



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ**

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ»

**«Ο ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΣΕ ΤΕΧΝΗΤΟΥΣ**  
**ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ**  
**ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΣΕ ΑΥΤΟΝ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ  
Παπαγεωργίου Ναυσικά

Επιβλέπων, Νικόλαος Β. Παρανυχιανάκης

ΧΑΝΙΑ 2013



## Ευχαριστίες

Ευχαριστώ πολύ όσους συνέβαλαν με την παρουσία τους, τη βοήθειά τους, την κατανόηση, τη δύναμη και τη στήριξή τους για την ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής.

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες .....	1
Περιεχόμενα.....	2
Περίληψη .....	4
Summary .....	5
Συνοτομογραφίες .....	6
Κεφάλαιο 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	7
1.1 Τεχνητοί Υγροβιότοποι -TY- (Treatment/Constructed Wetlands –TW–CW).....	7
1.1.1 TY επιφανειακής ροής (FWS).....	8
1.1.2 TY Οριζόντιας Υπό-Επιφανειακής Ροής (SSFS) .....	8
1.1.3 TY Κατακόρυφης Υπό-Επιφανειακής Ροής (VSSF) .....	9
1.2 Βλάστηση των TY .....	10
1.3 Έδαφος και υπόστρωμα στους TY .....	11
1.4 Σχεδιασμός παραμέτρων στους TY .....	11
1.5 Ο Βιογεωχημικός Κύκλος του Αζώτου (N) .....	12
1.5.1 Διεργασίες μετασχηματισμού-απομάκρυνσης N .....	14
1.5.1.1 ΑΜΜΩΝΙΑΚΗ ΕΞΑΧΝΩΣΗ/ΕΞΑΤΜΙΣΗ (ammonia volatilization).....	14
1.5.1.2 ΑΜΜΩΝΙΟΠΟΙΗΣΗ (ammonification) .....	14
1.5.1.3 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ (nitrification) .....	15
1.5.1.4 ΑΝΑΓΩΓΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ –(nitrate-ammonification) .....	19
1.5.1.5 ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ (denitrification).....	19
1.5.1.6 ΔΕΥΣΜΕΥΣΗ N (N fixation) .....	22
1.5.1.7 ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ (plant uptake and assimilation) .....	22
1.5.1.8 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ NH <sub>4</sub> -N (ammonia adsorption) .....	23
1.5.1.9 Εναπόθεση οργανικού-N (organic N burial).....	24
1.5.1.10 ΑΝΑΜΜΟΧ .....	24
1.5.2 Διεργασίες που καθορίζουν το γίνεσθαι του N στους TY .....	27
1.6 Στόχος – σκοπός της εργασίας.....	31
Κεφάλαιο 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ-ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ .....	32
2.1 Πειραματικός Σχεδιασμός.....	32
2.2 Δειγματοληψίες-Αναλύσεις .....	35
2.3 Πρωτόκολλα Μετρήσεων .....	35

2.4 Στατιστική Ανάλυση Επίδρασης της διαφορετικής βλάστησης στην απομάκρυνση του N .....	36
Κεφάλαιο 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	37
3.1 Απόδοση ΤΥ.....	37
3.2 Μείωση της συγκέντρωσης COD .....	37
3.3 Συγκέντρωση $\text{NH}_4\text{-N}$ .....	39
3.4 Συγκέντρωση $\text{NO}_3\text{-N}$ .....	40
3.5 Amino Acids (AA – Αμινοξέα) .....	41
3.6 Ολικό N (TKN).....	42
3.8 Επίδραση της εξατμισοδιαπνοής (ΕΤο) .....	43
Κεφάλαιο 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	46
4.1 Απόδοση ΤΥ.....	46
4.2 Συγκέντρωση $\text{NH}_4\text{-N}$ .....	46
4.3 Συγκέντρωση $\text{NO}_3\text{-N}$ .....	47
4.4 Διεργασία ANAMMOX .....	47
Κεφάλαιο 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	49
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	50

## Περίληψη

Στην παρούσα Μεταπτυχιακή Διατριβή διερευνήθηκε ο κύκλος του Αζώτου (N) κατά την εφαρμογή Υγρών Αποβλήτων (ΥΑ) σε Τεχνητούς Υγροβιοτόπους Οριζόντιας Επιφανειακής Ροής (FWS). Για την επίτευξη του στόχου αυτού κατασκευάστηκαν στο Πολυτεχνείο Κρήτης έξι πιλοτικές μονάδες, δύο χωρίς βλάστηση, δύο φυτεμένοι με *Typha Latifolia* και δύο με *Arundo Donax*. Το πείραμα έλαβε χώρα κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες, χρησιμοποιήθηκε συνθετικό ΥΑ και πραγματοποιήθηκαν συχνές δειγματοληψίες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ισχυρή επίδραση της παρουσίας βλάστησης καθώς και του φυτικού είδους στην απομάκρυνση της  $\text{NH}_4\text{-N}$ , των ΑΑ και του ΤΚΝ. Επιπλέον, παρατηρήθηκε γενικότερα μία καλύτερη αντιμετώπιση στα συστήματα που ήταν φυτεμένα με *T. Latifolia* συγκριτικά με αυτά με *A. Donax*, η οποία παρατηρείται πιο ειδικά, τόσο στα ΑΑ, στην  $\text{NH}_4\text{-N}$  όσο και στο ΤΚΝ. Οι ρυθμοί απομάκρυνσης της  $\text{NH}_4\text{-N}$  ήταν αρνητικοί, και κυμάνθηκαν από  $-62 \text{ mg/m}^2/\text{d}$  (για ΤΥ που δεν έφεραν βλάστηση) έως  $-10 \text{ mg/m}^2/\text{d}$  (για τα συστήματα που ήταν φυτεμένα με *T. Latifolia*). Τα αποτελέσματα φανερώσουν παρεμπόδιση της νιτροποίησης, πιθανώς λόγω του ανοξικού περιβάλλοντος και του μικρού χρόνου παραμονής του αποβλήτου στα συστήματα. Η κύρια διεργασία απομάκρυνσης N στα υπό εξέταση συστήματα, φυτεμένα με *T. Latifolia*, φαίνεται να είναι η απονιτροποίηση (με ρυθμούς απομάκρυνσης έως  $61.95 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ ), ενώ για τα υπόλοιπα συστήματα δεν εμφανίζεται κύρια διεργασία απομάκρυνσης N. Η διεργασία ANAMMOX χρήζει περαιτέρω έρευνα και παρακολούθηση με εξειδικευμένες μεθόδους (FISH, qPCR, ισότοπα N). Τέλος, όλα τα παραπάνω, αναδεικνύουν την ανάγκη περαιτέρω έρευνας πάνω στη διερεύνηση του κύκλου του N στους ΤΥ, στην ποσοτικοποίηση της συνεισφοράς των ANAMMOX σε αυτόν, καθώς και στην βελτιστοποίηση του σχεδιασμού ΤΥ ως προς την απόδοση απομάκρυνσης N.

## Summary

Main goal of the present study was the investigation of the N cycle along with the contribution of vegetation on CW. For this purpose, six pilot FWCWs were built in Technical University of Crete, 2 without vegetation, 2 with *Typha Latifolia* and 2 with *Arundo Donax*. The experiment took place under controlled conditions with often samplings and the use of synthetic sewage. Results showed that there are significant differences between the wetlands that were planted and those who weren't regarding the removal of  $\text{NH}_4\text{-N}$ , AA and TKN. Additionally, there was observed a generally better confrontation in the systems that were planted with *T. Latifolia* compared to those planted with *A. Donax*, which is observed more specific in the AA,  $\text{NH}_4\text{-N}$  and TKN.  $\text{NH}_4\text{-N}$  removal rates were negative, and ranged between  $-62 \text{ mg/m}^2/\text{d}$  (for the unplanted systems) to  $-10 \text{ mg/m}^2/\text{d}$  (for systems planted with *T. Latifolia*). The results reveal inhibition of nitrification, probably because of the anoxic environment and the small retention time in the systems. The main N removal procedure in the examined CWs planted with *T. Latifolia* seems to be denitrification (with removal rates up to  $61.95 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ ), while for the rest CWs there doesn't seem to be a main N removal process. ANAMMOX procedure requires further research along with specialized methods (FISH, qPCR, N isotopes). Summarizing, all above show the need for further research on the N cycle in the CWs, on the quantification of the ANAMMOX contribution and on optimizing the design of the CWs regarding N removal efficiency.

## Συντομογραφίες

Άζωτο	-	N
Άνθρακας	-	C
Αμινοξέα	-	AA
Αμμωνία	-	NH <sub>4</sub> -N
Αμμώνιο	-	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
Διάζωτο/Dinitrogen	-	N <sub>2</sub>
Εξατμισοδιαπνοή	-	ETo
Νιτρικά	-	NO <sub>3</sub> -N
Νιτρικό Οξείδιο	-	NO
Νιτρώδες Οξείδιο	-	N <sub>2</sub> O
Νιτρώδη	-	NO <sub>2</sub> -N
Ολικό Άζωτο/Total Nitrogen	-	TN
Ολικό Άζωτο κατά Kjeldahl	-	TKN
Οξυγόνο	-	O <sub>2</sub>
Συνθετικό Απόβλητο	-	ΣΑ
Σύστημα Επεξεργασίας ΥΑ με φυτά που επιπλέουν ελεύθερα/ Free Floating Plants	-	FFP
Τεχνητοί Υγροβιότοποι	-	TY
TY Ελεύθερης Επιφάνειας Νερού	-	FWS
TY Κατακόρυφης Υποεπιφανειακής Ροής	-	VSSF
TY Οριζόντιας Υποεπιφανειακής Ροής	-	HSSF
Υγρά Απόβλητα	-	ΥΑ
Υδραυλικός Χρόνος Παραμονής	-	HRT
Φώσφορος	-	P
Φυσικά Συστήματα Επεξεργασίας	-	ΦΣΕ
Constructed Wetlands	-	CW
Treatment Wetlands	-	TW
Chemical Oxygen Demand/Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο	-	COD

## Κεφάλαιο 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι διαθέσιμοι υδατικοί πόροι είναι περιορισμένοι στον πλανήτη, γι' αυτό και πρέπει να επικεντρωθούμε στην μερική κάλυψη της ελλειμματικότητας των διαθέσιμων υδατικών πόρων με ανάκτηση και επαναχρησιμοποίηση των υγρών αποβλήτων (ΥΑ) που συνεπάγεται και ταυτόχρονη περαιτέρω προστασία του περιβάλλοντος. Η διάθεση αυτή πρέπει να είναι σχεδιασμένη ώστε να αποφευχθεί οποιοσδήποτε κίνδυνος για την υγεία του ανθρώπου, καθώς και ρύπανση του φυσικού περιβάλλοντος. Ο ορθός σχεδιασμός των συστημάτων επεξεργασίας ΥΑ προϋποθέτει γνώση των βασικών ποιοτικών και ποσοτικών παραμέτρων των ΥΑ, τον καθορισμό της βέλτιστης συγκέντρωσης μέσω των αποχετευτικών δικτύων και την ορθή επιλογή του συστήματος επεξεργασίας, ενώ ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στοιχείων, τοξικών ουσιών και των παθογόνων μικροοργανισμών. Οι απαιτήσεις της επεξεργασίας διαμορφώνονται από την ευαισθησία και το είδος του αποδέκτη.

### 1.1 Τεχνητοί Υγροβιότοποι -TY- (Treatment/Constructed Wetlands – TW–CW)

Οι Τεχνητοί Υγροβιότοποι (TY) ανήκουν στην κατηγορία των φυσικών συστημάτων επεξεργασίας Υγρών Αποβλήτων (ΥΑ). Η επεξεργασία των ΥΑ στα συστήματα αυτά γίνεται με φυσικές διεργασίες και μέσα, αξιοποιώντας τις φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες που συμβαίνουν στο φυσικό περιβάλλον με την αλληλεπίδραση του νερού, εδάφους, της ατμόσφαιρας και των μικροοργανισμών (Α.Ν. Αγγελάκης, Ν.Β. Παρανυχιανάκης, Κ.Π. Τσαγκαράκης, 2011).

Οι TY σήμερα χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία αστικών αποβλήτων, αποστραγγίσεων ορυχείων, αστικών απορροών, κτηνοτροφικών αποβλήτων, σηπτικών δεξαμενών που έχουν αστοχήσει, αγροτικών απορροών, υδατικών απορροών αυτοκινητόδρομων, χώρους υγειονομικής ταφής και διαφόρων βιομηχανικών αποβλήτων. Τέτοια συστήματα επεξεργασίας εντοπίζονται σε περιοχές που βρίσκονται στο επίπεδο της θάλασσας έως περιοχές υψόμετρου 1500 μέτρων και από τροπικές έως ημιαρκτικές περιοχές, όπως στο Οντάριο των ΗΠΑ και σε σκανδιναβικές χώρες. Αφού η λειτουργία τους βασίζεται σε χημικές και βιολογικές διαδικασίες, η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης ρύπων μειώνεται σε κάποιο βαθμό κατά την περίοδο επικράτησης χαμηλών θερμοκρασιών, αλλά και σε αυτές τις περιπτώσεις με την εφαρμογή κατάλληλων πρακτικών διαχείρισης η ποιότητα εκροής μπορεί να διατηρηθεί εντός των επιτρεπτών ορίων (Hammer, 1989).

Για την επεξεργασία των ΥΑ έχουν αναπτυχθεί δύο τύποι TY: α) TY επιφανειακής ροής (free water surface systems - FWS) και β) TY υπό-επιφανειακής ροής (subsurface flow systems - SSFS). Ειδική περίπτωση είναι οι υγροβιότοποι κατακόρυφης υπό-επιφανειακής ροής.

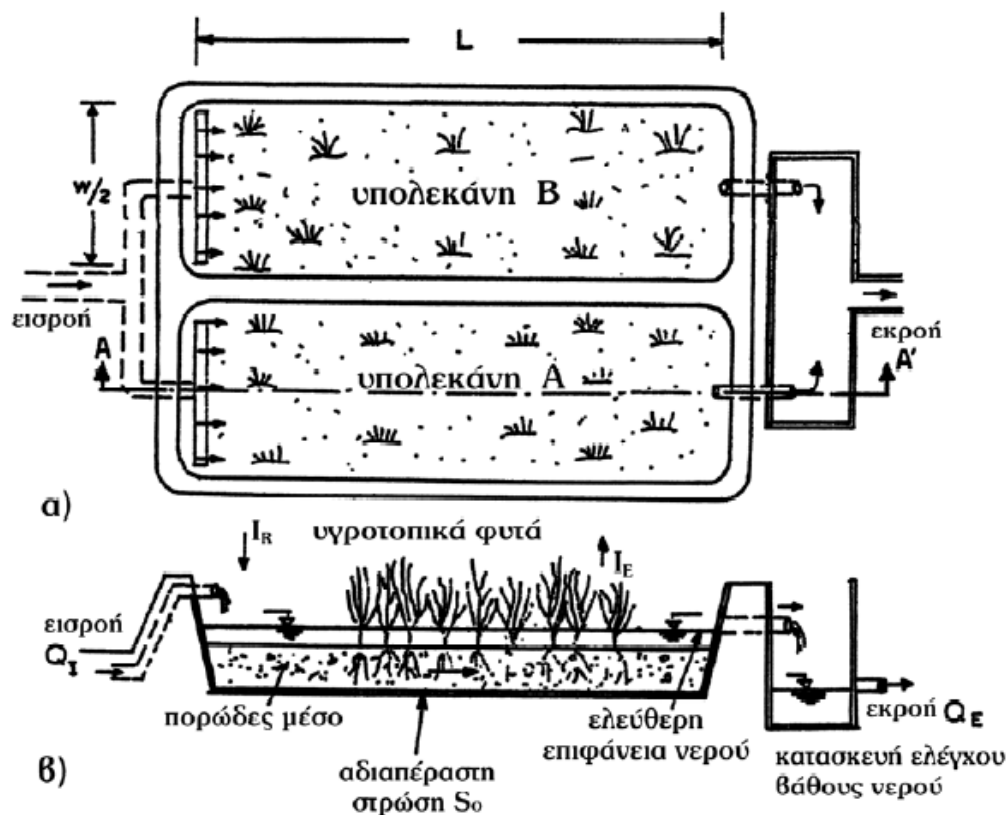
Αποτελούνται από τέσσερα κύρια συστατικά: τη βλάστηση, το ιζήμα και το έδαφος ή το πορώδες μέσο, τη μικροβιακή βιομάζα και μία υδατική φάση (Imfeld et al., 2009).



