το έδαφος περιέχει σημαντικό ποσοστό λεπτών κόκκων. Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά ASTM D 1140-71, αν το ποσοστό που διέρχεται από το φίλτρο No200 είναι άνω του 12%, δεν μπορεί να προσδιοριστεί το d_{10} , κατά συνέπεια ούτε τα C_u και C_c . Σε αυτήν την περίπτωση, η ταξινόμηση δεν λαμβάνει υπόψη τα παραπάνω μεγέθη. Για Διερχόμενο του No200 μεταξύ 10 και 12 % και αν δεν υπάρχουν αποτελέσματα υδραυλικής δοκιμής με αραιόμετρο. (δοκιμή η οποία συνιστάται για διερχόμενο του No200 άνω του 5%), ως d_{10}

θα λαμβάνεται η διάσταση του Νο200 (0.075 mm).

Ο *συντελεστής καμπυλότητας* (C_c) είναι ένα μέτρο του σχήματος της καμπύλης ανάμεσα στα χαρακτηριστικά μεγέθη d_{10} , d_{30} και d_{60} και δίνεται από τον τύπο:

$$C_c = d_{30}^2 / (d_{10} d_{60}) \quad (2.9)$$

Τιμές του C_c διάφορες του 1, υποδηλώνουν ότι λείπουν κάποια μεγέθη κόκκων ανάμεσα σε αυτά τα όρια. Καμπύλη με ισχυρή κλίση δείχνει ότι οι κόκκοι του εδάφους είναι περίπου του ίδιου μεγέθους και άρα αυτό χαρακτηρίζεται ως ομοιόμορφο. Καμπύλη ομαλής κλίσης δείχνει ευρεία σειρά μεγέθους των κόκκων και το έδαφος χαρακτηρίζεται σαν καλά διαβαθμισμένο. Όταν η καμπύλη παρουσιάζει τμήματα διαφορετικής καμπυλότητας, το έδαφος χαρακτηρίζεται ως μίγμα δύο ή περισσότερων ομοιόμορφων υλικών.



Γράφημα 2.1: Κοκκομετρική ανάλυση με Α) ομαλή κλίση Β) ισχυρή κλίση και Γ) τμήματα διαφορετικής καμπυλότητας (Πηγή: Σακελλαρίου και Κοζάνης, 2003).

Χρησιμοποιώντας 3 μόνο χαρακτηριστικά κόσκινα μπορεί να γίνει μία αρχική κατάταξη του δείγματος σε χαλίκια, άμμο ή ιλύς-άργιλο ως εξής:

- ✓ Το υλικό που συγκρατείται από το φίλτρο Νο4 (47.5 mm) είναι τα χαλίκια.
- ✓ Το υλικό που συγκρατείται μεταξύ των φίλτρων Νο4 (47.5 mm) και Νο200 είναι η άμμος.
- ✓ Το υλικό που διέρχεται του φίλτρου Νο200 είναι ιλύς-άργιλος.

Εφόσον το υλικό που διέρχεται του φίλτρου Νο200 είναι μικρότερο από 50% και το ποσοστιαίο υλικό των χαλικιών είναι μεγαλύτερο από το ποσοστιαίο υλικό της άμμου, τότε έχουμε Χαλίκια. Στην αντίθετη περίπτωση (ποσοστό άμμου > ποσοστό χαλικιών) έχουμε Άμμο. Ανάλογα με τις προσμίξεις του υλικού μπορούμε να μιλάμε π.χ. για Ιλυώδης άμμος

ή άμμος με άργιλο ή χαλίκια με ιλύς και άμμο κλπ .

Επιπλέον μέσω των μεγεθών της κοκκομετρικής καμπύλης Cu και Cc, μπορούμε να χαρακτηρίζουμε το υλικό σαν καλής ή κακής διαβάθμισης.

Η ταξινόμηση των εδαφών κατά ASTM είναι μία ολοκληρωμένη μεθοδολογία ταξινόμησης των εδαφικών υλικών και στηρίζεται σε εργαστηριακές δοκιμές. Βασίζεται στην χρήση πινάκων κατάταξης όπου ο μελετητής προσπαθεί να ταυτοποιήσει τις ιδιότητες του υλικού με κάποια κατηγορία. Οι απαραίτητες δοκιμές για την ταξινόμηση είναι οι παρακάτω:

- ✓ Κοκκομετρική δοκιμή. Χρησιμοποιείται η βασική σειρά των κόσκινων ώστε να μπορούν να διαχωριστούν τα ποσοστά χαλικιών, άμμου και λεπτόκοκκων καθώς και προσδιορισμός με σχετική ακρίβεια των μεγεθών της κοκκομετρικής καμπύλης (C_c, C_u).
- ✓ Προσδιορισμός των ορίων Atterberg του λεπτόκοκκου κλάσματος (διερχόμενου του No40).
- ✓ Προσδιορισμός του ποσοστού των οργανικών με χημικές μεθόδους.
- ✓ Στην περίπτωση οργανικών, προσδιορισμός του λόγου LLαποξηρ. σε φούρνο/LLμη αποξηραμένο. Εάν αυτός ο λόγος είναι μικρότερος από 0.75 θα γίνεται ταξινόμηση οργανικών υλικών αν όχι θα ακολουθείται η συνήθης ταξινόμηση για μη οργανικά.

Η διαδικασία μου ακολουθήθηκε για την κοκκομετρική ανάλυση της κάθε άμμου ήταν σύμφωνα με τις οδηγίες του ΦΕΚ 955-B/31-12-1988 περί «προδιαγραφές εργαστηριακών δοκιμών εδαφομηχανικής» καθώς και κατά ASTM D 1140-71, η οποία περιγράφεται παρακάτω αναλυτικά.

1. Επιλέχθηκαν 1000 gr δείγματος άμμου το οποίο είχε πλυθεί και ξηραθεί στους 110 °C, για όσες μέρες χρειάστηκε έως ότου να μην παρατηρείται πλέον μεταβολή βάρους σε σχέση με το βάρος της προηγούμενης ημέρας. Το δείγμα ήταν τέτοιο ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό. Αν το δείγμα περιέχει και χαλίκια μπορεί να αποφευχθεί το πλύσιμο του δείγματος.

2. Στη συνέχεια έγινε κονιοποίηση του δείγματος επιλέγοντας (σύμφωνα με τη βιβλιογραφία) τα κοσκίνα που αντιστοιχούν σε αμμώδη υλικά. Περάστηκε το δείγμα μέσα από μία σειρά κόσκινων ξεκινώντας από πάνω με το μεγαλύτερο της σειράς και τελειώνοντας προς τα κάτω με το μικρότερο. Τοποθετούμε την σειρά των κόσκινων με την άμμο σε ένα ηλεκτρομαγνητικό δονητή τύπου Impact, Electromagnetic Sieve, Shakers για

15 min (ο χρόνος αυτός κρίθηκε ικανοποιητικός για τον διαχωρισμό της άμμου έπειτα από δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν).

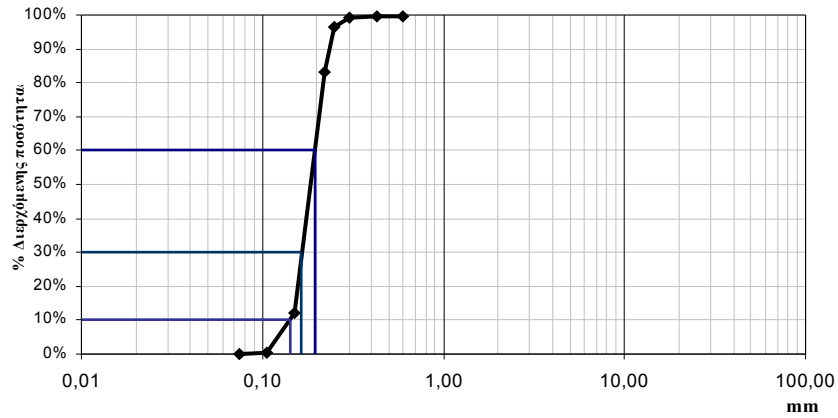
3. Τα κόσκινα ζυγίστηκαν πριν και μετά την κονιοποίηση έτσι ώστε με την διαφορά βάρους να υπολογιστεί η ποσότητα της άμμου που συλλέχθηκε σε κάθε κόσκινο. Υπολογίστηκε το ποσοστό συγκρατούμενου σε κάθε κόσκινο διαιρώντας το βάρος του συγκρατούμενου με το αρχικό συνολικό βάρος του δείγματος, πριν λάβει χώρα η διαδικασία του κοσκινίσματος. Υπολογίστηκε το ποσοστό του διερχόμενου ξεκινώντας από το 100% και αφαιρώντας σταδιακά το ποσοστό του συγκρατούμενου σε κάθε κόσκινο.

4. Σχεδιάστηκε η καμπύλη σε ένα ημιλογαριθμικό χαρτί όπου στον οριζόντιο (λογαριθμικό) άξονα τοποθετείται το μέγεθος των κόκκων και στον κατακόρυφο το ποσοστό των διερχομένων. Αν το ποσοστό των διερχομένων από το κόσκινο Νο200 είναι μεγαλύτερο από 12% συνιστάται η διενέργεια της υδραυλικής δοκιμής.

5. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε και για τις τρεις άμμους.

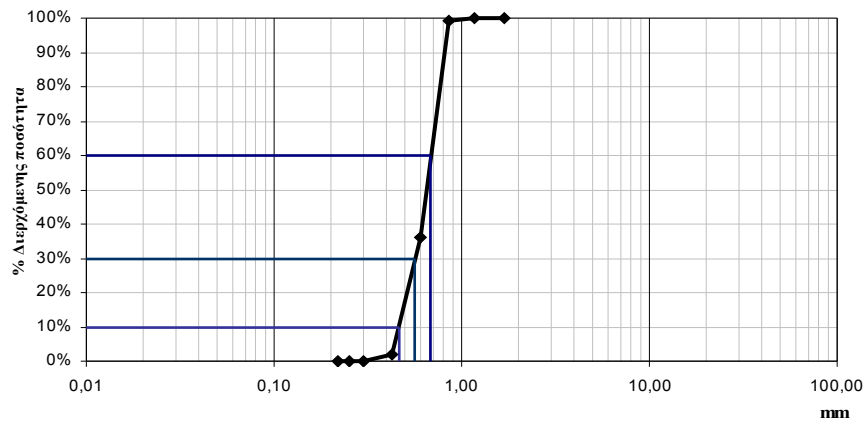
Αποτελέσματα

✓ Λεπτόκοκκη άμμος



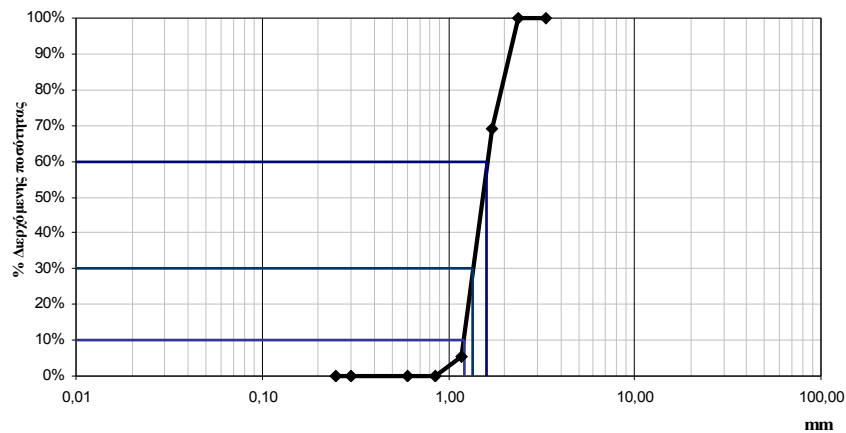
Γράφημα 2.2: Κοκκομετρική ανάλυση λεπτόκοκκης άμμου ($d_{10} = 0.14\text{mm}$, $d_{60} = 0.19\text{mm}$, $C_u = 1.38$, $C_c = 1.0$).

✓ Μεσόκοκκη άμμος



Γράφημα 2.3: Κοκκομετρική ανάλυση μεσόκοκκης άμμου ($d_{10} = 0.46\text{mm}$, $d_{60} = 0.68\text{mm}$, $C_u = 1.49$, $C_c = 1.01$).

✓ Χονδρόκοκκη άμμος



Γράφημα 2.4: Κοκκομετρική ανάλυση χονδρόκοκκης άμμου ($d_{10} = 1.21\text{mm}$, $d_{60} = 1.61\text{mm}$, $C_u = 1.33$, $C_c = 0.94$).

2.4.2 Προσδιορισμός Οργανικής Ουσίας

Ο όρος οργανική ουσία του εδάφους αναφέρεται στα οργανικά προελεύσεως φυτικά ή ζωικά υπολείμματα που συμμετέχουν στη σύσταση του εδάφους. Η οργανική ουσία είναι το πιο σύνθετο και ενεργό συστατικό του εδάφους. Παίζει καθοριστικό ρόλο στην διατήρηση ή βελτίωση της δομής του εδάφους, στον αερισμό του και την κίνηση και συγκράτηση του νερού σ' αυτό.

Η περιεκτικότητα των εδαφών σε οργανική ουσία κυμαίνεται σε ευρύτατα όρια. Στα συνήθη καλλιεργούμενα εδάφη κυμαίνεται σε ποσοστό 0,5 – 10%. Στα οργανικά και τυρφώδη εδάφη το ποσοστό αυτό μπορεί να φτάνει και το 70-80%. Η περιεκτικότητα ενός εδάφους σε οργανική ουσία τείνει να μείνει σταθερή και εξαρτάται από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής και το σύστημα καλλιέργειας και είναι δύσκολο η περιεκτικότητά της να μετακινηθεί μόνιμα προς τα πάνω με προσθήκες οργανικών υλικών καθώς είναι τέτοια η φύση της που αργά ή γρήγορα θα αποικοδομηθεί. Πρέπει επίσης να σημειωθεί πως η οργανική ουσία των καλλιεργούμενων εδαφών μειώνεται με το βάθος, από τα επιφανειακά προς τα βαθύτερα στρώματα, πράγμα το οποίο είναι φυσιολογικό, εφόσον τα οργανικά υπολείμματα συνήθως αποτίθενται ή πέφτουν στην επιφάνεια του εδάφους.

Για τον προσδιορισμό της οργανικής ουσίας των εδαφών έχουν προταθεί κατά καιρούς διάφοροι μέθοδοι μικρότερης ή μεγαλύτερης ακρίβειας. Μία κατηγορία μεθόδων στηρίζεται στον προσδιορισμό του οργανικού C του εδάφους, μετά την οξείδωση του από ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσο, ο οποίος πολλαπλασιαζόμενος με έναν παράγοντα δίνει το ποσοστό της οργανικής ουσίας του εδάφους. Ο παράγοντας αυτός είναι συνήθως ίσος με 1,724 και προκύπτει αν θεωρηθεί πως η οργανική ουσία περιέχει 58% οργανικό C ($1/0,58 = 1,724$). Βέβαια αργότερα αποδείχτηκε πως ο παράγοντας αυτός μπορεί να διαφέρει από έδαφος σε έδαφος και για τις διαφορετικές εδαφικές στρώσεις και να κυμαίνεται από 1,724 έως 2 για επιφανειακά δείγματα και έως 2,5 για δείγματα από μεγαλύτερα βάθη. Ο κατάλληλος παράγοντας πρέπει κάθε φορά να προσδιορίζεται ανάλογα με το σκοπό και την ποιότητα των δειγμάτων που προσδιορίζονται για ανάλυση, ωστόσο για τους σκοπούς γίνεται ο προσδιορισμός της οργανικής ουσίας στα διάφορα εδαφολογικά εργαστήρια είναι αποδεκτός και χρησιμοποιείται η τιμή 1,724 για τη μετατροπή του οργανικού C σε οργανική ουσία.

Έτσι ο προσδιορισμός της οργανικής ουσίας ανάγεται σε προσδιορισμό του οργανικού C του εδάφους. Διάφοροι μέθοδοι έχουν προταθεί κατά καιρούς για τον προσδιορισμό του οργανικού C. Οι πιο κοινές είναι αυτή της ξηρής καύσης και της υγρής καύσης. Οι μέθοδοι της ξηρής καύσης είναι κατάλληλες για μη ασβεστούχα εδάφη γιατί προσδιορίζουν το σύνολο του C που καίγεται – οξειδώνεται. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε οργανικό C προκύπτει από τη διαφορά βάρους πριν και μετά την καύση. Οι μέθοδοι υγρής καύσης είναι κατάλληλες για μεγάλο εύρος εδαφών – συμπεριλαμβανομένων και των ασβεστούχων – και βρίσκουν σήμερα ευρεία εφαρμογή είτε περιλαμβάνουν εξωτερική θέρμανση είτε όχι για την οξείδωση του οργανικού C του δείγματος.

Η πιο κοινή είναι αυτή που ως οξειδωτικό μέσο του οργανικού C χρησιμοποιεί μίγμα $K_2Cr_2O_7$ και H_2SO_4 χωρίς εξωτερική θέρμανση ή ευρύτερα γνωστή ως Walkey – Black (1964) και αυτή εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό της οργανικής ουσίας των δειγμάτων άμμου, που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της παρούσης διπλωματικής:

1. Ζυγίστηκε με ακρίβεια μικρή ποσότητα δείγματος (0,5-1,0 gr) απο κάθε τύπο άμμου, που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα και τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη των 500mL.

2. Προστέθηκε, με τη χρήση μίας προχοϊδας, 10 mL $K_2Cr_2O_7$ 1N, αναδεύοντας ώστε να μην παραμένουν κόκκοι άμμου στα τοιχώματα της φιάλης.

3. Έπειτα προστέθηκε, γρήγορα, 20 mL πυκνό H_2SO_4 αναδεύοντας πάλι τη φιάλη περιστροφικά για 30-60 sec με προσοχή και πάλι ώστε να μην παραμείνουν κόκκοι στα τοιχώματα της φιάλης.

4. Ακολουθήθηκε η ίδια ακριβώς διαδικασία με τα δείγματα, χωρίς να περιέχει άμμο, για την παρασκευή του blank.

5. Τοποθετήθηκαν, για 30 min, όλες οι φιάλες κάτω απο τον απαγωγό, ώστε να οξειδωθεί ο οργανικός C των δειγμάτων.

6. Στη συνέχεια προστέθηκαν 200 mL αποσταγμένο νερό και 10mL πυκνό H_3PO_4 , το οποίο διευκόλυνε την αλλαγή του χρώματος κατά την ογκομέτρηση που γίνεται στη συνέχεια.

7. Αφήνονται οι φιάλες να κρυώσουν και έπειτα πραγματοποιήθηκε ογκομέτρηση με διάλυμα $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 M, ξεκινώντας απο τη φιάλη με το blank. Στο σημείο εξουδετέρωσης το χρώμα του διαλύματος απο βαθύ μπλε γινόταν απότομα πράσινο.

Με την ογκομέτρηση των δειγμάτων προσδιορίζεται η ποσότητα $K_2Cr_2O_7$ που δεν καταναλώθηκε (περίσσεια) για την οξείδωση C.

8. Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν και για τους τρεις τύπους άμμου.

9. Στην συνέχεια για τον προσδιορισμό της οργανικής ουσίας πραγματοποιούνται οι παρακάτω υπολογισμοί.

$$\text{Οργανικός C (\%)} = (A-B) \cdot N \cdot (0,3/G) \quad (2.10)$$

όπου A: τα mL $FeSO_4$ που καταναλώθηκαν για την ογκομέτρηση του blank, δηλαδή για την εξουδετέρωση των 10 mL $K_2Cr_2O_7$, 1N.

B: τα mL $FeSO_4$ που καταναλώθηκαν για την ογκομέτρηση του δείγματος

A-B: τα mL $FeSO_4$ που καταναλώθηκαν για την οξείδωση του οργανικού C.

G: τα g εδάφους που χρησιμοποιήθηκαν στον προσδιορισμό

N: διορθωμένη κανονικότητα του $FeSO_4$

0,3: συντελεστής μετατροπής 1mL διαλύματος $K_2Cr_2O_7$ 1N σε C.

$$\text{Ολικός Οργανικός C (\%)} = [\text{Οργανικός C (\%)}] \cdot 1,3 \quad (2.11)$$

$$\text{Οργανική ουσία (\%)} = [\text{Ολικός Οργανικός C (\%)}] \cdot 1,724 \quad (2.12)$$

Αποτελέσματα

Έπειτα από τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της οργανικής ουσίας στις άμμους που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα προσρόφησης, αδρανοποίησης και μεταφοράς προέκυψε ότι η οργανική ουσία ήταν λιγότερο από 0,005 mg/g άμμου στα δείγματα.

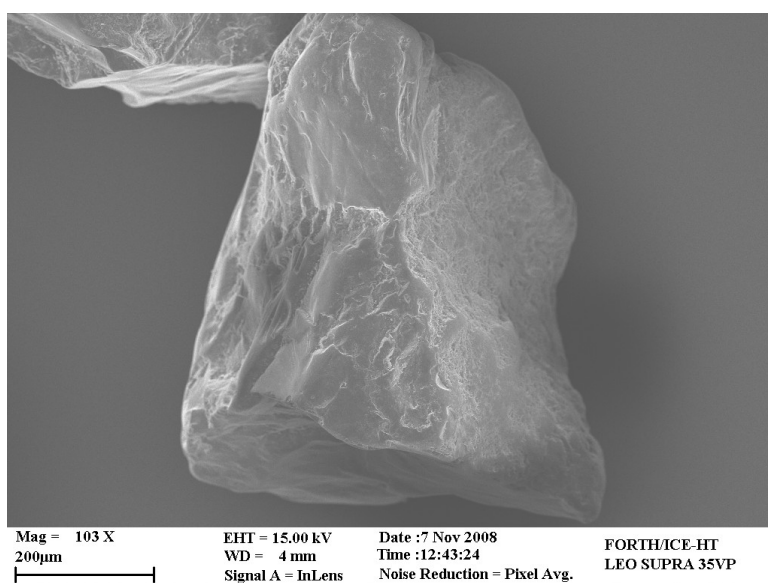
2.4.3 Ηλεκτρονική Μικροσκοπία (SEM – TEM)

Η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM) είναι μία από τις σύγχρονες και ευέλικτες μεθόδους ανάλυσης της μικροδομής μεγάλου αριθμού υλικών. Η ικανότητα των οπτικών μικροσκοπίων περιορίζεται λόγω της φύσης του φωτός σε επίπεδα μεγενθύνσεων έως 1000x και σε διακριτική ικανότητα έως 0.2 μm. Στις αρχές της δεκαετίας του '30 υπήρχε ήδη η ανάγκη για εξέταση του εσωτερικού του κυττάρου (πυρήνας, μιτοχόνδρια κλπ.) που απαιτούσε μεγεθύνσεις μεγαλύτερες του 10,000 x. Η απαίτηση αυτή οδήγησε στην ανακάλυψη και εφαρμογή των ηλεκτρονικών

μικροσκοπίων. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης ή διαπερατότητας (TEM, Transmission Electron Microscope) ήταν το πρώτο είδος ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και στη συνέχεια ακολούθησε το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM, Scanning Electron Microscope).

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων κρίθηκε αναγκαίο να επιβεβαιωθεί το μέγεθος των κόκκων άμμου και των ιών – μοντέλων και με κάποια άλλη μέθοδο. Η μέθοδος που κρίθηκε πιο κατάλληλη ήταν να πραγματοποιηθεί παρατήρηση και μέτρηση μέσω ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.

Για την παρατήρηση των κόκκων άμμου χρησιμοποιήθηκε Ηλεκτρονικό Μικροκόπιο Σαρώσεως (Scanning Electron Microscopy - SEM) τύπου JEOL 6300, ενώ για την παρατήρηση των ιών- μοντέλων χρησιμοποιήθηκε Ηλεκτρονικό Μικροκόπιο Διελεύσεως (Transmission Electron Microscopy - TEM) τύπου JEM-2100 (της εταιρείας JEOL) καθώς η παρατήρηση τους με χρήση SEM ήταν αδύνατη λόγω του μικρού μεγέθους τους.



Εικόνα 2.7: Απεικόνιση κόκκου άμμου από δείγμα μεσόκοκκης άμμου (425-600 µm) σε SEM.

Η παρατήρηση και μέτρηση του μεγέθους των κόκκων άμμου έγινε με τη παρακάτω διαδικασία.

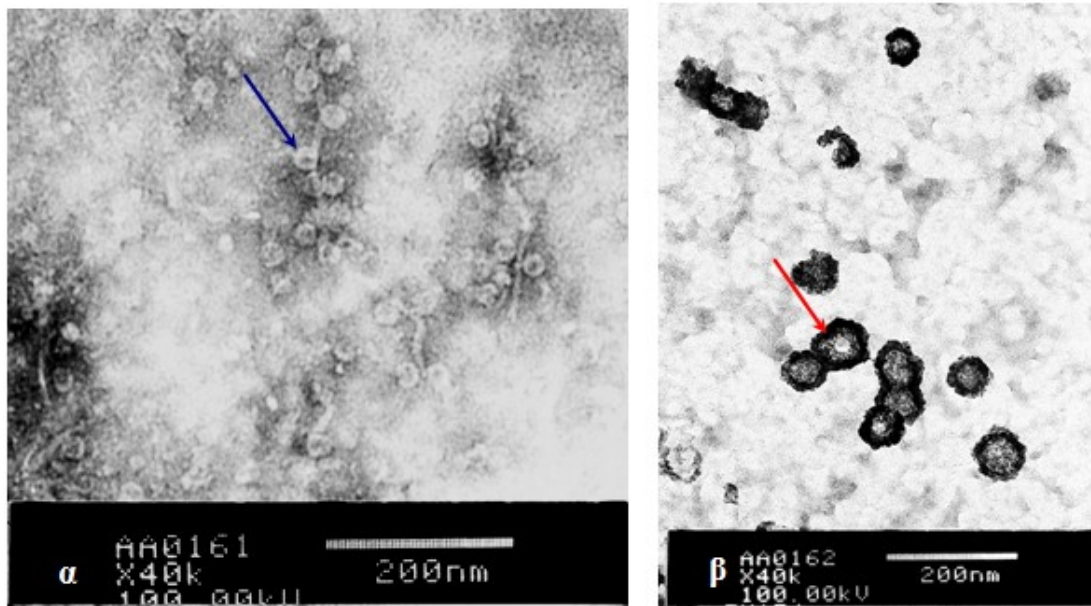
1. Προσκολλήθηκε μια στρώση καθαρής και αποστειρωμένης άμμου στην ειδική βάση (stub) με ειδική αγώγιμη κόλλα.
2. Στη συνέχεια έγινε επικάλυψη της επιφάνειας του φύλλου αλουμινίου με χρυσό. Η επικάλυψη με χρυσό έγινε με sputtering (βομβαρδισμός με σωματίδια) χρησιμοποιώντας τη συσκευή επικάλυψης Au μοντέλο JFC-1100 της JEOL.

3. Αφού τα δείγματα άμμου επιστρώθηκαν με χρυσό, έγινε απεικόνιση μέρους της επιφάνειας τους με τη χρήση του SEM., ενδεικτικά παρουσιάζεται στην εικόνα 2.7 κόκκος από τη μεσόκοκκη άμμο.

Για την παρατήρηση και μέτρηση του μεγέθους των δυο βακτηριοφάγων MS2 και φX174 ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία.

1. Παρασκευάστηκε πυκνό διάλυμα καθαρού φάγου σε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό με συγκέντρωση 10^{11} pfu/mL, με τη χρήση υπερφυγόκεντρου τύπου Sowell Combi Last Plus. Για τη παρασκευή καθαρού πυκνού διαλύματος φάγου, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στα 150.000g για 3,5 h στους 4 °C, αρκετές φορές έως ότου ληφθεί το τελικό διάλυμα φάγου.

2. Στη συνέχεια ρυθμίστηκε το TEM στα 100 kV για μεγαλύτερη ευκρίνεια και πραγματοποιήθηκε αρνητική χρώση στα δείγματα. Η αρνητική χρώση των δειγμάτων έγινε ως εξής: με τη βοήθεια μιας μικροπιπέτας τοποθετήθηκαν 10 μ L καθαρού διαλύματος φάγου πάνω σ' ένα χάλκινο πλέγμα (copper grid) επιστρωμένο με παλλάδιο. Αφέθηκε να στεγνώσει για 3 min και στη συνέχεια με ένα διηθητικό χαρτί σκουπίζεται απαλά. Έπειτα προστέθηκαν 10 μ L αρνητικής



Εικόνα 2.8: Φωτογραφίες των φάγων α) MS2 και β) φX174 με τη χρήση TEM.

χρώσης (2% phosphotungstic acid, pH 7), όπου μετά από 1.5 min ξεπλύθηκε προσεκτικά με απιονισμένο νερό. Η διαδικασία με τη χρώση επαναλήφθηκε δυο φορές.

2. Τέλος έγινε η παρατήρηση των δειγμάτων, όπου και λήφθηκαν οι εικόνες 2.8.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ

Στους Πίνακες 3.1-3.6 και στα Γραφήματα 3.1 – 3.18 παρατίθενται τα αποτελέσματα από την διεξαγωγή κάθε πειράματος για τους βακτηριοφάγους MS2 και φX174. Τα αποτελέσματα αντιστοιχούν σε σαράντα πειράματα αδρανοποίησης για κάθε φάγο, τα οποία πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Τεχνολογίας του Περιβάλλοντος, του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών.

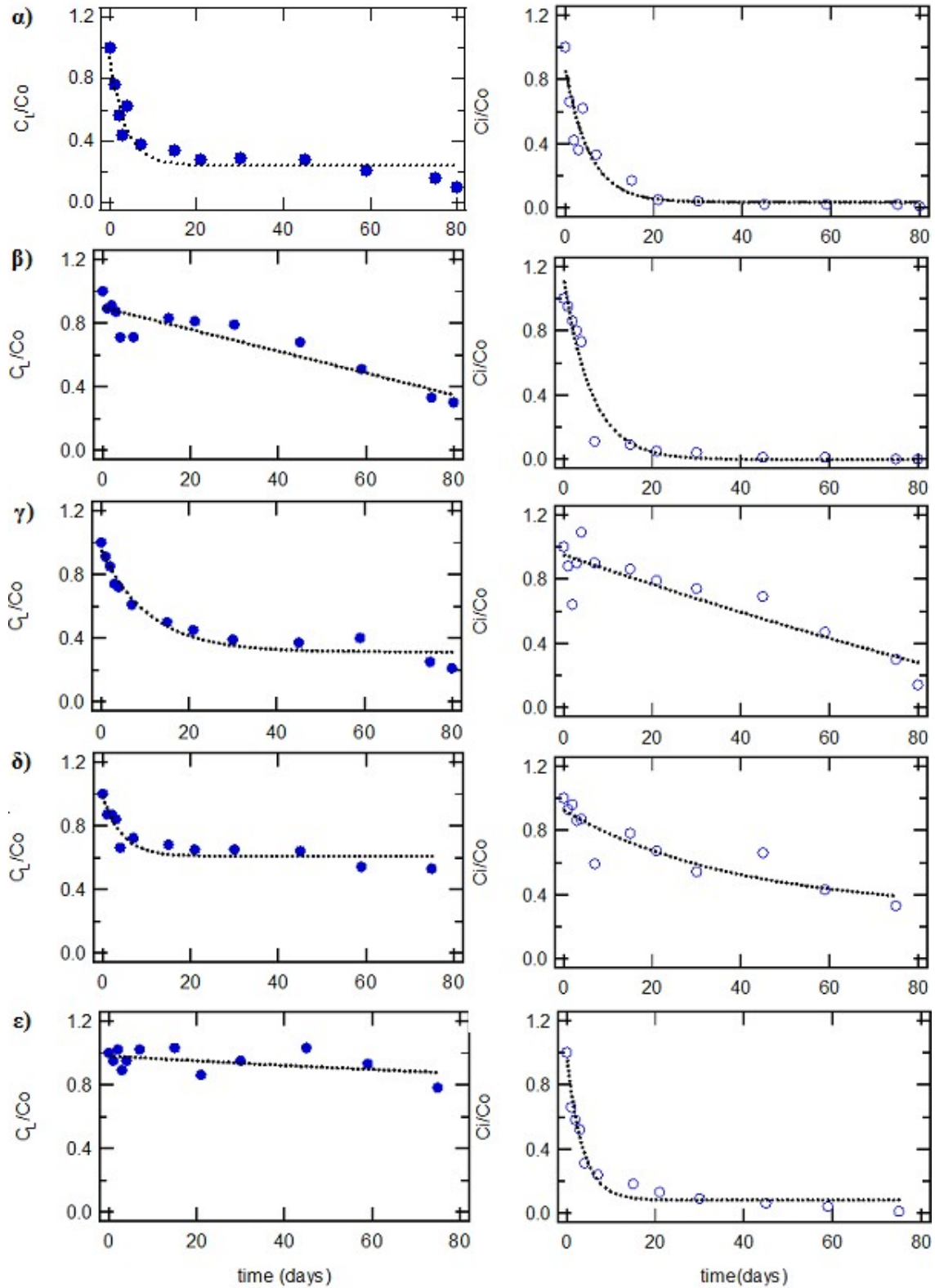
Η επεξεργασία των δεδομένων της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού Igor Pro 6.0. Στα γραφήματα που ακολουθούν απεικονίζονται οι κανονικοποιημένες τιμές των συγκεντρώσεων των φάγων καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων. Στους πίνακες παρατίθενται ο αρχικός συντελεστής ρυθμού αδρανοποίησης (λ_0), συντελεστής ανθεκτικότητας (α) και συντελεστής ρυθμού αδρανοποίησης (λ).

Οι παράμετροι λ_0 και α προσδιορίστηκαν με την εγκατάσταση στην εξίσωση (2.3) των παρατηρηθέντων κανονικοποιημένων συγκεντρώσεων των βακτηριοφάγων, ενώ οι τιμές λ προσδιορίστηκαν από τη γραμμική συμμεταβολή εγκαθιστώντας στην εξίσωση (2.4) των ίδιων πειραματικών δεδομένων. Σημαντική σημείωση είναι ότι η εξίσωση (2.3) εκφράζει τη χρονικά εξαρτημένη αδρανοποίηση, ενώ η εξίσωση (2.4) υποθέτει ότι ο ρυθμός αδρανοποίησης είναι σταθερός. Οι προσομοιωμένες τιμές συγκέντρωσης για τη χρονικά εξαρτώμενη αδρανοποίηση ταιριάζουν με τα πειραματικά δεδομένα ελαφρώς καλύτερα από ότι χρησιμοποιώντας σταθερούς ρυθμούς αδρανοποίησης. Οι Sim and Chrysikopoulos (1996) έκαναν μια παρόμοια παρατήρηση. Η χρονική μεταβλητότητα του συντελεστή ρυθμού αδρανοποίησης έχει αποδοθεί στην πολυφασική διαδοχική αδρανοποίηση που προκαλείται από την παρουσία δύο ή περισσότερων υποσυνόλων πληθυσμού του βακτηριοφάγου που παρουσιάζουν διαφορετικές ευαισθησίες θερμότητας (Grant *et al.*, 1993; Chrysikopoulos and Vogler, 2000). Το μέγεθος α είναι ανάλογο προς την ειδική αντίσταση του κυρίαρχου υποσυνόλου του πληθυσμού επειδή η γενική αδρανοποίηση ελέγχεται από το κυρίαρχο υποσύνολο του πληθυσμού (Sim and Chrysikopoulos, 1996). Η χρονικά μεταβλητή αδρανοποίηση επιτρέπει γρήγορη αδρανοποίηση των πιο ευαίσθητων υποσυνόλων πληθυσμού και πιο αργή αδρανοποίηση των πιο ανθεκτικών υποσυνόλων του πληθυσμού.

