

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Studium podmínek fotokatalytického odstraňování *E. coli* z vod

Karin Stephányová

Diplomová práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Karin Stephányová**
Osobní číslo: **C19591**
Studijní program: **N0512A130006 Analýza biologických materiálů**
Studijní obor: **Analýza biologických materiálů**
Téma práce: **Studium podmínek fotokatalytického odstraňování *E. coli* z vody**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

Zpracujte literární rešerši zaměřenou na fotokatalýzu a faktory, které ji ovlivňují. Důraz kladte na využití fotokatalýzy k odstraňování mikrobiálního znečištění. Zaměřte se hlavně na publikace za posledních 5 let.

Experimentální část:

Na základě získaných poznatků z literární rešerše proveďte laboratorní testy zaměřené na studium podmínek ovlivňujících fotokatalýzu. Testování nejprve proveďte s vhodnou modelovou látkou a následně s *E. coli*.

Výsledky experimentů vyhodnoťte a kriticky zhodnoťte.

Diplomovou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 „Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací“ v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy: **35 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jiří Palarčík, Ph.D.**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Konzultant diplomové práce: **Ing. Petra Peroutková**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Karin Stephányová

PODĚKOVÁNÍ

Nejdříve bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce Ing. Jiří Palarčíka, Ph.D, za velkou míru trpělivosti a ochoty, lidského přístupu, podnětné rady a odbornou pomoc, kterou mi poskytoval při zpracovávání mé diplomové práce a za čas, který mi věnoval. Děkuji také Ing. Petře Peroutkové za pomoc, možnost konzultací a osobních setkání za účelem diskuse o řešení problému. Ráda bych poděkovala také své rodině, příteli a přátelům, kteří mě při vytváření této práce podpořili, a bez jejichž pomoci by nebylo možné práci dokončit.

V Pardubicích dne

Karin Stephányová

ANOTACE

Diplomová práce je zaměřena na fotokatalýzu, a na faktory, které ji ovlivňují. Byl zkoumán vliv použitého druhu fotokatalyzátoru (P25, AV01, P90 a PRETIOX CG300) na účinnost odstranění methylenové modři z modelových prostředí. Nejúčinnější z testovaných fotokatalyzátorů byly P25 a AV01, nejhorších výsledků bylo ve všech případech dosaženo s PRETIOX CG300. Dále bylo zjištěno, optimální množství použitého fotokatalyzátoru je 1 g/l při intenzitě míchání 500 ot/min.

Nejvyšší účinnosti odstranění bakterií *Escherichia coli* samotnou fotokatalyzátoru bylo dosaženo s fotokatalyzátorem P25, nejvhodnějším prostředím byl fyziologický roztok. Dalšího zlepšení účinnosti odstranění bakterií *Escherichia coli* bylo dosaženo za použití kombinace fotokatalýzy s peroxidem vodíku.

KLÍČOVÁ SLOVA

Fotokatalýza, optimalizace podmínek, *Escherichia coli*, methylenová modř

TITLE

Study of conditions for photocatalytic removal of *E. coli* from water

ANNOTATION

The diploma thesis is focused on photocatalysis and the factors that affect it. The influence of the used type of photocatalyst (P25, AV01, P90 and PRETIOX CG300) on the efficiency of methylene blue removal from model environments was investigated. The most efficient of the tested photocatalysts were P25 and AV01, the worst results were achieved in all cases with PRETIOX CG300. Furthermore, it was found that the optimal amount of photocatalyst used is 1 g / l at a stirring intensity of 500 rpm.

The highest efficiency of *Escherichia coli* bacteria removal by the photocatalyst alone was achieved with the P25 photocatalyst, the most suitable medium was saline. A further

improvement in the removal efficiency of *Escherichia coli* was achieved using a combination of photocatalysis with hydrogen peroxide.

KEYWORDS

Photocatalysis, optimization of conditions, *Escherichia coli*, methylene blue

Obsah

Obsah	7
Seznam zkratek a značek	10
Seznam ilustrací	12
Úvod	14
1 Teoretická část	15
1.1 Voda.....	15
1.1.1 Úprava vod.....	15
1.1.2 Přítomnost mikroorganismů ve vodě.....	16
1.1.3 Koliformní bakterie.....	17
1.2 <i>Escherichia coli</i>	19
1.2.1 Patogenita.....	19
1.2.2 Faktory virulence	19
1.2.3 Hodnocení kvality vody.....	20
1.2.4 Metody detekce.....	20
1.3 Pokročilé oxidační procesy	21
1.3.1 Fentonova reakce	21
1.3.2 Procesy využívající ozón	23
1.4 Fotokatalýza.....	24
1.4.1 Homogenní fotokatalýza.....	25
1.4.2 Heterogenní fotokatalýza	25
1.4.3 Oxid titaničitý	26
1.5 Využití fotokatalýzy	27
1.5.1 Odstranění mikrobů	28
1.5.2 Odstranění těžkých kovů	32
1.5.3 Odstranění barviv.....	33

1.5.4 Odstranění léčiv a organických sloučenin	36
1.6 Faktory ovlivňující fotokatalýzu.....	40
1.7 Vliv iontů na fotokatalýzu	41
1.7.1 Anorganické ionty.....	41
1.7.2 Organické ionty.....	45
2 Cíl práce.....	46
3 Experimentální část.....	47
3.1 Postup přípravy zásobních a reakčních roztoků	47
3.2 Postup stanovení rovnice kalibrační přímky methylenové modři	48
3.3 Postup na optimalizačních stanovení	49
3.4 Postup fotokatalytické degradace <i>E. coli</i>	49
3.4.1 Měření zákalu	49
3.4.2 Nepřímé stanovení počtu buněk – Plotnová metoda	49
3.4.3 Kvantitativní hodnocení počtu narostlých kolonií.....	50
3.4.4 Separace <i>E. coli</i>	51
3.4.5 Průběh fotokatalýzy za pomoci fotokatalyzátoru	51
3.4.6 Průběh fotokatalýzy za pomoci H ₂ O ₂	51
4 Výsledky a diskuze	52
4.1 Vliv použitého druhu fotokatalyzátoru a prostředí na účinnost degradace methylenové modři	52
4.1.1 Porovnání průběhu fotokatalýzy pro čtyři testované katalyzátory	56
4.2 Vliv množství použitého druhu fotokatalyzátoru na účinnost degradace methylenové modři	58
4.2.1 Porovnání optimální navážky fotokatalyzátorů	62
4.3 Vliv otáček na fotokatalytickou degradaci methylenové modři	63
4.3.1 Porovnání optimalizace otáček při fotokatalýze MM.....	66
4.4 Využití fotokatalýzy k odstranění <i>E. coli</i>	67

4.4.1 Porovnání účinnosti fotokatalýzy na <i>E. coli</i>	70
Závěr	71
Použitá literatura	73

Seznam zkratek a značek

AIEC	adherentně invazivní <i>E. coli</i>
AO7	Acid Orange 7
AOP	pokročilé oxidační procesy
CB	vodivé pásmo z angl. <i>valence band</i>
CBZ	karbamazepin
CD-PCL-TiO ₂	cyklodextrin-polykaprolakton-oxid titaničitý
CFU	jednotka tvořící kolonie
CFU/ml	jednotka tvoří kolonie na 1 ml
ČOV	čistírna odpadních vod
DI	demineralizovaná voda
DNA	deoxyribonukleová kyselina
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>eaeA</i>	protein kódující intimín
EAEC	enteroagregativí kmen <i>E. coli</i>
EDC	endokrinní systém
EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina
EHEC	enterogemoragická kmen <i>E. coli</i>
EIEC	eneteroinvazivní kmen <i>E. coli</i>
EPEC	enteropatogenní kmen <i>E. coli</i>
ETEC	enterotoxigenní kmen <i>E. coli</i>
ExPEC	extraintestinální kmen <i>E. coli</i>
FR	fyzilogický roztok
G+	grampozitivní
G-	gramnegativní
hm. %	hmotnostní zlomek (procento)
LB médium	Lurta-Bertani médium
MeO	methylenová oranž
MDA	malondialdehyd
MLST	multilokusové sekvence
MPA	masopeptonový agar
MPB	masopeptonový bujón

mTEC agar	membránový termotolerantní agar na <i>E. coli</i>
ot/min.	otáčky za minutu
PAA	peroctová kyselina
PCR	polymerázová řetězová reakce
ppm	per par milion
RAPD-PCR	náhodná amplifikace polymorfní DNA, metoda založená na PCR
RNA	ribonukleová kyselina
rRNA	ribosomální RNA
rpm	otáčky za minutu angl. <i>revolutions per minute</i>
ROS	reaktivní formy kyslíku
STEC	<i>E. coli</i> produkující Shiga toxin
USEPA	agentura pro ochranu životního prostředí
UWWTP	konvenční městské čistírny odpadních vod
UV	ultrafialové
UV/VIS	ultrafialovo-viditelné
VB	valenční pásma z angl. <i>conduction band</i>
VV	voda z vodovodu
XPS	rentgenová fotoelektronová spektroskopie
λ	vlnová délka

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1: Možné způsoby mechanismů čištění odpadních vod.....	16
Obrázek 2: Ukázka Gramova zbarvení.....	18
Obrázek 3: Znázornění bakteriální dezinfekce pomocí katalyzátoru aktivního za viditelného světla	24
Obrázek 4: Mechanismus heterogenní fotokatalýzy.....	25
Obrázek 5: Mechanismy oxidačního a redukčního procesu v heterogenní fotokatalýzy	26
Obrázek 6: Znázornění struktury polymorfů, které tvoří fotokatalyzátor TiO ₂ : a) anatas, b) rutil a c) brookit.....	27
Obrázek 7: Mechanismus absorpce světla stříbra podporovaného s TiO ₂	30
Obrázek 8: Pohled na jeden modul sběrače CPC (vlevo) a schéma instalace (vpravo)	30
Obrázek 9: Nalevo je schéma konfigurace s TiO ₂ a napravo je vidět upevněný fotokatalyzátor do skleněných trubic fotoreaktoru CPC.....	31
Obrázek 10: Strukturní forma methylenové oranže.....	34
Obrázek 11: Mechanismus UV/H ₂ O ₂ a reakce hydroxylových radikálů s chloridovými a bromidovými ionty	42
Obrázek 12: Navrhovaná cesta pro degradaci CBZ.....	44
Obrázek 13: Degradace MM v DI, nerezový reaktor 1	52
Obrázek 14: Degradace MM v VV, nerezový reaktor 1	53
Obrázek 15: Degradace MM v FR, nerezový reaktor 1	53
Obrázek 16: Degradace MM v DI, nerezový reaktor 2	54
Obrázek 17: Degradace MM v VV, nerezový reaktor 2.....	55
Obrázek 18: Degradace MM v FR, nerezový reaktor 2.....	55
Obrázek 19: Fotodegradace MM v DI, fotokatalyzátor AV01, nerezový reaktor 1	58
Obrázek 20: Fotodegradace MM v VV, fotokatalyzátor AV01, nerezový reaktor 1	59
Obrázek 21: Fotodegradace MM v FR, fotokatalyzátor AV01, nerezový reaktor 1	59
Obrázek 22: Degradace MM v DI, fotokatalyzátor P25, nerezový reaktor 1	60
Obrázek 23: Degradace MM ve VV, fotokatalyzátor P25, nerezový reaktor 1.....	61
Obrázek 24: Degradace MM ve FR, fotokatalyzátor P25, nerezový reaktor 1	61
Obrázek 25: Degradace MM ve FR, fotokatalyzátor P25 při různých otáček, nerezový reaktor 1	63

Obrázek 26: Degradace MM v DI, fotokatalyzátor P25 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1	63
Obrázek 27: Degradace MM ve VV, fotokatalyzátor P25 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1	64
Obrázek 28: Degradace MM ve FR, fotokatalyzátor AV01 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1	65
Obrázek 29: Degradace MM ve DI, fotokatalyzátor AV01 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1	65
Obrázek 30: Degradace MM ve VV, fotokatalyzátor AV01 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1	66
Obrázek 31: Degradace <i>E. coli</i> za použití fotokatalyzátoru P25 v různém prostředí	67
Obrázek 32: Degradace <i>E. coli</i> za použití fotokatalyzátoru AV01 v různém prostředí	68
Obrázek 33: Degradace <i>E. coli</i> za použití P25, H ₂ O ₂ a jejich kombinací	68
Obrázek 34: Degradace <i>E. coli</i> za použití AV01, H ₂ O ₂ a jejich kombinací.....	69
Tabulka 1: Použité chemikálie pro experimenty	47
Tabulka 2: Čas a ředění potřebné pro naočkování kultury <i>E. coli</i>	50
Tabulka 3: Vypočtené hodnoty reakčních konstant k.....	56
Tabulka 4: Rychlostní konstanty v závislosti na navážce fotokatalyzátorů AV01 a P25.....	62

Úvod

Voda je všude kolem nás a je nedílnou součástí života. Jedná se o hlavní zdroj živin pro všechny organismy, včetně lidí, kteří ji potřebují pro své přežití. Lidský organismus může bez komplikací konzumovat jediné pitnou vodu. Pitná voda je voda, která je čistá, neobsahuje nečistoty či kontaminanty (např. koliformní bakterie). Tato voda se dá získat úpravou podzemních vod ze studen, pramenišť anebo úpravou povrchových vod (potoky, řeky, vodní nádrže atd.). Úprava podzemních vod je potřeba zejména z důvodu nastavení optimálního množství přítomných iontů, oproti tomu úprava vod povrchových je zaměřena hlavně na látky suspendované, organické a mikrobiální znečištění.

V posledních letech se stále více klade důraz na kontrolu kvality vody z hlediska takových kontaminantů jako jsou pesticidy, barviva, léky nebo patogenní mikroorganismy, včetně virů, bakterií a parazitů. Problémem je, že tyto nové typy kontaminace jsou většinou velmi špatně odstranitelné konvenčními způsoby čištění a úpravy vod. Musíme proto hledat nové, účinnější, ale ekonomicky přijatelné postupy a technologie, jak toto znečištění efektivně odstranit.

Příkladem konvenčních technologií úpravy pitné vody jsou fyzikální metody jako např. filtrace, membránové procesy (nanofiltrace, ultrafiltrace, reverzní osmóza) nebo chemické metody, mezi které patří oxidační procesy – chlorace, UV-záření, ozonizace.

V současnosti pro čištění a úpravu vod stále více začíná využívat nová perspektivní metoda - fotokatalýza. Uplatnění nachází hlavně v oblasti odstraňování organického a mikrobiálního znečištění. Její průběh je ovlivněn mnoha faktory, jako např. koncentrací substrátu, fotokatalyzátoru, pH prostředí, teplotou, přítomnými ionty, intenzitou a druhem zářením a podobně. Proto je důležité se touto otázkou zabývat a hledat optimální možnosti využití fotokatalýzy v co nejširší oblasti čištění a úpravy vod.

1 Teoretická část

1.1 Voda

Voda vyskytující se na Zemi se dělí dle různých hledisek. Základní rozdělení vody je na sladkou a slanou. Sladká voda tvoří 3 % a slaná 97 % z celkového obsahu vody na Zemi. Zásobu sladké vody tvoří přibližně 30 % vody v půdě (podzemní voda), 68 % je vázána v ledovcích a zbylá 2 % jsou tvořena povrchovou vodou (řeky, jezera, močály atd.). Hlavním významem vody pro život je její nezbytná součást v metabolismu organismu (spousta chemických reakcí probíhá ve vodních roztocích), transportu živin a jejich přijímání i vylučování (Malý a Malá, 2000).

Vodní zákon, respektive zákon č. 254/2001 Sb., upravuje v ČR právní vztahy k povrchovým a podzemním vodám, dále pak vztahy fyzických a právnických osob k jejich využití. Účelem tohoto zákona je chránit povrchové a podzemní vody, stanovit podmínky pro hospodárné využívání vodních zdrojů, zachovat a zlepšovat jakost povrchových i podzemních vod, vytvářet podmínky pro snižování nepříznivých účinků povodní či sucha, zajistit bezpečnost vodních děl.

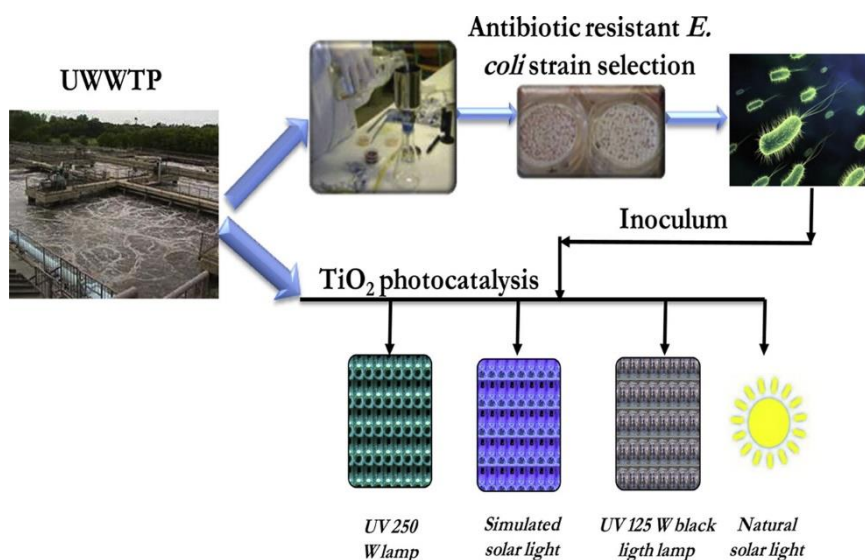
Povrchové vody jsou definovány podle zákona č. 254/2001 Sb., jako vody přirozeně se vyskytující na zemském povrchu. Povrchové vody jsou využívány k plavbě a k odběru vody potřebného k provozu vozidel, pro chov ryb nebo vodní drůbeže.

Podzemní vody jsou definovány podle zákona č. 254/2001 Sb., jako vody přirozeně se vyskytující pod zemským povrchem v pásmu nasycení v přímém styku s horninami. Jedná se o nejčistější vodní zdroj, který je využíván a zároveň chráněn před znečištěním. Primárním využitím podzemních vod by mělo být zásobování pitnou vodou pro obyvatelstvo. Sekundárním využitím je jejich vzdouvání, využívání vodního potenciálu k plavení dřeva, chovu ryb, odběru a spoustu dalších využití.

1.1.1 Úprava vod

Zdrojem pitné vody jsou povrchové a podzemní vody, které upravujeme. Tuto vodu pak můžeme používat pro běžné užití a pití. Podzemní vodu nejčastěji upravujeme kvůli vyššímu obsahu minerálních látek, než je náš organismus zvyklý přijímat. Povrchovou vodu pak kvůli obsahu organických látek, pesticidů, bakterií, jiných mikroorganismů atd. (Bindzar, 2009). Z toho důvodu se při úpravě pitné vody využívají konvenční technologie jako např.: flokulace a sedimentace, filtrace, ultrafialové (UV) záření a chemické metody (chlorace, ozonace). Jako

alternativní technologie k některým současným metodám úpravy pitné vody se může použít fotokatalýza (Pichel a kol., 2019). Na obrázku 1 jsou znázorněny některé možnosti, jak by se mohly z odpadních vod po klasickém čištění odstraňovat rezistentní mikroorganismy (Rizzo a kol., 2014).



Obrázek 1: Možné způsoby mechanismů čištění odpadních vod (Rizzo a kol., 2014)

1.1.2 Přítomnost mikroorganismů ve vodě

Rozdíly mezi kontaminovanou a nekontaminovanou vodou mikroorganismy mohou být na první pohled obtížně stanovitelné. Kontaminovaná voda může vypadat čistě, ale nemusí tomu tak být. Voda je vhodným prostředím pro množení bakterií (například *Campylobacter* spp., koliformní bakterie), virů a dalších mikroorganismů. Tyto mikroorganismy mohou mít na naše zdraví značný vliv, a mohou způsobovat lehká až závažná onemocnění (Pichel a kol., 2019). Při konzumaci vody znečištěné mikroorganismy může dojít k projevům jako je průjem, zvracení, bolesti hlavy, žaludeční potíže, zimnice apod. (Ishii a kol., 2008). Hlavními původci nemocí jsou enterické bakterie (*E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*), nebo viry (norovirus, hepatitida A) (Ishii a kol., 2008).

Voda se proto upravuje fyzikálně-chemickými procesy a samozřejmě je také ochrana a kontrola vodních zdrojů včetně studen (blízkost septiků, pravidelné čištění atd.) (Sonune a Ghate, 2004).

Pro zjištění přítomnosti mikroorganismů ve vodě slouží její rozbor. Jedná se o jednu z nejdůležitějších kontrol kvality vody. Při rozboru vody se stanovují například mikroorganismy

koliformní bakterie – hlavně *Escherichia coli*, Enterokoky, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* (Ishii a kol., 2008).

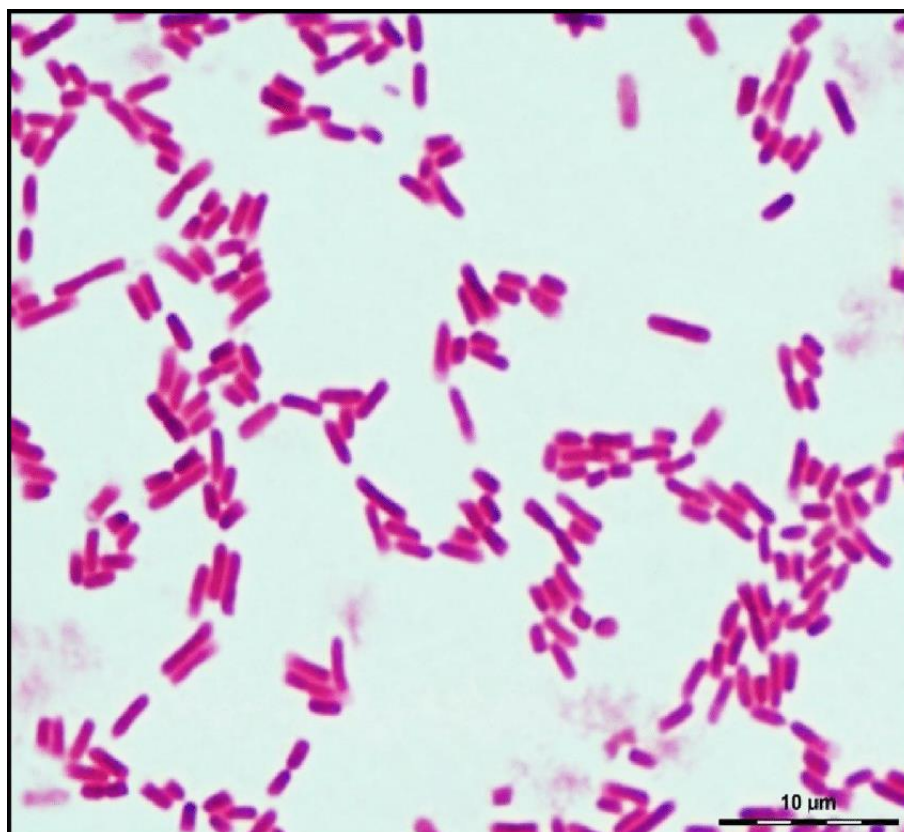
V komunálních odpadních vodách se vyskytují patogenní střevní bakterie, viry a střevní paraziti. Přestože procesy primárního a sekundárního čištění odpadních vod jsou schopny odstranit až 90-99,9 % tohoto znečištění, nemusí to být dostatečné a je potřeba použít i tzv. terciární čištění, např. filtraci (Koivunen a kol., 2003; Rajala a kol., 2003).

Nejběžněji používanou metodu dezinfekce na celém světě je chlorace. Je zcela účinná proti mnoha enterickým bakteriím, ale má malou účinnost proti virům, bakteriálním sporám a cystám prvoků (Veschetti a kol., 2003). Kvůli vznikajícím vedlejším produktům během procesu chlorace je však tato metoda ne zcela vyhovující (Veschetti a kol., 2003). Naproti tomu peroxid kyseliny octové neboli kyselina peroctová (PAA) má stejné účinky jako metoda chlorace, ale při dezinfekčním procesu neprodukuje žádné vedlejší produkty do odpadních vod, což ji činí výhodnější (Koivunen a Heinonen-Tanski, 2005). Zbytky PAA snadno podléhají rozkladu na kyselinu octovou a kyslík, nebo se může rozložit na peroxid vodíku, který svým účinkem také přispívá k dezinfekčním procesům (Koivunen a Heinonen-Tanski, 2005).

Přestože po celém světě je chlorace využívanou metodou, v posledních létech ji začíná nahrazovat metoda založená na využití UV-záření, které účinně eliminuje enterické bakterie, viry, bakteriální spory i cysty parazitů bez produkce vedlejších produktů či jiných chemických zbytků (Koivunen a Heinonen-Tanski, 2005). Nevýhodou této metody je ale možnost opětovného růstu mikroorganismů, jak již v roce 1996 upozornili Baron a Bourbigot. Tato skutečnost vedla vědce ke hledání a zavedení nových pokročilých oxidačních procesů pro dezinfekci vod (Koivunen a Heinonen-Tanski, 2005).

1.1.3 Koliformní bakterie

Jedná se o gramnegativní, nesporující bakterie tyčinkovitého tvaru, které fermentují laktózu. Fermentací laktózy vzniká kyselina a plyn. Důležitým faktorem pro koliformní bakterie je reakce β -D-galaktosidázy, jedná se o enzym účastnící se užití laktózy (štěpení na galaktózu a glukózu, které dále fermentují). Převažujícím zástupcem koliformních bakterií je *Escherichia coli* (Ishii a kol., 2008). Obrázek 2 ukazuje preparát *E. coli* obarvený dle Grama, kde je vidět gramnegativní tyčinková bakterie (Baban, 2017).



Obrázek 2: Ukázka Gramova zbarvení (Baban, 2017)

1.2 *Escherichia coli*

E. coli gramnegativní, fermentující, tyčinkovitá bakterie, patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*. Je nejvýznamnějším druhem ve skupině koliformních bakterií (Ishii a kol., 2008). Tato bakterie je přirozeně přítomná ve střevním traktu teplotokrevných živočichů, včetně člověka. Dále se vyskytuje ve vodě, v půdě i na řasách. Do životního prostředí se uvolňuje prostřednictvím depozice fekálního materiálu, a proto je považována za indikátor fekální znečištění (Jing a kol., 2017).

Tato bakterie se řadí mezi heterotrofní, pro svůj růst využívá jako zdroj energie organický uhlík, dusík, fosfor, síru a stopové prvky. Může růst za aerobních a anaerobních podmínek. Je schopna růst v širokém rozmezí teplot (7,5 - 49 °C) a dokáže růst i v přítomnosti vysoké koncentrace živin. Teplotní optimum se udává 37 °C (Ishii a kol., 2008).