Η μικροβιακή κοινότητα στους ΤΥ αποτελείται από αυτόχθονους (autochthonous-indigenous) και αλλόχθονους (allochthonous-foreign) μικροοργανισμούς. Οι αυτόχθονοι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν προσαρμοστικές δυνατότητες –είναι σε θέση να διαθέτουν μεταβολική δραστηριότητα, να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν σε συστήματα υδροβιότοπων συμμετέχοντας στις διαδικασίες καθαρισμού– ενώ οι αλλόχθονοι μικροοργανισμοί (συμπεριλαμβανομένων και των παθογόνων που εισέρχονται με τα ΥΑ) συνήθως δεν επιβιώνουν ή δεν έχουν οποιαδήποτε λειτουργική σημασία στο περιβάλλον του υδροβιότοπου (Vymazal, 2005).

### 1.1.1 ΤΥ επιφανειακής ροής (FWS)

Αποτελούνται από στεγανή λεκάνη ή τάφρο στις οποίες έχει προστεθεί έδαφος ή άλλο κατάλληλο πορώδες μέσο για την φύτευση και την ανάπτυξη της βλάστησης. Το νερό που εφαρμόζεται ρέει επιφανειακά σε βάθος 10-15 cm κατά την οριζόντια κύρια διάσταση της λεκάνης πάνω στην επιφάνεια εδαφικού υλικού. Το βάθος των λεκανών του συστήματος κυμαίνεται από 50-70 cm (Καραμούζης, 2006). Στο σχήμα 1.1 παρουσιάζεται ένας FWS.

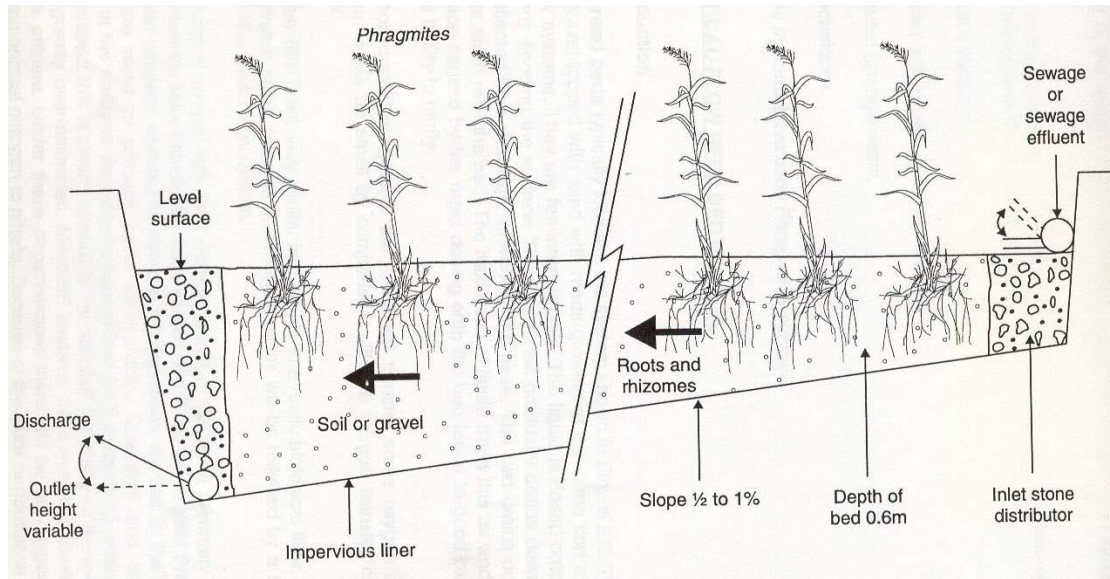


Σχήμα 1.1: FWS με δύο υπό-λεκάνες: α) κάτοψη, β) τομή ΑΑ' υπό λεκάνης Α (Καραμούζης 2006)

### 1.1.2 ΤΥ Οριζόντιας Υπό-Επιφανειακής Ροής (SSFS)

Στους SSFS το νερό ρέει οριζόντια, κάτω και μέσω του ριζώματος των φυτών. Το επίπεδο του νερού διατηρείται κάτω από την κορυφή του υποστρώματος. Αποτελείται από μία λεκάνη η οποία υποστηρίζει την ανάπτυξη της βλάστησης. Αυτού του τύπου οι ΤΥ φαίνεται να προκαλούν λιγότερα προβλήματα όσον αφορά τις οσμές, τα έντομα ή την έκθεση του

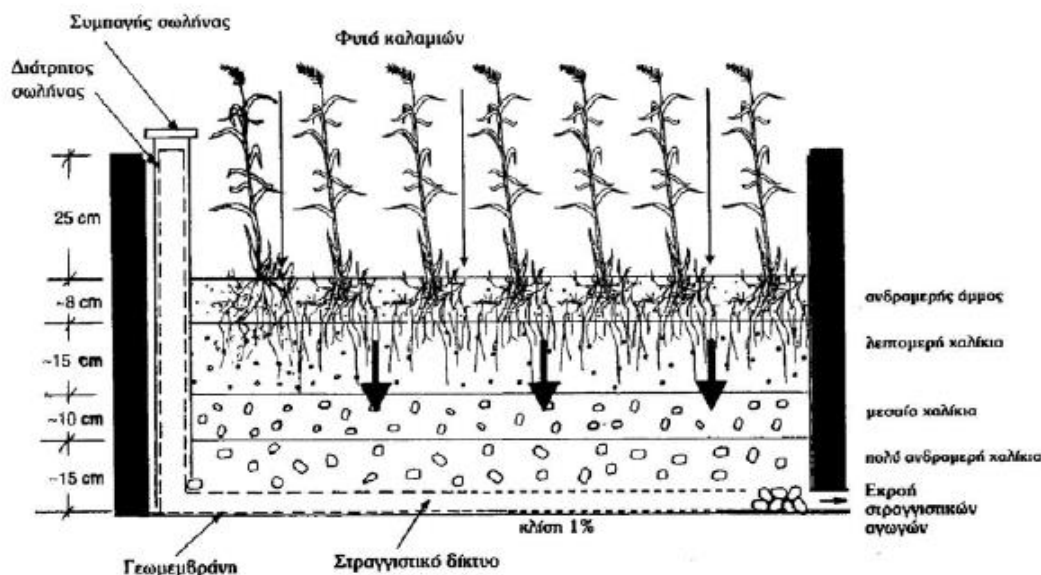
κοινού, και έτσι κρίνονται πιο κατάλληλα για την επεξεργασία των αποβλήτων (Yang et al., 2001). Η επεξεργασία του απόβλητου πραγματοποιείται μέσω μικροβιακής αποδόμησης και μέσω φυσικό-χημικών διεργασιών. Τόσο αναερόβιες όσο και αερόβιες διεργασίες λαμβάνουν χώρα μέσα στους πόρους του μέσου φίλτρανσης (άμμος ή χαλίκι) (Yang et al., 2001). Στο σχήμα 1.2 παρουσιάζεται ένας SSFS.



Σχήμα 1.2: Σχηματική παρουσίαση συστήματος SSFS (Tchobanoglous and Burton, 1996)

### 1.1.3 ΤΥ Κατακόρυφης Υπό-Επιφανειακής Ροής (VSSF)

Η κίνηση των ΥΑ στα συστήματα αυτά γίνεται μέσα από το πορώδες υλικό των λεκανών κατά την κατακόρυφη διεύθυνση και η στάθμη των λυμάτων βρίσκεται κάτω από την επιφάνεια του πορώδους μέσου των λεκανών (Καραμούζης 2006). Στο σχήμα 1.3 παρουσιάζεται ένας VSSF.



Σχήμα 1.3: Απεικόνιση συστήματος VSSF (Καραμούζης, 2006)

## 1.2 Βλάστηση των ΤΥ

Τα φυτά που χρησιμοποιούνται στα συστήματα ΤΥ είναι υδροχαρή, θα πρέπει να είναι συμβατά με τις τοπικές κλιματικές συνθήκες, ανθεκτικά σε τοπικές ασθένειες που ενδεχομένως θα αντιμετωπίσουν και οικολογικά αποδεκτά, να μην εμφανίζουν δηλαδή τον κίνδυνο παρασιτικής διασποράς τους, ή να επεμβαίνουν αρνητικά στις περιβαλλοντικές συνθήκες της περιοχής. Τα πιο συνήθη είδη που αναφέρονται στις περισσότερες βιβλιογραφίες και που διαβιούν και στη χώρα μας είναι τα ακόλουθα:

- Ψαθί (*Typha* spp.)
- Σύφη (*Scirpus* spp.)
- Καλάμι (λεπτό καλάμι, *Phragmites* spp.)
- Βούρλο (*Juncus* spp.)
- Σπαθόχορτο (*Carex* spp.)

Η βλάστηση συνεισφέρει σε πολλές λειτουργίες σε έναν ΤΥ, μεταξύ αυτών εκτιμάται ότι:

- Μεταφέρουν οξυγόνο ( $O_2$ ) μέσω των φύλων προς τις ρίζες. Σύμφωνα με τους Reed et al. (1995), η ποσότητα  $O_2$  που μπορεί να μεταφερθεί εξαρτάται από την πυκνότητα των φυτών και τα επίπεδα  $O_2$  στα φύλλα και μεταβάλλεται μεταξύ 5-45 g  $O_2/d/m^2$  επιφάνειας υδροβιότοπου. Αν και το περισσότερο από το  $O_2$  αυτό χρησιμοποιείται από τα φυτά, μέρος αυτού διαχέεται στη ριζόσφαιρα συνεισφέροντας στην επικράτηση αερόβιων διεργασιών όπως είναι η νιτροποίηση και η οξείδωση οργανικού υλικού (αφορά τους VSSF) (Brix, 1999).
- Λειτουργούν σαν βιολογικοί αντιδραστήρες. Το στέλεχος, τα φύλλα και οι ρίζες των φυτών δρουν ως μέσο προσκόλλησης μικροοργανισμών βελτιώνοντας την απόδοση (Stottmeister, 2003; Reed et al., 1995).
- Συμβάλουν στην σκίαση των ΤΥ και ελέγχουν την ανάπτυξη των φυκών, ενώ τα υπολείμματα της φυτικής ύλης, τα οποία πέφτουν στον πυθμένα, συντελούν στην θερμική μόνωση του αποβλήτου, ώστε να επηρεάζεται λιγότερο από χαμηλές θερμοκρασίες αέρα (Stein and Hook, 2005).

- Συνεισφέρουν στην απομάκρυνση θρεπτικών στοιχείων όταν ωστόσο πραγματοποιείται συγκομιδή και απομάκρυνση της βλάστησης. Η συμβολή της πρόσληψης από την φυτική βιομαζα έχει ωστόσο αμφισβητηθεί, τουλάχιστον στους FWS.

### 1.3 Έδαφος και υπόστρωμα στους ΤΥ

Το έδαφος και το υπόστρωμα είναι πολύ σημαντικά κομμάτια στο σύστημα του ΤΥ. Κατ' αρχήν, υποστηρίζουν τη βλάστηση και συμβάλουν στην ανάπτυξη των φυτών. Επιπλέον λειτουργούν σαν αποθηκευτικός χώρος για πολλά βιοτικά και αβιοτικά συστατικά, ενώ παρέχουν την απαιτούμενη επιφάνεια για την ανάπτυξη μικροοργανισμών και συμβάλλουν στη διήθηση και καθίζηση αιωρούμενων στερεών. Αναλόγως τη διαπερατότητα του υποστρώματος, επηρεάζεται η κίνηση του λύματος διαμέσου του υδροβιότοπου. Πολλοί μετασχηματισμοί, χημικοί και βιολογικοί (ειδικότερα οι μικροβιακοί) λαμβάνουν χώρα στο πορώδες μέσο. Το πορώδες μέσο δρα επίσης και ως αποθήκη για πολλά ρυπαντικά συστατικά ενώ η συσσώρευση ξερών φύλλων/κλαδιών αυξάνει την ποσότητα του οργανικού υλικού στον υδροβιότοπο. Τα οργανικά υλικά παρέχουν το απαιτούμενο υπόστρωμα για ανταλλαγή υλικών και μικροβιακή αφομοίωση, ενώ συγχρόνως αποτελούν και πηγή άνθρακα (C).

Το έδαφος των υδροβιότοπων είναι συνήθως πλημμυρισμένο με νερό ή είναι κορεσμένο με κύριο χαρακτηριστικό την έλλειψη  $O_2$ . Τα εδάφη που χρησιμοποιούνται στους ΤΥ είναι κατά κύριο λόγο ασυμπίεστα φυσικά υλικά που υποστηρίζουν την ανάπτυξη της βλάστησης και εδάφη κορεσμένα, στα οποία επικρατούν αναερόβιες συνθήκες για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά πολλών εδαφών και υποστρωμάτων μεταβάλλονται όταν ο υδροβιότοπος είναι πλημμυρισμένος. Σε ένα υπερπλήρες υπόστρωμα, το νερό αντικαθιστά τα ατμοσφαιρικά αέρια στους πόρους του υλικού και ο μικροβιακός μεταβολισμός καταναλώνει το διαθέσιμο  $O_2$ . Η γρήγορη αυτή κατανάλωση  $O_2$  είναι μεγαλύτερη από το  $O_2$  που παράγεται με τη διάχυση από την ατμόσφαιρα, με αποτέλεσμα να επικρατούν ανοξικές συνθήκες στο υπόστρωμα. Το περιβάλλον αυτό είναι πολύ ευνοϊκό για την απομάκρυνση ρύπων όπως N και μέταλλα. Η υδραυλική αγωγιμότητα του υποστρώματος παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στους ΤΥ, γιατί η διατήρησή της είναι αναγκαία για την σταθεροποίηση του υδραυλικού χρόνου παραμονής. Συστήματα με λεπτόκοκκο εδαφικό υπόστρωμα έχουν χαμηλότερη υδραυλική αγωγιμότητα, ενώ χοντρόκοκκη άμμος και χαλίκια εμφανίζουν μεγαλύτερη αγωγιμότητα (EPA, 2000).

### 1.4 Σχεδιασμός παραμέτρων στους ΤΥ

Γενικά, τα Φυσικά Συστήματα Επεξεργασίας (ΦΣΕ) είναι ικανά για απομάκρυνση, τουλάχιστον σε κάποιο βαθμό, όλων σχεδόν των κύριων και δευτερευόντων ρυπαντικών συστατικών των ΥΑ. Τέτοια συστατικά είναι: τα ολικά αιωρούμενα στερεά (SS), το οργανικό φορτίο (organic matter, -OM-), το N, ο P, τα ανόργανα και οργανικά σε ίχνη και οι μικροοργανισμοί (Αγγελάκης και Τσομπάνογλου, 1995).

Οι ΤΥ είναι σύνθετα συστήματα όσον αφορά τη βιολογία, τα υδραυλικά τους χαρακτηριστικά και τη χημεία του νερού. Ως εκ τούτου ο σχεδιασμός τέτοιων συστημάτων πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή και μελέτη. Οι εξισώσεις που χρησιμοποιούνται ποικίλουν ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν, τους ρυπαντές που πρέπει να

απομακρυνθούν, κτλ και είναι κυρίως εμπειρικές. Οι ΤΥ μπορούν να θεωρηθούν ως συστήματα προσκολλούμενης βιομάζας και η απόδοσή τους μπορεί να υπολογιστεί από την κινητική αντίδραση πρώτης τάξης για plug flow αντιδραστήρες με τροφοδοσία στο ένα άκρο της λεκάνης και συλλογής της εκροής στο άλλο άκρο της (εξίσωση 1.1) (Α.Ν. Αγγελάκης, Ν.Β. Παρανυχιανάκης, Κ.Π. Τσαγκαράκης, 2007).

$$\frac{C_e}{C_o} = \exp(-K_T t) \quad (1.1)$$

όπου,

$C_o$ = συγκέντρωση εισροής ρυπαντή, mg/L.