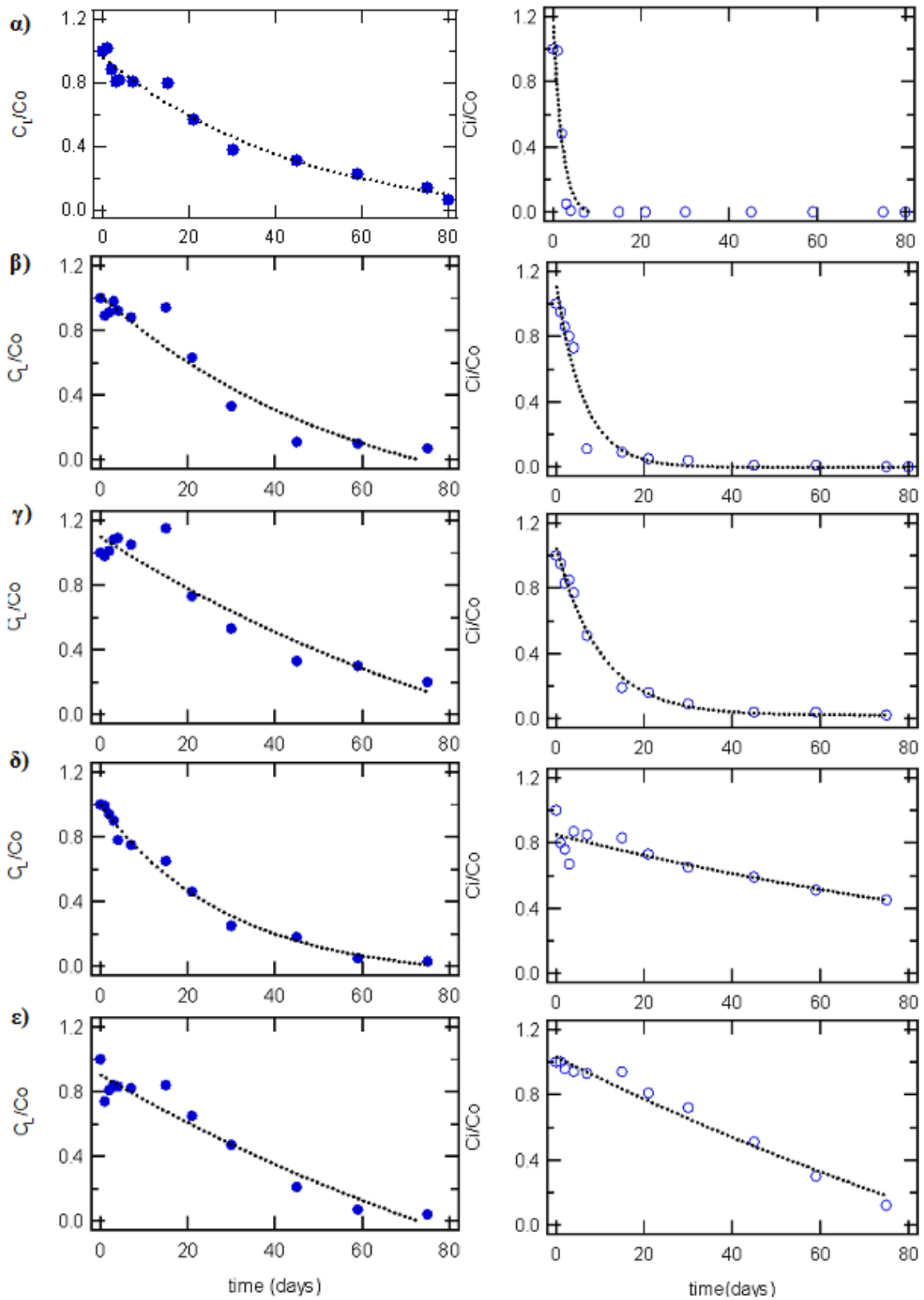
3.1.1

Βακτηριοφάγος MS2

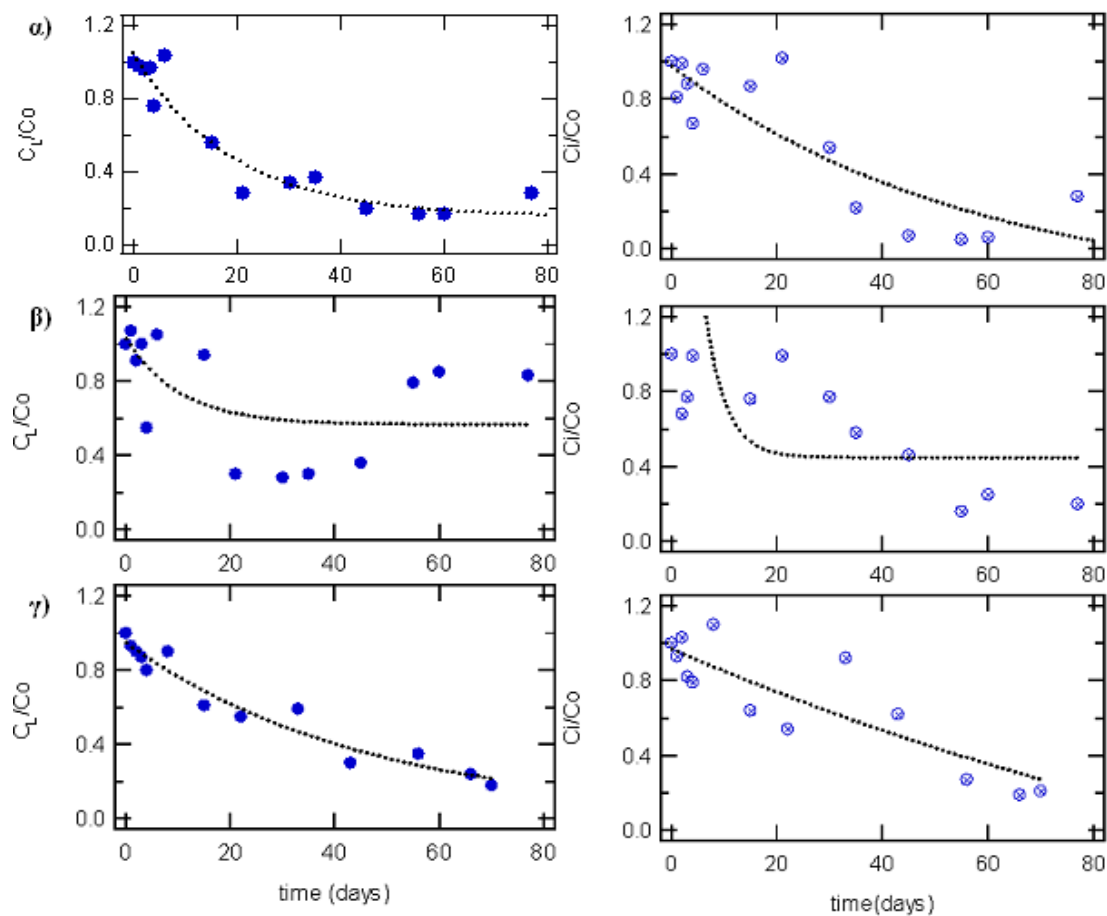
3.1.1.1 Αποτελέσματα λεπτόκοκκης άμμου



Γράφημα 3.1: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 2.5×10^3 β) 1.2×10^4 γ) 1.8×10^5 δ) 1.6×10^6 ε) 2.7×10^6 .



Γράφημα 3.2: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 2.1×10^3 β) 1.3×10^4 γ) 1.8×10^5 δ) 2.5×10^6 ε) 3.6×10^6 .



Γράφημα 3.3: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 5.3×10^4 β) 6.4×10^5 γ) 5.9×10^6 .

Τα γραφήματα (3.1-3.3) που προέκυψαν έδειξαν ότι η αδρανοποίηση του MS2 επηρεάζεται από τη συγκέντρωση των ιών. Στα πειράματα διαλείποντος έργου υπό στατικές συνθήκες, με μικρές συγκεντρώσεις (10^3 - 10^4) παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αδρανοποίηση σε σύντομο χρονικό διάστημα, απ' ότι στα πειράματα με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Τα ίδιο παρατηρήθηκε και στις δυο θερμοκρασίες με τη διαφορά ότι στους 20 °C, η αδρανοποίηση ήταν μεγαλύτερη σε ακόμα πιο σύντομο χρονικό διάστημα απ' ότι στους 4 °C.

Επίσης από τα γραφήματα, είναι εμφανές ότι η αδρανοποίηση των ιών, παρουσία λεπτόκοκκης άμμου, είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με τα πειράματα αναφοράς. Αυτό παρατηρείται και στις δυο θερμοκρασίες, αν και στους 20 °C παρά την παρουσία άμμου η αδρανοποίηση παραμένει μεγαλύτερη από αυτή στους 4 °C.

Στα πειράματα, τα οποία έγιναν υπό δυναμικές συνθήκες σε μερικές περιπτώσεις οι κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις βακτηριοφάγων ήταν άνω του 1, αυτό οφειλόταν σε

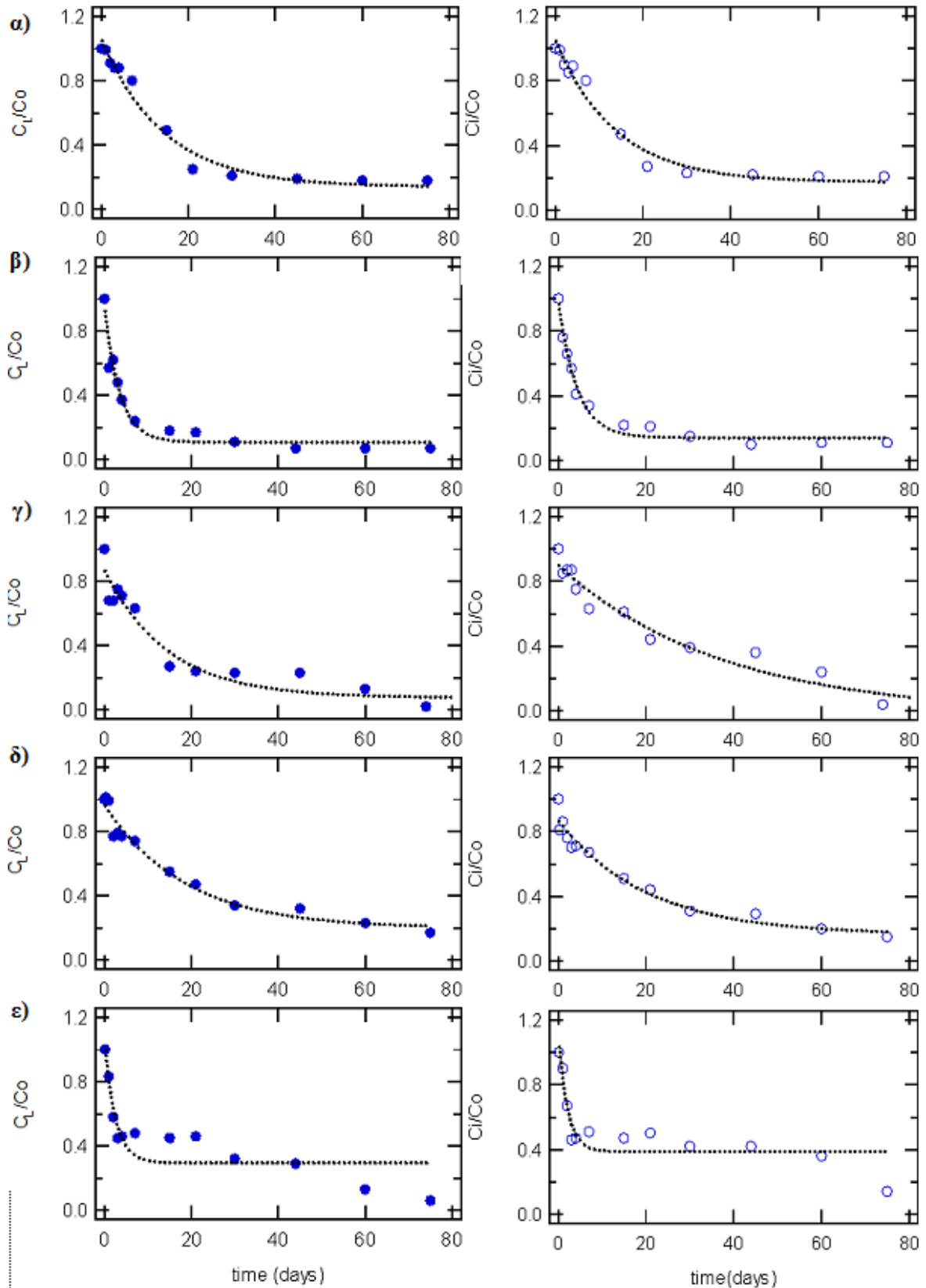
μικρές παραλλαγές της αρχικής συγκέντρωσης των αιωρημάτων των ιών σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Επίσης από τα γραφήματα παρατηρήθηκε ότι παρουσία άμμου σε μερικές περιπτώσεις αν και είχε περάσει μεγάλο χρονικό διάστημα από την έναρξη των πειραμάτων, η συγκέντρωση των ιών παρέμενε υψηλή.

Πίνακας 3.1: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 σε λεπτόκοκκη άμμο.

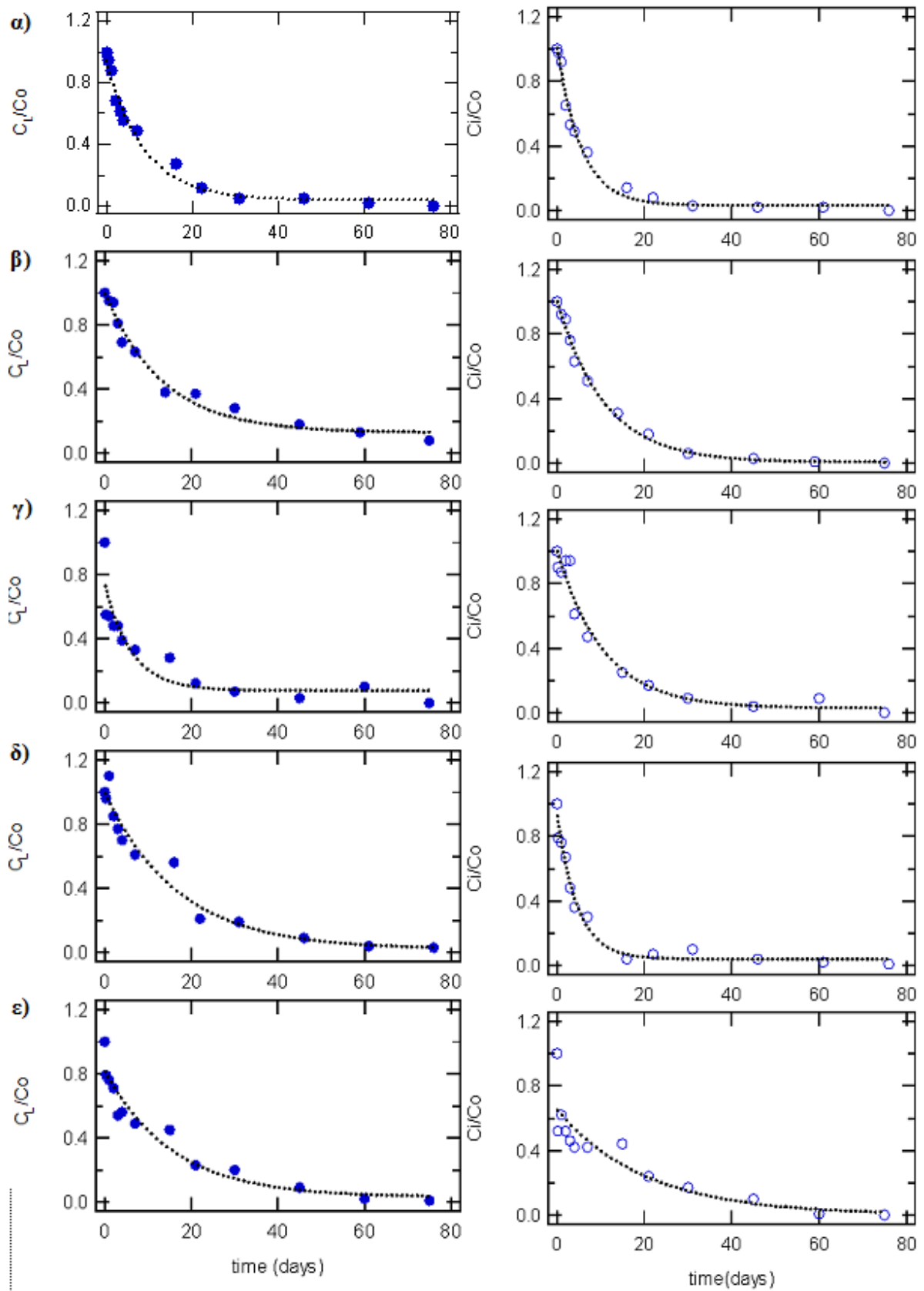
Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)		
MS2	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	2.5x10 ³	με άμμο	1.74E-001	2.95E-002	2.92E-002		
			χωρίς άμμο	2.45E-001	2.09E-002	6.78E-002		
		1.2x10 ⁴	με άμμο	4.22E-002	2.10E-002	1.33E-002		
			χωρίς άμμο	2.09E-001	1.94E-002	9.18E-002		
		1.8x10 ⁵	με άμμο	8.30E-002	2.55E-002	2.06E-002		
			χωρίς άμμο	3.70E-002	1.63E-002	1.69E-002		
	2.7x10 ⁶	με άμμο	6.64E-002	3.22E-002	9.40E-003			
		χωρίς άμμο	3.78E-002	1.59E-002	1.47E-002			
		2.7x10 ⁶	με άμμο	1.98E-002	3.15E-002	2.50E-003		
			χωρίς άμμο	2.44E-001	2.51E-002	6.34E-002		
		MS2	Λεπτόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	2.1x10 ³	με άμμο	3.59E-002	4.40E-003	2.86E-002
					χωρίς άμμο	6.50E-003	1.50E+000	1.02E+000
1.3x10 ⁴	με άμμο			3.68E-002	2.00E-004	3.75E-002		
	χωρίς άμμο			3.51E-001	1.55E-002	1.49E-001		
1.8x10 ⁵	με άμμο			2.41E-002	2.50E-003	2.14E-002		
	χωρίς άμμο			7.74E-002	3.50E-003	6.04E-002		
MS2	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Δυναμικά	2.5x10 ⁶	με άμμο	4.62E-002	7.00E-004	4.51E-002		
			χωρίς άμμο	6.28E-002	3.23E-002	1.16E-002		
		3.6x10 ⁶	με άμμο	5.10E-002	5.60E-003	4.22E-002		
			χωρίς άμμο	1.06E-002	9.20E-003	2.17E-002		
		5.3x10 ⁴	με άμμο	5.12E-002	7.40E-003	2.28E-002		
			χωρίς άμμο	5.60E-002	4.80E-003	3.83E-002		
MS2	Δυναμικά	6.4x10 ⁵	με άμμο	4.57E-002	2.81E-002	2.48E-002		
			χωρίς άμμο	1.80E-002	1.02E-002	1.75E-002		
		5.9x10 ⁶	με άμμο	4.92E-002	1.48E-002	2.19E-002		
			χωρίς άμμο	4.20E-002	1.68E-002	2.10E-002		

Σημειώνεται ότι, παρουσία της λεπτόκοκκης άμμου, ο λ_0 αυξάνεται γρηγορότερα με αύξηση της θερμοκρασίας απ' ό,τι στην περίπτωση όπου δεν υπάρχει παρουσία λεπτόκοκκης άμμου. Βάσει παρόμοιων τιμών των λ_0 και λ για τα στατικά και δυναμικά διαλείποντος έργου πειράματα στους 4 °C η παρουσία αέριας φάσης έχει λίγη επίδραση στη διαδικασία αδρανοποίησης του κυρίαρχου υποσυνόλου πληθυσμού MS2. Οι Thomson *et al.* (1998) παρατήρησαν μια παρόμοια έλλειψη αδρανοποίησης του MS2 υπό παρόμοιες συνθήκες διαλείποντος έργου. Εντούτοις, υπάρχει μια μικρή αύξηση στις τιμές του α κατά τη διάρκεια των δυναμικών πειραμάτων διαλείποντος έργου, ειδικά παρουσία της άμμου. Μια τέτοια αύξηση του α δείχνει ότι ένα υποσύνολο πληθυσμού του βακτηριοφάγου MS2 υπάρχει με μια ελαφρώς υψηλότερη ευαισθησία στην παρουσία της φάσης αέρα.

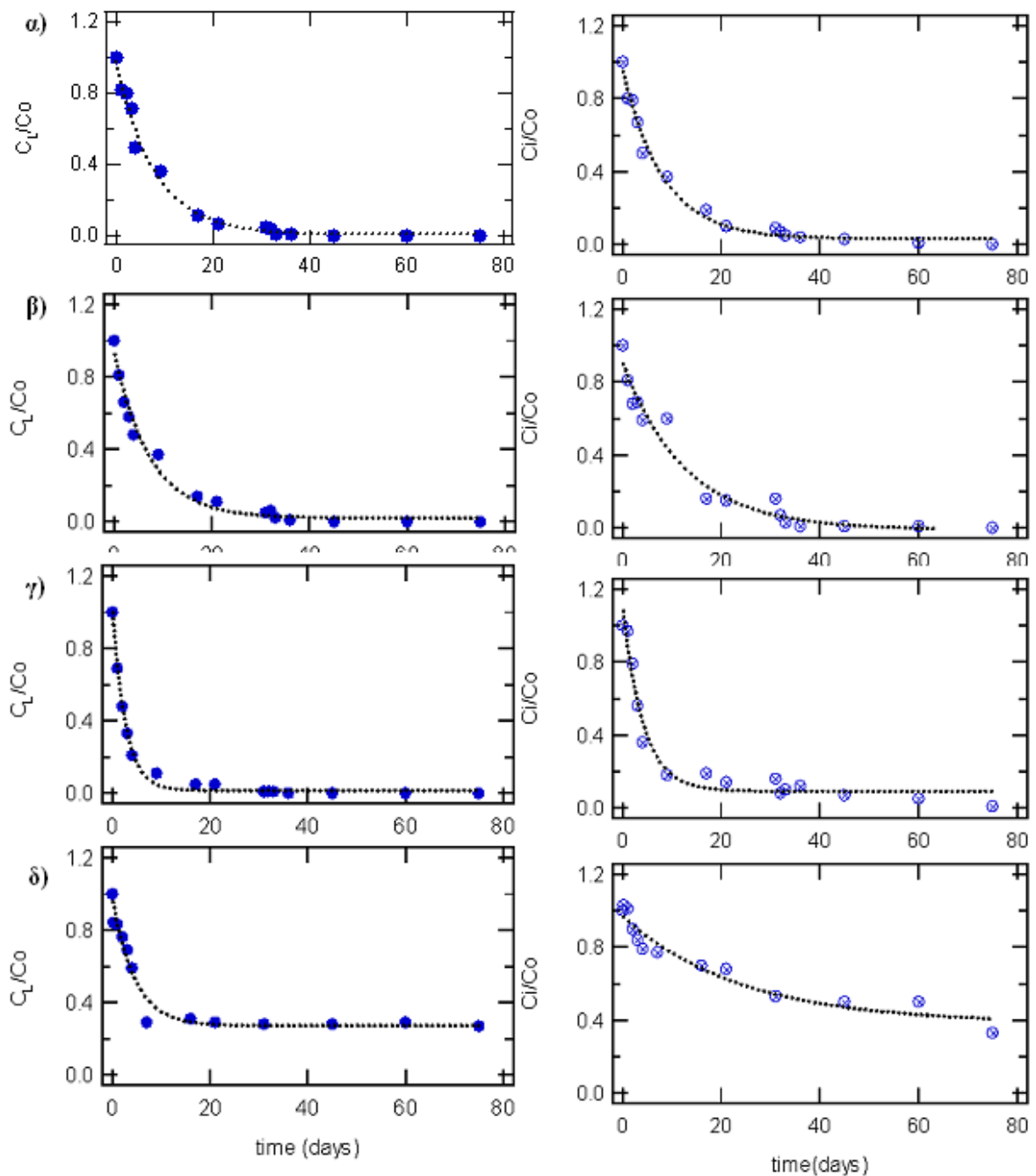
3.1.1.2 Αποτελέσματα μεσόκοκκης άμμου



Γράφημα 3.4: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 8.7×10^3 β) 1.2×10^4 γ) 1.9×10^5 δ) 1.1×10^5 ε) 2.1×10^7 .



Γράφημα 3.5: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 3.7×10^3 β) 3.9×10^4 γ) 1.9×10^5 δ) 3.0×10^5 ε) 2.4×10^7 .



Γράφημα 3.6: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 8.9×10^3 β) 1.1×10^5 γ) 1.6×10^6 δ) 5.6×10^6 .

Τα γραφήματα (3.4 – 3.6) που προέκυψαν από τα πειράματα με μεσόκοκκη άμμο έδειξαν ότι η αδρανοποίηση του MS2 επηρεάζεται από τη συγκέντρωση των ιών, όπως παρατηρήθηκε και στα πειράματα με τη λεπτόκοκκη άμμο. Στα πειράματα διαλείποντος έργου υπό στατικές συνθήκες, παρατηρήθηκε ότι στους 20 °C, η αδρανοποίηση ήταν μεγαλύτερη απ’ ότι στους 4 °C.

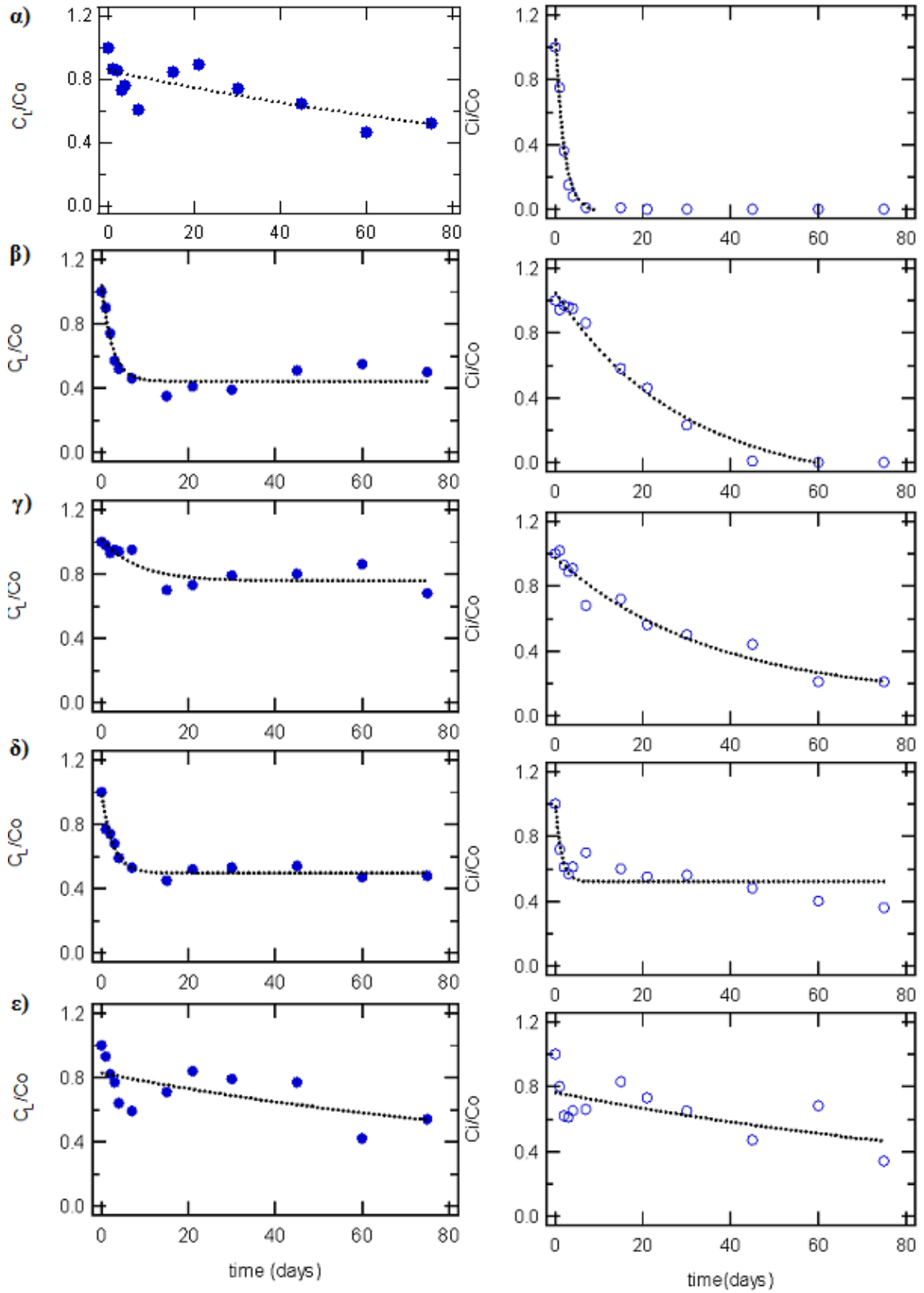
Επίσης από τα γραφήματα, είναι εμφανές ότι η αδρανοποίηση των ιών υπό στατικές συνθήκες, παρουσία μεσοκοκκής άμμου, είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με τα πειράματα αναφοράς, όμοια με τα πειράματα με λεπτόκοκκη άμμο. Αυτό όμως δεν ίσχυε για τα πειράματα υπό δυναμικές συνθήκες, καθώς η αδρανοποίηση παρουσία μεσόκοκκης άμμου ήταν μεγαλύτερη απ' ότι στα δείγματα αναφοράς.

Πίνακας 3.2: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 σε μεσόκοκκη άμμο.

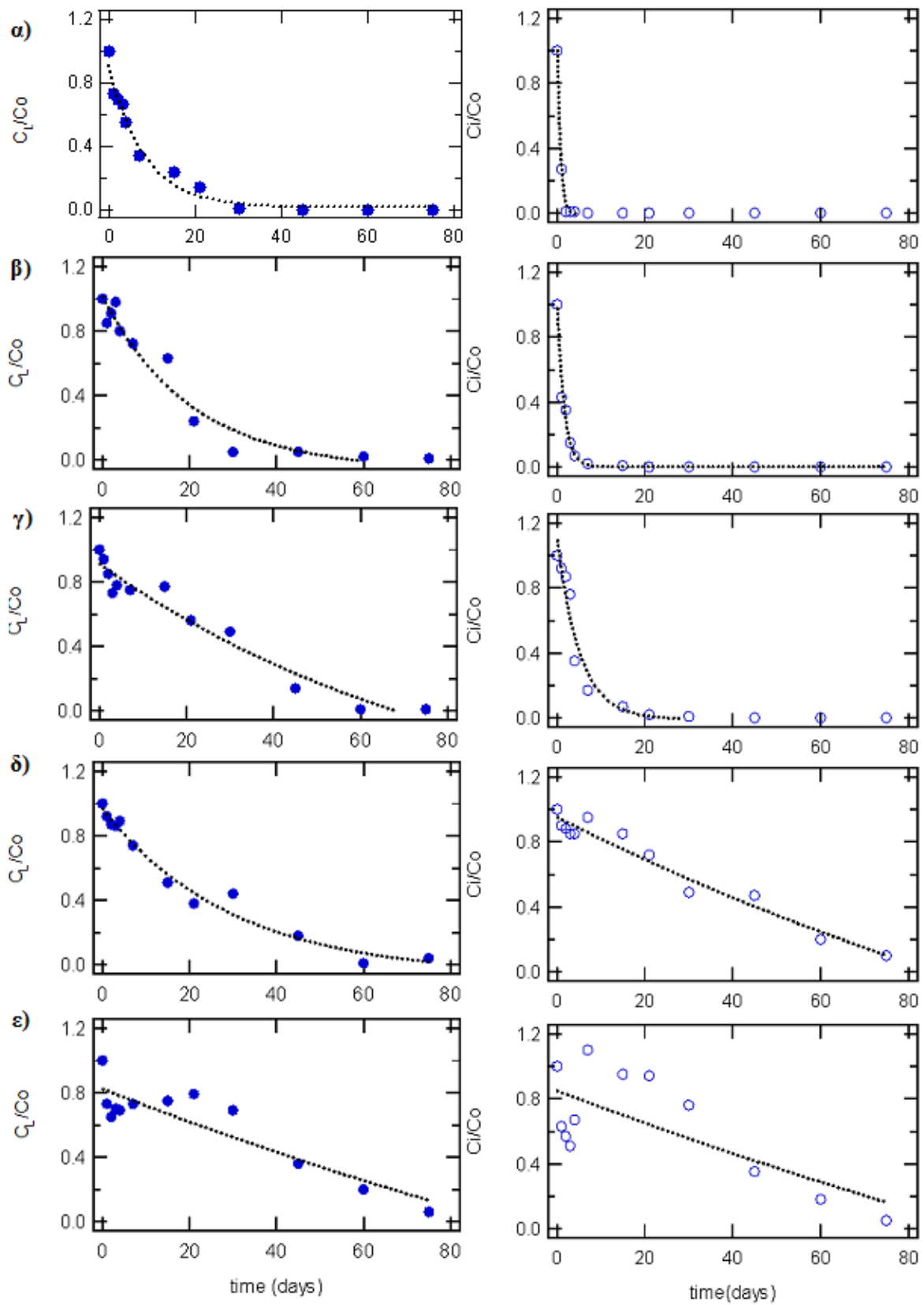
Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)	
MS2	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	8.7x10 ³	με άμμο	9.31E-002	1.90E-002	2.84E-002	
			χωρίς άμμο	6.39E-002	1.68E-002	2.85E-002	
		1.2x10 ⁴	με άμμο	2.58E-001	3.05E-002	4.91E-002	
			χωρίς άμμο	1.99E-001	2.87E-002	3.78E-002	
		1.9x10 ⁵	με άμμο	7.86E-002	8.90E-003	4.54E-002	
			χωρίς άμμο	6.10E-002	9.80E-003	3.57E-002	
	MS2	Μεσόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	1.1x10 ⁵	με άμμο	9.54E-002	2.26E-002	2.80E-002
				χωρίς άμμο	5.78E-002	1.45E-002	2.59E-002
			2.1x10 ⁷	με άμμο	1.54E-001	2.78E-002	3.65E-002
				χωρίς άμμο	1.31E-001	3.21E-002	2.44E-002
			3.9x10 ⁴	με άμμο	6.99E-002	1.10E-002	3.55E-002
				χωρίς άμμο	9.36E-002	2.10E-003	8.26E-002
MS2	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Δυναμικά	3.7x10 ⁴	με άμμο	1.26E-001	9.60E-003	7.39E-002	
			χωρίς άμμο	1.75E-001	1.80E-002	8.40E-002	
		1.9x10 ⁵	με άμμο	3.40E-001	4.39E-002	7.92E-002	
			χωρίς άμμο	1.35E-001	1.86E-002	6.72E-002	
		3.0x10 ⁵	με άμμο	8.31E-002	8.40E-003	5.07E-002	
			χωρίς άμμο	2.38E-001	2.23E-002	6.85E-002	
MS2	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Δυναμικά	2.4x10 ⁷	με άμμο	1.54E-001	1.70E-002	6.56E-002	
			χωρίς άμμο	2.24E-001	2.38E-002	6.83E-002	
		8.9x10 ³	με άμμο	1.36E-001	3.60E-003	1.14E-001	
			χωρίς άμμο	1.17E-001	7.50E-003	7.82E-002	
		1.1x10 ⁵	με άμμο	1.62E-001	9.30E-003	1.03E-001	
			χωρίς άμμο	1.24E-001	7.50E-003	8.99E-002	
1.6x10 ⁶	με άμμο	3.03E-001	1.18E-002	1.71E-001			
	χωρίς άμμο	1.23E-001	1.27E-002	6.24E-002			
5.6x10 ⁶	με άμμο	1.52E-001	3.31E-002	2.52E-002			
	χωρίς άμμο	2.87E-002	1.16E-002	1.48E-002			

Από τον πίνακα 3.2 φαίνεται ότι, παρουσία της μεσόκοκκης άμμου, ο λ_0 αυξάνεται με τη μείωση της συγκέντρωσης, ενώ το α είναι μεγαλύτερο ελλείψει της άμμου, υπό στατικές συνθήκες. Επίσης παρατηρήθηκε ότι ο συντελεστής ρυθμού αδρανοποίησης, λ , είναι μεγαλύτερος υπό δυναμικές συνθήκες παρουσία μεσόκοκκης άμμου απ' ότι στις στατικές συνθήκες.

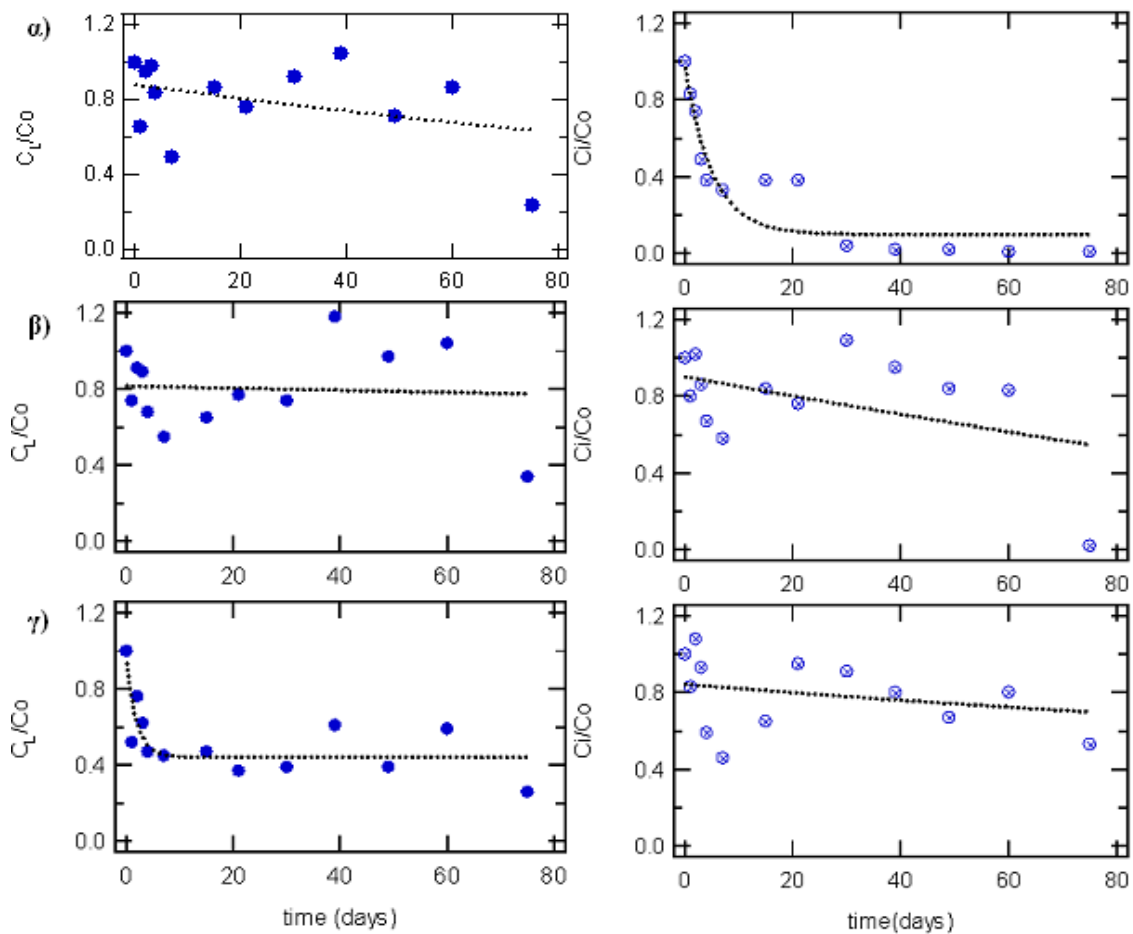
3.1.1.3 Αποτελέσματα χονδρόκοκκης άμμου



Γράφημα 3.7: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 0.9×10^3 β) 3.4×10^3 γ) 1.0×10^5 δ) 1.2×10^6 ε) 1.2×10^7 .



Γράφημα 3.8: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 0.2×10^3 β) 4.2×10^3 γ) 6.8×10^4 δ) 6.6×10^5 ε) 7.3×10^7 .



Γράφημα 3.9: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 8.5×10^4 β) 5.8×10^5 γ) 6.6×10^6 .

Τα γραφήματα (3.7 -3.8) που προέκυψαν από τα πειράματα του βακτηριοφάγου MS2 παρουσία χονδρόκοκκης άμμου, στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες έδειξαν ότι η αδρανοποίηση του MS2 επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση των ιών. Στα πειράματα διαλείποντος έργου υπό στατικές συνθήκες, με τις μικρότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αδρανοποίηση σε σύντομο χρονικό διάστημα, απ' ότι στα πειράματα με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Επιπλέον στα πειράματα στους 20 °C, η αδρανοποίηση ήταν μεγαλύτερη απ' ότι στους 4 °C.

Επίσης από τα γραφήματα, είναι εμφανές ότι η αδρανοποίηση των ιών, παρουσία χονδρόκοκκης άμμου, είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με τα πειράματα αναφοράς, δηλαδή οι ιοί προστατεύονταν όταν ήταν προσκολλημένοι.

Στα γραφήματα 3.9 που προέκυψαν από τα πειράματα, τα οποία έγιναν υπό δυναμικές συνθήκες παρατηρήθηκε ότι οι ιοί προστατεύονταν από τις επιφάνειες αέρα - νερού - στερεού, με αποτέλεσμα να έχει λίγη επίδραση στη διαδικασία αδρανοποίησης του

κυρίαρχου υποσυνόλου πληθυσμού MS2.

Πίνακας 3.3: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 σε χονδρόκοκκη άμμο.