1.2.1 Patogenita

Některé kmeny *E. coli* jsou neškodné komenzální bakterie, ale jsou zde i výjimky, které způsobují onemocnění člověka (Nataro a kol., 1998). Známe několik kmenů patogenních *E. coli*: *E. coli* produkující Shiga toxin (STEC), enterohemoragická – difúzně adherentní *E. coli* (EHEC), enteropatogenní *E. coli* (EPEC) a enterotoxigenní *E. coli* (ETEC), enteroinvazivní *E. coli* (EIEC), a enteagregativní *E. coli* (EAEC) (Nataro a Kaper, 1998). STEC způsobuje krvavý průjem, který může vést až ke smrti člověka (např. jako u hemolyticko-uremického syndromu). Hlavní příčinou vodnatého průjmu u novorozenců je EPEC. ETEC způsobuje cestovatelský průjem a EAEC způsobuje dlouhodobý průjem (Ishii a kol., 2008). Enterohemoragická *E. coli* způsobuje závažná střevní onemocnění, jako jsou hemolyticko-uremický syndrom a hemoragická kolitida, které vedou k selhání ledvin a až k smrti. Některé kmeny *E. coli*, které mohou způsobovat extraintestinální onemocnění, se nazývají extraintestinální patogenní *E. coli* (ExPEC). Onemocnění, která způsobuje ExPEC mohou být od jednoduché infekce močových cest až po život ohrožující bakterémie (Dale a Woodford, 2015).

1.2.2 Faktory virulence

Kmeny *E. coli* jsou klasifikovány podle faktorů virulence a mechanismů patogenity způsobující gastrointestinální onemocnění (Kaper a kol., 2004). Nejznámější sérotyp *E. coli* O157: H7 je u EHEC, který se přenáší vodou či potravinami a způsobuje závažná onemocnění.

Sérotyp O157 u STEC poslední roky roste, včetně dalších sérotypů O26, O45, O103, O111, O121 a O145 (Farrokh a kol., 2013).

Nejdůležitějším faktorem virulence pro EPEC je rezistence na antibiotika, například intimin kódovaný pomocí genu *eaeA*, může za způsobená lidská onemocnění. Gen *eaeA* je lokalizován na lokusu enterocytů (LEE), který lze přenášet (Kaper a kol., 2004).

Komenzální a patogenní kmeny *E. coli* vykazují různé fenotypové a genotypové vlastnosti. *E. coli* je sérologicky rozdělena na tři základní typy: somatický (O), kapsulární (K) a bičíkový (H) antigen. Na základě kombinací O a H antigenů se identifikovalo více než 700 druhů sérotypů (Nataro A Kaper, 1998). Kmeny *E. coli* lze rozdělit do sérologických nebo fylogenetických skupin na A, B1, B2 a D (Clermont a kol., 2013). V posledních letech se na základě typizace multilokusových sekvencí (MLST) a sekvencí genomu vyvinulo fylogenetické rozdělení tak, aby byly zahrnuty nové skupiny (např. C, E, F a *Escherichia* clade I, které jsou poměrně vzácné u hlavních skupin). Clermont a kol. vyvinuli multiplexní PCR pro rychlou klasifikaci kmenů *E. coli* na sedm fylogenetických skupin (A, B1, B2, D, C, E, F a *Escherichia* clade I) bez pomoci MLST (Clermont a kol., 2013).

1.2.3 Hodnocení kvality vody

E. coli je fakultativně anaerobní mikroorganismus ve velké míře se vyskytující ve střevním traktu teplokrevných zvířat a lidí, a je tedy vylučována stolicí do životního prostředí a odpadních vod (Berthe a kol., 2013). Její koncentrace na gram stolice se liší u hostitele: 10^7 - 10^9 u lidí a 10^4 - 10^6 u zvířat (Tenailon a kol., 2010). Jak je patrné, její koncentrace u lidského hostitele převyšuje koncentraci u zvířecích hostitelů o několik řádů (Berg, 1996).

V 80. letech bylo prokázáno na základě epidemiologických studií, že koncentrace *E. coli* v rekreační vodě koreluje s výskytem gastrointestinálních onemocnění (United states environmental protection agency, 1986; Edberg a kol., 2000). Agentura pro ochranu životního prostředí (USEPA, z angl. *United States Environmental Protection Agency*) proto roku 1986 označila *E. coli* jako indikátor fekální kontaminace.

1.2.4 Metody detekce

Historicky používané metody ke zjištění počtu *E. coli* ze vzorků z rekreačních a jiných vod byly založené na kultivaci. Těmito metodami byly membránové filtrace se selektivním růstovým médiem, technika definovaného substrátu a technika nejpravděpodobnějšího počtu (Rice a Bridgewater, 2012).

Technika definovaného substrátu je založena na specifickém enzymu β -glukuronidázy např. modifikovaný agar mTEC obsahuje substrát pro detekci aktivity β -glukuronidázy a umožňuje rychlou a specifickou detekci *E. coli* (USEPA, 2006; Edberg a kol., 1990).

Pro kvantitativní stanovení *E. coli* byly vyvinuty komerčně dostupné soupravy jako např. Colilert-18 a systém Qanti-Tray/2000, IDEXX Laboratories, Westbrook atd. Díky těmto soupravám se zkrátil čas analýzy a umožnily tak rychlou, jednoduchou a nákladově efektivní analýzu pro některé kmeny *E. coli*, které tvoří enzym β -glukuronidázu (Rump a kol., 2012).

1.3 Pokročilé oxidační procesy

Pokročilé oxidační procesy (AOP, z angličtiny *advanced oxidation processes*) slouží k odstraňování nežádoucích anorganických i organických komponent při čištění vody. Příkladem oxidačních procesů jsou fotokatalýza, Fentonova reakce, ozonizace, využití UV-záření atd. (Sonune a Ghate, 2004). Oxidační procesy jsou běžně používány při čištění odpadních, pitných, podzemních nebo povrchových vod (Beneš, 2008). Při aplikaci může dojít ke vzniku reakčních meziproductů, které se poté odstraňují dalšími separační technikami (adsorpce, membránové procesy atd.).

Jak již bylo uvedeno, mezi pokročilé oxidační procesy patří Fentonova reakce, její modifikace foto-Fentonova reakce, fotokatalytická reakce (homogenní, heterogenní), fotolýza H_2O_2 UV zářením a další reakce využívající např. ozón (Schneider, 2011).

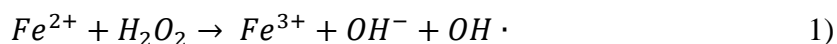
Charakteristickými znaky oxidačních procesů jsou:

- využívají vysoce reaktivní hydroxylové radikály
- radikálový atak na substrát probíhá velice rychle a vyznačuje se nízkou selektivitou
- probíhá za normální teploty i tlaku (energetická úspora)
- radikály lze generovat různými reakcemi (variabilita)

1.3.1 Fentonova reakce

Jedná se o nejstarší AOP. Fentonova oxidace je založena na reakci Fe^{2+} iontů s peroxidem vodíku, jak znázorňuje rovnice 1. Využívá se při čištění odpadních vod v různých odvětvích, např. ve farmaceutickém, chemickém a textilním průmyslu. Výhoda této reakce spočívá v dostupnosti chemikálií, snadné přípravě, nezávadnosti pro životní prostředí. Reakce je

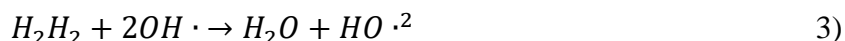
katalyzována ionty Fe^{2+} , hodnota pH by měla být v intervalu 2,5 - 3. Během reakce dochází k vysrážení síranu, které se následně odstraňují filtrací (Beneš, 2008).



Modifikací Fentonovy reakce se rozumí její vzrůstající využití na nové aplikace a nově vzniklé procesy. Například procesy využívající jako katalyzátor železo v jiném oxidačním čísle (Fe^0 , nebo Fe^{3+}), nebo jiné kovy (Cu, Ag, Ti, Cr, Co) nebo popřípadě volí jiný zdroj radikálu ($ClOH$) (Ceyda a kol, 2018).

Existují různé modifikace Fentonovy reakce, jednou z nich je tzv. foto-Fentonova reakce. Jedná se o urychlení oxidace spolupůsobením UV záření. Podle vlnové délky rozdělujeme toto záření na UV-A (3,26 - 3,87 eV, 320-380 nm), UV-B (do 4,41 eV, 280 nm) a UV-C (do 6,52 eV, 190 nm). Mezi pokročilé oxidační procesy pak patří tyto systémy: $H_2O_2/Fe^{2+}/UV$ (čínidlo schopné využívat záření do 400 nm), nebo $H_2O_2/Fe^{3+}/UV$ (čínidlo využívající záření do 550 nm) nebo $H_2O_2/[Fe^{3+}(C_2O_4)_3]^{3-}/UV$ (ozařovaný roztok se solí tris(oxalátu) železitanu). Tento proces je účinný hlavně při oxidaci polutantů absorbující záření o stejné vlnové délce jako u procesu Fe^{3+} a H_2O_2 (Dušek, 2010).

Další variantou je tzv. fotolýza peroxidu vodíku UV zářením. Jedná se o vysoce účinný oxidační proces, pokud jsou splněny následující podmínky: organické polutanty jsou rozpustné ve vodě, koncentrace H_2O_2 překračuje hodnotu 0,1 hm. % a jako zdroj záření lze použít UV lampu s vlnovou délkou 280 nm. Pokud jsou tyto podmínky splněny, dochází k reakcím uvedeným v rovnicích 2 - 4 (Schneider, 2011).



Při fotolýze dochází k homolytickému štěpení peroxidu na dva molární ekvivalenty hydroxylových radikálů. Účinnost štěpení je snížena vlivem solvatace molekul peroxidu vodíku. Hydroxylové radikály zanikají za vzniku superoxidového radikálu. Nevýhodou je nízký molární absorpční koeficient vody, který snižuje efektivitu využití zdroje záření (Ceyda a kol., 2018).

1.3.2 Procesy využívající ozón

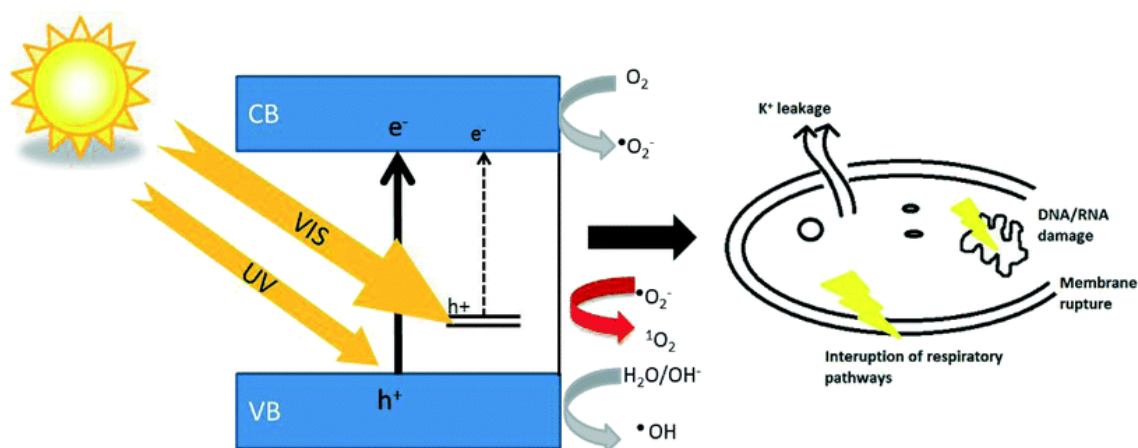
Ozón je účinným oxidačním činidlem často využívaným ve vodárenství. Lze jej kombinovat s dávkou peroxidu vodíku nebo UV zářením za účelem rychlé a masivní oxidace. V praxi se s tímto postupem setkáváme pod pojmem peroxonová technologie, kde se odstraňují hlavně dusitany, kyanidy, sirovodík a pokud je pH vyšší než 9 tak i amoniak (Beneš, 2010).

Proces ozonizace může být podpořen přidáním peroxidu vodíku nebo UV zářením (O_3/UV). Jedná se o dva nejjednodušší systémy účinné i v alkalickém prostředí. Rozkladem ozonu vzniká hydroxylový radikál a hydroxylový aniont (Schneider, 2011).

Systémem O_3/UV zahrnuje sycení odpadní vody ozonem za současného ozařování nízkotlakovou rtuťovou výbojkou. Výhodou je oproti použití peroxidu vodíku vysoký absorpční koeficient, tak šířka absorpčního pásu, čímž se tak projeví vysoká účinnost při oxidaci aromatických sloučenin. Další možné kombinační využití ozonu je s manganem (systém $Mn^{3+}/(COOH)_2/O_3$), přičemž výhodou je, že hydroxylový radikál může vzniknout i při $pH > 4$. Dochází k oxidaci kyseliny šťavelové ozonem za katalýzy manganatých iontů, kdy vzniká šťavelan di i tri manganitý, hydroxylový radikál, kyslík a oxid uhličitý. Tato reakce má vysokou účinnost pro vysoce rezistentní polutanty (pyridin a pyrazin) (Bindzar a kol., 2009; Dušek, 2010).

1.4 Fotokatalýza

Jedná se o výkonný pokročilý proces, který je schopný oxidovat velkou část organických i anorganických kontaminantů působením reaktivních forem kyslíku (ROS) a současně neprodukuje škodlivé vedlejší produkty (Athanasekou a kol., 2018). Fotokatalýza je široce využitelná, jak v oblasti ochrany životního prostředí, např. k odstranění barviv z průmyslových odpadních vod, tak k likvidaci bakteriálního znečištění. Na obrázku 3 je zjednodušeně znázorněn princip působení fotokatalýzy na mikroorganismy (Dolan a kol., 2014).



Obrázek 3: Znázornění bakteriální dezinfekce pomocí katalyzátoru aktivního za viditelného světla (Dolan a kol., 2014)

Principem fotokatalýzy je foto-excitace polovodičového materiálu, který absorbuje světelné záření (foton). Po absorpci fotonu dochází k excitaci elektronů z valenčního (VB) do vodivostního pásu (CB) a dochází ke vzniku párů elektronů a děr (vakancí). Elektrony z CB redukují ve vodě rozpuštěný kyslík, který se mění na superoxidový radikál ($\cdot\text{O}_2^-$). Vzniklé vakance interagují s adsorbovanou vodou nebo hydroxylovými ionty za vzniku hydroxylových radikálů ($\cdot\text{OH}$). Kromě vzniku hydroxylových radikálů může docházet k adsorpci organického substrátu a následně jeho oxidace. Fotokatalýzu nejčastěji dělíme na homogenní a heterogenní (Moles a kol., 2020).

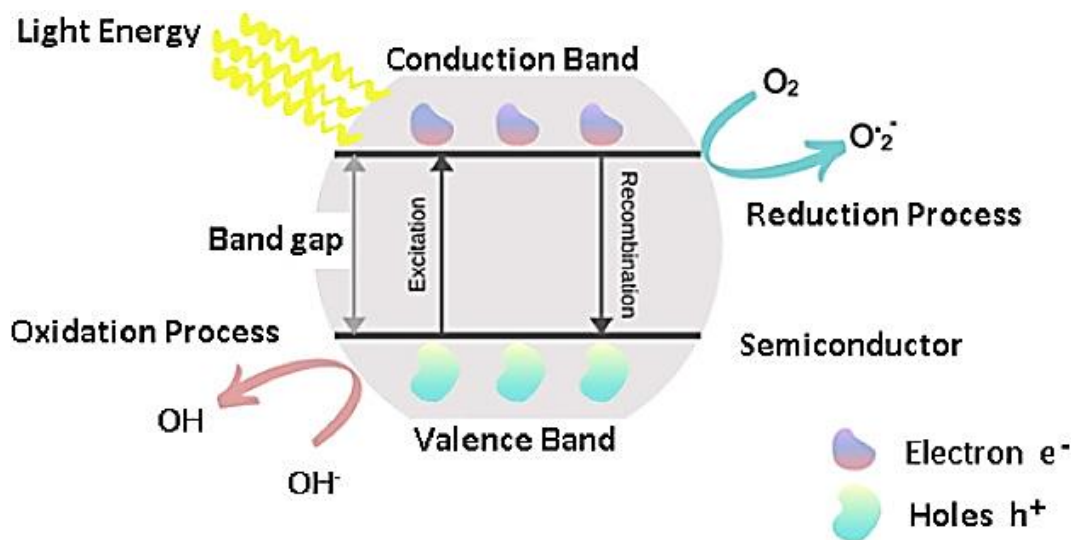
Z mnoha testovaných katalyzátorů se dosud za nejvýhodnější považuje TiO_2 anatasového typu, protože je levný, vysoce stabilní a účinný (Moles a kol., 2020). Příkladem komerčně dostupného fotokatalyzátoru na bázi TiO_2 je Aeoroxid[®] P 25-Evonik, který se původně prodával pod označením TiO_2 Degussa[®] P 25-Evonik (Athanasekou a kol., 2018).

1.4.1 Homogenní fotokatalýza

U homogenní fotokatalýzy je katalyzátor spolu s ostatními látkami v reakci ve stejné fázi (buď kapalně nebo plynné). V současnosti je homogenní fotokatalýza zavedena do organické syntézy, kde pro fotokatalytickou reakci využívá organometalické komplexy v homogenní fázi. Příkladem organometalických komplexů jsou např. sloučeniny na bázi železa použitého k redukci CO_2 na CO působením viditelného záření, nebo na bázi platiny použitého pro fotodimerizaci 2-anthracenkarboxylátu (Parrino a Palmisano, 2020).

1.4.2 Heterogenní fotokatalýza

Tato metoda je jedním z nejslibnějších pokročilých oxidačních procesů s širokým využitím při sanaci prostředí za využití sluneční energie (Pastrana-Martínez a kol., 2013). Na obrázku 4 je znázorněn průběh heterogenní fotokatalýzy. Působením světelného záření ($h\nu$) dopadajícího na povrch fotokatalyzátoru vzniká excitovaný elektron a elektronová díra. Elektrony (e^-) tak získají dostatečnou energii na to, aby z VB excitovaly do CB, kde redukují kyslík za vzniku superoxidového radikálu. Naopak ve VB je vytvořena elektronová díra (h^+), která adsorbovanou vodu nebo hydroxylové ionty na povrchu fotokatalyzátoru oxiduje na

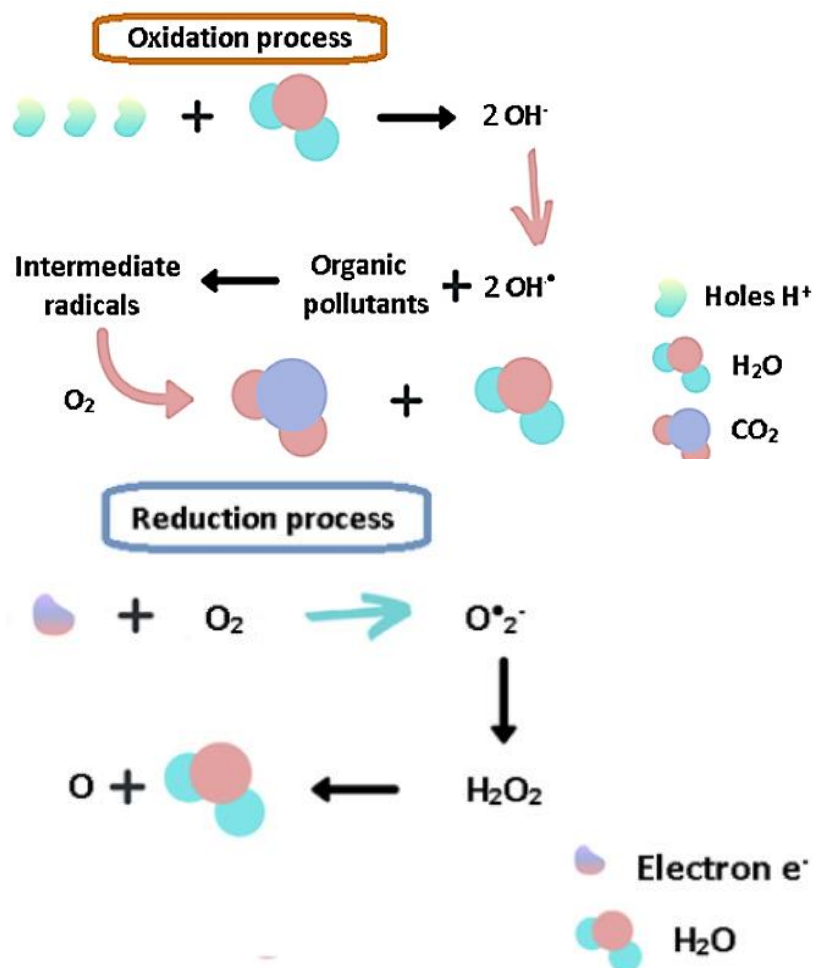


Obrázek 4: Mechanismus heterogenní fotokatalýzy (El-Sheikh a kol., 2021).

hydroxylový radikál. Vzniklé hydroxylové radikály mají zásadní vliv na degradaci polutantů (Nguyen a kol., 2020).

Jak už bylo zmíněno při heterogenní fotokatalýze vznikají hydroxylové a superoxidové radikály. Jejich oxidační a redukční procesy jsou znázorněny na obrázku 5 (Saravanan a kol.,

2017). Oxidační proces je znázorněn na příkladu reakce hydroxylových radikálů s organickými znečišťujícími látkami za vzniku meziproduktů. Tyto meziprodukty se mohou dále oxidovat až na konečné produkty degradace, tj. na vodu a CO₂. Naopak proces redukce je demonstrován na reakci, kdy ze superoxidového radikálu vzniká peroxid vodíku, který je následně redukován



Obrázek 5: Mechanismy oxidačního a redukčního procesu v heterogenní fotokatalýze (El-Sheikh a kol., 2021).

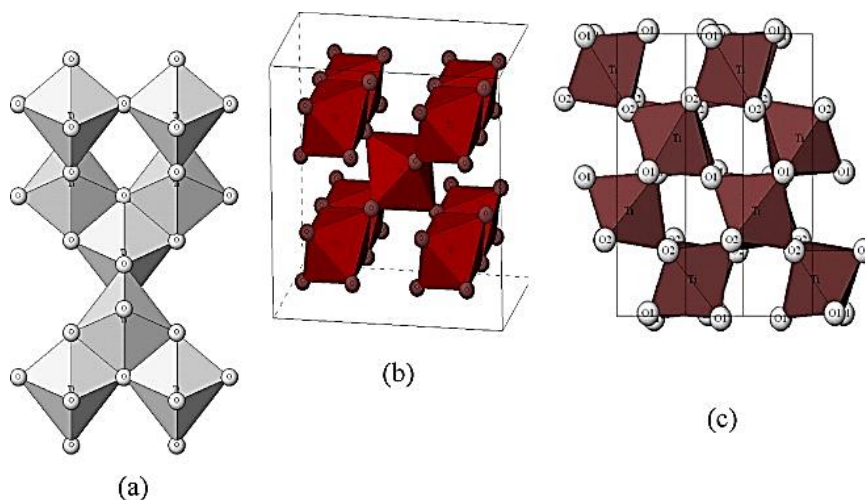
na vodu a 1 atom kyslíku (El-Sheikh a kol., 2021).

Při heterogenní reakci je nejčastěji jako fotokatalyzátor používán oxid titaničitý (TiO₂). Příkladem dalších používaných fotokatalyzátorů jsou: ZnO, ZnS, WO₃ nebo SrTiO₃. Heterogenní fotokatalýza je často využívána při čištění vod a vzduchu od organických polutantů, nebo na degradaci mikrobů i virů (Pastrana-Martínez a kol., 2013).

1.4.3 Oxid titaničitý

Jedná se o širokopásmový polovodič. V roce 1972 Fujishimi a Hondy studovali štěpení vody působením elektrody na bázi TiO₂, která prokázala schopnost štěpit vodu pod UV-

zářením. Díky této vlastnosti je široce využíván v environmentálních a dalších odvětví (Pelaez a kol., 2012). Jeho optická vlastnost závisí na modifikaci (Athanasekoru a kol., 2018). V přírodě



Obrázek 6: Znáznornění struktury polymorfů, které tvoří fotokatalyzátor TiO_2 : a) anatas, b) rutil a c) brookit (Pelaez a kol., 2012).

se obvykle nachází ve třech krystalických struktur: anatas, rutil a brookit. Dvě z těchto tří modifikací (anatas, rutil), patří mezi fotokatalyticky nejvíce používané, přičemž anatas vykazuje nejvyšší fotokatalytickou aktivitu. Na obrázku 6 jsou znázorněny všechny tři modifikace, která jsou od sebe odlišeny svou strukturou: tetragonální u rutilu a anatasu, ale ortorombickou u brookitu (Pelaez a kol., 2012). Odlišnost tří modifikací souvisí s fázovými tepelnými přechody, s šířkou energetické bariéry a s umístěním kyslíku vázaného na titan. Rutil je termodynamicky stabilní, zatímco anatas a brookit jsou metastabilní a při kalcinaci se obvykle transformují na termodynamicky stabilní rutil při teplotách 600 - 700 °C (Nolan a kol., 2009). Hodnoty energetické bariéry jsou 3,0 eV pro rutil, 3,1 eV pro brookit a 3,2 eV pro anatas (Athanasekoru a kol., 2018).

1.5 Využití fotokatalýzy

Fotokatalýza nachází své uplatnění v oblasti čištění vod jak od organických (barviva, léčiva, hormony), anorganických (těžké kovy), tak biologických kontaminantů (mikroorganismy, viry). Stejně tak se využívá při čištění vzduchu od organických kontaminantů (Mekonnen a Hoekstra, 2016).

1.5.1 Odstranění mikrobů

První využití fotokatalýzy k odstranění mikroorganismů bylo roku 1985, kdy přišli vědci Matsunaga a kol., na to, že TiO_2 vykazuje značnou antimikrobiální aktivitu a díky tomu se stala průlomovou aplikací pro dezinfekci mikroorganismů. Následně byla použita na degradaci mikrobů (jako je *E. coli*) a bylo zjištěno, že dochází k poškození jejich membrány procesem zvaným peroxidace lipidů, díky čemuž dochází k produkci malondialdehydu (MDA). Tato vlastnost se používá jako index k měření rozsahu baktericidní aktivity TiO_2 za použití světelného záření (Cai a kol., 1991). Peroxidace lipidů se aktivuje např. působením hydroxylových radikálů a procesem oxidace dochází k tvorbě radikálových meziproductů. Peroxidací lipidů dochází k poškození nejen membrány, ale i MDA. Tato vlastnost je využívána ve zdravotnictví pro snadnější vstup do buněk k usmrcení mikroba, nebo rakovinných buněk (Maness a kol., 1999).

Účinnost fotokatalýzy degradovat mikroorganismy je dána účinnou dezinfekční dobou. To je doba potřebná k úplné inaktivaci bakterií při absenci světelného záření bez opětovného růstu (Karunakaran, 2013). Při antimikrobiálním účinku fotokatalýzy se zjistilo, že menší velikost částic katalyzátoru způsobuje zvýšenou baktericidní schopnost. Z toho vyplývá, že za neúčinnější fotokatalyzátory pro degradaci mikroorganismů jsou považovány ty ve formě nanočástic (Prasad a kol., 2011).