$C_e$ = συγκέντρωση εκροής ρυπαντή, mg/L.

$K_T$ = Σταθερά κινητικής εξαρτώμενη από τη θερμοκρασία,  $d^{-1}$ .

$t$ = υδραυλικός χρόνος παραμονής, d.

### 1.5 Ο Βιογεωχημικός Κύκλος του Αζώτου (N)

Η απομάκρυνση N είναι από τις πιο σημαντικές διεργασίες που συντελούνται σε έναν ΤΥ επεξεργασίας οικιακών ΥΑ και αναγνωρίζεται ως ο παραγοντας που περιορίζει την αποδοτικότητα επεξεργασίας στα συστήματα αυτά. Στο σχήμα 1.4 παρουσιάζονται σχηματικά οι κύριες διεργασίες απομάκρυνσης του N στους ΤΥ όπως έχουν αποσαφηνιστεί ως σήμερα. Ωστόσο, οι μορφές N, π.χ. οργανικό N, αμμωνία ( $NH_4-N$ ), ουρία [ $CO(NH_2)_2$ ] και νιτρικά ( $HNO_3-N$ ) μεταβάλλονται αρκετά ανάλογα με την πηγή και το επίπεδο της προ-επεξεργασίας. Σε πολλές περιπτώσεις η απομάκρυνση της  $NH_4-N$  μέσω της νιτροποίησης θεωρείται ικανοποιητική. Επακόλουθη απομάκρυνση  $NO_3-N$  μέσω της απονιτροποίησης απαιτείται επίσης. Υπάρχουν κάποιες ανησυχίες ως προς την έκταση κατά την οποία η απονιτροποίηση συμβάλει στην παραγωγή και ελευθέρωση  $N_2O$  που αποτελεί αέριο του θερμοκηπίου. Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει και η διεργασία ANAMMOX εξαιτίας της ικανότητάς τους να μετατρέπουν απευθείας  $NH_4-N$  σε  $N_2$  (Mulder et al., 1995). Συστατικά του κύκλου του N στους ΤΥ έχουν μελετηθεί πολύ καλά, και κυριαρχεί μία γενική ομολογία ότι οι μικροβιακές διαδικασίες επικρατούν στους μετασχηματισμούς, όμως πολύ λίγη έρευνα έχει επικεντρωθεί στην άμεση μικροβιακή ανάλυση. Σε αντίθεση οι περισσότερες μελέτες στηρίζονται σε έμμεσες μετρήσεις όπως την ποιότητα του εισερχόμενου/εξερχόμενου νερού, ώστε να επιβεβαιώσουν την παρουσία και δραστηριότητα των μικροοργανισμών για κάθε μία από τις διεργασίες μετασχηματισμού/απομάκρυνσης.



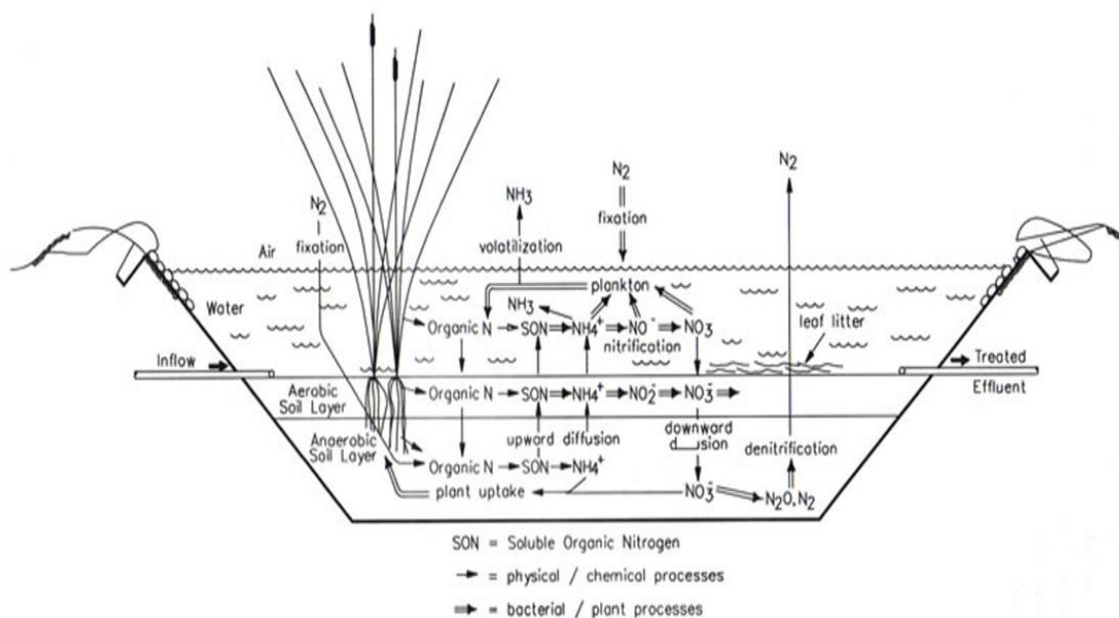


Figure 3.2 Nitrogen cycle in wetlands.

Σχήμα 1.4: Μηχανισμοί μετασχηματισμού N στους ΤΥ (Chang-gyun Lee et al., 2009)

Οι μηχανισμοί απομάκρυνσης N στους ΤΥ είναι πολλαπλοί και περιλαμβάνουν την εξάτμιση/εξάχνωση, αμμωνιοποίηση, νιτροποίηση-απονιτροποίηση, νιτρικά-αμμωνιοποίηση, δέσμευση  $N_2$ , μικροβιακή/αφομοίωση από τα φυτά, προσρόφηση  $NH_4-N$ , ενταφιασμός οργανικού N και ANAMMOX. Η νιτροποίηση-απονιτροποίηση θεωρούνταν γενικότερα η κύρια διεργασία απομάκρυνσης N (Claudiane et al., 2006; Kadlec and Knight, 1996; Jan Vymazal, 2005; Tanita and Kimberly, 2006; Tanner et al., 2002; Tjasa, 2006; Jetten et al., 1999) μέχρι το 1990 που ένα εναλλακτικό μονοπάτι, η διεργασία ANAMMOX, ανακαλύφθηκε (Mulder et al., 1995; van de Graaf et al., 1995). Η διεργασία ANAMMOX έχει αναφερθεί σε συστήματα επεξεργασίας ΥΑ τα οποία είναι πλούσια σε  $NH_4-N$  (Schmid et al., 2000a,b, 2003; Egli et al., 2001; Helmer et al., 2001; Rynjaert et al., 2003).

Το N μπορεί να προσροφηθεί στο εδάφος, στο οργανικό υλικό που εναποτίθεται στον πυθμένα των ΤΥ και να αφομοιωθεί από τους μικροοργανισμούς. Η ρόφηση και η μικροβιακή αφομοίωση είναι γρήγορες, όμως η υψηλή αφομοίωση από τα φυτά είναι σχετικά πιο αργή. Η αποσύνθεση των φυτών (συμπεριλαμβανομένων ριζών και ριζιδίων) είναι επίσης σχετικά αργή, με κύκλο τιμών από μήνες έως χρόνια. Εξαιρουμένης αυτής της πολυπλοκότητας, οι περισσότερες έρευνες συνεχίζουν να ερμηνεύουν την απομάκρυνση N στους ΤΥ σε σταθερή κατάσταση, «πράσινου κουτιού», σε βάση εισόδου – εξόδου (USEPA, 1999, 2000). Τέτοιες αναλύσεις είναι καταδικασμένες από χρονικούς παράγοντες που σχετίζονται με τη μείωση του N μέσα στις μεγάλες εσωτερικές αποθήκες του υδροβιότοπου. Η πιο σημαντική μορφή ανόργανου N στους υδροβιότοπους είναι το αμμώνιο ( $NH_4^+$ ), τα νιτρώδη ( $NO_2^-$ -N) και τα νιτρικά ( $NO_3^-$ -N). Το αέριο N μπορεί να υπάρχει ως διάζωτο/dinitrogen ( $N_2$ ), νιτρώδες οξείδιο ( $N_2O$ ), νιτρικά οξείδια ( $NO_2$  και  $N_2O_4$ ) και αμμωνία

(NH<sub>4</sub>-N) (Vymazal J., 2006). Στον πίνακα 1.1, φαίνονται οι σημαντικότεροι μετασχηματισμοί του N.

Πίνακας 1.1: Μετασχηματισμοί N στους ΤΥ (Vymazal J., 2006)

Διεργασία	Μετασχηματισμός
Εξάχνωση/Εξάτμιση	Ammonia – N (aq) → ammonia – N (g)
Αμμωνιοποίηση	Organic –N → ammonia –N
Νιτροποίηση	Ammonia – N → nitrite – N → nitrate – N
Νιτρικά-Αμμωνιοποίηση	Nitrate – N → ammonia – N
Απονιτροποίηση	Nitrate – N → nitrite – N → gaseous N <sup>2</sup> , N <sup>2</sup> O
Δέσμευση N <sup>2</sup>	Gaseous N <sup>2</sup> → ammonia – N (organic – N)
Μικροβιακή/φυτική αναρρόφηση (αφομοίωση)	Ammonia-, nitrite-, nitrate – N → organic – N
Προσρόφηση NH <sub>4</sub> -N	
Ενταφιασμός οργανικού N	
ANAMOX (αναερόβια οξείδωση NH <sub>4</sub> -N)	Ammonia – N → gaseous N <sup>2</sup>

Οι ποικίλες μορφές του N εμπλέκονται συνεχώς σε χημικούς μετασχηματισμούς από ανόργανες σε οργανικές ενώσεις και πίσω από οργανικές σε ανόργανες. Μερικές από αυτές τις διεργασίες απαιτούν ενέργεια (τυπικά εξερχόμενη από μία πηγή οργανικού C) ώστε να ξεκινήσουν, και άλλες απελευθερώνουν ενέργεια, η οποία χρησιμοποιείται από τους μικροοργανισμούς για την ανάπτυξη και επιβίωση τους. Όλοι αυτοί οι μετασχηματισμοί είναι απαραίτητοι για τα οικοσυστήματα των υδροβιότοπων ώστε να λειτουργήσουν σωστά, και οι περισσότερες χημικές αλλαγές ελέγχονται μέσω της παραγωγής ενζύμων και καταλυτών των ζώντων μικροοργανισμών που επωφελοούνται (Vymazal., 2006).

### 1.5.1 Διεργασίες μετασχηματισμού-απομάκρυνσης N

#### 1.5.1.1 ΑΜΜΩΝΙΑΚΗ ΕΞΑΧΝΩΣΗ/ΕΞΑΤΜΙΣΗ (ammonia volatilization)

Η εξάχνωση NH<sub>4</sub>-N είναι μια φυσικοχημική διεργασία όπου το NH<sub>4</sub>-N βρίσκεται σε ισορροπία μεταξύ αέριας και υδροξυλιακής μορφής. Οι Reddy και Patrick (1984) έδειξαν ότι η απώλεια της NH<sub>4</sub>-N μέσω της εξάχνωσης από πλημμυρισμένα εδάφη και δεξαμενές καθίζησης είναι αμελητέα εάν η τιμή του pH είναι κάτω από 7,5 και πολύ συχνά οι απώλειες δεν είναι σημαντικές εάν η τιμή του βρίσκεται κάτω του 8. Σε pH 9,3 το ποσοστό μεταξύ της NH<sub>4</sub>-N και του ιόντος NH<sub>4</sub><sup>+</sup> είναι 1:1 και οι απώλειες μέσω της εξάχνωσης είναι σημαντικές, ωστόσο ανάλογες τιμές pH σπάνια συναντιούνται σε ΤΥ που δέχοντε εκροή αστικών ΥΑ.

#### 1.5.1.2 ΑΜΜΩΝΙΟΠΟΙΗΣΗ (ammonification)

Η αμμωνιοποίηση είναι η διεργασία κατά την οποία το οργανικό N μετατρέπεται βιολογικά σε NH<sub>4</sub>-N. Ένα μεγάλο κλάσμα (έως 100%) του οργανικού N εύκολα μετατρέπεται σε NH<sub>4</sub>-N (Kadlec και Knight, 1996).

Η διεργασία της αμμωνιοποίησης περιλαμβάνει απαραίτητα τον καταβολισμό των αμινοξέων και προφανώς περιλαμβάνει αρκετούς τύπους αντιδράσεων απαμίνωσης (deamination). Η οξειδωτική απαμίνωση (oxidative deamination) μπορεί να γραφεί:



Και μπορεί να είναι ενεργή στην οξειδωμένη επιφάνεια του εδάφους. Από την άλλη μεριά, η αναγωγική απαμίνωση (reductive deamination) (Rose, 1976) προφανώς λαμβάνει χώρα στην αναγωγική επιφάνεια του εδάφους:

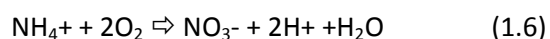
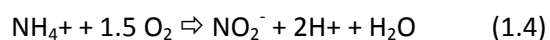


Κινητικά, η αμμωνιοποίηση διεξάγεται πιο γρήγορα από ότι η νιτροποίηση (Kadlec and Knight, 1996). Οι ρυθμοί της ανοργανοποίησης (mineralization) είναι γρηγορότεροι στην οξυγονομένη ζώνη, και μειώνονται καθώς η ανοργανοποίηση μεταστρέφεται από την αερόβια στην προαιρετικά αερόβια και υποχρεωτικά αναερόβια μικροχλωρίδα (Reddy and Patrick, 1984). Εφόσον το βάθος της αερόβια ζώνης σε πλημμυρισμένα ή κορεσμένα εδάφη είναι συνήθως μικρότερο του 1 cm, η συνεισφορά της αερόβιας ανοργανοποίησης στη συνολική ανοργανοποίηση N θα πρέπει να είναι πολύ μικρή, συγκριτικά με αυτή της προαιρετικά και υποχρεωτικά αναερόβιας ανοργανοποίησης (Reddy and Graetz, 1988). Οι ρυθμοί της αμμωνιοποίησης εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, το pH, την αναλογία C/N, τα διαθέσιμα θρεπτικά (Reddy and Patrick, 1984). Η βέλτιστη θερμοκρασία για την αμμωνιοποίηση έχει αναφερθεί ότι είναι 40-60 °C, ενώ το βέλτιστο pH είναι μεταξύ 6,5-8,5 (Vymazal, 1995).

#### 1.5.1.3 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ (nitrification)

Η νιτροποίηση ορίζεται συνήθως ως η βιολογική οξείδωση του  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  με ενδιάμεσο παράγωγο τα  $\text{NO}_2\text{-N}$ . Αυτός ο ορισμός έχει κάποιους περιορισμούς όταν εμπλέκονται ετεροτροφοί μικροοργανισμοί, αλλά είναι ακριβής για τα αυτότροφα, κυρίως είδη (Hauk, 1984).

Η νιτροποίηση έχει ουσιαστικά συνιφαστεί με τα χημειοαυτοτροφικά βακτήρια, αν και πλέον έχει αναγνωριστεί ότι υφίσταται ετεροτροφική νιτροποίηση η συνεισφορά της οποίας μπορεί να είναι σημαντική (Paul and Clark, 1996). Τα νιτροποιητικά βακτήρια αντλούν ενέργεια από την οξείδωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  και/ή τα  $\text{NO}_2\text{-N}$ , ενώ χρησιμοποιούν ως πηγή C για τη σύνθεση των νέων κυττάρων το  $\text{CO}_2$ . Σύμφωνα με τους Paul and Clark (1996), η νιτροποίηση είναι μία διεργασία δύο σταδίων που περιλαμβάνει δύο ομάδες μικροοργανισμών. Μία μικροβιακή ομάδα οξειδώνει το  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NO}_2\text{-N}$  (από αμμωνιακά οξειδωτικά βακτήρια –AOB, Nitroso) και μία άλλη οξειδώνει το  $\text{NO}_2\text{-N}$  σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  (από νιτρώδη οξειδωτικά βακτήρια –NOB, nitro) (Hooper et al., 1997; Koops and Pommerening-Roser, 2001).