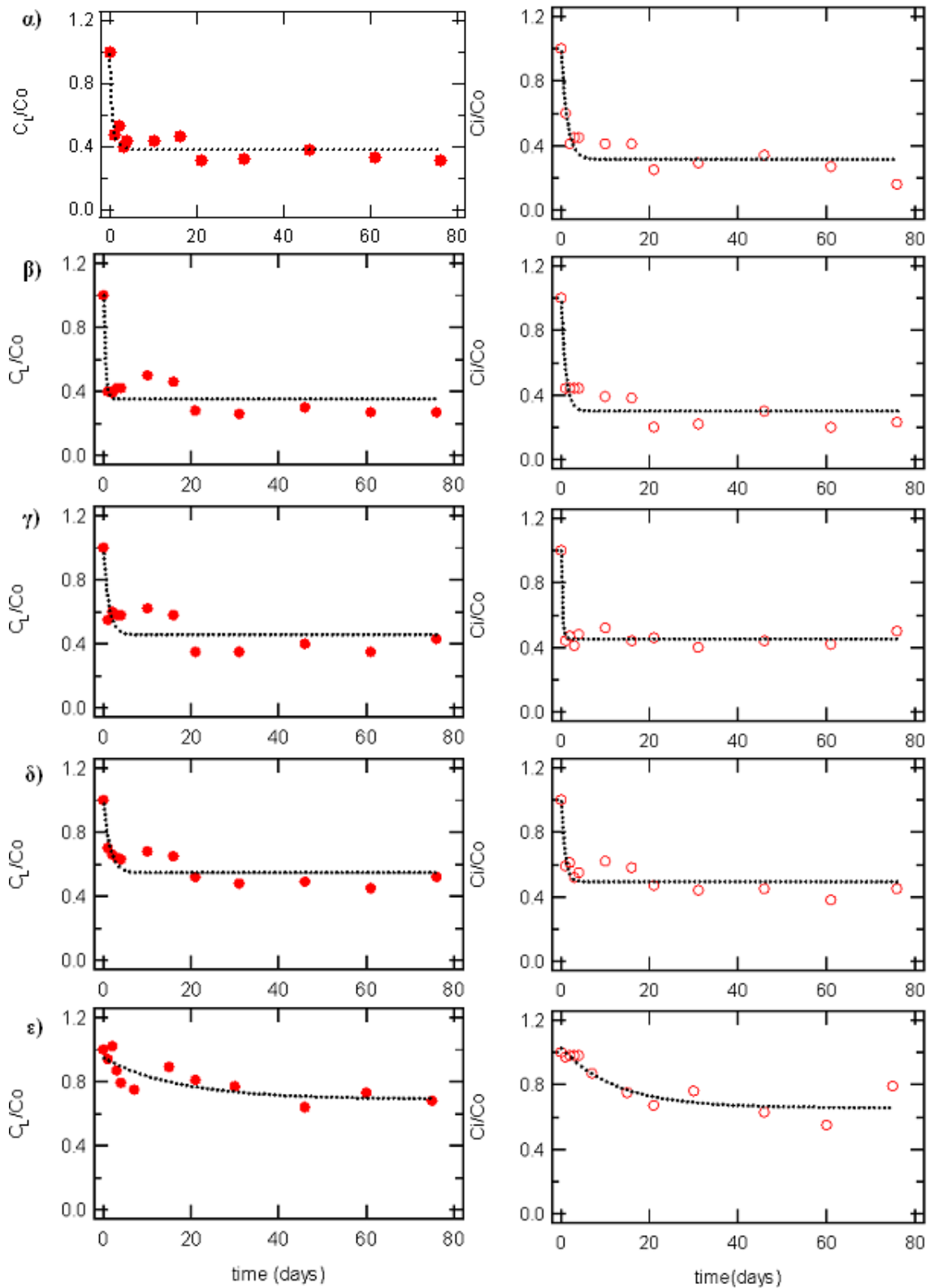
Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)	
MS2	Χονδρόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	0.9x10 ³	με άμμο	5.79E-002	3.41E-002	1.03E-002	
			χωρίς άμμο	5.28E-001	2.07E-002	3.90E-001	
		3.4x10 ³	με άμμο	1.83E-002	3.54E-002	7.38E-002	
			χωρίς άμμο	1.83E-002	3.54E-002	7.38E-002	
		1x10 ⁵	με άμμο	1.96E-002	2.48E-002	5.30E-003	
			χωρίς άμμο	3.26E-002	7.00E-003	2.24E-002	
	1.2x10 ⁶	με άμμο	1.32E-001	4.18E-002	1.41E-002		
		χωρίς άμμο	1.30E-001	3.91E-002	1.63E-002		
	1.2x10 ⁷	με άμμο	6.40E-002	3.61E-002	1.03E-002		
		χωρίς άμμο	9.80E-002	3.98E-002	1.30E-002		
	MS2	Χονδρόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	0.2x10 ³	με άμμο	1.01E-001	6.60E-003	1.34E-001
				χωρίς άμμο	1.76E+000	5.59E-002	1.46E+000
4.2x10 ³			με άμμο	7.11E-002	1.30E-003	6.45E-002	
			χωρίς άμμο	6.79E-001	3.74E-002	1.97E-001	
6.8x10 ⁴			με άμμο	4.84E-002	4.00E-004	6.16E-002	
			χωρίς άμμο	1.45E-001	5.10E-003	1.03E-001	
6.6x10 ⁵		με άμμο	4.87E-002	8.00E-004	5.22E-002		
		χωρίς άμμο	3.18E-002	6.80E-003	2.59E-002		
7.3x10 ⁷		με άμμο	7.98E-002	2.28E-002	2.97E-002		
		χωρίς άμμο	7.28E-002	2.48E-002	3.01E-002		
MS2		Χονδρόκοκκη άμμος 4 °C	8.5x10 ⁴	με άμμο	3.51E-002	2.98E-002	1.00E-002
				χωρίς άμμο	1.60E-002	1.47E-002	7.50E-002
	5.8x10 ⁵		με άμμο	6.78E-002	4.62E-002	1.50E-002	
	6.6x10 ⁶	χωρίς άμμο	5.28E-002	3.60E-002	2.11E-002		
		με άμμο	2.08E-001	5.79E-002	1.83E-002		
		Δυναμικά		χωρίς άμμο	6.73E-002	5.94E-002	6.50E-003

Στον πίνακα 3.3 φαίνονται οι προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 παρουσία χονδρόκοκκης άμμου, στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Σημειώνεται ότι, παρουσία της χονδρόκοκκης άμμου, ο λ_0 αυξάνεται με μείωση της συγκέντρωσης στην περίπτωση όπου δεν υπάρχει παρουσία χονδρόκοκκης άμμου. Ο συντελεστής ανθεκτικότητας (α), του βακτηριοφάγου MS2 παίρνει τις μεγαλύτερες τιμές του για τα πειράματα που διεξάχθηκαν υπό δυναμικές συνθήκες, κάτι το οποίο ήταν αναμενόμενο καθώς διαπιστώθηκε και από τα παραπάνω γραφήματα.

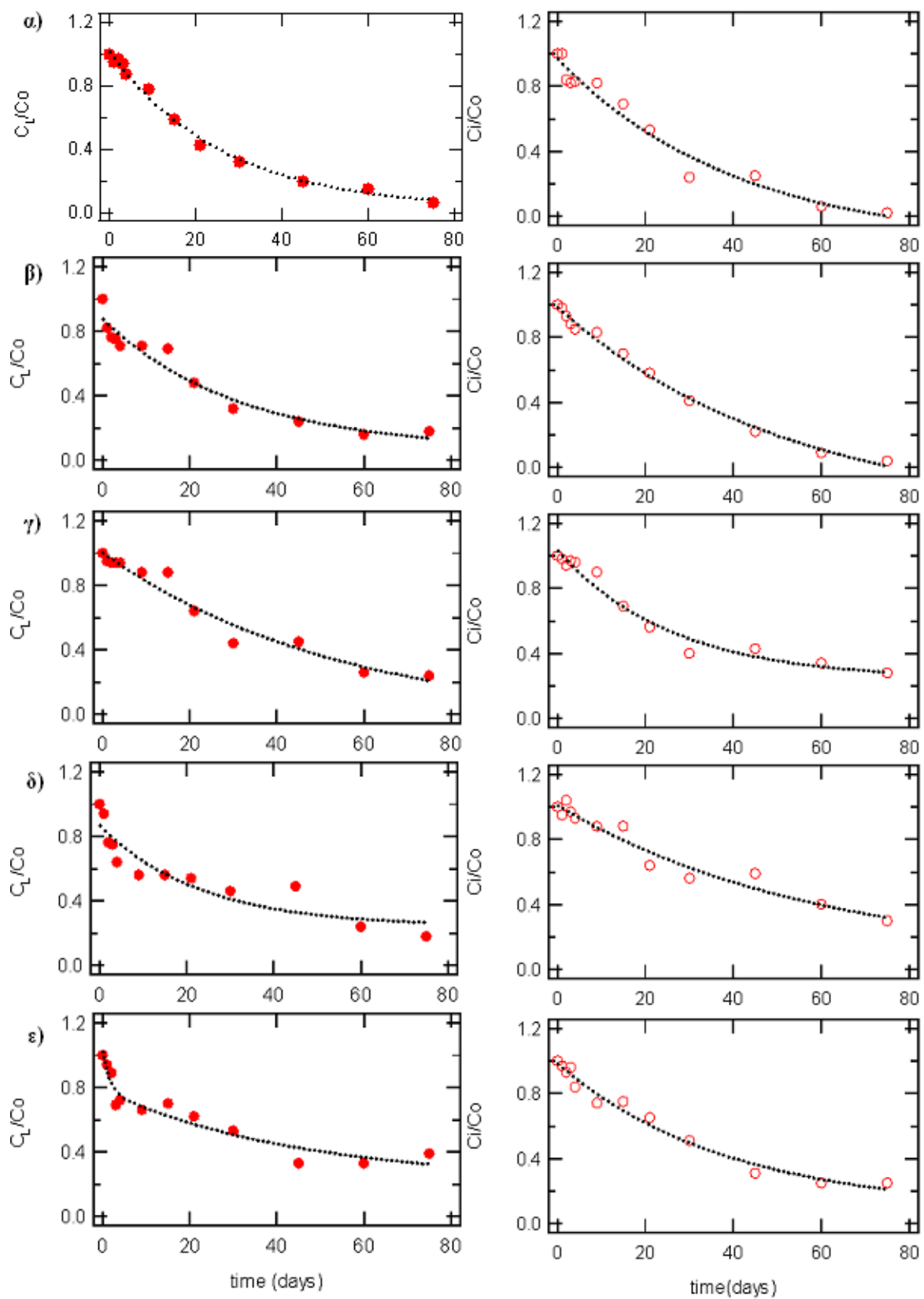
Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι σε γενικές γραμμές η αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου MS2 ήταν παρόμοια ως προς τις επικρατούσες συνθήκες (θερμοκρασία, δυναμικές – στατικές συνθήκες) με μικρές διαφορές των συντελεστών ως προς το τύπο της άμμου.

3.1.2 Βακτηριοφάγος φX174

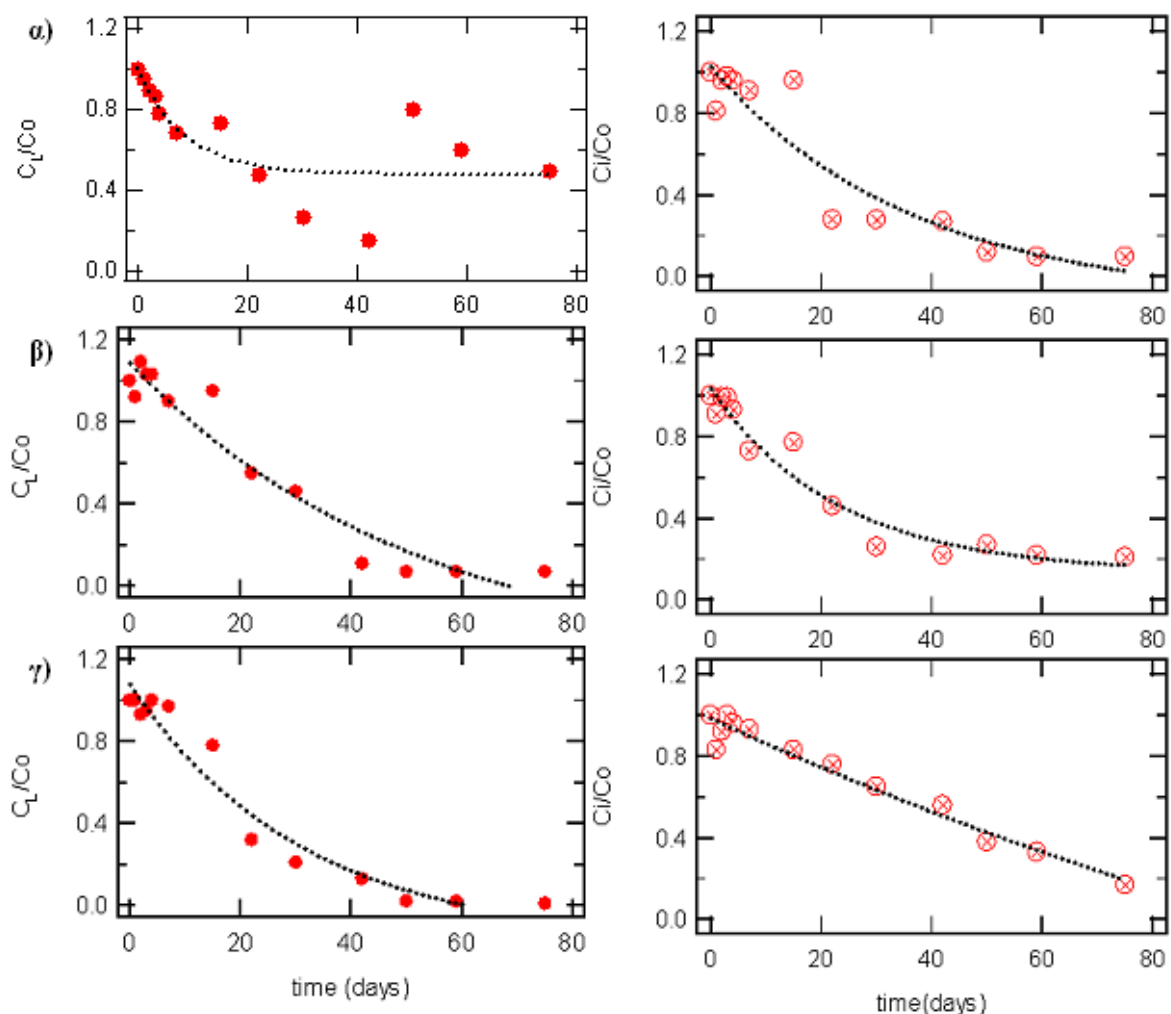
3.1.2.1 Αποτελέσματα λεπτόκοκκης άμμου



Γράφημα 3.10: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 5.6×10^3 β) 6.5×10^4 γ) 5.0×10^5 δ) 9.0×10^6 ε) 1.5×10^8 .



Γράφημα 3.11: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 3.3×10^3 β) 3.4×10^4 γ) 3.4×10^5 δ) 5.0×10^6 ε) 1.5×10^8 .



Γράφημα 3.12: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με λεπτόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 1.06×10^5 β) 1.4×10^6 γ) 2.3×10^7 .

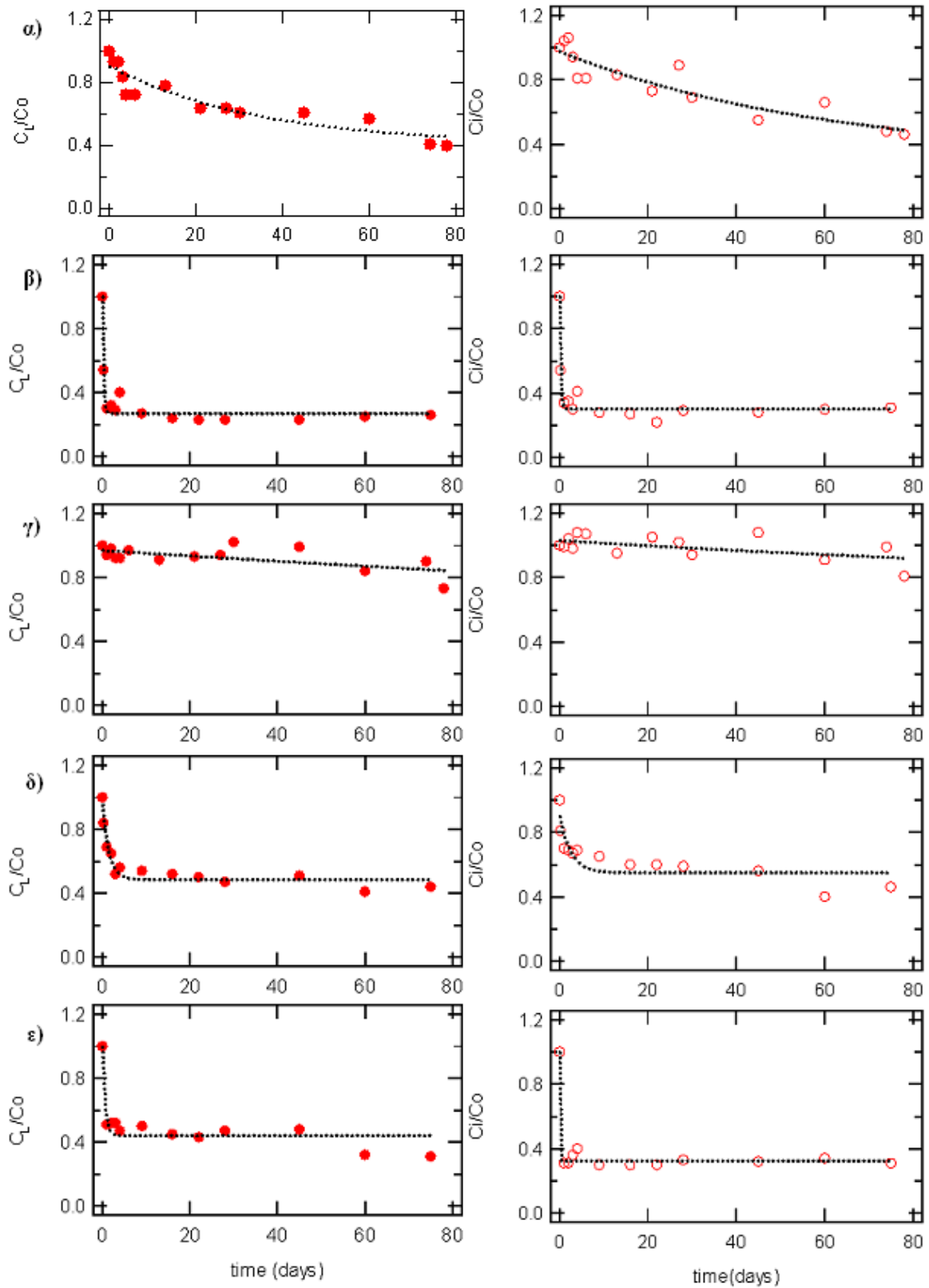
Τα στατικά πειραματικά δεδομένα διαλείποντος έργου για την αδρανοποίηση του φX174 έδειξαν σαφώς ότι η θερμοκρασία καθώς επίσης και η παρουσία άμμου είχαν δευτερεύουσα επίδραση στην αδρανοποίηση του φX174 υπό τις συνθήκες που εξετάζονται σε αυτήν την εργασία. Για τον φX174, η παρατηρούμενη μεγαλύτερη αδρανοποίηση στους 20 °C απ' ό,τι στους 4 °C δείχνει μια δευτερεύουσα επίδραση της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αδρανοποίησης. Αντίθετα, η αύξηση της αδρανοποίησης για τον φX174 κατά τη διάρκεια του δυναμικού διαλείποντος έργου πειράματος με την άμμο, δείχνει ότι η παρουσία διεπιφανειών αέρα-υγρού και αέρα-στερεού, αντί της θερμοκρασίας, της άμμου, ή της παρουσίας διεπιφανειών αέρα-υγρού, είναι υπεύθυνη για τη μέγιστη ζημία στη μολυσματική ικανότητα του ιού.

Πίνακας 3.4: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο.

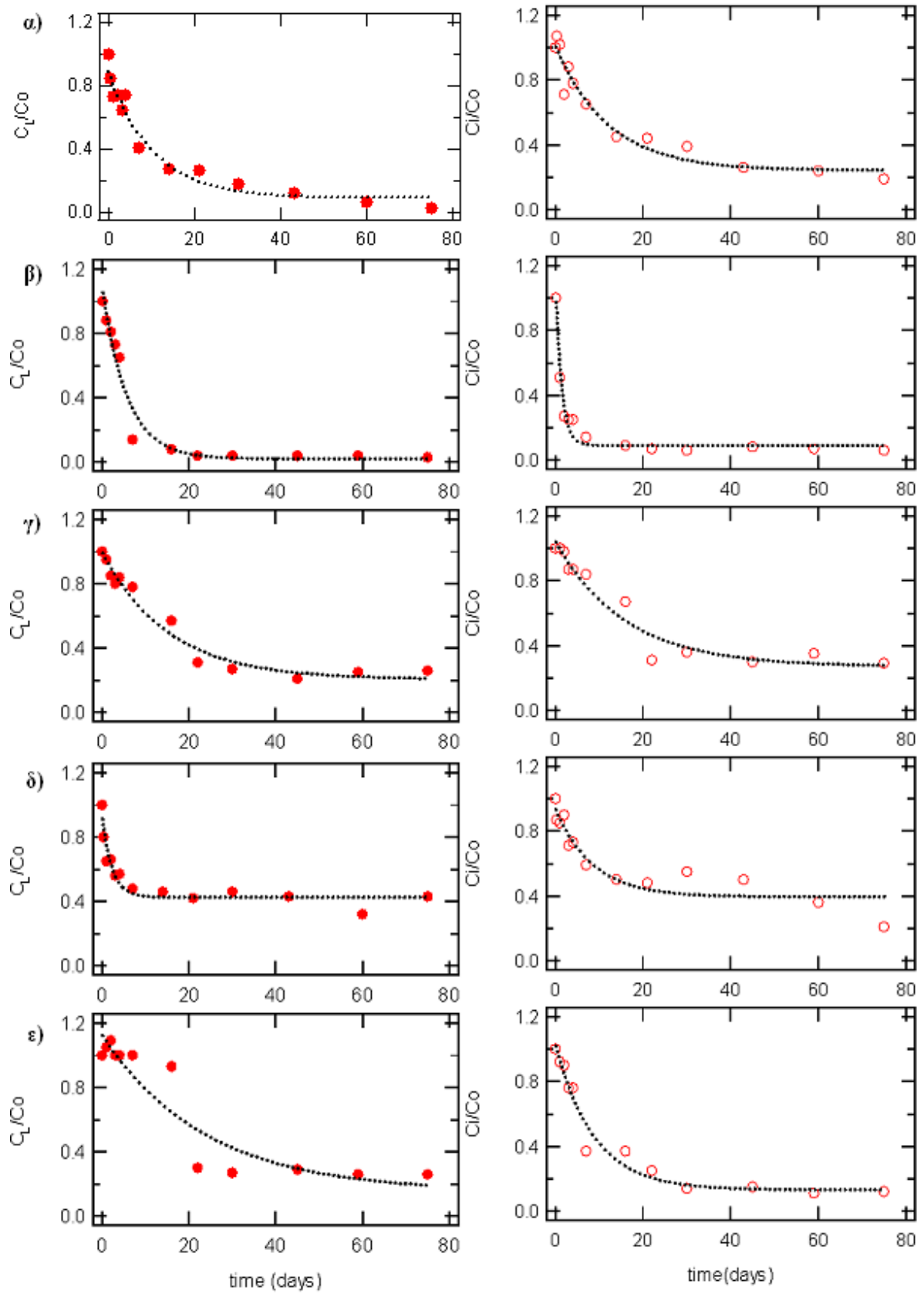
Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)	
φX174	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	5.6x10 ³	με άμμο	2.34E-001	4.44E-002	2.16E-002	
			χωρίς άμμο	2.27E-001	3.94E-002	2.74E-002	
		6.5x10 ⁴	με άμμο	2.56E-001	4.35E-002	2.48E-002	
			χωρίς άμμο	2.63E-001	4.14E-002	2.84E-002	
			με άμμο	1.67E-001	4.14E-002	1.81E-002	
			χωρίς άμμο	2.34E-001	5.04E-002	1.61E-002	
	9x10 ⁶	με άμμο	1.25E-001	4.13E-002	1.36E-002		
		χωρίς άμμο	1.65E-001	4.31E-002	1.62E-002		
	φX174	Λεπτόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	3.3x10 ³	με άμμο	3.76E-002	1.60E-003	3.46E-002
				χωρίς άμμο	4.22E-002	5.00E-004	4.54E-002
			3.4x10 ⁴	με άμμο	8.38E-002	2.06E-002	2.82E-002
				χωρίς άμμο	2.88E-002	4.30E-003	3.96E-002
3.4x10 ⁵			με άμμο	2.35E-002	3.90E-003	2.02E-002	
			χωρίς άμμο	1.83E-002	-	1.90E-002	
φX174	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Δυναμικά	5x10 ⁶	με άμμο	7.81E-002	2.30E-002	2.33E-002	
			χωρίς άμμο	1.83E-002	3.80E-003	1.55E-002	
		1.5x10 ⁸	με άμμο	6.27E-002	2.34E-002	1.76E-002	
			χωρίς άμμο	2.79E-002	4.70E-003	2.17E-002	
		1.06x10 ⁵	με άμμο	4.95E-002	3.00E-003	2.82E-002	
			χωρίς άμμο	1.75E-002	1.30E-002	3.20E-002	
φX174	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Δυναμικά	1.4x10 ⁶	με άμμο	1.74E-002	1.22E-002	2.85E-002	
			χωρίς άμμο	2.16E-002	1.08E-002	2.39E-002	
		2.3x10 ⁷	με άμμο	8.90E-003	3.58E-002	6.32E-002	
			χωρίς άμμο	1.50E-002	2.70E-003	1.94E-002	

Στον πίνακα 3.4 φαίνονται οι προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φX174 παρουσία λεπτόκοκκης άμμου, στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Σημειώνεται ότι ο λ_0 για τον φX174 παρουσία της άμμου επηρεάζεται από τη παρουσία άμμου σε μικρότερο βαθμό απ' ό,τι στην περίπτωση αλλαγής θερμοκρασίας. Οι αυξανόμενες τιμές του α για τον φX174 στους 4°C δείχνει την παρουσία ενός μεγάλου υποσυνόλου του πληθυσμού που δεν είναι ευαίσθητο στη συγκεκριμένη θερμοκρασία. Αντίθετα, οι μειωμένες τιμές του α για τον φX174 στους 20°C δηλώνει την παρουσία ενός υποσύνολου το οποίο είναι ευαίσθητο στην αυξημένη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η μικρότερη τιμή του α παρατηρήθηκε στους 20°C, χωρίς λεπτόκοκκη άμμο με την μικρότερη αρχική συγκέντρωση που διεξάχθηκαν τα πειράματα.

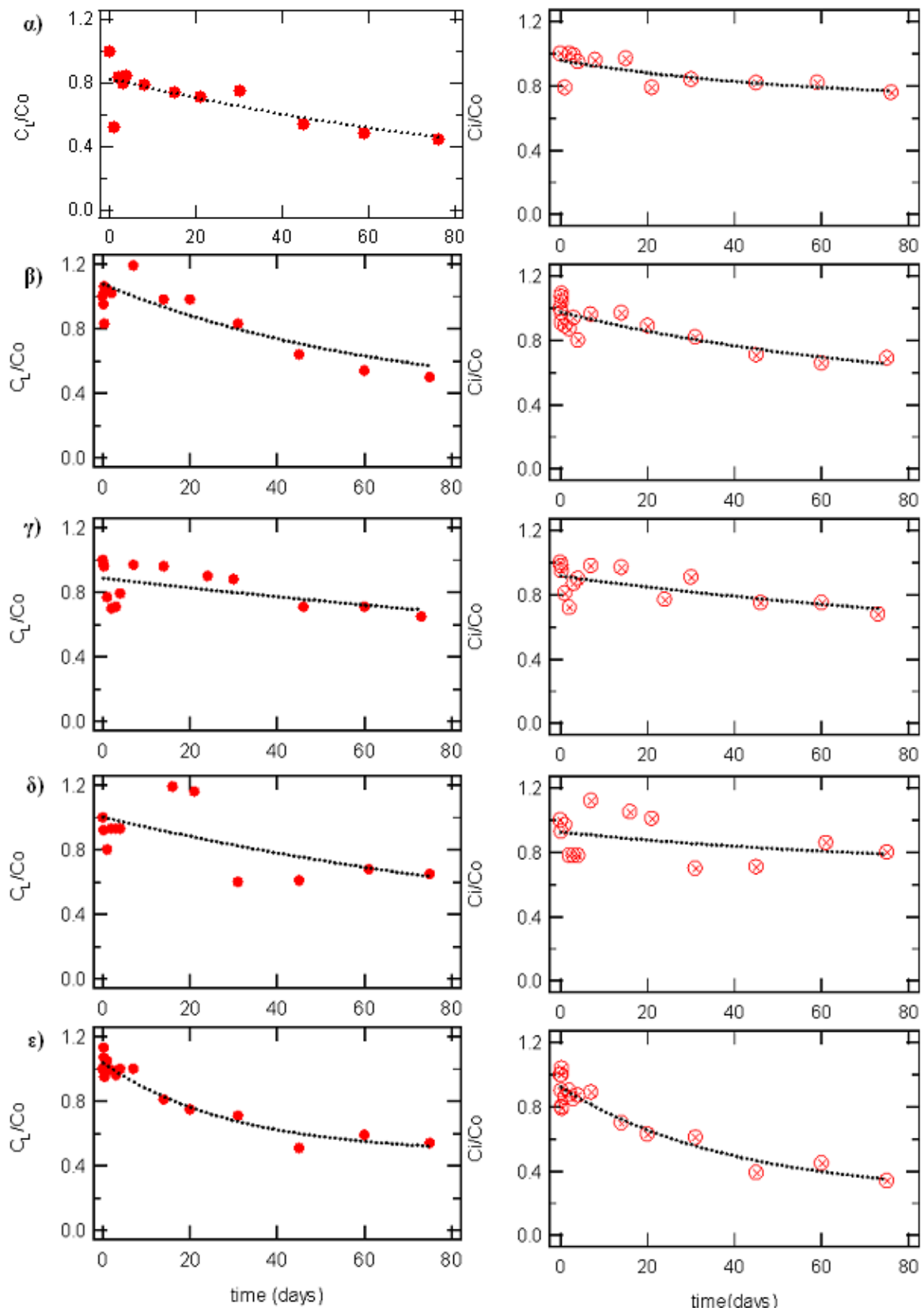
3.1.2.2 Αποτελέσματα μεσόκοκκης άμμου



Γράφημα 3.13: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) $4,5 \times 10^3$ β) $6,9 \times 10^4$ γ) $5,9 \times 10^5$ δ) $3,6 \times 10^7$ ε) $7,1 \times 10^7$.



Γράφημα 3.14: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 7.5×10^3 β) 5.5×10^4 γ) 5.5×10^5 δ) 9.0×10^4 ε) 6.3×10^5 .



Γράφημα 3.15: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με μεσόκοκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 4.2×10^3 β) 5.7×10^4 γ) 9.2×10^4 δ) 1.5×10^6 ε) 5.8×10^6 .

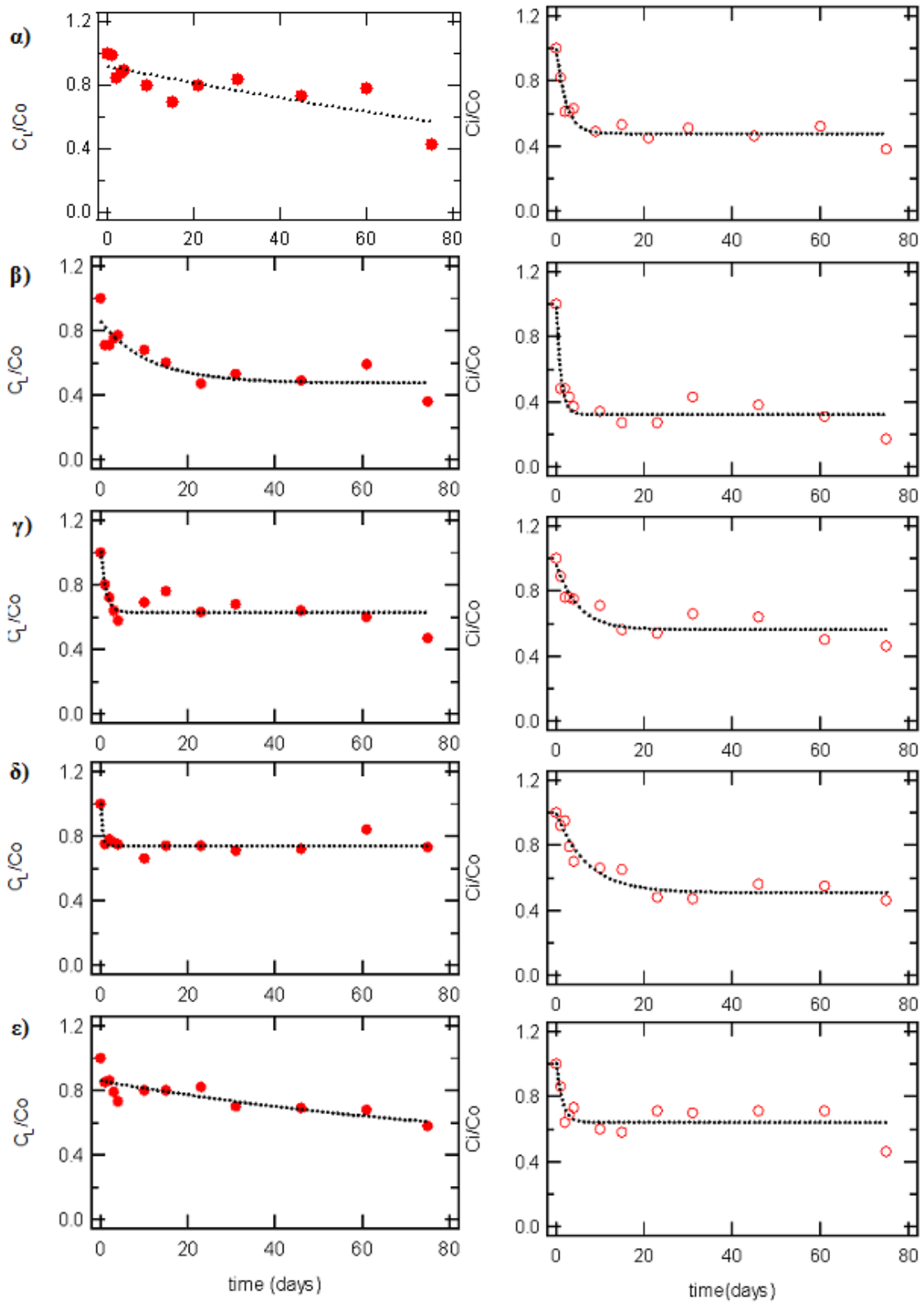
Πίνακας 3.5: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φX174 σε μεσόκοκκη άμμο.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)		
φX174	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	4.5x10 ³	με άμμο	4.84E-002	2.40E-002	1.21E-002		
			χωρίς άμμο	2.27E-002	1.50E-002	9.90E-003		
		6.9x10 ⁴	με άμμο	4.96E-001	5.45E-002	2.88E-002		
			χωρίς άμμο	2.35E-001	5.49E-002	2.54E-002		
		5.9x10 ⁵	με άμμο	1.00E-002	2.14E-002	2.90E-003		
			χωρίς άμμο	7.10E-003	4.02E-002	2.30E-003		
	7.1x10 ⁷	με άμμο	2.00E-001	4.40E-002	1.98E-002			
		χωρίς άμμο	3.17E-001	4.68E-002	2.34E-002			
		3.6x10 ⁷	με άμμο	1.88E-001	4.71E-002	1.57E-002		
			χωρίς άμμο	1.48E-001	4.49E-002	1.41E-002		
		φX174	Μεσόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	7.5x10 ³	με άμμο	5.77E-002	1.40E-002	2.60E-002
					χωρίς άμμο	1.68E-001	2.30E-002	4.97E-002
9x10 ⁴	με άμμο			2.13E-001	4.66E-002	1.82E-002		
	χωρίς άμμο			1.06E-001	3.17E-002	2.02E-002		
5.5x10 ⁴	με άμμο			1.34E-001	1.23E-002	6.48E-002		
	χωρίς άμμο			4.21E-001	3.84E-002	5.41E-002		
5.5x10 ⁵	με άμμο	5.93E-002	1.48E-002	2.58E-002				
	χωρίς άμμο	3.94E-002	1.07E-002	2.13E-002				
	6.3x10 ⁵	με άμμο	7.98E-002	2.06E-002	2.39E-002			
		χωρίς άμμο	8.50E-002	1.39E-002	3.83E-002			
	φX174	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Δυναμικά	4.2x10 ³	με άμμο	1.22E-002	4.60E-003	9.90E-003	
				χωρίς άμμο	4.50E-002	1.96E-002	1.58E-002	
5.7x10 ⁴			με άμμο	4.36E-002	2.41E-002	1.20E-002		
			χωρίς άμμο	6.10E-003	7.30E-003	4.50E-003		
9.2x10 ⁴			με άμμο	8.00E-004	4.03E-002	9.00E-003		
			χωρίς άμμο	4.69E-002	3.09E-002	1.01E-002		
1.5x10 ⁶	με άμμο	5.27E-002	4.43E-002	5.90E-003				
	χωρίς άμμο	3.07E-002	3.58E-002	5.40E-003				
	5.8x10 ⁶	με άμμο	7.45E-002	3.93E-002	7.60E-003			
		χωρίς άμμο	9.85E-002	5.46E-002	4.40E-003			

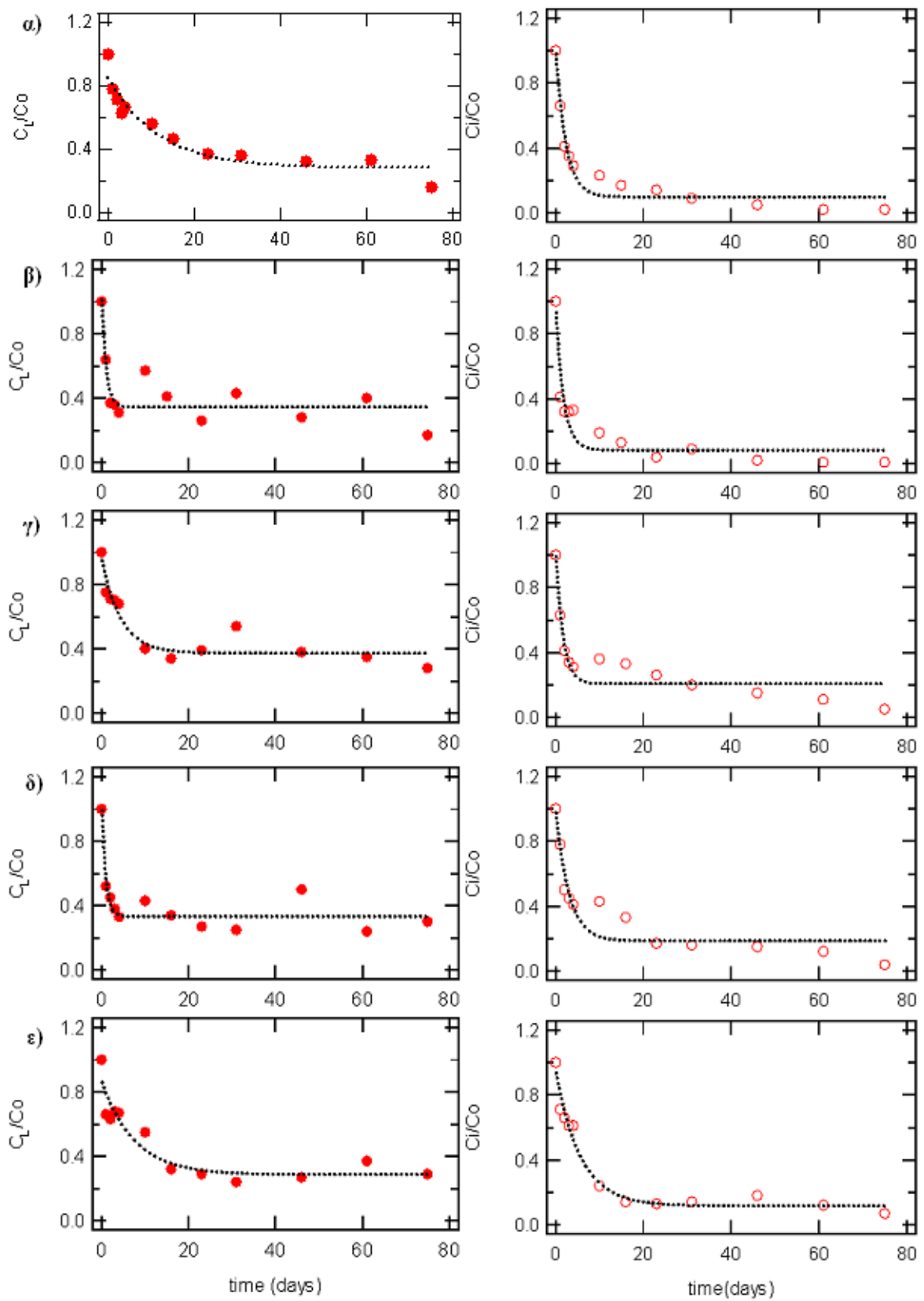
Τα γραφήματα (3.13 -3.15) που προέκυψαν από τα πειράματα του βακτηριοφάγου φX174 παρουσία μεσόκοκκης άμμου, στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες έδειξαν ότι η αδρανοποίηση του φX174 επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση των ιών. Στα πειράματα διαλείποντος έργου υπό στατικές συνθήκες, με τις μικρότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αδρανοποίηση σε σύντομο χρονικό διάστημα, απ' ότι στα πειράματα με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Επιπλέον στα πειράματα στους 20 °C, η αδρανοποίηση ήταν μεγαλύτερη απ' ότι στους 4 °C.