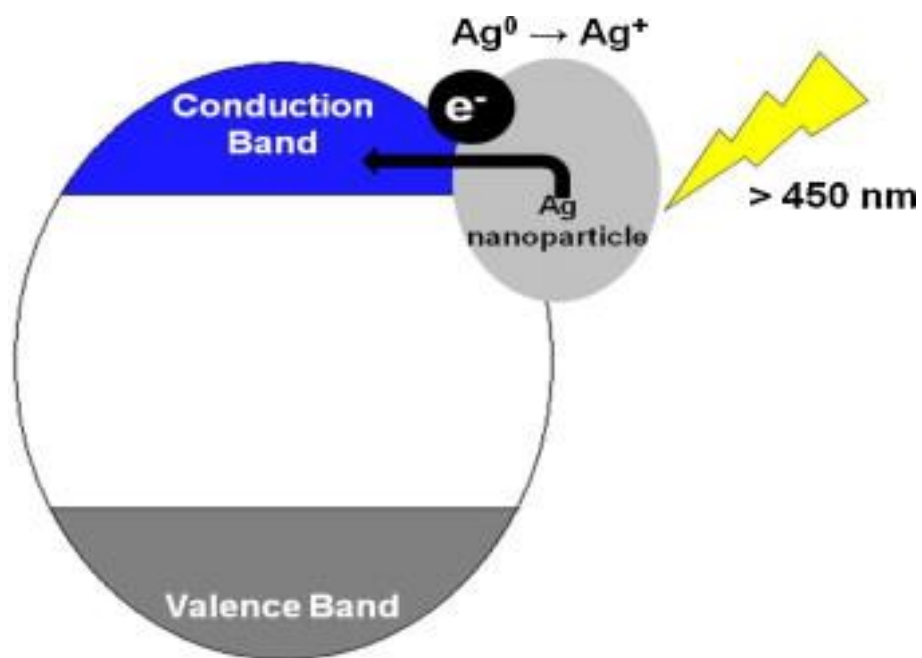
Řada škodlivých mikroorganismů jako *E. coli*, *S. aureus* a další představují pro lidské zdraví hrozbu. *E. coli* produkuje toxické sloučeniny, jakmile vstoupí do lidského organismu konzumací vody a potravy (Egli a kol., 2002). Délka života *E. coli* závisí na různých faktorech jako je vnější teplota, zákal vody, pH vody, přítomné další organismy (Reddy a kol., 2017). Jako účinný dezinfekční prostředek k degradaci patogenních mikroorganismů se běžně využívá působení UV-C záření, ozonizace a chlorace. Chlorace je v současnosti čím dál méně používanou technikou kvůli vysoké tvorbě toxických sloučenin (Mahmood a kol., 2012).

Pro fotokatalytické odstranění *E. coli* z vody je účinným fotokatalyzátorem Evonik TiO_2 Degussa P-25 a druhým účinnějším jsou nanotrubičky TiO_2 . Tyto druhy katalyzátoru byly také aplikovány na *S. aureus* s *E. coli* při čištění vody. Oba mikroby byly vystaveny UV-záření na 24 h a byla porovnána antimikrobiální účinnost komerčního fotokatalyzátoru (Evonik TiO_2 Degussa P-25) a nanotrubiček TiO_2 . Výsledek porovnání ukázal, že více účinným fotokatalyzátorem pro odstranění jsou nanotrubičky. Významnou roli v antibakteriální aktivitě hrají jak experimentální podmínky analýzy, tak morfologie, povrchové vlastnosti a fyzikálně-

chemické vlastnosti nanotrubiček (Podporska-Carroll a kol., 2015). Ve studii od Makropoulou a kol., (2018) se autoři zabývali prokázáním zvýšené a zrychlené inaktivace bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* i *E. coli* za použití katalyzátorů dopovaných dusíkem. Dopovaný fotokatalyzátor byl tvořen z různých sloučenin obsahujících dusík (močovina, trimethylamin, amoniak). Jako nejlepší fotokatalyzátor pro rychlou inaktivaci se jevil TiO_2 dopovaným amoniakem, ale pro úplné odstranění *B. cereus* byl účinnější TiO_2 dopovaným trimethylaminem. Podobné výsledky s dopovaným katalyzátorem byly popsány ve studii od Milesovic a kol., (2017). V této studii navíc kromě dusíku zavedli do struktury fotokatalyzátoru fluor pro zlepšení fotokatalytických vlastností za viditelného světla. Ke zlepšení fotokatalytických vlastností došlo díky tomu, že dopovaný TiO_2 může vytvářet centra vedoucí k absorpci viditelného světla a umožňují jeho aktivaci ve viditelné oblasti. Oproti tomu nedopovaný TiO_2 absorbuje pouze UV-zářením. Úspěšnost dopování TiO_2 byla potvrzena za pomoci rentgenové fotoelektronové spektroskopie (XPS). Fluorované atomy byly umístěny na povrchu TiO_2 , dusíkové atomy se převážně nacházely v intersticiální poloze.

Obě studie od Makropoulou a kol., (2018) i Milesovic a kol., (2017) tedy potvrzují, že lepší účinnost při inaktivaci má dopovaný fotokatalyzátor než nedopovaný TiO_2 .

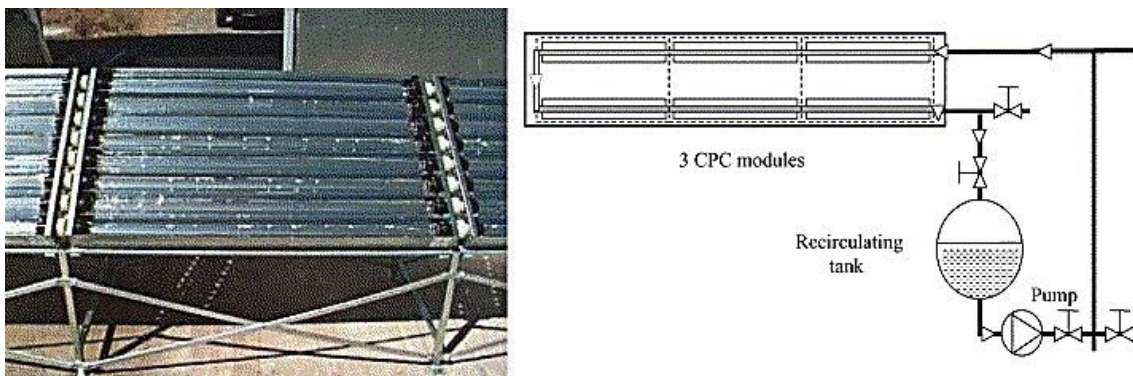
Další studie od Choi a Cho (2018) potvrzují předešlé studie, že dopovaný fotokatalyzátor vykazuje vysokou účinnost při fotokatalytické reakci. V této studii použili TiO_2 dopovaného železem, manganem a hořčíkem pro odstranění viru chřipky z vody. Přestože byl použit slabý zdroj záření, byla prokázána schopnost fotokatalýzy účinně odstranit přes 99 % obsahu viru ve vodě za pouhých 30 minut. Existují další studie, kde autoři účinně použili na odstranění viru f2 i *E. coli* TiO_2 dopovaný mědí (Zheng a kol., 2018). Také další studie popisují velmi pozitivní vliv na inaktivaci bakteriofága i bakterie *E. coli* použitím TiO_2 dopovaného mědí nebo stříbrem, anebo byl TiO_2 dopovaný mědí i stříbrem současně (Rao a kol., 2016). Z těchto studií je tedy patrné, že nedopovaný TiO_2 je méně účinný než dopovaný. Na obrázku 7 je znázorněna fotokatalýza TiO_2 dopovaným ušlechtilým kovem stříbra (Ag) (Pelaez a kol, 2012). Příklad dalšího využití fotokatalýzy je popsán v podkapitole 1.5.1.1.



Obrázek 7: Mechanismus absorpce světla stříbra podporovaného s TiO₂ (Pelaez a kol., 2012)

1.5.1.1 Dezinfekce vody fotokatalýzou

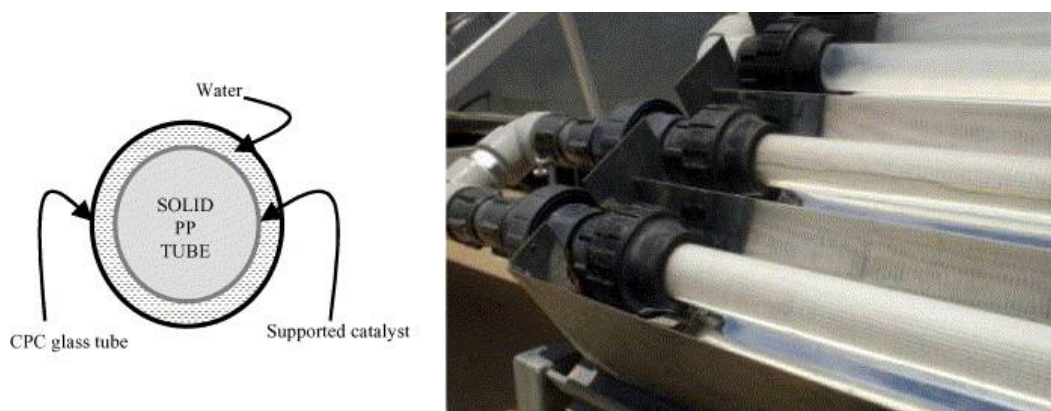
Jedná se o slibný proces, který by mohl zlepšit veřejné zdraví v rozvojových zemích. Procesem fotokatalýzy dochází nejen k degradaci organických kontaminantů obsažených ve vodách, ale může dojít až k úplné mineralizaci velkého množství sloučenin. Za poslední desetiletí vzrostl zájem o tento způsob dezinfekce vody, kdy nejúčinnějším a nejpoužívanějším fotokatalyzátorem je TiO₂ (Fernández a kol., 2005).



Obrázek 8: Pohled na jeden modul sběrače CPC (vlevo) a schéma instalace (vpravo) (Fernández a kol., 2005)

Princip fotokatalýzy byl již popsán v kapitole 1.4. Ve své studii se Fernández a kol. (2005) zaměřili na stanovení schopnosti a účinnosti použití fotokatalyzátoru TiO₂ při dezinfekci vody.

Cílem bylo vyvinout solární systém pro dezinfekci a degradaci stopových organický znečišťujících látek bez použití chemických činidel. Použitým systémem byl solární reaktor



Obrázek 9: Nalevo je schéma konfigurace s TiO_2 a napravo je vidět upevněný fotokatalyzátor do skleněných trubic fotoreaktoru CPC (Fernández a kol., 2005)

založený na generování hydroxylových radikálů pomocí TiO_2 , který byl nanesen na inertní matrici (skleněná vlákna). Schéma a vyobrazení solárního reaktoru je vyobrazeno na obrázcích 8 a 9 (Fernández a kol., 2005).

Ve studii Fernández a kol., (2005) sehrály důležitou roli experimentální podmínky. Průtok byl volen 22,5 l, 13 l a 5 l, dále byl zkoumán vliv koncentrace fotokatalyzátoru, velikosti ozářené plochy a intermitence. Ve studii byl použit fotokatalyzátor TiO_2 Degussa P-25 (anatas a rutil v poměru 3:1) v dispergované formě (koncentrace 25, 50, 200 a 500 mg/l) a dále pak imobilizovaný TiO_2 na inertním nosiči ze skleněných vláken.

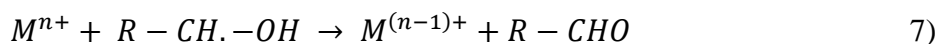
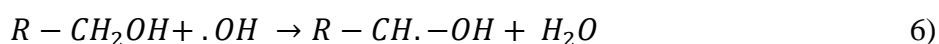
V této studii použili bakteriální kmen *E. coli*, která byla naočkována do živného média typu Luria Broth (Miller LB Broth, Sigma-Aldrich) a inkubována za stálého míchání při 37 °C, za aerobních podmínek po dobu 20-24 hodin. Koncentrace *E. coli* použitá pro experimenty ve fotoreaktoru byla 10^4 CFU/ml. K ředění *E. coli* byla použita sterilní autoklávaná voda anebo destilovaná voda. První odebraný vzorek byl tzv. kontrolní vzorek č. 1, poté přidali do reaktoru TiO_2 o různých koncentracích a nechali míchat 15 minut za tmy. Druhý odebraný vzorek č. 2 byl pro stanovení adsorpce či inaktivace bakterie za přítomnosti fotokatalyzátoru. Oba kontrolní vzorky byly uchovány v laboratoři ve tmě a pro stanovení počtu kolonií byly na konci experimentu naočkovány na LB agar (Fernández a kol., 2005).

Poté byl fotoreaktor vystaven slunečnímu světlu (byl odstraněn kryt kolektorů) a v pravidelných časových intervalech byly odebírány vzorky a stanovována koncentrace *E. coli* (Fernández a kol., 2005). Výsledkem této práce bylo, že dezinfekce bakterií solárním zářením

v reaktoru je účinná během 30-60 minut, a to za použití jak dispergovaného, tak imobilizovaného TiO₂. Velikost ozářené plochy s imobilizovaným TiO₂ hraje klíčovou roli při inaktivaci bakterií, ale k úplnému zničení mikroorganismů došlo až v kombinaci s dispergovaným TiO₂ (Fernández a kol., 2005).

1.5.2 Odstranění těžkých kovů

Kovové ionty přítomné ve vodě mohou být redukovány do základního stavu pomocí excitovaných elektronů vznikajících při fotokatalýze, jak znázorňuje rovnice 5. Redukovat kovové ionty je možné také za přítomnosti methanolu nebo formaldehydu, jak je vidět v rovnicích 6 a 7:



Podle Littera (2015) je také možné, aby kovové ionty byly ještě více zoxidovány na vyšší oxidační stavy za přítomnosti hydroxylových radikálů či elektronových děr. Těžké kovy mají široké využití v různých průmyslových odvětvích, ale často se hromadí v životním prostředí i plodinách a dostávají se do potravního řetězce. Při vysokých toxických dávkách těžkých kovů pro lidský organismus dochází k závažným následkům jako mutacím až rakovinám různých orgánů (Shaheen a kol., 2016).

Pro možnost odstranění těžkých kovů jako například Ni²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺ a Cu²⁺ byl použit časově a nákladově efektivní fotokatalyzátor TiO₂. Odstranění těchto kovů se zlepšilo snížením pH roztoku. Ke zlepšení účinnosti vedlo také zvětšení povrchu nanočástic fotokatalyzátoru (Mahdavi a kol., 2013). Ve studii od Poursani a kol., (2016) bylo prokázáno, že nanočástice TiO₂ se dají opětovně použít a mohou pracovat při pokojové teplotě. Fotokatalyzátor TiO₂ se také velmi osvědčil při odstraňování arsenu. Dále je možné ho využít k odstraňování směsí iontů kovů bez vytváření kalu, což zlepšuje možnosti jeho využití po ekonomické, technické a environmentální stránce (Luo a kol., 2010).

Fotokatalýza byla použita také k odstranění iontů chromu Cr³⁺ a Cr⁶⁺ za využití oxidu grafenu s manganem dopovaného TiO₂. Reakce probíhá z Cr⁶⁺ iontů za vzniku Cr³⁺ iontů a následnou reakcí až na základního atom chromu (Chen a kol., 2016). Další možné odstranění těchto iontů je fotokatalyzátorem dopovaným stříbrem a manganem. Tento fotokatalyzátor

redukoval nejen ionty uvedené výše, ale i stopové ionty dalších těžkých kovů. Jedná se tedy o velmi slibný materiál pro praktické využití (Gullipili a Rupakula, 2018). Vědci Eddy a kol., (2018) zkoušeli pro odstranění Cr^{6+} iontů použít TiO_2 dopovaný gadoliniem jeho účinek při ozáření UV-zářením činil 94 %. Další možné odstranění iontů Cr^{6+} z odpadních vod bylo použitím komplexu TiO_2 s EDTA na uhlíkovém nosiči, který sloužil jako podpora pro rozptýlené molekuly EDTA a nanočástice TiO_2 . Tento komplex vykazoval vynikající fotoredukci při ozáření viditelným světlem o vlnové délce $\lambda = 420 \text{ nm}$ (Luo a kol., 2018).

Další příklad uplatnění bio-nanokompozitu (cyklodextrin-polykaprolakton-oxid titaničitý; CD-PCL- TiO_2), byl popsán v práci Seema a kol., (2018), kde sloužil nejen jako adsorbent pro odstranění olova z odpadních vod, ale také účinně odstranil z vody až 98 % olova fotokatalýzou i při obsahu TiO_2 v množství 5 hm. % z celkového bio-nanokompozitu. Výhodou této metody je, že při odstraňování těžkých kovů nedochází k sekundárnímu znečištění v upravené vody (Seema a kol., 2018).

1.5.3 Odstranění barviv

Další možností pro využití fotokatalýzy je odstraňování barviv z odpadních vod. Příkladem mohou být azobarviva. Podle Savin a Butnaru (2008) je hromadění barviv v přírodních zdrojích (vody a půdy) přímo zodpovědné za zabíjení nutričních mikrobů a za degradaci vodních zdrojů. Barevná a toxická barviva jsou uvolňována do vodních zdrojů, což vede k nepříznivým účinkům, které pocítují nejen vodní organismy, ale nepřímo i lidé. Tato barviva jsou často velmi obtížně odbouratelná, hromadí se v tělech organismů a často se jedná o karcinogenní látky (Sakthivel a kol., 2003). K obvykle používaným metodám jejich odstranění jako jsou adsorpce, dialýza či flokulace se proto použití fotokatalýzy ukazuje jako jedno z možných řešení jejich degradace (Raman a Kanmani, 2016).

Podle Chen a kol., (2002) je výhodné kombinované odstranění barviv z vody společně s odstraňováním těžkých kovů, jelikož se tyto kontaminanty často vyskytují v odpadních vodách mnoha průmyslových odvětví současně. Díky tomu se musí použít správný fotokatalyzátor k zajištění co nejúčinnějšího a nejlevnějšího způsobu odstranění (Gola a kol., 2018). Fotokatalyzátor TiO_2 je vysoce účinným katalyzátorem pro odstranění znečišťujících látek, kdy při spojení s příměsemi vykazuje vynikající účinnost.

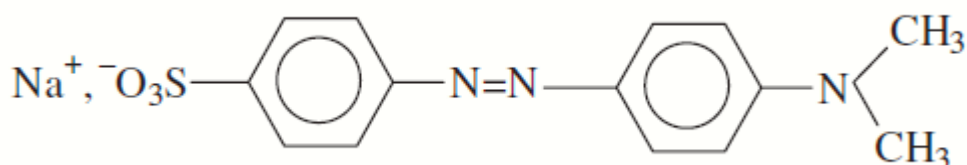
Například ve studii Bessegato a kol., (2015) byl porovnán průběh fotokatalýzy za použití TiO_2 dopovaného borem s nedopovaným TiO_2 . Bylo zjištěno, že s dopovaným

fotokatalyzátorem došlo ke 100% odstranění kyseliny Yellow I do dvou hodin ve srovnání s nedopovaným TiO₂, kde bylo odstraněno asi 85 % kyseliny. Nebo ve studii Bharatiho a kol., (2017) použili také nedopované TiO₂ na rhodamin B, Kongo červeň a methylenovou modř působením UV-záření, kde zjistili jeho vynikající účinnost. Další studie Ben a kol., (2017) prokázala vysokou stabilitu a účinnost fotokatalyzátoru na bázi TiO₂ dopovaného zlatem pro odstraňování barviv (methylenová modř, Auroamin O). Podrobnější popis fotokatalýza barviv methylenové oranže (MeO) a methylenové modři (MM) ve vodě je popsán v podkapitolách 1.5.3.1 a 1.5.3.2.

1.5.3.1 Fotokatalýza methylenové oranže ve vodě

Methylenová oranž (MeO) je azobarvivo, které se běžně používá v průmyslu. Jedná se také o známý acidobazický indikátor, který se v zásaditém prostředí barví do oranžova a v kyselém prostředí se do červena. Charakteristickým znakem, jak je vidět na obrázku 10, jsou sulfonové skupiny, díky kterým má vysokou rozpustnost ve (Guettaï a Ait Amar, 2005).

Během barvení textilního materiálu se uvolňuje 10-15 % barviv do odpadních vod (Nilsson a kol., 1993; Weber a Stickney, 1993). Tato skutečnost je významným zdrojem neestetického



Obrázek 10: Strukturální forma methylenové oranže (Guettaï a Ait Amar, 2005).

znečištění v životním prostředí, protože jejich malá přítomnost pod 1 ppm je jasně viditelná (Guettaï a Ait Amar, 2005). Uvolněná barviva dále mohou v životním prostředí vytvářet nebezpečné vedlejší produkty v důsledku jejich oxidace, hydrolýzy či jiných chemických reakcí probíhajícími ve vodách (Houas a kol., 2001; Tang a kol., 1997).

Běžně využívané fyzikálně-chemické procesy k odbarvování znečištěné vody jsou například oxidace, adsorpce na aktivním uhlí, ultrafiltrace, reverzní osmóza atd. (Tang a kol., 1997; Lachheb a kol., 2002). Pro degradaci velké části barviv nejsou účinné kvůli její stabilitě biologické procesy. Azosloučeniny jsou rezistentní na aerobní degradaci a za anaerobní degradace dochází k jejich redukci na bezbarvé aromatické aminy, které mohou být potenciálně karcinogenní (Chung a kol., 1981). Z tohoto důvodu je potřeba hledat nová řešení čištění odpadních vod (ČOV), která povedou k úplné degradaci kontaminujících barviv. Jako nová

alternativní metoda se osvědčila heterogenní fotokatalýza využívající TiO₂ fotokatalyzátor (Hermann, 1999). Výhodou této metody je, že ji lze realizovat za atmosférických podmínek, že v ideálním případě vede k úplné degradaci na CO₂ a vodu, a navíc fotokatalyzátor je levný, netoxický a vykazuje relativně vysokou chemickou stabilitu (Fujishima a kol., 2000).

Průběh fotokatalýzy byl popsán ve studii Guettaï a Ait Amara (2005), kde vycházeli z uměle připravených vodných roztoků MeO. Reakční směs byla míchána pro dosažení rovnováhy a byl odebrán vzorek pro stanovení počáteční koncentrace. Po přidání fotokatalyzátoru byly z reakční směsi odebrány v pravidelných intervalech vzorky (5 ml) za tmy i za ozáření. Odebrané vzorky byly odstředovány a výsledný roztok byl měřen při vlnové délce 458 nm za použití UV/VIS spektrofotometru kalibrovaného podle Lambert-Beerova zákona. Testováno bylo 5 komerčních druhů TiO₂: Degussa P25 (P25), mikroanatas, Hombikat UV100 (UV100), Platinový Hombikat UV100-Pt a Pretiox AV-01. Přestože P25 a UV100 vykazovaly účinné odstranění MeO, jako nejúčinnější byl fotokatalyzátor TiO₂ Degussa P25.

Cílem této studie bylo zjistit, který vliv (pH prostředí, dávkování katalyzátoru či volba druhu katalyzátoru) bude nejvýznamnější na fotokatalýzu (Guettaï a Ait Amara, 2005). Výsledkem této studie bylo zjištění, že účinnost fotokatalýzy silně závisí na pracovních podmínkách jako jsou koncentrace substrátu (MeO), množství katalyzátoru a pH roztoku. Optimální pH roztoku pro nejlepší degradace MeO bylo pH=3. Pro zjištění vlivu koncentrací MeO a P25 byly porovnány koncentrace MeO od 5 až 75 mg/l a P25 od 0,15 až 0,8 g/l. Přičemž pro rychlou a účinnou degradaci byla optimální koncentrace pro MeO ≤ 50 mg/l a koncentrace P25 0,8 g/l (Guettaï a Ait Amara, 2005).

1.5.3.2 Fotokatalýza methylenové modře

Methylenová modř (MM) syntetické fenothiazinové barvivo využívané například v textilním průmyslu. Strukturně se jedná o 3,7-bis-(dimethylamino)fenothiazin-5-ylum chlorid hydrát. MM je tmavě modrý prášek rozpustný ve vodě, ale špatně rozpustný v ethanolu (Jurica, 2018).

Mezi běžně používané metody odstranění methylenové modře, případně jejich degradačních produktů, patří oxidace, adsorpce a membránové separace. Tyto metody se ukázaly jako částečně účinné, ale neeliminují zcela methylenovou modř. Proto bylo navrženo otestovat AOP, které pro degradaci chemických látek využívají vysoce reaktivní hydroxylové

radikály schopné mineralizovat organické sloučeniny a tím eliminovat tvorbu jejich meziproduktů (Tichapondwa a kol., 2020).

Ve studii od Tichapondwa a kol., (2020) zkoušeli degradovat methylenovou modř za pomoci tří různých fotokatalyzátorů: Degussa P-25, anatasová a rutilová forma TiO_2 . Pro fotokatalýzu byla připravena reakční směs MM s koncentracemi v rozmezích 2,5-15 mg/l, ke které byly přidány testované katalyzátory o koncentraci 0,5 g/l. Před zářením byla tato suspenze míchána 30 minut za tmy pro dosažení rovnováhy, potom nechali působit UV-záření a ve 20-timinutových intervalech byly odebírány vzorky o objemu 5 ml. U nich byla koncentrace MM po centrifugaci měřena na UV/VIS spektrofotometru.

Nejúčinnějším fotokatalyzátorem byl TiO_2 Degussa P-25, který vykazoval 81,4 % účinnou degradaci MM oproti anatasu (54 %) a rutilu (31,3 %). Po nalezení nejlepšího fotokatalyzátoru byly zkoumány další optimální parametry fotokatalýzy (počáteční koncentrace MM, účinek měnícího se pH a vliv množství použitého katalyzátoru). Optimálním přídatkem fotokatalyzátoru bylo 0,5 g/l, protože další přidavek již vedl ke snížení rychlosti degradace MM. Optimální počáteční koncentrace MM byla 2,5 mg/l, protože nejrychleji degradovala a nezanechávala zbytkové produkty degradace MM. Čím vyšší byla počáteční koncentrace roztoku MM, tím byla degradace pomalejší. To znamená, že docházelo ke snížení excitace elektronů ve fotokatalyzátoru, protože větší část UV-záření byla absorbována MM místo katalyzátorem. Poslední zkoumaný parametr byl vliv pH na fotodegradaci v rozmezí hodnot pH 2-11. MM má v roztoku kladný náboj a fotokatalyzátor při pH vyšším než 10 má náboj záporný což vede ke zvýšené adsorpci barviva na fotokatalyzátoru kvůli přitažlivosti mezi opačně nabitými náboji. Z toho vyplývá, že čím vyšší je pH (nad 10 a víc), tím je suspenze fotokatalyzátoru stabilnější bez tvorby aglomerátů a tím je zvýšená účinnost fotokatalytická degradace (Tichapondwa a kol., 2020).

1.5.4 Odstranění léčiv a organických sloučenin

Hlavním důvodem přítomnosti léčiv a problematických organických látek (zde jsou myšleny hlavně rezidua léčiv, pesticidy atd.) ve vodách je jejich využívání v každodenním životě ve formě léčiv, kosmetických přípravků, přípravků pro osobní účely a zemědělství (Carbano a kol., 2013b). Patří sem také tzv. perzistentní látky, což znamená, že kvůli obtížné degradaci a schopnosti odolat různým procesům jejich odbourání se dlouhodobě hromadí v životním prostředí (Dong a kol., 2015).

Hydroxylový radikál, který vznikl při fotokatalýze je schopen oxidovat většinu organických molekul přes meziprodukty až na konečné produkty vodu a oxid uhličitý. To samé se děje, když budou organické sloučeniny reagovat s elektronovými dírami. Mechanismus oxidace znečišťujících organických látek závisí na tom, zda se jedná o alifatické nebo aromatické látky. Alifatické molekuly jsou oxidovány převážně hydroxylovými radikály, ale u aromatických molekul dochází přednostně k oxidaci molekulárním kyslíkem a superoxidem radikálu za přítomnosti UV-záření (Augugliaro a kol., 2012).