Στο πρώτο βήμα, η οξείδωση του  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NO}_2\text{-N}$ , πραγματοποιείται αυστηρά από χημειολιθοτροφικά (αυστηρά αερόβια) βακτήρια τα οποία εξαρτώνται εντελώς από την οξείδωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  για την παραγωγή ενέργειας για την ανάπτυξή τους. Στο έδαφος, έχουν αναγνωριστεί είδη που ανήκουν στο γένος *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosolobus*, *Nitrosococcus* and *Nitrosomonas*. Τα *Nitrosomonas europaea* έχουν επίσης ταυτοποιηθεί σε υδρόβια περιβάλλοντα (Grant and Long, 1981; Schmidt, 1982; Paul and Clark, 1996). Οι χημειοαυτοτροφικοί νιτροποιητές είναι γενικά αερόβιοι οι οποίοι αντλούν τον C που απαιτείται κυρίως από το διοξείδιο του C ή από ανθρακικά άλατα (Hooper et al., 1997). Τα AOB χωρίζονται σε εννιά διαφορετικές φυλογενετικές συστοιχίες που βασίζονται στο γένος 16S rRNA (rDNA) ακολουθίες (Stephen et al., 1996; Purkhold et al., 2000; Purkhold et al., 2003). Το γένος *Nitrospira* συμπεριλαμβάνεται στις συστοιχίες 0-4 και το *Nitrosomonas* στις συστοιχίες 5-8.

Το δεύτερο βήμα στη διεργασία της νιτροποίησης, η οξείδωση των  $\text{NO}_2\text{-N}$  σε  $\text{NO}_3\text{-N}$ , διεξάγεται από υποχρεωτικά χημειολιθοτροφικά βακτήρια τα οποία μπορούν επίσης να χρησιμοποιήσουν οργανικές ενώσεις, εκτός των  $\text{NO}_2\text{-N}$ , για την παραγωγή της ενέργειας ανάπτυξής τους. Σε αντίθεση με τα αμμωνιακά – οξειδωτικά βακτήρια, μόνο ένα είδος από νιτρώδη – οξειδωτικά βακτήρια έχει βρεθεί στο έδαφος και στο φρέσκο νερό, το *Nitrobacter winogradskyi* (Grant and Long, 1981). Ο Paul and Clark (1996) ανέφεραν ότι σε υδάτινα περιβάλλοντα, εκτός του *Nitrobacter*, συναντάται ένα γένος *Nitrospira* (*N. Gracilus*, *N. Marina*) και το *Nitrococcus mobiles*.

Εποχιακές διαφορές στον ρυθμό με τον οποίο λαμβάνει χώρα η νιτροποίηση σε ΤΥ έχουν αναφερθεί (Kuschik et al., 2003; Song et al., 2006), Γενικά, στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η νιτροποίηση επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, την τιμή του pH, την αλκαλικότητα του νερού, την πηγή ανόργανου C, την υγρασία, τον μικροβιακό πληθυσμό και τις συγκεντρώσεις  $\text{NH}_4\text{-N}$  και διαλυμένου  $\text{O}_2$  (Schramm et al., 1996; Stephen et al., 1998; Kowalchuk et al., 2000; Webster et al., 2002; Vymazal 1995). Η βέλτιστη θερμοκρασία για τη νιτροποίηση κυμαίνεται από 25-35 °C. Ο Cookson et al. (2002) πρότεινε ότι οι νιτροποιητικές κοινωνίες μπορούν να προσαρμοστούν στις θερμοκρασιακές μεταβολές και μπορεί να διατηρήσουν τη δραστηριότητά τους σε χαμηλότερες θερμοκρασίες μέσω μεταβολικής προσαρμογής. Άλλες μελέτες όμως, έδειξαν ότι η νιτροποίηση παρεμποδίζεται από θερμοκρασίες νερού μικρότερες των 10 °C και πέφτει απότομα κάτω από τους 6 °C (Herskowitz et al., 1987; Xie et al., 2003). Ο Alleman (1985) παρατήρησε τη συσσώρευση  $\text{NO}_2\text{-N}$  σε χαμηλές θερμοκρασίες, δείχνοντας ότι πραγματοποιούνταν οξείδωση μόνο της  $\text{NH}_4\text{-N}$ . Ολοκληρωμένη νιτροποίηση σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  είναι ένα επιθυμητό συστατικό σε όλα τα συστήματα επεξεργασίας, συμπεριλαμβανομένων και των ΤΥ σε ψυχρά κλίματα (Jenssen et al., 2005).

Οι Paul and Clark (1996) ανέφεραν ότι η βέλτιστη τιμή pH κυμαίνεται από 6,6-8,0, όμως, προσαρμοσμένα στο κλίμα συστήματα μπορούν να είναι λειτουργικά σε νιτροποίηση σε χαμηλότερες τιμές (Cooper et al., 1996). Σύμφωνα με τους Cooper et al. (1996) απαιτούνται περίπου 4,3 mg  $\text{O}_2$  ανά mg  $\text{NH}_4\text{-N}$  για να οξειδωθεί σε  $\text{NO}_3\text{-N}$ . Επιπλέον, σε παρόμοια μεγέθη καταλήγουν και οι Hammer and Hammer (2001) (4,6 kg  $\text{O}_2$  ανά kg  $\text{NH}_4\text{-N}$ ). Στη διαδικασία μετατροπής, μία μεγάλη ποσότητα αλκαλικότητας καταναλώνεται, περίπου 8,64 mg  $\text{HCO}_3^-$  ανά mg  $\text{NH}_4\text{-N}$  που οξειδώνεται (Cooper et al., 1996). Παρ' όλα αυτά έχει παρατηρηθεί στα συστήματα επεξεργασίας ΥΑ ότι για συγκεντρώσεις διαλυμένου  $\text{O}_2$

χαμηλότερες από περίπου 2,5 mg η οξείδωση των NO<sub>2</sub>-N παρεμποδίζεται, οδηγώντας έτσι στη συσσώρευσή τους (Paredes et al., 2007).

Η ανάμιξη των ετερότροφων στην νιτροποίηση προτάθηκε το 1894, όμως μόνο πρόσφατα αντιμετωπίστηκε με σοβαρότητα σαν μία ξεχωριστή διεργασία. Οι ετεροτροφικοί νιτροποιητές είναι πλέον γνωστό ότι είναι ικανοί να παράγουν NO<sub>3</sub>-N από αμφοτέρους ανόργανες και οργανικές πηγές με ενδιάμεσα παράγωγα που εμφανίζονται στην εξίσωση (1.7). Επειδή πολλοί από τους ετεροτροφικούς νιτροποιητές είναι επίσης και απονιτροποιητές, είναι εύκολο να υποτιμηθεί η σημασία της διεργασίας στη φύση (Paul and Clark, 1996). Βακτήρια όπως, τα *Arthrobacter globiformis*, *Aerobacter aerogenes*, *Mycobacterium phlei*, *Streptomyces griseus*, *Thiosphaera* και *Pseudomonas spp.* έχουν βρεθεί ότι νιτροποιούν. Οι μεγαλύτεροι οργανισμοί που φαίνεται να εμπλέκονται εμφανίζεται ότι είναι οι μύκητες, πχ. *Aspergillus flavus*, *Penicillium* ή *Cephalosporium* (Paul and Clark, 1996).

Οι ρυθμοί νιτροποίησης σε υδροβιότοπους ποικίλουν από 0,01-2,15 g N/m<sup>2</sup> d με μέση τιμή 0,048 g N/m<sup>2</sup> d (Ready and D' Angelo, 1997; Tanner et al., 2002). Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται ρυθμοί νιτροποίησης από διαφορετικά βακτήρια, αυτότροφα και ετερότροφα.

Πίνακας 1.2: Ρυθμοί νιτροποίησης από διάφορα αυτότροφα και ετερότροφα βακτήρια (Jetten et al., 1997b)

Culture	Compound tested	conversion rate mol (kg dry weight) <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>
<i>Nitrosomonas</i> sp.	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2.2–20 10 <sup>-3</sup>
<i>Pseudomonas</i> sp.	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.41 10 <sup>-3</sup>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.28 10 <sup>-3</sup>
<i>Thiosphaera pantotropha</i>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.58 10 <sup>-3</sup>
<i>Nitrosomonas</i> sp.	NH <sub>2</sub> OH	1–13.7 10 <sup>-3</sup>
<i>Pseudomonas</i> sp.	NH <sub>2</sub> OH	0.7–7.5 10 <sup>-3</sup>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	NH <sub>2</sub> OH	0.2–0.5 10 <sup>-3</sup>
<i>Alcaligenes</i> sp.	pyruvic oxime	0.5 10 <sup>-3</sup>

Ο ρυθμός μεταφοράς O<sub>2</sub> μπορεί να είναι τόσο σημαντικός όσο η ίδια η συγκέντρωση O<sub>2</sub>. Τα φυτά συνεισφέρουν στη μεταφορά και διαχυση O<sub>2</sub> γύρω από τις ρίζες ενισχύοντας τη νιτροποίηση (Zhu and Sikora, 1994; Johnson et al., 1999; Munch et al., 2005), όμως ο ρυθμός μεταφοράς διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος του φυτού και άλλους περιβαλλοντικούς και λειτουργικούς παράγοντες. Πράγματι, η απομάκρυνση της NH<sub>4</sub>-N σε SFSS έδειξε ότι ποικίλει ανάλογα με τα είδη των φυτών (Kadlec and Knight, 1996; Eriksson and Andersson, 1999; Riley et al., 2005; Bojcevska and Tonderski, 2007) ενώ ένας τέτοιος υδροβιότοπος είχε υψηλή ικανότητα νιτροποίησης όταν λειτούργησε σε κατάσταση παλιρροιακής ροής (Renman and Kietlin'ska, 2000), όμως είχε μικρή δραστηριότητα όταν πλημμύρισε μόνιμα (Sundberg et al., 2007b). Προ – αερισμός ενίσχυσε την αφαίρεση NH<sub>4</sub>-N σε μία άλλη μελέτη (Noorvee et al., 2007). Όμως, δεν ανιχνεύτηκαν σημαντικές διαφορές

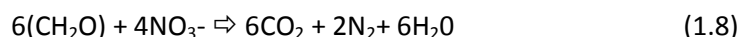
στη ποιότητα της μικροβιακής βιομάζας ή στην απόδοση αφαίρεσης μεταξύ ΤΥ κατακόρυφης ροής με φυτά και χωρίς φυτά (Tietz et al. 2007b), προφανώς εξαιτίας των υψηλότερων επιπέδων  $O_2$  σε αυτά τα μη κορεσμένα συστήματα. Ο ρυθμός φόρτισης οργανικής ύλης έχει ισχυρή επίδραση στο ρυθμό νιτροποίησης στους ΤΥ εξαιτίας ανταγωνισμού για  $O_2$  και ανόργανου Ν μεταξύ ετεροτροφικών και νιτροποιητικών βακτηρίων (Thompson et al., 1995; Dalhammar et al., 1999; Truu et al., 2005), κάτι το οποίο είναι πιο έντονο σε υψηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οργανικού φορτίου (Prosser, 1989; van Niel et al., 1993). Ο Tanner et al. (2002) διαπίστωσε ότι όταν η νιτροποίηση και η απονιτροποίηση συνέβαιναν ταυτόχρονα με την αφαίρεση COD στα πρόωρα στάδια ενός *cascade mesocosm* υγροβιότοπου η εκροή από τους ΤΥ ήταν σχετικά πλούσια σε οργανικά. Σε συστήματα διαλείποντος έργου οι Riley et al. (2005) παρατήρησαν μεγαλύτερη αφαίρεση της  $NH_4-N$  σε υψηλότερο ρυθμό οργανικής φόρτισης τον χειμώνα, όμως φτωχότερη αφαίρεση σε υψηλότερες οργανικές φορτίσεις το καλοκαίρι, προτείνοντας ότι η οργανική φόρτιση επηρεάζει την αλληλεπίδραση μεταξύ της νιτροποίησης με τη θερμοκρασία και άλλους παράγοντες. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν αποδείξεις ότι υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ νιτροποιητών και ετεροτρόφικών στους ΤΥ. Τα *Nitrosomonas* ήταν μία από τις αρχικές αποικίες όταν τοποθετήθηκαν χαλίκια σε έναν ΤΥ (Silyn-Roberts and Lewis, 2001), αλλά μόλις το βιοφίλμ αναπτύχθηκε, τα ετεροτροφικά βακτήρια υπερτερούσαν των νιτροποιητικών. Τα ετεροτροφικά βακτήρια φαίνεται ότι μειώνουν τον πληθυσμό των AOB σε ένα βιοφίλμ ΤΥ (Schramm et al., 1996; Okabe et al., 1996). Η κατανομή του πληθυσμού των AOB σε ένα σύστημα SSFS (Truu et al., 2005) και μία κλίνη με φίλτρο (Sundberg et al., 2007b) συσχετίστηκαν με το βάθος, το ολικό Ν και τον ολικό Ρ. Οι Nurk et al. (2005) παρατήρησαν υψηλότερη απόδοση νιτροποίησης πιο κοντά στην έξοδο σε σύγκριση με την είσοδο, μάλλον εξαιτίας της μείωσης οργανικού C κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Οι πληθυσμοί AOB μπορεί να ποικίλουν αναλόγως τους διαφορετικούς τύπους βιοφίλμ. Μεγαλύτερα νούμερα νιτροποιητικών βακτηρίων και υψηλότερη δραστηριότητα ανιχνεύθηκε σε ρίζες μακρόφυτων συγκριτικά με τον κύριο όγκο του ΤΥ (Kyambadde et al., 2006) και επιπλέον, ανιχνεύθηκαν διαφορές μεταξύ πληθυσμών AOB που αναπτύσσονταν σε ιστό μακρόφυτων (Flood et al., 1999). Τα AOB μπορούν να διαφέρουν ακόμη και μέσα στο ίδιο το βιοφίλμ των ΤΥ και διαφορετικοί οργανισμοί μπορούν να δραστηριοποιούνται στο πλαίσιο μεγάλων μεταβολών μικρό-κλίμακας στο φυσικοχημικό περιβάλλον όπως παρατηρούνται σε μη επεξεργασμένα ΥΑ (Bruns et al., 1999; Ibekwe et al., 2002a; Webster et al., 2002). Τα *Nitrosomonas* έχουν μία χαμηλότερη συγγένειας, αλλά υψηλότερη μέγιστη δραστηριότητα από τα *Nitrospira* (Schramm et al., 1996), έτσι, τα *Nitrospira* είναι πιθανόν πιο κυρίαρχα σε περιβάλλοντα με χαμηλή συγκέντρωση  $NH_4-N$  (Kowalchuk et al., 2000; Backman et al., 2003) και είναι πιο ανεκτικά στις μεταβολές των φυσικοχημικών συνθηκών (Purkhold et al., 2000; Backman et al., 2003). Επιπλέον, υψηλές συγκεντρώσεις  $NH_4-N$  φαίνεται ότι έχουν ως συνέπεια την κυριαρχία ειδών του γένους *Nitrosomonas* (Schramm et al., 1996; Juretschko et al., 1998; Okabe et al., 1999). Ο Tietz et al. (2007a) ανακάλυψε ότι ένας VSSF που λαμβάνει αστικά ΥΑ υποστήριζε μία αποικία AOB η οποία εμφανίστηκε ότι μένει ανεπηρέαστη από ισχυρές μεταβολές της θερμοκρασίας. Αυτή η αποικία είναι συγκρίσιμη με άλλες αποικίες που έχουν ήδη παρατηρηθεί σε SSFS (Ibekwe et al., 2003).