Στα γραφήματα 3.15 που προέκυψαν από τα πειράματα, τα οποία έγιναν υπό δυναμικές συνθήκες παρατηρήθηκε ότι η αδρανοποίηση των ιών είναι πιο αργή δηλαδή κυριαρχούν σε μεγάλο ποσοστό ένα ανθεκτικό υποσύνολο του βακτηριοφάγου φX174. Τα παραπάνω διαπιστώθηκαν και από τις προσεγγιστικές παραμέτρους αδρανοποίησης στον πίνακα 3.5.

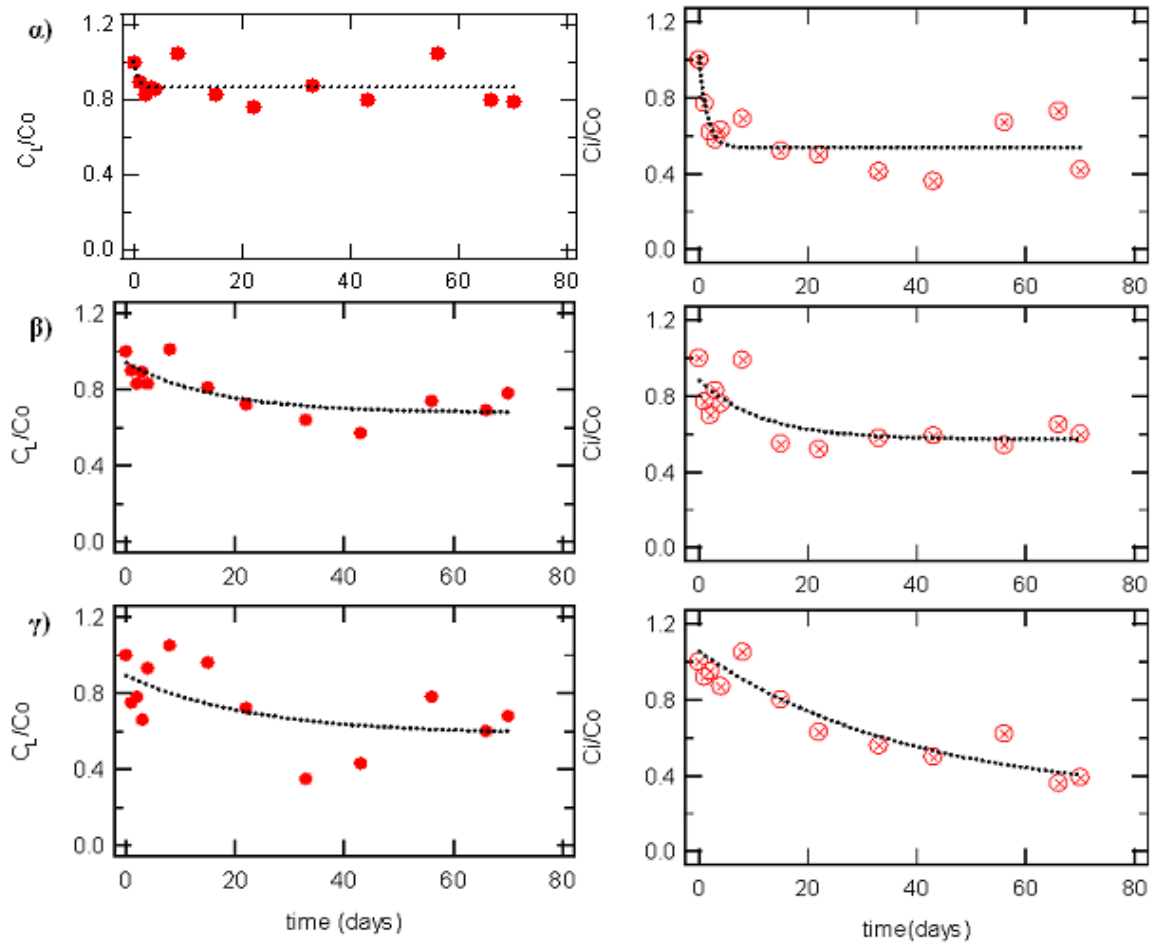
3.1.2.3 Αποτελέσματα χονδρόκοκκης άμμου



Γράφημα 3.16: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 1.7×10^3 β) 2.5×10^4 γ) 1.5×10^5 δ) 2.0×10^6 ε) 2.0×10^7 .



Γράφημα 3.17: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (○) στους 20 °C, συγκεντρώσεων α) 1.7×10^3 β) 2.5×10^4 γ) 1.5×10^5 δ) 2.0×10^6 ε) 2.0×10^7 .



Γράφημα 3.18: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου με χονδρόκοκκη άμμο (●) και χωρίς άμμο (⊗) στους 4 °C, συγκεντρώσεων α) 2.0×10^4 β) 1.7×10^5 γ) 2.0×10^6 .

Τα γραφήματα (3.16-3.18) που προέκυψαν έδειξαν ότι η αδρανοποίηση του φX174 επηρεάζεται από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στα πειράματα διαλείποντος έργου υπό στατικές συνθήκες, με μικρές συγκεντρώσεις (10^3 - 10^4) παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αδρανοποίηση σε σύντομο χρονικό διάστημα, απ' ότι στα πειράματα με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Επίσης από τα γραφήματα, είναι εμφανές ότι η αδρανοποίηση των ιών, παρουσία χονδρόκοκκης άμμου, είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με τα πειράματα αναφοράς. Αυτό παρατηρείται και στις δυο θερμοκρασίες, αν και στους 20 °C παρά την παρουσία άμμου η αδρανοποίηση παραμένει μεγαλύτερη από αυτή στους 4 °C.

Στα πειράματα, τα οποία έγιναν υπό δυναμικές συνθήκες σε μερικές περιπτώσεις οι κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις βακτηριοφάγων ήταν άνω του 1, αυτό οφειλόταν σε μικρές παραλλαγές της αρχικής συγκέντρωσης των αιωρημάτων των ιών σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Επίσης από τα γραφήματα παρατηρήθηκε ότι παρουσία άμμου σε μερικές περιπτώσεις αν και είχε περάσει μεγάλο χρονικό διάστημα από την έναρξη των

πειραμάτων, η συγκέντρωση των ιών παρέμενε υψηλή.

Πίνακας 3.6: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)
φX174	Χονδρόκοκκη άμμος 4 °C	1.7x10 ³	με άμμο	2.82E-002	2.47E-002	8.40E-003
			χωρίς άμμο	1.36E-001	4.04E-002	1.56E-002
	Στατικά	2.5x10 ⁴	με άμμο	1.03E-001	3.70E-002	1.46E-002
			χωρίς άμμο	2.61E-001	4.39E-002	2.58E-002
		1.5x10 ⁵	με άμμο	9.95E-002	4.20E-002	1.09E-002
			χωρίς άμμο	7.91E-002	3.49E-002	1.23E-002
		2x10 ⁶	με άμμο	9.08E-002	5.25E-002	5.90E-003
			χωρίς άμμο	5.91E-002	2.75E-002	1.31E-002
	2x10 ⁷	με άμμο	5.82E-002	3.78E-002	7.90E-003	
		χωρίς άμμο	9.75E-002	4.43E-002	9.80E-003	
φX174	Χονδρόκοκκη άμμος 20 °C	1.7x10 ³	με άμμο	1.26E-001	2.87E-002	2.52E-002
			χωρίς άμμο	2.80E-001	2.71E-002	6.53E-002
	Στατικά	2.5x10 ⁴	με άμμο	2.35E-001	4.28E-002	2.51E-002
			χωρίς άμμο	3.59E-001	2.91E-002	7.55E-002
		1.5x10 ⁵	με άμμο	1.33E-001	3.47E-002	2.07E-002
			χωρίς άμμο	2.52E-001	3.38E-002	4.22E-002
		2x10 ⁶	με άμμο	2.75E-001	4.16E-002	3.16E-002
			χωρίς άμμο	1.96E-001	2.80E-002	4.41E-002
	2x10 ⁶	με άμμο	1.59E-001	3.54E-002	2.37E-002	
		χωρίς άμμο	1.91E-001	2.77E-002	4.22E-002	
φX174	Χονδρόκοκκη άμμος 4 °C	2x10 ⁴	με άμμο	5.02E-002	4.64E-002	4.30E-003
			χωρίς άμμο	1.45E-001	4.70E-002	1.30E-002
	Δυναμικά	1.7x10 ⁵	με άμμο	5.67E-002	3.96E-002	6.90E-003
			χωρίς άμμο	6.13E-002	3.42E-002	1.03E-002
		2x10 ⁶	με άμμο	6.25E-002	3.78E-002	9.70E-003
			χωρίς άμμο	3.47E-002	1.72E-002	1.39E-002

Στον πίνακα 3.6 φαίνονται οι προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φX174 παρουσία χονδρόκοκκης άμμου, στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Σημειώνεται ότι, παρουσία της χονδρόκοκκης άμμου, ο λ_0 αυξάνεται με μείωση της συγκέντρωσης στην περίπτωση όπου δεν υπάρχει παρουσία χονδρόκοκκης άμμου. Ο ρυθμός αδρανοποίησης (λ), του βακτηριοφάγου φX174 παίρνει τις μικρότερες τιμές του για τα πειράματα που διεξάχθηκαν υπό δυναμικές συνθήκες, κάτι το οποίο ήταν αναμενόμενο καθώς διαπιστώθηκε και από τα παραπάνω γραφήματα.

Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι σε γενικές γραμμές η αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου φX174 ήταν παρόμοια ως προς τις επικρατούσες συνθήκες (θερμοκρασία, δυναμικές – στατικές συνθήκες) με μικρές διαφορές των συντελεστών ως προς το τύπο της άμμου.

3.2 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ

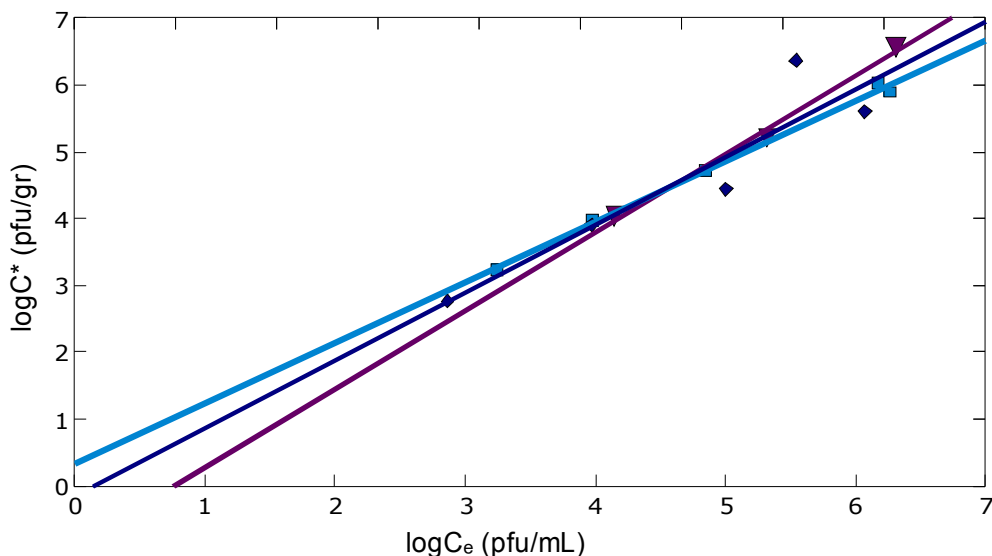
Στους Πίνακες 3.7-3.12 και στα Γραφήματα 3.19 – 3.24 παρατίθενται οι ισόθερμες προσρόφησης από την διεξαγωγή των πειραμάτων για τους βακτηριοφάγους MS2 και φX174. Τα αποτελέσματα αντιστοιχούν σε σαράντα πειράματα προσρόφησης για κάθε φάγο, τα οποία πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Τεχνολογίας του Περιβάλλοντος, του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών.

Έπειτα από δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν στα υπάρχοντα μοντέλα προσρόφησης, αυτό που κρίθηκε κατάλληλο για την εφαρμογή των πειραμάτων προσρόφησης που διεξάχθηκαν ήταν η ισοθερμική προσρόφηση τύπου Freundlich, η οποία είναι μια μη-γραμμική σχέση μεταξύ C και C^* η οποία εκφράζεται από την σχέση (2.6) όπου C^* ήταν η προσροφημένη συγκέντρωση του ιού όταν το σύστημα βρισκόταν σε κατάσταση ισορροπίας, το C ήταν η συγκέντρωση του ιού στο υπερκείμενο υγρό, δηλαδή η μη προσροφημένη ποσότητα του ιού όταν το σύστημα βρισκόταν σε κατάσταση ισορροπίας. Οι παράμετροι K_f , m , προσδιορίστηκαν με την εγκατάσταση στην εξίσωση (2.7) των παρατηρηθέντων λογαριθμικών συγκεντρώσεων των βακτηριοφάγων. Το m προσδιορίστηκε από τη κλίση της γραμμής και το K_f από τη τομή της γραμμής με τον άξονα y .

Η επεξεργασία των δεδομένων της εργασίας αυτής πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού Igor Pro 6.0. Στα γραφήματα που ακολουθούν απεικονίζεται η προσρόφηση τύπου Freundlich για όλες τις συνθήκες που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα. Στους πίνακες παρατίθενται οι σταθερές ισόθερμης Freundlich K_f , m , και το R^2 .

3.2.1 Βακτηριοφάγος MS2

3.2.1.1 Προσρόφηση σε λεπτόκοκκη άμμο



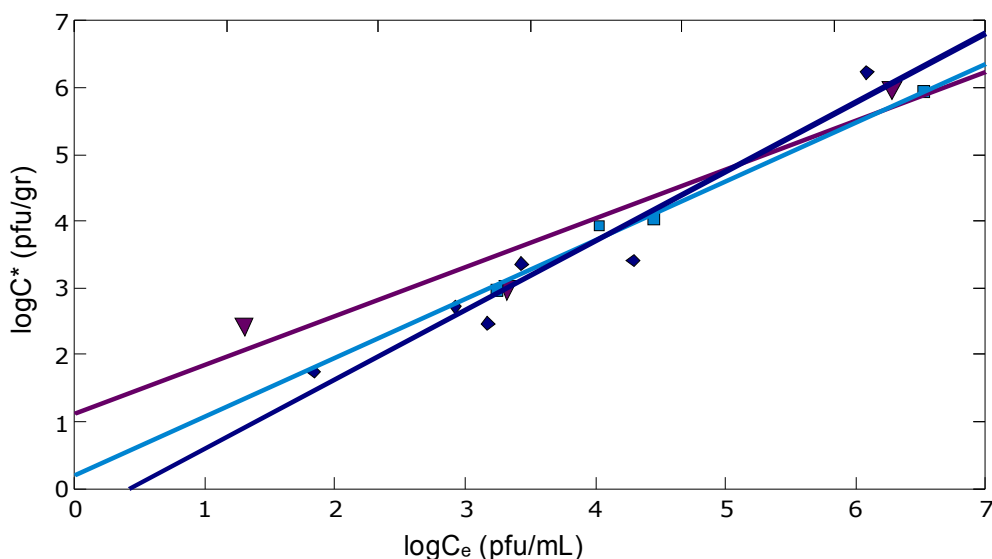
Γράφημα 3.19: Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του MS2 σε λεπτόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).

Πίνακας 3.7: Σταθερές ισόθερμης Freundlich

Φάγος	Άμμος	Συνθήκες	K_f	m	R^2
MS2	Λεπτόκοκκη άμμος	4 °C, Στατικά	2.432	0.847	0.985
		20 °C, Στατικά	2.178	0.904	0.996
		4 °C, Δυναμικά	0.131	1.168	0.992

Στο γράφημα 3.19 και στον πίνακα 3.7 φαίνονται τα αποτελέσματα προσρόφησης του βακτηριοφάγου MS2 σε λεπτόκοκκη άμμο (150 – 212 μm), στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Από τον πίνακα 3.7 παρατηρείται ότι το R^2 κυμαίνεται από 0.985 έως 0.996 το οποίο μας δείχνει την καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην ισόθερμη τύπου Freundlich. Η σταθερά K_f , έχει μεγάλες τιμές για τα στατικά πειράματα και μικρότερη τιμή για τα δυναμικά, αυτό δείχνει τους ασθενείς δεσμούς που δημιουργούνται μεταξύ των ιόν και των κόκκων της άμμου, οι οποίοι λόγω της δυναμικής τους συστήματος σπάνε και έχει σαν αποτέλεσμα το μικρό ποσοστό προσρόφησης. Οι μικρές τιμές της σταθεράς m , 0.894 και 0.904, για τα στατικά πειράματα στους 4 °C και 20 °C αντίστοιχα, δείχνουν ότι η λεπτόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής σε μικρές συγκεντρώσεις του βακτηριοφάγου MS2 για τις συγκεκριμένες επικρατούσες συνθήκες.

3.2.1.2 Προσρόφηση σε μεσόκοκκη άμμο



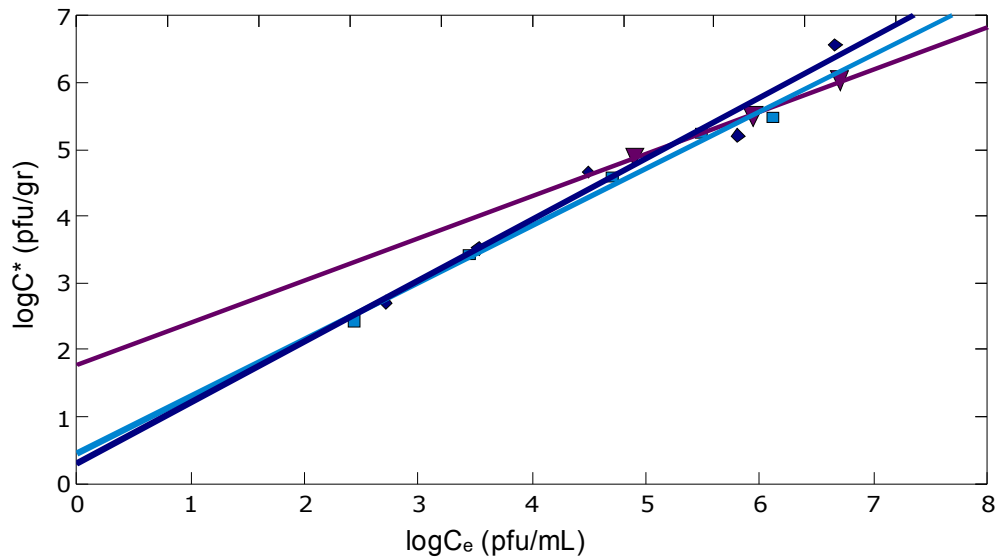
Γράφημα 3.20: Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του MS2 σε μεσόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).

Πίνακας 3.8: Σταθερές ισόθερμης Freundlich

Φάγος	Άμμος	Συνθήκες	K_f	m	R^2
MS2	Μεσόκοκκη άμμος	4 °C, Στατικά	0.370	1.035	0.934
		20 °C, Στατικά	1.574	0.880	0.990
		4 °C, Δυναμικά	13.122	0.730	0.928

Στο γράφημα 3.20 και στον πίνακα 3.8 φαίνονται τα αποτελέσματα προσρόφησης του βακτηριοφάγου MS2 σε μεσόκοκκη άμμο (425 - 600 μm), στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Από τον πίνακα 3.8 παρατηρείται ότι το R^2 κυμαίνεται από 0.928 έως 0.990 το οποίο μας δείχνει την καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην ισόθερμη τύπου Freundlich. Η σταθερά K_f , έχει μικρές τιμές για τα στατικά πειράματα και μεγαλύτερη τιμή για τα δυναμικά, αυτό δείχνει ότι η δυναμική του συστήματος και η παρουσία αέρα επηρεάζει στη συμπεριφορά του βακτηριοφάγου ως προς την προσρόφηση πάνω στους κόκκους της άμμου. Η μικρή τιμή της σταθεράς m , 0.730, για τα δυναμικά πειράματα στους 4 °C, δείχνουν ότι η μεσόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής σε μικρές συγκεντρώσεις του βακτηριοφάγου MS2 για τις συγκεκριμένες επικρατούσες συνθήκες, ενώ στα στατικά παρατηρείται, από την διαφορά των τιμών μεταξύ των πειραμάτων στις δυο διαφορετικές θερμοκρασίες, ότι η προσρόφηση επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, με μεγαλύτερη να είναι η προσρόφηση στους 20 °C.

3.2.1.3 Προσρόφηση σε χονδρόκοκκη άμμο



Γράφημα 3.21: Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του MS2 σε χονδρόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).

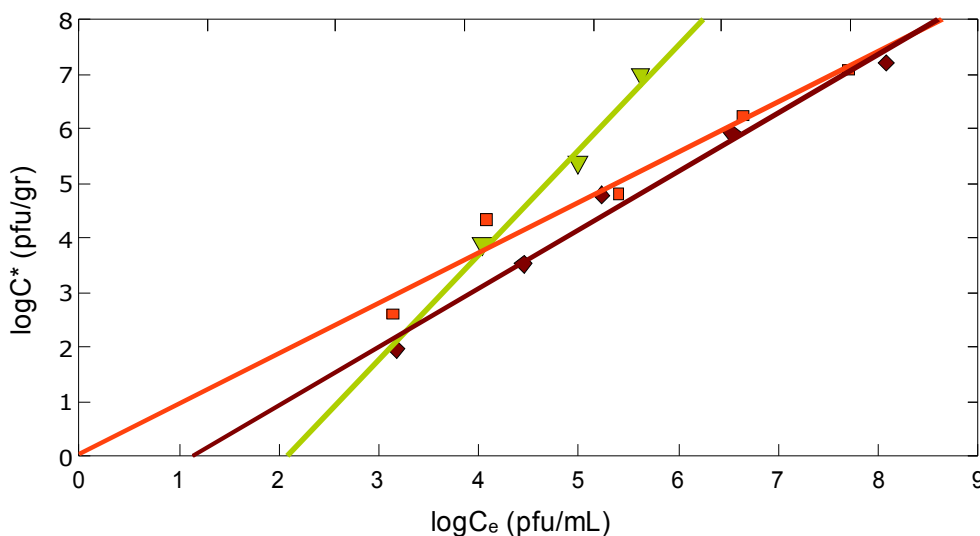
Πίνακας 3.9: Σταθερές ισόθερμης Freundlich

Φάγος	Άμμος	Συνθήκες	K_f	m	R^2
MS2	Χονδρόκοκκη άμμος	4 °C, Στατικά	2.004	0.911	0.970
		20 °C, Στατικά	2.851	0.851	0.989
		4 °C, Δυναμικά	59.020	0.632	0.998

Στο γράφημα 3.21 και στον πίνακα 3.9 φαίνονται τα αποτελέσματα προσρόφησης του βακτηριοφάγου MS2 σε χονδρόκοκκη άμμο (1180 - 1700 μm), στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Από τον πίνακα 3.9 παρατηρείται ότι το R^2 κυμαίνεται από 0.970 έως 0.998 το οποίο μας δείχνει την πολύ καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην ισόθερμη τύπου Freundlich. Η σταθερά K_f , έχει μικρές τιμές για τα στατικά πειράματα και μεγαλύτερη τιμή για τα δυναμικά, αυτό δείχνει ότι η δυναμική του συστήματος και η παρουσία αέρα επηρεάζει στη συμπεριφορά του βακτηριοφάγου ως προς την προσρόφηση πάνω στους κόκκους της άμμου. Οι μικρές τιμές της σταθεράς m , 0.911 και 0.851, για τα στατικά πειράματα στους 4 °C και 20 °C αντίστοιχα, δείχνουν ότι η χονδρόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής σε μικρές συγκεντρώσεις του βακτηριοφάγου MS2 για τις συγκεκριμένες επικρατούσες συνθήκες, επιπλέον η ακόμα μικρότερη τιμή της σταθεράς m , 0.632, για τα δυναμικά πειράματα στους 4 °C, δείχνουν ότι τους ισχυρούς δεσμούς που δημιουργούνται μεταξύ των ιόν και των κόκκων της άμμου.

3.2.2 Βακτηριοφάγος φX174

3.2.2.1 Προσρόφηση σε λεπτόκοκκη άμμο



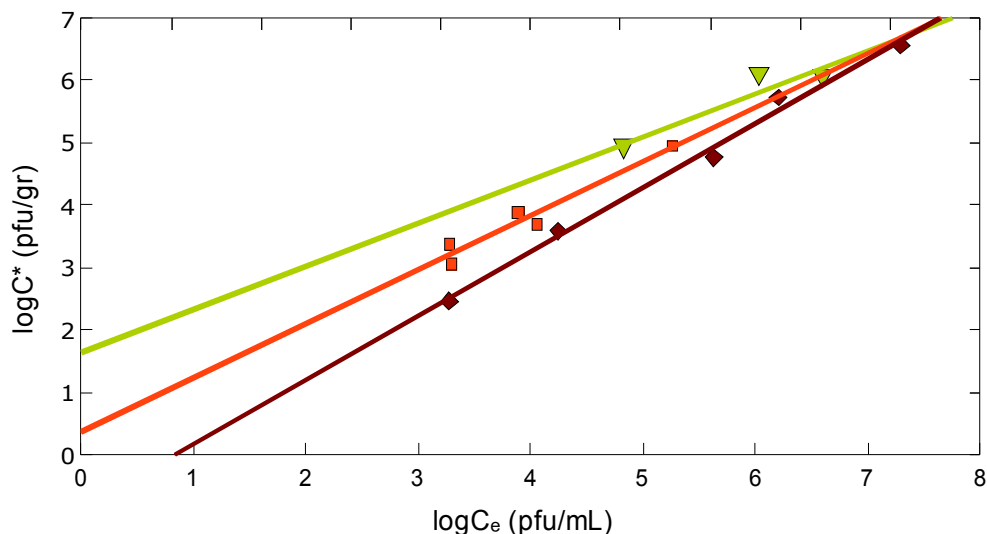
Γράφημα 3.22: Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).

Πίνακας 3.10: Σταθερές ισόθερμης Freundlich

Φάγος	Άμμος	Συνθήκες	K _f	m	R ²
φX174	Λεπτόκοκκη άμμος	4 °C, Στατικά	0.061	1.072	0.983
		20 °C, Στατικά	1.081	0.922	0.963
		4 °C, Δυναμικά	0.0001	1.920	0.982

Στο γράφημα 3.22 και στον πίνακα 3.10 φαίνονται τα αποτελέσματα προσρόφησης του βακτηριοφάγου φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο (150 – 212 μm), στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Από τον πίνακα 3.10 παρατηρείται ότι το R² κυμαίνεται από 0.963 έως 0.983 το οποίο μας δείχνει την καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην ισόθερμη τύπου Freundlich. Η σταθερά K_f, έχει πολύ μικρές τιμές για τα πειράματα στους 4 °C και μεγαλύτερη τιμή για τα πειράματα στους 20 °C, αυτό δείχνει ότι η προσρόφηση επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, με μεγαλύτερη να είναι η προσρόφηση στους 20 °C. Η μικρή τιμή της σταθεράς m, 0.922, για τα στατικά πειράματα στους 20 °C, δείχνουν ότι η λεπτόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής σε μικρές συγκεντρώσεις του βακτηριοφάγου φX174 για τις συγκεκριμένες επικρατούσες συνθήκες, επιπλέον η μεγάλη τιμή της σταθεράς m, 1.920, για τα δυναμικά πειράματα στους 4 °C, δείχνει τους ασθενείς δεσμούς που δημιουργούνται μεταξύ των ιόν και των κόκκων της άμμου.

3.2.2.2 Προσρόφηση σε μεσόκοκκη άμμο



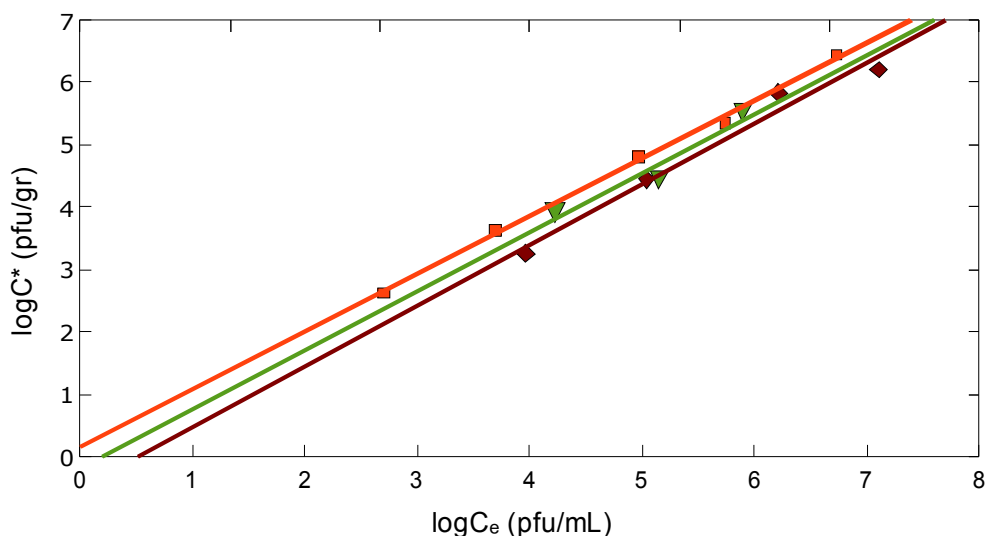
Γράφημα 3.23: Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του φX174 σε μεσόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).

Πίνακας 3.11: Σταθερές ισόθερμης Freundlich

Φάγος	Άμμος	Συνθήκες	K _f	m	R ²
φX174	Μεσόκοκκη άμμος	4 °C, Στατικά	0.140	1.028	0.992
		20 °C, Στατικά	2.328	0.866	0.944
		4 °C, Δυναμικά	44.566	0.690	0.888

Στο γράφημα 3.23 και στον πίνακα 3.11 φαίνονται τα αποτελέσματα προσρόφησης του βακτηριοφάγου φX174 σε μεσόκοκκη άμμο (425 - 600 μm), στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Από τον πίνακα 3.11 παρατηρείται ότι το R² κυμαίνεται από 0.888 έως 0.992, το οποίο μας δείχνει την καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην ισόθερμη τύπου Freundlich, για τα στατικά πειράματα. Η σταθερά K_f, έχει μικρές τιμές για τα στατικά πειράματα και μεγαλύτερη τιμή για τα δυναμικά, αυτό δείχνει ότι η δυναμική του συστήματος και η παρουσία αέρα επηρεάζει στη συμπεριφορά του βακτηριοφάγου ως προς την προσρόφηση πάνω στους κόκκους της άμμου. Η μικρή τιμή της σταθεράς m, 0.690, για τα δυναμικά πειράματα στους 4 °C, δείχνουν ότι η μεσόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής σε μικρές συγκεντρώσεις του βακτηριοφάγου φX174 για τις συγκεκριμένες επικρατούσες συνθήκες.

3.2.2.3 Προσρόφηση σε χονδρόκοκκη άμμο



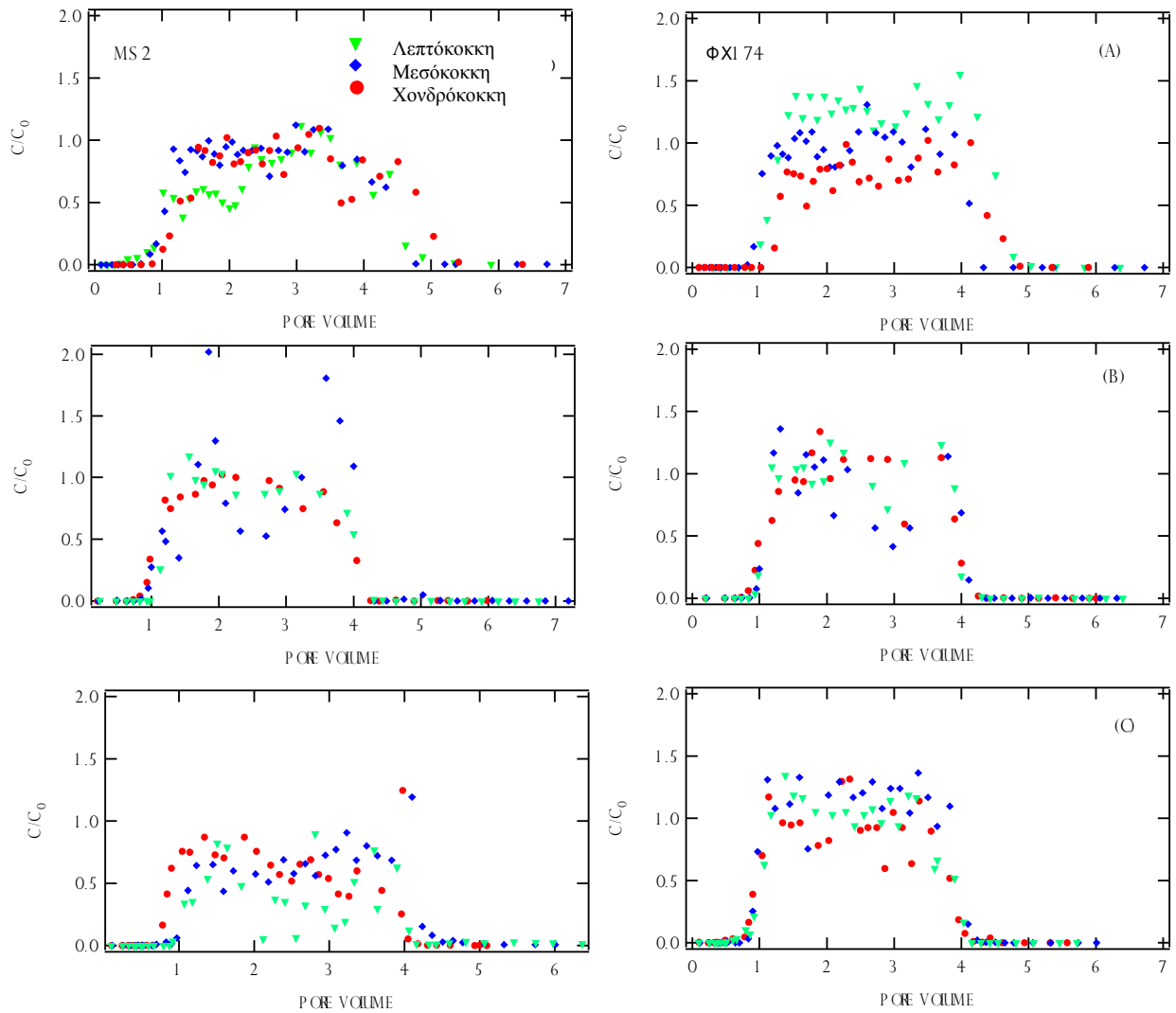
Γράφημα 3.24: Ισόθερμες Freundlich για την προσρόφηση του φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο. Υπό στατικές συνθήκες στους 4 °C (—◆—) και στους 20 °C (—■—) και υπό δυναμικές συνθήκες στους 4 °C (—▼—).