Podle Dougna a kol., (2015) může oxidace aromatických látek může probíhat třemi mechanismy: vazbou hydroxylového radikálu na aromatické jádro, oddělením vodíku nebo substitucí. Oxidace aromatických sloučenin je významná hlavně při odstraňování různých farmaceutických znečišťujících látek, které mají alespoň jedno aromatické jádro. Významné, ve vodách často detekované farmaceutické sloučeniny jsou například analgetika (diclofenac, sulfamethoxazol), antibiotika (amoxicilin, moxifloxacin) a antiepileptika (karbamazepin) (Carbonaro a kol., 2013; Dimitrakopoulou a kol., 2012; Dai a kol., 2012).

Příkladem fotokatalytického odstranění čtyř běžně používaných léčiv: diklofenaku, ibuprofenu, sulfamethoxazolu a acetaminofenu z vody je práce, ve které autoři použili jako fotokatalyzátor TiO_2 Degussa P-25. Jako zdroj záření použili světelné diody (LED), které dodávaly světlo (UVA, UVB i UVC-záření) o různých vlnových délkách (250-375 nm). Obdobně byl degradován i mikrocystin (Eskandarian a kol., 2016). TiO_2 Degussa P-25 nanosená na uhlíkové nanotrubicí byla použita k odstranění diklofenaku, triklosanu i jiných organických sloučenin (Murgolo a kol., 2015).

Další možné odstranění organických látek jako například 4-chlorfenol bylo za použití fotokatalyzátoru na bázi TiO_2 dopovaného buď uhlíkem (Shao a kol., 2015), nebo hexahydrátem síranu železnato-amonného (Villaluz a kol., 2019). Účinná degradace probíhala u prvního zmíněného fotokatalyzátoru působením xenonové výbojky (300 W, 400 nm). Druhý zmíněný fotokatalyzátor byl vystaven jak slunečnímu záření, tak i modrému záření z LED-zdroje (450 nm, intenzita záření $16,85 \text{ mW/cm}^2$). Tento druhý katalyzátor vykazoval velmi silnou stabilitu a možnost opětovného použití.

Hlavní důvod odstranění pesticidů z vody je jejich extrémně vysoká toxicita. Pesticidy je možné odstranit působením TiO_2 , který je schopný fotokatalyticky tyto látky degradovat až na konečné produkty mineralizace. Radikály vzniklé v mezikroku mineralizace reagují s rozpuštěným kyslíkem a produkují peroxylové radikály ($\text{ROO}\cdot$), které napomáhají

mineralizovat pesticidy (Vela a kol., 2017). Pesticidy podobně jako léčiva a barviva jsou pro vodní organismy často velmi toxické (Shuman-Goodier a Propper, 2016). Pro degradaci pesticidů se tedy nemohou použít konvenční biologické metody čištění odpadních vod, a proto byly zkoumány možnosti degradace pesticidů za pomoci TiO_2 v různých formách (Vanraes a kol., 2017).

Prostřednictvím fotokatalýzy s pomocí TiO_2 byl rozkládán chlorpyrifos (pesticid na bázi fosforečnanu) působením UV-záření (Farner Budarz a kol., 2019). V další práci byly stejným postupem degradovány pesticidy profenofos a chinalphos (Amalraj a kol., 2016). Fotokatalýza, jako účinný postup likvidace pesticidů, byla použita také na degradaci diuronu, alachloru, isoproturonu a atrazinu (Cruz a kol., 2017). Ve studii Vela a kol., (2018) byl použit TiO_2 P25 pro degradaci šesti pesticidů: malathion, fenorothion, quinaplhos, vinclozolin, dimethoát a fenarimol. Jako zdroj záření bylo použito sluneční světlo. Pozitivní vliv na katalytickou reakci má optimální pH 6, použití vhodného zdroje UV-záření v závislosti na druhu fotokatalyzátoru, koncentrace katalyzátoru a provzdušňování reaktoru (Kalantary a kol., 2015). Další možností, jak zvýšit účinnost fotokatalýzy, je použití dopovaného katalyzátoru buď železem, manganem, nebo cerem (Umar a kol., 2016).

Přítomnost sloučenin narušujících endokrinní systém ve vodě je významným problémem při její úpravě a čištění. Jedná se o sloučeniny interferující s funkčním endokrinním systémem, a to vede k narušení reprodukčního, neurologického a imunitního systému. Vstup do vodního prostředí je následkem lidské činnosti od průmyslových odpadních vod až po odpadní vody z domácností. Mezi sloučeniny narušující endokrinní systém (EDC) patří hormony, těžké kovy, některé léky, bisfenol, DDT apod. (Li a kol., 2009). Kromě vlivu na člověka jsou škodlivé i pro vodní organismy. Například vysoká koncentrace estrogenu ve vodě vede ke snížení reprodukčních schopností ryb (Tetreault a kol., 2011). Dalším příkladem EDC jsou ftaláty, které jsou karcinogenní u mužů, nebo bisfenol A, který souvisí s mužskou sexuální dysfunkcí (Li a kol., 2009). Jako u barviv, léčiv nebo pesticidů i EDC nejsou konvenční způsoby čištění vod dostatečné, nedokážou tyto sloučeniny zcela odstranit, a díky tomu se uvolňují dál do prostředí. Jednou z možností, jak tyto látky degradovat je fotokatalýza (Tong a kol., 2012). Příkladem aplikace fotokatalýzy je odstranění steroidních hormonů (estradiol, progesteron a levonorgestrel) ve vodním prostředí pomocí tenkých TiO_2 filmů. Nejvyšší účinnost degradace

byla u progesteronu, ačkoli vzniklý peroxid vodíku se projevil na degradaci všech tří hormonů (AlAani a kol., 2017).

Bylo také potvrzeno možné odstranění ženského hormonu estrogeneru v nízkých koncentracích za použití fotokatalyzátoru Degussa P25, kdy hydroxylové sloučeniny estronu byly generovány během degradace (Sornalingam a kol., 2018). Další aplikace fotokatalýzy byla použita na primární mužský hormon testosteron, který je zodpovědný za reprodukční schopnosti. Testosteron byl degradován TiO_2 , což vedlo k tvorbě stejných degradačních produktů, jako jsou produkovány přirozeně metabolismem (Ruokolainem a kol., 2016).

Pro zlepšení účinnosti fotokatalytické reakce byl opět použit dopovaný TiO_2 . Například ve studii Pazoki a kol., (2016) byl použit TiO_2 dopovaný stříbrem pro odstranění dexamethasonu z vody. Pro další zvýšení účinnosti autoři dále přidali peroxidu vodíku, a to jak při působení UV-záření, tak viditelného záření. Maximální účinnost rozkladu dexamethasonu byla 82,3 % při UV-záření a 71,5 % za použití viditelného světla.

Zajímavá studie od Chow a kol., (2017) popisuje degradaci dekabromdifenyletheru, což je znečišťující látka používaná ke zpomalení hoření. Tato znečišťující látka prokázala velkou odolnost vůči degradaci a je schopná akumulace v organismech. Pro odstranění této látky byl použit TiO_2 ve spojení s fyto-remediační technikou s pomocí mokřadních rostlin (rýže, rákos). Průkazem této studie je vysoká účinnost při odstraňování EDC, kdy nedochází ke tvorbě toxických vedlejších produktů.

1.6 Faktory ovlivňující fotokatalýzu

Při fotokatalýze dochází k ovlivnění reakce různými faktory. První zásadní vliv má pH prostředí. To, jaké vliv bude mít pH na fotokatalýzu závisí na hydrofobicitě, vlastnostech odstraňovaných sloučenin, na náboji znečišťující látky a katalyzátoru, koncentraci hydroxylových radikálů apod. (Răileanu a kol., 2013). Kyselost nebo zásaditost prostředí ovlivňuje fotokatalytickou reakci probíhající na povrchu TiO₂. Podle Rahimi a kol., (2014) se za optimální hodnotu pH pro hydroxylové radikály považuje pH > 6,8. Toto bylo popsáno a potvrzeno také ve studii podle Chong a kol., (2009).

Dalším důležitým faktorem je koncentrace znečišťujících látek. Při zvýšené koncentraci znečišťujících látek může docházet k jejich adsorpci na povrchu fotokatalyzátoru a zabraňují tak absorpci záření. Díky tomu nemůže docházet k fotokatalytické reakci (Chong a kol., 2009).

Tvorba elektronových párů je určena intenzitou světla a vlnovou délkou. Proto závislost fotokatalýzy na intenzitě světla je významný parametr, který je často zkoumán. K překonání energie na povrchu katalyzátoru je zapotřebí dostatečné množství energie fotonu (Răileanu a kol., 2013). Zvýšenou intenzitou světla se zvýší produkce hydroxylových radikálů, ale nadměrné ozařování vede k rekombinaci párů elektron-děr, a to pak vede ke snížení rychlosti reakce (Saravanan a kol., 2017).

Dalším významným parametrem je velikost povrchu fotokatalyzátoru. Vysoce efektivní díky svému velkému povrchu je TiO₂ Degussa P-25 (Gao a Liu, 2005), velkou aktivní plochu má také ZnO (Saravanan a kol., 2013). Koncentrace katalyzátoru také hraje velký vliv při heterogenní fotokatalýze a musí být udržována na optimálních hodnotách, aby při vysoké koncentraci nedocházelo ke snížení ozařování fotokatalyzátoru anebo k agregaci jeho části ve vodním roztoku (Răileanu a kol., 2013).

Fotokatalýzu lze zefektivnit přidávkem dalších oxidačních činidel. Může to být jednak samotný kyslík obsažený v roztoku, ale jeho koncentrace je většinou velmi nízká. Z toho důvodu do suspenze přidáme oxidanty jako například H₂O₂, bromičnan draselný nebo persíran amonný, které mohou zvýšit degradaci znečišťujících látek (Răileanu a kol., 2013). Přidávky oxidantů je však třeba regulovat, aby nedošlo k nežádoucím inhibičním reakcím a zániku reaktivních hydroxylových radikálů.

1.7 Vliv iontů na fotokatalýzu

Ve vodách se přirozeně vyskytují anorganické i organické ionty. Ty působí jako interferující látky, které mohou ovlivňovat účinnost fotokatalýzy a degradace organických kontaminantů (Tufail a kol., 2020).

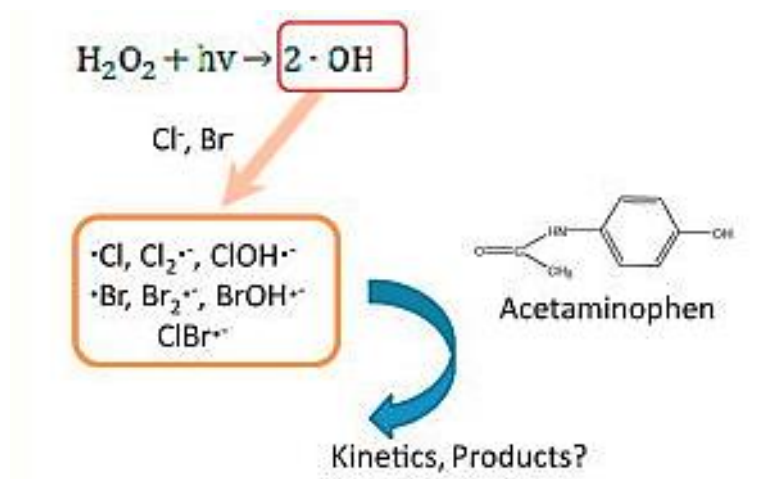
1.7.1 Anorganické ionty

Nejvíce studované anorganické ionty ovlivňující fotokatalýzu jsou ionty halogenidové, uhličitanové, hydrogenuhličitanové a dusičnanové. Vliv těchto iontů může být různý. Průběh fotokatalýzy a degradaci kontaminantů ve vodách mohou, jak zpomalit, tak i zlepšit, tím, že mohou získat energii z UV-záření za vzniku reaktivních radikálů, které degradují úplně nebo částečně kontaminanty. V případě negativního působení tyto ionty fungují jako takzvané „lapače“ hydroxylových radikálů a snižují účinnost fotokatalýzy (Tufail a kol., 2020). Mnoho vědeckých týmů zkoumalo, jaké vlivy mají anorganické ionty na probíhající fotokatalýzu, kde dochází k produkci hydroxylových radikálů, či jejich zániku, případně k působení pomocí těchto radikálů i iontů na samotnou interferující látku. Příklady účinků anorganických iontů na fotokatalýzu jsou popsány níže.

Ve studii od Yuan a kol., (2011) byly zkoumány účinky **chloridových iontů** na degradaci barviva Acid Orange 7 (AO7). Barvivo bylo degradováno za pomoci fotokatalyzátoru Co/PMS (kobalt/peroxymonosulfátu). Pro zkoumání účinků chloridových iontů při degradaci, byly smíchány chloridové ionty (ve formě NaCl), s barvivem (AO7), s Co^{2+} fotokatalyzátorem ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) a Oxonem® (PMS). Účinek chloridových iontů byl sledován v rozmezí koncentrací 0-200 mM. Při nízkých koncentracích chloridových iontů (do 100 mM) bez přítomného Co^{2+} fotokatalyzátoru v roztoku doházelo ke zvýšení účinnosti degradace barviva, ale s nižší rychlostí než u roztoku s přidaným katalyzátorem. V případě vysokých koncentrací chloridových iontů (nad 100 mM) docházelo k významné inhibici mineralizace barviva. Za přítomnosti chloridových iontů o koncentraci 200 mM nezávisle na přítomnosti katalyzátoru docházelo dokonce k nežádoucí tvorbě toxických aromatických chlorovaných sloučenin. Tyto sloučeniny byly rozděleny do čtyř skupin: **A.** pět sloučenin naftalenového typu (4-chlor-1,2-nafatalendion, 2,4-dichlor-1-naftalenol atd.); **B.** dvě heterocyklické sloučeniny (5-chlorbenzofuran, 5-chlorisobenzofuran); **C.** dvanáct aromatických sloučenin (4-chlorftalová kyselina, 1,2-dichlorbenzen atd.) a **D.** tetrachlormethan. Tyto výsledky jasně ukazují, že

vyskytující se chloridové ionty během fotokatalýzy výrazně ovlivňují reakci i vznikající produkty (Yuan a kol., 2011).

Další studie od Li a kol., (2015a) zkoumala vliv **halogenidových iontů** (chloridových a bromidových iontů) na degradaci acetaminofenu pomocí UV-záření kombinovaného s peroxidem vodíku (UV/H₂O₂). Chloridové i bromidové ionty mohou reagovat s hydroxylovými radikály. Na Obr. 1.11 je znázorněná reakce bromidových i chloridových iontů s hydroxylovými radikály, které vytvářely, jak bromované formy iontů ($\cdot\text{Br}$, $\cdot\text{Br}_2^-$ a $\text{BrOH}\cdot^-$), tak chlorované formy iontů ($\cdot\text{Cl}$, $\cdot\text{Cl}_2^-$ a $\cdot\text{ClBr}^-$). Chloridové ionty vykazovaly velmi malý vliv na degradaci acetaminofenu, oproti zvýšené koncentraci bromidových iontů, která



Obrázek 11: Mechanismus UV/H₂O₂ a reakce hydroxylových radikálů s chloridovými a bromidovými ionty (Li a kol., 2015a)

vykazovala sníženou účinnost na degradaci. Zajímavostí této studie byl průkaz zvýšené degradace v analyzované směsi obsahující jak bromidy, tak chloridy. To vedlo ke vzniku mnoho forem bromidů i chloridů, jak je znázorněno na obrázku 11, včetně chlorido-bromidového radikálu ($\text{ClBr}\cdot^-$), který selektivně reagoval s fenolovými sloučeninami. Déle je z práce patrné, že reakcí fenolových sloučenin s chloridovými nebo bromidovými formami mohou vznikat různé vedlejší produkty. Například za přítomnosti chloridových iontů nedochází k žádné tvorbě vedlejších produktů, ale za přítomnosti chloridů i bromidů dochází ke vzniku chinonů (1,4-hydrochinonů). Z toho vyplývá, že solnost, resp. obsah halogenidových iontů ve vodách hraje významnou roli při fotokatalýze a mají široký dopad na odstraňování organicky znečišťujících látek (Li a kol., 2015a).

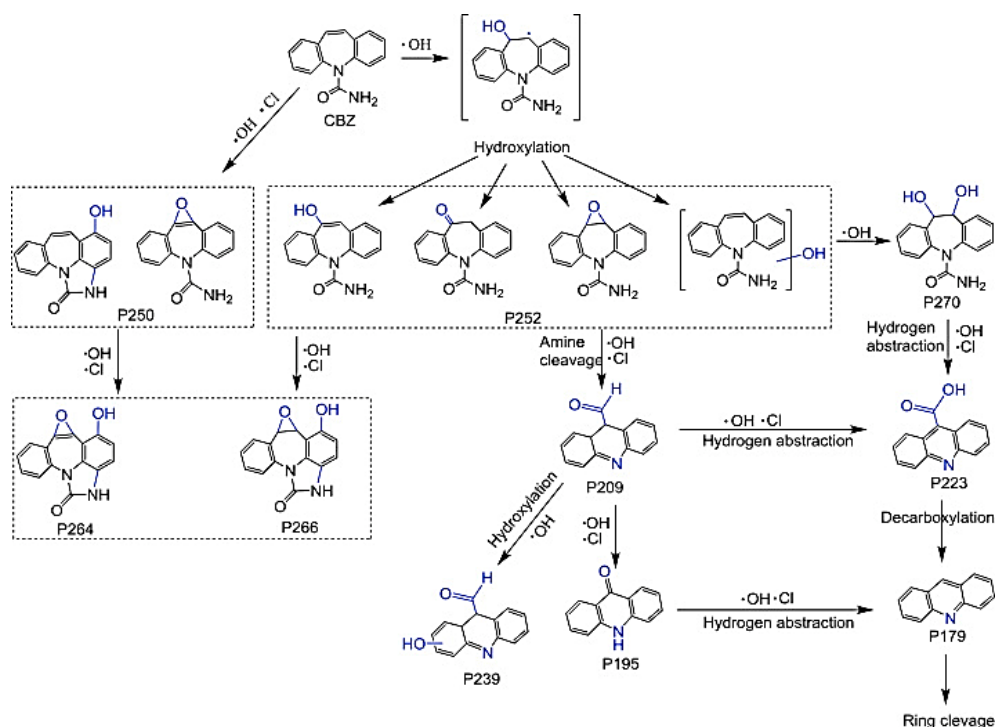
Vlivy dusičnanových iontů byly zkoumány ve studii od Gastro a kol., (2017) na degradaci fenolických sloučenin (*ortho*-fenylfenol, methylparaben, propylparaben, triclosan, bisfenol A) v různém vodním prostředí (ultračisté vody, povrchové vody a odpadní vody). Fenolické sloučeniny ve vodním prostředí byly degradovány působením dvou druhů záření: viditelné světlo a UV-záření při 254 nm. Cílem této studie bylo zjistit, zda přítomnost dusičnanových iontů ve vodních vzorcích ovlivňuje fotodegradaci fenolických sloučenin, nebo vede ke vzniku transformačních produktů či nikoliv. Zjistilo se, že dusičnanové ionty výrazně zlepšily fotodegradaci znečišťujících látek ve vodách působením slunečního i UV-záření. Dále výrazně zlepšily transformační reakce (aromatické nitrace bez nebo se štěpením molekuly, hydroxylace a dehalogenace), když reagovaly s hydroxylovými radikály. Tato přeměna sloučenin vedla ke vzniku nitroderivátů prostřednictvím adice, dechlorace či štěpení reakčních sloučenin.

Bylo zjištěno, že *ortho*-fenylfenol má velký potenciál pro tvorbu fotochemicky stabilních mono- a di-nitrátů. Z *ortho*-fenylfenolu působením dusičnanových iontů na světle vznikal toxický 2-dibenzofuranolu (Gastro a kol., 2017).

Vliv hydrogenuhličitanových, chloridových a síranových iontů byl zkoumán ve studii od Zhou a kol., (2017). Jednalo se o degradaci diatrizoátu fotokatalýzou v systémech UV/persíran a UV/H₂O₂. Jako účinnější z těchto dvou metod byla ta s UV/persíranem. To autoři mimo jiné přisuzují i síranovým radikálům (vzniklé aktivací persíranu simulovaným světelným zářením), které absorpcí světla vytvářely meziprodukty (síranové radikály mohou reagovat s chloridy, hydrogenuhličitanem atd. za vzniku dalších reaktivních forem). Zatímco přítomnost hydrogenuhličitanových iontů mírně zvýšila účinnost degradace, vysoké koncentrace chloridových iontů inhibovaly odstranění diatrizoátu. Velký vliv má však také struktura cílového substrátu, který chceme odstraňovat (Zhou a kol., 2017). Nejen tato studie, ale i studie od Lu a kol., (2018) zkoumala **vlivy chloridových a hydrogenuhličitanových iontů**, konkrétně na degradaci kyseliny klofibrové v pitné vodě třemi způsoby: UV-zářením, UV/persíranem a UV/chlorem. Kyselina klofibrová je aktivním metabolitem klofibrátu a dalších lipidových regulátorů, které jsou detekovatelné ve vodním prostředí. Jeho biologický rozklad je kvůli struktuře omezen, a proto se ji v této studii pokusili eliminovat ve vodním prostředí za použití tří výše uvedených způsobů. Rychlost degradace této kyseliny byla zvyšována s přidávajícím se chlorem anebo persíranem. Nejvyšší rychlost degradace (u obou kombinovaných procesů) byla při pH 9, nejnižší rychlost byla zaznamenána při pH 11.

Při procesu UV/chlór se zvyšujícím pH prostředí byla snižena rychlost degradace, tedy hydroxylové ionty inhibovaly degradaci kyseliny klofibrové. Naopak za přítomnosti **hydrogenuhlíčitánových iontů** v obou procesech (UV/ persíran nebo chlór) se zvýšila rychlost degradace. Z hlediska nákladů na energii i oxidačního činidla se metoda UV/chlór jeví efektivnější než UV/persíran (Lu a kol., 2018).

Wang a kol., (2016) zkoumaly účinek **chloridových iontů** na degradaci karbamazepinu (CBZ) v odpadních vodách z čistíren odpadních vod (ČOV) mezi fotokatalýzou UV-zářením, chlórem a kombinací těchto dvou procesů UV/chlór. Zjistili, že účinnější je kombinace UV-záření s chlorací, než samotné použití UV-záření nebo chlorace. Zvýšení rychlosti degradace CBZ bylo dosaženo větší intenzitou záření a přidavkem chlóru. Ovlivnění degradace nezáviselo jen na koncentracích chloridových iontů, ale také na pH prostředí. Čím kyselější prostředí pH bylo, tím byla rychlejší degradace. Na obrázku 12 je znázorněn předpokládaný mechanismus



Obrázek 12: Navrhovaná cesta pro degradaci CBZ (Wang a kol., 2016)

degradace CBZ. Je zde znázorněno společné působení chloridových i hydroxylových radikálů, nebo jen hydroxylové radikály (hydroxylace) na degradaci CBZ. Hydroxylací CBZ pomocí $\text{OH}\cdot$ vznikl N-heterocyklus, ze kterého vznikaly produkty P252: epoxidy- a hydroxyl-karbamazepinu. Z P252 oxidací hydroxylových i chloridových radikálů vzniká P266, P209, ale

pokud P252 je oxidována za pomoci $\text{OH}\cdot$ vzniká produkt P270. Z kombinované oxidace $\text{OH}\cdot$ a $\text{Cl}\cdot$ vznikal produkt P250 a stejnou oxidací z něho vznikl produkt P264 (Wang a kol., 2016).

1.7.2 Organické ionty

Organické ionty obsažené ve vodě mohou inhibovat účinnost fotokatalýzy, protože mohou působit jako tzv. lapače hydroxylových radikálů. Jednou z nejvýznamnějších a nejvíce prozkoumaných látek, která ovlivňuje fotokatalýzu, je kyselina huminová. Příkladem vlivu kyseliny huminové na degradaci léčiv za pomoci kombinační fotokatalýzy UV/ H_2O_2 byl popsán ve studii od Yuan a kol., (2013), kde zjistili, že absorbuje větší část UV-záření a tím znemožňuje samotnou degradaci. Její inhibiční účinek při degradaci látek potvrdily i další studie, jako například studie od Lu a kol., (2018); Zhou a kol., (2017); Gao a kol., (2020), kde prokázali, že je tzv. filtrem, který absorbuje UV-záření. Podobný účinek byl popsán i ve studii od Tan a kol., (2013), kde zkoumali detailněji její vliv. Zjistili, že při nízkých koncentracích kyseliny huminové (2,5 mg/l) docházelo k zrychlené degradaci látek a k vyšší produkci hydroxylových radikálů, ale při vysokých koncentracích (20 mg/l) naopak docházelo k inhibici reakce (absorbovala záření a odčerpávala produkované radikály, čímž zpomalila degradaci).

2 Cíl práce

Prvním z cílů této diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši zaměřenou na fotokatalýzu, faktory, které ji ovlivňují a na její využití k odstraňování mikrobiálního znečištění.

Dalším cíle práce bylo na základě poznatků z literární rešerše provést laboratorní experimenty zaměřené na zkoumání různých podmínek (vliv koncentrace fotokatalyzátoru (0,5-2 g/l), vliv otáček (200-800 ot/min), vliv druhu fotokatalyzátoru (TiO₂ Degussa, TiO₂ AV-01, TiO₂ Pretiox a TiO₂ P90) a vliv prostředí (fyziologický roztok, demineralizovaná voda a kohoutková voda)), které mohou ovlivňovat průběh fotokatalýzy. Tyto experimenty byly provedeny jak na modelovém vzorku odpadní vody s methylenové modří, tak následně s *E. coli*.

3 Experimentální část

Použité chemikálie

Tabulka 1: Použité chemikálie pro experimenty

Název	Výrobce	Čistota
Demineralizovaná voda	UPa	0,080 $\mu\text{S}/\text{cm}$
TiO ₂ AEROXIDE ® P 25	Evonik, Německo	
TiO ₂ AEROXIDE ® P 90	Evonik, Německo	
TiO ₂ AV-01	Precheza a.s., Přerov	
TiO ₂ PRETIOX CG	Precheza a.s., Přerov	
Methylenová modř (monohydrát)	Acros, India	96+ %
NaCl	Lach-Ner, Neratovice	99,9 %
Kohoutková voda	VAK-Pce	
Masopeptonový agar (MPA)	HiMedia, Indie	
Masopeptonový bujón (MPB)	HiMedia, Indie	

Použité vybavení

Nerezová nádoba č. 1 (rozměry 176 x 162 mm, výška 150 mm, ozářená plocha 285,12 cm²) a nerezová nádoba č. 2 (rozměry 265 x 162 mm, výška 150 mm, ozářená plocha 429,3 cm²), pipety, magnetická míchadla, UV/VIS spektrofotometr (Hach Lange DR 6000), odstředivka (Eppendorf centrifuge 5804 R) a LED zdroj UV-A záření (CBM-120-UV-C14-FB365-21 (Luminus Devices, USA), vlnová délka záření 365 nm a zářivý tok 8,5 W), zkumavky, špičky, kahan, autokláv.