#### 1.5.1.4 ΑΝΑΓΩΓΗ ΝΙΤΡΙΚΩΝ –(nitrate-ammonification)

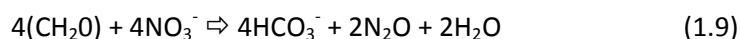
Η πρώτη ανοξική οξειδωτική διεργασία που λαμβάνει χώρα μετά από τη μείωση του  $O_2$  είναι η αναγωγή των  $NO_3-N$  σε μοριακό N ή  $NH_4-N$ . Η μείωση των  $NO_3-N$  εκτελείται από δύο διαφορετικές ομάδες βακτηρίων: τα απονιτροποιητικά βακτήρια τα οποία παράγουν  $N_2O$  και  $N_2$  σαν κύρια αναγωγικά παράγωγα και τα νιτρικά – αμμωνιοποιητικά βακτήρια τα οποία παράγουν  $NH_4^+$  σαν κύριο τελικό προϊόν της αναγωγής των  $NO_3-N$ . Στα εδάφη και ιζήματα, παρατηρούνται τόσο η απονιτροποίηση όσο και η νιτρική – αμμωνιοποίηση (Keeney et al., 1972; Sørensen, 1978). Διαφορετικοί αριθμοί ηλεκτρονίων χρησιμοποιούνται στην αναγωγή ενός μορίου  $NO_3-N$  σε αμφοτέρω νιτρικό – αναγωγικό σύστημα: 5 στην περίπτωση της απονιτροποίησης και 8 στην περίπτωση της αναγωγής  $NO_3-N$  σε  $NH_4-N$ . Επιπλέον, περισσότερο οργανική ύλη μπορεί να οξειδωθεί ανά μόριο  $NO_3-N$  από τα νιτρικά – αμμωνιοποιητικά βακτήρια από ότι από τα απονιτροποιητικά βακτήρια. Η αναγωγή των  $NO_3-N$  σε  $NH_4-N$  εκτελείται γενικά από ζυμωτικά βακτήρια τα οποία δεν εξαρτώνται από την παρουσία  $NO_3-N$  για την ανάπτυξη κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Έτσι, τα νιτρικά – αμμωνιοποιητικά βακτήρια μπορεί να προτιμώνται από νιτρικές – περιοριστικές καταστάσεις (Laanbroek, 1990). Παρόλο που η ανόμοια αναγωγή  $NO_3-N$  σε  $NH_4-N$  φαίνεται να είναι περισσότερο ενεργειακά αποδοτική από ότι η απονιτροποίηση, οι Van Oostrom και Russell (1994) βρήκαν μόνο 5% συνεισφορά της πρώτης διεργασίας στην απομάκρυνση νιτρικών σε έναν πειραματικό ΤΥ φυτεμένο με *Glyceria maxima*.

#### 1.5.1.5 ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ (denitrification)

Η απονιτροποίηση ορίζεται ως η διεργασία κατά την οποία τα  $NO_3-N$  μετατρέπονται σε  $N_2$  μέσω ενδιάμεσων  $NO_2-N$ ,  $N_2O$  και  $NO$  (Hauck, 1984; Paul and Clark, 1996; Jetten et al., 1997). Από βιοχημικής μεριάς, η απονιτροποίηση είναι μία διεργασία κατά την οποία τα οξείδια του N (σε ιονική και αέρια μορφή) λειτουργούν σαν τελικοί ηλεκτρονιακοί δέκτες για τη αναπνευστική διαδικασία. Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από ένα ηλεκτρονιακό – συνεισφέρον υπόστρωμα (όχι αποκλειστικά, οργανικές ενώσεις) μέσω αρκετών μεταφορικών συστημάτων σε μία περισσότερο οξειδωμένη μορφή N. Η ελεύθερη ενέργεια που προκύπτει μετατρέπεται σε ATP, ακολουθώντας φωσφορυλίωση, και χρησιμοποιείται από τους απονιτροποιητικούς οργανισμούς για να υποστηρίξουν την αναπνοή. Η απονιτροποίηση εξηγείται από την ακόλουθη εξίσωση (Hauck, 1984):



Αυτή η αντίδραση είναι μη αναστρέψιμη, και λαμβάνει χώρα σε παρουσία διαθέσιμου οργανικού υποστρώματος μόνο κάτω από αναερόβιες ή ανοξικές συνθήκες ( $E_h = +350 - +100$  mV), όπου το N χρησιμοποιείται σαν δέκτης ηλεκτρονίων στη θέση του  $O_2$ . Όλο και περισσότερα στοιχεία παρέχονται από έρευνες σε αμιγείς καλλιέργειες ότι η αναγωγή  $NO_3-N$  μπορεί να λάβει χώρα παρουσία  $O_2$ . Συνεπώς, σε πλημμυρισμένα εδάφη η αναγωγή  $NO_3-N$  μπορεί επίσης να ξεκινήσει πριν εξαντληθεί το  $O_2$  (Kuenen and Robertson, 1987; Laanbroek, 1990). Η παραγωγή  $N_2$  κατά τη διάρκεια της απονιτροποίησης μπορεί επίσης να περιγραφεί από (Hauck, 1984)



Ποικίλοι μικροοργανισμοί είναι ικανοί για την απονιτροποίηση. Σε μία σειρά είναι οι οργανότροφοι, οι λιθότροφοι, οι φωτότροφοι και οι διαζότροφοι (Paul and Clark, 1996). Τα περισσότερα απονιτροποιητικά βακτήρια είναι χημειοτετροτροφικά. Λαμβάνουν ενέργεια αποκλειστικά μέσω χημικών αντιδράσεων και χρησιμοποιούν οργανικές ενώσεις σαν ηλεκτρονιακούς δότες και σαν πηγή κυτταρικού C (Vymazal, 2007, Hauck, 1984). Τα γένη *Bacillus*, *Micrococcus* και *Pseudomonas* είναι πιθανώς τα πιο σημαντικά στα εδάφη. *Pseudomonas*, *Aeromonas* και *Vibrio* στο υδατικό περιβάλλον (Grant and Long, 1981). Όταν το  $O_2$  είναι διαθέσιμο, αυτοί οι μικροοργανισμοί οξειδώνουν οργανικά υποστρώματα (carbon – hydrate) σε  $CO_2$  και  $H_2O$  (Reddy and Patrick, 1984). Ο Hauck (1984) υποστηρίζει ότι οι απονιτροποιητές επιτυγχάνουν αερόβια αναπνοή χρησιμοποιώντας  $O_2$  σαν ηλεκτρονικό δέκτη ή αναερόβια αναπνοή χρησιμοποιώντας N με τις ίδιες σειρές ηλεκτρονιακού μεταφορικού συστήματος. Αυτή η ευχέρεια λειτουργίας τόσο υπό αερόβιες όσο και υπό αναερόβιες συνθήκες είναι μεγάλης σημασίας επειδή δίνει τη δυνατότητα στην απονιτροποίηση να ξεκινήσει με έναν σημαντικό ρυθμό αμέσως μετά την εκδήλωση των ανοξικών συνθηκών (δυναμικό redox περίπου 300 mV) χωρίς αλλαγή στον μικροβιακό πληθυσμό.

Πολλοί ερευνητές έχουν βρει ότι υψηλές συγκεντρώσεις N ενισχύουν τους ρυθμούς της απονιτροποίησης στους υδροβιότοπους (Howard-Williams and Downes, 1989; Hanson et al., 1994; Lowrance et al., 1995; Willems et al., 1997; Sartoris et al., 2000). Επιπλέον, ο ρυθμός απονιτροποίησης εξαρτάται από τις διαθέσιμες πηγές C. Ειδικότερα, η προσθήκη διάφορων πηγών C όπως, γλυκόζη (DeLaune et al., 1996; Davidsson and Stahl, 2000), οξικό νάτριο (Kozub and Liehr, 1999), μεθανόλη (Gersberg et al., 1984), άμυλο (Robins et al., 2000), κυτταρίνη (Robins et al., 2000), φυτικά υλικά (van Oostrom and Russell, 1994; Ingersoll and Baker, 1998) και άχυρο σίτου (Ragab et al., 1994) ενίσχυσε τους ρυθμούς απονιτροποίησης στους υδροβιότοπους. Πράγματι, σε έρευνα πεδίου, οι Starr και Gillham (1993) απέτυχαν να εντοπίσουν απονιτροποιητική δραστηριότητα σε περιοχές που στερούνται οργανικού C.

1.11)

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τους ρυθμούς απονιτροποίησης περιλαμβάνουν την απουσία  $O_2$ , redox (οξειδοαναγωγικό) δυναμικό, υγρασία εδάφους, θερμοκρασία, pH, παρουσία απονιτροποιητικών, τύπο εδάφους, διαθεσιμότητα οργανικής ύλης και  $NO_3-N$ , συγκέντρωση  $NO_3-N$  και παρουσία υπερκείμενου νερού (χαμηλού βαθμού απορροής) (Focht and Verstraete, 1977; Vymazal, 1995, Vymazal, 2006). Οι Paul και Clark (1996) ανέφεραν ότι η βέλτιστη τιμή pH κυμαίνεται μεταξύ 6-8. Η απονιτροποίηση γίνεται αργά όμως μπορεί ακόμη να υπάρχει και να παραμένει σημαντική διεργασία σε τιμές pH χαμηλότερες του 5 ενώ είναι αμελητέα ή και απύσχα για τιμές κάτω του 4. Όσον αφορά τη θερμοκρασία, οι ρυθμοί της απονιτροποίησης μεγιστοποιούνται στην περιοχή 60-70 °C (Toet et al., 2003; Burchell et al., 2007, Bremner and Shaw, 1958; Keeney et al., 1979; Knowles, 1982; Paul and Clark, 1996) και εκεί μειώνονται δραστικά πέρα από αυτή τη θερμοκρασία (Bremner and Shaw, 1958; Keeney et al., 1979; Knowles, 1982; Paul and Clark, 1996). Η απονιτροποίηση πραγματοποιείται σε πολύ αργούς όμως, σημαντικούς ρυθμούς, σε θερμοκρασίες κάτω των 5 °C (Bremner and Shaw, 1958, Brodrick et al., 1988; Werker et al., 2002; Burchell et al., 2007) όπου αναφέρονται σχετικά πιο μεγάλα μοριακά κλάσματα  $N_2O$  και NO. Το μοριακό  $N_2$  είναι το κύριο προϊόν σε υψηλότερες



θερμοκρασίες (Broadbent and Clark, 1965). Η δυνητική απονιτροποίηση (όταν ηλεκτρονικοί δότες και δέκτες δεν είναι περιορισμένοι) ήταν υψηλότερη σε ένα έδαφος με οργανικά υλικά από ότι ένα ανόργανο έδαφος όταν τα εδάφη αυτά χρησιμοποιήθηκαν για έδαφος σε Τ.Υ. (D'Angelo and Reddy, 1999; Davidsson and Stahl, 2000; Gersberg et al., 1983; Lin et al., 2002; Hunt et al., 2003).

Τα φυτά μπορεί να επηρεάζουν την απονιτροποίηση τροφοδοτώντας οργανικό C μέσω της ριζοαπόθεσης σε υποστρώματα C. Σημαντικά περισσότερη αφαίρεση  $\text{NO}_3\text{-N}$  ανιχνεύθηκε σε έναν φυτεμένο μικρόκοσμο σε σχέση με έναν μη φυτεμένο (Lin et al., 2002) με το αποτέλεσμα να ποικίλει ανάλογα τα είδη των φυτών. Επίσης, οι Bachand and Horne (2000) ανέφεραν διαφορές στην αφαίρεση  $\text{NO}_3\text{-N}$  μεταξύ διαφορετικών μακροφύτων. Πιθανή απονιτροποίηση είχε σημαντικές διακυμάνσεις μεταξύ διαφορετικής βλάστησης (Toet et al., 2003; Kallner Bastviken et al., 2007), και μεταξύ των χώρων προσκόλλησης βιοφίλμ σε έναν ΤΥ. Υψηλή δραστηριότητα ανιχνεύθηκε στο ανώτερο στρώμα μιας δεξαμενής με φίλτρο (Sundberg et al., 2007b), σε ανοιχτή επιφάνεια νερού όμως, η δραστηριότητα αυξήθηκε με το βάθος (Hernandez and Mitsch, 2007). Υψηλότερη δυνητική απονιτροποίηση ανιχνεύθηκε σε συστάδες μακρόφυτων που αναδύονται (Hernandez and Mitsch, 2007). Ωστόσο, ανιχνεύθηκε δέκα φορές υψηλότερη αφαίρεση  $\text{NH}_4\text{-N}$  σε έναν FWS με 50% κάλυψη με φυτά συγκριτικά με ένα που ήταν καλυμμένος 100% με φυτά. Αυτή η διαφορά αποδόθηκε σε δυσλειτουργία λόγω συσσώρευσης απορριμμάτων (Ibekwe et al., 2007). Η δυνητική απονιτροποίηση του εδάφους φαίνεται να αυξάνει σημαντικά όταν αυτό μετατραπεί σε υγροβιότοπο. Μία γραμμική σχέση μεταξύ δραστηριότητας της απονιτροποίησης και οργανικής ύλης που έχει καθιζάνει έχει ανιχνευθεί, μόνο όμως στο ανώτερο στρώμα (Hernandez and Mitsch, 2007; Sundberg et al., 2007b). Μελέτες στη μετατροπή N κάτω από χαμηλή συγκέντρωση  $\text{O}_2$  και αναερόβιες συνθήκες, έδειξαν ότι η  $\text{NH}_4\text{-N}$  μπορεί να μετατραπεί σε  $\text{N}_2$  από διεργασίες άλλες εκτός από την συμβατική νιτροποίηση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  που ακολουθείται από την απονιτροποίηση των  $\text{NO}_3\text{-N}$  σε αέριο  $\text{N}_2$  (Hunt et al., 2005). Κάτω από συνθήκες χαμηλού  $\text{O}_2$ , η παραγωγή  $\text{NO}_2\text{-N}$  από  $\text{NH}_4\text{-N}$  ευνοείται της παραγωγής  $\text{NO}_3\text{-N}$  (Bernet et al., 2001). Τα  $\text{NO}_2\text{-N}$  μπορούν τότε να απονιτροποιηθούν σε  $\text{N}_2\text{O}$  και/ή  $\text{N}_2$  χωρίς να μετατραπούν πρώτα σε  $\text{NO}_3\text{-N}$ . Αυτή η διεργασία έχει ονομαστεί «μερική νιτροποίηση – απονιτροποίηση».

Η μεγάλη μείωση σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  που παρατηρείται στους περισσότερους ΤΥ (εξαιρώντας τα συστήματα VSSF) υποδηλώνει ότι η απονιτροποίηση είναι μία σημαντική διαδικασία (Xue et al., 1999; Billore et al., 1999; Lin et al., 2002; Kadlec, 2005; Edwards et al., 2006; Sirivedhin and Grey, 2006; Vymazal, 2007). Η απονιτροποίηση στους Τ.Υ. εκτιμήθηκε ότι συμβάλει περίπου στο 90% της συνολικής αφαίρεσης N (Xue et al., 1999; Lin et al., 2002). Έχει επισημανθεί ότι τα αμμωνιακά οξειδωτικά βακτήρια *Nitrosomonas eutrophica* είναι ικανά για απονιτροποίηση χρησιμοποιώντας υδρογόνο σαν ηλεκτρονικό δότη,  $\text{NO}_2$  σαν ηλεκτρονικό δέκτη και παράγοντας  $\text{NO}$  και  $\text{N}_2\text{O}$  κάτω από ανοξικές συνθήκες (Bock et al., 1995). Η ανίχνευση των απονιτροποιητικών βακτηρίων στο περιβάλλον έχει αναδείξει κυρίως τα γονίδια *nirK/nirS* (Braker et al., 1998; Angeloni et al., 2006) και *nosZ* (Gomez-Villalba et al., 2006), τα οποία αποτελούν μοριακούς δείκτες της μετατροπής των  $\text{NO}_2$  σε  $\text{NO}$  και  $\text{N}_2\text{O}$  σε  $\text{N}_2$  αντίστοιχα.

#### 1.5.1.6 ΔΕΥΣΜΕΥΣΗ Ν (N fixation)

Η δέσμευση Ν είναι η μετατροπή του αέριου Ν ( $N_2$ ) σε  $NH_4-N$ . Η δέσμευση Ν απαιτεί νιτρογενάση, ένα ενζυμικό σύμπλοκο ευαίσθητο στο  $O_2$ , που περιέχει σίδηρο/θείο/μολυβδένιο- το οποίο επίσης προκαλεί την αναγωγή άλλων υποστρωμάτων που περιέχουν τριπλούς ομοιοπολικούς δεσμούς (πχ. οξείδιο του αζώτου, κυανιούχα ή ακετυλένιο) (Stewart, 1973).