Πίνακας 3.12: Σταθερές ισόθερμης Freundlich

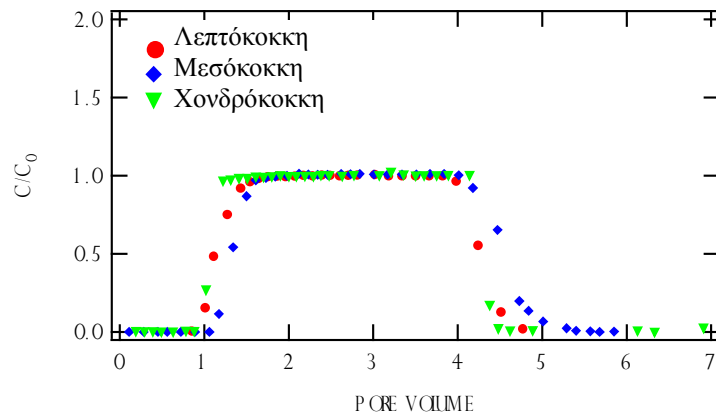
Φάγος	Άμμος	Συνθήκες	K_f	m	R^2
φX174	Χονδρόκοκκη	4 °C, Στατικά	0.318	0.973	0.975
		20 °C, Στατικά	1.449	0.925	0.997
		4 °C, Δυναμικά	0.652	0.945	0.937

Στο γράφημα 3.24 και στον πίνακα 3.12 φαίνονται τα αποτελέσματα προσρόφησης του βακτηριοφάγου φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο (1180 - 1700 μm), στους 4°C και 20 °C υπό στατικές συνθήκες και στους 4°C υπό δυναμικές συνθήκες. Από τον πίνακα 3.12 παρατηρείται ότι το R^2 κυμαίνεται από 0.937 έως 0.997 το οποίο μας δείχνει την πολύ καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην ισόθερμη τύπου Freundlich. Η σταθερά K_f , έχει πολύ μικρές τιμές για τα πειράματα στους 4 °C και μεγαλύτερη τιμή για τα πειράματα στους 20 °C, αυτό δείχνει ότι η προσρόφηση επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, με μεγαλύτερη να είναι η προσρόφηση στους 20 °C. Η μικρή τιμή της σταθεράς m , 0.925, για τα στατικά πειράματα στους 20 °C, δείχνουν ότι η χονδρόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής σε μικρές συγκεντρώσεις του βακτηριοφάγου φX174 για τις συγκεκριμένες επικρατούσες συνθήκες, οι τιμές της σταθεράς m , για τα πειράματα στους 4 °C, είναι μεγαλύτερες απ' ότι στους 20 °C, αλλά λόγω του ότι παραμένει κάτω από 1 θεωρείται ότι η χονδρόκοκκη άμμος είναι αποτελεσματική ως προσροφητής του βακτηριοφάγου φX174.

3.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ



Γράφημα 3.25: Πειραματικά δεδομένα βακτηριοφάγου MS2 και φX174, μεταφοράς σε στήλες με a) 2.5, b) 1.5 και c) 0.8 mL/min ρυθμό ροής, σε τρεις διαφορετικές άμμους, υπό κορεσμένες συνθήκες .



Γράφημα 3.26: Πειραματικά δεδομένα βακτηρίου *E.coli* CN13, μεταφοράς σε στήλες με 2.5 mL/min ρυθμό ροής, σε τρεις διαφορετικές άμμους, υπό κορεσμένες συνθήκες.

Η μεταφορά των ιών στο υπέδαφος καθορίζεται από την προσρόφηση ή εκρόφηση τους στους εδαφικούς κόκκους και από το ρυθμό αδρανοποίησης τους. Η εκρόφηση των ιών επηρεάζεται άμεσα από τις υδρολογικές συνθήκες στο υπέδαφος, για αυτό το λόγο έγιναν πειράματα μεταφοράς με τρεις διαφορετικούς ρυθμούς ροής. Από τα πειράματα μεταφοράς που πραγματοποιήθηκαν προέκυψαν τα παραπάνω γραφήματα (γράφημα 3.25 - 3.26). Στα γραφήματα 3.25 φαίνονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για τους βακτηριοφάγους MS2 και φX174 σε στήλες πληρωμένες με λεπτόκοκκη, μεσόκοκκη και χονδρόκοκκη άμμο, υπό κορεσμένες συνθήκες, με ρυθμούς ροής (2.5, 1.5 και 0.8 mL/min), ενώ στο γράφημα 3.26 φαίνονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για το βακτήριο *E.coli* CN13 με ρυθμό ροής 2.5 mL/min .

Τα αποτελέσματα από τα πειράματα για τον βακτηριοφάγο MS2 έδειξαν ότι όσο μικρότερη ήταν η κοκκομετρική διάμετρο της άμμου τόσο μικρότερη ήταν και η συγκέντρωση του βακτηριοφάγου στην εκροή, δηλαδή τόσο μεγαλύτερη ήταν η συγκράτηση του βακτηριοφάγου στην άμμο. Αυτό οφείλεται στην κοκκομετρική διάμετρο της κάθε άμμου, που έχει επίδραση στο πορώδες της στήλης. Επίσης παρατηρήθηκε ότι στο μικρότερο ρυθμό ροής (0.8 mL/min), η κανονικοποιημένη συγκέντρωση του βακτηριοφάγου παραμένει χαμηλή καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων, αυτό πιθανόν οφείλεται, είτε στην μη αναστρέψιμη προσρόφηση του ιού, είτε στην αδρανοποίηση του.

Ο βακτηριοφάγος φX174, παρουσίασε μικρή συγκράτηση στη λεπτόκοκκη άμμο, σε αντίθεση με τον MS2. Αυτή η διαφορά στην συμπεριφορά τους ως προς την προσρόφηση, πιθανόν οφείλεται στη διαφορά των ισοηλεκτρικών σημείων των δύο ιών. Επίσης από τα πειραματικά αποτελεσματα, παρατήρηθηκε ότι ο MS2 παρουσιάζει σημαντική προσκόλληση, ενώ ο φX174 όχι.

Στο γράφημα 3.25 φαίνεται ότι η συμπεριφορά του βακτηρίου *E.coli* CN13 είναι παρόμοια για κάθε είδος άμμου, αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχει καμία σημαντική διαφορά στο βακτηριακό ποσοστό απόθεσης μεταξύ των τριών διαφορετικών άμμων στη σχετικά χαμηλή ιοντική δύναμη που διεξάχθηκαν τα πειράματα. Κατά την έκπλυση της στήλης με καθαρό διάλυμα PBS, παρατηρήθηκε η γρήγορη μείωση της συγκέντρωσης του βακτηρίου σε σύντομο χρονικό διάστημα, δηλαδή και κατά συνέπεια η εκρόφηση του βακτηρίου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αδρανοποίηση και η προσρόφηση είναι οι δύο σημαντικότερες διαδικασίες που ελέγχουν την κινητικότητα των ιών στο υπέδαφος, για αυτό το λόγο έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για να ερευνηθούν την επίδραση διάφορων παραγόντων (Adams, 1948; Bitton, 1975; Gebra, 1984; Sobsey, 1983; Yates *et al.*, 1987; Bales *et al.*, 1991; Azadpour-Keeley, 2005; Shein and Devin, 2007; Ryan *et al.*, 2002; Ferguson *et al.*, 2003; Harvey and Ryan 2004; Anders and Chrysikopoulos, 2005; Avsaroglu *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2008). Στη παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε μελέτη της αδρανοποίησης και της προσρόφησης και κατά επιδρά το είδος του ιού, η θερμοκρασία, η κοκκομετρία του εδαφικού υλικού, η συγκέντρωση του ιού και η παρουσία αέρα. Για να προσδιοριστεί η επίδραση του κάθε παράγοντα, άλλαζε ένας παράγοντας κάθε φορά και οι υπόλοιποι παρέμεναν ίδιοι. Οι συνθήκες που επικρατούσαν ήταν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων.

Η ιοντική ισχύς (≈ 2 mM), όπως και το pH (= 7.5) ήταν ίδια για όλα τα πειράματα που διεξήχθησαν, καθώς μελέτες έχουν δείξει ότι επιδρούν σε μεγάλο βαθμό στην αδρανοποίηση και την προσρόφηση των ιών. Συγκεκριμένα, η μείωση της ιοντικής ισχύος έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της προσρόφησης και εν συνεχεία την αύξηση της αδρανοποίησης (Shein & Devin, 2007). Ενώ για το pH έχει παρατηρηθεί ότι σε υψηλότερα pH οι ηλεκτροστατικές απωθητικές δυνάμεις αυξάνονται, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μειωμένο ποσοστό επικόλλησης και αυξημένο ποσοστό αποκόλλησης των βακτηριοφάγων στα σωματίδια. Οι ιοί είναι υδρόφιλα κολλοειδή υλικά, και η προσρόφησή τους εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος από τις ηλεκτροστατικές ιδιότητες της επιφάνειας του εδάφους στην οποία το pH συμβάλλει κατά πολύ (Kapusinski & Mitchell, 1980). Οι περισσότεροι ιοί έχουν καθαρό φορτίο το οποίο ποικίλει ανάλογα με το pH (Ferguson *et al.*, 2003), καθώς επηρεάζεται από το ισοηλεκτρικό σημείο του κάθε ιού. Το ισοηλεκτρικό σημείο ενός ιού μπορεί να ποικίλει όχι μόνο με το είδος του ιού αλλά και από στέλεχος σε στέλεχος (Gebra, 1984; Ferguson *et al.*, 2003).

Η προσρόφηση των βακτηριοφάγων διαφέρει πολύ και εξαρτάται από το είδος ή το στέλεχος του ιού που μελετάται. Γι' αυτό το λόγο οι βακτηριοφάγοι που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν δυο βακτηριοφάγοι με διαφορετικά χαρακτηριστικά μεταξύ τους. Ο MS2 είναι ένας εικοσαεδρικός φάγος με διάμετρο 27nm και χαμηλό ισοηλεκτρικό σημείο του pI 3.5 (Penrod *et al.*, 1996). Ο φX174 ουσιαστικά δεν έχει φορτίο

σε φυσικό pH (pI = 6.6 - 6.8) και έχει μέγεθος 27 nm (Fujito and Lytle, 1996; Dowd *et al.*, 1998). Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν, όπως φαίνεται στα γραφήματα 3.1 – 3.18 και στους πίνακες 3.7 – 3.12, παρατηρήθηκε ότι ο MS2 παρουσιάζει μεγαλύτερη αδρανοποίηση και προσρόφηση από τον φX174 στις τρεις άμμους (λεπτόκοκκη, μεσόκοκκη και χονδρόκοκκη) που χρησιμοποιήθηκαν. Θεωρήθηκε ότι η διαφορά στην συμπεριφορά τους ως προς την προσρόφηση, αντικατροπτίζει την διαφορά των ισοηλεκτρικών σημείων των δύο ιών. Ο φX174 είναι ένας σχετικά συντηρητικός ιός – μοντέλο λόγω της μικρής υδροφοβικότητας (Shields and Farrah, 1987) και σταθερότητας του (DeBorde *et al.*, 1998, 1999). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δείξει και οι Herbold-Paschke *et al.* (1991), με πειράματα σε χονδρόκοκκη και μεσόκοκκη άμμο, όπου η προσρόφηση του MS2 ήταν μεγαλύτερη ή περίπου ίση με αυτή των T4 και φX174. Ο MS2 έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε μελέτες αδρανοποίησης, προσρόφησης ιών και θεωρείται καλός ιός - μοντέλο επειδή συμπεριφέρεται πιο συντηρητικά από πολλούς παθογόνους ιούς και βρίσκεται για σημαντικές χρονικές περιόδους στα υπόγεια νερά (Ryan *et al.*, 2002; Harvey and Ryan, 2004).

Οι ιοί παραμένουν ζωντανοί μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε χαμηλές θερμοκρασίες (1° C - 8°C) παρά σε υψηλές θερμοκρασίες (20° C - 32°C) (Reddy *et al.*, 1981, Sobsey, 1983, Yates *et al.*, 1985). Η θερμοκρασία έχει θεωρηθεί ως ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει την επιβίωση των ιών στο υπέδαφος και τα υπόγεια νερά (Schijven, 2000). Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στους δυο βακτηριοφάγους φX174 και MS2, σε θερμοκρασία 20°C και 4°C. Η αδρανοποίηση που παρατηρήθηκε ήταν μεγαλύτερη στους 20°C, απ' ό,τι στους 4°C και για τους δυο βακτηριοφάγους. Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στους 20 °C παρουσίασαν μεγάλη πτώση της συγκέντρωσης των φάγων, σε συντομότερο χρονικό διάστημα απ' ό,τι στους 4°C, όπως φαίνεται και στα γραφήματα 3.1 – 3.18. Αυτό πιθανόν οφείλεται στις υψηλές ενζυμικές και μικροβιακές δραστηριότητες, όπως η πρωτεΐνάση σε υψηλές θερμοκρασίες προκαλεί γρηγορότερη αδρανοποίηση και αποσύνθεση των ιών (Kimura *et al.*, 2008). Οι Yeager και O'Brien (1979) μελέτησαν την επίδραση της θερμοκρασίας (4, 22 και 37°C) για την αδρανοποίηση του poliovirus 1 σε κορεσμένο υπέδαφος και διαπίστωσαν ότι οι ιοί ανακτήθηκαν μέχρι και 12 ημέρες στους 37°C, ενώ στους 4°C ανακτήθηκαν από το υπέδαφος μέχρι και 180 ημέρες μετά.

Επίσης η προσκόλληση των ιών σε επιφάνειες στερεών στο υπέδαφος μπορεί να επηρεάσει την αδρανοποίησή τους. Για παράδειγμα, ο ιός PRD-1 πεθαίνει γρηγορότερα

ενώ οι ιοί poliovirus και hepatitis-A επιβιώνουν περισσότερο όταν είναι προσκολλημένοι σε επιφάνειες στερεών παρά όταν είναι αιωρούμενοι στο υπόγειο νερό (John and Rose, 2005). Επομένως, ο στερεός σκελετός του υπεδάφους είναι ένας παράγοντας που επιδρά προστατευτικά για ορισμένους ιούς. Αυτό διαπιστώθηκε από τα αποτελέσματα (γραφήματα 3.1 – 3.18) των πειραμάτων που διεξάχθηκαν για την παρούσα εργασία, όπου η αδρανοποίηση ήταν μεγαλύτερη στα πειράματα αναφοράς απ' ότι στα πειράματα με άμμο.

Η προσκόλληση των ιών σε επιφάνειες στερεών στο υπέδαφος καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από την σύσταση του εδαφικού υλικού. Μελέτες των Ryan και Elimelech (1996) υποστηρίζουν ότι οι ιοί συνδέονται κατά προτίμηση μόνο με ένα μέρος της εδαφικής επιφάνειας που φέρει τα ευνοϊκά χαρακτηριστικά φόρτισης. Περιγράφουν ότι η μεγαλύτερη επιφάνεια των εδαφικών κόκκων έχουν χημικά χαρακτηριστικά δυσμενή για την προσκόλληση σωματιδίων. Επομένως, η προσκόλληση κολλοειδών στα υπόγεια νερά είναι πιθανόν κατά ένα μεγάλο μέρος περιορισμένη σε ένα μικρό μέρος της επιφάνειας του κόκκου που έχει ευνοϊκά χαρακτηριστικά φόρτισης. Αυτές οι ευνοϊκά φορτισμένες επιφάνειες, είναι αποτέλεσμα της ετερογένειας του κόκκου, και συνήθως είναι τοπικά θετικά φορτισμένες σε μια επιφάνεια ενός αρνητικά φορτισμένου κόκκου. Αυτό παρατηρήθηκε και από τα αποτελέσματα των πειραμάτων προσρόφησης όπου παρουσίαζαν μεταβολές στις συγκεντρώσεις των ιών κατά την διάρκεια των πειραμάτων. Γι' αυτό το λόγο δεν ήταν δυνατό να διαπιστώσουμε την διαφορά προσρόφησης των υπό μελέτη ιών, όσον αφορά την κοκκομετρία της άμμου, αν και βιβλιογραφικά επικρατεί η θεωρία ότι η προσρόφηση είναι μεγαλύτερη σε λεπτόκοκκα εδαφικά υλικά απ' ότι σε χονδρόκοκκα, λόγω της μεγαλύτερης επιφάνειας που προσφέρεται για την προσκόλληση.

Στις περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση των ιών αυξάνεται, παρουσία χόματος, πιθανώς αυτό μπορεί να είχε προκληθεί από διαδικασίες σύνδεσης και αποσυνδέσεων. Αυτό παρατηρήθηκε στα πειράματα, τα οποία πραγματοποιήθηκαν υπό δυναμικές συνθήκες (γραφήματα 3.3, 3.6, 3.9, 3.12, 3.15, 3.18) όπου λόγω της προσκόλλησης και αποκόλλησης των ιών από τη στερεή επιφάνεια, των κόκκων της άμμου, προκάλεσε εν συνεχεία μεγαλύτερη αδρανοποίηση απ' ότι στα πειράματα, τα οποία ήταν υπό στατικές συνθήκες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της μελέτης της αδρανοποίησης και προσρόφησης ιών σε εδαφικό υλικό διαφορετικής κοκκομετρίας οδήγησε σε κάποια γενικά συμπεράσματα και παρατηρήσεις που παρουσιάζονται στη συνέχεια:

Γενικά τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την εργασία αυτή, συμβαδίζουν με τη σχετική βιβλιογραφία και τις ερευνητικές εργασίες που έχουν πραγματοποιηθεί. Η προσρόφηση και η αδρανοποίηση ιών, είναι οι δύο σημαντικότερες διαδικασίες που ελέγχουν την κινητικότητα των ιών στο υπέδαφος. Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την αδρανοποίηση και την προσρόφηση ιών μετά από την απελευθέρωση τους στο περιβάλλον συμπεριλαμβανομένου του τύπου του ιού, θερμοκρασία, καθώς και η αλληλεπίδραση με τις στερεές επιφάνειες.

Ο βακτηριοφάγος MS2 παρουσιάζει μεγαλύτερη αδρανοποίηση και προσρόφηση από τον φX174 στην άμμο που χρησιμοποιήθηκε. Η θερμοκρασία είναι ο σημαντικότερος παράγοντας αδρανοποίησης διότι καθορίζει τη διαμόρφωση του πρωτεϊνικού περιβλήματος στο χώρο. Οι ιοί παραμένουν ζωντανοί μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε χαμηλές θερμοκρασίες (4°C) παρά σε υψηλές θερμοκρασίες (20°C). Η προσκόλληση των ιών σε στερεές επιφάνειες επηρεάζει την αδρανοποίηση τους, άλλοτε θετικά, προστατεύοντας τους και άλλοτε αρνητικά, ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες του περιβάλλοντος. Παρατηρείται ότι υπό στατικές συνθήκες η προσκόλληση των ιών στη στερεή επιφάνεια επιδρά προστατευτικά, ενώ υπό δυναμικές συνθήκες επιδρά αρνητικά λόγω της προσκόλλησης και αποκόλλησης των ιών από τη στερεή επιφάνεια. Κατά την διεξαγωγή της παρούσας εργασίας παρατηρείται ότι ένας επιπλέον σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την αδρανοποίηση των ιών, είναι το μικροβιακό φορτίο στο περιβάλλον, όπου μικρές συγκεντρώσεις ιών παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη αδρανοποίηση απ' ότι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ιών.

Τέλος παρά τον μεγάλο αριθμό πειραμάτων που έχουν γίνει για την προσρόφηση και τη αδρανοποίηση των ιών, πολλοί επιστήμονες πιστεύουν ότι πρέπει να πραγματοποιηθούν περισσότερες πειραματικές μελέτες στο πεδίο. Επίσης πρέπει να πραγματοποιηθούν πειράματα στα οποία να μελετούνται περισσότεροι από δυο παράγοντες μαζί για να υπάρχει καλύτερη προσομοίωση των πειραμάτων στις συνθήκες του πεδίου, καθώς υπάρχουν πολλοί παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν την μεταφορά των ιών στο υπέδαφος και δεν έχουν μελετηθεί αρκετά μέχρι τώρα.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αγγέλης Γ., (2007), «Μικροβιολογία και Μικροβιακή Τεχνολογία», Εκδόσεις Σταμούκη Α.Ε., Αθήνα.
- Ιακωβίδης Μ., (2007), «Ιοί και Περιβάλλον», Μεταπτυχιακό πρόγραμμα, Περιβαλλοντική Μικροβιολογία, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο.
- Καραγκούνη-Κύρτσου Α., (1999), «Μικροβιολογία», Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα.
- Κολιαής Σ., (1992), «Μικροβιολογία», 2^η έκδοση, University Studio Press, Θεσσαλονίκη.
- Κρικέλης Β. και Βόντας Α., (2006), «Η παρουσία εντεροϊών στις υδάτινες μάζες αποτελεί κίνδυνο για τη Δημόσια Υγεία», Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Τ.Ε.Ι. Λάρισας.
- Μαυρίδου Α. και Παπαπετροπούλου Μ., (2001), «Μικροβιολογία του Υδάτινου Περιβάλλοντος», Εκδοτικός Οίκος Π. Τραυλός, Αθήνα.
- Σακελλαρίου Μ. και Κοζάνης Σ., (2003), «Εργαστηριακές δοκιμές εδαφομηχανικής», Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Αγρονόμων και Τοπογράφων Μηχανικών, Εργαστήριο Δοκιμής Μηχανικής, Αθήνα.
- Χρυσικόπουλος Κ., (2008), «Καθαρισμός Νερού», Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.
- Χρυσικόπουλος Κ., (2009), «Ειδικά θέματα Τεχνολογίας του Περιβάλλοντος», Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abad X.F., Pinto M.R., and Bosch A., (1994), “Survival of enteric viruses on environmental fomites”, *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 3704-3710.
- Adams H.M., (1948), “Surface inactivation of bacterial viruses and of proteins”, *The Journal of General Physiology*, **31**: 417-431.
- Anders R., and Chrysikopoulos C.V., (2009), “Transport of viruses through saturated and unsaturated columns packed with sand”, *Transport Porous Media*, **76**: 121-138.
- Anders R., and Chrysikopoulos C.V., (2006), “Evaluation of the Factors Controlling the Time-Dependent Inactivation Rate Coefficients of Bacteriophage MS2 and PRD1”, *Environmental Science Technology*, **40**: 3237-3242.

- ▣ Anders R., and Chrysikopoulos C.V., (2005), “Virus fate and transport during artificial recharge with recycled water”, *Water Resources Research*, **41**: W10415.
- ▣ APHA (American Public Health Association), (1981), “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 15th Edition, APHA, Washington D.C.
- ▣ Armon R. and Cabelli V. J., (1988), “Phage f2 desorption from clay in estuarine water using non-ionic detergents, beef extract and chaotropic agents”, *Canadian Journal of Microbiology*, **34**: 1022–1024.
- ▣ Arraj A., Bohatier J., Laveran H., and Traore O., (2005), “Comparison of bacteriophage and enteric virus removal in pilot scale activated sludge plants”, *Journal of Applied Microbiology*, **98**: 516-524.
- ▣ Avrasoglu D.M., Buzrul S., Aplas H., and Akcelik M., (2007), “Hypochlorite inactivation kinetics of lactococcal bacteriophages”, *Swiss Society of Food Science and Technology Published by Elsevier Lwt*, **40**: 1369-1375.
- ▣ Azadpour-Keeley H.W., (2005), “Transport and Survival of Viruses in the Subsurface -Processes, Experiments, and Simulation Models”, *Wiley Interscience*, DOI: 10.1002/rem.20048.
- ▣ Babich, H. and Stotzky, G., (1980), “Reductions in inactivation rates of bacteriophages by clay minerals in lake water”, *Water Research*, **14**: 185–187.
- ▣ Badireddy R.A., Hotze M.E., Chellam S., Alvarez P., and Wiesner R.M., (2007), “Inactivation of Bacteriophages via photosensitization of fullerol nanoparticles”, *Environmental Science Technology*, **41**: 6627-6632.
- ▣ Bales, R. C., Gerba, C. P., Grondin, G. H., and Jensen, S. L., (1989), “Bacteriophage transport in sandy soil and fractured tuff”, *Applied and Environmental Microbiology*, **55**(8): 2061–2067.
- ▣ Bales, R. C., Hinkle, S. R., Kroeger, T. W., Stocking, K., and Gerba, C. P., (1991), “Bacteriophage adsorption during transport through porous media: Chemical perturbations and reversibility”, *Environmental Science and Technology*, **25**(12): 2088 - 2095.
- ▣ Bales C.R., Li S., Yeh J.C.T., Lenczewski E.M., and Gerba P.C., (1997), “Bacteriophage and microsphere transport in saturated porous media: Forced-gradient experiment at Borden, Ontario”, *Water Resources Research*, **33**: 639-648.
- ▣ Bhattacharjee S., Ryan N.J. and Elimelech M., (2002), “Virus transport in physically and geochemically heterogeneous subsurface porous media”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **57**: 161-187.
- ▣ Bigwood T., Hudson J.A., Billington C., Carey-Smith V.G., and Heinemann A.J., (2008), “Phage inactivation of foodborne pathogens on cooked and raw meat”, *Food Microbiology*, **25**: 400-406.

- ▣ Biswas B., Adhya S., Washart P., Paul B., Trostel N.A., Powell B., Carlton R., and Merril C.R., (2002), “Bacteriophage Therapy Rescues Mice Bacteremic from a Clinical Isolate of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*”, *Infection and Immunity*, **70**: 204-210.
- ▣ Bitton, G. and Mitchell, R., (1974), “Effects of colloids on the survival of bacteriophages in seawater”, *Water Research*, **10**: 323–327.
- ▣ Bitton G., (1975), “Adsorption of viruses onto surfaces in soil and water”, *Water Research*, **9**: 473-484.
- ▣ Bitton G., Pancorbo O., and Gifford E.G., (1976), “Factors Affecting the Adsorption of Polio Virus to Magnetite in Water and Wastewater”, *Water Research*, **10**: 978-980.
- ▣ Bitton G., (1980), “Introduction to Environmental Virology”, Wiley, New York.
- ▣ Bitton, G., Butner, J., Chou, Y.J., Farrah, S.R., and Ruskin, R.H., (1983), “Survival of pathogenic and indicator organisms in ground water”, *Ground Water*, **21**: 405-410.
- ▣ Bixby L.R. and O'Brien J.D., (1979), “Influence of fluvic acid on bacteriophage adsorption and complexation in soil”, *Applied and Environmental Microbiology*, **38**: 840-845.
- ▣ Blanc, R. and Nasser, A., (1996), “Effect of effluent quality and temperature on the persistence of viruses in soil”, *Water Science and Technology*, **33**: 237–242.
- ▣ Bosch A. (2007), “Human Viruses in Water”, Elsevier, Amsterdam, p.91-108.
- ▣ Borchardt, M. A., Bertz, P. D., Spencer, S. K., and Batigelli, D.A., (2003), “Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin”, *Applied and Environmental Microbiology*, **69**: 1172-1180.
- ▣ Bozzola J., (2007), “Electron Microscopy: Methods and Protocols”, Second Edition Edited by: J. Kuo © Humana Press Inc., Totowa, NJ, p.449-466.
- ▣ Bozzola J., (2007), “Conventional Specimen Preparation Techniques for Scanning Electron Microscopy of Biological Specimens”, *Methods in Molecular Biology*, **369**: 449 – 466.
- ▣ Bozzola J. J., Johnson L.C., and Shechmeis L.I., (1973), “In Situ Multiple Sampling of Attached Bacteria for Scanning and Transmission Electron Microscopy”, *Stain Technology*, **48**: 317-325.
- ▣ Bradford A.S. and Bettahar M., (2005), “Ground Water Quality: Strainin, attachment, and detachment of *Cryptosporidium* Oocysts in saturated porous media”, *Journal of Environmental Quality*, **34**: 469-478.
- ▣ Burdon L.K., and Williams P.R., (1968), “Microbiology”, 6th edition, The Macmillan

Company, New York.

- Burton C.N., Grinshpun A.S., and Reponen T., (2006), “Physical collection efficiency of filter materials for bacteria and viruses”, *Annals of Occupational Hygiene*, **51**: 143-151.
- Buzrul S., Ozturk P., Aplas H., and Akcelik M., (2007), “Thermal and chemical inactivation of lactococcal bacteriophages”, *Swiss Society of Food Science and Technology*, **40**: 1671-1677.
- Caldentey J., Bamford J. K., and Bamford D. H., (1990), “Structure and assembly of bacteriophage PRD1, and Escherichia coli virus with a membrane”, *Journal of Structural Biology*, **104**: 44-51.
- Chaidez C., Moreno M., Rubio W., Angulo M., and Valdez B., (2003), “Comparison of the disinfection efficacy of chlorine – based products for inactivation of viral indicators and pathogenic bacteria in produce wash water”, *International Journal of Environmental Health Research*, **13(3)**: 295-302.
- Chattopadhyay S. and Puls W.R., (1999), “Adsorption of bacteriophages on clay minerals”, *Environmental Science Technology*, **33**: 3609-3614.
- Chen G., Abichou T., Tawfiq K., Subramaniam P.K., (2007), “Impact of surface charge density on colloid deposition in unsaturated porous media”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, **302**: 342–348.
- Chen G., and Zhu H., (2005), “Bacterial adhesion to silica sand as related to Gibbs energy variations”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **44**: 41-48.
- Chen G., Rockhold M., and Strevett A.K., (2003), “Equilibrium and kinetic adsorption of bacteria on alluvial sand and surface thermodynamic interpretation”, *Research in Microbiology*, **154**: 175-181
- Cheng L., Chetochine S.A., Pepper L.I., and Brusseau L.M., (2007), “Influence of DOC on MS-2 Bacteriophage Transport in a Sandy Soil”, *Water Air Soil Pollution*, **178**: 315–322.
- Chetochine S.A., Brusseau L.M., Gerba P.C., and Pepper L.I., (2006), “Leaching of Phage from Class B Biosolids and Potential Transport through Soil”, *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 665–671.
- Christian, P. D., Richards, A. R., and Williams, T., (2006), “Differential Adsorption of Occluded and Nonoccluded Insect-Pathogenic Viruses to Soil-Forming Minerals”, *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 4648-4652.
- Chrysikopoulos C.V. and Sim Y., (1996), “One-dimensional virus transport in homogeneous porous media with time-dependent distribution coefficient”, *Journal of Hydrology*, **185**: 199-219

- ▣ Chu Y., Jin Y., Flury M., and Yates V.M., (2001), “Mechanisms of virus removal during transport in unsaturated porous media”, *Water Resources Research*, **37**: 253-263.
- ▣ Chung, H. and Sobsey, M.D., (1992), “Survival of F-specific coliphages, Bacteroides fragilis phages, hepatitis A virus (HAV) and poliovirus 1 in seawater and sediment”, *Water Science and Technology*, **27**: 425– 428.
- ▣ Clevenger T., Wu Y., DeGruson E., Brazos B., and Banerji S., (2007), “Comparison of the inactivation of Bacillus subtilis spores and MS2 bacteriophage by MIOX, Clotec and hypochlorite”, *Journal of Applied Microbiology*, **103**: 2285-2290.
- ▣ Collins K.E., Cronin A.A., Rueedi J., Pedley S. Joyce E., Humble P.J., and Tellam J.H., (2006), “Fate and transport of bacteriophage in UK aquifers as surrogates for pathogenic viruses”, *Engineering Geology*, **85**: 33-38.
- ▣ Cookson J.T., (1970), “Design of activated carbon adsorption beds”, *Journal Water Pollution Control Federation*, **42**: 2124-2134.
- ▣ De Roda Husman, A. M., Lodder, W. J., Rutjes, S. A., Schijven, J. F., and Teunis, P. F. M., (2009), “Long-Term Inactivation Study of Three Enteroviruses in Artificial Surface and Groundwaters, Using PCR and Cell Culture”, *Applied and Environmental Microbiology*, **75**: 1050-1057.
- ▣ DeBorde, D.C., Woessner, W. W., Lauerman, B., and Ball, P., (1998), “Coliphage prevalence in high school septic effluent and associated groundwater”, *Water Research*, **32(12)**: 3781-3785.
- ▣ DeBorde, D.C., Woessner, W. W., Kiley, Q. T., and Ball, P., (1999), “Rapid transport of viruses in a floodplain aquifer”, *Water Research*, **33(10)**: 2229-2238.
- ▣ Donlan R.M., (2006), “Controlling clinically relevant biofilms using bacteriophages”, *Biofilm Perspectives*, No 2006: 02.
- ▣ Dowd, S.E., Pillai, S.D., Wang, S., and Corapcioglu, M. Y., (1998), “Delineating the specific influence of virus isoelectric point and size on virus adsorption and transport through sandy soils”, *Applied and Environmental Microbiology*, **64(2)**: 405–410.
- ▣ Drees P.K., Abbaszadegan M., and Maier R.M., (2003), “Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage”, *Water Research*, **37**: 2291-2300.
- ▣ Fang Q., Shang C., and Chen G., (2006), “MS2 inactivation by Chloride-Assisted electrochemical disinfection”, *Journal of Environmental Engineering*, **132(1)**: 13 – 22.
- ▣ Feng Y.Y., Ong S.L., Hu J.Y., Tan X.L., and Ng W.J., (2003), “Effects of pH and temperature on the survival of coliphages MS2 and O β ”, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **30**: 549-552.
- ▣ Ferguson C.M., Davies C.M., Kaucner C., Krogh M., Rodehutsors J., Deere D.A.,

and Ashbolt N.J., (2007), “Field scale quantification of microbial transport from bovine faeces under simulated rainfall events”, *Journal of Water and Health*, **5(1)**: 83-95.

- ▣ Ferguson C. Husman A.M., Altavilla N., Deere D., and Ashbolt N., (2003) “Fate and Transport of Surface Water Pathogens in Watersheds”, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **33(3)**: 299 - 361.
- ▣ Fong, T.-T., and Lipp, E. K., (2005). “Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools”. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **69**: 357-371.
- ▣ Formentin K., Rossi P., and Aragno M., (1997), “Determination of bacteriophage migration and survival potential in karstic groundwaters using batch agitated experiments and mineral colloidal particles”, *Tracer Hydrology*, **97**: 39–46.
- ▣ Foppen J.W., Herwerden M., and Schijven J., (1997), “Measuring and modelling straining of *Escherichia coli* in saturated porous media”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **93**: 236-254.
- ▣ Fujito B.T., and Lytle C.D., (1996), “Elution of viruses by ionic and nonionic surfactants”, *Applied and Environmental Microbiology*, **62**: 3470–3473.
- ▣ Gargiulo G., Bradford S., Simunek J., Ustohal P., Verreken H., and Klumpp E., (2007), “Bacteria transport and deposition under unsaturated conditions: The role of the matrix grain size and the bacteria surface protein”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **92**: 255-273.
- ▣ Gerba C.P. and Schaiberger G.E., (1975), “Effect of particulates on virus survival in seawater”, *Water Pollution Control Federation*, **47**: 93–103.
- ▣ Gerba C.P., Stagg C.H., and Abadie M.G., (1978), “Characterisation of sewage solid-associated viruses and behaviour in natural waters”, *Water Research*, **12**: 805–812.
- ▣ Gerba, C.P., (1984), “Applied and theoretical aspects of virus adsorption to surfaces” *Advanced Applied Microbiology*, **30**:133-168
- ▣ Gitis V., Adin A., Nasser A., Gun J., and Lev O., (2002), “Fluorescent dye labeled bacteriophages—a new tracer for the investigation of viral transport in porous media: 1. Introduction and characterization”, *Water Research*, **36**: 4227–4234.
- ▣ Gitis V., Adin A., Nasser A., Gun J., and Lev O., (2002), “Fluorescent dye labeled bacteriophages—a new tracer for the investigation of viral transport in porous media: 2. Studies of deep-bed filtration”, *Water Research*, **36**: 4235–4242.
- ▣ Girdon C., and Toze S., (2003), “Influence of groundwater characteristics on the survival of enteric viruses”, *Journal of Applied Microbiology*, **95**: 536–544.
- ▣ Goyal S.M., and Gerba C.P., (1979), “Comparative Adsorption of Human Enteroviruses, Simian Rotavirus, and Selected Bacteriophages to Soils”, *Applied and*

Environmental Microbiology, **38(2)**: 241-247.

- ▣ Goyal S.M., Keswick B.H., and Gerba C.P., (1984), “Viruses in groundwater beneath sewage irrigated cropland”, *Water Research*, **18**: 299-302.
- ▣ Grant S.B., List E.J., and Lidstrom M.E., (1993), “Kinetic analysis of virus adsorption and inactivation in batch experiments”, *Water Resources Research*, **29**: 2067–2085.
- ▣ Grosser P.W., (1985), “A one-dimensional mathematical model of virus transport”, Second International Conference on Groundwater Quality Research: Proceedings, National Center for Groundwater Research, 105-107.
- ▣ Guan H., Schulze-Makuch D., Schaffer S., and Pillai S.D., (2003), “The effect of critical pH on virus fate and transport in saturated porous media”, *Ground Water*, **41(5)**: 701-708.
- ▣ Guimaraes J.R., and Barretto A.S., (2003), “Photocatalytic inactivation of *Clostridium perfringens* and coliphages in water”, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **20(4)**: 403-411.
- ▣ Han J., Jin Y., and Wilson C.S., (2006), “Virus Retention and Transport in Chemically Heterogeneous Porous Media under Saturated and Unsaturated Flow Conditions”, *Environmental Science Technology*, **40**: 1547-1555.
- ▣ Harvey R.W. And Harms H., (2004), “Transport of Microorganisms in the Terrestrial Subsurface: In Situ and Laboratory Methods”, Manual of Environmental Microbiology, 2nd Edition: Washington, ASM Press, p. 753-776.
- ▣ Harvey W.R. and Ryan N.J., (2004), “Use of PRD1 bacteriophage in groundwater viral transport, inactivation, and attachment studies”, *FEMS Microbiology Ecology*, **49**: 3-16.
- ▣ Hass C.N., and Kaymak B., (2003), “Effect of initial microbial density on inactivation of *Giardia muris* by ozone”, *Water Research*, **37**: 2980–2988.
- ▣ Havelaar A.H., Furuse K., and Hogeboom W.M., (1986), “Bacteriophages and indicator bacteria in human and animal faeces”, *The Journal of Applied Bacteriology*, **60(3)**: 255-262.
- ▣ Havelaar A.H., Van Olphen M., and Drost Y.C., (1993), “F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water”, *Applied and Environmental Microbiology*, **59(9)**: 2956-62.
- ▣ Herbold-Paschke K., Straub U., Hahn T., Teutsch G., and Botzenhart K., (1991), “Behaviour of pathogenic bacteria, phages and viruses in groundwater during transport and adsorption”, *Water Science and Technology*, **24**: 301–304.
- ▣ Hejkal T. W., Wellings F. M., Lewis A. L., and LaRock P. A., (1981), “Distribution of viruses associated with particles in wastewater”, *Applied and Environmental*

Microbiology, **41**: 628–634.

