



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ELEKTROFOTOKATALYTICKÁ DEZINFEKCE VODY

ELECTROPHOTOCATALYTIC WATER DISINFECTION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Eva Štefancová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2016

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1037/2015
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Eva Štefancová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**
Akademický rok: 2015/16

Název bakalářské práce:

Elektrofotokatalytická dezinfekce vody

Zadání bakalářské práce zadání:

1. Vypracujte literární rešerši o fotokatalytické desinfekci vody.
2. Ve vodním prostředí ověřte elektrofotokatalytickou desinfekci na mikroorganismu.
3. Naměřené výsledky vyhodnoťte.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2016

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Eva Štefancová
student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2016

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

V tejto práci bola overovaná elektrofotokatalytická dezinfekcia vody vložением napätia na elektródový systém. Pracovná elektróda bola pokrytá vrstvou oxidu titaničitého, ktorý vykazuje vhodné fotokatalytické vlastnosti. Na gramnegatívnej baktérii *E. coli* bol sledovaný dezinfekčný účinok za rôznych podmienok. Inaktivácia bakteriálnych buniek v skúmanom vodnom roztoku bola pozorovaná najskôr len za prítomnosti kyslíka, potom bolo pridané UV žiarenia s intenzitou $4 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$ alebo aplikované napätie 1 V. Pridaním oboch súčasne sa skúmala elektrofotokatalytická dezinfekcia vody na vybranom mikroorganizme.

ABSTRACT

This work focuses on the photoelectrocatalytic water disinfection by applying electrical voltage onto an electrode system. Working electrode consist of electrical conductor covered by thin film TiO_2 , because of its very important photoactivity. Disinfection effect was monitored on Gram-negative bacteria *E. coli* under different conditions. Inactivation of bacterial cells in contaminated aqueous solution, first experiment was observed only with presence of oxygen, later reactor was irradiated with UV-A compact blacklight with intensity of $4 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$ or electrical voltage of 1V was applied to electrode. By adding both effects at the same time I was verifying photoelectrocatalytic water disinfection on chosen microorganism.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Elektrofotokatalýza, dezinfekcia, oxid titaničitý, inaktivácia baktérii, *Escherichia coli*

KEYWORDS

Photoelectrocatalysis, disinfection, titanium dioxide, inactivation of bacteria, *Escherichia coli*

ŠTEFANCOVÁ, E. *Elektrofotokatalytická dezinfekce vody*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 34 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D..

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....

podpis študenta

POĎAKOVANIE

Ďakujem vedúcej bakalárskej práce RNDr. Márii Veselej, Ph.D. za odborné vedenie, a za ústretovú spoluprácu pri písaní bakalárskej práce. Moje poďakovanie patrí aj mojej rodine za podporu pri štúdiu, a aj všetkým, ktorí akýmkoľvek spôsobom prispeli ku vzniku tejto práce.

Obsah

1. ÚVOD	7
2. SÚČASNÝ STAV PROBLEMATIKY	8
2.1 Fotokatalýza	8
2.1.1 Mechanizmus fotokatalýzy na povrchu polovodiča	8
2.2 Svetlo	9
2.3 Katalyzátory	9
2.4 Oxid titaničitý.....	9
2.4.1 Redoxné reakcie na povrchu oxidu titaničitého.....	10
2.4.2 Antimikrobiálny efekt.....	11
2.4.3 Inaktivácia buniek <i>E. coli</i>	12
2.5 Využitie fotokatalýzy.....	13
2.6 Elektrofotokatalýza	14
2.7 Voda.....	15
2.7.1 Dezinfekcia vody	15
2.7.1.1 Ozonizácia	15
2.7.1.2 Chlorácia	15
2.7.1.3 Dezinfekcia UV žiarením.....	16
2.7.2 Fotokatalytická dezinfekcia vody	16
2.7.3 Elektrofotokatalytická dezinfekcia vody	17
2.8 Baktérie	18
2.8.1 Povrch bunkovej steny.....	18
2.8.2 Bunková stena	18
2.8.2.1 Grampozitívne baktérie	18
2.8.2.2 Gramnegatívne baktérie.....	19
2.8.3 Cytoplazmatická membrána.....	19
2.9 <i>Escherichia coli</i>	19
2.9.1 Výskyt a význam	20
2.10 Očkovanie a kultivácia mikroorganizmov	20
2.11 Desiatkové riedenie mikrobiálnej kultúry.....	21
2.12 Nepriame stanovenie počtu buniek mikroorganizmov.....	21
3. Experimentálna časť	22
3.1 Použité chemikálie a materiály	22
3.2 Použité prístroje a pomôcky.....	22

3.3 Použitý druh baktérie	22
3.3.1 <i>Escherichia coli</i> CCM 3988.....	22
3.4 Metodika práce.....	22
3.4.1 Očkovanie a kultivácia baktérie.....	22
3.4.2 Príprava živného média	22
3.4.3 Príprava pracovného roztoku	22
3.4.4 Aparatúra	23
3.4.5 Stanovenie buniek nepriamou metódou.....	24
4. VÝSLEDKY A DISKUSIA	25
4.1 Overenie elektrofotokatalytickej dezinfekcie.....	25
4.1.1 Slepý pokus	25
4.1.2 UV žiarenie	26
4.1.3 Napätie	27
4.1.4 UV žiarenia a napätie.....	27
4.1.5 Kinetika prevádzaných reakcií.....	28
5. ZÁVER.....	30
6. ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	31
7. ZOZNAM SKRATIEK	34

1. ÚVOD

V súčasnom svete sa objavuje ako čoraz väčší globálny problém znečistenie povrchových a podzemných vôd. Najmä v krajinách Tretieho sveta problém nabral jednoznačne existenčný ráz. Denne zomierajú pre nedostatok pitnej vody tisíce ľudí. Aj z toho dôvodu sa vedci snažia objavovať a neustále prichádzať s novými metódami čistenia a dezinfekcie vody. Jednou z rýchlo rozvíjajúcich sa metód je aj proces elektrofotokatalytickej dezinfekcie za pomoci oxidu titaničitého. Metóda sa dostáva do popredia a je systematicky skúmaná predovšetkým pre jej ekologicky priaznivý vplyv. Proces je šetrný k životnému prostrediu vzhľadom na to, že sa pri takomto spôsobe dezinfekcie nepoužívajú chemické látky, čím nedochádza k zníženiu kvality vody a neplýva na jej základné vlastnosti ako je chuť alebo pach.

Napriek tomu, že vyspelejšie kultúry v súčasnosti netrpia akútnym nedostatkom pitnej vody, ich znečistenie sa postupne stáva jednou z kľúčových diskusií na poli mnohých medzinárodných a svetových organizácií. Znečistenie pitných vôd môže nastať poľnohospodárskou činnosťou, kedy sa hnojivá a pesticídy ľahko dostávajú do podzemných vôd, no tiež sa vyplavujú do potokov alebo riek. Znečistenie je tiež často spôsobené mikroorganizmami alebo rozličnými organickými látkami. Vo vodách sa mnohokrát vyskytujú aj patogénne druhy mikroorganizmov, ktoré môžu vážne ohroziť život človeka a zapríčiniť vážne ochorenia.

Praktická časť mojej bakalárskej práce sa zameriava na overenie účinkov elektrofotokatalýzy za použitia TiO_2 na vybranom bakteriálnom druhu *Escherichia coli*. Práve oxid titaničitý v rozličných experimentoch vykazoval doposiaľ najlepšie fotokatalytické účinky pri ožiarení ultrafialovým svetlom. TiO_2 je vďačným prostriedkom pri dezinfekcii vody, nie len kvôli jeho antimikrobiálnym účinkom, no tiež ľahkej dostupnosti. Experiment bol zameraný práve na inaktiváciu a odstránenie buniek gramnegatívnej baktérie *E. coli* z kontaminovanej vody.

2. SÚČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

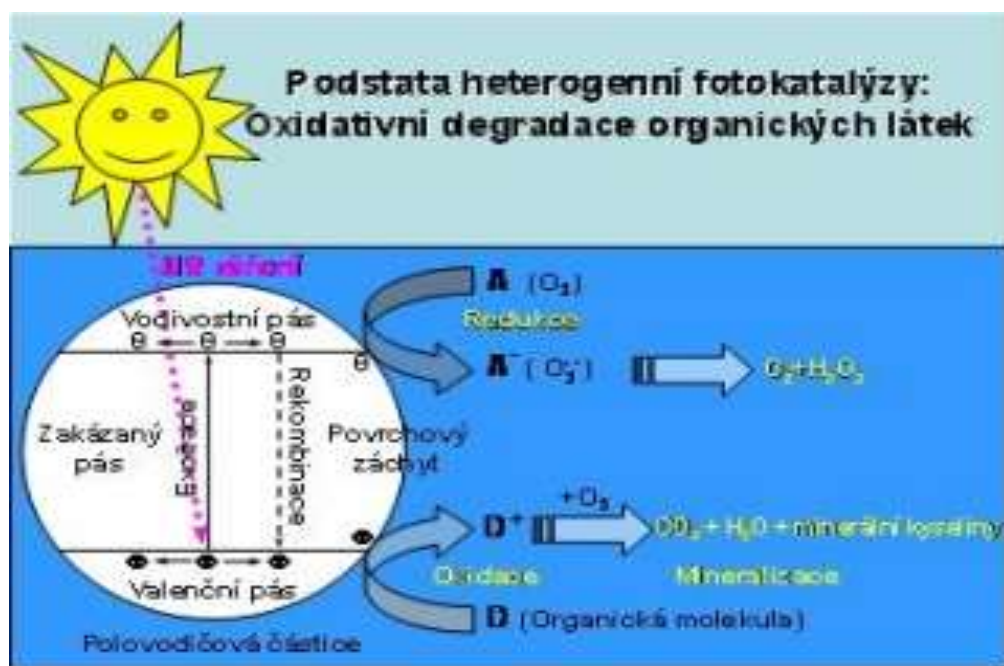
2.1 Fotokatalýza

Na povrchu polovodiča prebiehajú fotochemické procesy nazývané fotokatalytické reakcie. Fotokatalýza je proces chemického rozkladu látok za prítomnosti svetelného žiarenia a fotokatalyzátora. Katalyzátor umožňuje priebeh reakcie alebo zvyšuje jej rýchlosť pomocou znižovania aktivačnej energie. Katalyzátor môže urýchliť interakciu látok so substrátom, excitovaným stavom alebo s primárnym fotoproduktom, pričom počas reakcie ostáva nezmenený. Vďaka polovodivým vlastnostiam fotokatalyzátora, pri vystavení svetelnému žiareniu a o vhodnej vlnovej dĺžke dochádza k aktivovaniu jeho povrchu [1,2].

2.1.1 Mechanizmus fotokatalýzy na povrchu polovodiča

Energetické hladiny elektrónov v polovodiči (pevná látka) sú zoskupené do energetických pásov. Šírka zakázaného pásu je energetický rozdiel medzi najvyšším zaplneným energetickým pásom (valenčný pás) a najnižším prázdny energetickým pásom (vodivostný pás). Pri absorbovaní žiarenia s energiou vyššou alebo rovnakou ako je šírka zakázaného pásu polovodiča, dochádza k excitácii elektrónu z energeticky nižšej valenčnej hladiny do energeticky vyššej vodivostnej hladiny, za súčasnej generácie diery vo valenčnej vrstve. Následne vzniká pár elektrón-diera s vysokým oxidačno-redukčným potenciálom a pohyblivosťou. Tým dochádza k separácii náboja, kde elektróny sú (e^-) nositeľmi záporného náboja a elektrónová diera (h^+) je kladne nabitým centrom.

Vzniknuté voľné nosiče elektrického náboja migrujú k povrchu, kde dokážu byť zachytené vhodnými donormi alebo akceptormi, pričom môžu začať prebiehať redoxné reakcie, pri ktorých (e^-) pôsobia ako reductanty a (h^+) oxidanty. V neprítomnosti akceptora alebo donora dochádza v priebehu niekoľkých nanosekúnd k rekombinácii fotogenerovaných častíc a degradácii svetelnej energie na teplo [1,3,4].



Obr. 1: Mechanizmus fotokatalýzy [2].