Στα εδάφη υδροβιότοπων, η βιολογική δέσμευση  $N_2$  μπορεί να συμβεί στο πλημμυρισμένο νερό, ή στην επιφάνεια του εδάφους, σε αερόβια και αναερόβια πλημμυρισμένα εδάφη, στη ριζική ζώνη των φυτών, και στις επιφάνειες των φύλλων και των μίσχων των φυτών (Buresh et al., 1980). Ένα μεγάλο εύρος των συμβιωτικών ακτινομυκήτων και ασυμβιωτικών ετερότροφων βακτηριδίων και μπλε-κίτρινης άλγης (κυανοβακτήρια) μπορούν να δεσμεύουν Ν στους υδροβιότοπους (Johnston, 1991). Παρά το γεγονός ότι η ικανότητα δέσμευσης Ν διανέμεται ανάμεσα σε αερόβια, προαιρετικά και υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια, οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι η δέσμευση Ν στο έδαφος είναι μεγαλύτερη κυρίως κάτω από αναερόβιες συνθήκες από ότι υπό αερόβιες (Buresh et al., 1980). Τα φωτοσυνθετικά βακτήρια που δεσμεύουν Ν απαιτούν αναερόβιες συνθήκες για την ανάπτυξή τους (Buresh et al., 1980). Η δέσμευση του Ν μέσα στην εδαφική στρώση του πλημμυρισμένου εδαφικού συστήματος είναι μεγαλύτερη υπό αναγωγικές παρά υπό οξειδωτικές συνθήκες. Έχει αναφερθεί ότι η μεγαλύτερη δραστηριότητα δέσμευσης σε εδάφη υπό κατάκλυση λαμβάνει χώρα σε τιμές redox από -200 έως -260 mV (Buresh et al., 1980). Οι τιμές δέσμευσης του υδροβιότοπους ποικίλουν ευρέως στη βιβλιογραφία μεταξύ 0,03 -46,2 g N/m<sup>2</sup> yr (Buresh et al., 1980; Whitney et al., 1981; Gopal, 1991). Οι Kadlec and Knight (1996) ανέφεραν ότι η δέσμευση Ν απαιτεί σημαντικό ποσό κυτταρικής ενέργειας η οποία φαίνεται να σπαταλάται σε ένα περιβάλλον πλούσιο σε Ν. Η συνεισφορά της διεργασίας αυτής στον κύκλο του Ν στους ΤΥ που δέχονται ΥΑ υψηλής περιεκτικότητας σε Ν είναι πιθανόν αρκετά χαμηλότερες ή ουσιαστικά αμελητέες συγκριτικά με άλλες διεργασίες μετατροπής Ν αλλά έως σήμερα δεν έχουν αναφερθεί σχετικές τιμές.

#### 1.5.1.7 ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ (plant uptake and assimilation)

Οι δύο μορφές του Ν που γενικά χρησιμοποιούνται για την αφομοίωση είναι το  $NH_4-N$  και το  $NO_3-N$ . Επειδή το  $NH_4-N$  μειώνεται περισσότερο δραστικά από ότι το  $NO_3-N$  είναι προτιμητέα πηγή Ν για την απορρόφηση (Kadlec and Knight, 1996). Σε νερά πλούσια σε Ν, τα  $NO_3-N$  μπορεί να γίνουν πιο σημαντική πηγή θρεπτικού Ν. Πολλά πειράματα έχουν αποδείξει ότι ανόργανες ουσίες μπορούν να απορροφηθούν άμεσα από τη βλάστηση.

Φυτά όπως η *Typha spp.* ή ο *Phragmites australis* σε βόρεια κλίματα έχουν έναν εμφανή ετήσιο χρόνο υπέργεια βιομάζας: νέες ρίζες ξεκινούν από μηδενική βιομάζα στις αρχές της άνοιξης και αναπτύσσονται στο μέγιστο αργά την άνοιξη και νωρίς το καλοκαίρι. Αργά το καλοκαίρι είναι η περίοδος μειωμένης ανάπτυξης, και το φθινόπωρο συμβαίνει πλήρης θάνατος του βλασταριού (Kadlec and Knight, 1996). Οι συγκεντρώσεις θρεπτικών της βλάστησης τείνουν να είναι υψηλότερες νωρίς κατά την εποχή της ανάπτυξής τους, και μειώνονται όσο ωριμάζει το φυτό και γερνάει. Δομές εποχιακών αλλαγών στην σύνθεση μπορεί να ποικίλουν τόσο για τα είδη όσο και για τα θρεπτικά και μία γενίκευση πιθανώς να μη μπορεί να γίνει (Vymazal, 1995). Όσο η τιμή της βιομάζας και η συσσώρευση των θρεπτικών μειώνεται, πραγματοποιείται μετακίνηση θρεπτικών και φωτοαφομοίωσης από

τα φύλλα στο ρίζωμα. Οι τιμές ποικίλουν ανάμεσα στα είδη, επηρεάζονται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες και μπορεί να φτάσουν μέχρι και ποσοστό περισσότερο από 50% (Vymazal, 1995).

Η περισσότερη βιομάζα, και το περιεχόμενο σε αυτήν N, υφίσταται αποσύνθεση ώστε να απελευθερωθεί C κι N. Αυτή η απελευθέρωση είναι σημαντική στον κύκλο του N στους υδροβιότοπους - κάποιο μερίδιο N απελευθερώνεται πίσω στα υγρά του υδροβιότοπου, κάποιο κλάσμα υποβάλλεται σε αερόβιες διεργασίες σε επιφανειακά λιμνάζοντα νεκρά φυτικά υλικά και σκουπίδια, και κάποιο άλλο μπορεί να μετακινείται στο ρίζωμα. Η αποσύνθεση πάνω από το νερό ευνοεί οξειδωτικές διεργασίες όπως η νιτροποίηση. Επιπλέον, η κίνηση του N μέσω της βλάστησης έχει σαν αποτέλεσμα τον αθροιστικό ενταφιασμό κατάλοιπων από την αποσύνθεση του ριζώματος και από τη σήψη. Συνεπώς, η κίνηση του N μέσω της βλάστησης έχει σαν αποτέλεσμα την ενίσχυση των διεργασιών εκτός αυτών που γίνονται στο έδαφος, στη στήλη του νερού και στα συνεργαζόμενα βιοφίλμ (Kadlec and Knight, 1996).

Οι πιθανές τιμές της ανάληψης θρεπτικών από τα φυτά περιορίζεται από την καθαρή παραγωγικότητα (net productivity/ρυθμός ανάπτυξης) και από την συγκέντρωση των θρεπτικών στον φυτικό ιστό. Η αποθήκευση θρεπτικών (standing stock) ομοίως εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις θρεπτικών που βρίσκονται στον φυτικό ιστό, και επίσης στην απώτερη πιθανότητα για αφομοίωση βιομάζας: αυτό είναι η μέγιστη διαθέσιμη καλλιέργεια (maximum standing crop). Επιπλέον, επιθυμητά χαρακτηριστικά ενός φυτού που χρησιμοποιείται για αφομοίωση θρεπτικών και αποθήκευση θα περιλαμβάνουν την ταχεία ανάπτυξη, υψηλό θρεπτικό περιεχόμενο στον ιστό και την ικανότητα επίτευξης υψηλής διαθέσιμης καλλιέργειας (Reddy and DeBusk, 1987).

Στη βιβλιογραφία, υπάρχουν πολλές αναφορές στις συγκεντρώσεις N στους φυτικούς ιστούς καθώς επίσης και στα διαθέσιμα αποθέματα N για τα φυτά στους ΤΥ (πχ, Reddy and DeBusk, 1987; Vymazal, 1995; Vymazal et al., 1999; Mitsch and Gosselink, 2000).

#### 1.5.1.8 ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ $\text{NH}_4\text{-N}$ (ammonia adsorption)

Η  $\text{NH}_4\text{-N}$  μπορεί να προσροφηθεί από το διάλυμα μέσω μιας αντίδρασης ανταλλαγής κατιόντων με αποσαθρώματα, ανόργανα ιζήματα ή εδάφη. Η προσροφημένη  $\text{NH}_4\text{-N}$  δεσμεύεται χαλαρά με το υπόστρωμα και μπορεί εύκολα να απελευθερωθεί όταν αλλάξουν οι συνθήκες τις χημείας του νερού. Σε μία δεδομένη συγκέντρωση  $\text{NH}_4\text{-N}$  σε μία στήλη νερού, μία σταθερή δόση  $\text{NH}_4\text{-N}$  προσροφάται και κορέζει τις διαθέσιμες θέσεις σύνδεσης. Όταν η συγκέντρωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  στη στήλη του νερού μειωθεί (πχ σαν αποτέλεσμα της νιτροποίησης), κάποιο ποσοστό της  $\text{NH}_4\text{-N}$  θα εκροφηθεί ώστε να ανακτηθεί ισορροπία με τη νέα συγκέντρωση. Εάν αυξηθεί η συγκέντρωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  στη στήλη του νερού, η προσροφημένη  $\text{NH}_4\text{-N}$  θα αυξηθεί επίσης. Εάν το υπόστρωμα του υδροβιότοπου είναι εκτεθειμένο σε  $\text{O}_2$ , ίσως από περιοδική αποστράγγιση, προσροφημένο  $\text{NH}_4^+$  μπορεί να οξειδωθεί σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  (Kadlec and Knight, 1996). Η εξίσωση του Freundlich μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε να μοντελοποιηθεί η ρόφηση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  στο υπόστρωμα (Sikora et al., 1995).

Το  $\text{NH}_4^+$  γενικά προσροφάται σαν ένα ανταλλάξιμο ιόν στην άργιλο, και ροφάται χημικά από χουμικές ουσίες, ή προσάπτεται από το αργιλικό πλέγμα. Φαίνεται πως αυτές οι αντιδράσεις μπορούν να συμβούν ταυτόχρονα. Ο ρυθμός και η έκταση αυτών των



αντιδράσεων έχουν αναφερθεί ότι επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, όπως η φύση και το ποσό της αργίλου, η φύση και το ποσό της εδαφικής οργανικής ύλης, η παρουσία βλάστησης κ.α. (Savant and DeDatta, 1982).

#### 1.5.1.9 Εναπόθεση οργανικού-N (organic N burial)

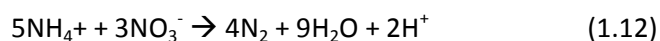
Κάποια κλάσματα του οργανικού N που είναι ενσωματωμένα σε αποσαθρώματα στους υδροβιότοπους μπορεί στο τέλος να γίνουν μη διαθέσιμα για επιπρόσθετο κύκλο θρεπτικών μέσω της διεργασίας διαμόρφωσης τύρφης και ταφής. Οι τιμές ταφής οργανικού N έχουν αναφερθεί για ποικίλους φυσικούς υδροβιότοπους, ωστόσο, στους ΤΥ πρακτικά δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα.

#### 1.5.1.10 ANAMMOX

ANAMMOX είναι η διεργασία δύο βημάτων κατά την οποία βακτήρια που οξειδώνουν την αμμωνία, τα AOB (*nitrosomonas* sp.) οξειδώνουν μερικώς την  $\text{NH}_4\text{-N}$  σε  $\text{NO}_3\text{-N}$  (μέσω hydroxylamine) και έπειτα τα βακτήρια ANAMMOX χρησιμοποιούν τα  $\text{NO}_3\text{-N}$  για να οξειδώσουν την υπολειπόμενη  $\text{NH}_4\text{-N}$  κατευθείαν σε ατμοσφαιρικό N (Wallace and Austin, 2008; Mulder et al., 1995; Jetten et al., 1999; van de Graaf et al., 1996; Loosdrecht & Jetten, 1998). Η αντίδραση ANAMMOX εκτελείται από χημειολιθοαυτότροφα ή αυτότροφα--ετερότροφα (mixotrophic) βακτήρια, που αναπτύσσονται αργά και χρησιμοποιούν  $\text{NO}_3\text{-N}$  ή  $\text{NO}_2\text{-N}$  σαν ηλεκτρονιακούς δέκτες (Kartal et al. 2008). Έχουν αναγνωριστεί ως μία διακριτή φυλογενετική σειρά, την *Brocadiales*, η οποία ανήκει στο γένος *Planctomycetes* (Jetten et al. 2001).

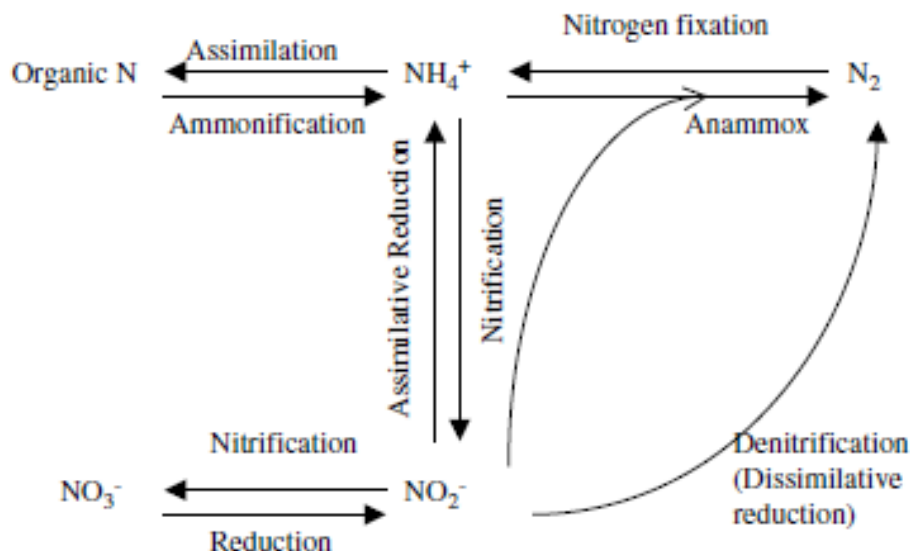
Από τη δεκαετία του 90' που ανακαλύφθηκε το εναλλακτικό αυτό μικροβιακό μονοπάτι για την απομάκρυνση του N (Mulder et al., 1995; van de Graaf et al., 1995), αρκετές διεργασίες ANAMMOX έχουν αναφερθεί σε συστήματα επεξεργασίας ΥΑ πλούσια σε  $\text{NH}_4\text{-N}$  (Schmid et al., 2000a,b, 2003; Egli et al., 2001; Helmer et al., 2001; Rynjaert et al., 2003). Πρόσφατα οι διεργασίες ανακαλύφθηκαν και στη φύση, όπως σε θαλάσσια ιζήματα, και σε ανοξικές στήλες νερού (Jetten et al., 1999; Thamdrup and Dalsgaard, 2002; Dalsgaard et al., 2003; Kuypers et al., 2003) και στους ΤΥ (πχ. Shipin et al., 2004). Στο σχήμα 1.5 παρουσιάζονται οι διεργασίες μετασχηματισμού του N που συντελούνται σε υδατικά περιβάλλοντα ενώ έχει προστεθεί το μονοπάτι των ANAMMOX.

Έχει αποδειχθεί ότι στην διεργασία ANAMMOX, τα  $\text{NO}_3\text{-N}$  χρησιμοποιούνταν σαν ηλεκτρονιακοί δέκτες. Οι υπολογισμοί της ισορροπίας redox έδειξαν την παρακάτω στοιχειομετρία:



Κατά τη διάρκεια περαιτέρω έρευνας αυτής της διεργασίας, βρέθηκαν ενδείξεις ότι τα  $\text{NO}_2\text{-N}$  μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σαν κατάλληλος ηλεκτρονιακός δέκτης για τη διεργασία των ANAMMOX (van de Graaf et al., 1995):





Σχήμα 1.5: Μικροβιακός κύκλος του N

Μεγάλο πλεονέκτημα αυτής της διεργασίας είναι ότι δεν απαιτείται πηγή οργανικού C για την απομάκρυνση N από το νερό (Wallace and Austin, 2008). Αν και έχουν αργούς ρυθμούς ανάπτυξης, άπαξ και αναπτυχθεί η βιομάζα, οι ρυθμοί απομάκρυνσης του N είναι υψηλοί.

