

ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΣΙΠΡΟΦΛΟΞΑΣΙΝΗΣ ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ ΜΕ ΨΥΧΡΟ ΠΛΑΣΜΑ

Μ. Χατζησυμεών^{1,2}, Δ. Ταταράκη², Χ. Τσακίρογλου¹, Γ. Ρασιιάς², Χ. Α. Αγγελόπουλος^{1,*}
¹Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας– Ινστιτούτο Επιστημών Χημικής Μηχανικής, 26504 Πάτρα, Ελλάδα

²Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Χημείας, 26504 Πάτρα, Ελλάδα

(*caqqelop@iceht.forth.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία, εξετάστηκε η αποκατάσταση εδάφους που έχει ρυπανθεί από το αντιβιοτικό σιπροφλοξασίνη (ciprofloxacin) με την χρήση της τεχνολογίας του ψυχρού πλάσματος. Τα πειράματα απορρύπανσης εδάφους πραγματοποιήθηκαν σε αντιδραστήρα εκκενώσεων διηλεκτρικού φράγματος (DBD) με γεωμετρία ηλεκτροδίων επίπεδο-προς-πλέγμα. Ο αντιδραστήρας τροφοδοτήθηκε από παλμική υψηλή τάση, ενώ για την δημιουργία των δραστικών σωματιδίων πλάσματος χρησιμοποιήθηκε ξηρός αέρας υπό ατμοσφαιρική πίεση. Η αρχική συγκέντρωση σιπροφλοξασίνης στο έδαφος ήταν 200 mg/kg, και μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων παραμέτρων λειτουργίας του αντιδραστήρα πλάσματος, όπως ο χρόνος επεξεργασίας εδάφους, το πλάτος της εφαρμοζόμενης τάσης και η συχνότητα των παλμών της υψηλής τάσης. Αύξηση της συχνότητας και του πλάτους των παλμών της παλμικής εφαρμοζόμενης τάσης, καθώς επίσης και του χρόνου επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού απομάκρυνσης της σιπροφλοξασίνης από το έδαφος. Η πλήρης απομάκρυνση του αντιβιοτικού από το έδαφος πραγματοποιήθηκε σε πολύ μικρό χρόνο επεξεργασίας (~5 min) στη συχνότητα των 500 Hz, καθιστώντας την τεχνολογία του ψυχρού πλάσματος ιδιαίτερα αποδοτική για την αποκατάσταση εδαφών που έχουν ρυπανθεί από αντιβιοτικά.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία ή την πρόληψη ανθρώπινων ασθενειών, στην κτηνιατρική για την βελτίωση της υγείας των ζώων και στη γεωργία για την προστασία των καλλιεργειών. Λόγω του ότι τα αντιβιοτικά μεταβολίζονται ασθενώς από ζωντανούς οργανισμούς, το μεγαλύτερο μέρος της θεραπευτικής δόσης εκκρίνεται σχεδόν αυτούσιο μέσω ούρων, κοπράνων και κοπριάς. Λόγω της ελλιπούς βιολογικής αποικοδόμησής τους, τα αντιβιοτικά καταλήγουν στο περιβάλλον μέσω απορρίψεων από μονάδες επεξεργασίας λυμάτων και επιστρέφουν στην τροφική αλυσίδα μέσω στραγγισμάτων από χώρους υγειονομικής ταφής και επαναχρησιμοποίηση λυμάτων για άρδευση. Παράλληλα, τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην κτηνιατρική και τη γεωργία μπορούν να εισέλθουν σε εδαφικά και υδατικά συστήματα είτε άμεσα είτε μέσω της χρήσης κοπριάς και υποπροϊόντων λάσπης ως λιπασμάτων εδάφους. Συνεπώς, αποτελούν σοβαρή απειλή για την ποιότητα του εδάφους και των υδάτων, καθώς αναστέλλουν τους ενεργούς μικροοργανισμούς του οικοσυστήματος που θα μπορούσαν να είναι ζωτικής σημασίας σε πολλές διεργασίες του υπεδάφους, όπως η αποκατάσταση των εδαφών και των υπογείων υδάτων και οι κύκλοι αζώτου, θείου και άνθρακα. Επιπλέον, η συνεχής παρουσία αντιβιοτικών στο έδαφος και στο νερό επιτρέπει στα επιβλαβή μικρόβια και βακτήρια να αναπτύξουν αντίσταση σε αυτά τα φάρμακα από τα οποία εξαρτάται η άμυνά μας ^[1]. Δεδομένου ότι η έρευνα για την ανάπτυξη νέας γενιάς αντιβιοτικών είναι αργή ή έχει περιορισμένη επιτυχία, είναι επιτακτική η ανάγκη να περιοριστεί η μη ελεγχόμενη έκθεση των αντιβιοτικών στα βακτήρια. Συνεπώς, είναι απαραίτητο να αναπτυχθούν αποδοτικές και φιλικές προς το περιβάλλον μέθοδοι για την αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών από αντιβιοτικά.