2.2 Svetlo

Svetlo sa nachádza všade okolo nás a je potrebné na fotoiniciáciu katalyzátora pri procese fotokatalýzy. Svetelné spektrum sa skladá z rôznych typov žiarenia, v závislosti na vlnovej dĺžke. Vlnové dĺžky viditeľného svetla sa nachádzajú v rozmedzí 400-700 nm, infračervené žiarenie je nad 700 nm a ultrafialové žiarenie (UV) má vlnovú dĺžku kratšiu ako viditeľné svetlo v rozmedzí od 100 do 400 nm. Pri fotokatalýze sa využíva predovšetkým oblasť UV žiarenia vzhľadom na to, že polovodiče podporujúce fotokatalytické reakcie nedokážu využiť viditeľné svetlo.

Prirodzené svetlo zahŕňa aj UV oblasť, ale predstavuje len 1 % celkového výkonu, preto sa často využívajú zdroje umelého žiarenia. Najpoužívanejšie sú oblúkové výbojky, hlavne ortuťové a xenónové. Pri fotokatalytických reakciách sa taktiež stretávame s použitím fluorescenčných lúčov, ktoré v porovnaní s elektrickou žiarovkou produkujú približne šesťkrát viac fotónov za sekundu [5].

2.3 Katalyzátory

Pri výbere vhodného polovodičového fotokatalyzátora sa zohľadňujú jeho vlastnosti, ako je povrch, elektrická vodivosť, veľkosť oxidačného a redukčného potenciálu. Najdôležitejší parameter polovodiča určuje šírka zakázaného pásu. Energia zakázaného pásu určuje minimálnu svetelnú energiu potrebnú na presun elektrónu z valenčného do vodivostného pásu, teda na vznik elektrickej vodivosti materiálu. Takáto energia polovodičov sa pohybuje v rozmedzí od 0,5 do 3,2 eV. V prípade, že energia presahuje hodnotu 3,2 eV, hovoríme o izolátore.

Ako potenciálne fotokatalytické materiály boli preskúmané viaceré zlúčeniny, vrátane oxidov kovov TiO_2 , ZrO_2 , ZnO , Fe_2O_3 , CdO , SnO_2 , WO_3 a sulfidov kovov CdS , ZnS . TiO_2 sa považuje za najvhodnejší z dostupných polovodičov, predovšetkým vďaka jeho fotochemickej stabilite a vhodnej polohe energetických pásov. Nevhodné sú polovodiče s nízkymi zakázanými pásmi, ktoré sa pri ožiarení vo vodnom prostredí rozkladajú a rozpúšťajú alebo tie, ktoré podliehajú fotoanodickej korózii. V súčasnosti sa aj naďalej hľadajú stále nové materiály, ktoré by dokázali efektívnejšie využiť bežné svetlo pri fotokatalýze [1,3,4,5,6].

2.4 Oxid titaničitý

Titán zaradujeme medzi najrozšírenejšie kovy zemskej kôry, jeho najčastejšie zlúčeniny sa v prírode vyskytujú vo forme oxidov. Oxid titaničitý je biely anorganický prášok používaný na výrobu farieb s vysokou krycou schopnosťou. V potravinárskom a kozmetickom priemysle je používaný vďaka jeho chemickej stabilite a zdravotnej neškodnosti. Avšak, čoraz viac sa dostáva do pozornosti ako účinný fotokatalyzátor. Oxid titaničitý patrí k najviac preskúmaným fotokatalyzátorom nie len kvôli komerčnej dostupnosti, no taktiež vďaka dobrej fotochemickej stabilite, vysokej fotoaktivite, optickými vlastnostiam, nízkej toxicite aj cene. Práve týmito pozoruhodnými vlastnosťami sa odlišuje od ostatných polovodičov [7,8].

V prírode sa oxid titaničitý vyskytuje v troch kryštalických modifikáciách, ktorými sú rutil, anatas a brookit. Rutil a anatas majú tetragonálnu štruktúru a dajú sa jednoducho pripraviť aj za laboratórnych podmienok. Rozdielne štruktúry energetických pásov majú vplyv na ich fotokatalytické vlastnosti. Pre anatas je energia zakázaného pásu 3,2 eV, čo odpovedá excitačnému žiareniu o vlnovej dĺžke 388 nm, zatiaľ čo rutilová energia zakázaného pásu je nižšia, len 3,02 eV. Z toho vyplýva, že elektróny anatasu majú lepšie redukčné účinky [2,5,8].

Morfologické parametre, ako tvar a veľkosť častíc, rozptyl a merný povrch, tiež ovplyvňujú jeho fotokatalytické vlastnosti. Väčšinou je pripravovaný vo forme prášku, pretože sa pri výrobe uplatňuje snaha minimalizovať veľkosť častíc, a tým vytvoriť čo najväčší povrch. Pre lepšie praktické využitie sa vyrábajú imobilizované formy, vrstvy sú nanosené na inertný nosič ako je sklo, vlákna, dlaždice. Tenké fotoaktívne vrstvy sa pripravujú fyzikálnym spôsobom alebo chemickou sol-gel metódou a sú nanášané najčastejšie tlačiarenskými metódami pre dobrú reprodukovateľnosť [2,5].

2.4.1 Redoxné reakcie na povrchu oxidu titaničitého

Pri ožiarení povrchu oxidu titaničitého s dostatočnou energiou (3,2 eV), dochádza ku generácii páru elektrón - diera. Preskokom elektrónu do vodivostného pásu sa vytvára diera (h_{vb}^+) vo valenčnom páse a voľný elektrón (e_{cb}^-) vo vodivostnom páse. Vzniknutá dvojica sa môže späťne rekombinovať alebo reagovať s molekulou kyslíka alebo vody. Nasledujúce reakcie popisujú heterogénny fotokatalytický proces na povrchu oxidu titaničitého:



Diera valenčného pásu (h_{vb}^+) odníma elektróny z adsorbovaných oxidovateľných skupín, reaguje s hydroxylovými iónmi OH^- alebo s H_2O za vzniku voľných radikálov $OH^\bullet$:



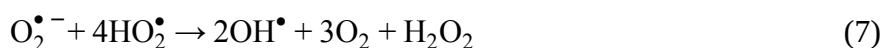
Voľný elektrón vodivostného pásu redukuje kyslík na superoxidový iónový radikál $O_2^{\bullet-}$. Táto reakcia zabraňuje rekombinácii elektrón - diera pri absencii iných elektrónových akceptorov:



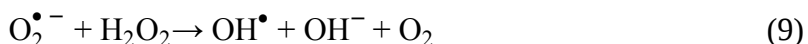
Ďalšia redukcia $O_2^{\bullet-}$ produkuje H_2O_2 :



Superoxidové radikály a jeho protónované formy môžu následne dismutovať za vzniku molekuly peroxidu vodíka a peroxidového aniónu:



Tvorba ďalších $\text{OH}^\bullet$ môže prebiehať redukciou peroxidu vodíka elektrónom (e_{cb}^-) alebo tiež môže reagovať superoxid s peroxidom vodíka cez Haber – Weissovú reakciu:



Rekombináciou $\text{OH}^\bullet$ sa opäť môže produkovať peroxid vodíka:



Spomedzi všetkých vyššie uvedených reaktívnych foriem kyslíka sa za najdôležitejší považuje hydroxylový radikál pri degradácii organických zlúčenín. Touto oxidačnou cestou sa môžu organické štruktúry rozkladať na jednoduché anorganické látky, vodu a oxid uhličitý [3,8,9].

2.4.2 Antimikrobiálny efekt

Súčasťou každodenného života sú všadeprítomné mikroorganizmy. Mnohé z nich sú pôvodcami závažných ochorení, ktoré môžu ohroziť nie len zdravie človeka, no taktiež napádajú organizmus zvierat. Mimo iné, mikroorganizmy sú príčinou kontaminácie pôd, vody, vzduchu alebo potravín. Sterilizácia a dezinfekcia sú najbežnejšie využívané metódy v boji proti mikrobiálnemu znečisteniu. V súčasnosti sa však čoraz viac dostáva do popredia použitie fotokatalýzy oxidom titaničitým, vďaka jeho schopnosti odbúravať organické materiály, čím umožňuje rozklad toxických a zápachajúcich chemikálií, nečistôt aj mikroorganizmov [5,7].

Vrstvy TiO_2 pri fotokatalytických procesoch vykazujú antibakteriálnu aktivitu na rôznych druhoch materiálov. Antibakteriálny efekt sa spúšťa aj za prítomnosti bežného svetla, vďaka čomu je možné znížiť alebo odstrániť mikroorganizmy z prostredia. V prípade použitia UV žiarenia je účinok na mikroorganizmy likvidačný. Žiarenie aktivuje redoxné procesy, a tým vznik vysoko reaktívnych radikálov na povrchu fotokatalyzátoru, ktoré majú za následok degradáciu cudzích materiálov a pri priamom kontakte s mikroorganizmami bunku nie len usmrť, ale dokonca ju aj rozložia. Predovšetkým dochádza k poškodeniu RNA, DNA a enzýmov, no taktiež môžu znemožniť replikáciu genetickej informácie dôsledkom poškodenia nukleových kyselín.

Účinnosť antibakteriálnej aktivity bola sledovaná na samočistiacich dlaždiciach, ktoré boli použité v nemocniciach a operačných miestnostiach, kde je potrebné udržiavať dokonale sterilné prostredie. Na povrch fotokatalytických dlaždíc bola nastriekaná suspenzia TiO_2 a zahriata na teplotu 800°C pre vytvorenie pevnej neoddeliteľnej vrstvy. V experimente sa zistilo, že po ožiarení antibakteriálnych dlaždíc došlo k usmrteniu baktérií, na povrchu ich počet klesol na nulu a vo vzduchu sa počet výrazne znížil. Dlaždice pôsobia okamžite a majú dlhotrvajúci efekt na trvalý pokles mikroorganizmov. Samozrejme nemôžeme očakávať rýchly rozklad veľkého objemu substancií za krátky čas. Určený je predovšetkým k zamedzeniu rozmnožovania mikroorganizmov a k udržaniu čistoty. Štúdie tiež preukázali, že kombinácia oxidu titaničitého s kladne nabitými iónmi striebra alebo medi zvyšujú antibakteriálnu účinnosť, dokonca pôsobia aj v neprítomnosti svetla.

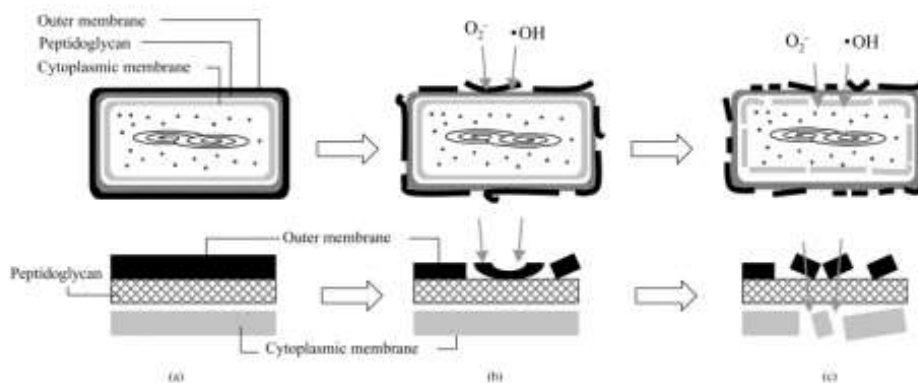
Mnohé výskumy sa už zaoberali pôsobením fotokatalýzy na rôzne druhy mikroorganizmov, v ktorých sa potvrdili antimikrobiálne vlastnosti oxidu titaničitého. Preukázalo sa, že okrem baktérií dokáže odstrániť kvasinky, plesne aj prítomné riasy z prostredia [5,7,10,11].

2.4.3 Inaktivácia buniek *E. coli*

Pri rade fotokatalytických experimentov je najčastejším modelovým organizmom práve baktéria *E. coli*. Rozličné výskumy popisali podrobný mechanizmus inaktivácie jej buniek. Taktiež nebol zaznamenaný žiadny rozdiel medzi inaktiváciou buniek grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií, aj napriek ich rozdielnej hrúbke a zloženiu bunkovej steny. Bakteriálny obal *E. coli* zahŕňa cytoplazmatickú membránu a bunkovú stenu zloženú z vonkajšej lipopolysacharidovej membrány a peptidoglykán. Pri fotokatalytickej dezinfekcii oxidom titaničitým musia byť dodržané základné podmienky, ktorými sú prítomnosť UV žiarenia a priamy kontakt povrchu fotokatalyzátoru s mikroorganizmom aby nastali následné redoxné reakcie [12,13,14].