3.1 Postup přípravy zásobních a reakčních roztoků

Zásobní roztok MM byl připraven tak, že v 1 l demineralizované vody (DI) bylo rozpuštěno 0,5 g MM, čímž byl připraven roztok o koncentraci 500 mg/l.

Fyziologický roztok (FR) (0,9% NaCl) byl připraven rozpuštěním 9 g chloridu sodného (NaCl) v demineralizované vodě a doplněním na 1000 ml. Takto připravený roztok byl sterilizován v autoklávu při 121 °C podobu 15 minut. Fyziologický roztok pro degradaci MM byl použit nesterilizovaný.

Masopeptonový agar (MPA) je obecně použitelné kultivační médium. Skládá se z 10,0 g/l masového peptonu a hovězího extraktu, 5,0 g/l NaCl a 15,0 g/l agaru, při konečném pH 7,2 ± 0,2 při 25 °C. MPA byl připraven dle výrobce navážením 40 g přípravku do 1000 ml destilované

vody. Směs byla sterilizována při 121 °C po dobu 15 minut. Po sterilizaci a po vychladnutí byla směs nalévána do plastových sterilních Petriho misek. Takto připravené půdy byly uchovány v lednici při teplotě 5 °C.

Masopeptonový bujón (MPB) je agar obohacený bujónem, na kterém se pěstují nenáročné bakterie. Skládá se z 10,0 g/l masového extraktu (sušiny), 10,0 g/l peptonu pro bakteriologii a 5,0 g/l NaCl při konečném pH 7,2 ± 0,2 a při teplotě 25 °C. MPB byl připraven dle pokynů výrobce navážením 25 g přípravku do 1000 ml destilované vody. Směs byla ve vhodných lahvích sterilizována při 121 °C po dobu 15 minut. Po sterilizaci a po vychladnutí byla směs uchována v lednici při teplotě 5 °C.

Reakční roztoky byly připraveny tak, že do nádoby bylo odměřeno 20 ml zásobního roztoku MM s 980 ml příslušného prostředí (DI, FR, voda z vodovodu (VV)). Roztok byl 5 minut míchán při otáčkách 500 ot/min. pro jeho zhomogenizování. Poté byl odebrán tzv. nulový vzorek pro spektrofotometrické stanovení počáteční koncentrace MM. Následně byl do reakčního roztoku přidán příslušný fotokatalyzátor (TiO₂ AEROXIDE[®] P 25, TiO₂ AEROXIDE[®] P 90, TiO₂ AV-01 a TiO₂ PRETIOX CG) a opět byla reakční směs 5 minut homogenizována při 500 ot/min. Po těchto 5 minutách byly nastaveny požadované experimentální otáčky (200 – 800 ot/min.), zapnut zdroj záření a v pravidelných časových intervalech byly z reakční směsi odebírány vzorky (5 ml). Ty byly odstředěny na laboratorní odstředivce (11 000 ot/min. po dobu 15 minut) a po odstředivce byla opět spektrofotometricky stanovena koncentrace MM ve vzorcích.

3.2 Postup stanovení rovnice kalibrační přímky methylenové modři

Byla připravena řada kalibračních roztoků MM v rozmezí koncentrací od 0 do 10 mg·l⁻¹. Absorbance těchto roztoků byla následně proměřena na UV/VIS spektrofotometru (DR 6000, *Hach*) při vlnové délce $\lambda = 664$ nm. Byl sestaven graf závislosti naměřené absorbance na koncentraci kalibračních roztoků a z něj byla získána rovnice kalibrační přímky ($R^2 = 0,998$) ve tvaru:

$$A = 0,2208 \times c + 0,0948 \quad 8)$$

kde: A = absorbance

c = koncentrace MM

Tato rovnice pak byly použita pro stanovení koncentrace MM u všech experimentů, které s ní byly provedeny.

3.3 Postup na optimalizačních stanovení

Pro optimalizaci otáček byl postupem popsaným v kapitole 3.1 připraven reakční roztok MM a nerezových nádobách 1 a 2. Poté byla provedena řada experimentů při otáčkách 200, 350, 500, 650 a 800 ot/min., postup odběru vzorků a stanovení koncentrace MM viz kap. 3.1.

Pro hledání množství optimální navážky fotokatalyzátoru byl opět použit postup popsaný v kap. 3.1. Experimenty byly vedeny při 500 ot/min., navážky fotokatalyzátoru byly 0,5 g, 1 g a 2 g.

3.4 Postup fotokatalytické degradace *E. coli*

Požívaná *E. coli* (CCM 3954 z České sbírky mikroorganismů, Brno) byla připravena oživením dlouhodobě skladované kultury uchované v kryzkumavkách. Kultura byla rozmíchána v roztoku masopeptonového bujónu (MPB) a fyziologického roztoku, připraveného 1:1. Takto připravený roztok byl inkubován při 30 °C po dobu 24 hodin.

3.4.1 Měření zákalu

Do plastové zkumavky byla napipetována kultura *E. coli* v připraveném roztoku (MPB+FR) a byl fotometricky změřen zákal. Roztok byl případně ředěn destilovanou demineralizovanou vodou, dokud nebylo dosaženo hodnoty zákalu zhruba 0,5. Takto připravený roztok byl dále používán při katalýze.

3.4.2 Nepřímé stanovení počtu buněk – Plotnová metoda

Do sady sterilních zkumavek bylo napipetováno 9 ml fyziologického roztoku a do první zkumavky byl přidána 1 ml suspenze z 1000 ml roztoku, promíchaného v nerezové nádobě. Poté byl v první zkumavce promíchán obsah čistou špičkou a byl přenesen další 1 ml této suspenze do další zkumavky. Takto bylo provedeno desítkové ředění u všech odebraných vzorků, od výchozího roztoku až po poslední v čase odebraný. Ředící řada je popsána v tabulce 2:

Tabulka 2: Čas a ředění potřebné pro naočkování kultury *E. coli*

Čas	Ředění (10 ^x)
0	4-8
15	3-7
30	4-7
45	3-6
60	3-6
75	2-5
90	2-5
120	1-4

Petriho misky s masopeptonovým agarem (MPA) byly temperovány a popsány (jméno, datum a ředění). Ze zkumavky s příslušným ředěním bylo napipetováno 100 µl suspenze do dvou popsaných misek. Napipetovaný objem suspenze byl rovnoměrně rozetřen sterilní skleněnou nebo plastovou L-hokejkou krouživým pohybem a bez tlačení po celém povrchu agaru. Při pipetování i roztírání bylo nutné pracovat rychle a asepticky, aby se zabránilo případné kontaminaci. Poté byly misky inkubovány v termostatu 24-48 hodin při teplotě 30 °C, otočené dnem vzhůru. Po 24 i po 48 hodinách byly misky zkontrolovány a bylo spočítáno množství narostlých kolonií. Počty kolonií byly přepočítány na jednotky CFU/ml.

3.4.3 Kvantitativní hodnocení počtu narostlých kolonií

Výsledkem kvantitativního hodnocení počtu narostlých kolonií *E. coli* je počet CFU/ml. Toto hodnocení vychází z normy ČSN EN ISO 8199. Základem hodnocení je počítání narostlých kolonií na kultivačních médiích. Při tomto stanovení se postupovalo stejným způsobem uvedeným v podkapitole 3.4.3. Pro stanovení počtu kolonií byl použit následující vzorec (rovnice 9), kdy pro stanovení byly vybrány dvojice misek s nejhodnějším ředěním (takové ředění, kde narostlo 15-300 kolonií *E. coli*) a byly spočítány počty kolonií. Výsledkem je hodnota CFU/ml neboli počet bakterií schopných tvořit jednu kolonii (počet buněk v 1 ml).

$$N = \frac{\sum c}{V \times (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d} \quad 9)$$

- kde: N CFU=počet bakterií schopných tvořit jednu kolonii
Σc součet všech kolonií spočítaných na vybraných miskách
n₁ počet misek použitých pro výpočet z prvního použitého ředění
n₂ počet misek použitých pro výpočet z prvního použitého ředění
d faktor pro výpočet prvního použitého ředění

3.4.4 Separace *E. coli*

Do 8 zkumavek byla dávkována suspenze *E. coli* (v roztoku MPB+FR) o objemu 50 ml, následně došlo k odstředění v centrifuze (5804 R) při 8000 ot/min. po dobu 5 minut. Poté byl supernatant odstraněn do nádoby s biologickým odpadem a odstředěný pevný rozdílný byl promýván fyziologickým roztokem, demineralizovanou vodou nebo kohoutkovou vodou (které byly sterilizovány autoklávováním). Dále byly všechny zkumavky opět odstředěny. Tento proces byl opakován celkem 3-krát. Nakonec byl odstředěný pevný rozdílný rozmíchán v jednom z promývacích roztoků (25 ml) a obsah všech zkumavek byl slit do jedné kádinky. Tento roztok byl příslušnou promývací kapalinou doplněn do 1000 ml a ve výsledném roztoku byl fotometricky měřen zákal (optimum 0,5), následně byl roztok přelit do nerezové kádinky N1.

Pro průběh fotokatalýzy (ve skleněné nádobě o objemu 1000 ml, nebo v nerezové nádobě N1) za pomoci fotokatalyzátoru (P25, AV01) nebo H_2O_2 nebyla odstředěna kultura *E. coli* (MPB+FR), ale byl naměřen zákal způsobem popsaným v podkapitole 3.4.1.

3.4.5 Průběh fotokatalýzy za pomoci fotokatalyzátoru

Suspenze *E. coli* byla provedena stejným způsobem popsaným v podkapitole 3.4.4, která byla míchána v nerezové nádobě po dobu 5 minut (500 ot/min., 25 °C). Z roztoku byly odebrány 2 ml původního roztoku bez TiO_2 , poté byl přidán 1 g fotokatalyzátoru a následně byla zapnuta UV-LED lampa. Všechny následující vzorky byly odebírány po 15-ti minutách a byly naředěny a naočkovány stejným způsobem, jak je uvedeno v kapitole 3.4.3.

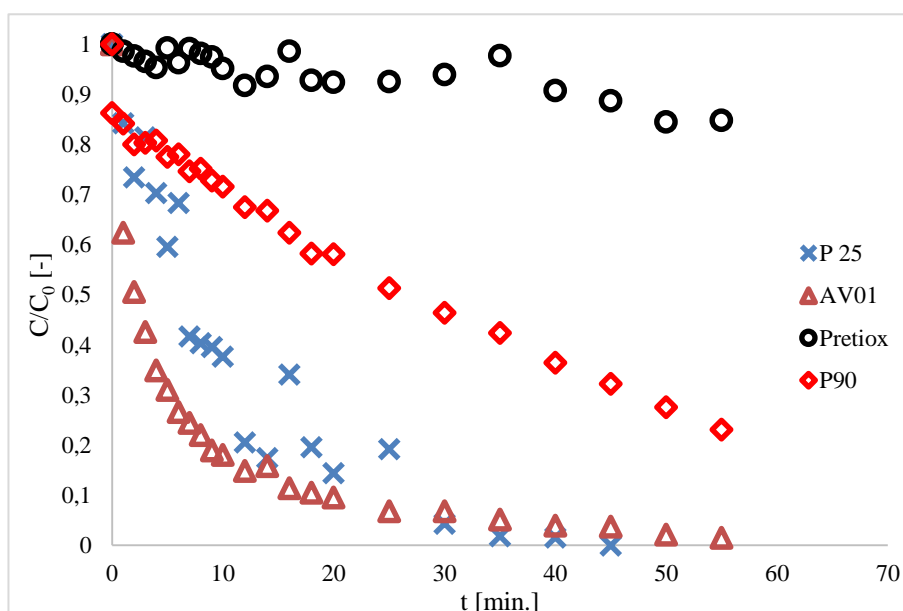
3.4.6 Průběh fotokatalýzy za pomoci H_2O_2

Suspenze ve skleněné kádince o objemu 1000 ml nebo nerezové nádobě N1 byla míchána po dobu 5 minut (500 ot/min., 25 °C). Z roztoku byly odebrány 2 ml původního roztoku bez H_2O_2 , poté byl přidán příslušné množství H_2O_2 (0,025, 1 a 3 ml). Všechny následující vzorky byly odebírány po 10-ti minutách do 30-ti minut, poté následoval odběr po 15-ti minutovém intervalu do 90-ti minut. Všechny vzorky byly naředěny a naočkovány stejným způsobem, jak je uvedeno v kapitole 3.4.3.

4 Výsledky a diskuze

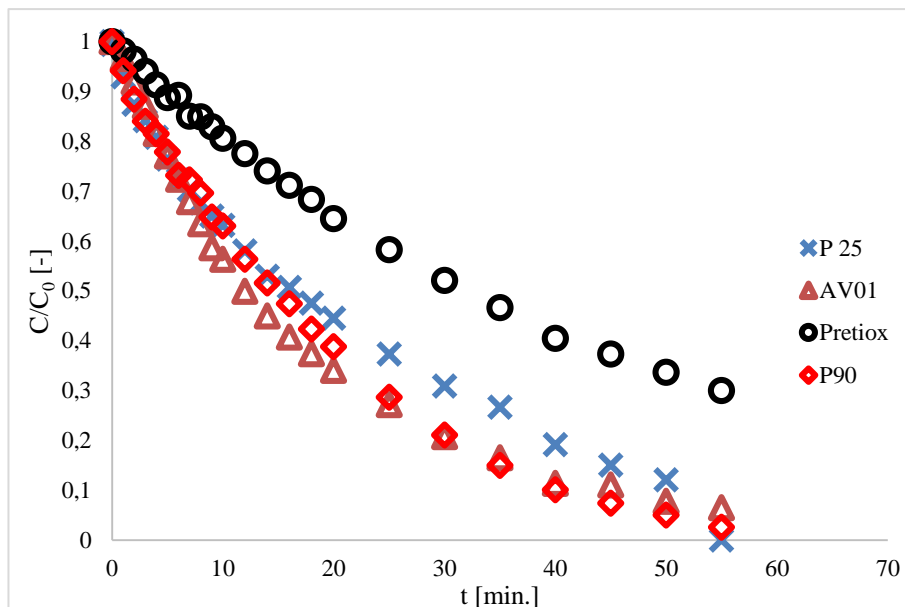
4.1 Vliv použitého druhu fotokatalyzátoru a prostředí na účinnost degradace methylenové modři

Pro zjištění vlivu použitého druhu fotokatalyzátoru na degradaci MM byly testovány čtyři různé fotokatalyzátory na bázi TiO_2 (P25, AV-01, PRETIOX CG, P90). Experimenty byly provedeny ve třech různých prostředích (demineralizovaná voda (DI), voda z vodovodu (VV) a 0,9 % NaCl – fyziologický roztok (FR)), otáčky 500 ot/min., navážka všech katalyzátorů 1 g, použity nerezové reaktory 1 a 2. Výsledky experimentů jsou v grafické podobě uvedeny na obrázcích 13 až 18.



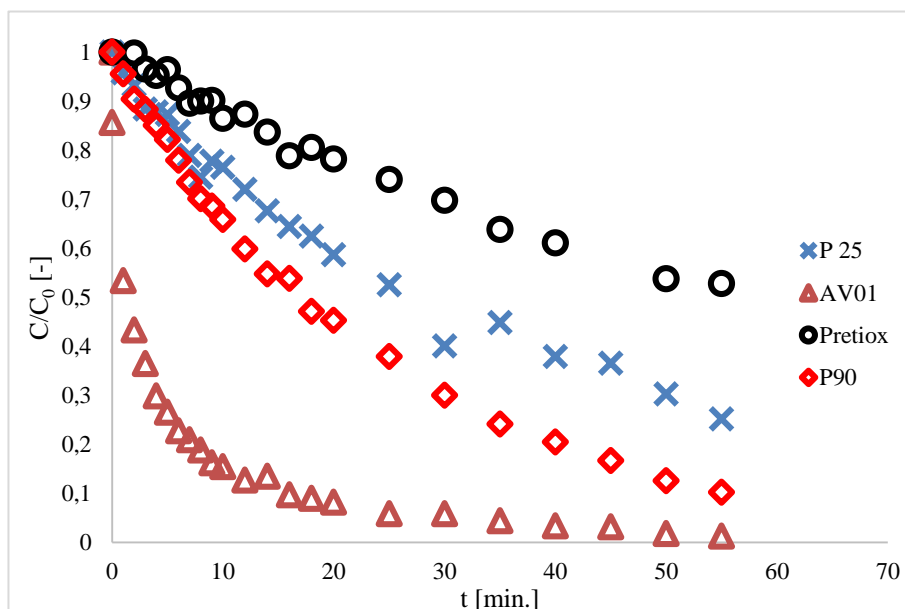
Obrázek 13: Degradace MM v DI, nerezový reaktor 1

Na obrázku 13 je znázorněna degradace MM pro 4 použité fotokatalyzátory v prostředí DI. Jak je z výsledků patrné, nejhorších výsledků bylo dosaženo s fotokatalyzátorem PRETIOX CG300, u kterého bylo po 55 minutách odstraněno pouze 15 % MM. Lepších výsledků bylo dosaženo s fotokatalyzátorem P90 kdy po 55 min. bylo odstraněno téměř 80 % MM. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s fotokatalyzátory P 25 a AV01, kdy po 45 min. bylo dosaženo téměř 100% odstranění MM.



Obrázek 14: Degradace MM v VV, nerezový reaktor 1

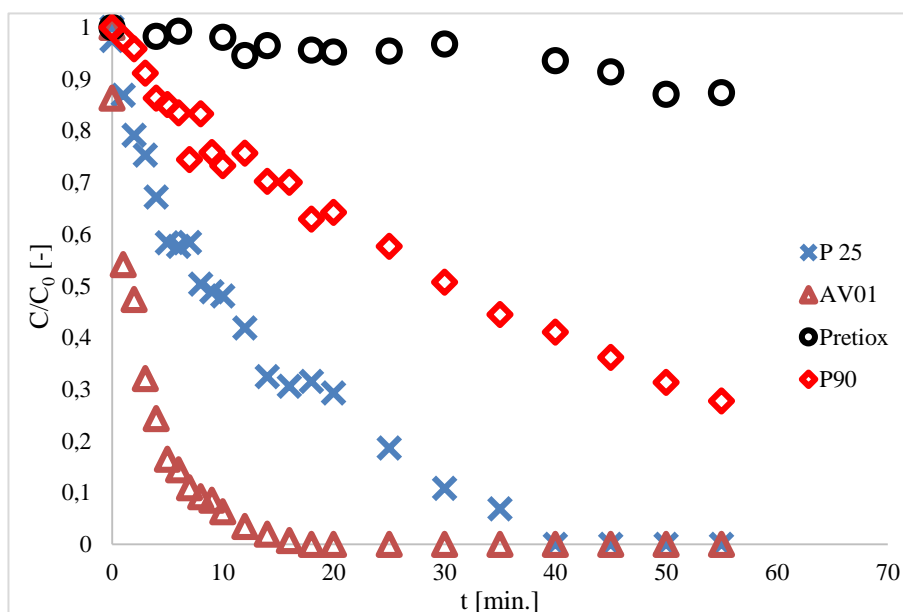
Na obrázku 14 je opět znázorněna degradace MM pro 4 použité fotokatalyzátory, tentokrát ovšem v prostředí VV. Nejhorších výsledků bylo opět dosaženo s fotokatalyzátorem PRETIOX CG300, v porovnání s DI však došlo ke zlepšení účinnosti fotokatalýzy po 55 min. bylo odstraněno 70 % MM. Mírné zvýšení účinnosti je také u fotokatalyzátoru P90, kdy po 55 min. bylo odstraněno 95 % MM. Naopak horších výsledků v porovnání s DI bylo dosaženo s fotokatalyzátory P 25 a AV01, kdy 100% odstranění MM bylo dosaženo v čase 55 min.



Obrázek 15: Degradace MM v FR, nerezový reaktor 1

Na obrázku 15 je pro reaktor 1 znázorněn průběh degradace MM za použití stejných 4 fotokatalyzátorů, tentokrát ovšem v prostředí FR. Nejhorších výsledků bylo opět dosaženo s fotokatalyzátorem PRETIOX CG300. Účinnost odstranění MM v prostředí FR byla mezi účinnostmi dosaženými v prostředí DI a VV, konkrétně bylo odstraněno 45 % MM.

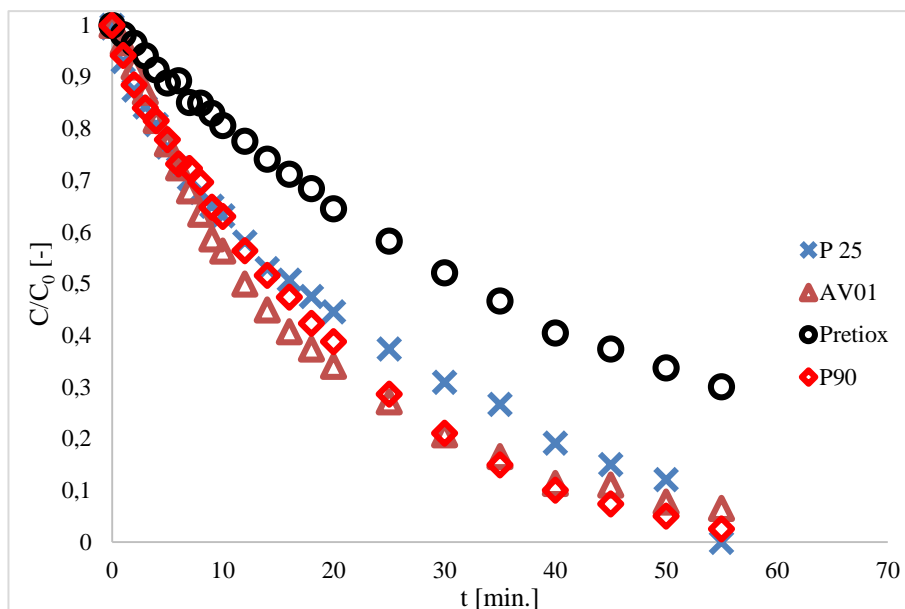
U fotokatalyzátoru P90 nedošlo v porovnání s předešlými prostředími k žádné výrazné změně, účinnost odstranění MM byla 90 %. Účinnost fotokatalyzátoru AV01 byla v čase 55 min. prakticky stejná jako v prostředí VV, rozdíl je patrný jen v průběhu degradace. Zatímco v prostředí VV doházelo k postupné plynulé degradaci barviva, v prostředí FR je patrný v prvních 10 min. experimentu prudký pokles koncentrace MM na zhruba 10 % z původního množství. Ve zbylém čase již byl pokles velmi pozvolný až v 55 min. došlo k prakticky úplnému odstranění barviva z reakčního roztoku. Překvapivý je výsledek testování fotokatalyzátoru P25, který v prostředí FR byl dokonce horší než P90 a po 55 min. bylo odstraněno pouze 75 % z původního množství barviva.



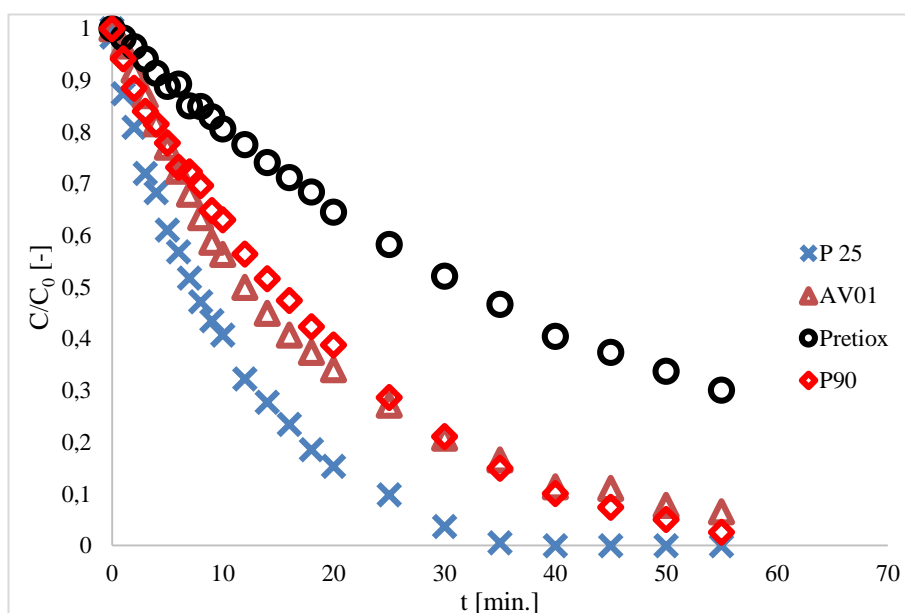
Obrázek 16: Degradace MM v DI, nerezový reaktor 2

Na obrázku 16 již jsou znázorněny výsledky experimentů pro reaktor 2, v tomto případě opět v prostředí DI. Nejvýznamnější rozdíl oproti experimentům znázorněným na obrázku 13 (reaktor 1, DI) je patrný u fotokatalyzátoru AV01, kdy k odstranění veškerého barviva došlo už po 18 min. experimentu (v případě reaktoru 1 to bylo po 45 min.). Průběh a účinnost odstranění

MM pro ostatní tři použité fotokatalyzátory je prakticky stejný, jako v případě, kdy bylo použito stejné prostředí (DI) v reaktoru 1.



Obrázek 17: Degradace MM v VV, nerezový reaktor 2



Obrázek 18: Degradace MM v FR, nerezový reaktor 2

Na obrázcích 17 a 18 jsou pak uvedeny výsledky experimentů v nádobě 2 v prostředí VV (obrázek 17) a FR (obrázek 18). Jak je z uvedených závislostí patrné, průběhy a účinnosti degradace MM až na drobné výjimky korespondují s výsledky, kterých bylo dosaženo v těchto

prostředích v nádobě 1. Opět se jako nejméně účinný fotokatalyzátor ukázal PRETIOX CG300, účinnost fotokatalyzátoru AV01 je prakticky stejná jako u nádoby 1. Výjimkou je použití fotokatalyzátoru P25 v prostředí FR, kdy po 35 min. degradace došlo k prakticky 100% odstranění barviva MM.

Výše uvedená data a experimenty byly dále použity pro výpočet reakčních konstant všech použitých fotokatalyzátorů v závislosti na použité nádobě a reakčním prostředí. K tomu bylo použito linearizace, tj. místo závislosti koncentrace barviva na čase degradace byla do grafu vynášena závislost přirozeného logaritmu této koncentrace na čase. Bylo zjištěno, že tyto závislosti jsou lineární a u odstraňování barviva MM fotokatalýzou jde tedy o reakce 1. řádu. Ze směrnic těchto lineárních závislostí pak byly určeny hodnoty reakčních konstant k , které jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Vypočtené hodnoty reakčních konstant k

Fotokatalyzátor		P90	Pretiox CG300	AV01	P 25
Reakční nádoba N1					
k (min ⁻¹)	DI	0,0227	0,0027	0,1367	0,1016
	VV	0,034	0,023	0,0503	0,0504
	FR	0,0405	0,0122	0,0597	0,023
Reakční nádoba N2					
k (min ⁻¹)	DI	0,0222	0,0026	0,2623	0,0616
	VV	0,0405	0,022	0,0521	0,0389
	FR	0,0578	0,022	0,0526	0,0915

4.1.1 Porovnání průběhu fotokatalýzy pro čtyři testované katalyzátory

Porovnáme-li dosažené výsledky (tabulka 3) s literaturou od Guettaï a Ait Amar, (2005), kteří porovnávali pět fotokatalyzátorů (P25, mikroanatas, UV100, Pt-UV100 a Pretiox) pro degradaci MeO, tak došli k závěru, že velmi účinnými katalyzátory byly P25 a UV100 a nejméně účinným byl Pretiox. Také v práci od Tichapondwa a kol., (2020), kde porovnávali P25, samotný anatas a rutil a došli k závěru, že pro degradaci MM je nejlepším fotokatalyzátorem P25.