Η σιπροφλοξασίνη είναι ένα από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα και ανθεκτικά στο περιβάλλον αντιβιοτικά. Ανήκει στην κατηγορία των φθοριοκινολονών με ένα ευρύ φάσμα δραστηριότητας κατά

Gram-αρνητικών και Gram-θετικών βακτηριδίων. Επιπλέον, είναι ο κύριος μεταβολίτης της ενροφλοξασίνης, ενός ευρέως χρησιμοποιούμενου αντιβιοτικού στην κτηνιατρική. Η συγκέντρωση της σιπροφλοξασίνης στη χωνευμένη λύ και το ρυπασμένο έδαφος έχει βρεθεί στην περιοχή 0,3-3 mg/kg, ενώ πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις έχουν αναφερθεί σε προϊόντα επεξεργασίας λυμάτων (δηλ. 50 mg/L) [2]. Δεδομένου ότι η σιπροφλοξασίνη προσροφάται έντονα στην επιφάνεια του εδάφους και είναι ανθεκτική στη βιοαποικοδόμηση, είναι ζωτικής σημασίας να απομακρυνθεί από το έδαφος.

Διάφορες τεχνολογίες έχουν προταθεί για την αποκατάσταση υγρών αποβλήτων ή λύος που περιέχουν αντιβιοτικά (π.χ. βιοαποκατάσταση, φωτοκαταλυτική οξείδωση, προσρόφηση κλπ.), αλλά οι μελέτες σχετικά με την απομάκρυνση αντιβιοτικών από εδάφη είναι σπάνιες [3]. Σε αυτή τη μελέτη, η τεχνολογία του ψυχρού πλάσματος εξετάστηκε σαν μια προηγμένη διεργασία οξείδωσης για την αποκατάσταση εδάφους που έχει ρυπανθεί από σιπροφλοξασίνη. Πρόσφατα, αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί εξετάζοντας την τεχνολογία του ψυχρού πλάσματος για την απομάκρυνση υγρών ή στερεών ρύπων από εδάφη καταδεικνύοντας σημαντικά πλεονεκτήματα της εν λόγω τεχνολογίας σε σχέση με τις συμβατικές τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών [4-5].