Je všeobecne známe, že oxidy kovov ako aj používaný oxid titaničitý nesú kladný náboj, čo vedie k interakcii s negatívne nabitými bunkami *E. coli*. Hlavným cieľom ožiarneho oxidu titaničitého je napádať mikrobiálny povrch k počiatočnému oxidačnému pôsobeniu. Na aktivovanom povrchu fotokatalyzátoru sú tvorené OH radikály, ktoré sú označované za primárny druh radikálov zodpovedných za baktericídny účinok. Tieto radikály sú silné oxidovadlá s vysokou reaktivitou, ale krátkou dobou trvania. Pri procese nie sú generované len OH radikály, no tiež už vyššie spomínané (kapitola 2.4.1) reaktívne formy kyslíka (ROS), ktoré sa taktiež podieľajú na inaktivácii buniek. Fotogenerované $\text{OH}^\bullet$ pri kontakte s mikroorganizmom zahájí atak na bunkovú stenu, ktorá predstavuje bariéru pre reaktívne látky. Pri počiatočnom kroku napadnutia vzniká oxidačné poškodenie dovtedy neporušených buniek. Zvýšený nárast lipopolysacharidov uvoľnených z vonkajšej membrány dokazuje, že dochádza k jej deštrukcii. Fotokatalytickou reakciou sú úplne rozložené voľné aj pevné polysacharidy, ale peptidoglykáňová vrstva ostáva bez zmien. Pri prvotných narušeniach nedochádza k deaktivácii bunky, čiže nestráca životaschopnosť, ale nastávajú zmeny priepustnosti membrány, cez ktorú môžu ROS prenikať do bunky [4,10,12,15].

Po eliminácii vonkajšej membrány a peptidoglykánu dochádza k napadnutiu cytoplazmatickej membrány. Priebeh poškodenia je rýchlejší, vďaka strate selektívnej priepustnosti bunky. V cytoplazmatickej membráne nastáva oxidácia lipidovej vrstvy za tvorby malondialdehydu (MDA), čo sa považuje za základný mechanizmus usmrtenia buniek *E. coli*. K začatiu peroxidácií je tiež potrebný radikálový útok. Prvotným krokom v peroxidačnom radikálovom reťazci je reakcia lipidov s dierou $\text{H}^\bullet$, skôr ako nastane rekombinácia páru elektrón-diera. Reakcia sa šíri generovaním peroxidových radikálov, ktoré samé podstúpia peroxidáciu s ďalšou lipidovou molekulou. Interakcia superoxidového iónu s hydroperoxidom tiež môže viesť k začatiu novej radikálovej reťazovej reakcie, ak nastane prienik cez porušenú bunkovú membránu. Pokiaľ bunková stena nie je priepustná nastávajú autooxidačné reakcie, čím sa zvýši nárast produkcie MDA, ktorá narušuje molekuly proteínov, nukleových kyselín a báz [4,10,16,17].



Obr. 2: Inaktivácia buniek *E. coli* pomocou TiO_2 fotokatalýzy [5].

Peroxidáciou polynásýtených lipidových zložiek nastávajú poruchy v bunkovej membráne *E.coli*. Následne bunka prichádza o základné životné funkcie, ktoré sa viažu k bunkovej membrán, ako semipermeabilita, respiračná aktivita a oxidačná fosforylácia. Strata štruktúry lipidovej membrány vedie k usmrteniu bunky [10,15,17].

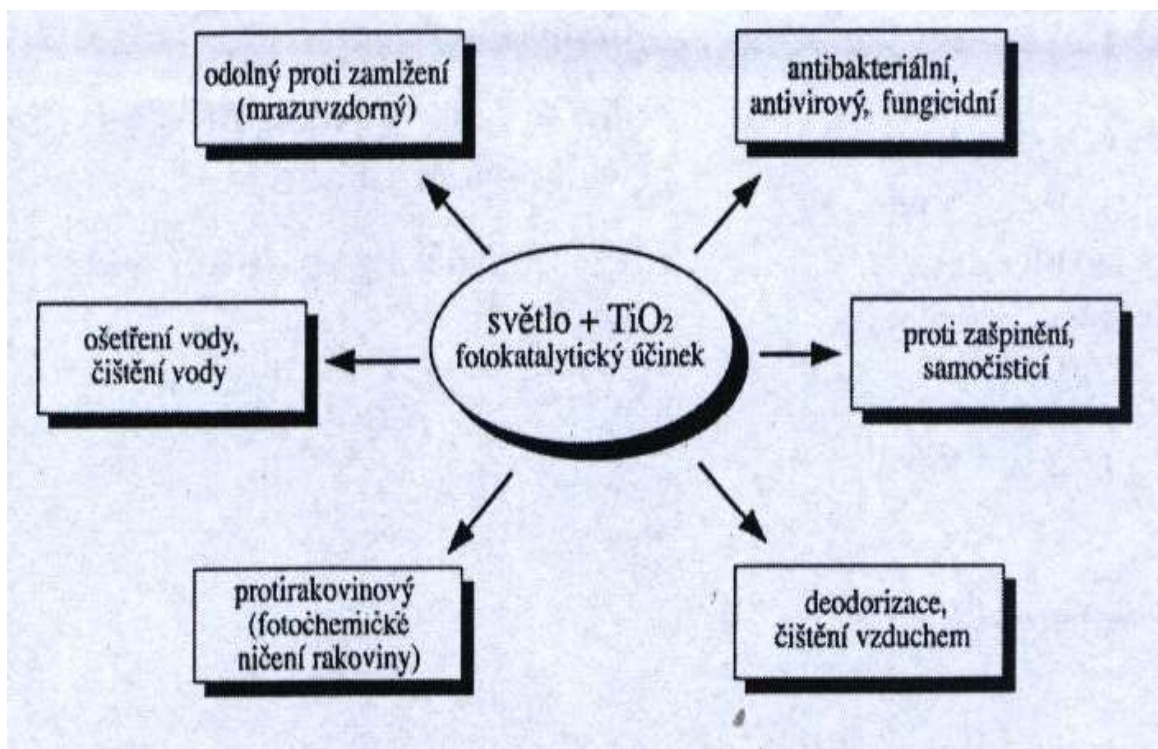
Následne so zničením integrity bunkovej steny a cytoplazmatickej membrány dochádza k uvoľneniu bunkového obsahu. Fotokatalytické reakcie zvyšujú priepustnosť bunky, čo umožňuje príliv voľných častíc TiO_2 do buniek s poškodenou membránou a nasleduje útok na intracelulárne komponenty, čím sa urýchľuje bunková smrť. Výsledkom je úplná deštrukcia nie len buniek ale aj rozklad prítomného endotoxínu produkovaného baktériou *E. coli*. [14].

2.5 Využitie fotokatalýzy

Fotokatalytické technológie sú čoraz viac využívané v rôznych oblastiach života, ktoré využívajú energiu slnečného žiarenia novým odlišným spôsobom, a pomáhajú pri zlepšení životného prostredia. Ako už bolo vyššie spomenuté, fotokatalytické vrstvy možno aplikovať na rôzne typy materiálov, čím nám poskytujú široké, univerzálne využitie.

Vrstvy oxidu titaničitého, okrem spomínaného antimikrobiálneho efektu, vykazujú aj samočistiace, dezodoračné a dezinfekčné účinky. Samočistiace povrchy nachádzajú využitie v stavebníctve, kde môžu zabrániť vonkajšiemu zašpineniu budov nečistotami z ovzdušia alebo slúžia ako samočistiace kryty osvetlenia proti emisiám v diaľničných tuneloch.

Oxid titaničitý si našiel svoje miesto aj v automobilovom priemysle. Do automobilov sa aplikuje samočistiace sklo s protizahmlievajúcim účinkom, ktorý nadobúdajú vďaka superhydrofilité, zabráňujúcej vytváraniu kvapiek vody na povrchu. Ďalším využitím tejto technológie je pri čistení vôd, vzduchu a kontaminovaných pôd. Možnosti jeho využitia ani zďaleka nie sú vyčerpané a stále sa pracuje na vytváraní nových produktov pre zlepšenie každodenného života [5,18].



Obr. 3: Hlavné oblasti aplikácie fotokatalýzy oxidom titaničitým [5].

2.6 Elektrofotokatalýza

Fotokatalytické techniky určené k priemyselnej aplikácii využívajú imobilizáciu oxidu titaničitého na rôzne nosiče, ale tým nastáva výrazne zmenšenie merného povrch fotokatalyzátoru a vykazuje nižšiu aktivitu. Vysoký stupeň rekombinácie fotogenerovaných elektrónov a dier je tiež príčinou nízkej účinnosti fotoaktivity.

Elektrofotokatalytický systém dovoľuje aplikáciu elektrického potenciálu, ktorý podporuje separáciu generovaných elektrónov a dier. Touto cestou dochádza k odstráneniu elektrónov z TiO_2 valenčnej vrstvy na protielektródu, čím sa značne potláča rekombinácia nosičov náboja a narastá fotokatalytická aktivita. Možné je to len vtedy, keď vrstvy TiO_2 sú nanesené na elektricky vodivom substráte. Ak sa použije elektrolyt, ktorý má nízku vodivosť a je nevyhnutné pracovať s nízkou iónovou silou, je potrebný iný prístup k minimalizácii iR poklesu ako použitím podporného elektrolytu. Použitím dvoch paralelných elektród veľmi málo vzdialených od seba môže byť vzniknutý iR pokles redukovaný. V takomto systéme je pracovná elektróda zostavená z elektrického vodiča pokrytého oxidom titaničitým a materiál protielektródy musí vykazovať požadovanú elektrickú vodivosť a odolnosť voči koróziám. Takýto elektródový systém môže nájsť využitie pre elektrofotokatalytickú dezinfekciu vody [32,33].

2.7 Voda

Základným zdrojom pre život na zemi je voda. Poznáme rôzne druhy vôd, ktoré sa delia podľa pôvodu na prírodné a odpadové a podľa použitia na pitnú, úžitkovú, priemyslovú a odpadkovú. Surová voda z povrchového alebo podzemného zdroja obsahuje rozličné znečistenia, preto je nutná jej úprava na pitnú vodu. Pre ľudí je vhodná len hygienicky nezávadná pitná voda bez akýchkoľvek nežiaducich látok, ktoré môžu spôsobovať závažné ochorenia. Najčastejšími škodlivinami pitnej vody sú:

- produkty rozkladu bielkovín, tukov, sacharidov
- organické látky (aniontové tenzidy, ropné látky)
- biocídne látky
- karcinogénne a mutagénne zlúčeniny chlóru
- dusičnany, kyanidy, soli železa a mangánu
- ťažké kovy (As, Cd, Pb, Hg, Cu, Al)
- patogénne organizmy a parazity

2.7.1 Dezinfekcia vody

Požadovanú čistotu vody môžeme dosiahnuť pomocou dezinfekcie, ktorej hlavnou úlohou je zneškodniť všetky látky ohrozujúce zdravie človeka. Chemické a fyzikálne postupy sú najbežnejšími metódami pri dezinfekcii vody. Z chemických prostriedkov sa používajú zlúčeniny chlóru, peroxid vodíka a ozón a z fyzikálneho hľadiska účinne pôsobí UV žiarenie alebo oligodynamické striebro. Primárnym cieľom dezinfekcie je inaktivácia patogénnych a koliformných baktérií či enterokokov, pretože v pitnej vode sa nepovoľuje výskyt týchto mikroorganizmov. Rozlišujeme nárazovú dezinfekciu určenú v prípade, že kvalita vody je dlhodobo vyhovujúca z mikrobiálneho hľadiska, pričom aj kontinuálna sa vykonáva u všetkých zdrojov pitnej vody [21,22].