Jak je vidět z výsledků experimentů (viz obrázky 13-18) a vypočtených hodnot rychlostních konstant (viz tabulka 3) bylo shodně s literaturou zjištěno, že nejméně účinným

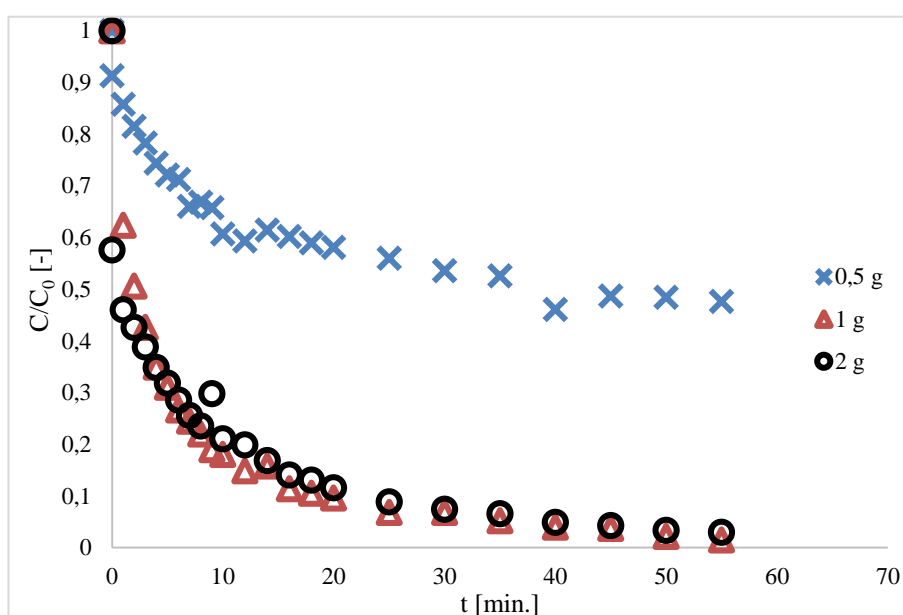
fotokatalyzátorem pro degradaci MM ve vodném prostředí je Pretiox CG300. Přestože se jedná o výrobek určený obecně pro fotokatalýzu je určen převážně pro odstraňování kontaminantů vzduchu (organické látky, oxidy dusíku atd.) a jeho účinnost ve vodném prostředí je v porovnání s dalšími testovanými fotokatalyzátory nízká. (Prechez, 2020).

Porovnáme-li vliv prostředí na fotokatalýzu, tak v DI byl nejméně účinný Pretiox CG300 a P90. Naopak nejlepších výsledků degradace MM v DI bylo dosaženo za použití AV01 a to u obou nerezových reaktorů 1 a 2. V prostředí VV byl nejrychlejší průběh fotokatalýzy za použití AV01 a P25, relativně rychlý průběh fotokatalýzy byl i za použití P90. Nejpomalejší byla opět P90 v obou reaktorech 1 a 2. V prostředí FR bylo dosaženo nejlepších výsledků v reaktoru 2 s fotokatalyzátorem P25, skoro stejný průběh byl u AV01 s P90 a nejhorší opět Pretiox CG300. V reaktoru 1 v prostředí FR byly neúčinnější katalyzátory AV01 a P90, překvapivý výsledek byl u P25, který byl dokonce méně účinný než P90.

Pro další testování byly na základě těchto výsledků vybrány jen dva neúčinnější katalyzátory AV01 a P25. Tento závěr je v souladu s literaturou, kde pro většinu aplikací se jako neúčinnější ukázal právě katalyzátor P25 (Tichapondwa a kol., 2020; Guettaï a Ait Amar, 2005). Další testy byly již vedeny pouze v reaktoru 1, protože se neprokázal pozitivní vliv zvětšené osvětlené plochy u rektoru 2. To je možné vysvětlit tím, že v případě míchaných reaktorů dochází k dostatečnému mísení reakční směsi, a tudíž i k dostatečné interakci záření s fotokatalyzátorem, na rozdíl např. od aplikací, kde je katalyzátor nanesen ve vrstvě na pevném podkladu a velikost osvětlené plochy hraje daleko významnější roli.

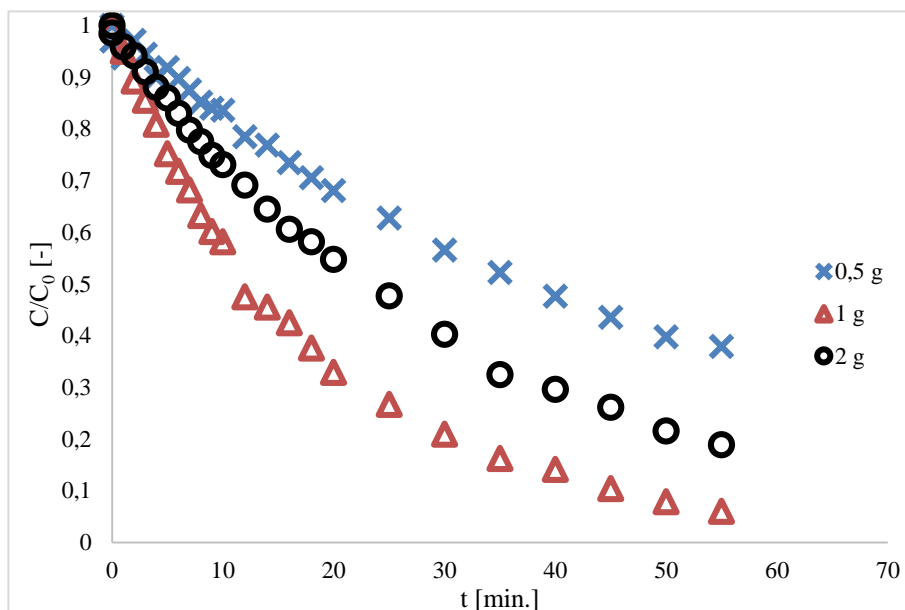
4.2 Vliv množství použitého druhu fotokatalyzátoru na účinnost degradace methylenové modři

Dalším testovaným parametrem bylo množství použitého fotokatalyzátoru na účinnost degradace MM. Na základě předešlých výsledků byly do této další fáze testů již vybrány pouze dva nejúčinnější fotokatalyzátory, kterými byly P25 a AV01. Experimenty proběhly opět v prostředí DI, VV a FR v nerezovém reaktoru 1. Testované koncentrace obou fotokatalyzátorů byly 0,5 g/l, 1 g/l a 2 g/l.



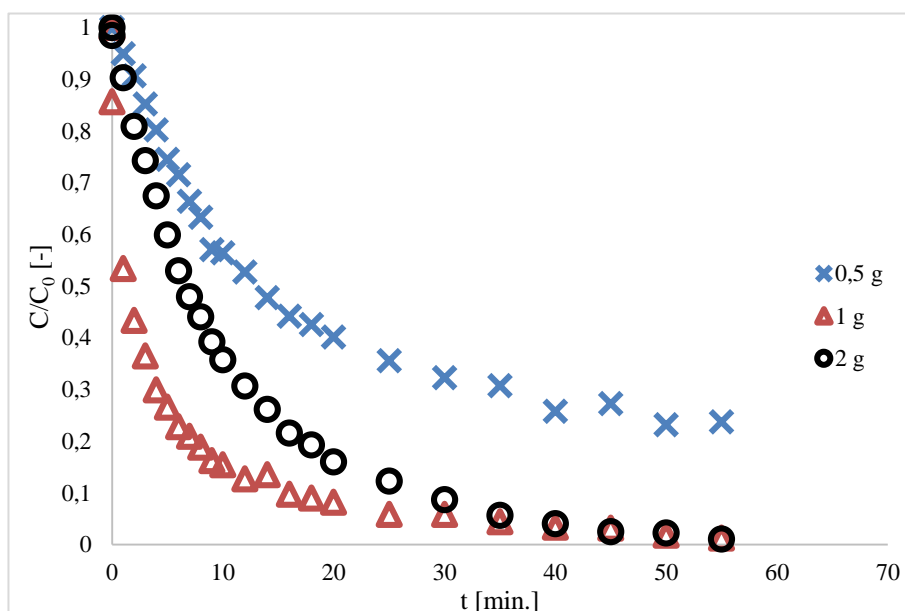
Obrázek 19: Fotodegradace MM v DI, fotokatalyzátor AV01, nerezový reaktor 1

Na obrázku 19 je znázorněna závislost degradace MM na čase za použití AV01 s navážkami v rozmezí od 0,5 až 2 g v prostředí DI. Jak je z výsledků patrné, nejhorších výsledků bylo dosaženo s navážkou 0,5 g AV01, u které bylo odstraněno po 55 min. pouze 50 % MM. Lepších výsledků bylo dosaženo s navážkou 2 g AV01, kdy po 55 min. bylo odstraněno 80 % MM. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo s navážkou 1 g AV01, kdy po 55 min. bylo odstraněno téměř 100 % MM.



Obrázek 20: Fotodegradace MM v VV, fotokatalyzátor AV01, nerezový reaktor 1

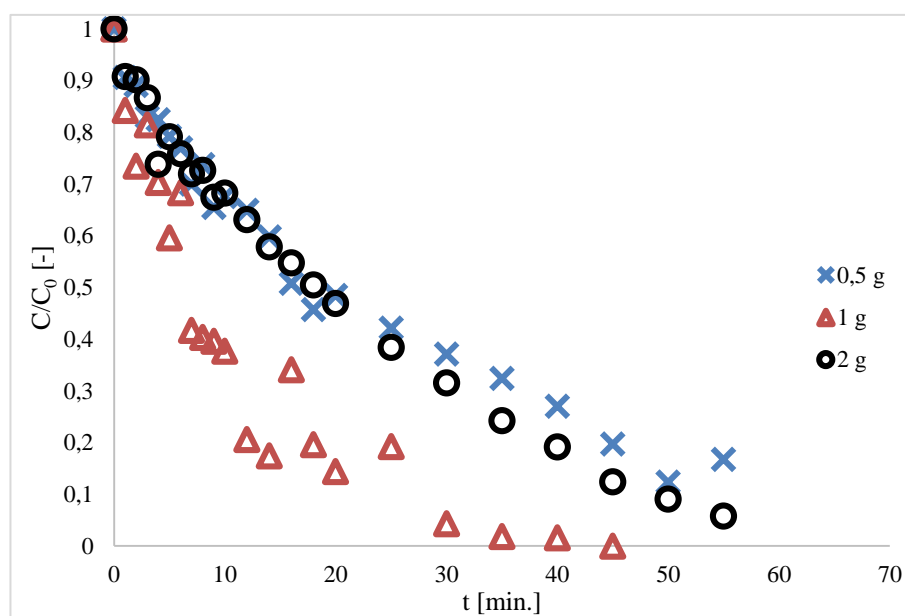
Na obrázku 20 je znázorněna degradace MM v prostředí VV. Ostatní podmínky jsou stejné, jako v předešlém případě (0,5, 1 a 2 g AV01, reaktor 1). Nejhorších výsledků bylo opět dosaženo při navážce 0,5 g AV01, v porovnání s DI však došlo ke zlepšení účinnosti degradace po 55 min. kdy bylo odstraněno 70 % MM. V porovnání s DI došlo ke snížení účinnosti degradace při navážkách 1 a 2 g AV01, kdy 70-80 % MM bylo odstraněno v čase 55 min.



Obrázek 21: Fotodegradace MM v FR, fotokatalyzátor AV01, nerezový reaktor 1

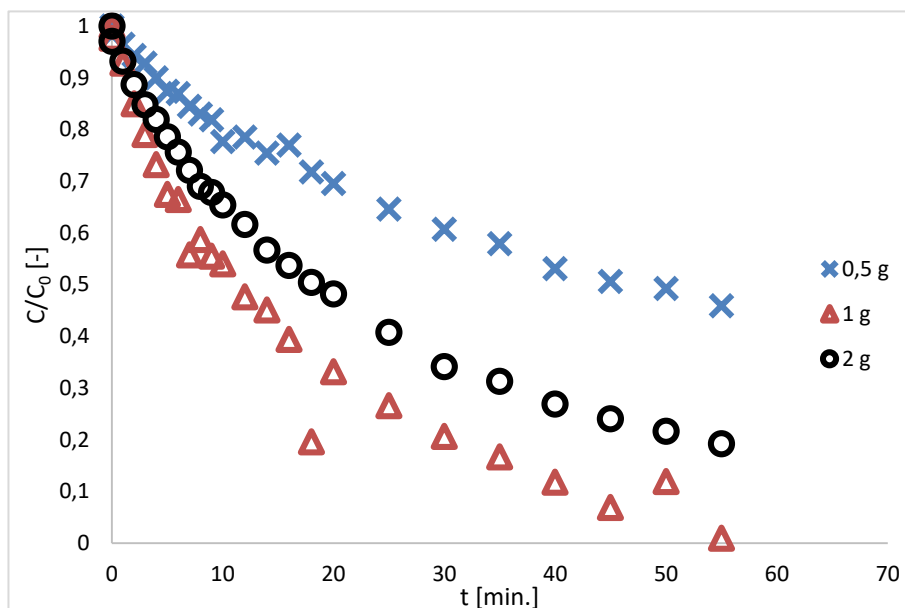
Na obrázku 21 je znázorněna závislost degradace MM v prostředí. Nejhoršího výsledku bylo opět dosaženo s navážkou 0,5 g AV01, kdy po 55 min. bylo odstraněno 75 % MM. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při navážkách 1 a 2 g AV01, kde bylo po 55 min. odstraněno téměř 100 %.

Navážka 0,5 g AV01 bylo ve všech třech prostředích nejméně účinná, odstranění MM bylo mezi 50 % až 75 %. Účinnost navážek 1 a 2 g AV01 v prostředí FR a DI byla v čase 55 min. prakticky stejná, rozdíl je patrný v prostředí VV, kde došlo k výrazné změně průběhu a účinnosti degradace. Zatímco v prostředí VV docházelo k pomalé postupné degradaci barviva, v prostředí FR a DI je patrný v prvních 10 minutách experimentu prudký pokles koncentrace MM na zhruba 10 % z původního množství. Ve zbylém čase byl pokles velmi pozvolný až v 55 min. došlo k téměř úplnému odstranění barviva z reakčního roztoku.



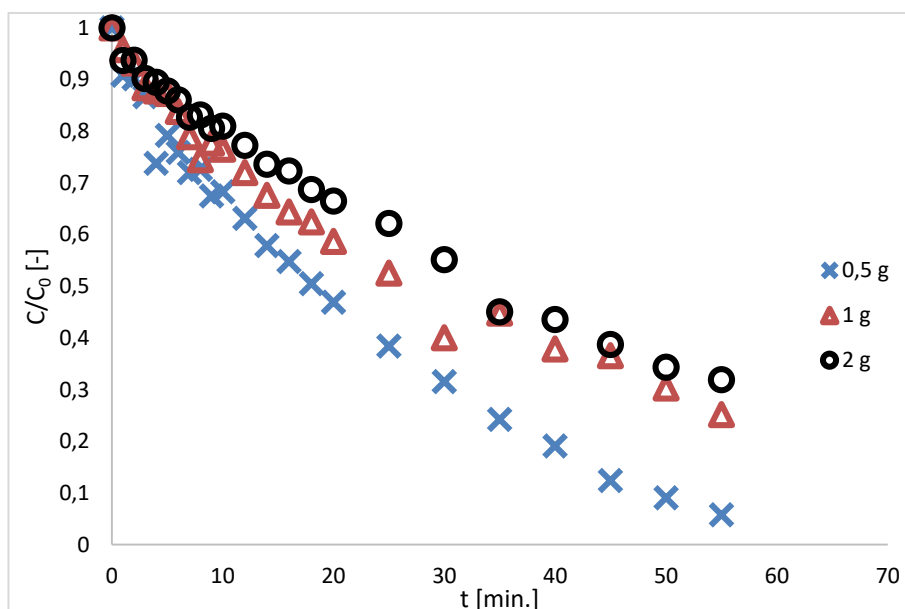
Obrázek 22: Degradace MM v DI, fotokatalyzátor P25, nerezový reaktor 1

Na obrázku 22 je znázorněna závislost degradace MM na čase za použití P25 s navážkami v rozmezí od 0,5 až 2 g v prostředí DI. Z výsledků je patrné, že nejhoršího výsledku bylo dosaženo při 0,5 g P25, kdy bylo po 55 min. odstraněno 80 % MM. Lepšího výsledku bylo dosaženo u navážky 2 g P25, kdy bylo odstraněno po 55 min. 95 % MM. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo při navážce 1 g P25, kdy po 45 min. bylo dosaženo téměř 100 % MM.



Obrázek 23: Degradace MM ve VV, fotokatalyzátor P25, nerezový reaktor 1

Na obrázku 23 je znázorněna degradace MM tří navážek (0,5, 1 a 2 g) P25 v prostředí VV (reaktor 1). Nejhorších výsledků bylo opět dosaženo při navážce 0,5 g P25, v porovnání s DI došlo ke zhoršení účinnosti degradace a po 55 min. bylo odstraněno 50 % MM. Zhoršení účinnosti fotokatalýzy bylo v porovnání s DI také při použití navážky 2 g P25, kdy bylo v čase 55 min odstraněno 70 % MM. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo opět s navážkou 1 g P25.



Obrázek 24: Degradace MM ve FR, fotokatalyzátor P25, nerezový reaktor 1

Na obrázku 24 je znázorněna závislost degradace MM za použití tří navážek P25 tentokrát v prostředí FR. U navážek 1 a 2 g bylo dosaženo prakticky stejných výsledků. V čase 55 min. bylo odstraněno 70-75 % MM, což je horší účinnost degradace, než byla v prostředí DI a VV. Oproti tomu u navážky fotokatalyzátoru P25 došlo, v porovnání s DI k výraznému zlepšení účinnosti a po 55 min bylo odstraněno téměř 90 % MM.

Účinnost degradace s navážkou 0,5 g P25 byla kromě experimentů v prostředí FR nižší, než u navážek 1 a 2 g. To je patrně způsobeno iontovou silou roztoku, kdy u vyšších navážek P25 již docházelo ke shlukování částic katalyzátoru. To vedlo jednak k horší dispergaci a také ke zmenšení aktivního povrchu. V prostředí DI a VV k této tvorbě shluků nedocházelo a účinnost degradace MM byla v čase 55 min. prakticky 100 %.

4.2.1 Porovnání optimální navážky fotokatalyzátorů

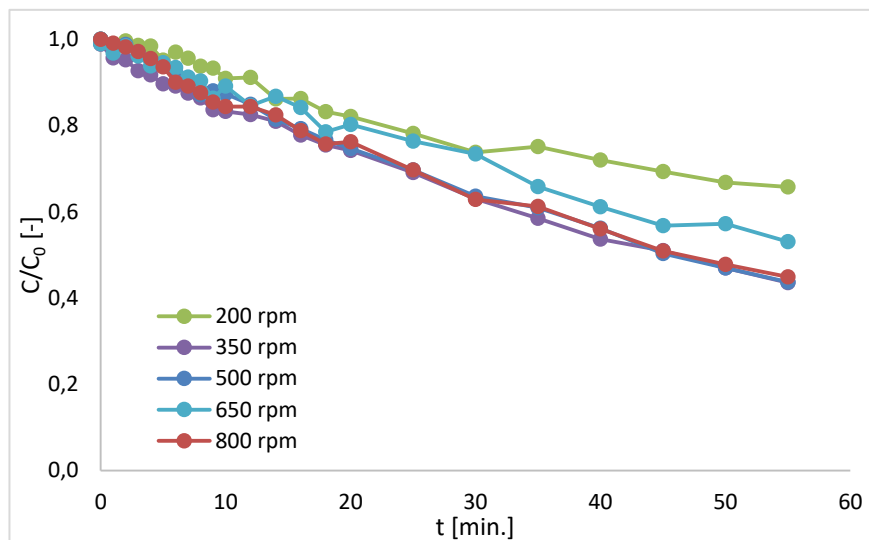
Tabulka 4: Rychlostní konstanty v závislosti na navážce fotokatalyzátorů AV01 a P25

Navážky fotokatalyzátoru		0,5 g	1 g	2 g
AV01				
k (min ⁻¹)	DI	0,0112	0,1417	0,0792
	VV	0,018	0,0525	0,0303
	FR	0,0295	0,1417	0,0879
P25				
k (min ⁻¹)	DI	0,0315	0,0415	0,0925
	VV	0,0139	0,05	0,0299
	FR	0,0366	0,0233	0,205

V tabulce 4 jsou znázorněny vypočtené rychlostní konstanty v závislosti na navážce P25 a AV01 (0,5-2 g) v různém prostředí (DI, VV a FR). Z výsledků je patrné, že navážka 0,5 g u obou fotokatalyzátorů ještě nebyla dostatečná, aby došlo k co nejúčinnější degradaci MM. Porovnáním navážek 1 a 2 g lze konstatovat, že výsledky degradace MM se většinou významně nelišily. Z ekonomického hlediska je tedy za těchto okolností výhodnější volit navážku 1 g fotokatalyzátoru. Při navážce 2 fotokatalyzátoru docházelo v prostředí DI a FR k rychlejšímu průběhu fotokatalýzy než při VV. Toto může být způsobeno vlivem přítomných iontů (dusičnanů, chloridů, síranů) v prostředí VV, roli mohou hrát i nečistoty ze zastaralých vodovodních trubek (v malém procentu).

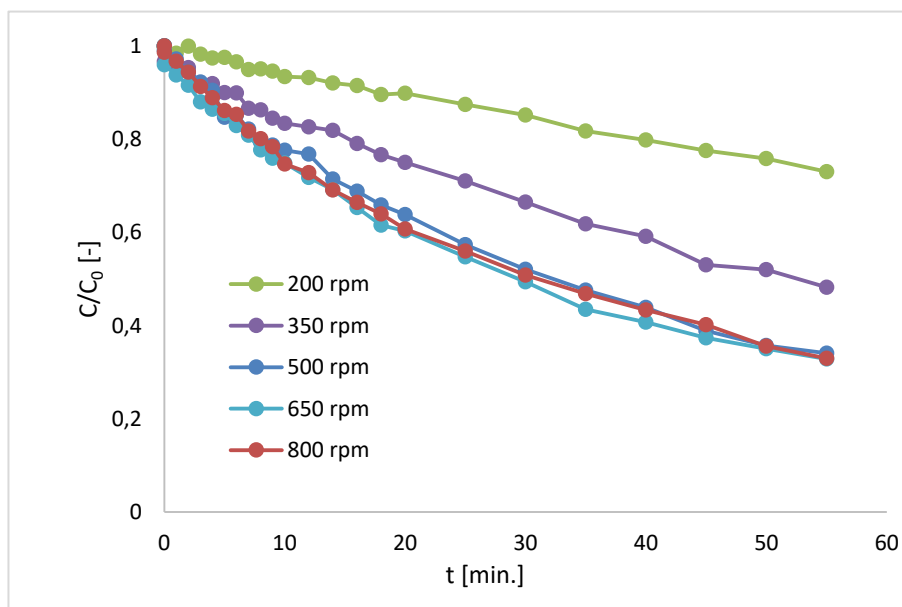
4.3 Vliv otáček na fotokatalytickou degradaci methylenové modři

Další testování bylo zaměřeno na zjištění vlivu různých otáček míchání reakční směsi (200, 350, 500, 650, 800) na fotokatalytickou degradaci MM. Experimenty byly opět provedeny ve třech různých prostředích (DI, VV a 0,9 % FR), s navázkou 1 g dvou katalyzátorů (P25, AV01) a byl použit nerezový reaktor 1.



Obrázek 25: Degradace MM ve FR, fotokatalyzátor P25 při různých otáček, nerezový reaktor 1

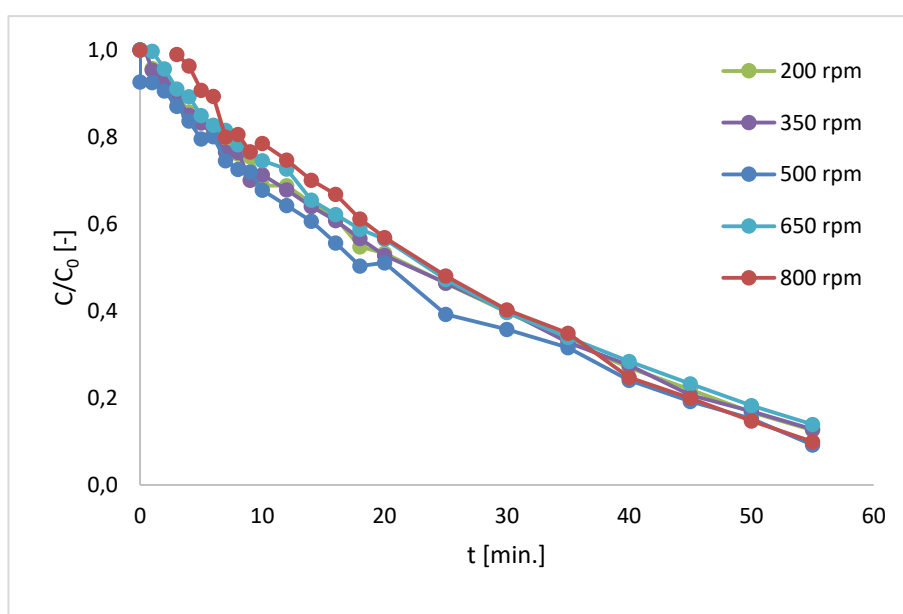
Na obrázku 25 je znázorněn průběh degradace MM za použití P25 v prostředí FR (reaktor 1). Z uvedených výsledků je patrné, že nejlepších výsledků bylo dosaženo při otáčkách 800



Obrázek 26: Degradace MM v DI, fotokatalyzátor P25 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1

ot/min., 500 ot/min. a 350 ot/min., kde průběh reakce je prakticky stejný. Nejhoršího výsledku bylo dosaženo při otáčce 200 ot/min., kdy bylo po 55 min. odstraněno 30 % MM.