Η αναλυτική βιοχημεία της διεργασίας ακόμη διερευνάται σε εργαστηριακά πειράματα και σε συστήματα επεξεργασίας ΥΑ (πχ Schalk et al., 2000; Schmidt et al., 2003; Strous and Jetten, 2004). Σύμφωνα με τη στοιχειομετρία ANAMMOX 1,9g O<sub>2</sub> απαιτούνται για 1,0g NH<sub>4</sub>-N, το οποίο περιλαμβάνει το απαιτούμενο O<sub>2</sub> ώστε να μετατραπεί η NH<sub>4</sub>-N σε NO<sub>2</sub>-N (Sliekers et al., 2002). Αυτό είναι πολύ λιγότερο από την απαίτηση του O<sub>2</sub> για τις πρότυπες διεργασίες της νιτροποίησης/απονιτροποίησης. Ωστόσο, υπάρχουν άλλες απαιτήσεις για O<sub>2</sub> όπως ο ετεροτροφικός μεταβολισμός. Ενώ αυτοί οι οργανισμοί έχουν βρεθεί σε πολλά φυσικά περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένων και των συμβατικών συστημάτων επεξεργασίας ΥΑ και αναπτύσσονται σε επαρκείς ποσότητες για τους κλιμακωτά αυξανόμενους αντιδραστήρες, ακόμη είναι άγνωστη η έκταση αυτών των αντιδράσεων στους ΤΥ. Έρευνα απαιτείται ώστε να κατανοηθεί ο τρόπος που τα μικρόβια και οι αμμωνιακές οξειδωτικές αντιδράσεις ανταγωνίζονται στην οικολογία των ποικίλων συστημάτων υγροβιότοπων (Hunt et al., 2005).

Τα ANAMMOX είναι μία σχεδόν τόσο δραστήρια αντίδραση όσο και η αερόβια νιτροποίηση (Mulder et al., 1995). Διεξάγεται από βακτήρια συναφή σε *planctomycete*, *Candidatus Brocadia anammoxidans* τα οποία κυριαρχούν στην επεξεργασία ΥΑ και από τα *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* τα οποία συνήθως κυριαρχούν στο βακτηριακό βιοφίλμ (Schmid et al., 2000; Sliekers et al., 2002). Αυτά τα βακτήρια ανιχνεύτηκαν με τη μέθοδο FISH σε συστήματα επεξεργασίας ΥΑ που έχουν υψηλή απομάκρυνση NH<sub>4</sub>-N (Schmidt et al., 2002). Είναι εφικτό να εισαχθεί μικροβιακή βιομάζα ANAMMOX σε ΤΥ ώστε να ενισχυθεί η απομάκρυνση του ολικού N και της NH<sub>4</sub>-N (Paredes et al., 2007). Συγκριτικά με τους πραγματικούς νιτροποιητές τα βακτήρια ANAMMOX συνυπάρχουν πιο εύκολα με ετεροτροφικά βακτήρια επειδή η ετεροτροφική κατανάλωση O<sub>2</sub> δημιουργεί ένα περισσότερο ανοξικό περιβάλλον που ευνοεί τα ANAMMOX βακτήρια σε ανταγωνισμό

όμως με τους νιτροποιητές. Με τον κατάλληλο σχεδιασμό, τα ετερότροφα βακτήρια μπορούν να καταναλώνουν  $O_2$  και να δημιουργούν ένα περιβάλλον με περιορισμένο  $O_2$  για τα ANAMMOX αλλά και να ανάγουν  $NO_3-N$  σε  $NO_2-N$  προωθώντας την διεργασία ANAMMOX. Ένα εμφανές πλεονέκτημα των ANAMMOX στους ΤΥ είναι η δυνατότητα να πετύχουν απομάκρυνση της  $NH_4-N$  σε  $N_2$  σαν πρωτεύον προϊόν. Σε έναν αντιδραστήρα ANAMMOX, περίπου το 85% της  $NH_4-N$  μετατράπηκε σε  $N_2$ , 15% σε  $NO_3^-$ , και λιγότερο από 0,1% σε  $N_2O$ . Οι απονιτροποιητές θα μπορούσαν προφανώς να μετατρέψουν τα  $NO_3-N$  που δημιουργήθηκαν σε αέριο N (Dong and Sun, 2007), γεγονός που υποδηλώνει πως η διεργασία ANAMMOX μπορεί να μετατρέψει τη  $NH_4-N$  σε  $N_2$  χωρίς την υπερβολική παραγωγή αερίων του θερμοκηπίου.

Τα AOB που οξειδώνουν την  $NH_4-N$  βρέθηκε ότι ανήκουν σε δύο φυλογενετικές ομάδες: *Nitrosococcus oceanii* και *Nitrosococcus halophilus* της κλάσης  $\gamma$ -Proteobacteria και *Nitrosomonas*, και *Nitrospira spp.* της κλάσης  $\beta$ -Proteobacteria (Pytkhold et al., 2000). Υψηλότερο ποσοστό των αλληλουχιών *Nitrospira* (Gorra et al., 2007, Ibekwe et al., 2003; Tietz et al., 2007) μεταξύ των AOB πληθυσμών, βρέθηκαν σε ΤΥ κατακόρυφης και οριζόντιας ροής που επεξεργάζονταν ΥΑ διαφορετικής ποιότητας (ΥΑ γαλακτοκομείων, ΥΑ τυροκομείου, αστικά ΥΑ). Σε αντίθεση, είδη *Nitrosomonas spp.* βρίσκονται συνήθως σε συμβατικές μονάδες επεξεργασίας ΥΑ (Harms et al., 2003; Rowan et al., 2003).

Βάση μελετών σε μονάδες επεξεργασίας αστικών ΥΑ, οι κοινότητες των AOB τείνουν να είναι σταθερές στον χρόνο και η σύνθεσή τους ποικίλει μόνο ελάχιστα (Dionisi et al., 2002; Hallin et al., 2005).

Στα δείγματα φίλτρων άμμου από HSSF επεξεργασίας οικιακών ΥΑ, βρέθηκαν μικροβιακοί πληθυσμοί των οποίων η αφθονία ποικίλει μέσα στον ΤΥ. Συνολικά γύρω στους 15 διαφορετικούς πληθυσμούς AOB μπορούν να διαχωριστούν βάση των αποτελεσμάτων που έδειξε η ανάλυση DGGE (denaturing gradient gel electrophoretic) στην CTO περιοχή του 16S rRNA γονιδίου (Truu et al., 2005). Η κατανομή των AOB βρέθηκε να σχετίζεται με το υλικό του φίλτρου, τη μικροβιακή βιομάζα, και τις συγκεντρώσεις του ολικού N και P (Truu et al., 2009).

Αρκετές μελέτες έχουν εφαρμόσει τη μέθοδο FISH ώστε να ποσοτικοποιήσουν τους βακτηριδιακούς πληθυσμούς που συμμετέχουν στις διεργασίες μετασχηματισμού του N. Ανάλογα με το είδος του ΤΥ και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, η αφθονία των *Nitrosomonas spp.* μπορεί να ποικίλει από 0-15% στους HSSF (Silyn-Roberts and Lewis, 2001) και μέχρι 4% στους FWS (Flood et al., 1999), ενώ το πλήθος των βακτηρίων από τα γένη *Nitrospira* και *Nitrobacter* μπορεί να φτάσουν τιμές 1.5% και 4.3% αντίστοιχα, σε SFCW (Shipin et al., 2005). Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι κάποια υποστρώματα είναι καταλληλότερα για τις κοινότητες των AOB. Οι Gorra et al. (2007) έδειξαν ότι τα χαρακτηριστικά του ζεόλιθου είναι τα πιο κατάλληλα για να φιλοξενούν μία σταθερή και ενεργή κοινότητα AOB.

Οι Dong και Sun (2007) καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι είναι εφικτή η μερική-νιτροποίηση μαζί με τη διεργασία ANAMMOX, βελτιώνοντας την απόδοση απομάκρυνσης του ολικού N. Ωστόσο, επισημαίνουν κάποια βασικά σημεία: οι ΤΥ είναι κατάλληλοι αντιδραστήρες για την αποθήκευση βιομάζας και την προώθηση της ανάπτυξης των ANAMMOX. Πολύ σημαντικό ρόλο για την αυξανόμενη βιομάζα των ANAMMOX βακτηρίων παίζει ο σχεδιασμός και η κατασκευή αερόβιων-ανοξικών διεπαφών στους ΤΥ. Επιπλέον, ο έλεγχος του pH (υψηλές τιμές pH είναι καταλληλότερες για την ανάπτυξη των ANAMMOX) κατά την προεπεξεργασία μπορεί να βοηθήσει στην ανάπτυξη των ANAMMOX, ενώ η αναλογική

επάρκεια  $\text{NH}_4^+$  ήταν απαραίτητη ώστε τα ANAMMOX βακτήρια να ανταγωνιστούν με τα ετερότροφα βακτήρια σε οριζόντια συστήματα. Τελειώνοντας, καταλήγουν ότι η ύπαρξη ανάλογου COD μπορεί να προωθήσει την συνύπαρξη ετερότροφων βακτηρίων και ANAMMOX. Όλα αυτά τα βακτήρια μπορούν να χρησιμοποιήσουν  $\text{NO}_2\text{-N}$  και επομένως η απομάκρυνση του N μπορεί να βελτιωθεί.

Παρόλα αυτά, απαιτείται περαιτέρω έρευνα πάνω σε αυτήν την διεργασία στους ΤΥ, όπως τα είδη των ANAMMOX βακτηρίων, η επίδραση του P, οι βέλτιστες παράμετροι σχεδιασμού κτλ.

### 1.5.2 Διεργασίες που καθορίζουν το γίνεσθαι του N στους ΤΥ

Συνοψίζοντας, όπως με τα συμβατικά συστήματα επεξεργασίας ΥΑ, η βιβλιογραφία υποδηλώνει ότι η προαγωγή των αερόβιων ζωνών μέσα σε έναν ΤΥ αυξάνει τον συνολικό ρυθμό νιτροποίησης και μειώνει τον ρυθμό της απονιτροποίησης. Χαμηλότερη θερμοκρασία μειώνει το ρυθμό νιτροποίησης, αν όμως μία χαμηλότερη θερμοκρασία ενισχύει άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες οι οποίοι έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στους νιτροποιητές, όπως το αυξημένο redox δυναμικό, η θερμοκρασιακή επίδραση μπορεί να είναι περιορισμένη. Πολλές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι διαφορές στη νιτροποίηση μεταξύ συστημάτων μπορεί να οφείλονται σε διαφορές της ποικιλομορφίας των νιτροποιητικών μικροβίων και/ή χρονικών μεταβολών στην ποικιλομορφία εξαιτίας αλλαγών των περιβαλλοντικών παραγόντων. Όμως, πολύ λίγες μελέτες έχουν διεξαχθεί για να προβλέψουν πώς η ποικιλομορφία των νιτροποιητικών βακτηρίων μπορεί να μεταχειριστεί ώστε να ενισχυθεί η απόδοση. Ακόμη λιγότερες έρευνες έχουν απασχολήσει μικροβιακές τεχνικές για να εκτιμήσουν τη διεργασία της απονιτροποίησης στους ΤΥ. Αυτό μάλλον οφείλεται στο γεγονός ότι η διεργασία συχνά θεωρείται λιγότερο σημαντική για τον καθαρισμό των νερών και τα συστήματα HSSF εμφανίζουν αποδεκτά ποσοστά απονιτροποίησης. Οι συνολικές περιβαλλοντικές συνθήκες ενός ΤΥ μπορεί να είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη βακτηρίων ANAMMOX, όμως πολύ λίγη έρευνα έχει διεξαχθεί σε αυτήν την τόσο πολλά υποσχόμενη ομάδα.

Παρόλα αυτά, δεν απομακρύνουν όλες οι παραπάνω διεργασίες το N από τα ΥΑ. Οι μηχανισμοί που τελικά απομακρύνουν N από τα απόβλητα περιλαμβάνουν μόνο την εξάτμωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$ , απονιτροποίηση, ανάληψη από τα φυτά (με συγκομιδή βιομάζας), προσρόφηση  $\text{NH}_4\text{-N}$ , ANAMMOX και η ταφή οργανικού N. άλλες διεργασίες (πχ. Αμμωνιοποίηση ή νιτροποίηση) μετατρέπουν «μόνο», το N ανάμεσα στις διάφορες μορφές N, όμως δεν απομακρύνουν στην πραγματικότητα το N από τους υδροβιότοπους. Για παράδειγμα, η αμμωνιοποίηση μετατρέπει οργανικό N σε  $\text{NH}_4\text{-N}$  και έτσι αυξάνεται το ποσό της  $\text{NH}_4\text{-N}$  στο σύστημα. Επίσης, δεν συμβαίνουν όλες οι διεργασίες σε όλους τους τύπους ΤΥ και οι διαστάσεις των ξεχωριστών διεργασιών ποικίλουν ανάμεσα στους τύπους των ΤΥ (πίνακας 1.3). Κύρια αιτία είναι το γεγονός ότι οι FFP ΤΥ έχουν έλλειψη από εδαφικές διεργασίες, οι FCS ΤΥ έχουν πολύ περιορισμένες εδαφικές διεργασίες και οι υποεπιφανειακής ροής ΤΥ έχουν έλλειψη διεργασιών στην ελεύθερη ζώνη του νερού. Στην πραγματικότητα, το μέγεθος των διεργασιών οι οποίες τελικά θα απομακρύνουν ολικό N από τα συστήματα είναι συνήθως χαμηλό, και συνεπώς η απομάκρυνση του ολικού N είναι συνήθως χαμηλή σε ΤΥ ενός σταδίου.

Η εξάτμιση/εξάχνωση μπορεί να είναι ένα σημαντικό μονοπάτι για την απομάκρυνση του Ν στους ΤΥ με ανοιχτή επιφάνεια νερού όπου οι συγκεντρώσεις άλγης μπορούν να δημιουργήσουν υψηλές τιμές pH κατά τη διάρκεια της μέρας μέσω της φωτοσυνθετικής τους δραστηριότητας. Σε συστήματα με υψηλές συγκεντρώσεις πλανκτόν ή περιφυτικών άλγεων το pH μπορεί να φτάσει τιμές μέχρι >10 κατά τη διάρκεια της μέρας, παρέχοντας έτσι κατάλληλες συνθήκες για την εξάχνωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$ .

**Πίνακας 1.3: Πιθανό μέγεθος των μετασχηματισμών Ν σε διάφορους τύπους ΤΥ (Vymazal, 2006)**

	<b>FFP</b>	<b>FWS</b>	<b>HSSF</b>	<b>VSSF</b>
<b>Εξάτμωση</b>	<b>Χαμηλό</b>	<b>Μεσαίο</b>	<b>Μηδαμινό</b>	<b>Μηδαμινό</b>
Αμμωνιοποίηση	Υψηλό	Υψηλό	Υψηλό	Υψηλό
Νιτροποίηση	Χαμηλό	Μεσαίο	Πολύ Χαμηλό	Πολύ Υψηλό
Νιτρικά – αμμωνιοποίηση	??	??	??	??
<b>Απονιτροποίηση</b>	<b>Μεσαίο</b>	<b>Μεσαίο</b>	<b>Πολύ Υψηλό</b>	<b>Πολύ Χαμηλό</b>
Δέσμευση $\text{N}_2$	??	??	??	??
Μικροβιακή ανάληψη	Χαμηλό	Χαμηλό	Χαμηλό	Χαμηλό
<b>Ανάληψη από τα φυτά (με τη συγκομιδή)</b>	<b>Μεσαίο</b>	<b>Χαμηλό</b>	<b>Χαμηλό</b>	<b>Χαμηλό</b>
Προσρόφηση $\text{NH}_4\text{-N}$	Μηδαμινό	Πολύ Χαμηλό	Πολύ Χαμηλό	Πολύ Χαμηλό
<b>Ταφή οργανικού Ν</b>	<b>Πολύ Χαμηλό</b>	<b>Χαμηλό</b>	<b>Χαμηλό</b>	<b>Πολύ Χαμηλό</b>
Διήθηση και θρυμματισμός	??	??	??	??
<b>ANAMOX</b>	<b>??</b>	<b>??</b>	<b>??</b>	<b>??</b>

Η διεργασία της αμμωνιοποίησης δεν απομακρύνει Ν από τα ΥΑ στους ΤΥ απλώς μετατρέπει οργανικό Ν σε  $\text{NH}_4\text{-N}$  η οποία είναι τότε διαθέσιμη για άλλες διεργασίες (πχ. Νιτροποίηση, εξάχνωση/εξάτμιση, προσρόφηση, ανάληψη από τα φυτά). Η αμμωνιοποίηση λαμβάνει χώρα επίσης κατά τη διάρκεια της αποσύνθεσης της βιομάζας των φυτών των υγροβιότοπων και ξεκινά τόσο κάτω από αερόβιες όσο και κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Επιπλέον, η αμμωνιοποίηση συμβαίνει σε όλους τους τύπους ΤΥ.