Στην παρούσα εργασία, τα πειράματα διεξήχθησαν σε έναν αντιδραστήρα εκκενώσεων διηλεκτρικού φράγματος (DBD) [7,8], όπου ένα τροφοδοτικό παλμών υψηλής τάσης παρείχε την απαραίτητη τάση για την παραγωγή πλάσματος υπό ατμοσφαιρική πίεση αέρα. Η επίδραση των συνθηκών λειτουργίας του αντιδραστήρα ψυχρού πλάσματος όπως ο χρόνος επεξεργασίας, η εφαρμοζόμενη τάση, η συχνότητα εκκένωσης ερευνήθηκαν και βελτιστοποιήθηκαν. Η συγκέντρωση του αντιβιοτικού στο έδαφος προσδιορίστηκε μέσω ανάλυσης των εκχυλισμάτων του από το έδαφος με τη βοήθεια υγρής χρωματογραφίας υψηλής επίδοσης (HPLC). Σε επόμενο στάδιο, θα ταυτοποιηθούν τα κύρια ενδιάμεσα προϊόντα αποικοδόμησης της σιπροφλοξασίνης μέσω υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS) και θα προταθεί ένα πιθανό μονοπάτι αποικοδόμησής της.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

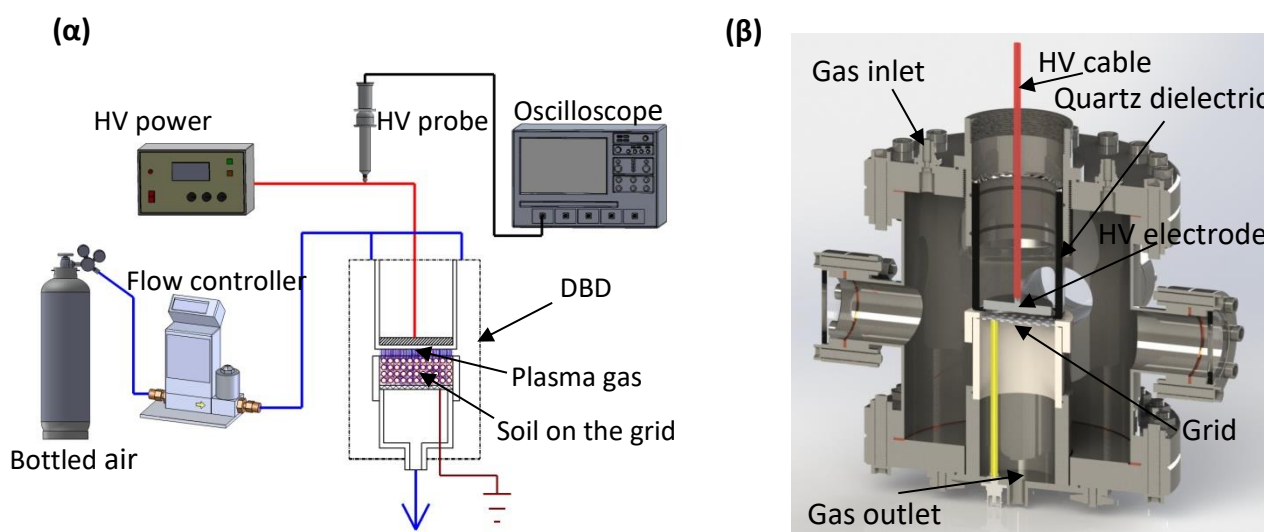
Το πρότυπο έδαφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν πυριτική άμμος με στενή κατανομή μεγέθους κόκκων (100-400 μm), η οποία προμηθεύτηκε από την εταιρεία Sigma Aldrich και τα χαρακτηριστικά της παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Πριν από τα πειράματα, η άμμος πλύθηκε με διάλυμα TetraMethylAmmonium Hydroxide (TMAH) 2% w/v σε MeOH, ώστε να απομακρυνθούν τυχούσες προσμίξεις που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη διαδικασία αποδόμησης και επιπλέον να περιπλέξουν την ανάλυση μέσω HPLC. Στη συνέχεια, η άμμος ρυπάνθηκε τεχνητά με συγκεκριμένο όγκο διαλύματος σιπροφλοξασίνης (64mg / 100 mL διαλύματος 2% w/v TMAH σε MeOH) ώστε η συγκέντρωση του αντιβιοτικού στο έδαφος να αντιστοιχεί σε 200 mg/kg-εδάφους. Τα δείγματα ρυπασμένου εδάφους παρασκευάστηκαν μετά από ανάδευση της άμμου και του διαλύματος και εξάτμιση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση (<50 mbar) και θερμοκρασία <40 °C.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά του εδάφους.