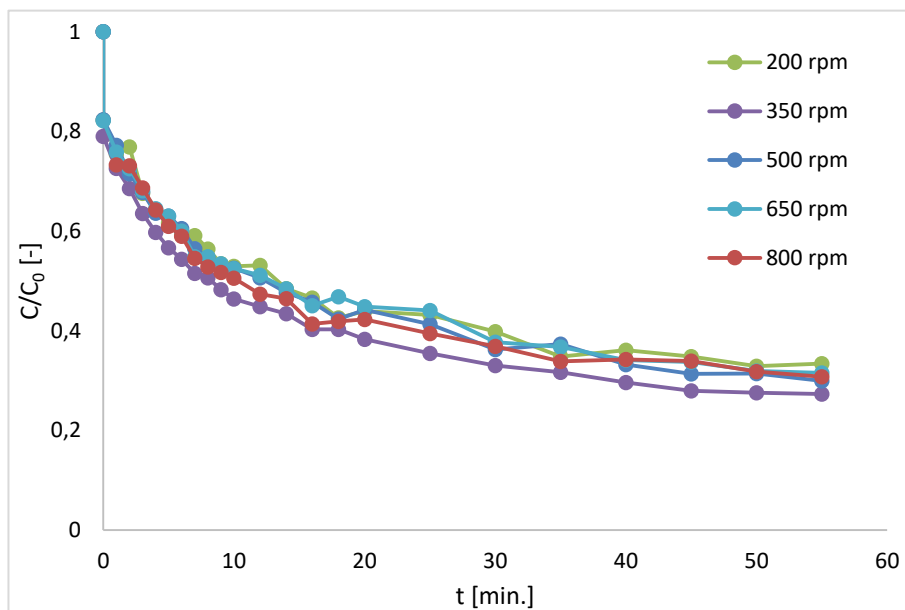
Na obrázku 26 je pro reaktor 1 znázorněn průběh degradace MM za použití P25 v prostředí DI (reaktor 1). Njehoršího výsledku bylo opět dosaženo při otáčkách 200 ot/min., kdy bylo odstraněno 30 % MM. Lepšího výsledku bylo dosaženo při otáčkách 350 ot/min, kde bylo odstraněno 50 % MM. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo při otáčkách 500, 650 a 800 ot/min., kdy průběh reakce byl prakticky stejný a bylo odstraněno 70 % MM.



Obrázek 27: Degradace MM ve VV, fotokatalyzátor P25 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1

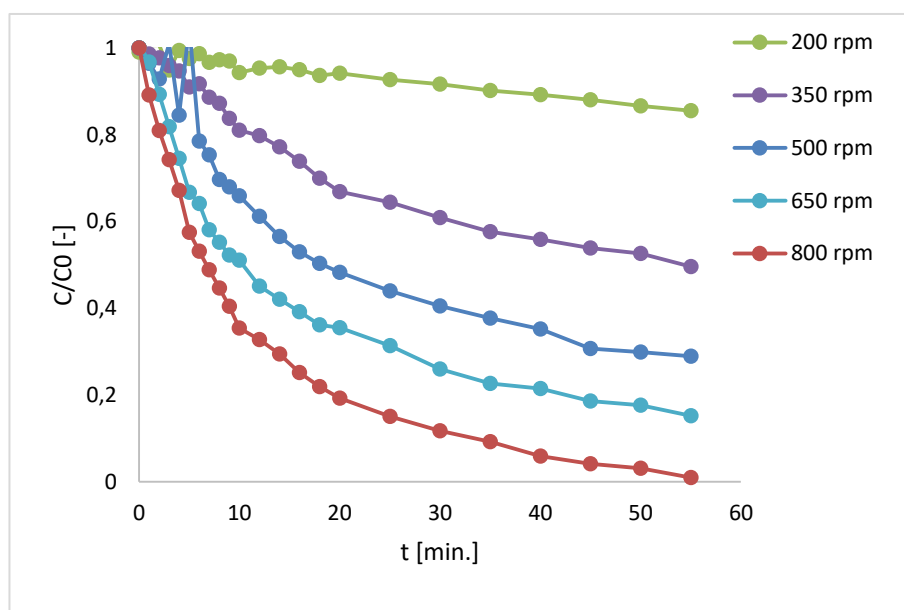
Na obrázku 27 je znázorněna degradace MM za použití P25, tentokrát ovšem v prostředí VV. Z výsledků je patrné, že u všech pět různých otáček (od 200 až po 800 ot/min.) bylo dosaženo téměř stejného průběhu degradace barviva, kdy bylo odstraněno 95 % MM.

U degradace MM v prostředí VV v porovnání s předešlými prostředími bylo dosaženo nejlepší účinnosti na degradaci barviva. Jak je patrné, tak na odstranění barviva působí nejen rychlost otáček, ale i samotné prostředí ve kterém byl proveden experiment.



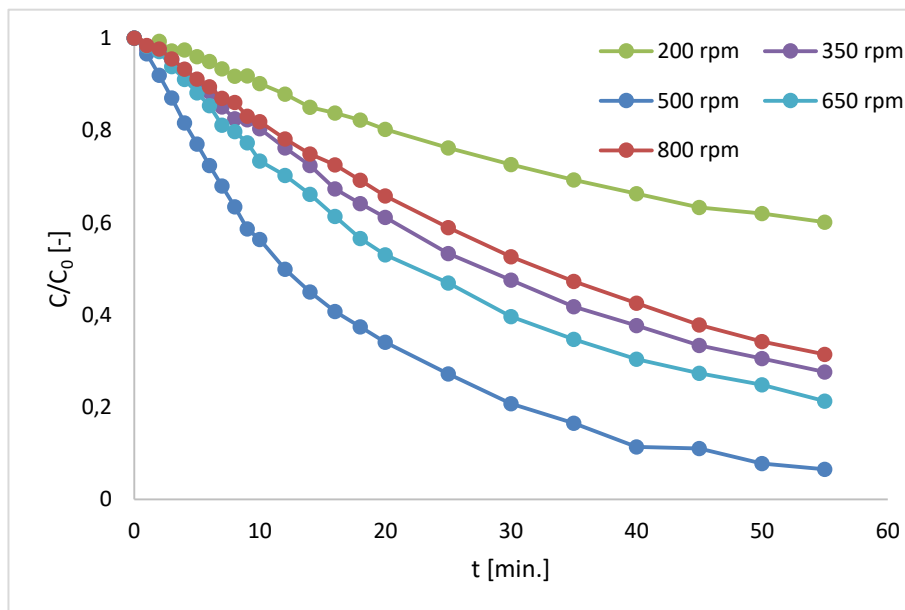
Obrázek 28: Degradace MM ve FR, fotokatalyzátor AV01 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1

Na obrázku 28 je pro reaktor 1 znázorněn průběh degradace MM za použití tentokrát AV01 v prostředí FR. Podle výsledků je patrné, že nejlepší účinnosti bylo dosaženo při otáčkách 350 ot/min., kdy bylo odstraněno po 55 min. 80 % MM. Oproti tomu při otáčkách 500, 650 a 80 ot/min. bylo dosaženo poměrně stejných výsledků, kdy po 55 min. bylo odstraněno 75 % MM. Nejhoršího výsledku bylo dosaženo po 55 min. při otáčce 200 ot/min. kde bylo odstraněno pouhých 70 % MM.



Obrázek 29: Degradace MM ve DI, fotokatalyzátor AV01 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1

Na obrázku 29 je znázorněna degradace MM za použití AV01 tentokrát v prostředí DI (reaktor 1). Jak je z výsledků patrné, tak nejhoršího výsledku bylo dosaženo opět při otáčce 200 ot/min., kde bylo odstraněno 10 % MM. Lepší výsledky byly dosaženy při otáčkách 350, 500 a 650 ot/min., kdy po 55 min. bylo odstraněno 50, 75 a 80 % MM. Překvapivý výsledek testování vlivu otáček byl při otáčce 800 ot/min. kde bylo po 55 min. odstraněno téměř 100 % MM.



Obrázek 30: Degradace MM ve VV, fotokatalyzátor AV01 při různých otáčkách, nerezový reaktor 1

Na obrázku 28 je opět znázorněna degradace MM za použití AV01 (reaktor 1) a tentokrát ovšem v prostředí VV. Nejhoršího výsledku bylo opět dosaženo při otáčkách 200 ot/min., v porovnání s DI došlo ke zlepšení účinnosti fotokatalýzy po 55 min. bylo odstraněno 40 %. Mírně zvýšené účinnosti byly dosaženy při otáčkách 350, 650 a 800 ot/min. kde bylo odstraněno 70, 75 a 80 % MM. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo v porovnání s DI po 55 min. při otáčkách 500 ot/min. kde bylo odstraněno 95 % MM.

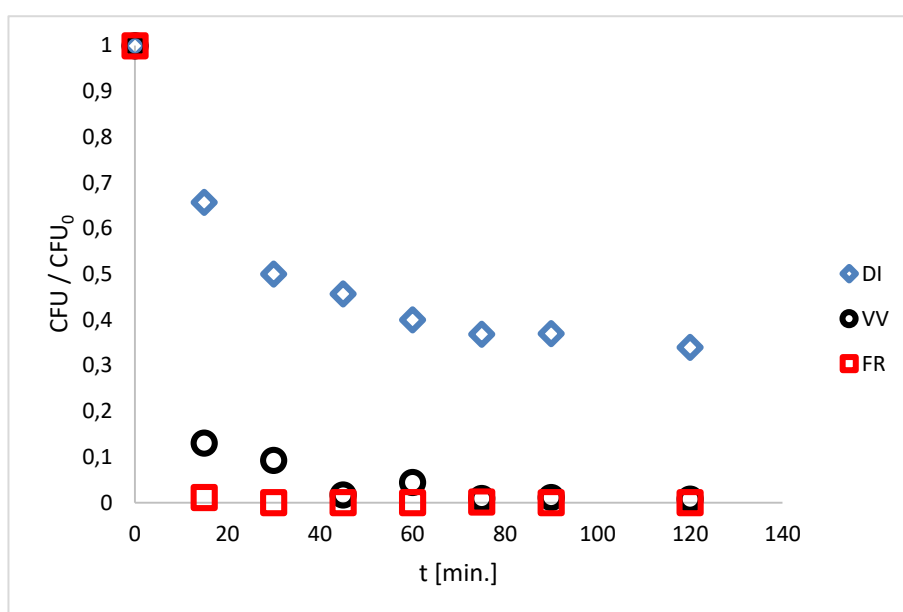
4.3.1 Porovnání optimalizace otáček při fotokatalýze MM

Na základě získaných výsledků lze shodně s literaturou Tichapondwa a kol., (2020) konstatovat, že k intenzitě míchání a její vliv na fotodegradaci souvisí i s dalšími faktory jako druh reakčního prostředí, jeho iontové síle atd. S tím je spojeno například to, zda vznikají shluky fotokatalyzátoru či nikoliv. Podle dosažených výsledků je patrné, že průběh degradace

MM ve všech prostředích (DI, FR i VV) je nejhorší při otáčkách 200 ot/min. Jako optimální hodnotu otáček lze označit 500 ot/min. Tato hodnota otáček byla pak použita pro další testování, konkrétně na fotokatalytickou degradaci *E. coli* v DI, FR a VV.

4.4 Využití fotokatalýzy k odstranění *E. coli*

Na základě předešlých experimentů byl pro odstranění *E. coli* použit fotokatalyzátor P25 a AV01, použitá navážka byla 1 g a otáčky 500 ot/min.

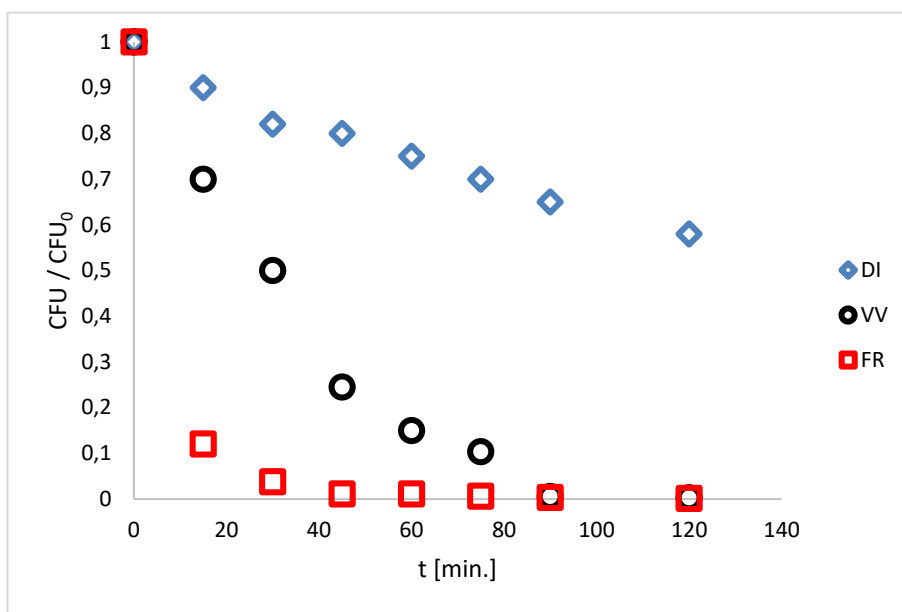


Obrázek 31: Degradace *E. coli* za použití fotokatalyzátoru P25 v různém prostředí

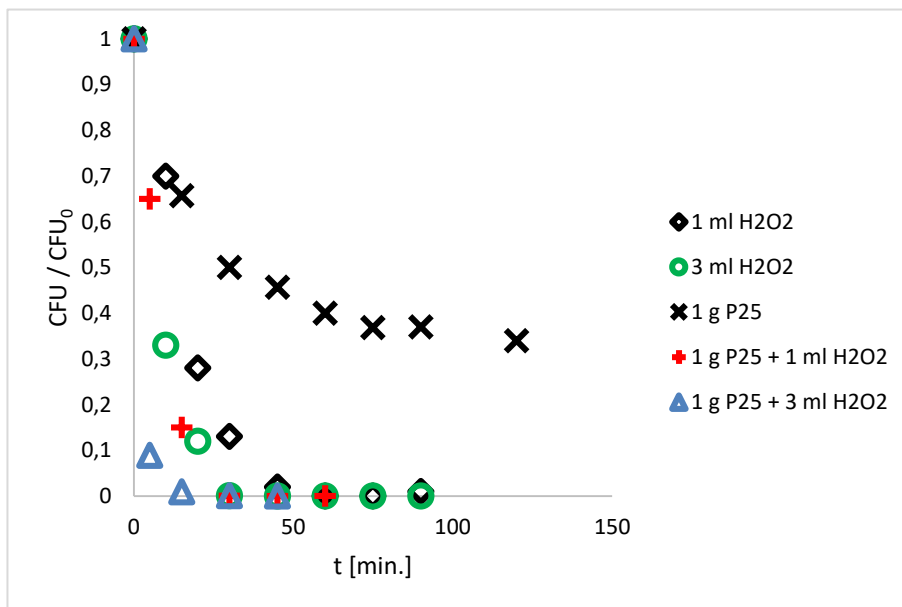
Na obrázku 31 je znázorněna závislost degradace suspenze *E. coli* (vyjádřeno jako CFU/CFU₀) na čase v prostředích DI, VV a 0,9% FR. Použitým fotokatalyzátorem byl typ P25. Nejhoršího výsledku degradace *E. coli* bylo dosaženo v DI, kde po 120 min. bylo odstraněno 65 % bakterie. Zatímco v prostředí DI docházelo k pomalému poklesu množství bakterie, tak v prostředí VV a FR došlo k výraznému poklesu počtu bakterií v samém začátku experimentu, tj. 15 min. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo v prostředí FR, kdy po 30 min. bylo odstraněno téměř 100 % *E. coli*. V prostředí VV, bylo odstraněno také téměř 100 % *E. coli*, ale až po 90 min.

Na obrázku 32 je znázorněna degradace *E. coli* na čase v prostředích DI, VV a 0,9% FR za použití fotokatalyzátoru AV01. Nejhoršího výsledku bylo opět dosaženo v DI, kde po 120

min. bylo odstraněno 50 % bakterie. Stejně jako za použití P25 došlo v tomto prostředí k velmi pomalému poklesu množství *E. coli*. V prostředí VV nebyl pokles množství *E. coli* také zpočátku tak výrazný, jako za použití P25 k výraznému poklesu došlo až po 45 min. V prostředí FR došlo opět k nejvýraznějšímu poklesu množství bakterie už po 15 min. a po 45 min. bylo odstraněno téměř 100 % *E. coli*.



Obrázek 32: Degradace *E. coli* za použití fotokatalyzátoru AV01 v různém prostředí

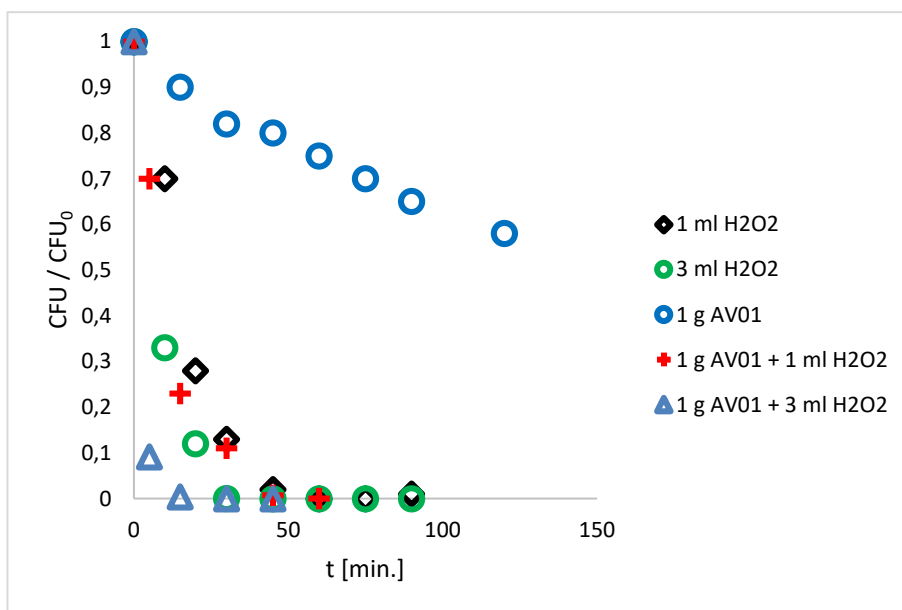


Obrázek 33: Degradace *E. coli* za použití P25, H₂O₂ a jejich kombinací

Na obrázku 33 je znázorněna degradace *E. coli* v závislosti CFU/CFU_0 na čase v prostředí DI za použití fotokatalyzátoru P25 s navázkou 1 g. Dále je v grafu uvedena závislost odstranění bakterie, když byl účinek fotokatalýzy zkombinován s přidavkem peroxidu vodíku (1 ml a 3 ml). Poslední dvě uvedené závislosti jsou pro degradaci *E. coli* za použití samotného H_2O_2 , opět byly použité objemy 1 a 3 ml.

Nejhoršího výsledku bylo dosaženo za použití samotného fotokatalyzátoru P25, kde po 120 min. bylo odstraněno 65 % bakterií. Při použití samotného H_2O_2 došlo v obou případech k rychlému poklesu množství *E. coli*, přičemž za použití 1 ml H_2O_2 bylo po 30 min. odstraněno téměř 90 % z počátečního množství bakterií. Za použití 3 ml H_2O_2 byl pokles ještě výraznější, kdy po 15 min. bylo odstraněno 85 % bakterií a v čase 30 min. již téměř 100 % bakterie *E. coli*.

Jak je z obrázku patrné, nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití kombinace 1 g fotokatalyzátoru P25 s H_2O_2 . Při použití 3 ml H_2O_2 bylo v čase 15 min. odstraněno téměř 100 % bakterie *E. coli*.



Obrázek 34: Degradace *E. coli* za použití AV01, H_2O_2 a jejich kombinací

Na obrázku 34 je znázorněna degradace *E. coli* v závislosti CFU/CFU_0 na čase v prostředí DI za použití fotokatalyzátoru AV01 s navázkou 1 g. Dále je v grafu uvedena závislost odstranění bakterie, když byl účinek fotokatalýzy zkombinován s přidavkem peroxidu vodíku

(1 ml a 3 ml). Poslední dvě uvedené závislosti jsou pro degradaci *E. coli* za použití samotného H₂O₂, opět byly použité objemy 1 a 3 ml.

Stejně jako v případě experimentů s fotokatalyzátorem P25 i zde je zcela jednoznačně vidět pozitivní vliv kombinace fotokatalýzy s přidavkem H₂O₂ na účinnost odstranění *E. coli*.

4.4.1 Porovnání účinnosti fotokatalýzy na *E. coli*

Na základě získaných výsledků lze shodně s literaturou Rincón a Pulgarin (2003) konstatovat, že na odstraňování *E. coli* pomocí fotokatalýzy je účinnější fotokatalyzátor TiO₂ P25 než AV01. V práci Benabbou a kol., (2007) použili na degradaci *E. coli* 0,25 g/l TiO₂ P25 a zjistili, že toto množství nestačí k odstranění všech bakterií. Dále zjistili, že bakterie absorbují část UV-záření a tím snižují aktivaci katalyzátoru. Daleko významnější vliv však má prostředí, ve kterém se bakterie nacházejí. Jak je z výsledků uvedených na obrázcích 31 a 32 patrné, nejhorších výsledků bylo pro oba testované fotokatalyzátory dosaženo v prostředí DI. Zde na rozdíl od VV a FR nebyly bakterie *E. coli* promyty a odstředěny. V důsledku toho se do reakční směsi dostalo také zbytkové množství MPB a vzniklé hydroxylové radikály tak byly částečně spotřebovány na oxidaci organického substrátu. Oproti tomu FR a VV, kde, již byly pouze bakterie *E. coli* bez zbytku MPB, se hydroxylové radikály již zcela využily na odstranění *E. coli*.

Literatura dále uvádí vlivy použitého UV-záření (UVC-záření je pro bakterie smrtelnější než UVA a UVB) (Benabbou a kol., 2007). V této diplomové práci byl použit pouze UVA zdroj záření a účinnost odstranění je na srovnatelné úrovni jako údaje v literatuře pro tento druh zdroje.

Byl také porovnán vliv fotokatalýzy s fotokatalýzou podpořenou přidavkem peroxidu vodíku. Experimenty prokázaly výrazného zlepšení, jak účinnosti odstranění bakterií bylo dosaženo 100% účinnosti odstranění *E. coli*, tak významné zrychlení celého procesu.

Závěr

Cílem diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši zaměřenou na fotokatalýzu, které ji ovlivňují a na její využití k odstraňování mikrobiálního znečištění. Dále bylo cílem práce experimentálně fotokatalýzu vyzkoušet k odstranění mikrobiálního znečištění z vod.

V rámci experimentální práce byly v první použity čtyři typy fotokatalyzátorů (TiO_2 P25, AV01, P90 a PretioxCG300) k odstranění MM z modelových vod. Experimenty byly pro každý z uvedených fotokatalyzátorů provedeny ve 3 různých prostředích (DI, FR a VV) a ve dvou různých nerezových reaktorech, lišících se velikostí ozářené plochy ($285,12$ a $429,3 \text{ cm}^2$).

Všechny experimenty potvrdily nejhorší účinnost pro fotokatalyzátor Pretiox CG300, neuspokojivých výsledků bylo dosaženo také za použití typu P90. Pro další testování byly proto vybrány pouze fotokatalyzátory AV01 a P25. Taktéž se na výsledcích degradace nijak významně neprojevil vliv velikosti ozářené plochy reakční nádoby, a proto se pro další testování použila pouze nerezový reaktor 1 (velikost ozářené plochy $285,12 \text{ cm}^2$).

Další experimenty byly zaměřeny na zjištění vlivu množství použitého fotokatalyzátoru na účinnost fotokatalýzy.

Při odstraňování MM ve třech prostředích byly použity navážky $0,5 \text{ g}$, 1 g a 2 g fotokatalyzátorů P25 a AV01. Z ekonomického hlediska a z hlediska účinnosti odstranění methylenové modři je optimální množství katalyzátoru 1 g/l , při otáčkách 500 ot/min . Za těchto podmínek došlo k odstranění téměř 100% MM.

Při degradaci MM ve všech prostředích byly testovány různé otáčky (200 , 350 , 500 , 650 a 800 ot/min .) míchání reakční směsi, opět za použití P25 a AV01. Při otáčkách 200 a 350 ot/min . nedocházelo k dostatečně intenzivnímu míchání reakční směsi a účinnost odstraňování MM byla nízká (40%). U vyšších otáček již nebyly tak významné rozdíly v účinnosti degradace (u otáček 650 a 800 ot/min . bylo odstraněno okolo $70-80 \%$ MM, u otáček 500 ot/min . bylo odstraněno okolo 95% MM). Na základě těchto výsledků byla pro oba fotokatalyzátory jako optimální hodnota stanovena intenzita míchání 500 ot/min .

Další fáze experimentů již byla zaměřena na odstraňování bakterií E. coli z modelových vod (prostředí DI, VV a FR). Kromě samotné fotokatalýzy, kdy bylo použito optimálních parametrů z předchozího testování s MM (fotokatalyzátory P25 a AV01, koncentrace 1 g/l , intenzita míchání 500 ot/min .) bylo k odstranění bakterií E. coli použito ještě samotného H_2O_2 (1 a 3 ml na 1 l reakční směsi) a dále kombinace fotokatalýzy s přísadkou H_2O_2 .

Experimenty za použití samotné fotokatalýzy při odstraňování *E. coli* v prostředí DI prokázaly relativně nízkou účinnost. To bylo pravděpodobně způsobeno zbytkovým organickým znečištěním z kultivačního roztoku a vzniklé hydroxylové radikály se z velké míry vyčerpaly na jeho odstranění. Účinnost odstranění *E. coli* v DI byla pro AV01 po 120 min. 40 %, u P25 pak 65 %. Výrazně lepších výsledků bylo dosaženo v prostředích VV a FR, kde byly jen samotné bakterie bez přítomnosti zbytků organického substrátu. Účinnější bylo použití fotokatalyzátoru P25, kdy v prostředí FR došlo k odstranění 100 % bakterií v čase mezi 15 – 30 min. fotokatalýzy, v prostředí VV to bylo v čase mezi 45 – 60 min. Použití AV01 také vedlo ke 100% odstranění *E. coli*, bylo však zapotřebí delšího času fotokatalýzy (v prostředí FR 45 – 60 min a v VV 90 min.).

Použití samotného H_2O_2 vedlo v obou případech k odstranění bakteriálního znečištění, v porovnání se samotnou fotokatalýzou byly počáteční rychlosti odstranění daleko vyšší. To je způsobeno okamžitým působením H_2O_2 na bakterie, zatímco k fotokatalýze musí nejprve dojít k tvorbě dostatečného množství hydroxylových radikálů.

Použití kombinace fotokatalýzy (fotokatalyzátor 1 g P25 a AV01) s peroxidem vodíku (1 ml i 3 ml) prokázala výbornou účinnost pro odstranění *E. coli* a čas potřebný na odstranění 100 % bakterií se v porovnání s časem u samotného H_2O_2 snížil. Je velmi pravděpodobné, že počáteční množství použitého H_2O_2 by mohlo být ještě daleko nižší a využilo by se hlavně na začátku procesu, než se vytvoří dostatečné množství hydroxylových radikálů.

Výsledky diplomové práce prokázaly možnost využití fotokatalýzy nejen k odstranění organického znečištění z vod (MM), ale také k odstranění bakteriálního. V porovnání s běžně využívanými metodami dezinfekce u fotokatalýzy používáme levný fotokatalyzátor na bázi TiO_2 , který je netoxický a dá se použít opakovaně. Jako zdroj energie lze využít UVA záření, které není pro člověka škodlivý.

Použitá literatura

ALAANI, Hashem, SHAHIR, HASHEM a François, KARABET, 2017. Photocatalytic (UV-A/TiO₂) and photolytic (UV-A) degradation of steroid hormones: ethinyl estradiol, levonorgestrel, and progesterone. *International journal of chemistry research*. **10** (2), s. 1061-1070, ISSN 0974-4290.