- ▣ Holzbecher E., Dizer H., Grutzmacher, Lopez-Pila J., and Nutzmann G., (2006), “The Influence of Redox Conditions on Phage Transport-Enclosure Experiments and Modeling”, *Environmental Engineering Science*, **23(4)**: 623-630.
- ▣ Hu Y., Jiang H., and Wang D., (2003), “Electrokinetic behavior and flotation of kaolinite in CTAB solution”, *Minerals Engineering*, **16**: 1221–1223.
- ▣ Hurst C.J., Benton W.H., and McClellan K.A., (1989), “Thermal and water source effects upon the stability of enteroviruses in surface freshwaters”, *Canadian Journal of Microbiology*, **35**: 474.
- ▣ Hurst C. J., Gerba C. P., and Cech I., (1980), “Effects of environmental variables and soils characteristics on virus survival in soil”, *Applied and Environmental Microbiology*, **40**: 1067–1079.
- ▣ IAWPRC Study Group on Health Related Water Microbiology, (1991), “Bacteriophages as model viruses in water quality control”, *Water Research*, **25(5)**: 529-545.
- ▣ Jansons J., Edmonds L. W., Speight B., and Bucens M. R., (1989), “Survival of viruses in groundwater”, *Water Resources*, **23**: 301–306.
- ▣ James C.S., Bilezikjian K.T., and Chrysikopoulos C.V., (2005), “Contaminant transport in a fracture with spatially variable aperture in the presence of monodisperse and polydisperse colloids”, *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment*, **19**: 266-279.
- ▣ Jansons J., Edmonds L. W., Speight B., and Bucens M. R., (1989), “Survival of viruses in groundwater”, *Water Research*, **23**: 301–306.
- ▣ Jin Y., Yates M.V., Thompson S.S., and Jury W.A., (1997), “Sorption of Viruses during Flow through Saturated Sand Columns”, *Environmental Science Technology*, **31**: 548-555.
- ▣ Jin Y., Chu Y., and Li Y., (2000), “Virus removal and transport in saturated and unsaturated sand columns”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **43**: 111–128.
- ▣ Jin Y., and Flury M., (2002), “Fate and transport of viruses in porous media”, *Advances in Agronomy*, **77**: 39-102.
- ▣ John D.E. and Rose J.B., (2005), “Review of factors affecting microbial survival in groundwater”, *Environmental Science Technology*, **39(19)**: 7345-7356.
- ▣ Kapuscinski R.B. and Mitchell R., (1980) “Processes controlling virus inactivation in coastal waters”, *Water Research*, **14**: 363–371.
- ▣ Karp G., (1999), “Cell and Molecular Biology – Concepts and Experiments”, 2nd

edition, John Wiley & Sons Inc, USA, p. 19 – 23, 803.

- ▣ Kaymak B., and Hass C.N., (2008), “Effect of initial microbial density on inactivation of *Escherichia coli* by monochloramine”, *Journal of Environmental Engineering and Science*, **7**: 237-245.
- ▣ Keller A.A., Sirivithayapakom S., and Chrysikopoulos C.V., (2004), “Early breakthrough of colloids and bacteriophage MS2 in a water-saturated sand column”, *Water Resources Research*, **40**: W08304.
- ▣ Kneist A.B., Perfect E., Wilhelm S.W., Zhuang J., McCarthy J.F., and McKay L.D., (2008), “Virus Transport during Infiltration of a Wetting Front into Initially Unsaturated Sand Columns”, *Environmental Science and Technology*, **42**: 1102-1108.
- ▣ Keswick B.H., and Gerba C.P., (1980), “Viruses in groundwater”, *Environmental Science and Technology*, **14**(11): 1290–1297.
- ▣ Kim J.Y., Lee C., Cho M., and Yoon J., (2008), “Enhanced inactivation of *E. coli* and MS-2 phage by silver ions combined with UV-A and visible light irradiation”, *Water Research*, **42**: 356-362.
- ▣ Kimura M., Jia Z.J., Nakayama N., and Asakawa S., (2008), “Ecology of viruses in soils: Past, present and future perspectives”, *Soil Science and Plant Nutrition*, **54**: 1–32.
- ▣ Kinoshita T., Bales R.C., Maguire K.M., and Gebra C.P., (1993), “Effect of pH on bacteriophage transport through sandy soils”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **14**: 55-70.
- ▣ Kohn T., and Nelson K.L., (2007), “Sunlight Mediated Inactivation of MS2 Coliphage via Exogenous Singlet Oxygen Produced by Sensitizers in Natural Waters”, *Environmental Science and Technology*, **41**: 192-197.
- ▣ Kohn T., Grandbois M., McNeill K., and Nelson K.L., (2007), “Association with Natural Organic Matter Enhances the Sunlight-Mediated Inactivation of MS2 Coliphage by Singlet Oxygen”, *Environmental Science and Technology*, **41**: 4626-4632.
- ▣ Kouznetsov M.Y., Pachepsky Y.A., Gillerman L., Gantzer C.J., and Oron G., (2004), “Microbial transport in soil caused by surface and subsurface drip irrigation with treated wastewater”, *International Agrophysics*, **18**: 239-247.
- ▣ Landry E.F., Vaughn J.M., Thomas M.Z., and Beckwith C.A., (1979), “Adsorption of enteroviruses to soil cores and their subsequent elution by artificial rainwater”, *Applied and Environmental Microbiology*, **38**(4): 680 – 687.
- ▣ Langlet J., Gaboriaud F., and Gantzer C., (2007), “Effects of pH on plaque forming unit counts and aggregation of MS2 bacteriophage”, *Journal of Applied Microbiology*, **103**(5): 1632-1638.

- ▣ Lenhart J.J., and Saiers J.E., (2002), “Transport of Silica Colloids through Unsaturated Porous Media: Experimental Results and Model Comparisons”, *Environmental Science and Technology*, **36**: 769-777.
- ▣ Levine A.D., Tchobanoglous G., and Asano T., (1985), “Characterisation of the size distribution of contaminants in wastewater: treatment and reuse implications”, *Journal of Water Pollution Control Federation*, **57**:805–816.
- ▣ Levine J.A., (1992), “Viruses”, Scientific American Library, New York.
- ▣ Loveland J.P., Ryan J.N., Amy G.L., and Harvey R.W., (1996), “The reversibility of virus attachment to mineral surfaces”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **107**: 205-221.
- ▣ Luh J., Tong N., Raskin L., and Marinas B.J., (2008), “Inactivation of Mycobacterium avium with Monochloramine”, *Environmental Science and Technology*, **42**: 8051-8056.
- ▣ Lukasik J., Scott T.M., Andryshak D., and Farrah S.R., (2000), “Influence of Salts on Virus Adsorption to Microporous Filters”, *Applied and Environmental Microbiology*, **66(7)**: 2914-2920.
- ▣ Luria S.E., Darnell E.J., Baltimore D. and Campell A., (1978), “General Virology”, 3rd edition, John Wiley & Sons, USA.
- ▣ Lytle C.D., and Routson L.B., (1995), “Minimised virus binding for test barrier materials”, *Applied and Environmental Microbiology*, **61**: 643–649.
- ▣ Mamane H., Shemer H., and Linden K.G., (2007), “Inactivation of E. coli, B. subtilis spores, and MS2, T4, and T7 phage using UV/H₂O₂ advanced oxidation”, *Journal of Hazardous Materials*, **146**: 479–486.
- ▣ Marsh P., and Wellington E.M.H., (1994), “Phage-host interactions in soil”, *FEMS Microbiology Ecology*, **15**: 99-108.
- ▣ Mathess G., Pekdeger A., and Schroeter J., (1988), “Persistence and transport of bacteria and viruses in groundwater - a conceptual evaluation”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **2**: 171–188.
- ▣ Marzouk Y., Goyal M.S., and Gerba P.C., (1980), “Prevalence of Enteroviruses in Ground Water of Israel”, *Ground Water*, **17 (5)**: 487-491.
- ▣ McDowell-Boyer L.M., Hunt J.R., and Sitar N., (1986), “Particle transport through porous media”, *Water Resources Research*, **22(13)**: 1901-1921.
- ▣ Middelboe M., Hagstrom A., Blackburn N., Sinn B. and Fischer U., (2001), “Effects of Bacteriophages on the Population Dynamics of Four Strains of Pelagic Marine Bacteria”, *Microbial Ecology*, **42 (3)**: 395-406.

- ▣ McGechan M.B., and Lewis D.R., (1986), “Transport of Particulate and Colloid-sorbed Contaminants through Soil, Part 1: General Principles”, *Biosystems Engineering*, **83 (3)**: 255–273.
- ▣ Metcalf T.G., Rao V.C., and Melnick J.L., (1984), “Solid associated viruses in a polluted estuary”, *Monographs in Virology*, **15**: 97–110.
- ▣ Mitchell R., and Jannasch H.W., (1969), “Processes controlling virus inactivation in seawater”, *Environmental Science and Technology*, **3(10)**: 941- 943.
- ▣ Moce-Llivina L., Muniesa M., Pimenta-Vale H., Lucena F., and Jofre J., (2003), “Survival of Bacterial Indicator Species and Bacteriophages after Thermal Treatment of Sludge and Sewage”, *Applied and Environmental Microbiology*, **69(3)**: 1452-1456.
- ▣ Moore R.S., Taylor D.H., Reddy M.M.M., and Sturman L.S., (1982), “Adsorption of reovirus by minerals and soils”, *Applied and Environmental Microbiology*, **44(4)**: 852-859.
- ▣ Nasser A.M., Tchorch Y., and Fattal B., (1993), “Comparative survival of E. coli, F+ bacteriophages, HAV and poliovirus 1 in wastewater and groundwater”, *Water Science and Technology*, **27**: 401–407.
- ▣ Nasser A.M., and Oman S.D., (1999), “Research Note: Quantitative assessment of the inactivation of pathogenic and indicator viruses in natural water sources”, *Water Research*, **33**: 1748-1752.
- ▣ Nasser A.M., Glozman R., and Nitzan Y., (2002), “Contribution of microbial activity to virus reduction in saturated soil”, *Water Research*, **36**: 2589-2595.
- ▣ Olson M.R., Axler R.P., and Hicks R.E., (2004), “Effects of freezing and storage temperature on MS2 viability”, *Journal of Virological Methods*, **122**: 147-152.
- ▣ Parfitt T., (2005), “Georgia: an unlikely stronghold for bacteriophage therapy”, *The Lancet*, **365(9478)**: 2166 – 2167.
- ▣ Payment P., and Armon R., (1989), “Virus removal by drinking water treatment processes”. *Critical Reviews in Environmental Control*, **19**: 15–31.
- ▣ Pedley S., Yates M., Schijven J.F., West J., Howard G., and Barrett M., (2006), “Pathogens: Health relevance, transport and attenuation – Chapter 3”, World Health Organization, London.
- ▣ Pekdeger A., and Matthess G., (1983), “Factors of bacteria and virus transport in groundwater”, *Environmental Geology*, **5(2)**: 49-52.
- ▣ Penrod S. L., Olson T. M., and Grant S. B., (1996), “Deposition kinetics of two viruses in packed beds of quartz granular media”, *Langmuir*, **12**: 5576–5587.

- ▣ Pepper I.L., Brooks J.P., and Gerba C.P., (2006), “Pathogens in biosolids”, *Advances in Agronomy*, **90**: 1-41.
- ▣ Pirisi A., (2000), “Phage therapy - advantages over antibiotics?”, *The Lancet*, **356 (9239)**:1418 – 1418.
- ▣ Powell T., Brion G.M., Jagtoyen M., and Derbyshire F., (2000), “Investigating the effect of carbon shape on virus adsorption”, *Environmental Science and Technology*, **34**: 2779-2783.
- ▣ Powell K.L., Taylor R.G., Cronin A.A., Barrett M.H., Pedley S., and Sellwood J, (2003), “Microbial contamination of two urban sandstone aquifers in UK”, *Water Resources*, **37(2)**: 339–352.
- ▣ Powelson D.K. and Gerba C.P., (1994), “Virus removal from sewage effluents during saturated and unsaturated flow through soil columns”, *Water Resources*, **28**: 2175 - 2181.
- ▣ Powelson D.K., Gerba C.P. and Yahya M.T., (1993), “Virus transport and removal in wastewater during aquifer recharge”, *Water Resources*, **27(4)**: 583–590.
- ▣ Powelson D.K., Simpson J.R., and Gerba C.P., (1991), “Effects of organic matter on virus transport in unsaturated flow”, *Applied and Environmental Microbiology*, **57(8)**: 2192-2196.
- ▣ Powelson D.K., Simpson J.R., and Gerba C.P., (1990), “Virus transport and survival in saturated and unsaturated flow through soil columns”, *Journal of Environmental Quality*, **19**: 396–401.
- ▣ Prescott M.L., Harley P.I., and Klein A.P., (1996), “Microbiology”, 3rd edition, W.M.C. Brown Publishers, USA.
- ▣ Preston D.R., and Farrah S., (1988), “Activation thermodynamics of virus adsorption to solids”, *Applied and Environmental Microbiology*, **54(11)**: 2650-2654.
- ▣ Quignon F., Thomas F., Gantzer C., Huyard A., and Schwartzbrod L., (1998), “Virus adsorption in a complex system: an experimentally designed study”, *Water Research*, **32(4)**: 1222-1230.
- ▣ Ripp S., and Miller R.V., (1995), “Effects of suspended particulates on the frequency of transduction among *Pseudomonas aeruginosa* in a freshwater environment”, *Applied and Environmental Microbiology*, **61(4)**: 1214-1219.
- ▣ Ryan N.J. and Elimelech M.,(1996), “Colloid mobilization and transport in groundwater”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **107**: 1-56.
- ▣ Ryan J.N., Harvey R.W., Metge D., Elimelech M., Navigato T., and Pieper A.P., (2002), “Field and laboratory investigations of inactivation of viruses (PRD1 and

MS2) attached to iron oxide-coated quartz sand”, *Environmental Science and Technology*, **36**: 2403-2413.

- ▣ Sakoda A., Sakai Y., Hayakawa K., and Suzuki M., (1997), “Adsorption of viruses in water environment onto solid surfaces”, *Water Science and Technology*, **35**: 107–14.
- ▣ Sato T., and Taya M., (2006), “Enhancement of phage inactivation using photocatalytic titanium dioxide particles with different crystalline structures”, *Biochemical Engineering Journal*, **28**: 303-308.
- ▣ Schaldach C.M., Bourcier W.L., Shaw H.F., Viani B.E., and Wilson W.D., “The influence of ionic strength on the interaction of viruses with charged surfaces under environmental conditions”, *Journal of Colloid and Interface Science*, **294**: 1–10.
- ▣ Schijven J.F., and Hassanizadeh S.M., (2000), “Removal of Viruses by Soil Passage: Overview of Modeling, Processes, and Parameters”, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **30(1)**: 49–127.
- ▣ Schijven J.F., Hassanizadeh S.M., Dowd S.E., and Pillai S.D., (2000), “Modeling virus adsorption in batch and column experiments”, *Quantitative Microbiology*, **2**: 5-20.
- ▣ Schijven J.F., Hassanizadeh S.M., Bruin R.H.A.M., (2002), “Two-site kinetic modeling of bacteriophages transport through columns of saturated dune sand”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **57**: 259-279.
- ▣ Schijven J.F., Hoogenboezem W., Hassanizadeh S.M., and Peters J.H., (1999), “Modelling removal of bacteriophages MS2 and PRD1 by dune infiltration at Castricum, the Netherlands”, *Water Resources Research*, **35**: 1101–1111.
- ▣ Schmoll O., Howard G., Chilton J. and Chorus I., (2006), “Protecting Groundwater for Health / Managing the Quality of Drinking-water Sources”, World Health Organization, London.
- ▣ Schulze-Makuch, D., Guan, H., and Pillai, S.D., (2003), “Effects of pH and Geological Medium on Bacteriophage MS2 Transport in a Model Aquifer”, *Geomicrobiology Journal*, **20**: 73 - 84.
- ▣ Scholl M.A., and Harvey R.W., (1992), “Laboratory investigations on the role of sediment surface and groundwater chemistry in transport of bacteria through a contaminated sandy aquifer”, *Environmental Science and Technology*, **26(7)**: 1410-1417.
- ▣ Shang C., Cheung L., Liu W., (2007), “MS2 Coliphage inactivation with UV irradiation and free chlorine/monochloramine”, *Environmental Engineering Science*, **24(9)**: 1321-1332.
- ▣ Shein E.V. and Devin B.A., (2007), “Current problems in the study of colloidal transport in soil”, *Eurasian Soil Science*, **40(4)**: 438-449.
- ▣ Shields, P.A., and Farrah S.R., (1987), “Determination of the electrostatic and

hydrophobic character of enteroviruses and bacteriophages”, 87th Annual Meeting American Society for Microbiology, Washington, DC.

- ▣ Sim Y. and Crysikopoulos V.C., (1996), “One-dimensional virus transport in porous media with time-dependent inactivation rate coefficients”, *Water Resources Research*, **32**: 2607-2611.
- ▣ Sim Y. And Crysikopoulos V.C., (1998), “Three-dimensional analytical models for virus transport in saturated porous media”, *Transport in Porous Media*, **30**: 87-112.
- ▣ Sim Y. And Crysikopoulos V.C., (1999), “Analytical models for virus adsorption and inactivation in unsaturated porous media”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **155**: 189-197.
- ▣ Sim Y. And Crysikopoulos V.C., (2000), “Virus transport in unsaturated porous media”, *Water Resources Research*, **36**: 173-179.
- ▣ Simizu Y., Sogabe H., and Terashima Y., (1998), “The effects of colloidal humic substances on the movement of non-ionic hydrophobic organic contaminants in groundwater”, *Water Science Technoogy*. **38**: 159–167.
- ▣ Sinton L.W., Finlay R.K., Pang L., and Scott D.M., (1997), “Transport of bacteria and bacteriophages in irrigated effluent into and through an alluvial gravel aquifer”, *Water Air Soil Pollution*, **98**: 17–42.
- ▣ Sinton L.W., Finlay R.K., and Lynch P.A., (1999), “Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater”, *Applied and Environmental Microbiology*, **65(8)**: 3605-3613.
- ▣ Skrabber S., Schijven J., Gantzer C. and Roda Husman Roda A.M., (2005), “Pathogenic viruses in drinking-water biofilms: a public health risk?”, *Biofilms*, **2**: 105-117.
- ▣ Snowdon J.A., and Cliver D.O., (1989), “Coliphage as indicators of human enteric viruses in ground water”, *Critical Reviews in Environmental Control*, **19**: 231–249.
- ▣ Sobsey M. D., Dean C. H., Knuckles M. E., and Wagner R. A., (1980), “Interaction and survival of enteric viruses in soil materials”, *Applied and Environmental Microbiology*, **40**: 92–101.
- ▣ Sobsey M. D., (1983), “Transport and Fate of Viruses in Soils”, In *Microbial Health Considerations of Soil Disposal of Domestic Wastewaters*, EPA- 600/9-83-017. U.S.E.P.A., Cincinnati, OH.
- ▣ Sobsey M. D., Shields P. A., Hauchmann F. H., Hazard R. L., and Caton L. W., (1986), “Survival and transport of hepatitis A virus in soils, groundwater, and wastewater”, *Water Science and Technology*, **18**: 097–106.
- ▣ Stagg, C.H., Wallis C., and Ward H.C., (1977), “Inactivation of clay-associated bacteriophage MS2 by chlorine”, *Applied and Environmental Microbiology*, **33(2)**:

385-391.

- ▣ Sykes I.K., Lanning S., and Williams S.T., (1981), “The effect of pH on soil actinophage”, *Journal of General Microbiology*, **122**: 271–280.
- ▣ Syngouna V.I., and Chrysikopoulos C.V., (2010), “Interactions between viruses and clays in static and dynamic batch systems”, *Environmental Science and Technology*, **44**: 4539 – 4544.
- ▣ Taylor D.H, Bellamy A.R, and Wilson A. T., (1980) “Interaction of bacteriophage R17 and reovirus type III with the clay mineral allophone”, *Water Resources*, **14**:339–346.
- ▣ Templeton R.M., Andrews R.C., and Hofmann R., (2005), "Inactivation of particle-associated viral surrogates by ultraviolet light", *Water Research*, **39**: 3487-3500.
- ▣ Templeton R.M., Andrews R.C., and Hofmann R., (2006), “Impact of iron particles in groundwater on the UV inactivation of bacteriophages MS2 and T4”, *Journal of Applied Microbiology*, **101**: 732-741.
- ▣ Templeton R.M., Andrews R.C., and Hofmann R., (2007), “Removal of particle-associated bacteriophages by dualmedia filtration at different filter cycle stages and impacts on subsequent UV disinfection”, *Water Research*, **41**: 2393-2406.
- ▣ Thiel K., (2004), “Old dogma, new tricks - 21st Century phage therapy”, *Nature Biotechnology*, **22**: 31 – 36.
- ▣ Thomas J.M. And Chrysikopoulos C.V., (2007), “Experimental investigation of acoustically enhanced colloid transport in water-saturated packed columns”, *Journal of Colloid Interface Science*, **308**: 200-207.
- ▣ Thompson S.S., Flury M., Yates M.V., and Jury W.A., (1998), “Role of the air-water-solid interface in bacteriophage sorption experiments”, *Applied and Environmental Microbiology*, **64**: 304–309.
- ▣ Thompson S.S., and Yates M.V., (1999), “Bacteriophage inactivation at the air-water-solid interface in dynamic batch systems”, *Applied and Environmental Microbiology*, **65(3)**: 1186-1190.
- ▣ Tong M., Li X., Brow C.N., and Johnson W.P., (2005), “Detachment-influenced transport of an adhesion-deficient bacterial strain within water-reactive porous media”, *Environmental Science and Technology*, **39**: 2500-2508.
- ▣ Torkzaban S., Hassanizadeh S.M., Schijven J.F., Bruin A.M., and Roda Husman A.M., (2006), “Virus transport in saturated and unsaturated sand columns”, *Soil Science Society of America*, **5**: 877–8.
- ▣ Traub F., Spillmann S.K., and Wyler R., (1986), “Method for determining virus inactivation during sludge treatment processes”, *Applied and Environmental Microbiology*, **52(3)**: 498-503.

- ▣ Trouwborst T., and Jong J.C., (1973), “Interaction of Some Factors in the Mechanism of Inactivation of Bacteriophage MS2 in Aerosols”, *Applied Microbiology*, **26(3)**: 252-257.
- ▣ Tufenkji N. Miller G.F., Ryan J.N., Harvey R.W., and Elimelech M., (2004), “Transport of Cryptosporidium oocysts in porous media: Role of straining and physicochemical filtration”, *Environmental Science and Technology*, **38**: 5932-5938.
- ▣ Tufenkji N., (2007), “Modeling microbial transport in porous media: Traditional approaches and recent developments”, *Advances in Water Resources*, **30**: 1455–1469.
- ▣ Vaughn JM, Landry EF, Beckwith CA, Thomas MZ., (1981), “Virus removal during groundwater recharge: effects of infiltration rate on adsorption of poliovirus to soil”, *Applied and Environmental Microbiology*, **41(1)**:139-47.
- ▣ Vaughn M.J., Landry F.E., Thomas Z.M., (1983), “Entrainment of Viruses from Septic Tank Leach Fields Through a Shallow, Sandy Soil Aquifer”, *Applied and Environmental Microbiology*, **45(5)**: 1474-1480.
- ▣ Vilker V. L. and Burge W. D., (1980) “Adsorption mass transfer model for virus transport in soils”, *Water Resources*, **14**: 783–790.
- ▣ Vilker V. L., (1981) “Virus transport through percolating beds”, California water resources center, California.
- ▣ Voorthuizen E.M., Ashbolt N.J., and Schafer A.I., (2001), “Role of hydrophobic and electrostatic interactions for initial enteric virus retention by MF membranes”, *Journal of Membrane Science*, **194**: 69–79.
- ▣ Walker K., (2006), “Use of bacteriophages as novel food additives”, Food Regulation in the United States, Michigan State University, USA.
- ▣ Wall K., Pang L., Sinton L., and Close M., (2008), “Transport and attenuation of microbial tracers and effluent microorganisms in saturated pumice sand aquifer material”, *Water Air and Soil Pollution*, **188**: 213–224.
- ▣ Wellings F.M., Lewis A.L., Mountain C.W., and Pierce L.V., (1975), “Demonstration of virus in groundwater after effluent discharge onto soil”, *Applied Microbiology*, **29(6)**: 751 – 757.
- ▣ Yates M.V., Gerba C.P., Kelley L.E., (1985), “Virus persistence in groundwater”, *Applied and Environmental Microbiology*, **49**: 778–781.
- ▣ Yates M.V., Yates S.R., Warrick W., and Gerba C.P., (1986), “Use of geostatistics to predict virus decay rates for determination of septic tank setback distances”, *Applied and Environmental Microbiology*, **52(3)**: 479-483.
- ▣ Yates M. V, Yates S. R., Wagner J., and Gerba C. P., (1987), “Modelling virus survival

and transport in the subsurface”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **1**: 329–345.

- Yates M.V., and Ouyang Y., (1992), “Virus transport in unsaturated soils”, *Applied and Environmental Microbiology*, **58(5)**: 1609-1616.
- Yeager J.G. and O’Brien R.T., (1979), “Enterovirus inactivation in soil”, *Applied and Environmental Microbiology*, **38**: 694–701.
- Yeager J.G. and O’Brien R.T., (1979), “Structural changes associated with Poliovirus inactivation in soil”, *Applied and Environmental Microbiology*, **38(4)**: 702–709.
- You Y., Vance G.F., Sparks D.L., Zhuang J., and Jin Y., (2003), “Sorption of MS2 Bacteriophage to Layered Double Hydroxides: Effects of Reaction Time, pH, and Competing Anions”, *Journal of Environmental Quality*, **32**: 2046–2053.
- Yuan B., Pham M., and Nguyen H.T., (2008), “Deposition Kinetics of Bacteriophage MS2 on a Silica Surface Coated with Natural Organic Matter in a Radial Stagnation Point Flow Cell”, *Environmental Science and Technology*, **42**: 7628–7633.
- Zhang P., and Wang Y., (2006), “Epi-Fluorescence Imaging of Colloid Transport in Porous Media at Decimeter Scales”, *Environmental Science and Technology*, **40**: 6064-6069.
- Zhang L., Chiu C.P., and Jin Y., (2005), “Removal and Inactivation of Waterborne Viruses Using Elemental Iron”, Delaware Water Resources Center.
- Zhao B., Zhang H., Zhang J., and Jin Y., (2008), “Virus adsorption and inactivation in soil as influenced by autochthonous microorganisms and water content”, *Soil Biology and Biochemistry*, **40**: 649–659.
- Zhu B., Clifford A.D., and Chellam S., (2005), “Virus removal by iron coagulation–microfiltration”, *Water Research*, **39**: 5153–5161.
- Zhuang J. and Jin Y., (2003), “Virus retention and transport through Al-oxide coated sand columns: effects of ionic strength and composition”, *Journal of Contaminant Hydrology*, **60**: 193–209.

Internet

- academic.evergreen.edu/projects/phage/t4websitesandmore.htm
- en.wikipedia.org/wiki/Viral_processing
- pathmicro.med.sc.edu/mayer/phage.htm
- oceanworld.tamu.edu/resources/oceanography-book/microbialweb.htm
- www.asm.org/division/m/m.html
- www.daviddarling.info/encyclopedia/V/virus.html
- www.ees.nmt.edu/bowman/research/SMZ/Pathogens.html
- www.epa.gov/nrmrl/pubs/625r00008/html/625R00008chap3.htm
- www.learn2live.org/Module2/Module2.htm
- www.lincoln.ac.uk/fabs/Research/Bacteriophage.htm

- www.mindfully.org/Water/UV-Disinfection-Wastewater.htm
- www.mining.ubc.ca/cerm3/phage.html
- www.mrsanotes.com/phage-therapy-video-from-cbs5-in-san-fransisco/
- www.ocgy.ubc.ca/~suttle/main.htm
- www.yale.edu/env/elimelech/midatlantic/index.htm
- www2.mst.dk/Udgiv/publications/2003/87-7972-715-8/html/kap03_eng.htm

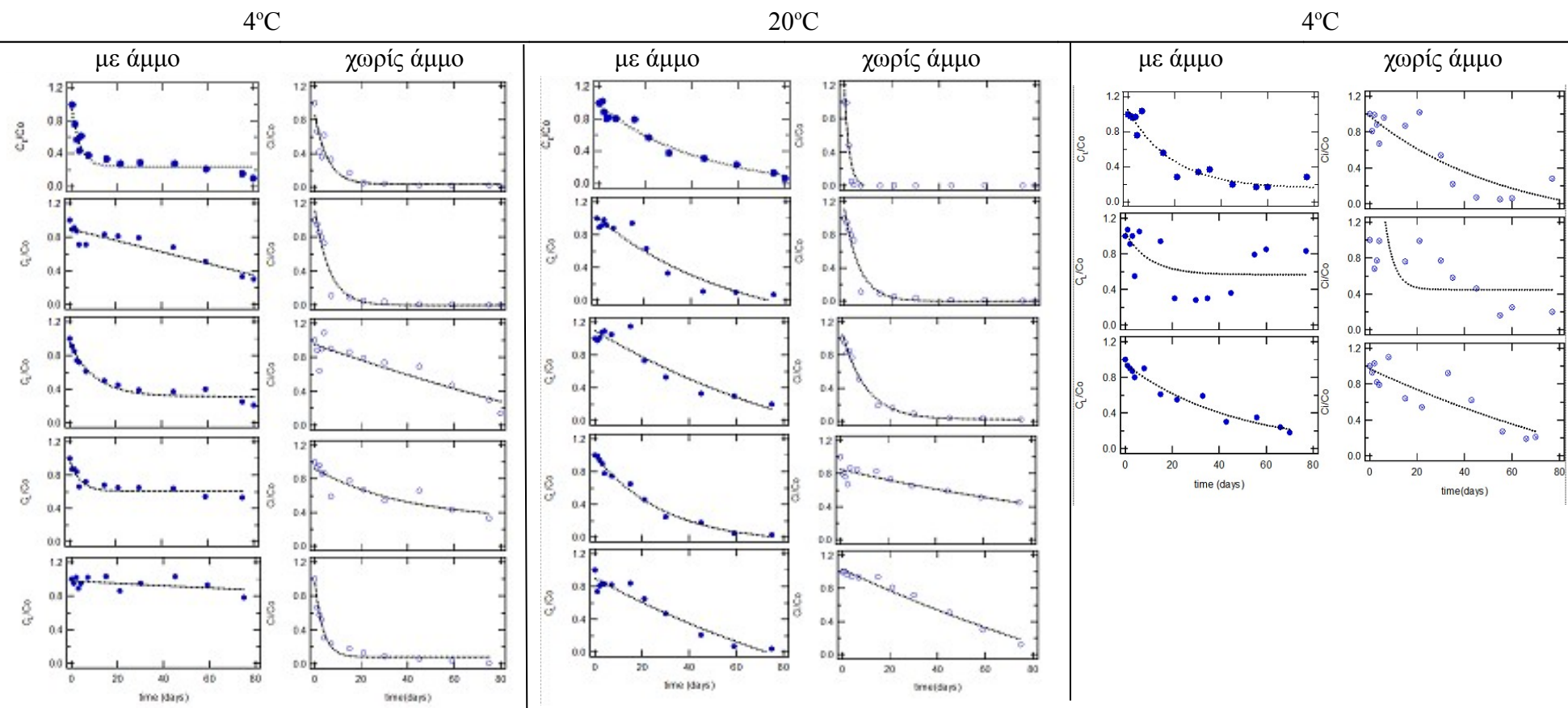
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΑΝΑ ΕΙΔΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΥ ΚΑΙ ΑΜΜΟΥ

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου MS2 σε λεπτόκοκκη άμμο

ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

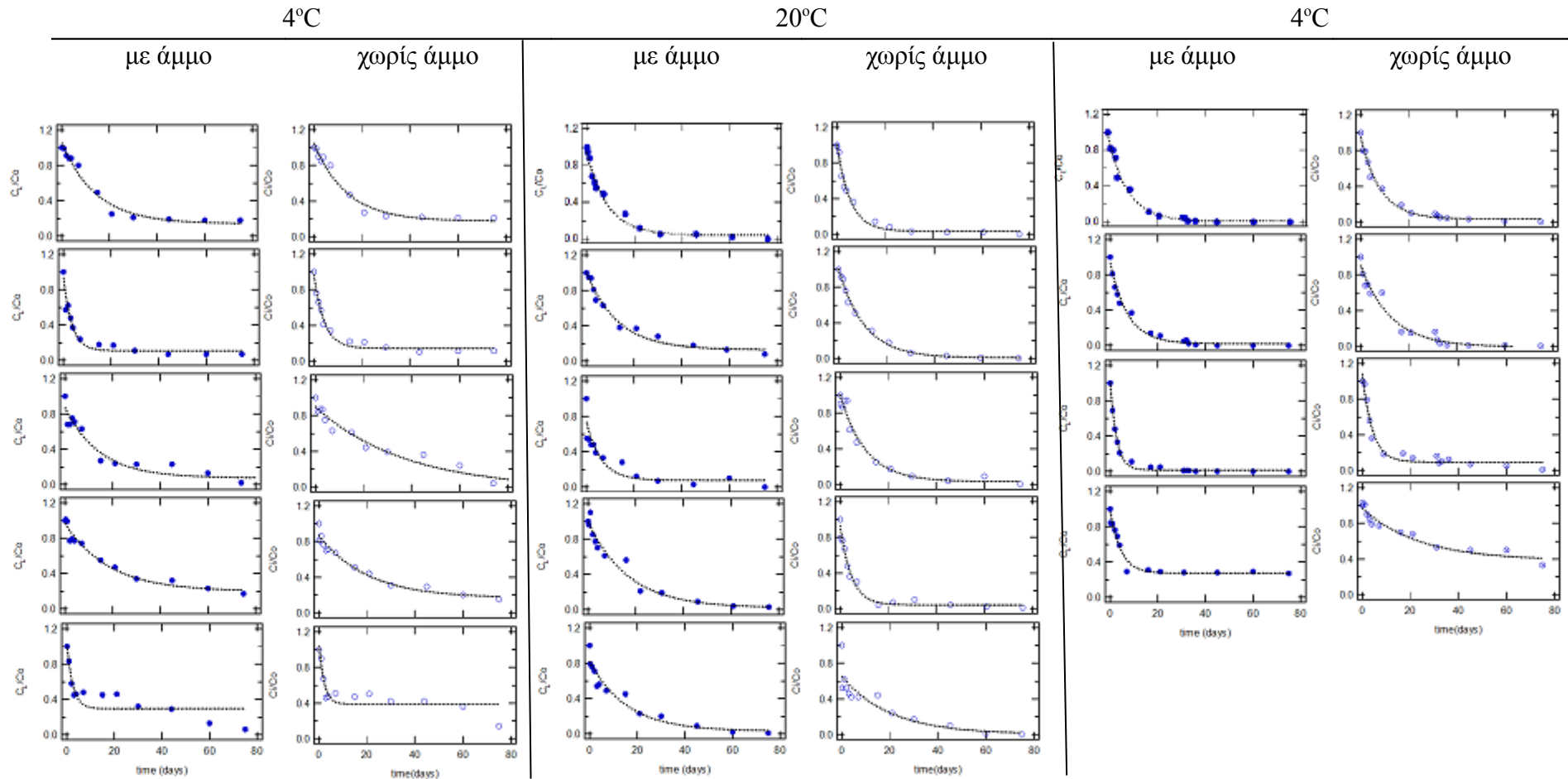


Γράφημα 7.1: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου MS2 σε μεσόκοκκη άμμο

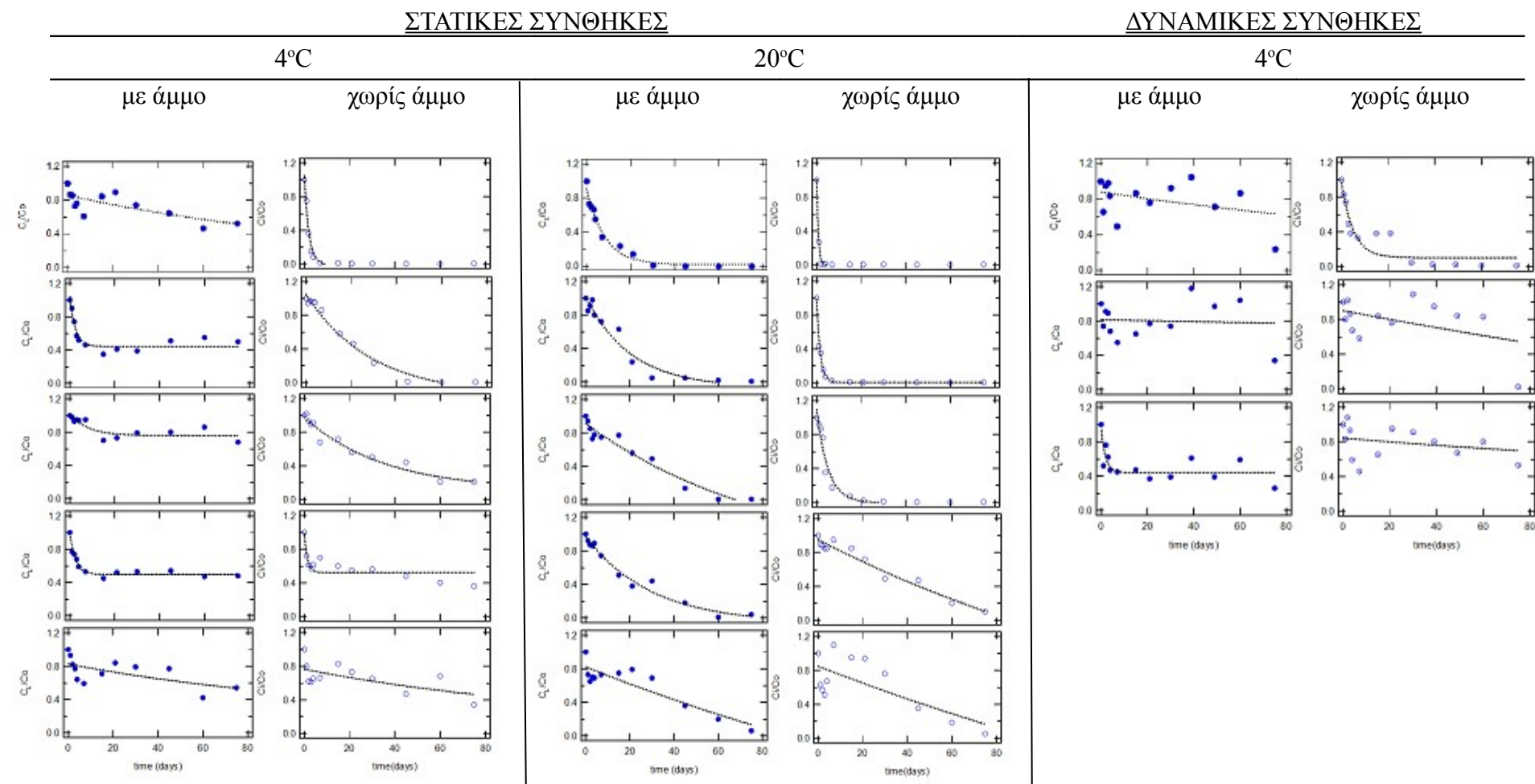
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ



Γράφημα 7.2: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου MS2 σε χονδρόκοκκη άμμο