2.7.1.1 Ozonizácia

Na úpravu vody je považovaný za najsilnejší dezinfekčný a oxidačný prostriedok ozón. Pri dezinfekcii vôd sa považuje za ekologicky prijateľný, pretože svojím rozkladom uvoľňuje kyslík a nezanecháva žiadne vedľajšie nežiaduce produkty. Vykazuje baktericídny účinok takmer voči všetkým baktériám a mikroorganizmom, ale v porovnaní s chlórrom má nižšiu efektívnu dobu trvania. Prebytočný ozón vyprchá behom 10 až 20 minút, čiže z takto upravenej voda je rýchlo odstránené dezinfekčné činidlo [21,22].

2.7.1.2 Chlorácia

Chlorácia je najrozšírenejším spôsobom dezinfekcie a používa sa takmer vo všetkých priemyselných odvetviach vďaka jej cenovej dostupnosti a vysokej účinnosti. Pri chlorácii sa plynný chlór, chlórnan sodný alebo vápenatý dávkuje priamo do vody za vzniku kyseliny chlórnej, ktorá spôsobuje deštrukciu bakteriálnych buniek. Účinnosť nastáva až po 20 minútach pôsobenia a je mimoriadne závislá od hodnoty pH vody. Pri chlorácii vody s obsahom organických látok môžu nastať zmeny senzorických vlastností a hrozí nebezpečenstvo vzniku vedľajších produktov trihalogénmetánov (THM), ktoré sú karcinogénne a mutagénne. [21,22].

2.7.1.3 *Dezinfekcia UV žiarením*

V súčasnej dobe patrí metóda dezinfekcii UV žiarením medzi najúčinnnejšie spôsoby dezinfekcie vody. Veľkou výhodou tohto postupu je, že voda neobsahuje prídavok žiadnych dezinfekčných prostriedkov, čím sa nevytvárajú vedľajšie produkty. Ultrafialové žiarenie je časť spektra o vlnovej dĺžke 100 nm až 400 nm a pri úprave vody sa využíva baktericídne žiarenie v rozmedzí cca 240 nm – 290 nm. Pri dostatočne dlhom ožarovaní UV svetlom dochádza k inaktivácii a cielenému usmrteniu mikroorganizmov [21,22].

2.7.2 Fotokatalytická dezinfekcia vody

Veľkým problémom zaostalých krajín je vysoké znečistenie a nedostatočná úprava vody. World Health Organization odhaduje, že viac ako miliarda ľudí trpí nedostatkom dodávok pitnej vody a sú vystavení riziku používania vodných zdrojov s chemickým znečistením a mikrobiálnou kontamináciou. Každý rok umierajú ľudia na typické infekčné choroby ako cholera, hepatitída, týfus, ktoré sú často spôsobené práve nedostatočným zásobovaním pitnej vody a úpravou vody.

Tradičné metódy dezinfekcie vody akými sú chlorácia, dezinfekcia ozónom a UV žiarením sú efektívne voči patogénnym organizmom, ale drahým spôsobom dezinfekcie pre rozvojové krajiny. Chemická dezinfekcia môže spôsobiť nežiaduce chuťové a pachové prejavy. Výskumy sa zaoberajú vyvíjaním alternatívnych metód dezinfekcie vody, a najviac sľubnou sa javí práve fotokatalýza za pomoci oxidu titaničitého. Táto metóda je ekologicky šetrná a dezinfekcia prebieha bez pridania chemických prostriedkov [4,10,23].

Efektivita fotokatalytickej dezinfekcie je pripisovaná oxidačnému poškodeniu látok, vyvolanému najmä pomocou ROS ako sú $\text{OH}^\bullet$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{HO}_2^\bullet$. Tieto reaktívne formy kyslíka sú výsledkom redoxných reakcií medzi absorbovaným druhom (voda, kyslík) a generovaným párom elektrón-diera po ožiarení TiO_2 . Voľné radikály prostredníctvom vysokej oxidačnej aktivity dokážu organickú hmotu, a teda aj mikroorganizmy, ktoré pozostávajú z týchto zlúčenín, z vody mineralizovať na jednoduché anorganické zložky. Taktiež môžu degradovať široký rozsah chemických kontaminantov vo vode. Pri účinnosti fotokatalytickej dezinfekcie sa zohľadňujú rôzne parametre. Závisí na intenzite dopadajúceho svetla a dĺžke ožiarenia a vplyv má aj pH hodnota. Pri fotokatalytickej dezinfekcii komunálnych odpadových vôd bolo pozorované, že pri pH 5 sa zvyšuje relatívna rýchlosť inaktivácie mikroorganizmov a najpomalšie sa tvorilo opätovné bakteriálne znečistenie [4,23,24].

V prípade čistenia vôd práškovým oxidom titaničitým nastáva problém pri jeho odstránení z upravovanej vody, pretože filtrácia je veľmi zložitá. Používajú sa preto imobilizované formy napríklad sklenené guľčky s vrstvou TiO_2 [2].

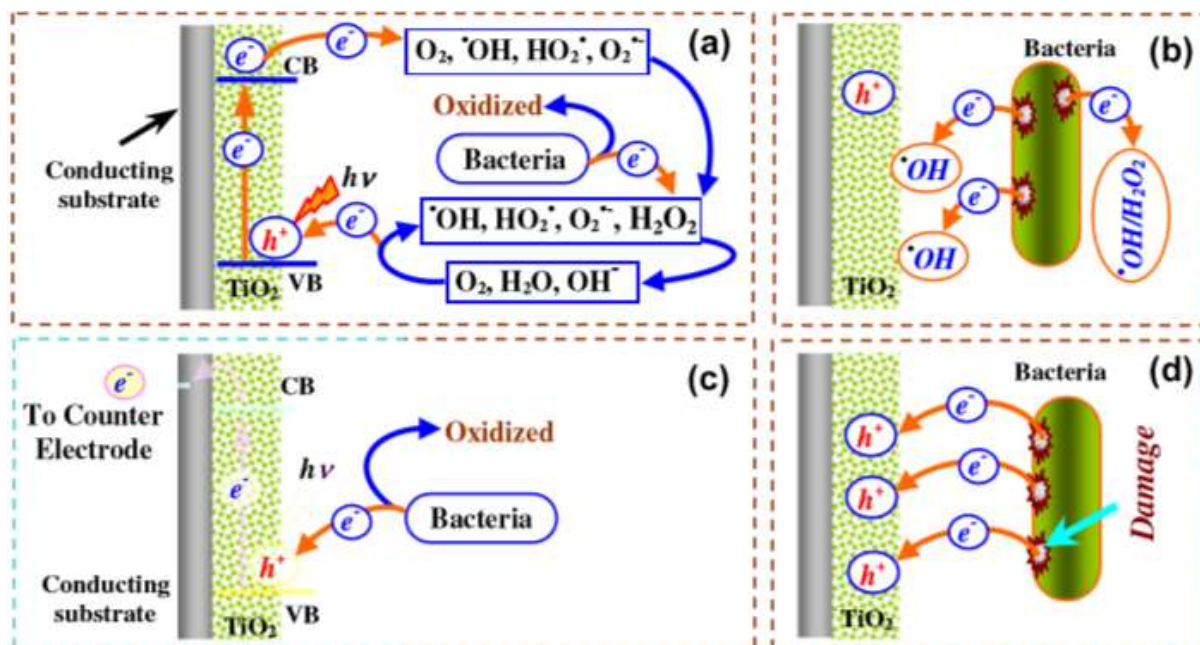
2.7.3 Elektrofotokatalytická dezinfekcia vody

Oxidačné techniky založené na princípe TiO_2 , ktoré boli už vyššie rozoberané, na praktické využitie bolo treba zlepšiť, pretože dezinfekcia vody hoci bola účinná ale časovo náročná. Tento nedostatočne rýchly mikrobiálny efekt je zapríčinený krátkou životnosťou aktívnych foriem kyslíka, pretože vo vodnom roztoku nastáva vysoká rekombinácia páru elektrón-diera.

Zavedenie elektrofotokatlytického systému potláča rekombináciu, čím sa predlžuje dĺžka života fotogenerovanej diery, ktorá má vyššiu oxidačnú silu ako reaktívne formy kyslíka. Keďže nedochádza k rýchlej rekombinácii môže diera priamo reagovať s cieľovými látkami spolu s ROS, čím sa zvyšuje účinnosť pri dezinfekcii vody [19,25,26].

Pri dezinfekcii vody použitím **elektrofotokatalytického systému** sa zistilo, že humínové látky, čo sú organické zlúčeniny vo vodách znečistených humusom, majú silný inhibičný efekt voči baktériám *E. coli*. Tiež anióny H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , HCO_3^- , ktoré sa bežne vyskytujú vo vode, spomaľujú degradáciu organických zlúčenín a inaktiváciu baktérií. Naopak pozitívny vplyv majú anióny Cl^- a SO_4^{2-} zlepšením oxidáciu organických látok na fotoanódach. Ich prídavkom sa znižuje tvorba škodlivých vedľajších produktov trihalogémetánov, bez spomalenia degradácie humínových zlúčenín aj mikroorganizmov, pravdepodobne v dôsledku tvorby sírnych radikálov. Ióny SO_4^{2-} sa môžu využívať ako bezpečná metóda ku kontrole škodlivých produktov chlóru tvorených elektrofotokatalytickým systémom.

Reálna aplikácia fotokatalytickej dezinfekcie je limitovaná rôznymi faktormi napríklad dlhotrvajúce ožiarenie na bezpečnú inaktiváciu buniek mikroorganizmov, preto je vhodná k dezinfekcii malých objemov s nízkou mikrobiálnou kontamináciou [27].



Obr. 4: Mechanizmy rozkladu bakteriálnej bunky *E. coli* pomocou fotofotokatalýzy (a,b) a elektrofotokatalýzy (c,d) [25].

2.8 Baktérie

Baktérie sú zaradené medzi jednobunkové prokaryotické organizmy bez diferencovaného jadra. Z fyziologického hľadiska sú najrozmanitejšou skupinou mikroorganizmov. Zahrňujú zástupcov líšiacich sa vzťahom ku kyslíku, k rôznym zdrojom energie aj rozličnými nárokmi na výživu.

Z morfológického hľadiska tvar bakteriálnej bunky je väčšinou jednoduchý. Vyskytujú sa v troch základných tvaroch: najčastejšie majú rovný alebo zakrivený tyčinkovitý tvar, menej často guľovitý a vláknitý tvar môžeme pozorovať u pomerne rozsiahlej skupiny pôdných baktérií. Rozmnožujú sa nepohlavne delením alebo pučaním a typická bakteriálna bunka má rozmery o priemere 1 μm a dĺžke 2 μm . Vnútny priestor buniek je vyplnený cytoplazmou, ktorá obsahuje dôležité štruktúrne útvary: nukleoid (jadro), ribozómy, zrníčka nerozpustných rezervných látok a vlákna bakteriálneho cytoskeletu. [28,29,30,31].

2.8.1 Povrch bunkovej steny

Na povrchu bunkovej steny sa vyskytujú rôzne útvary u rozličných typov baktérií. Aktívny pohyb bunky umožňujú dlhé, tenké vlákna na povrchu niektorých baktérií, ktoré sa nazývajú bičíky. Na povrchu gramnegatívnych baktérií môžeme pozorovať krehké duté vlákna - fimbrie (Pili). Pretože sú adhezívne vedú k spojovaniu buniek. Niekedy baktérie syntetizujú nad bunkovou stenou polysacharidovú vrstvu v závislosti od zloženia vonkajšieho prostredia. Ak je táto vrstva ostro ohraničená, označuje sa ako puzdro - kapsula a má antigénne vlastnosti. Niektoré ju produkujú vo forme voľného slizu alebo riedkych sieťových polysacharidových vlákien tzv. glykokalyx, ktorými sa prichytávajú na inertné povrchy [29,31].