AMALRAJ, Augustine et al., 2016. Photocatalytic degradation of quinalphos and profenofos pesticides using UV irradiated TiO₂ nanoparticles a kinetic study. *Materials focus*. **5**, s 377-384.

ATHANASEKOU, Chrysoula P., Vlassis LIKODIMOS a Polycarpos Falaras, 2018. Recent developments of TiO₂ photocatalysis involving advanced oxidation and reduction reactions in water. *Journal of environmental chemical engineering*. **6** (6), s. 7386-7394, ISSN 2213-3437.

AUGUGLIARO, Vincenzo et al., 2012. Overview on oxidation mechanisms of organic compounds by TiO₂ in heterogeneous photocatalysis. *Journal of photochemistry and photobiology C photochemistry reviews*. **13** (3), s. 224-245, ISSN 1389-5567.

BABAN, Soza Tharwat, 2017. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection among infants and young children in Erbil city. *Researchgate*. s. 1-22.

BARON, Jérôme a Marie-Marguerite BOURBIGOT, 1996. Repair of *Escherichia coli* and *Enterococci* in sea water after ultraviolet disinfection quantification using diffusion chambers. *Water research*. **30** (11), 2817-2821.

BENABBOU, A.K., et al., 2007. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli*: effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation. *Applied catalysis B: environmental*. **76**(3-4), s. 257-263, ISSN 0926-3373.

BENEŠ, Jiří, 2009. Pokročilé oxidační procesy – AOP. *Pitná voda*. s. 135-140, ISBN 978-80-254-2034-8.

BERG, Rodney D., 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends microbiology*. **4** (11), s. 430-435, ISSN 0966-842X.

BERTHE, T., et al., 2013. Evidence for coexistence of distinct *Escherichia coli* populations in various aquatic environments and their survival in estuary water. *Apply environment microbiology*. **79**, 4684–4693.

- BESSEGATO, Guilherme Garcia, Juliano Carvalho CARDOSO a Maria Valnice Boldrin ZANONI, 2015. Enhanced photoelectrocatalytic degradation of an acid dye with boron-doped TiO₂ nanotube anodes. *Catalysis today*. **240** (A), s. 100-106, ISSN 0920-5861.
- BHARATI, B. et al., 2017. Enhanced photocatalytic degradation of dyes under sunlight using biocompatible TiO₂ nanoparticles. *Materials research express*. **4** (8), 85503.
- BINDZAR, J. et al., 2009. Základy úpravy a čištění vod. Praha, ISBN 978-80-7080-729-3.
- BUDARZ, Jeffrey Farner et al., 2019. Chlorpyrifos degradation via photoreactive TiO₂ nanoparticles: assessing the impact of a multi-component degradation scenario. *Journal of hazardous materials*. **372**, 61-68, ISSN 0304-3894.
- CAI, Ruxiong et al., 1991. Photokilling of malignant cells with ultrafine TiO₂ powder. *Bulletin of the chemical society of japan*. **64** (4), s. 1268-1273.
- CARBONARO, Sean, Matthew N. SUGIHARA a Timothy J. STRATHMANN, 2013. Continuous-flow photocatalytic treatment of pharmaceutical micropollutants: Activity, inhibition, and deactivation of TiO₂ photocatalysts in wastewater effluent. *Applied catalysis B: environmental*. **129**, s. 1-12, ISSN 0926-3373.
- CLERMONT, Olivier et al., 2013. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environmental Microbiology Reports*. **5** (1), s. 58– 65.
- CRUZ, Marta, et al., 2017. Bare TiO₂ and graphene oxide TiO₂ photocatalysts on the degradation of selected pesticides and influence of the water matrix. *Applied surface science*. **416**, s. 1013-1021, ISSN 0169-4332.
- ČESKO, 2001. Zákon č. 254/2001 Sb. ze dne 28. června 2001 o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon). In: *Sbírka zákonů*. Částka 98, s. 5617-5667. Dostupný také z: <http://aplikace.mcvcz.cz/sbirka-zakonu/>
- DALE, Adam S. a Neil WOODFORD, 2015. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): disease, carriage and clones. *Journal of infection*. **71** (6), s. 615-626, ISSN 0163-4453.
- DIMITRAKOPOULOU, Despina, at al., 2012. Degradation, mineralization and antibiotic inactivation of amoxicillin by UV-A/TiO₂ photocatalysis. *Journal of environmental management*. **98**, s. 168-174, ISSN 0301-4797.

- DONG, Haoran, et al., 2015. An overview on limitations of TiO₂-based particles for photocatalytic degradation of organic pollutants and the corresponding countermeasures. *Water research*. **79**, s. 128-146, ISSN 0043-1354.
- DOUGNA, Akpéné A. et al., 2015. Photocatalytic removal of phenol using titanium dioxide deposited on different substrates: effect of inorganic oxidants. *Journal of photochemistry and photobiology A: chemistry*. **305**, s. 67-77, ISSN 1010-6030.
- DUŠEK, Libor, 2010. Čištění odpadních vod chemickou oxidací hydroxylovými radikály. *Chemické listy*. **104**, s. 846-854.
- EBELE, Anekwe Jennifer, Mohamed Abou-Elwafa ABDALLAH a Stuart HARRAD, 2017. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*. **3** (1), s. 1-16, ISSN 2405-6650.
- EDBERG, S. C., et al., 1990. Enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from source water by the defined substrate technology. *Applied and environmental microbiology*. **56**, 366-369.
- EDBERG, S. C., et al., 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of applied microbiology*. **88**, s. 106-116.
- EDDY, D. R., et al., 2018. Photocatalytic activity of gadolinium doped TiO₂ particles for decreasing heavy metal chromium (VI) concentration. *Journal of physics: conference series*. **1080**.
- EGLI, Thomas, Wolfgang KÖSTER a Leo MEILE, 2002. Pathogenic microbes in water and food: changes and challenges. *FEMS Microbiology reviews*. **26**(2), s. 111-112.
- ELIAS, Mohd Aidil, Tony HADIBARATA a Palanivel SATHISHKUMAR, 2021. Modified oil palm industry solid waste as a potential adsorbent for lead removal. *Environmental chemistry and ecotoxicology*. **3**, s. 1-7, ISSN 2590-1826.
- EL-SHEIKH, Mohamed A. et al., 2021. Role of nanocatalyst in the treatment of organochlorine compounds - A review. *Chemosphere*. **268**, 128873.
- ESKANDARIAN, Mohammad Reza, et al., 2016. Effect of UV-LED wavelengths on direct photolytic and TiO₂ photocatalytic degradation of emerging contaminants in water. *Chemical engineering journal*. **300**, 414-422, ISSN 1385-8947.
- FARROKH, Choreh, et al., 2013. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International journal food microbiology*. **162**(2), s. 190-212, ISSN 0168-1605.

- FERNÁNDEZ, P., et al., 2005. Water disinfection by solar photocatalysis using compound parabolic collectors. *Catalysis today*. **101**(3–4), s. 345-352, ISSN 0920-5861.
- FUJISHIMA, Akira, TATO N. RAO a DONAL A TRYK, 2000. Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of photochemistry and photobiology C: photochemistry reviews*. **1**(1), s. 1-21, ISSN 1389-5567.
- GAO, Yuan a HUITAO LIU, 2005. Preparation and catalytic property study of a novel kind of suspended photocatalyst of TiO₂-activated carbon immobilized on silicone rubber film. *Materials chemistry and physics*. **92**(2-3), s. 604-608, ISSN 0254-0584.
- GAO, Yu-qiong, et al., 2020. Oxidation of β -blocker atenolol by a combination of UV light and chlorine: kinetics, degradation pathways and toxicity assessment. *Separation and purification technology*. **231**, 115927, ISSN 1383-5866.
- GASTRO, G., et al., 2017. Evaluation of nitrate effects in the aqueous photodegradability of selected phenolic pollutants. *Chemosphere*. **185**, s. 127-136, ISSN 0045-6535.
- GOLA, Deepak, et al., 2018. Removal of industrial dyes and heavy metals by *Beauveria bassiana*: FTIR, SEM, TEM and AFM investigations with Pb(II). *Environmental science and pollution research international*. **25** (21), s. 20486-20496.
- GUETTAÍ, N. a H. AIT AMAR, 2005. Photocatalytic oxidation of methyl orange in presence of titanium dioxide in aqueous suspension. Part I: Parametric study. *Desalination*. **185**(1–3), s. 427-437, ISSN 0011-9164.
- GULLIPILLI, Sandhya a Ravichandra Babu RUPAKULA, 2018. Adsorption studies of Cr(VI) and Cu(II) metal ions from aqueous solutions by synthesized Ag and Mg co-doped TiO₂ nanoparticles. *Separation science and technology*. **54**(18), s. 2983-2992.
- HERRMANN, Jean-Marie, 1999. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. *Catalyst Today*. **53**(1), s. 115-129, ISSN 0920-5861.
- HOUAS, Ammar, et al., 2001. Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water. *Applied catalysis B: environmental*. **31**(2), s. 145-157, ISSN 0926-3373.
- CHEN, Chuncheng, et al., 2002. Effect of transition metal ions on the TiO₂-assisted photodegradation of dyes under visible irradiation: a probe for the interfacial electron transfer process and reaction mechanism. *The journal of physical chemistry B*. **106** (2), s. 318-324.

- CHEN, Zengping, et al., 2016. One-pot synthesis of Mn-doped TiO₂ grown on graphene and the mechanism for removal of Cr(VI) and Cr(III). *Journal of hazardous materials*. **310**, s. 188-198, ISSN 0304-3894.
- CHONG, Meng Nan, et al., 2009. Optimisation of an annular photoreactor process for degradation of congo red using a newly synthesized titania impregnated kaolinite nanophotocatalyst. *Separation and purification technology*. **67**(3), s. 355-363, ISSN 1383-5866.
- CHOW, Ka Lai, et al., 2017. Removal of decabromodiphenyl ether (BDE-209) using a combined system involving TiO₂ photocatalysis and wetland plants. *Journal of hazardous materials*. **322** (A), s. 263-269, ISSN 0304-3894.
- ISHII, Satoshi a Michael J. SADOWSKY, 2008. *Escherichia coli* in the environment: implications for water quality and human health. *Microbes and environments*. **23**(2), s. 101-108.
- JURICA, J., 2018. Methylene Blue. *Remedia*. **28**, s. 264–271.
- KALANTARY, Roshanak Rezaei, et al., 2015. Photocatalytic degradation and mineralization of diazinon in aqueous solution using nano-TiO₂ (Degussa, P25): kinetic and statistical analysis. *Desalination and water treatment*. **55** (2), s. 555-563.
- KAPER, James B., James P. NATARO a Harry LT. MOBLEY, 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews mikrobiology*. **2**, s. 123-140.
- KARUNAKARAN, C., 2013. Chapter 10-Solar Photocatalytic Disinfection of Bacteria. *New and Future developments in catalysis: elsevier*. s. 243-262.
- KOIVUNEN, Jari, Anja SIITONEN a Helvi HEINONEN-TANSKI, 2003. Elimination of enteric bacteria in biological-chemical wastewater treatment and tertiary filtration units. *Water research*. **37**(3), s. 690-698, IS SN 0043-1354.
- KOIVUNEN, Jari a Helvi HEINONEN-TANSKI, **2005**. Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments. *Water research*. **39** (8), s. 1519-1526.
- LACHHEB, Hinda, et al., 2002. Photocatalytic degradation of various types of dyes (Alizarin S, Crocein Orange G, Methyl Red, Congo Red, Methylene Blue) in water by UV-irradiated titania. *Applied catalysis B:environmental*. **39**, s.75-90, ISSN 0926-3373.
- LI, Yanyun, et al., 2015a. The roles of halides in the acetaminophen degradation by UV/H₂O₂ treatment: Kinetics, mechanisms, and products analysis. *Chemical engineering journal*. **271**, s. 214-222, ISSN 1385-8947.

- LI, Mo, et al., 2015b. Treatment of amoxicillin by O₃/Fenton process in a rotating packed bed. *Journal of Environmental Management*. **150**, s. 404-411, ISSN 0301-4797.
- LITTER, Marta I., 2015. Mechanisms of removal of heavy metals and arsenic from water by TiO₂-heterogeneous photocatalysis. *Pure and applied chemistry*. **87**(6), s. 557-567.
- LU, Xian, et al., 2018. Investigation of clofibric acid removal by UV/persulfate and UV/chlorine processes: kinetics and formation of disinfection byproducts during subsequent chlor(am)ination. *Chemical engineering journal*. **331**, s. 364-371, ISSN 1385-8947.
- LUO, Ting, et al., 2010. Arsenic removal and recovery from copper smelting wastewater using TiO₂. *Environmental & science technology*. **44**(23), s. 9094-9098.
- LUO, Zhijun, et al., 2018. TiO₂/EDTA-rich carbon composites: synthesis, characterization and visible-light-driven photocatalytic reduction of Cr(VI). *Chinese chemical letters*. **29**(3), s. 547-550, ISSN 1001-8417.
- LUO, Chengwei, et al., 2011. Genome sequencing of environmental *Escherichia coli* expands understanding of the ecology and speciation of the model bacterial species. *Proceedings of the national academy of sciences*. **108**(17), s. 7200-7205.
- MALATO-RODRÍGUEZ, S., et al. 2004. Engineering of solar photocatalytic collectors. *Solar energy*. **77**(5), s. 513-524, ISSN 0038-092X.
- MALÝ, J. a MALÁ, J., 2000. *Chemie a technologie vody*. Brno: Noel, ISBN 80-86020-13-4.
- MAHDAVI, Shahriar, Mohsen JALALI a Abbas AFKHAMI, 2013. Heavy metals removal from aqueous solutions using TiO₂, MgO, and Al₂O₃ nanoparticles. *Chemical engineering communications*. **200**(3), s. 448-470.
- MAHMOOD, Mohammad Abbas, et al., 2012. Heterogeneous photocatalysis for removal of microbes from water. *Environmental chemistry letters*. **10**, s. 145-151.
- MAKROPOULOU, Tatiana, Paraskevi PANAGIOTOPOULOU a Danae VENIERI, 2018. N-doped TiO₂ photocatalysts for bacterial inactivation in water. *Journal of chemical technology & biotechnology*. **93**(9), s. 2518-2526.
- MANESS, Pin-Ching, et al., 1999. Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Applied and environmental microbiology*. **65**(9), 4094-4098.
- MEKONNEN, Mesfin M. a Arjen Y. HOEKSTRA, 2016. Four billion people facing severe water scarcity. *Science advances*. **2**(2), e1500323.

- MILOSEVIC, Irean, et al., 2017. Synergistic effect of fluorinated and N doped TiO₂ nanoparticles leading to different microstructure and enhanced photocatalytic bacterial inactivation. *Nanomaterials*. **7**(11), s. 391.
- MOLES, Samuel, et al., 2020. Performance comparison of commercial TiO₂: separation and reuse for bacterial photo-inactivation and emerging pollutants photo-degradation. *Environmental science pollution research*. **27**, s. 9099–9113.
- MURGOLO, S., et al., 2015. UV and solar-based photocatalytic degradation of organic pollutants by nano-sized TiO₂ grown on carbon nanotubes. *Catalysis today*. **240** (A), s. 114-124, ISSN 0920-5861.
- RAHIMI, Sajad, et al., 2014. Photocatalytic removal of cadmium (II) and lead (II) from simulated wastewater at continuous and batch system. *International journal of environmental health engineering*. **3**, s. 31.
- NATARO, James P. a James B. KAPER, 1998. Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*. **11**, s. 142-201.
- NILSSON, R., et al., 1993. Asthma, Rhinitis and Dermatitis in workers exposed to reactive dyes. *British journal of industrial medicine*. **50**(1), s. 65–70.
- NOLAN, Nicholas T., Michael K. SEERY a Suresh C. PILLAI, 2009. Spectroscopic Investigation of the Anatase-to-Rutile Transformation of Sol–Gel-Synthesized TiO₂ Photocatalysts. *The journal of physical chemistry*. **113**(36), s. 16151-16157.
- NGUYEN, Van-Huy, et al., 2020. Photocatalytic remediation of persistent organic pollutants (POPs): a review. *Arabian journal of chemistry*. **13**(11), s. 8309-8337, ISSN 1878-5352.
- PARRINO, Francesco a Giovanni PALMISANO, 2020. Highlights on Recent Developments of Heterogeneous and Homogeneous Photocatalysis. *Molecules*. **26**(1), s. 23.
- PASTRANA-MARTÍNEZ, Luisa M., et al., 2013. TiO₂, surface modified TiO₂ and graphene oxide-TiO₂ photocatalysts for degradation of water pollutants under near-UV/Vis and visible light. *Chemical engineering journal*. **224**, s. 17-23, ISSN 1385-8947.
- PAZOKI, Maryam, Mehran PARSA a Reza FARHADPOUR, 2016. Removal of the hormones dexamethasone (DXM) by Ag doped on TiO₂ photocatalysis. *Journal of environmental chemical engineering*. **4**(4), s. 4426-4434, ISSN 2 213-3437.
- PELAEZ, Miguel, et al., 2012. A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Applied catalysis B: environmental*. **125**, s. 331-349, ISSN 0926-3373.

- PICHEL, N., M. VIVAR a M. FUENES, 2019. The problem of drinking water access: A review of disinfection technologies with an emphasis on solar treatment methods. *Chemosphere*. **218**, s. 1014-1030, ISSN 0045-6535.
- PODPORSKA-CARROLL, Joanna, et al., 2015. Antimicrobial properties of highly efficient photocatalytic TiO₂ nanotubes. *Applied catalysis B: environmental*. **176–177**, s. 70-75, ISSN 0926-3373.
- POURSANI, Afshin Shokati, et al., 2016. The synthesis of nano TiO₂ and its use for removal of lead ions from aqueous solution. *Journal of water resource and protection*. **8**(4), s. 438-448.
- PRASAD, G.K., et al., 2011. Photocatalytic inactivation of spores of *Bacillus anthracis* using titania nanomaterials. *Journal of hazardous materials*. **185**(2-3), s. 977-982, ISSN 0304-3894.
- PRECHEZA [online], © 2020. Praha: Precheza [cit.06.05.2021]. Dostupné z: <https://www.precheza.cz/cz/produkty/pretiox>
- RĂILEANU, Mălina, et al., 2013. TiO₂-based nanomaterials with photocatalytic properties for the advanced degradation of xenobiotic compounds from water. A literature survey. *Water, air, & soil pollution*. **224**(6), s. 1548.
- RAJALA, R. L., et al., 2003. Removal of microbes from municipal wastewater effluent by rapid sand filtration and subsequent UV irradiation. *Water science and technology*. **47**(3), s. 157-162.
- RAMAN, Chandra Devi a S. KANMANI, 2016. Textile dye degradation using nano zero valent iron: a review. *Journal of environmental managment*. **177**, s. 341-355, ISSN 0301-4797.
- REDDY, P. Venkata Laxma, et al., 2017. TiO₂-based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media: a review. *Environmental Research*. **154**, s. 296-303, ISSN 0013-9351.
- RICE, E. W., et al., 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *American public health association*. s. 874.
- RINCÓN, A.G. a C. PULGARIN, 2003. Photocatalytical inactivation of *E. coli*: effect of (continuous–intermittent) light intensity and of (suspended–fixed) TiO₂ concentration. *Applied catalysis B: environmental*. **44**(3), s. 263-284, ISSN 0926-3373.
- RIZZO, L., et al., 2014. Disinfection of urban wastewater by solar driven and UV lamp-TiO₂ photocatalysis: Effect on a multi drug resistant *Escherichia coli* strain. *Water research*. **53**, s. 145-152, ISSN 0043-1354.

- RUMP, L. V., et al. 2012. Complete DNA sequence analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* plasmid pO157_2 in β -glucuronidase-positive *E. coli* O157:H7 reveals a novel evolutionary path. *Journal of bacteriology*. **194**, s. 3457-3463.
- RUOKOLAINEN, Miina, et al. 2016. Comparison of TiO₂ photocatalysis, electrochemically assisted Fenton reaction and direct electrochemistry for simulation of phase I metabolism reactions of drugs. *European journal of pharmaceutical science*. **83**, 36-44, ISSN 0928-0987.
- SAKTHIVEL, S., et al., 2003. Solar photocatalytic degradation of azo dye: comparison of photocatalytic efficiency of ZnO and TiO₂. *Solar energy materials and solar cells*. **77**(1), 65-82, ISSN 0927-0248.
- SARAVANAN, R., F. GRACIA a A. STEPHEN, 2017. Basic principles, mechanism, and challenges of photocatalysis. *Nanocomposites for Visible Light-Induced Photocatalysis, Springer International Publishing*. s. 19-40, ISBN 978-3-319-62446-4.
- SAVIN, I. I. a Roman BUTNARU, 2008. Wastewater characteristics in textile finishing mills. *Environmental engineering and management journal*. **7**(6), s. 859-864.
- SEEMA, K. M., et al., 2018. Removal of lead (II) from aqueous waste using (CD-PCL-TiO₂) bio-nanocomposites. *International journal of biological macromolecules*. **109**, s. 136-142, ISSN 0141-8130.
- SHAHEEN, Nazma, et al., 2016. Presence of heavy metals in fruits and vegetables: health risk implications in Bangladesh. *Chemosphere*. **152**, s. 431-438, ISSN 0045-6535.
- SHAO, Penghui, et al., 2015. Amorphous TiO₂ doped with carbon for visible light photodegradation of rhodamine B and 4-chlorophenol. *Applied surface science*. **324**, s 35-43, ISSN 0169-4332.
- SHUMAN-GOODIER, Molly E. a Catherine R. PROPPER, 2016. A meta-analysis synthesizing the effects of pesticides on swim speed and activity of aquatic vertebrates. *Science of the total environment*. **565**, s. 758-766, ISSN 0048-9697.
- SCHNIEDER, S. H., T.L. ROOT a M. D. MASTRANDEREA, 2011. *Encyclopedia of Climate and Weather*. New York: Oxford University Press, ISBN 978-01953-13-864.
- SONUNE, Amit a Rupali GHATE, 2004. Developments in wastewater treatment methods. *Desalination*. **167** (1), s. 55-63, ISSN 0011-9164.
- SORNALINGAM, Kireesan, et al., 2018. Photocatalysis of estrone in water and wastewater: comparison between Au-TiO₂ nanocomposite and TiO₂, and degradation by-products. *The Science of the total environment*. **610–611**, s. 521-530, ISSN 0048-9697.

- TAN, Chaoqun., et al., 2013. Degradation of antipyrine by UV, UV/H₂O₂ and UV/PS. *Journal of hazardous materials*. **260**, s. 1008-1016, ISSN 0304-3894.
- TANG, W. Z., et al., 1993. TiO₂/UV photodegradation of azo dyes in aqueous solutions. *Environmental technology*. **18**, s. 1-12.
- TENAILLON, Olivier, et al., 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews mikrobiology*. **8**, s. 207-217.
- TETREAULT, Gerald R., et al., 2011. Intersex and reproductive impairment of wild fish exposed to multiple municipal wastewater discharges. *Aquatic toxicology*. **104**(3-4), s. 278-290, ISSN 0166-445X.
- TICHAPONDWA, SM., NEWMAN, J.P., KUBHEKA, O., 2020. Effect of TiO₂ phase on the photocatalytic degradation of methylene blue dye. *Physics and chemistry of the earth, parts A/B/C*. **118–119**, s. 102900, ISSN 1474-7065.
- TONG, A. Y. C., et al., 2012. TiO₂-assisted photodegradation of pharmaceuticals-a review. *Central european journal of chemistry*. **10**(4), 989-1027.
- TUFAIL, Arbab, William E. PRICE a Faisail I. HAI, 2018. A critical review on advanced oxidation processes for the removal of trace organic contaminants: A voyage from individual to integrated processes. *Chemosphere*, **260**, 127460, ISSN 0045-6535.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1986. *Ambient Water Quality Criteria for Bacteria*. Washington, DC: USEPA.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006. *Method 1603: Escherichia coli (E. coli) in Water by Membrane Filtration using Modified Membrane-Thermotolerant Escherichia coli Agar*. Washington, DC: USEPA.
- UMAR, Khalid, et al., 2016. Synthesis of visible light active doped TiO₂ for the degradation of organic pollutants-methylene blue and glyphosate. *Journal of Analytical Science and technology*. **7**(26).
- VAN ELSAS, Jan Dirk, et al., 2011. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The ISME journal*. **5**, s. 173-183.
- VANRAES, Patrick, et al., 2017. Removal of several pesticides in a falling water film DBD reactor with activated carbon textile: energy efficiency. *Water research*. **116**, s. 1-12, ISSN 0043-1354.

- VELA, Nuria, et al., 2017. Recent overview on the abatement of pesticide residues in water by photocatalytic treatment using TiO₂. *Application titanium dioxide*. DOI: 10.5772/intechopen.68802.
- VELA, Nuria, et al., 2018. Photocatalytic oxidation of six pesticides listed as endocrine disruptor chemicals from wastewater using two different TiO₂ samples at pilot plant scale under sunlight irradiation. *Journal of photochemistry and photobiology A: chemistry*. **353**, s. 271-278, ISSN 1010-6030.
- VESCHETTI, E., et al., 2003. Pilot-plant comparative study of peracetic acid and sodium hypochlorite wastewater disinfection. *Water research*. **37**(1), s. 78-94, ISSN 0043-1354.
- VILLALUZ, Finella Jianna A., et al., 2019. Removal of 4-chlorophenol by visible-light photocatalysis using ammonium iron(II) sulfate-doped nano-titania. *Process safety and environment protection*. **125**, s. 121-128, ISSN 0957-5820.
- WALK, Seth T., et al., 2009. Cryptic lineages of the genus *Escherichia*. *Applied and environmental mikrobiology*. **75**, s. 6534-6544.
- WANG, Wen-Long, et al., 2016. Synergistic effect between UV and chlorine (UV/chlorine) on the degradation of carbamazepine: Influence factors and radical species. *Water research*. **98**, s. 190-198.
- WEBER, Eric J. a Vicki C. STICKNEY, 1993. Hydrolysis kinetics of reactive blue 19-vinyl sulfone. *Water research*. **27**(1), 63–67, ISSN 0043-1354.
- YUAN, Ruixia, et al., 2011. Effects of chloride ion on degradation of Acid Orange 7 by sulfate radical-based advanced oxidation process: Implications for formation of chlorinated aromatic compounds. *Journal of hazardous materials*. **196**, s. 173-179, ISSN 0304-3894.
- YUAN, Hui, Xuefei ZHOU a Ya-Lei ZHANG, 2013. Degradation of Acid Pharmaceuticals in the UV/H₂O₂ Process: Effects of Humic Acid and Anorganic Salts. *Clean soil air water*. **41**(1), s. 43-50.
- ZHENG, Xiang, et al., 2018. Photocatalytic disinfection performance in virus and virus/bacteria system by Cu-TiO₂ nanofibers under visible light. *Environmental pollution*. **237**, s. 452-459, ISSN 0269-7491.
- ZHOU, Lei, et al., 2017. Investigations of diatrizoate degradation by photo-activated persulfate. *Chemical engineering journal*. **311**, s. 28-36, ISSN 1385-8947.