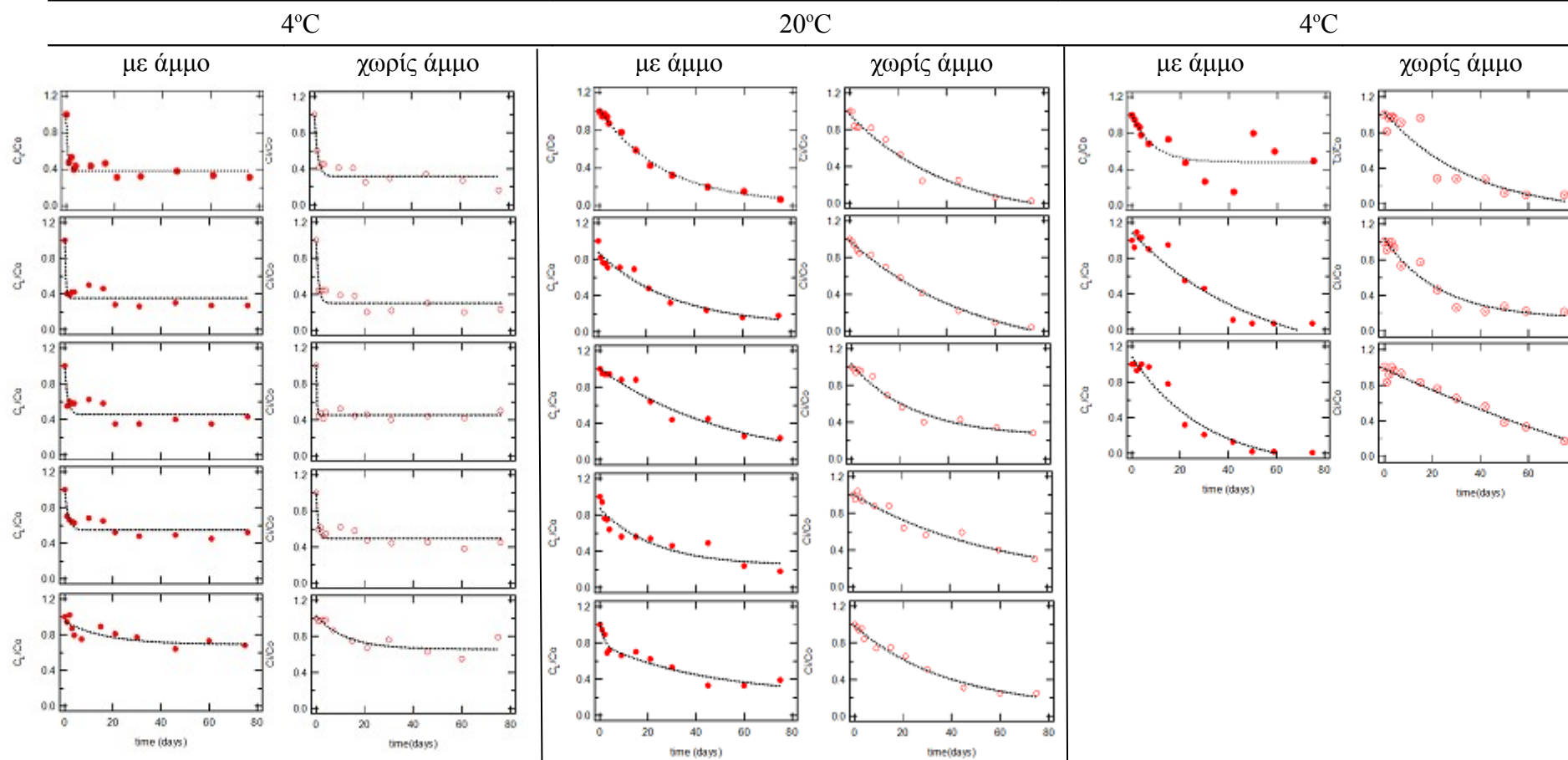


Γράφημα 7.3: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο

ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

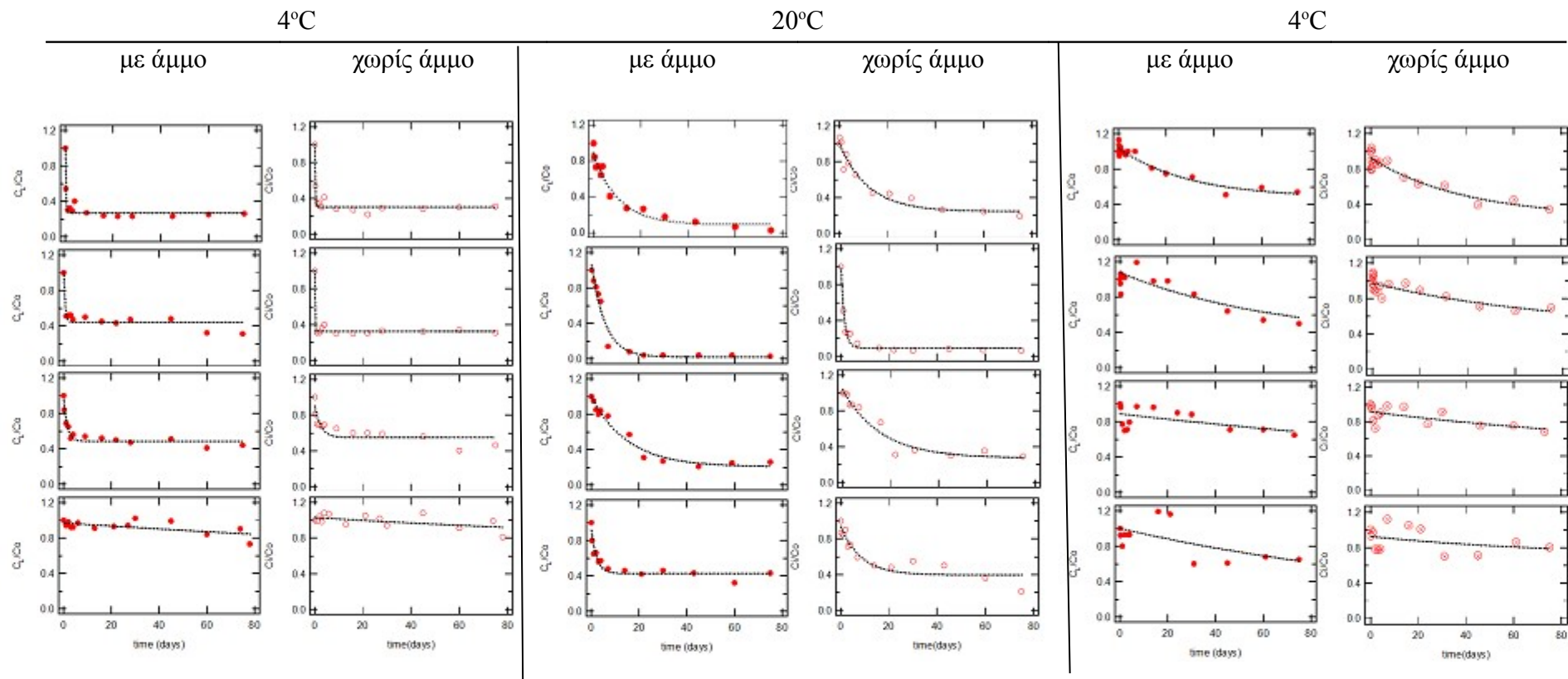


Γράφημα 7.4: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου φX174 σε μεσόκοκκη άμμο

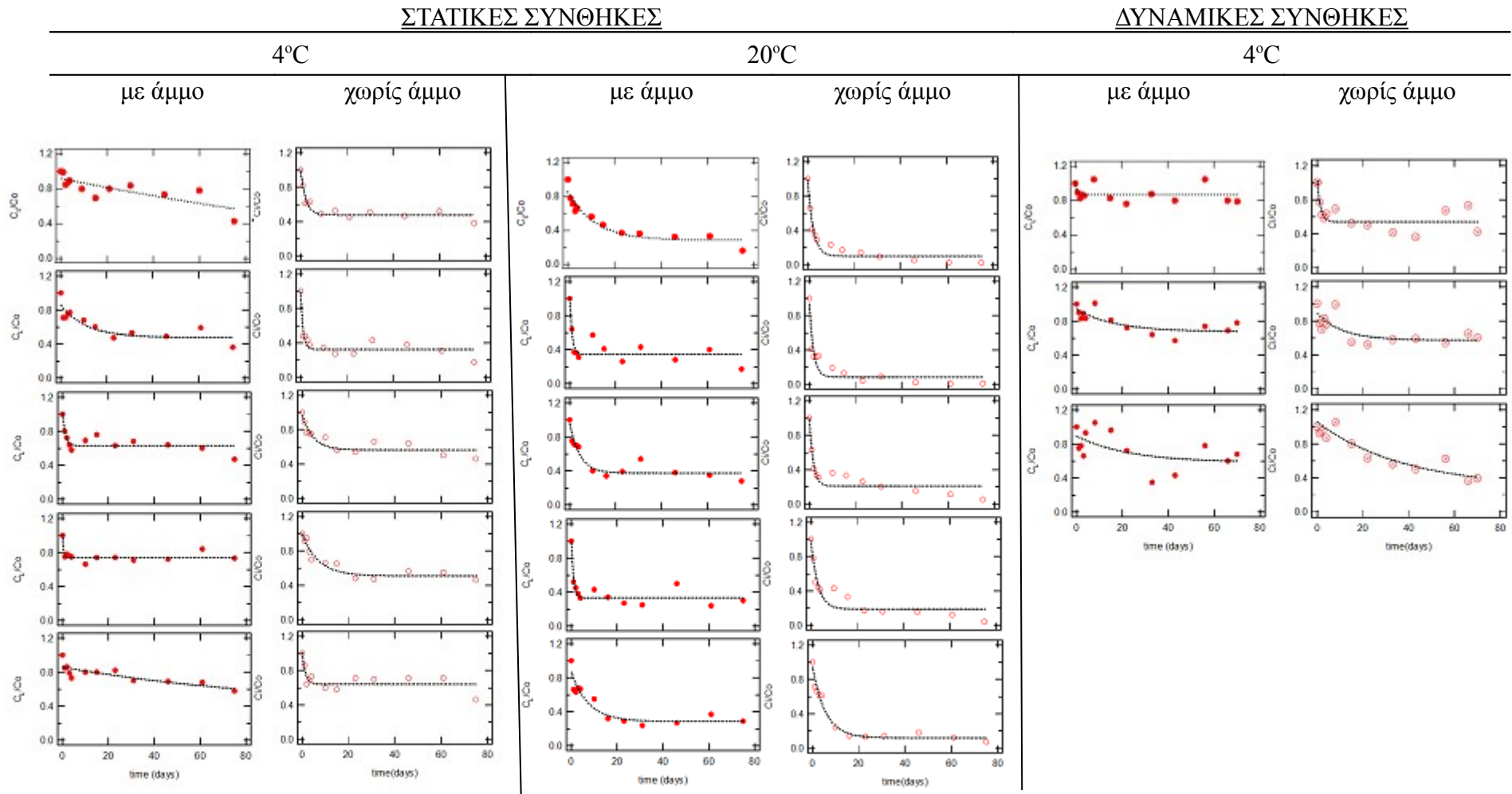
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ



Γράφημα 7.5: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

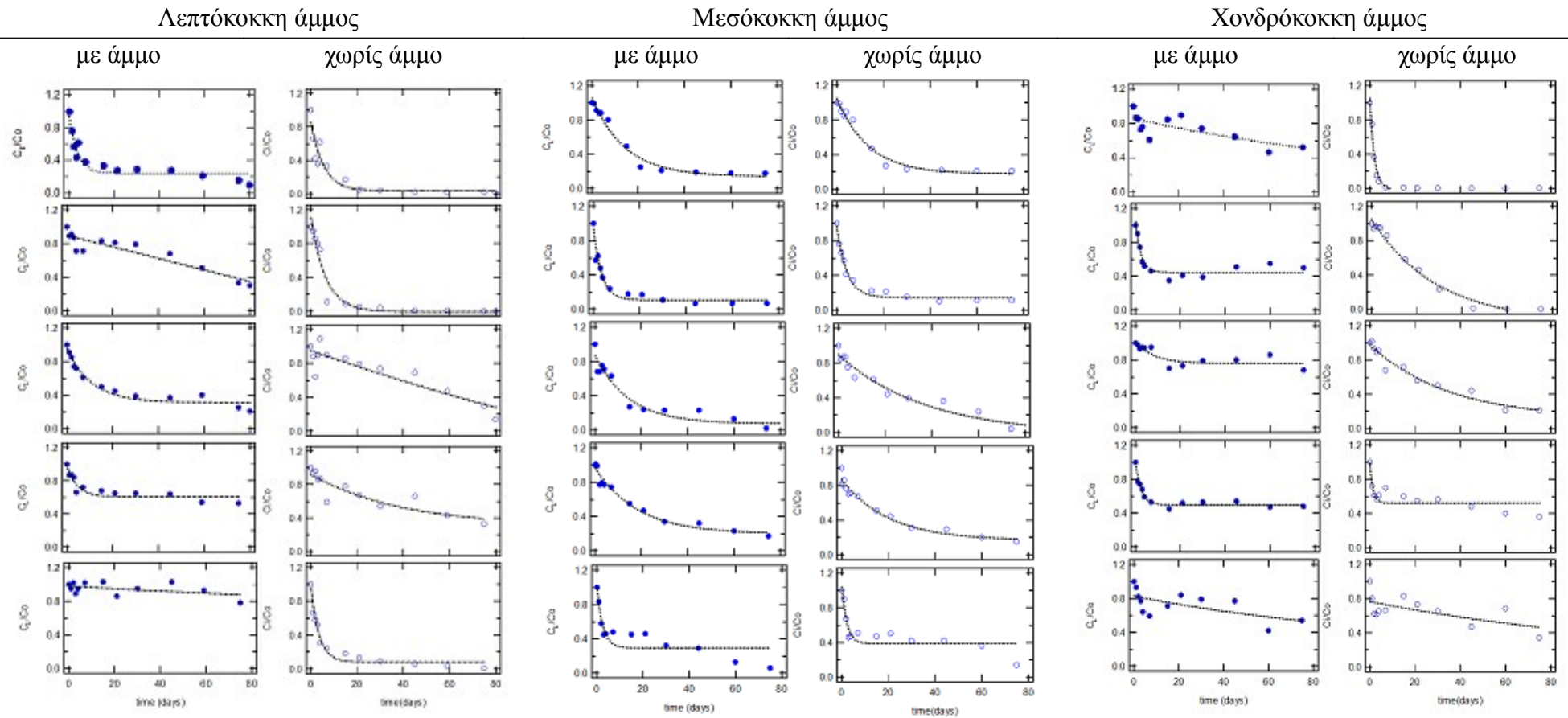
➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου φΧ174 σε χονδρόκοκκη άμμο



Γράφημα 7.6: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό στατικές και δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΑΝΑ ΕΙΔΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΥ ΚΑΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου MS2 υπό στατικές συνθήκες στους 4°C

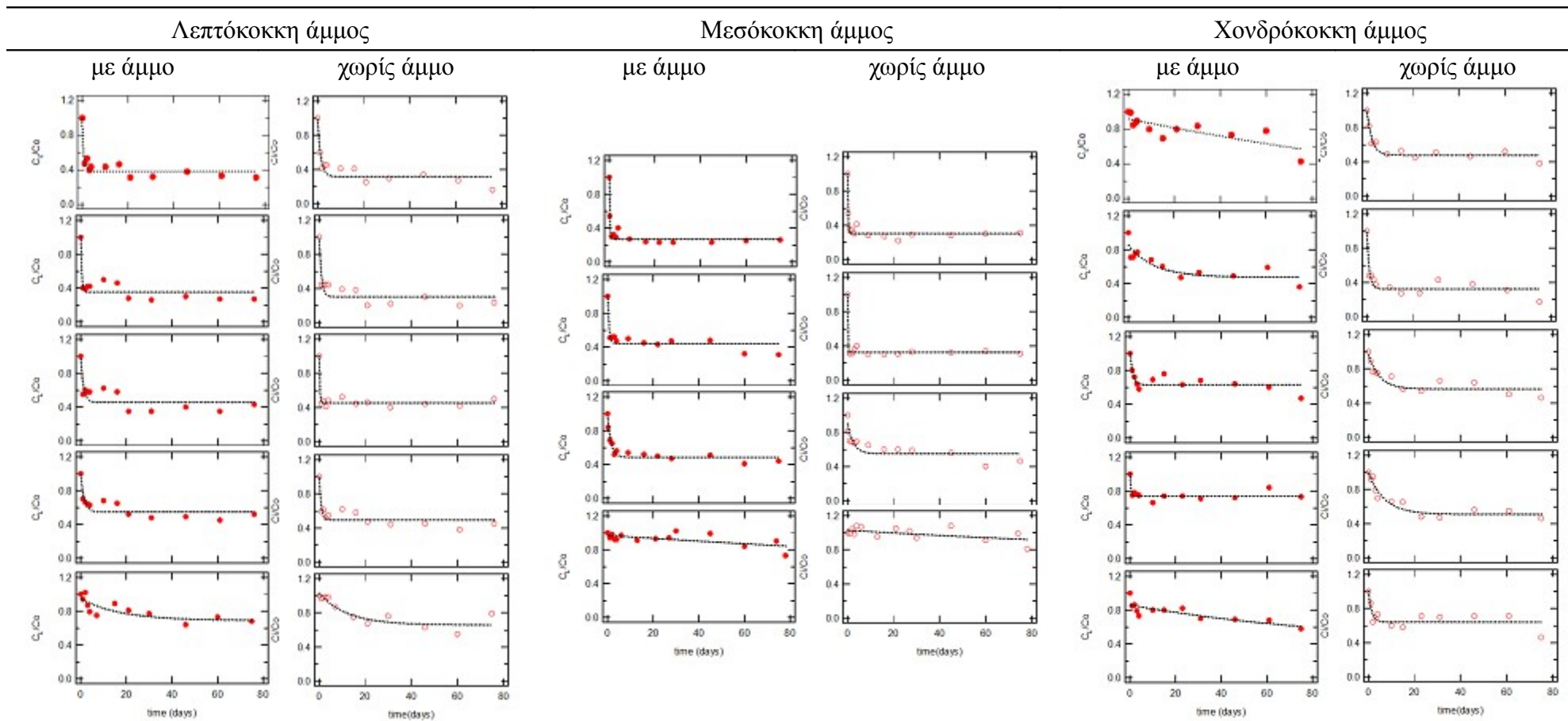


Γράφημα 7.7: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες στους 4°C, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

Πίνακας 7.1: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 υπό στατικές συνθήκες στους 4°C.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)
MS2	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	2.5x10 ³	με άμμο	1.74E-001	2.95E-002	2.92E-002
			χωρίς άμμο	2.45E-001	2.09E-002	6.78E-002
		1.2x10 ⁴	με άμμο	4.22E-002	2.10E-002	1.33E-002
			χωρίς άμμο	2.09E-001	1.94E-002	9.18E-002
		1.8x10 ⁵	με άμμο	8.30E-002	2.55E-002	2.06E-002
			χωρίς άμμο	3.70E-002	1.63E-002	1.69E-002
		1.6x10 ⁶	με άμμο	6.64E-002	3.22E-002	9.40E-003
			χωρίς άμμο	3.78E-002	1.59E-002	1.47E-002
2.7x10 ⁶	με άμμο	1.98E-002	3.15E-002	2.50E-003		
	χωρίς άμμο	2.44E-001	2.51E-002	6.34E-002		
MS2	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	8.7x10 ³	με άμμο	9.31E-002	1.90E-002	2.84E-002
			χωρίς άμμο	6.39E-002	1.68E-002	2.85E-002
		1.2x10 ⁴	με άμμο	2.58E-001	3.05E-002	4.91E-002
			χωρίς άμμο	1.99E-001	2.87E-002	3.78E-002
		1.9x10 ⁵	με άμμο	7.86E-002	8.90E-003	4.54E-002
			χωρίς άμμο	6.10E-002	9.80E-003	3.57E-002
		1.1x10 ⁵	με άμμο	9.54E-002	2.26E-002	2.80E-002
			χωρίς άμμο	5.78E-002	1.45E-002	2.59E-002
2.1x10 ⁷	με άμμο	1.54E-001	2.78E-002	3.65E-002		
	χωρίς άμμο	1.31E-001	3.21E-002	2.44E-002		
MS2	Χονδρόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	0.9x10 ³	με άμμο	5.79E-002	3.41E-002	1.03E-002
			χωρίς άμμο	5.28E-001	2.07E-002	3.90E-001
		3.4x10 ³	με άμμο	1.83E-002	3.54E-002	7.38E-002
			χωρίς άμμο	1.83E-002	3.54E-002	7.38E-002
		1x10 ⁵	με άμμο	1.96E-002	2.48E-002	5.30E-003
			χωρίς άμμο	3.26E-002	7.00E-003	2.24E-002
		1.2x10 ⁶	με άμμο	1.32E-001	4.18E-002	1.41E-002
			χωρίς άμμο	1.30E-001	3.91E-002	1.63E-002
1.2x10 ⁷	με άμμο	6.40E-002	3.61E-002	1.03E-002		
	χωρίς άμμο	9.80E-002	3.98E-002	1.30E-002		

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου φX174 υπό στατικές συνθήκες στους 4°C

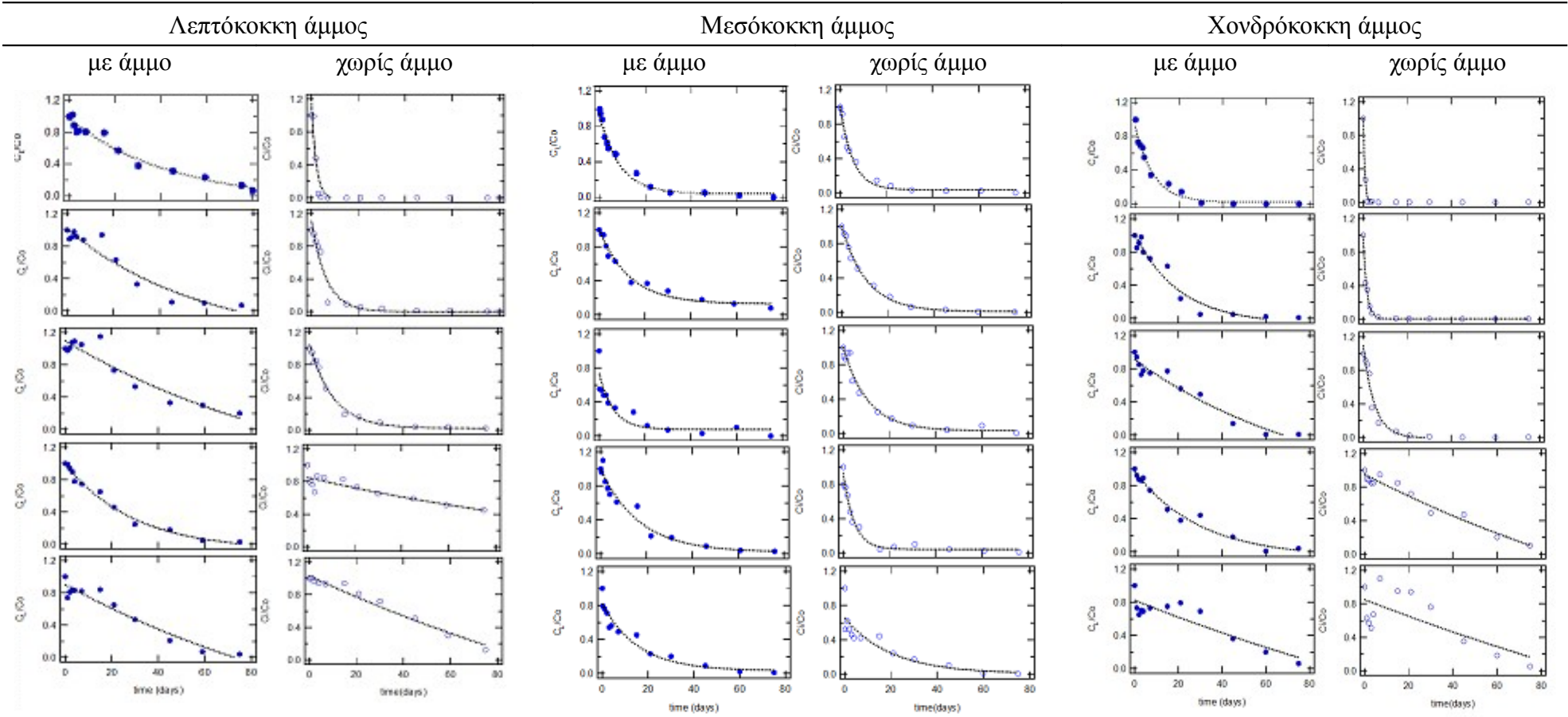


Γράφημα 7.8: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες στους 4°C, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

Πίνακας 7.2: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φΧ174 υπό στατικές συνθήκες στους 4°C.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λο (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)
φΧ174	Λεπτόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	5.6x10 ³	με άμμο	2.34E-001	4.44E-002	2.16E-002
			χωρίς άμμο	2.27E-001	3.94E-002	2.74E-002
		6.5x10 ⁴	με άμμο	2.56E-001	4.35E-002	2.48E-002
			χωρίς άμμο	2.63E-001	4.14E-002	2.84E-002
		5x10 ⁵	με άμμο	1.67E-001	4.14E-002	1.81E-002
			χωρίς άμμο	2.34E-001	5.04E-002	1.61E-002
		9x10 ⁶	με άμμο	1.25E-001	4.13E-002	1.36E-002
			χωρίς άμμο	1.65E-001	4.31E-002	1.62E-002
1.8x10 ⁶	με άμμο	3.82E-002	3.27E-002	6.70E-003		
	χωρίς άμμο	1.39E-002	1.17E-002	7.50E-003		
φΧ174	Μεσόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	4.5x10 ³	με άμμο	4.84E-002	2.40E-002	1.21E-002
			χωρίς άμμο	2.27E-002	1.50E-002	9.90E-003
		6.9x10 ⁴	με άμμο	4.96E-001	5.45E-002	2.88E-002
			χωρίς άμμο	2.35E-001	5.49E-002	2.54E-002
		5.9x10 ⁵	με άμμο	1.00E-002	2.14E-002	2.90E-003
			χωρίς άμμο	7.10E-003	4.02E-002	2.30E-003
		7.1x10 ⁷	με άμμο	2.00E-001	4.40E-002	1.98E-002
			χωρίς άμμο	3.17E-001	4.68E-002	2.34E-002
3.6x10 ⁷	με άμμο	1.88E-001	4.71E-002	1.57E-002		
	χωρίς άμμο	1.48E-001	4.49E-002	1.41E-002		
φΧ174	Χονδρόκοκκη άμμος 4 °C Στατικά	1.7x10 ³	με άμμο	2.82E-002	2.47E-002	8.40E-003
			χωρίς άμμο	1.36E-001	4.04E-002	1.56E-002
		2.5x10 ⁴	με άμμο	1.03E-001	3.70E-002	1.46E-002
			χωρίς άμμο	2.61E-001	4.39E-002	2.58E-002
		1.5x10 ⁵	με άμμο	9.95E-002	4.20E-002	1.09E-002
			χωρίς άμμο	7.91E-002	3.49E-002	1.23E-002
		2x10 ⁶	με άμμο	9.08E-002	5.25E-002	5.90E-003
			χωρίς άμμο	5.91E-002	2.75E-002	1.31E-002
2x10 ⁷	με άμμο	5.82E-002	3.78E-002	7.90E-003		
	χωρίς άμμο	9.75E-002	4.43E-002	9.80E-003		

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου MS2 υπό στατικές συνθήκες στους 20°C

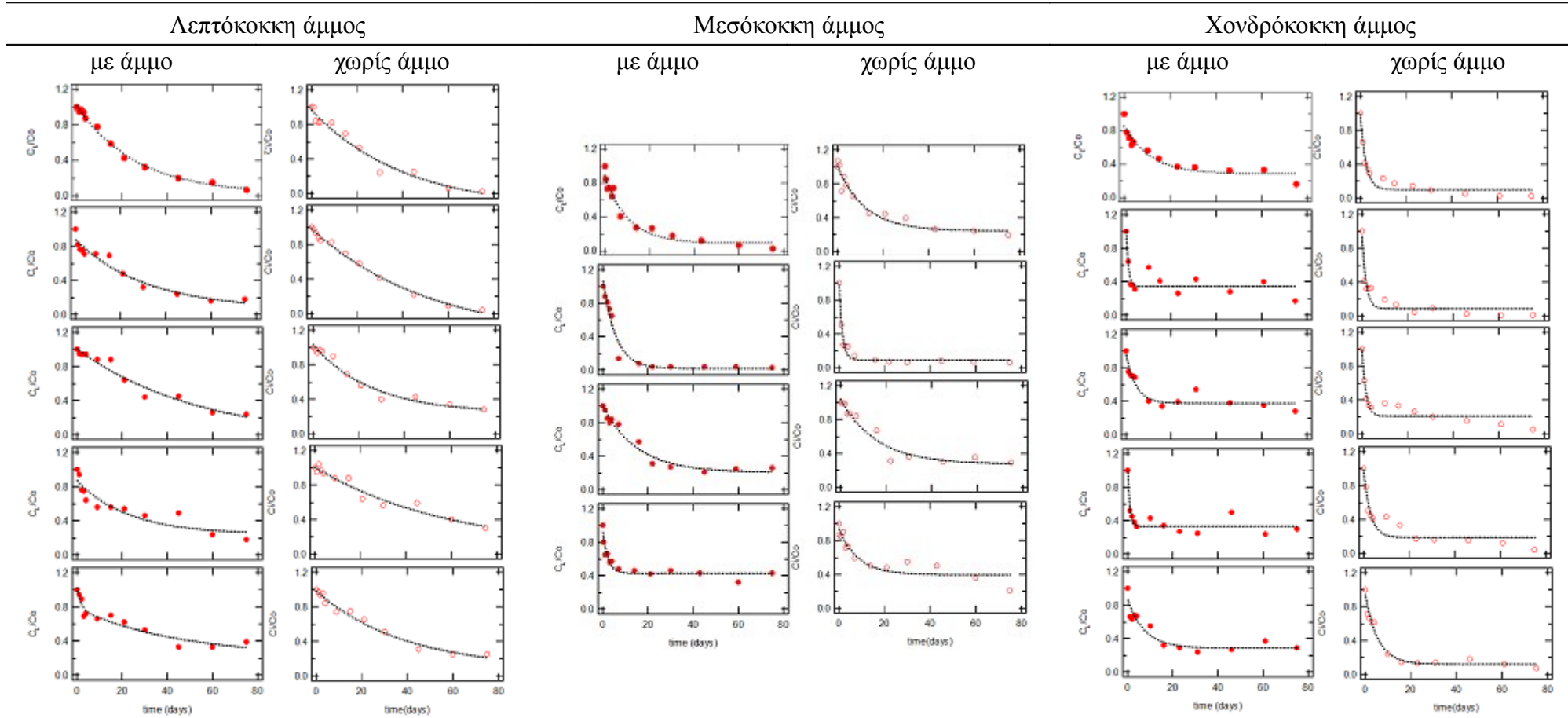


Γράφημα 7.9: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό στατικές συνθήκες στους 20°C, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

Πίνακας 7.3: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 υπό στατικές συνθήκες στους 20°C.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)
MS2	Λεπτόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	2.1x10 ³	με άμμο	3.59E-002	4.40E-003	2.86E-002
			χωρίς άμμο	6.50E-003	1.50E+000	1.02E+000
		1.3x10 ⁴	με άμμο	3.68E-002	2.00E-004	3.75E-002
			χωρίς άμμο	3.51E-001	1.55E-002	1.49E-001
		1.8x10 ⁵	με άμμο	2.41E-002	2.50E-003	2.14E-002
			χωρίς άμμο	7.74E-002	3.50E-003	6.04E-002
		2.5x10 ⁶	με άμμο	4.62E-002	7.00E-004	4.51E-002
			χωρίς άμμο	6.28E-002	3.23E-002	1.16E-002
3.6x10 ⁶	με άμμο	5.10E-002	5.60E-003	4.22E-002		
	χωρίς άμμο	1.06E-002	9.20E-003	2.17E-002		
MS2	Μεσόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	3.9x10 ⁴	με άμμο	6.99E-002	1.10E-002	3.55E-002
			χωρίς άμμο	9.36E-002	2.10E-003	8.26E-002
		3.7x10 ⁴	με άμμο	1.26E-001	9.60E-003	7.39E-002
			χωρίς άμμο	1.75E-001	1.80E-002	8.40E-002
		1.9x10 ⁵	με άμμο	3.40E-001	4.39E-002	7.92E-002
			χωρίς άμμο	1.35E-001	1.86E-002	6.72E-002
		3.0x10 ⁵	με άμμο	8.31E-002	8.40E-003	5.07E-002
			χωρίς άμμο	2.38E-001	2.23E-002	6.85E-002
2.4x10 ⁷	με άμμο	1.54E-001	1.70E-002	6.56E-002		
	χωρίς άμμο	2.24E-001	2.38E-002	6.83E-002		
MS2	Χονδρόκοκκη άμμος 20 °C Στατικά	0.2x10 ³	με άμμο	1.01E-001	6.60E-003	1.34E-001
			χωρίς άμμο	1.76E+000	5.59E-002	1.46E+000
		4.2x10 ³	με άμμο	7.11E-002	1.30E-003	6.45E-002
			χωρίς άμμο	6.79E-001	3.74E-002	1.97E-001
		6.8x10 ⁴	με άμμο	4.84E-002	4.00E-004	6.16E-002
			χωρίς άμμο	1.45E-001	5.10E-003	1.03E-001
		6.6x10 ⁵	με άμμο	4.87E-002	8.00E-004	5.22E-002
			χωρίς άμμο	3.18E-002	6.80E-003	2.59E-002
7.3x10 ⁷	με άμμο	7.98E-002	2.28E-002	2.97E-002		
	χωρίς άμμο	7.28E-002	2.48E-002	3.01E-002		

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου φX174 υπό στατικές συνθήκες στους 20°C

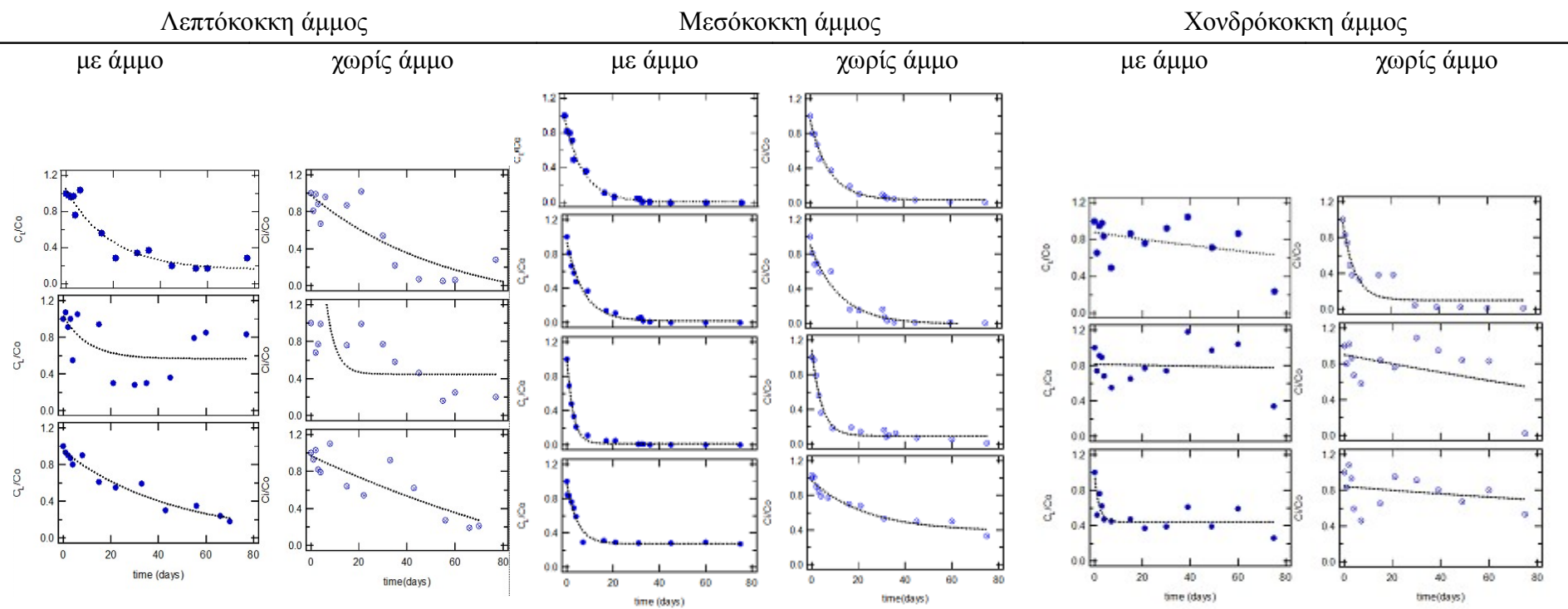


Γράφημα 7.10: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φX174 υπό στατικές συνθήκες στους 20°C, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

Πίνακας 7.4: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φΧ174 υπό στατικές συνθήκες στους 20°C.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λο (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)
φΧ174	Λεπτόκοκκη	3.3x10 ³	με άμμο	3.76E-002	1.60E-003	3.46E-002
			χωρίς άμμο	4.22E-002	5.00E-004	4.54E-002
	20 °C Στατικά	3.4x10 ⁴	με άμμο	8.38E-002	2.06E-002	2.82E-002
			χωρίς άμμο	2.88E-002	4.30E-003	3.96E-002
		3.4x10 ⁵	με άμμο	2.35E-002	3.90E-003	2.02E-002
			χωρίς άμμο	1.83E-002	-	1.90E-002
		5x10 ⁶	με άμμο	7.81E-002	2.30E-002	2.33E-002
			χωρίς άμμο	1.83E-002	3.80E-003	1.55E-002
		1.5x10 ⁸	με άμμο	6.27E-002	2.34E-002	1.76E-002
			χωρίς άμμο	2.79E-002	4.70E-003	2.17E-002
φΧ174	Μεσόκοκκη	7.5x10 ³	με άμμο	5.77E-002	1.40E-002	2.60E-002
			χωρίς άμμο	1.68E-001	2.30E-002	4.97E-002
	20 °C Στατικά	9x10 ⁴	με άμμο	2.13E-001	4.66E-002	1.82E-002
			χωρίς άμμο	1.06E-001	3.17E-002	2.02E-002
		5.5x10 ⁴	με άμμο	1.34E-001	1.23E-002	6.48E-002
			χωρίς άμμο	4.21E-001	3.84E-002	5.41E-002
		5.5x10 ⁵	με άμμο	5.93E-002	1.48E-002	2.58E-002
			χωρίς άμμο	3.94E-002	1.07E-002	2.13E-002
		6.3x10 ⁵	με άμμο	7.98E-002	2.06E-002	2.39E-002
			χωρίς άμμο	8.50E-002	1.39E-002	3.83E-002
φΧ174	Χονδρόκοκκη	1.7x10 ³	με άμμο	1.26E-001	2.87E-002	2.52E-002
			χωρίς άμμο	2.80E-001	2.71E-002	6.53E-002
	20 °C Στατικά	2.5x10 ⁴	με άμμο	2.35E-001	4.28E-002	2.51E-002
			χωρίς άμμο	3.59E-001	2.91E-002	7.55E-002
		1.5x10 ⁵	με άμμο	1.33E-001	3.47E-002	2.07E-002
			χωρίς άμμο	2.52E-001	3.38E-002	4.22E-002
		2x10 ⁶	με άμμο	2.75E-001	4.16E-002	3.16E-002
			χωρίς άμμο	1.96E-001	2.80E-002	4.41E-002
		2x10 ⁶	με άμμο	1.59E-001	3.54E-002	2.37E-002
			χωρίς άμμο	1.91E-001	2.77E-002	4.22E-002