2.8.2 Bunková stena

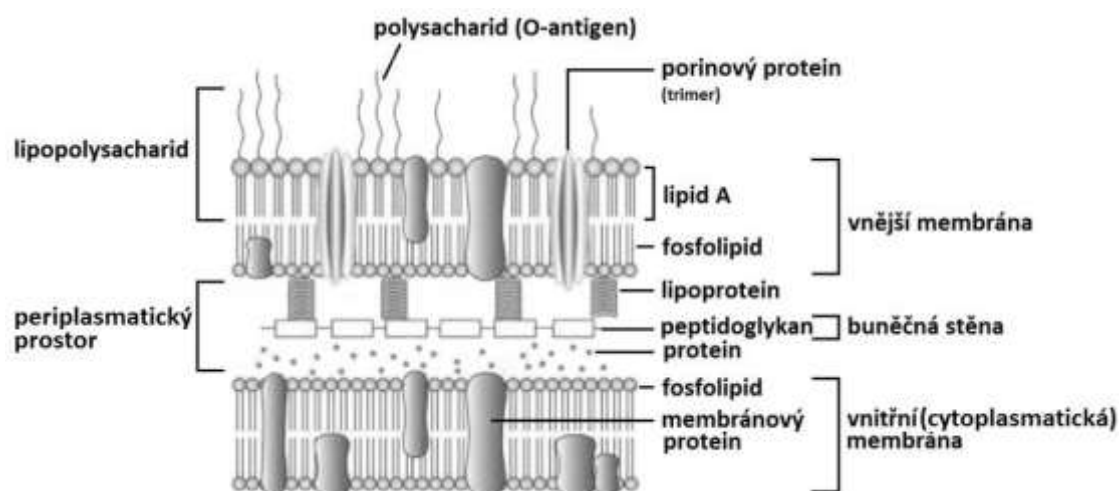
Nachádza sa nad cytoplazmatickou membránou je zodpovedná za tvar bunky, a ako skelet bunky chráni vnútorný obsah pred účinkami vonkajšieho prostredia. Tiež kompenzuje osmotický pretlak vytvorený vo vnútri bunky a pre ióny a nízkomolekulárne zlúčeniny je rozpustná. U baktérií má bunková stena rozličné zloženia ale u všetkých je prítomný peptidoglykán, vďaka ktorému nadobúda bunková stena pevnosť a neohybnosť. Obsahuje polysacharidové vlákna, ktoré sú paralelne položené a vzájomne prepojené prostredníctvom tetra- alebo pentapeptidov pomocou peptidovej väzby cez kyselinu muramovú [28,29,31].

2.8.2.1 Grampozitívne baktérie

Hlavnou zložkou pevnej bunkovej steny u grampozitívnych baktériách je peptidoglykanová vrstva vyplnená teichoovou kyselinou a neobsahuje lipidy. Na peptidoglykán sú viazané polysacharidy a ich zloženie je zodpovedné za imunochemické reakcie (tj. Špecifické antigénne vlastnosti baktérií). U grampozitívnych baktérií usmrtené bunky po odfarbení Gramovým farbiacim roztokom a morením jódovým roztokom sa neodfarbia preto, že neobsahujú lipidy a široká vrstva peptidoglykanu sa naopak pôsobením organického rozpúšťadla stane ešte menej priepustnou pre molekuly farbiva [29,31].

2.8.2.2 Gramnegatívne baktérie

Bunková stena je zložená z tenkej vrstvy peptidoglykanu a vonkajšej membrány, ktorá obsahuje fosfolipidy, lipoproteíny, lipopolysacharidy. Vďaka lipidom v bunkovej stene majú zvýšenú odolnosť k aniónovo povrchovo aktívnym látkam (napr. mydlá, žľčňové kyseliny), čo umožňuje ich výskyt v črevnom trakte cicavcov. U G⁻ baktérií sa Gramov farbiaci roztok pôsobením rozpúšťadla (tj. acetón alebo etanol) odfarbí, kvôli rozpusteniu lipidov a nastáva porušenie integrity steny [28,29,31].



Obr. 5: Bunková stena gramnegatívnych baktérií [31].

2.8.3 Cytoplazmatická membrána

Cytoplazmatická membrána je jemná a tenká vrstva, ktorá oddeľuje cytoplazmu od vonkajšieho prostredia a vytvára vnútri bunky jediný nedeliteľný priestor. U niektorých baktérií pozorujeme rôzne veľké invaginácie (výbežky), označované ako mezozómy, ktoré hrajú rolu aj pri delení bakteriálnej bunky – vznik prepážky. Základnú štruktúru tvorí fosfolipidová dvojvrstva a bielkoviny. Na cytoplazmatickú membránu sú viazané deje, ktoré nemôžu prebiehať v roztoku, napríklad ako transformácia energie, syntéza a hydrolýza lipidov, a tiež sa na nej odohrávajú konečné fázy syntézy bunkovej steny a puzdrových obalov. Prítomnosť bielkovinových prenášačov, zabezpečuje transport látok aj z aj do bunky [28,29,31].

2.9 *Escherichia coli*

Patrí do čeľade *Enterobacteriaceae* a je najvýznamnejším druhom z rodu *Escherichia*. Ide o gramnegatívne črevné nespórovité tyčinky peritrichálne obrnené alebo bez bičíkov. Obsah mikrokapsuli je tvorený komplexom bielkoviny, lipidu a polysacharidu, ktorý má antigénne vlastnosti – kapsulárny K-antigén. Radí sa medzi prototrófne, fakultatívne anaeróbne kmene a má schopnosť fermentovať laktózu. Priemerná bunka *E. coli* má rozmery (1,1 až 1,5) x (2,0 až 6,0) µm [28,29,31].

2.9.1 Výskyt a význam

Nachádza sa v spodnej časti črevného traktu človeka a teplokrvných živočíchov, a teda sa vyskytujú aj vo výkaloch. Prítomnosť v potravinárskych surovinách alebo vodách je ukazovateľ fekálnej kontaminácie. Patrí k normálnej črevnej mikroflóre a pre hostiteľa je užitočná pri syntetizovaní niektorých dôležitých vitamínov a zabraňuje rastu škodlivých baktérií, pretože im berie kyslík a živiny. Týmto sa podieľa na udržaní celkovej rovnováhy mikroorganizmov prítomných v črevách. Niektoré kmene sú patogénne a môžu vyvolať močové infekcie a črevné ochorenia.

Baktéria *E. coli* je jedným z najlepšie preskúmaných mikroorganizmov a slúži ako modelový organizmus pre fyziologické, biochemické a genetické výskumy. Vďaka jej rýchlemu množeniu, ľahkému rastu na rôznych agaroch a dobre sa prejavovanými fenotypovými zmenami pri zásahoch v jej DNA sa využíva v génovom inžinierstve a biotechnológiách. Boli pripravené kmene, ktoré sú schopné syntetizovať inzulín, rastový hormón, aminokyseliny alebo interleukín [28,29,31].

2.10 Očkovanie a kultivácia mikroorganizmov

Proces prenesenia mikroorganizmu z prirodzeného prostredia (prípadne z inej živnej pôdy) do predpripraveného sterilného živného média sa nazýva očkovanie. Vykonáva sa rôznymi metódami z ktorých je potrebné si vybrať najvhodnejšiu pre daný mikroorganizmus. Pri očkovaní je nutné pracovať asepticky aby nedošlo ku kontaminácii sterilných predmetov alebo kultúr. Pred začatím očkovania je potrebné označiť Petriho misky dátumom očkovania, názvom kultúry, prípadným riedením a podpisom. Vybrané očkovania:

- Očkovanie do tekutého média

Sterilnou kľúčkou sa odbere požadovaná kultúra a je ponorená so skúmavky alebo Erlenmeyerovej banky s bujónom a mierne sa s ňou zatrepe aby došlo k uvoľneniu kultúry.

- Očkovanie z tekutého média

Na zaočkovanie kultúry z tekutého do pevného agarového média pomocou pipety sa využívajú dve metódy, rozter a preliv. Pri **očkovaní rozterom** sa nariadená vzorka napipetuje priamo na povrch pripravenej agarovej platni a krúživým pohybom sa rozotrie po celom povrchu agaru pomocou sterilnej hokejky. **Očkovanie prelivom** sa vykonáva tak, že nariadená vzorka sa pipetuje na dno prázdnej Petriho misky a zaleje sa vytemperovaným sterilným agarom. Po naliatí sa agar dôkladne premiešava krúživými pohybmi a nechá zatuhnúť. Tieto dve metódy sa využívajú pri nepriamom stanovení počtu buniek mikroorganizmov.

Po naočkovaní na živné médium sa Petriho misky alebo banky vkladajú do termostatu na **kultiváciu**, čo je proces pestovania mikroorganizmov za laboratórnych podmienok. Rozmnožovanie mikroorganizmov ovplyvňujú rôzne faktory. Jedným z hlavných faktorov je teplota vonkajšieho prostredia a mikroorganizmy treba kultivovať pri optimálnej teplote, ktorá sa líši podľa použitej kultúry [32].

2.11 Desiatkové riedenie mikrobiálnej kultúry

Riedenie mikrobiálnej kultúry sa využíva na zníženie počtu mikroorganizmov v roztoku. Fyziologický roztok alebo destilovaná voda slúžia ako riedidlo. Pri riedení sa používa koeficient 10. Najskôr sa pripraví rada sterilných skúmaviek s 0,9 ml (9 ml) fyziologického roztoku a zo vzorky sa odoberie 0,1 ml (1 ml), ktorý sa prenesie do prvej skúmavky. Tým sa získa riedenie 1:10 (10^{-1}). Prvá skúmavka sa premieša a novou sterilnou pipetou sa odoberie 0,1 ml (1 ml) do skúmavky číslo dva, čím sa získava riedenie 1:100 (10^{-2}). Takýmto postupom sa vzorka riedi až do požadovaného zriedenia. Každé riedenie sa robí s novou čistou pipetou, a je nutné pracovať asepticky a presne [32].

2.12 Nepriame stanovenie počtu buniek mikroorganizmov

Princípom kultivačnej metódy stanovenia počtu buniek mikroorganizmov je počítanie kolónií vyrastených na agarových platniach. Táto metóda vychádza z overeného predpokladu, že z jednej životaschopnej bunky narastie jedna kolónia.

Pred očkovaním je nutné používanú suspenziu s mikroorganizmami vhodne nariediť, aby vyrastené jednotlivé kolónie na agare sa neprekrývali svojimi okrajmi. K počítaniu mikroorganizmov sa volia platne s 20 až 200 narastenými kolóniami, pretože použitie misiek s menej ako 20 kolóniami je nepresné a viacej ako 200 sa ťažko počíta. Pre správne vyhodnotenie počtu mikroorganizmov je potrebné očkovať riedenie minimálne na dve agarové platne a z priemernej hodnoty sa spočíta počet mikroorganizmov. Narastené kolónie si pri počítaní značíme fixkou na spodnej strane Petrino misky.

Výpočet buniek mikroorganizmov v 1 ml kultúry:

$$x = MO \cdot z \cdot X,$$

kde **MO** je priemerný počet kolónií z dvoch Petriho misiek, **z** je použité zriedenie a **X** je prepočet na 1 ml podľa pipetovaného objemu.

Počet buniek sa udáva ako **CFU = colony forming unit** v 1 ml, pretože nie vždy 1 kolónia reprezentuje 1 bunku [32].

3. Experimentálna časť

3.1 Použité chemikálie a materiály

Fyziologický roztok

Etanol

Sterilizovaná voda

Nutrient agar No 2, Hi Media, India

Nutrient Broth w/1% peptone

3.2 Použité prístroje a pomôcky

Váhy, Kern, EMB, spol s.r.o., Kyjov

Biologický inkubátor, P 100-U, Biotech, Praha

Mikropipeta, BIOHIT Proline

Laboratórne sklo

UV-A Kompaktná žiarivka Sylvania, LYNX-S BL350 11 W

Fotokatalytický reaktor, VUT, Brno

Trepačka, VORTEX IKA MS 3 Basic, Česká republika

3.3 Použitý druh baktérie

3.3.1 *Escherichia coli* CCM 3988

Na overenie elektrofotokatalytickej dezinfekcii vody bola použitá *Escherichia coli* CCM 3988, získaná z českej zbierky mikroorganizmov, Masarykovej univerzity, Brno.

Základná charakteristika vybranej baktérie je v kapitole 2.9.

3.4 Metodika práce

3.4.1 Očkovanie a kultivácia baktérie

Použitá baktéria bola naočkovaná vložením želatínového disku pomocou bakteriálnej kľučky do sterilného tekutého média, a to do bujónu Nutrient Broth w/1% peptone o objeme 50 ml. Takto pripravená suspenzia bola kultivovaná 24 hodín v termostate pri teplote 37 °C.