Έδαφος	pH	Χρώμα	Κύρια σύσταση
Πυριτική άμμος	7.5	Λευκό	SiO ₂

Στο Σχήμα 1 παρουσιάζεται λεπτομερώς ο αντιδραστήρας εκκένωσης διηλεκτρικού φράγματος (Dielectric Barrier Discharge) καθώς και η πειραματική διάταξη του συστήματος απορρύπανσης εδαφών. Στην παρούσα εργασία, ο αντιδραστήρας οδηγήθηκε από μία παλμική γεννήτρια υψηλής

τάσης το πλάτος της οποίας κυμαινόταν από 15 kV μέχρι 18 kV, ενώ η συχνότητα μεταβαλλόταν από 200 Hz μέχρι τα 500 Hz. Η παρακολούθηση της αντίστοιχης κυματομορφής κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του εδάφους πραγματοποιήθηκε από ψηφιακό παλμογράφο (Rigol MSO2302A, 300 MHz, 2 GSamples/s) και έναν καταμεριστή υψηλής τάσης (TT-HVP-2739 Testec, 220 MHz).



Σχήμα 1. (α) Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης για την επεξεργασία με ψυχρό πλάσμα ρυπασμένων εδαφών με σιπροφλοξασίνη. (β) Λεπτομερής απεικόνιση του αντιδραστήρα εκκένωσης διηλεκτρικού φράγματος.

Ο αντιδραστήρας DBD είναι μία κυλινδρική διάταξη διασταυρωμένου τύπου (Σχήμα 1β), κατασκευασμένη από ανοξείδωτο χάλυβα 304L ο οποίος στεγανοποιείται με φλάντζες χαλκού. Η εσωτερική του διάμετρος είναι 150 mm, το εσωτερικό ύψος 192 mm και το πάχος των τοιχωμάτων 2 mm. Το πολωμένο από υψηλή τάση ηλεκτρόδιο είναι ένας δίσκος από ανοξείδωτο χάλυβα (\varnothing 50 mm, πάχος 2mm) που καλύπτεται με ένα διηλεκτρικό χαλαζία πάχους 2 mm. Το γειωμένο ηλεκτρόδιο είναι ένα πλέγμα από ανοξείδωτο χάλυβα (\varnothing 50 mm) στο οποίο εναποτίθεται το δείγμα, επιτρέποντας τη ροή αέρα μέσω του πλέγματος/εδάφους (Σχήμα. 1β). Ο αέρας διοχετεύεται κάθετα με σταθερό ρυθμό και το κενό μεταξύ των ηλεκτροδίων είναι σταθερό και ίσο με 8 mm. Υπάρχουν 4 εισοδοί του αερίου, οι οποίες είναι συμμετρικά κατανομημένες στο πάνω καπάκι του αντιδραστήρα και μία οπή διαπερνά τον πυθμένα του αντιδραστήρα ενεργώντας ως η μόνη έξοδος του αερίου (Σχήμα 1β). Με αυτόν τον τρόπο, το αέριο εξαναγκάζεται να περάσει μέσα από το έδαφος.

Κατά την πειραματική διαδικασία, ξηρός πεπιεσμένος αέρας (Respal™) διοχετεύεται στον αντιδραστήρα και ο ρυθμός ροής του ελέγχεται με έναν μετρητή ροής μάζας αερίου Aalborg GFC17 (Σχήμα 1β). Ο χρόνος επεξεργασίας του εδάφους με ψυχρό πλάσμα κυμάνθηκε από 1 λεπτό μέχρι 20 λεπτά, ενώ η παροχή αέρα διατηρήθηκε σταθερή και ίση με 1 L/min.