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου MS2 υπό δυναμικές συνθήκες στους 4°C

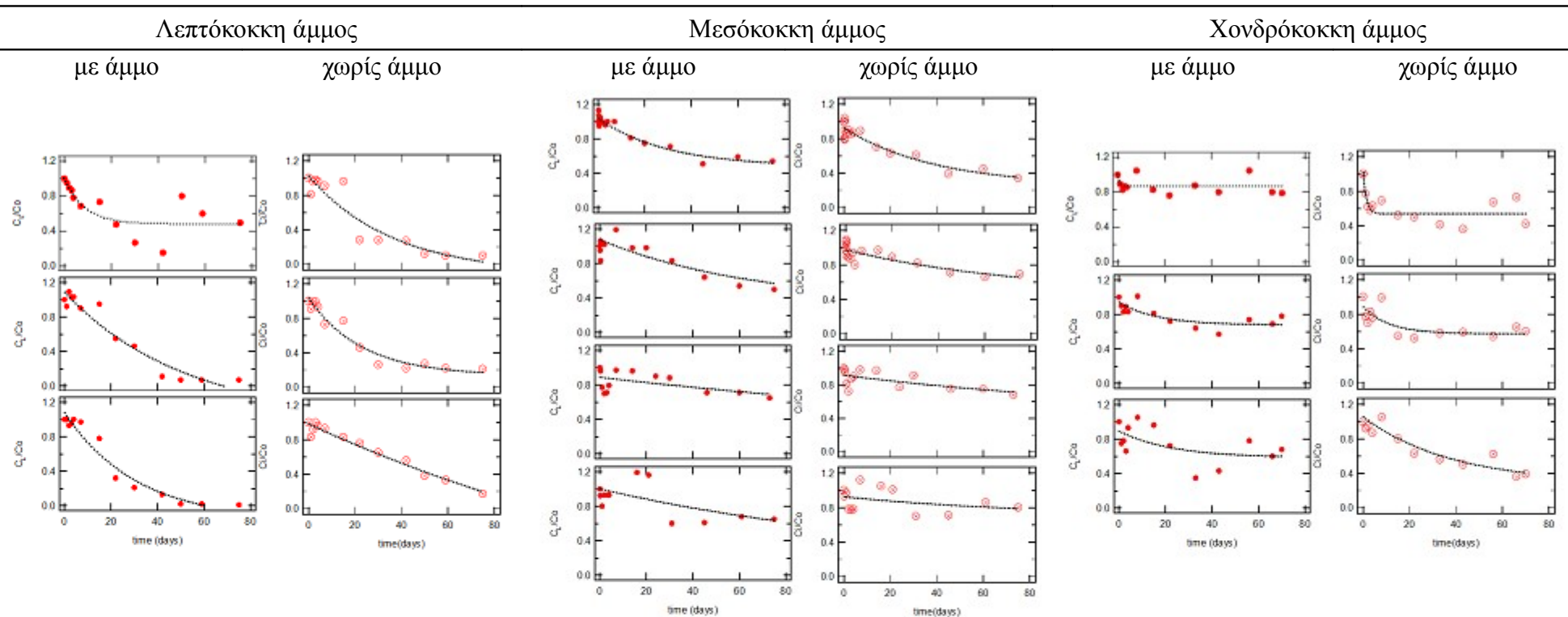


Γράφημα 7.11: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του MS2 υπό δυναμικές συνθήκες στους 4°C, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (rfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

Πίνακας 7.5: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου MS2 υπό δυναμικές συνθήκες στους 4°C.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)
MS2	Λεπτόκοκκη	5.3x10 ⁴	με άμμο	5.12E-002	7.40E-003	2.28E-002
			χωρίς άμμο	5.60E-002	4.80E-003	3.83E-002
	4 °C	6.4x10 ⁵	με άμμο	4.57E-002	2.81E-002	2.48E-002
			χωρίς άμμο	1.80E-002	1.02E-002	1.75E-002
	Δυναμικά	5.9x10 ⁶	με άμμο	4.92E-002	1.48E-002	2.19E-002
			χωρίς άμμο	4.20E-002	1.68E-002	2.10E-002
MS2	Μεσόκοκκη	8.9x10 ³	με άμμο	1.36E-001	3.60E-003	1.14E-001
			χωρίς άμμο	1.17E-001	7.50E-003	7.82E-002
	4 °C	1.1x10 ⁵	με άμμο	1.62E-001	9.30E-003	1.03E-001
			χωρίς άμμο	1.24E-001	7.50E-003	8.99E-002
	Δυναμικά	1.6x10 ⁶	με άμμο	3.03E-001	1.18E-002	1.71E-001
			χωρίς άμμο	1.23E-001	1.27E-002	6.24E-002
MS2	Χονδρόκοκκη	8.5x10 ⁴	με άμμο	3.51E-002	2.98E-002	1.00E-002
			χωρίς άμμο	1.60E-002	1.47E-002	7.50E-002
			με άμμο	6.78E-002	4.62E-002	1.50E-002
			χωρίς άμμο	5.28E-002	3.60E-002	2.11E-002
Δυναμικά	6.6x10 ⁶	με άμμο	2.08E-001	5.79E-002	1.83E-002	
		χωρίς άμμο	6.73E-002	5.94E-002	6.50E-003	

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγου φΧ174 υπό δυναμικές συνθήκες στους 4°C



Γράφημα 7.12: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση του φΧ174 υπό δυναμικές συνθήκες στους 4°C, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

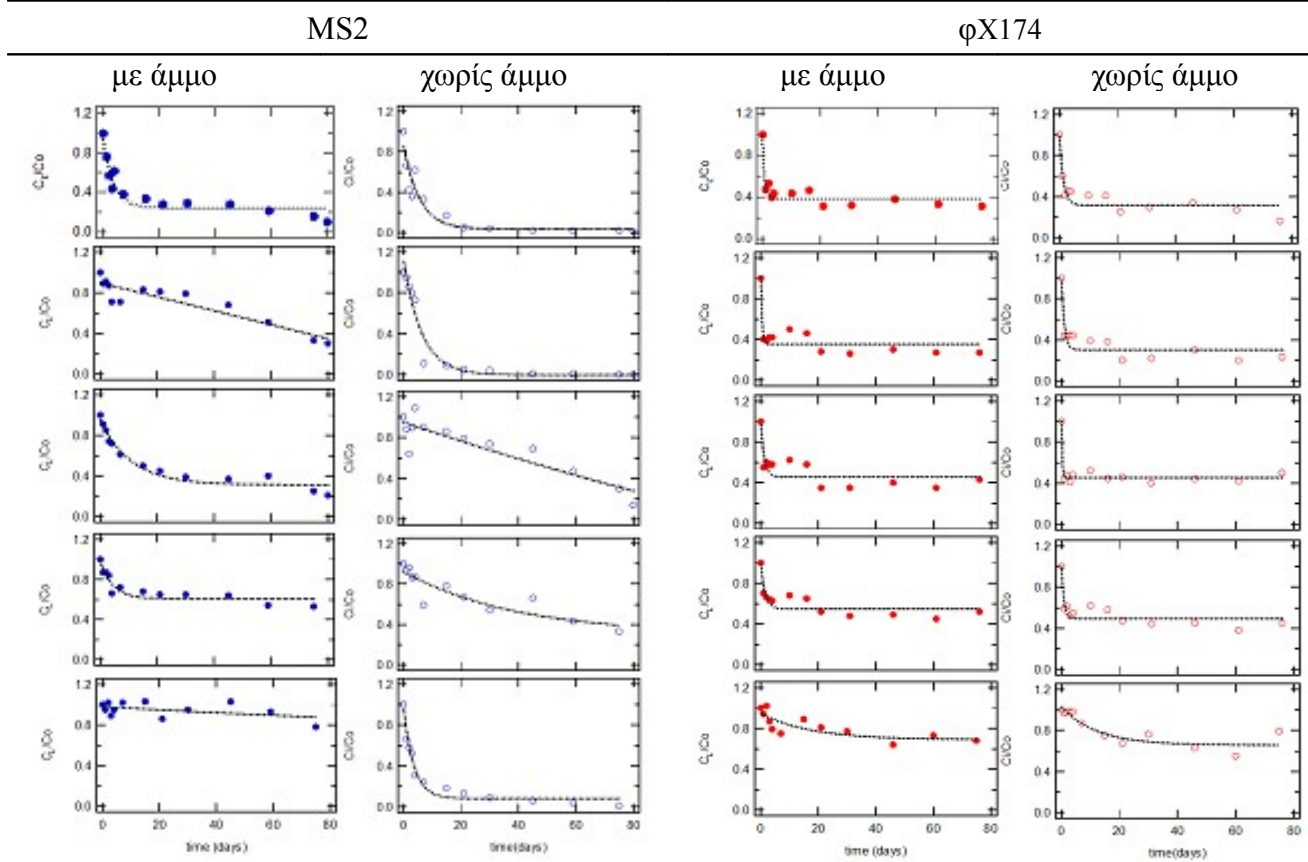
Πίνακας 7.6: Προσεγγιστικές παράμετροι αδρανοποίησης του βακτηριοφάγου φX174 υπό δυναμικές συνθήκες στους 4°C.

Φάγος	Συνθήκες	Συγκέντρωση		λ_0 (day ⁻¹)	α (day ⁻¹)	λ (day ⁻¹)	
φX174	Λεπτόκοκκη	1.06x10 ⁵	με άμμο	4.95E-002	3.00E-003	2.82E-002	
			χωρίς άμμο	1.75E-002	1.30E-002	3.20E-002	
	Δυναμικά	1.4x10 ⁶	με άμμο	1.74E-002	1.22E-002	2.85E-002	
			χωρίς άμμο	2.16E-002	1.08E-002	2.39E-002	
			με άμμο	8.90E-003	3.58E-002	6.32E-002	
			χωρίς άμμο	1.50E-002	2.70E-003	1.94E-002	
φX174	Μεσόκοκκη	4.2x10 ³	με άμμο	1.22E-002	4.60E-003	9.90E-003	
			χωρίς άμμο	4.50E-002	1.96E-002	1.58E-002	
	Δυναμικά	5.7x10 ⁴	με άμμο	4.36E-002	2.41E-002	1.20E-002	
			χωρίς άμμο	6.10E-003	7.30E-003	4.50E-003	
			με άμμο	8.00E-004	4.03E-002	9.00E-003	
			χωρίς άμμο	4.69E-002	3.09E-002	1.01E-002	
		1.5x10 ⁶	με άμμο	5.27E-002	4.43E-002	5.90E-003	
			χωρίς άμμο	3.07E-002	3.58E-002	5.40E-003	
			5.8x10 ⁶	με άμμο	7.45E-002	3.93E-002	7.60E-003
				χωρίς άμμο	9.85E-002	5.46E-002	4.40E-003
φX174	Χονδρόκοκκη	2x10 ⁴	με άμμο	5.02E-002	4.64E-002	4.30E-003	
			χωρίς άμμο	1.45E-001	4.70E-002	1.30E-002	
	Δυναμικά	1.7x10 ⁵	με άμμο	5.67E-002	3.96E-002	6.90E-003	
			χωρίς άμμο	6.13E-002	3.42E-002	1.03E-002	
		2x10 ⁶	με άμμο	6.25E-002	3.78E-002	9.70E-003	
			χωρίς άμμο	3.47E-002	1.72E-002	1.39E-002	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΑΝΑ ΕΠΙΚΡΑΤΟΥΣΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

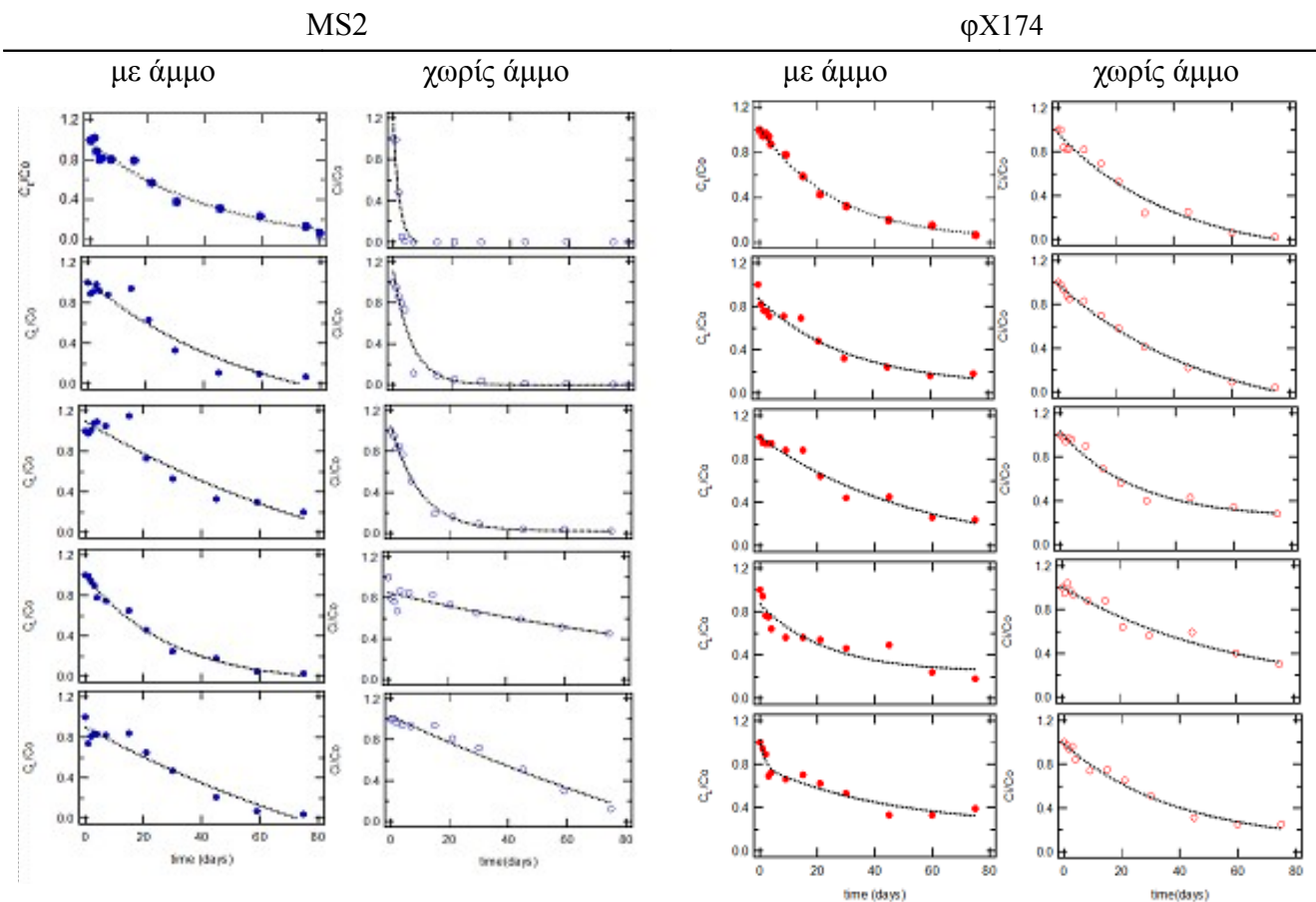
- Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο
- ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 4°C



Γράφημα 7.13: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ και 10⁷ (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο

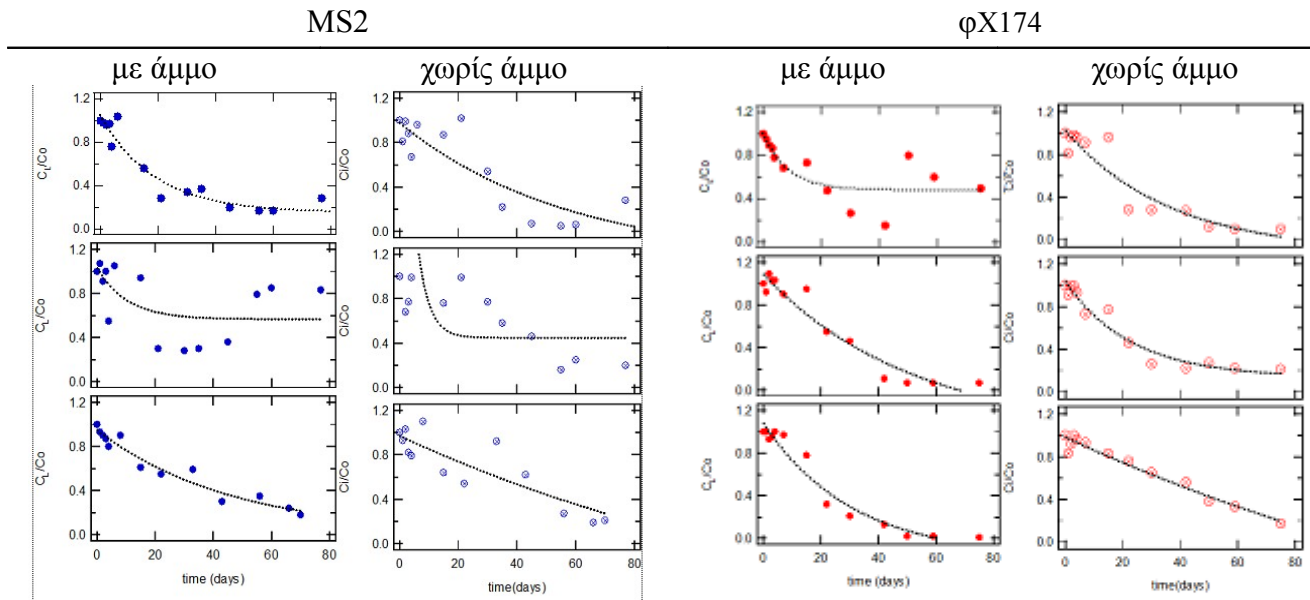
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 20°C



Γράφημα 7.14: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

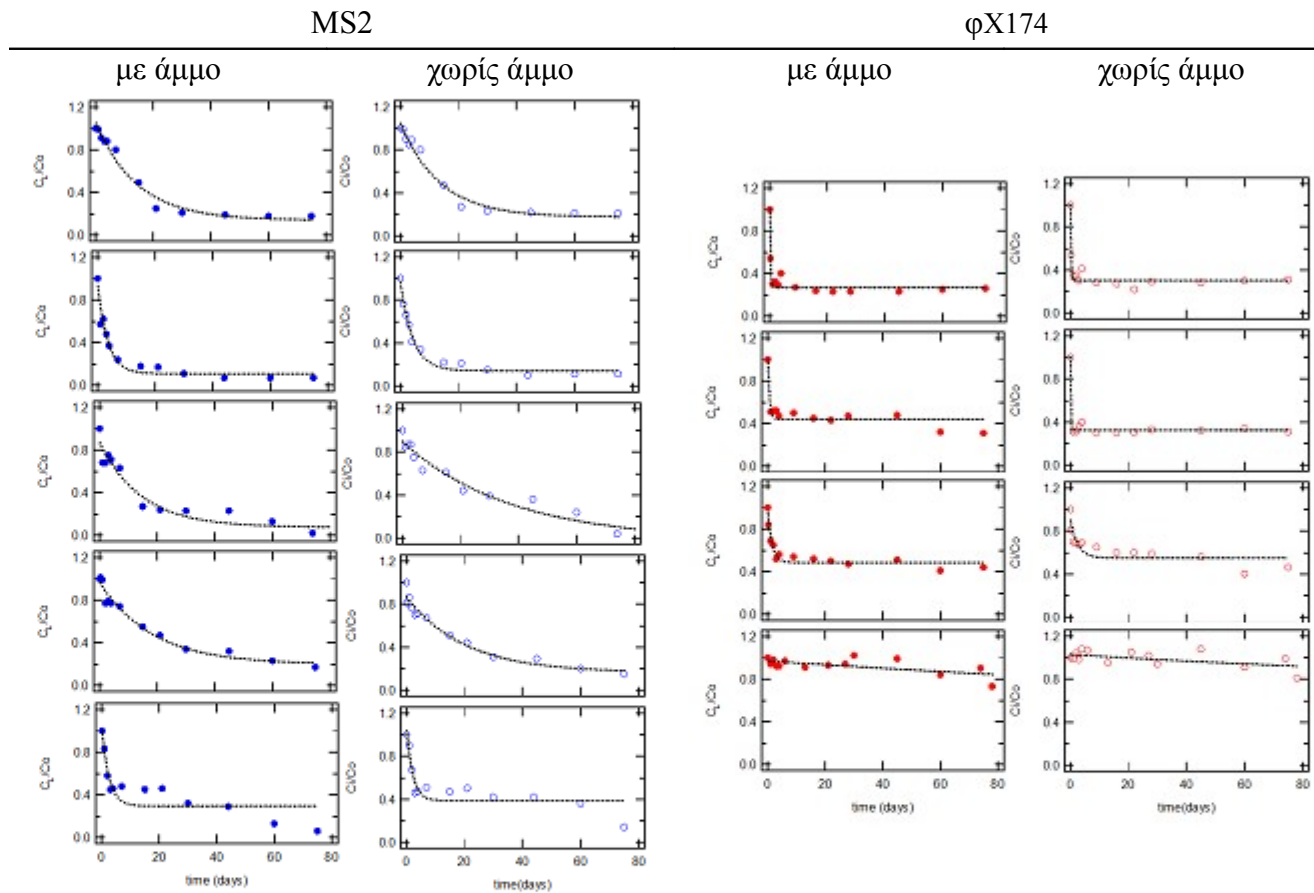
➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε λεπτόκοκκη άμμο

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 4°C



Γράφημα 7.15: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^4 , 10^5 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

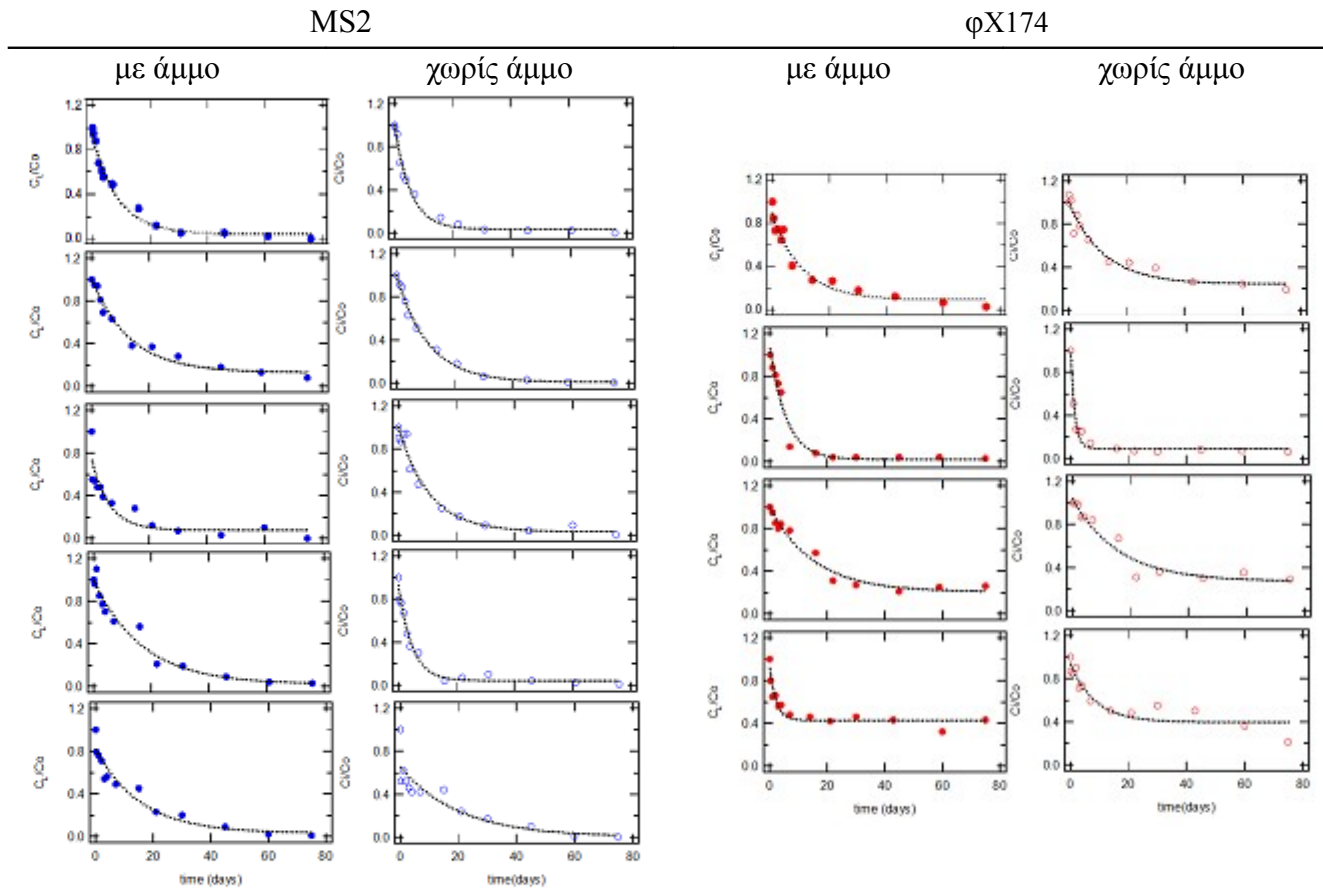
➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε μεσόκοκκη άμμο
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 4°C



Γράφημα 7.16: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε μεσόκοκκη άμμο

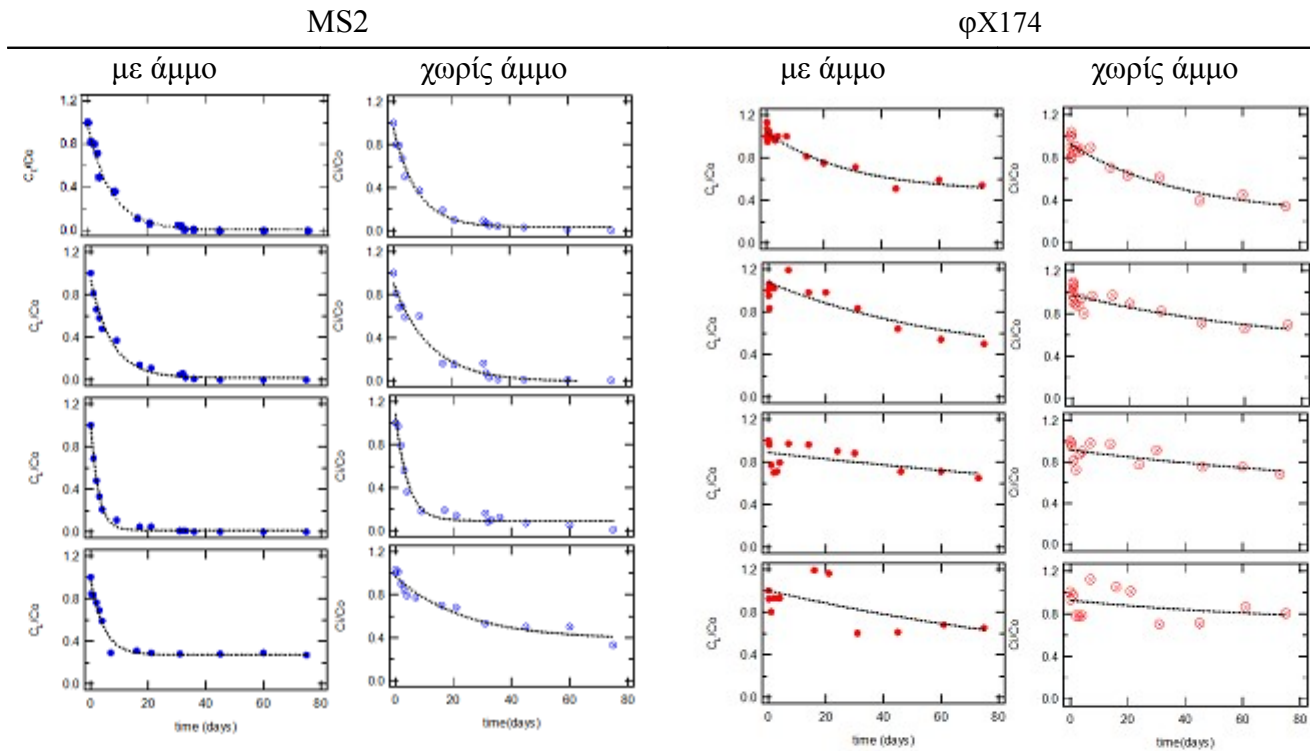
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 20°C



Γράφημα 7.17: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

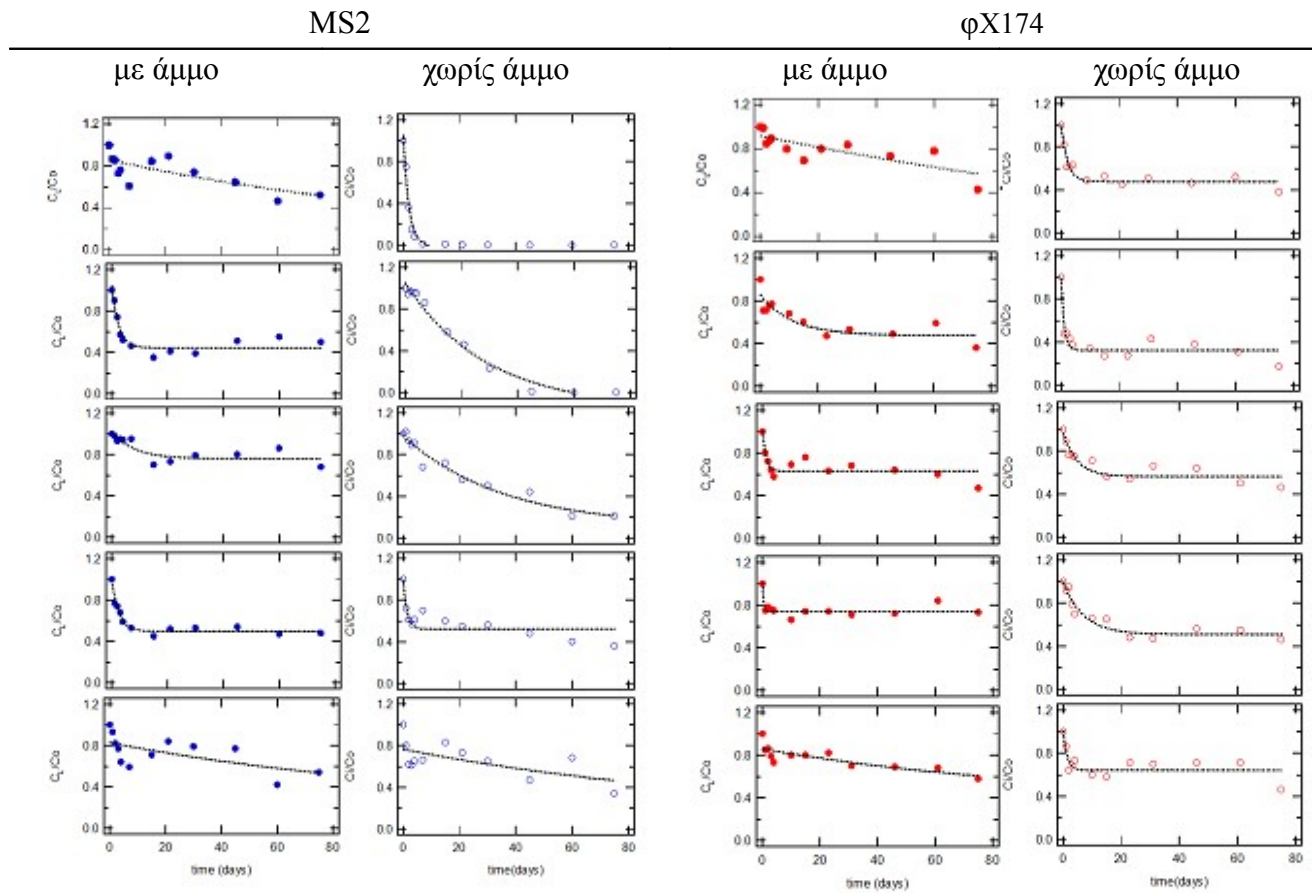
➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε μεσόκοκκη άμμο

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 4°C



Γράφημα 7.18: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

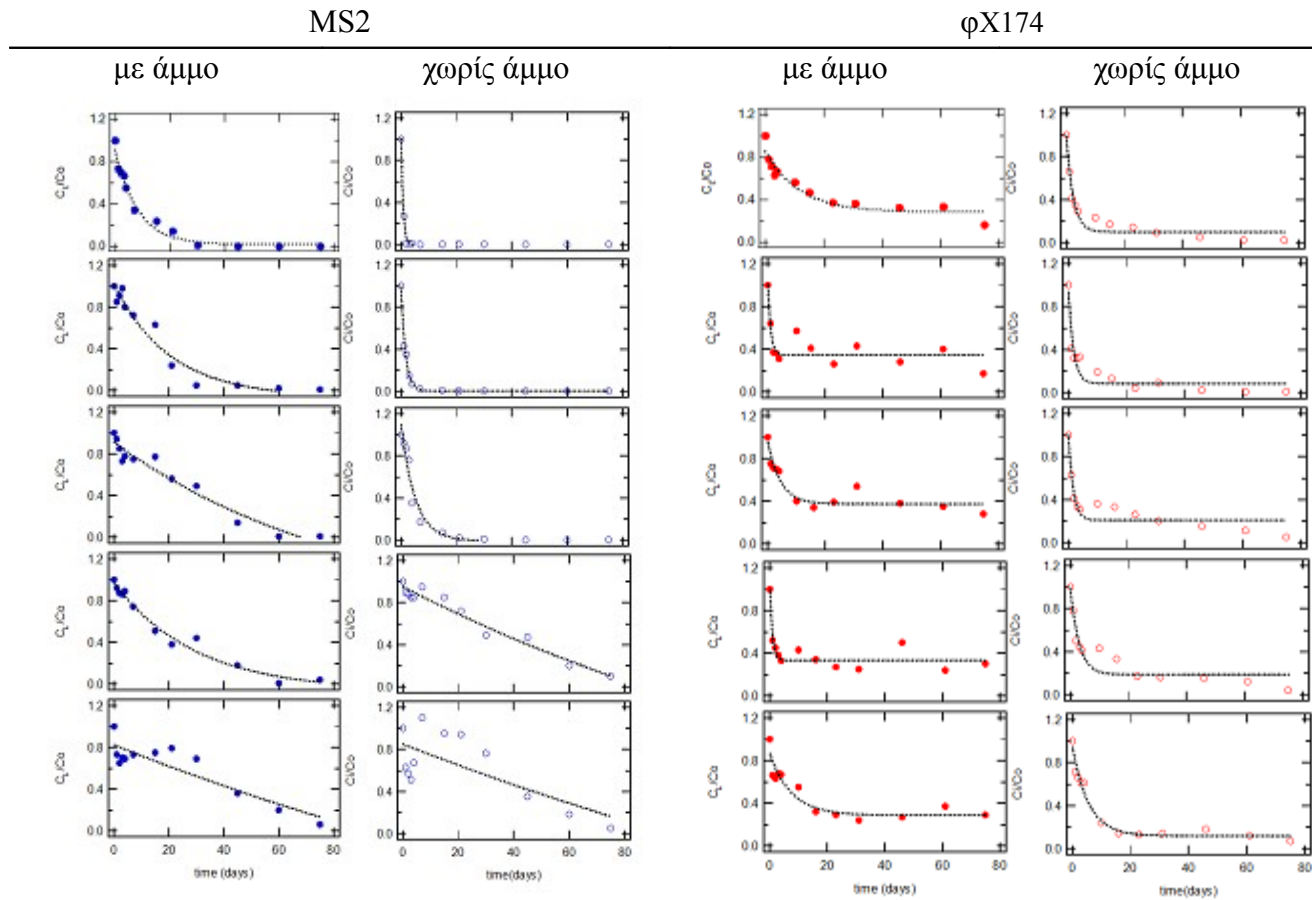
➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 4°C



Γράφημα 7.19: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο

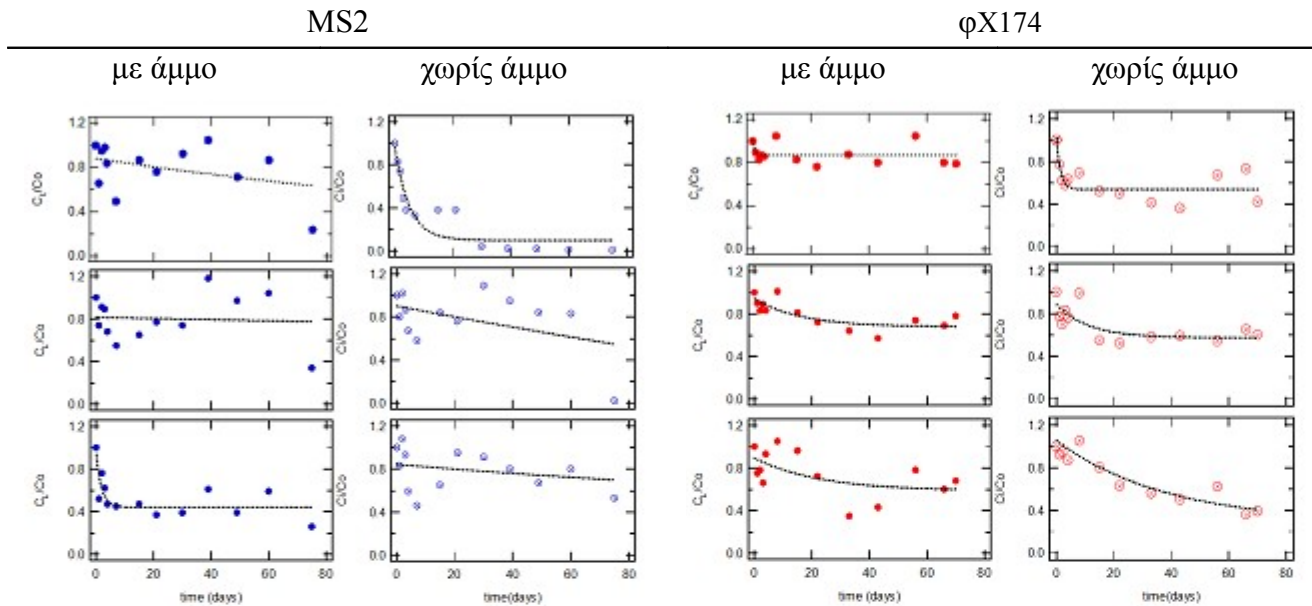
ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 20°C



Γράφημα 7.20: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό στατικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.

➤ Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηριοφάγων MS2 και φX174 σε χονδρόκοκκη άμμο

ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, 4°C



Γράφημα 7.21: Πειραματικά δεδομένα για την αδρανοποίηση των MS2 και φX174 υπό δυναμικές συνθήκες διαλείποντος έργου, συγκεντρώσεων των τάξεων 10^4 , 10^5 και 10^7 (pfu/mL) από πάνω προς τα κάτω.