3.4.2 Príprava živného média

Ako kultivačné médium pre pomnoženie testovaného mikroorganizmu bolo použité živné médium firmy Hi Media: Nutrient agar No. 2. Zloženie živného média: hovädzí extrakt 10 g/l, chlorid sodný 5 g/l, živočíšny peptón 10 g/l a agar 15 g/l. 40 g tohto živného média sa rozpustilo v 1000 ml destilovanej vody. Potom bolo sterilizované v autokláve pri teplote 121 °C po dobu 15 minút.

3.4.3 Príprava pracovného roztoku

Po kultivácii v termostate bol zo suspenzie odobraný 1 ml, použitý na desiatkové riedenie mikrobiálnej kultúry. Pri príprave pracovného roztoku bolo do kadičky pipetovaných 39 ml fyziologického roztoku a 1 ml z pripraveného zriedenia 10^{-5} . Aby sa dosiahlo požadovaného objemu pre experiment 35 ml bolo z roztoku odobraných 5 ml.

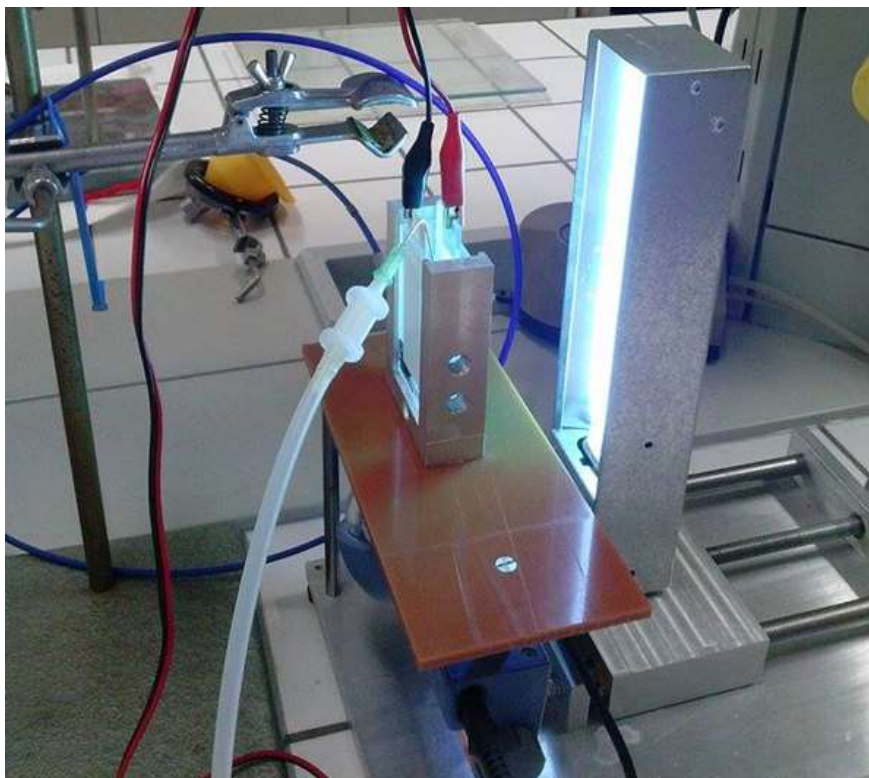
3.4.4 Aparatúra

Na experiment bola použitá aparátúra (Obr. 6) zložená z fotokatalytického reaktoru, kyvety, lampa s UV-A kompaktnou žiarivkou, magnetického miešadla, z pracovnej elektródy a protielektródy, prístroju na prebublávanie roztoku a zdroj externého elektrického potenciálu.

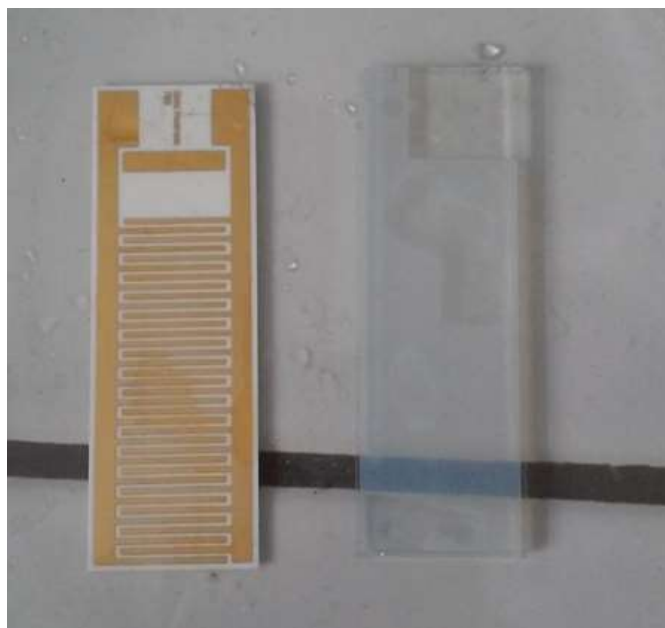
Hlavnou zložkou reaktoru bol systém zložený z dvoch elektród. Pracovná elektróda pozostávala z elektrického vodiča pokrytého vrstvou katalyzátoru, čiže oxidu titaničitého a materiál protielektródy bolo zlato (Obr. 7). Fotokatalytický reaktor bol navrhnutý a zostrojený na Ústave spotrebnej a fyzikálnej chémie FCH VUT v Brne.

Pracovný roztok o objeme 35 ml bol preliaty do kyvety s magnetickým miešadlom. Následne boli do kyvety zavedené dve elektródy a prebublávanie. Pri niektorých experimentoch bol reaktor ožarovaný UV-A lampou, ktorá bola zapnutá 5 minút pred spustením reakcie. Vzdialenosť lampy od reaktoru bola nastavovaná podľa požadovanej intenzity ožiarenia $4 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$, ktorá bola meraná pomocou UV metra. Pri odoberaní vzoriek bola lampa prekrytá. Pri dvoch experimentoch bol použitý zdroj externého elektrického potenciálu nastavený na 1 V. Požadovaná hodnota bola meraná digitálnym voltmetrom.

Pred aj po každom meraní bola kyveta, elektródy, magnetické miešadlo a prebublávanie oplachované etanolom a následne sterilizovanou vodou, aby sa zabránilo prípadnej kontaminácii.



Obr. 6: Aparatúra pre experiment



Obr. 7: Použité elektródy na ľavo protielektroda-Au na pravo pracovná elektroda-TiO₂

3.4.5 Stanovenie buniek nepriamou metódou

V daných časových intervaloch experimentu (0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 minút) bolo z kyvety sterilne odobraných dvakrát 500 µl kontaminovanej vody, ktorý bol pomocou mikropipety prenesený na dno prázdnej sterilnej Petriho misky. Odber bol v čase 0 minút prevedený trikrát paralelne vedľa seba a v ostatných časových intervaloch bol prevedený vždy dvakrát paralelne vedľa seba. Zo skúmavky s riedením 10^{-7} , bol tiež odobraný 1 ml a prenesený pomocou mikropipety na dno prázdnej Petriho misky, trikrát paralelne vedľa seba. Následne boli vzorky dvakrát preliate sterilným vytemperovaným agarom a krúživým pohybom boli premiešané.

Kultivácia prebiehala v biologickom termostate pri teplote 37 °C po dobu 72 hodín. Následným počítaním vyrastených kolónií na agarových platniach bol z priemernej hodnoty zistený počet buniek v 1 ml roztoku.

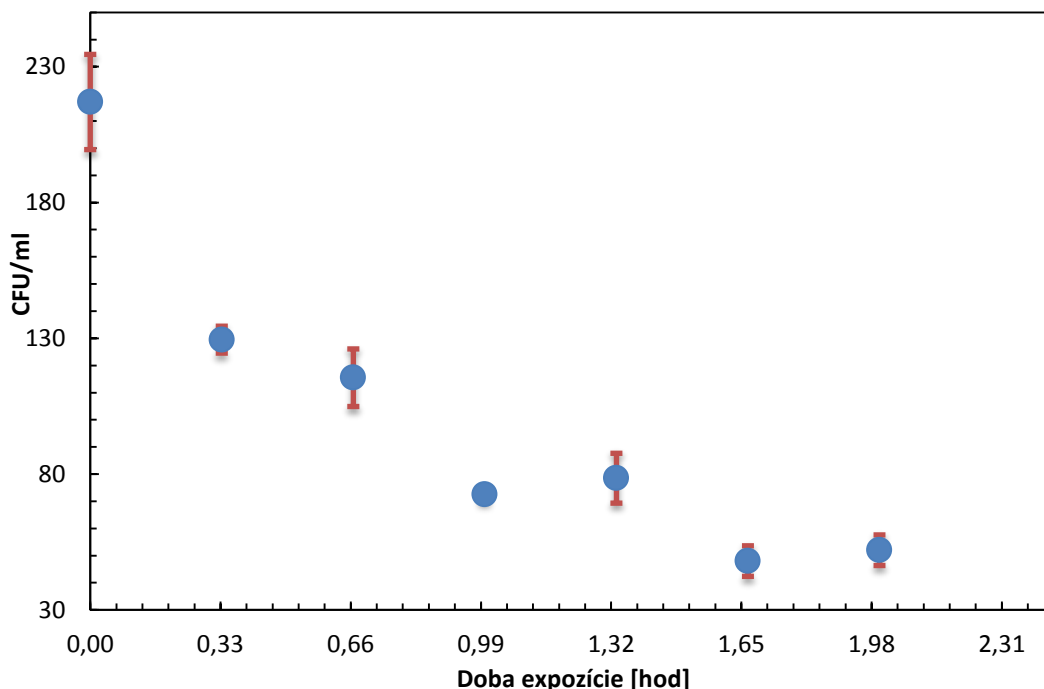
4. VÝSLEDKY A DISKUSIA

4.1 Overenie elektrofotokatalytickej dezinfekcie

Na všetky experimenty bol použitý bakteriálny kmeň *Escherichia coli* CCM 3988. Pri meraniach bolo použité desiatkové zriedenie bakteriálnej kultúry na získanie vhodnej koncentrácie 10^5 CFU/ml. Stanovenie počtu životaschopných buniek bolo prevádzané nepriamou metódou a vzorky boli odobrané v časovom intervale každých 20 minút po dobu dvoch hodín. Počet narastených kolónií sa sledoval v jednotlivých časoch za rôznych podmienok merania. Každý experiment prebiehal za zvýšeného prísunu kyslíka a ostatné podmienky boli obmieňané buď bolo pridávané iba UV žiarenie alebo iba napätie, alebo kombinácia UV žiarenia s napätím. Následne bol zistený počet živých buniek z priemernej hodnoty paralelných stanovení. Do grafov boli vynesené namerané hodnoty, ktoré znázorňujú počet prežitých bakteriálnych buniek v závislosti na dobe trvania experimentu.