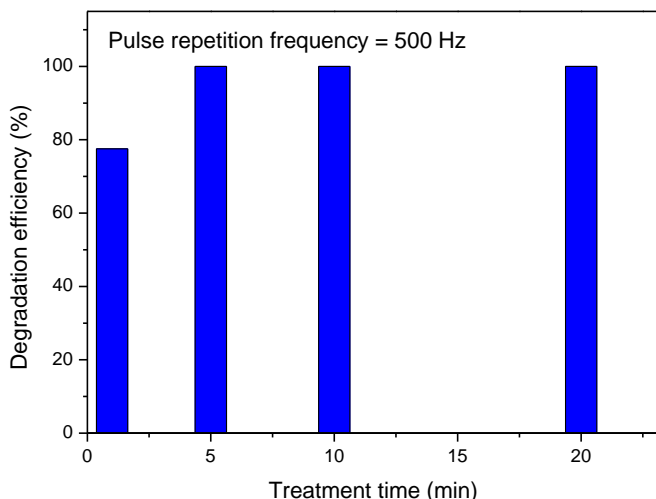
Μετά το πέρας της επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα, η σιπροφλοξασίνη ανακτήθηκε από κάθε επεξεργασμένο δείγμα εδάφους χρησιμοποιώντας τέσσερις διαδοχικές πλύσεις με διάλυμα TMAH 2% w/v σε MeOH και μία πλύση με MeOH ακολουθούμενες από εξουδετέρωση (pH 5) με οξικό οξύ και εξάτμιση της μεθανόλης υπό ελαττωμένη πίεση (<50 mbar) και θερμοκρασία <40 °C. Η ανάλυση των εκχυλισμάτων έγινε με HPLC κατόπιν συμπύκνωσης και αραίωσης με μεθανόλη σε συγκεκριμένο όγκο ώστε να προσδιοριστεί η συγκέντρωση του αντιβιοτικού που παραμένει στο έδαφος μετά την επεξεργασία με ψυχρό πλάσμα. Η διαδικασία αυτή προέκυψε ύστερα από εκτεταμένα πειράματα βελτιστοποίησης της ανάκτησης της σιπροφλοξασίνης από δείγματα

ρυπασμένης άμμου που δεν είχαν υποστεί κατεργασία με ψυχρό πλάσμα και υπό τις βέλτιστες συνθήκες το ποσοστό ανάκτησης της σιπροφλοξασίνης προσδιορίστηκε σε 80-83%. Με ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων διαφόρων συγκεντρώσεων κατασκευάστηκε η αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης με δυνατότητα ποσοτικοποίησης της σιπροφλοξασίνης έως και 0.3 mg/ml.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα δείγματα του εδάφους τα οποία επεξεργάστηκαν στον αντιδραστήρα ψυχρού πλάσματος της παρούσας εργασίας είχαν μάζα 5 g και το πάχος τους ήταν ~2.0 mm. Ο χρόνος επεξεργασίας τους κυμαινόταν από 1 λεπτό μέχρι 20 λεπτά, το πλάτος της εφαρμοζόμενης παλμικής τάσης από 15 kV μέχρι 18 kV, ενώ η συχνότητα μεταβαλλόταν από 200 Hz μέχρι τα 500 Hz.

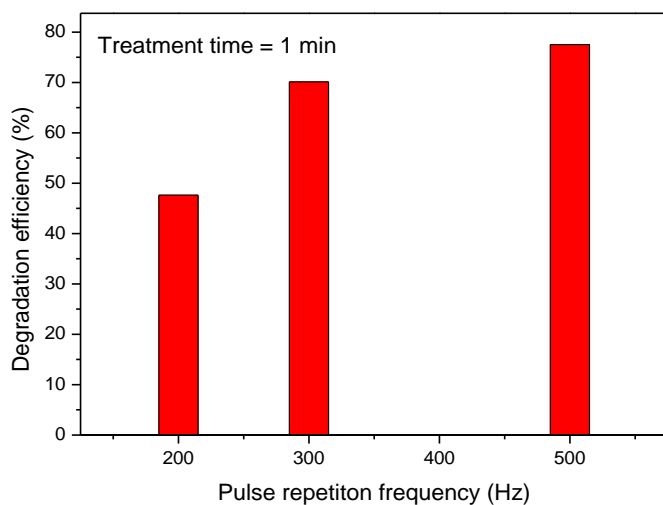
Η επίδραση του χρόνου επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα στην απόδοση αποικοδόμησης της σιπροφλοξασίνης στο έδαφος απεικονίζεται στο Σχήμα 2. Όπως γίνεται φανερό, η απόδοση αποικοδόμησης του αντιβιοτικού αυξάνεται με τον χρόνο επεξεργασίας σε συμφωνία με αποτελέσματα της βιβλιογραφίας ^[9,10]. Σε χρόνο επεξεργασίας $t=1\text{min}$ (συχνότητα = 500 Hz, πλάτος τάσης = 18 kV), η απομάκρυνση της σιπροφλοξασίνης από το έδαφος ήταν 77.5%, ενώ σε χρόνο επεξεργασίας $t\geq 5\text{min}$ η απομάκρυνση ήταν καθολική (~100%).



Σχήμα 2. Επίδραση του χρόνου επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα στην αποικοδόμηση της σιπροφλοξασίνης στο έδαφος (συχνότητα = 500 Hz, πλάτος τάσης = 18 kV).

Προκειμένου να διαπιστωθεί η επίδραση της συχνότητας των παλμών της υψηλής τάσης στην απόδοση απομάκρυνσης της σιπροφλοξασίνης από το έδαφος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε χρόνο επεξεργασίας $t=1\text{min}$ (πλάτος τάσης = 18 kV) και σε συχνότητες 200-500 Hz. Η επίδραση της συχνότητας απεικονίζεται στο Σχήμα 3. Όπως γίνεται φανερό, η απόδοση αποικοδόμησης του αντιβιοτικού αυξάνεται με την συχνότητα σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας ^[11,12]. Σε συχνότητα $f=200\text{ Hz}$, η απομάκρυνση της σιπροφλοξασίνης από το έδαφος ήταν 47.6%, ενώ η απομάκρυνση του αντιβιοτικού ήταν 70.1% και 77.5% σε συχνότητες 300 Hz και 500 Hz, αντίστοιχα. Η αύξηση της απόδοσης απομάκρυνσης της σιπροφλοξασίνης από το έδαφος όταν αυξάνεται η συχνότητα μπορεί να αποδοθεί στην μεγαλύτερη παροχή ηλεκτρικής ισχύος στο σύστημα. Προκαταρκτικές μετρήσεις ηλεκτρικής ισχύος σε διαφορετικές συχνότητες (αποτελέσματα που δεν παρατίθενται στην παρούσα εργασία) επιβεβαιώνουν ότι αύξηση της συχνότητας των παλμών της υψηλής τάσης επιφέρει αύξηση της ηλεκτρικής ισχύος που παρέχεται στο σύστημα. Επιπλέον, προκαταρκτικά πειράματα σε διαφορετικές τιμές πλάτους της υψηλής

τάσης σε συχνότητα $f= 200$ Hz και χρόνο επεξεργασίας $t=1$ min, έδειξαν αύξηση της απομάκρυνσης του αντιβιοτικού κατά ~20% όταν το πλάτος της υψηλής τάσης αυξήθηκε από τα 15 kV στα 18 kV.