4.1.1 Slepý pokus

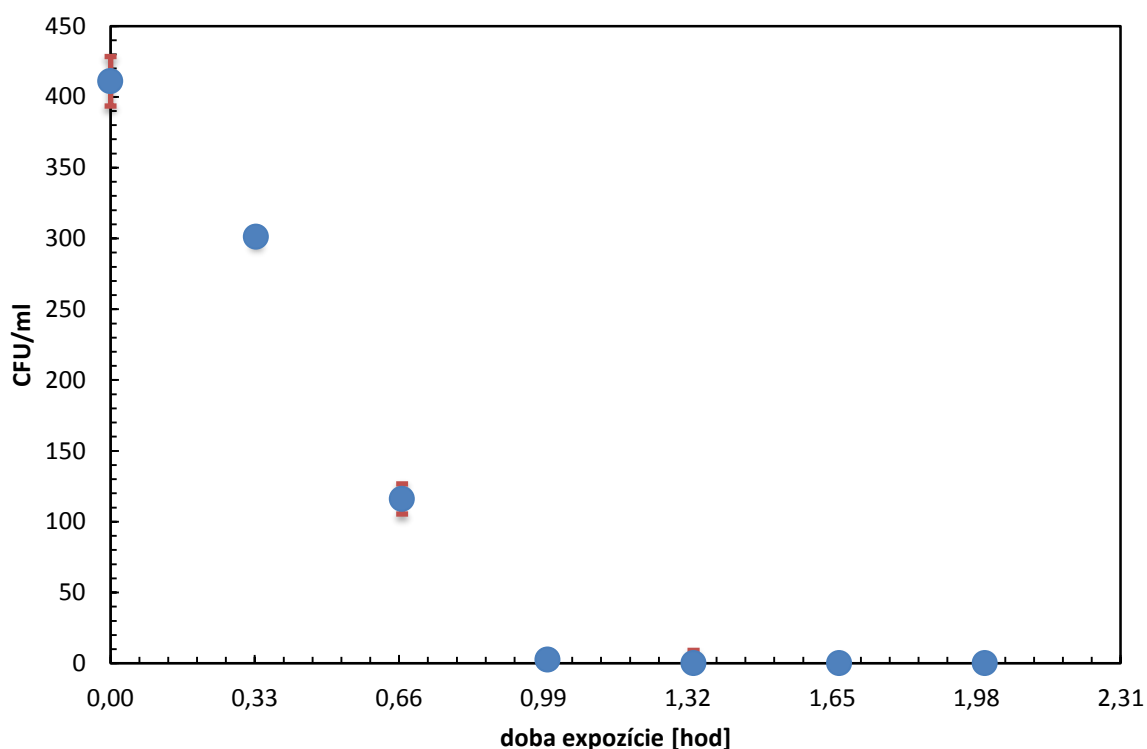
Najprv bola zisťovaná inaktivácia baktérie *E. coli* CCM 3988 na slepom pokuse iba za intenzívneho prísunu kyslíku do kyvety bez ultrafialového žiarenia (UV). Namerané výsledky (Obr. 8) ukazujú, že za stáleho prebublávania reakčnej zmesi dochádza k napádaniu a rozkladu bakteriálnych buniek. S dlhšou reakčnou dobou sa pomaly znižoval počet prežitých buniek ale 2 hodiny neboli postačujúce k úplnému odstráneniu mikroorganizmov.



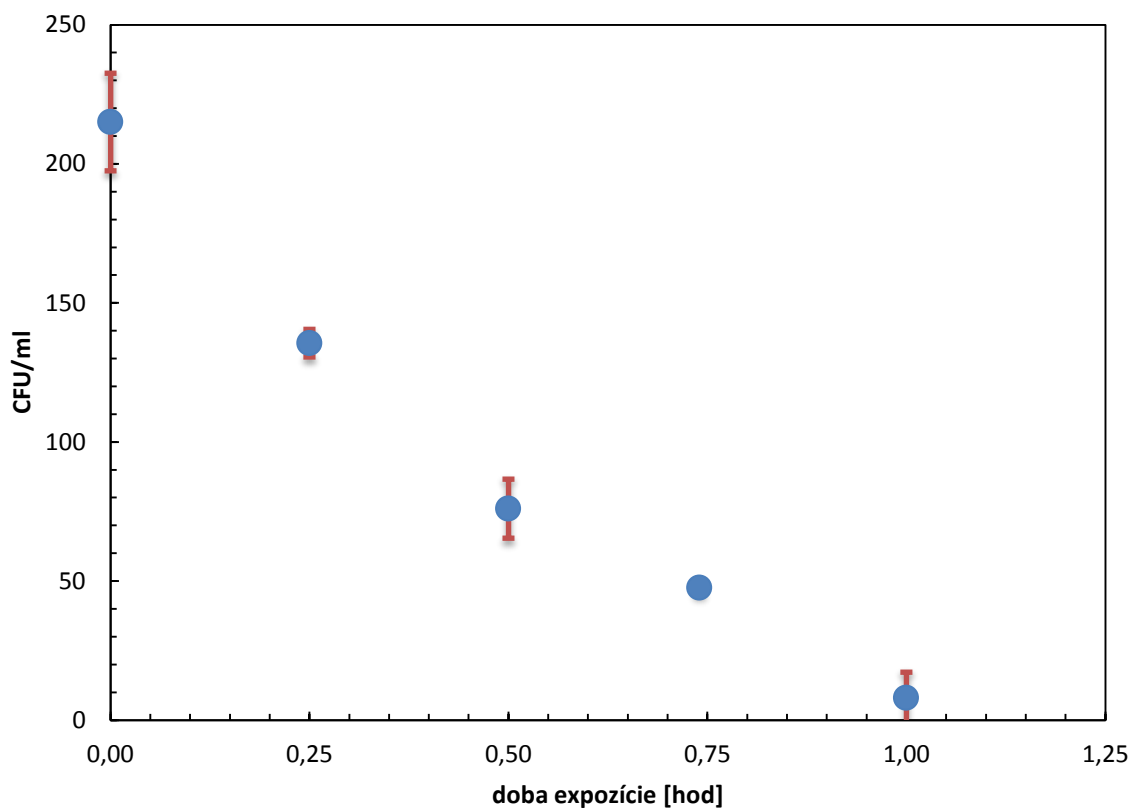
Obr. 8: Počet živých buniek *E. coli* CCM 3988 slepý pokus bez UV, za prítomnosti kyslíka.

4.1.2 UV žiarenie

Intenzita žiarenia bola zvolená na $4 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-2}$ za prítomnosti kyslíku. Za týchto podmienok boli uskutočnené dva experimenty s rôznou časovou dĺžkou merania. Meranie na overenie výsledkov prebiehalo 1 hodinu a vzorky boli odoberané v časových intervaloch (0, 15, 30, 60 minút). Počas merania, ktorého trvanie bolo 2 hodiny (Obr. 9) nastala kompletná inaktivácia všetkých životaschopných buniek už po 60 minútach od začatia reakcie. Pri druhom meraní (Obr. 10) došlo k výrazne rýchlemu zníženiu počtu buniek z 215 CFU/ml na 8 CFU/ml v priebehu hodiny. K úplnému usmrteniu buniek *E. coli* CCM 3988 pri ožiarení UV svetlom je potrebná doba dlhšia ako hodinu ale počas prvých 60 minút dochádza takmer k 100% úhynu živých buniek. Týmto sa potvrdzuje antibakteriálny účinok fotokatalýzy oxidom titaničitým.



Obr. 9: Počet živých buniek *E. coli* CCM 3988 pri ožiarení UV svetlom 2 hodiny.



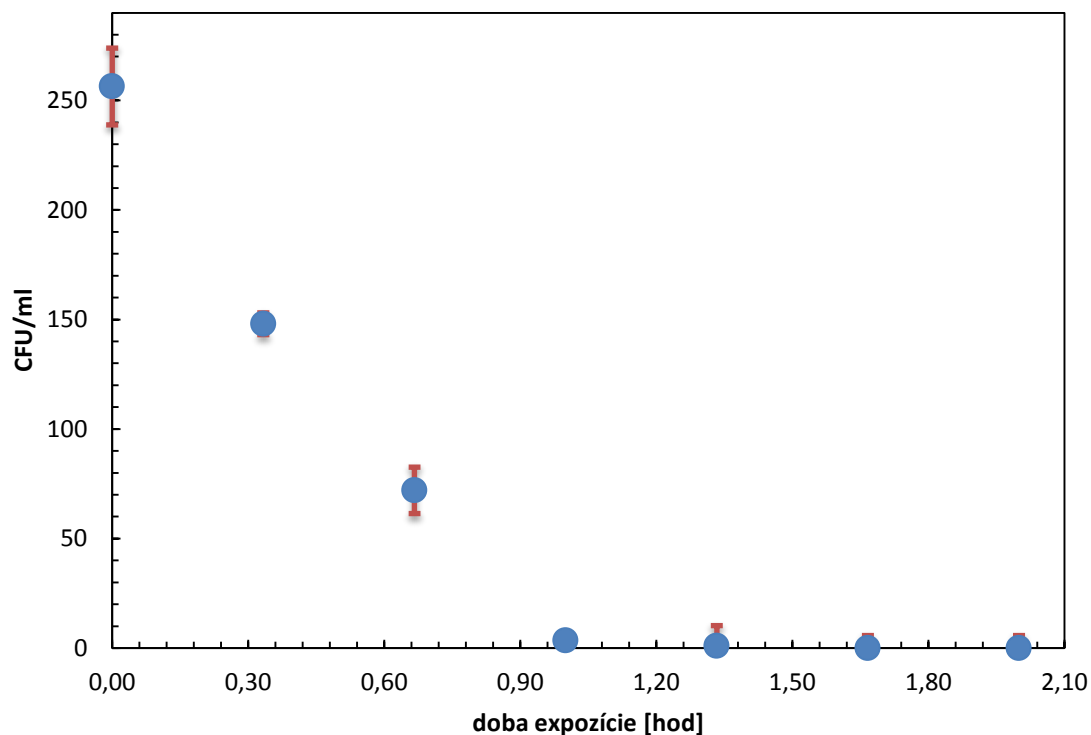
Obr. 10: Počet živých buniek *E. coli* CCM 3988 pri ožiarení UV svetlom 1 hodinu.

4.1.3 Napätie

Pre túto reakciu bolo aplikované napätie zvolené na 1 V. Aj v tomto prípade za prítomnosti prúdu nastáva pokles bakteriálnych buniek z 205 CFU/ml na 71 CFU/ml. Pridanie prúdu výrazne neovplyvnilo reakciu, pretože nedošlo ani k urýchleniu ani k spomaleniu, pri deštrukcii životaschopných buniek oproti experimentu, ktorý bol prevádzaný iba za prítomnosti kyslíku bez UV žiarenia.

4.1.4 UV žiarenia a napätie

Hodnoty UV žiarenia a napätia boli nastavené rovnako ako v predchádzajúcich prípadoch a za stáleho prístupu kyslíku. Pri reakcii, ktorá trvala dve hodiny (Obr. 11) došlo tiež k úplnému odstráneniu mikroorganizmov z roztoku, a týmto sa preukázal pozitívny účinok na likvidáciu baktérií pomocou elektrofotokatalýzy. Po 80 minútach nastal 100% úhyn baktérii ale v porovnaní s experimentom, kde bolo použité UV svetlo bez napätia je tento čas pre usmrtenie všetkých buniek gramnegatívnej baktérii *E. coli* dlhší.



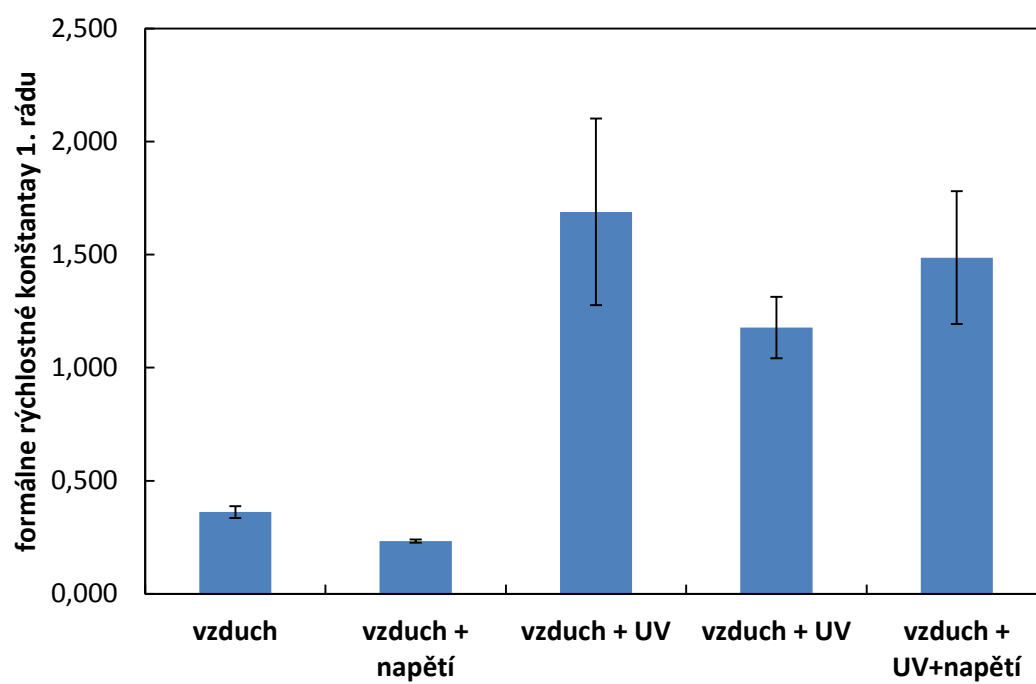
Obr. 11: Počet živých buniek *E. coli* CCM 3988 na čase pri UV žiarení a napätí.

4.1.5 Kinetika prevádzaných reakcií

Fotokatalytické a elektrofotokatalytické reakcie prebiehajú mechanizmom reakcií 1. rádu. Formálne rýchlostné konštanty boli vypočítané zlinearizovanej rovnice 1. poriadku :

$$-\ln \frac{c}{c_0} = k \cdot t \quad (12)$$

Rýchlostná konštanta je smernicou priamky a spolu s ich chybou sú zobrazené na obrázku 12 (Obr. 12). Najvyššiu rýchlostnú konštantu vykazuje reakcia za prítomnosti vzduchu a UV žiarenia a zase naopak najnižšiu za použitia napätia a prebublávania.



Obr. 12: *Formálne rýchlostné konštanty 1. rádu pre všetky typy reakcii.*

5. ZÁVER

Cieľom bakalárskej práce bolo overiť elektrofotokatalytickú dezinfekciu vo vodnom prostredí. Antibakteriálne a dezinfekčné účinky oxidu titaničitého pri ožiarení UV svetlom boli testované na vybranej gramnegatívnej baktérii *Escherichia coli*.

Výsledky potvrdzujú, že generované ROS radikály prostredníctvom fotokatalýzy alebo elektrofotokatalýzy hrajú veľkú rolu pri baktericídnom procese, pretože za použitia týchto metód bolo usmrtenie mikroorganizmov najrýchlejšie.

- Pri reakcii, ktorá prebiehala za intenzívneho prísunu kyslíku bez UV žiarenia nastal pokles živých buniek ale v priebehu dvoch hodín nedošlo k zničeniu všetkých živých buniek. Tento spôsob dezinfekcie sa javí ako časovo náročný.
- U ďalšieho experimentu bolo sledované použité napätie 1 V na TiO_2 elektródu. Účinok prúdu bez prítomnosti UV žiarenia za prepublávania nepreukázal žiadne významné zmeny v koncentrácií *E. coli*. Tým sa zistilo, že anódový potenciál sám o sebe nemá žiadny vplyv na inaktiváciu baktérií.
- Keď bola baktéria vystavená UV žiareniu a prísunu kyslíka degradácia všetkých buniek prebehla počas 60 minút. Radikály vytvorené v priebehu reakcie vykazovali silný antibakteriálny efekt. Z výsledkov vyplýva, že najväčší a najefektívnejší účinok nastáva za ožiarenia vrstvy oxidu titaničitého UV svetlom, pretože tento proces je schopný zničiť 100% životaschopných buniek *E. coli* z počiatočnej koncentrácie za najrýchlejší čas.
- Elektrofotokatalytický systém, ktorý využíva aplikáciu externého elektrického potenciálu sa nepotvrdil ako najúčinnější pre baktériu *E. coli*. Hoci systém vykazoval baktericídny efekt, ktorý bol preukázaný schopnosťou deaktivovať a rýchlo rozkladať bunky baktérii v reakčnej zmesi ale nie až v takej dostatočnej miere, pretože k úplnému zničeniu životaschopných buniek došlo až po 80 minútach čo pri fotokatalýze už pri 60 minútach.

Týmto súborom experimentov sa nepodarilo dokázať jednoznačný vplyv vloženého napätia na elektródy a teda pôsobenie elektrofotokatalytického procesu na daný mikroorganizmus. Jedným z dôvodov je vysoká citlivosť použitého druhu *E. coli* na generované kyslíkové radikály.

6. ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] PEKAŘ, Miloslav. *Fyzikální chemie a fotochemie: [praktikum]*. Brno: Vysoké učení technické, 2003. ISBN 80-214-2470-2.
- [2] NAVRÁTIL, Vladislav a Lukáš PAWERA. *Fotokatalýza v praxi a ve škole*. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN 978-80-210-7157-5.
- [3] PŘIDAL, Jaroslav, Jiří PŘIDAL a Antonín URBAN. Fotokatalyticky aktivní membránová separace - vývoj procesu a laboratorní techniky. *Chemické listy*. 2007, **101**, 722-729. ISSN 1213-7103.
- [4] ALROUSAN, Dheaya M.A., Patrick S.M. DUNLOP, Trudy A. MCMURRAY a J. Anthony BYRNE. Photocatalytic inactivation of E. coli in surface water using immobilised nanoparticle TiO₂ films: Lecture Notes from the 2nd ERCOFTAC Summerschool held in Stockholm, 10-16 June, 1998. *Water Research*. 2009, **43**(1), 47-54. DOI: 10.1016/j.watres.2008.10.015. ISSN 00431354.
- [5] FUJISHIMA, Akira, Kazuhito HASHIMOTO a Toshiya WATANABE. *TiO₂ Fotokatalýza: základy a aplikace*. Praha: Silikátový svaz, 2002. ISBN 80-903-1133-4.
- [6] CASTELLOTE, Marta a Nicklas BENGTTSSON. Principles of TiO₂ Photocatalysis. *Applications of Titanium Dioxide Photocatalysis to Construction Materials*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2011, , 5. DOI: 10.1007/978-94-007-1297-3_2. ISBN 978-94-007-1296-6.
- [7] ŠTENGL, Václav. Kouzelný oxid titaničitý: Jak se zbavit toxických látek. *Vesmír*. 2008, **87**(6), 402-403. ISSN 1214-4029.
- [8] PALMAS, S., A.M. POLCARO, J. Rodriguez RUIZ, A. DA POZZO, A. VACCA, M. MASCIA, F. DELOGU a P.C. RICCI. *Effect of the mechanical activation on the photoelectrochemical properties of anatase powders*. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2009.07.058. ISBN 10.1016/j.ijhydene.2009.07.058.
- [9] BENABBOU, A.K., Z. DERRICHE, C. FELIX, P. LEJEUNE a C. GUILLARD. Photocatalytic inactivation of Escherichia coli. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2007, **76**(3-4), 257-263. DOI: 10.1016/j.apcatb.2007.05.026. ISSN 09263373.
- [10] PIGEOT-RÉMY, S., F. SIMONET, E. ERRAZURIZ-CERDA, J.C. LAZZARONI, D. ATLAN a C. GUILLARD. Photocatalysis and disinfection of water: Identification of potential bacterial targets. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2011, **104**(3-4), 390-398. DOI: 10.1016/j.apcatb.2011.03.001. ISSN 09263373.
- [11] VESELÁ, Mária. Antimikrobiální aktivita oxidu titaničitého. *Chcempoint* [online]. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2012 [cit. 2016-04-11]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/antimikrobiální-aktivita-oxidu-titaniciteho>

- [12] SUNADA, Kayano, Toshiya WATANABE a Kazuhito HASHIMOTO. Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2003, **156**(1-3), 227-233. DOI: 10.1016/S1010-6030(02)00434-3. ISSN 10106030.
- [13] TSUANG, Yang-Hwei, Jui-Sheng SUN, Yu-Chen HUANG, Chung-Hsin LU, Walter Hong-Shong CHANG a Chien-Che WANG. Studies of Photokilling of Bacteria Using Titanium Dioxide Nanoparticles. *Artificial Organs*. 2008, **32**(2), 167-174. DOI: 10.1111/j.1525-1594.2007.00530.x. ISSN 0160-564x.
- [14] HUANG, Zheng, Pin-Ching MANESS, Daniel M. BLAKE, Edward J. WOLFRUM, Sharon L. SMOLINSKI a William A. JACOBY. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2000, **130**(2-3), 163-170. DOI: 10.1016/S1010-6030(99)00205-1. ISSN 10106030
- [15] RAZI, Ahmad a Sardar MERYAM. TiO₂ NANOPARTICLES AS AN ANTIBACTERIAL AGENTS AGAINST E. coli. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 2013, **2**(8), 3569-3574. ISSN 2319-8753.
- [16] KIWI, J. a V. NADTOCHENKO. Evidence for the Mechanism of Photocatalytic Degradation of the Bacterial Wall Membrane at the TiO₂ Interface by ATR-FTIR and Laser Kinetic Spectroscopy. *Langmuir*. 2005, **21**(10), 4631-4641. DOI: 10.1021/la046983l. ISSN 0743-7463.
- [17] MANESS, Pin-Ching, Sharon SMOLINSKI, Daniel M. BLAKE, Zheng HUANG, Edward J. WOLFRUM a William A. JACOBY. Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*. 1999, **65**, 4094-4098.
- [18] Fotokatalýza TiO₂. *Advanced technology group*. [online]. © 2008 [cit. 2016-04-15]. Dostupné také z : <http://www.atg.cz/ndt-302>
- [19] LI, Guiying, Xiaolu LIU, Haimin ZHANG, Po-Keung WONG, Taicheng AN a Huijun ZHAO. Comparative studies of photocatalytic and photoelectrocatalytic inactivation of E. coli in presence of halides. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2013, 140-141, 225-232. DOI: 10.1016/j.apcatb.2013.04.004. ISSN 09263373.
- [20] DZIK, Petr, Michal VESELÝ, Marcela KRÁLOVÁ a Michael NEUMANN-SPALLART. Ink-jet printed planar electrochemical cells. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2015, 178, 186-191. DOI: 10.1016/j.apcatb.2014.09.030. ISSN 09263373.
- [21] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Aplikovaná a technická hydrobiologie*. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-708-0521-8.
- [22] Úprava vody-Dezinfekcia vody. *Prominent* [online]. © 2016 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: <http://www.prominent.sk/Aplik%C3%A1cie/Dezinfekcia-vody-2/Dezinfekcia-vody.aspx>

- [23] HERRERA MELIÁN, J.A., J.M. DOÑA RODRÍGUEZ, A. VIERA SUÁREZ, E. TELLO RENDÓN, C. VALDÉS DO CAMPO, J. ARANA a J. PÉREZ PEÑA. *The photocatalytic disinfection of urban waste waters*. DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00502-0. ISBN 10.1016/S0045-6535(99)00502-0.
- [24] VERDIER, Thomas, Marie COUTAND, Alexandra BERTRON a Christine ROQUES. Antibacterial Activity of TiO₂ Photocatalyst Alone or in Coatings on E. coli: The Influence of Methodological Aspects. *Coatings*. 2014, 4(3), 670-686. DOI: 10.3390/coatings4030670. ISSN 2079-6412.
- [25] LI, Guiying, Xiaolu LIU, Haimin ZHANG, Taicheng AN, Shanqing ZHANG, Anthony R. CARROLL a Huijun ZHAO. In situ photoelectrocatalytic generation of bactericide for instant inactivation and rapid decomposition of Gram-negative bacteria. *Journal of Catalysis*. 2011, 277(1), 88-94. DOI: 10.1016/j.jcat.2010.10.011. ISSN 00219517.
- [26] BARAM, Nir, David STAROSVETSKY, Jeana STAROSVETSKY, Marina EPSHTEIN, Robert ARMON a Yair EIN-ELI. Enhanced inactivation of E. coli bacteria using immobilized porous TiO₂ photoelectrocatalysis. *Electrochimica Acta*. 2009, 54(12), 3381-3386. DOI: 10.1016/j.electacta.2008.12.033. ISSN 00134686.
- [27] SELCUK, Huseyin. Disinfection and formation of disinfection by-products in a photoelectrocatalytic system. *Water Research*. 2010, 44(13), 3966-3972. DOI: 10.1016/j.watres.2010.04.034. ISSN 00431354.
- [28] NĚMEC, Miroslav a Dagmar MATOULKOVÁ. *Základy obecné mikrobiologie*. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7923-6.
- [29] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-1024-6.
- [30] KAPRÁLEK, František. *Fyziologie bakterií*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1983.
- [31] BURSOVÁ, Šárka, Lenka NECIDOVÁ a Marta DUŠKOVÁ. *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-741-1.
- [32] VESELÁ, Mária. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. Vyd. 3. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2004. ISBN 80-214-2567-9.

7. ZOZNAM SKRATIEK

G⁻ — gramnegatívna baktéria

RNA — ribonukleová kyselina

DNA — deoxyribonukleová kyselina

ROS — reaktívne formy kyslíka

TiO₂ — oxid titaničitý

UV svetlo — ultrafialové svetlo

E.coli — *Escherichia coli*

MDA — malondialdehydu

vc — valenčný pás

cb — vodivostný pás

h⁺ — elektrónová diera

e⁻ — elektróny

THM— trihalogénmetány