Σχήμα 3. Επίδραση της συχνότητας των παλμών της υψηλής τάσης στην αποικοδόμηση της σιπροφλοξασίνης στο έδαφος (χρόνος επεξεργασίας = 1 min, πλάτος τάσης = 18 kV).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ένας αντιδραστήρας ψυχρού πλάσματος (εκκενώσεων διηλεκτρικού φράγματος, DBD) ο οποίος λειτουργεί υπό ατμοσφαιρική πίεση αέρα, οδηγήθηκε από παλμική υψηλή τάση και χρησιμοποιήθηκε για την απομάκρυνση από στρώματα εδάφους του αντιβιοτικού σιπροφλοξασίνη με αρχική συγκέντρωση στο έδαφος 200 mg/kg. Η απόδοση αποικοδόμησης του αντιβιοτικού αυξάνεται τόσο με το χρόνο επεξεργασίας όσο και με τη συχνότητα και το πλάτος των παλμών της υψηλής τάσης. Η αποικοδόμηση της σιπροφλοξασίνης ήταν καθολική σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα (χρόνος επεξεργασίας έως 5 λεπτά) σε συχνότητα 500 Hz και πλάτος παλμικής τάσης 18 kV, υποδεικνύοντας ότι η τεχνολογία του ψυχρού πλάσματος που παράγεται μέσω εκκενώσεων διηλεκτρικού φράγματος (DBD) έχει τη δυνατότητα να καταστεί μια πολύ αποδοτική τεχνολογία για την αποκατάσταση εδαφών που έχουν ρυπανθεί από αντιβιοτικά αυτού του είδους τα οποία είναι και από τα περισσότερο συνταγογραφούμενα. Σε επόμενο στάδιο, θα ταυτοποιηθούν τα κύρια ενδιάμεσα προϊόντα αποικοδόμησης της σιπροφλοξασίνης μέσω υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS) και θα προταθεί ένα πιθανό μονοπάτι αποικοδόμησης της προκαλούμενο από επεξεργασία με ψυχρό πλάσμα στο έδαφος.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία υλοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου «In Situ Soil Remediation by Non-Thermal Plasma [INSOILPLASMA]» το οποίο χρηματοδοτείται από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ) και από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ), με αρ. Σύμβασης Έργου [1754].



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] S. Thiele-Bruhn. J. Plant Nutr. Soil Sci. 166 (2003) 145–167.
- [2] E. Martinez-Carballo, C. Gonzalez-Barreiro, S. Scharf, O. Gans. Environ. Pollut. 148 (2007) 570–579.
- [3] C.L. Zhang, X.L. Guo, B.Y. Li, Y. Wang. J. Mol. Liq. 173 (2012) 184–186.
- [4] C.A. Aggelopoulos, C.D. Tsakiroglou, S. Ognier, S. Cavadias. Int. J. Environ. Sci. Technol. 12 (2015) 1011-1020.
- [5] C.A. Aggelopoulos. Int. J. Environ. Sci. Technol. 13 (2016) 1731-1740.
- [6] J. Lou, N. Lu, J. Li, T. Wang, Y. Wu, Chem. Eng. J. 180 (2012) 99-105.
- [7] C.A. Aggelopoulos, A. Gkelios, M.I. Klapa, C. Kaltsonoudis, P. Svarnas, C.D. Tsakiroglou. Chem. Eng. J. 301 (2016) 353-361.
- [8] C.A. Aggelopoulos, D. Tataraki, G. Rassias. Chem. Eng. J. 347 (2018) 682-694.
- [9] C.A. Aggelopoulos, M.I. Klapa, P. Svarnas, C.D. Tsakiroglou. Chem. Eng. J. 270 (2015) 428-436.
- [10] T.C. Wang, G. Qu, J. Li, D. Liang, S. Hu, Chem. Eng. J. 239 (2014) 178-184.
- [11] T. Wang, G. Qu, Q. Sun, D. Liang, S. Hu. Water Res. 84 (2015) 18-24.
- [12] N. Lu, P. Luo, Y. Guo, K. Shang, X. Zhang, J. Li, Y. Wu. IEEE Tran. Plasma Sci. 44 (2016) 3052-3059.