Η νιτροποίηση όμοια με την αμμωνιοποίηση, δεν απομακρύνει Ν από τους υγροβιότοπους. Ωστόσο, σε συνδυασμό με την απονιτροποίηση φαίνεται να είναι η κύρια διεργασία απομάκρυνσης σε πολλούς ΤΥ. Η νιτροποίηση λαμβάνει χώρα όταν το  $\text{O}_2$  είναι παρόν, σε συγκεντρώσεις τόσο υψηλές ώστε να μπορούν να στηρίξουν την ανάπτυξη των υποχρεωτικά αερόβιων νιτροποιητικών βακτηρίων. Η νιτροποίηση συμβαίνει σε όλους του τύπους ΤΥ, ωστόσο, η έκταση της διεργασίας καθορίζεται από τη διαθεσιμότητα  $\text{O}_2$ . Η νιτροποίηση είναι μία περιοριστική διεργασία για την απομάκρυνση του Ν στους περισσότερους τύπους ΤΥ καθώς η  $\text{NH}_4\text{-N}$  είναι το κυρίαρχο είδος Ν στα αστικά απόβλητα και σε πολλά άλλα ΥΑ.

Η νιτρική – αμμωνιοποίηση είναι πιθανών η λιγότερο μελετημένη διεργασία των μετασχηματισμών Ν στους ΤΥ και υπάρχει έλλειψη πληροφορίας για αυτή τη διεργασία και τον ρόλο της στις διεργασίες επεξεργασίας. Νιτρική – αμμωνιοποίηση συμβαίνει κάτω από συνθήκες χαμηλού redox δυναμικού και συνεπώς, υπάρχει μία πιθανότητα αυτή η διεργασία να είναι σημαντική στους ΤΥ όπου αναερόβιες συνθήκες επικρατούν, πχ. σε

συστήματα HSSF. Παρόλα αυτά, όποιο κι αν είναι το επίπεδο της γνώσης μας για αυτή τη διεργασία, η νιτρική – αμμωνιοποίηση δεν απομακρύνει το N από τα ΥΑ.

Η απονιτροποίηση θεωρείται ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης N στους περισσότερους τύπους ΤΥ. Οι συγκεντρώσεις νιτρικών ωστόσο, είναι συνήθως πολύ χαμηλές στα ΥΑ (εξαίρεση είναι τα νερά αποστράγγισης από αγροτικά και μερικά βιομηχανικά λύματα) και έτσι, η απονιτροποίηση πρέπει να συνδυάζεται με τη νιτροποίηση. Διαφορετικές απαιτήσεις για την παρουσία  $O_2$  για την νιτροποίηση και απονιτροποίηση είναι το κύριο εμπόδιο σε πολλούς ΤΥ για την επίτευξη υψηλών τιμών απομάκρυνσης N.

Η δέσμευση αέριου N μπορεί να συμβάλει κάτω από ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες σημαντικά στον κύκλο του N στους υγροβιότοπους. Μετά την αποσύνθεση των μικροοργανισμών δέσμευσης N, το N που έχει μετατραπεί σε οργανικές ενώσεις απελευθερώνεται στο νερό. Αυτή η διεργασία παραμελείται κατά τη διάρκεια της αξιολόγησης της απομάκρυνσης N στους ΤΥ και πρακτικά δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα. Φαίνεται ωστόσο, ότι στα συστήματα με ελεύθερη επιφάνεια νερού η ταφή μπορεί να λάβει χώρα έντονα, μέσω της ταφής από τη μπλε-πράσινη άλγη (κυανοβακτήρια).

Η ανάληψη από τα φυτά είναι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης στους ΤΥ με μακρόφυτα που επιπλέουν ελεύθερα. Η πιθανότητα αναδυόμενων φυτών είναι αρκετά χαμηλή ειδικότερα στους ΤΥ για την επεξεργασία αστικών ή οικιακών λυμάτων. Φαίνεται όμως, ότι σε τροπικές περιοχές όπου οι εποχιακές μετακινήσεις είναι ελάχιστες, και πολλαπλή σοδειά είναι πιθανή, η συγκομιδή αναδυόμενων φυτών μπορεί να είναι σημαντική στο μονοπάτι απομάκρυνσης N, ειδικότερα σε υψηλά φορτισμένα συστήματα.

Η προσρόφηση της  $NH_4-N$  είναι περιορισμένη στους ΤΥ με υποεπιφανειακή ροή όπου η επαφή μεταξύ του υποστρώματος και του λύματος είναι αποδοτική. Επιπλέον, τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στους ΤΥ συνήθως δεν παρέχουν μεγάλες ποσότητες ροφητικών θέσεων. Τα αργιλώδη εδάφη τα οποία είναι τα πιο αποτελεσματικά στη ρόφηση  $NH_4-N$  δεν χρησιμοποιούνται συνήθως στους ΤΥ.

Η ταφή οργανικού N σαν μηχανισμός απομάκρυνσης είναι περιορισμένος στους ΤΥ με αναδυόμενη βλάστηση και ελεύθερη επιφάνεια νερού όπου η στρώση λύματος παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση θρεπτικών.

Η απομάκρυνση του ολικού N στους ΤΥ με φυτά που πλέουν ελεύθερα, ελεύθερης επιφάνειας ΤΥ με αναδυόμενη βλάστηση και υποεπιφανειακής ροής ΤΥ συνοψίζεται στον πίνακα 1.4.



Πίνακας 1.4: Απομάκρυνση ολικού Ν (TN) σε διάφορους τύπους ΤΥ (μέσες τιμές) (Vymazal, 2001, 2005a, b)

CW Type	Unit	TN in	TN out	Efficiency	N
<b>Concentrations</b>					
FFP	mg l <sup>-1</sup>	14.6	6.6	54.8	14
FWS	mg l <sup>-1</sup>	14.3	8.4	41.2	85
HSSF	mg l <sup>-1</sup>	46.6	26.9	42.3	137
VSSF	mg l <sup>-1</sup>	68.4	37.9	44.6	51
<b>Loadings</b>				<b>Removed load</b>	
FFP	g m <sup>-2</sup> yr <sup>-1</sup>	838	431	407	14
FWS	g m <sup>-2</sup> yr <sup>-1</sup>	466	219	247	85
HSSF	g m <sup>-2</sup> yr <sup>-1</sup>	644	394	250	113
VSSF	g m <sup>-2</sup> yr <sup>-1</sup>	1222	592	630	42

FFP = φυτά που επιπλέουν ελεύθερα (αποτελέσματα από νοτιοανατολική ΗΠΑ), FWS = συστήματα ελεύθερης επιφάνειας νερού (αποτελέσματα από Αυστραλία, Καναδά, Κίνα, Ν. Ζηλανδία, Πολωνία, Σουηδία, Ολλανδία, ΗΠΑ), HSSF = οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής (Αυστραλία, Αυστρία, Βραζιλία, Καναδά, Τσεχία, Δανία, Γερμανία, Ινδία, Μεξικό, Ν. Ζηλανδία, Πολωνία, Σλοβενία, Σουηδία, Αγγλία, ΗΠΑ), VSSF = κατακόρυφης υποεπιφανειακής ροής (Αυστραλία, Αυστρία, Κίνα, Δανία, Γαλλία, Γερμανία, Ιρλανδία, Πολωνία, Νορβηγία, Ολλανδία, Τουρκία, Αγγλία)

Η ικανότητα απομάκρυνσης είναι παρόμοια σε όλα τα συστήματα με ελαφρώς υψηλότερη απομάκρυνση να έχει βρεθεί για τους FFP ΤΥ σαν αποτέλεσμα της πολλαπλής συγκομιδής. Η απομάκρυνση του TN σε μελετημένους τύπους ΤΥ ποικίλει μεταξύ 40-50% με την απομάκρυνση να κυμαίνεται μεταξύ 250-630g N/m<sup>2</sup> d αναλόγως τον τύπο του ΤΥ και τη φόρτιση εισροής. Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι τα συστήματα SSF έχουν πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις εισροής εξαιτίας του γεγονότος ότι αυτά τα συστήματα συνήθως χρησιμοποιούνται σαν δευτεροβάθμιο στάδιο επεξεργασίας ενώ τα συστήματα FFP και FWS συνήθως χρησιμοποιούνται σαν τεταρτοβάθμιο στάδιο. Έτσι, οι συγκεντρώσεις TN εξόδου στα συστήματα SSF είναι υψηλότερες. Επίσης, οι συγκεντρώσεις TN εισόδου στους VSSF ΤΥ είναι υψηλότερες από ότι στα HSSF επειδή τα HSSF συστήματα πολύ συχνά επεξεργάζονται αραιωμένα λύματα από συνδυασμένα αποχετευτικά συστήματα.

Αποτελέσματα διάφορων μελετών επιβεβαιώνουν ότι οι μικροβιακές διεργασίες είναι οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης θρεπτικών στους HSSF (Kang et al., 1998, Shackle et al., 2000, Sundberg et al., 2007a; Tao et al., 2007a). Οι διεργασίες απομάκρυνσης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τις υδραυλικές συνθήκες του FWS (Sirivedhin and Gray, 2006; Sundberg et al., 2007a).

Η πλειοψηφία (81-95%) της μικροβιακής βιομάζας σε έναν FWS βρίσκεται κυρίως στα ιζήματα, η σχετική αφθονία όμως βιομάζας και της ετεροτροφικής της παραγωγής στα διαφορετικά διαμερίσματα (ελεύθερη επιφάνεια νερού, ιζήματα, βιοφίλμ) των ΤΥ εξαρτάται από τους ρυθμούς φόρτισης της οργανικής ύλης. Κάτω από περιοριστικές συνθήκες υποστρώματος τα βακτήρια προσκολλήθηκαν στις επιφάνειες όπου η ανάπτυξή τους υποστηρίζεται από υψηλότερο περιεχόμενο οργανικής ύλης, ενώ υψηλότεροι ρυθμοί οργανικής φόρτισης (32-396g COD/d\*m<sup>3</sup>) υποστήριζαν βακτηριακή ανάπτυξη

(ετεροτροφική παραγωγή) στην ελεύθερη επιφάνεια του νερού και σε βιοφίλμ, σύμφωνα με τους Tao et al. (2007a,b)

### 1.6 Στόχος – σκοπός της εργασίας

Κύριος σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η παρακολούθηση των διεργασιών που καθορίζουν την απομάκρυνση του N στους ΤΥ. Για τον σκοπό αυτόν μελετήθηκαν έξι πειραματικοί FWS οι οποίοι διέφεραν στο είδος της βλάστησης, ώστε να διερευνηθεί η όποια επίδρασή της στην επεξεργασία αποβλήτων στους ΤΥ [δύο επαναλήψεις με το είδος *T. Latifolia*, δύο με το είδος *A. Donax* και δύο χωρίς βλάστηση (control)]. Στα πλαίσια της παρακολούθησης έγιναν μετρήσεις των βιολογικών και χημικών παραμέτρων του Συνθετικού Αποβλήτου (ΣΑ), ώστε να αξιολογηθεί η συνολική απόδοση του συστήματος.

Οι παράμετροι που διερευνήθηκαν κατά την διάρκεια της εργασίας είναι οι ακόλουθες:

- COD (Chemical Oxygen Demand)
- Αμμωνία ( $\text{NH}_4\text{-N}$ )
- Ολικό άζωτο κατά Kjeldahl (TKN)
- Νιτρικά ιόντα ( $\text{NO}_3\text{-N}$ )
- Αμινοξέα (AA)

Η παρακολούθηση των ΤΥ πραγματοποιήθηκε από τις 24 Αυγούστου του 2010 μέχρι τις 3 Νοεμβρίου του 2010 με συχνές δειγματοληψίες.

Γενικότερα ο στόχος μας είναι να διευκρινίσουμε και να διατυπώσουμε όσο καλύτερα μπορούμε τις διεργασίες που πραγματοποιούνται στον κύκλο του N στους ΤΥ και η αξιοποίησή τους στους ΤΥ για τη μεγιστοποίηση της απομάκρυνσης του N.



## Κεφάλαιο 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ-ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### 2.1 Πειραματικός Σχεδιασμός

Για την παρακολούθηση των διεργασιών που συντελούνται κατά την απομάκρυνση του Ν στην επεξεργασία ΥΑ σε ΤΥ, κατασκευάστηκε τον Ιούνιο του 2010 έξω από το θερμοκήπιο της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης η πειραματική εγκατάσταση που εμφανίζεται στο Σχήμα 2.1.

Η εγκατάσταση περιέχει μια δεξαμενή αποθήκευσης του Συνθετικού Υγρού Αποβλήτου (ΣΑ) όγκου 1 m<sup>3</sup>, 6 πιλοτικές μονάδες ΤΥ και μία αντλία για τη ρύθμιση της τροφοδοσίας των συστημάτων. Ο τύπος των ΤΥ που επιλέχθηκε είναι FWS. Δύο από τους ΤΥ φυτεύτηκαν με το φυτικό είδος *T. Latifolia*, δύο με το *A. Donax* και δύο παρέμειναν χωρίς βλάστηση (control). Οι διαστάσεις των ΤΥ ήταν 105x45x20 cm.

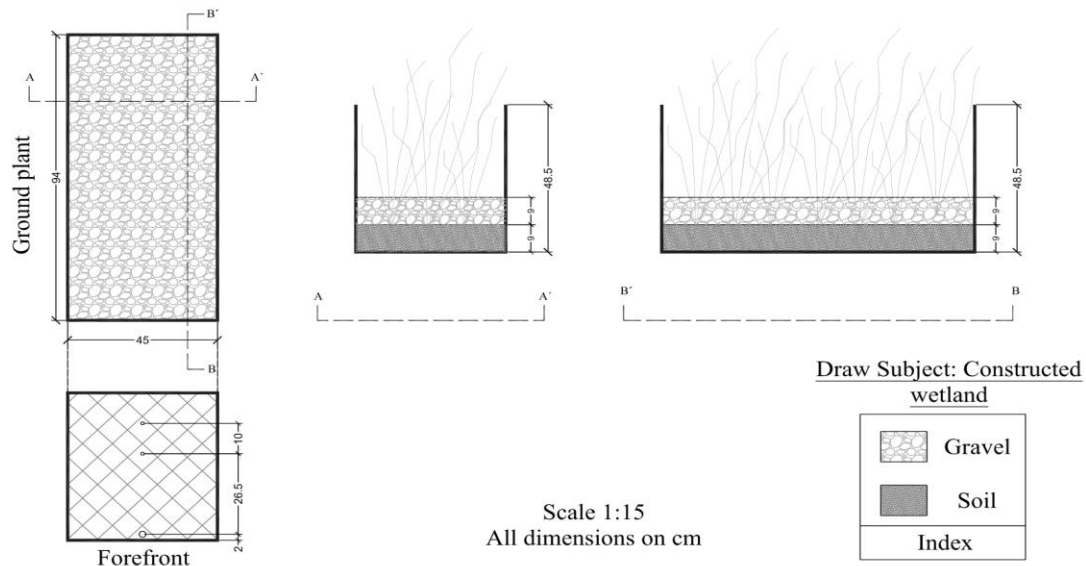
Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκε ΣΑ το οποίο παρασκευάστηκε σύμφωνα με το "OECD STANDARD SEWAGE, 1996" με κάποιες τροποποιήσεις (Yao et al., 2010). Στο πείραμα της παρούσας εργασίας έγιναν κάποιες επιπλέον τροποποιήσεις οι οποίες καθορίστηκαν μέσω δοκιμών του παρασκευαζόμενου ΣΑ, ώστε να προσομοιώνεται ρεαλιστικότερα στα αστικά ΥΑ. Στον πίνακα 2.1 παρουσιάζονται αναλυτικά τα συστατικά του ΣΑ, καθώς και η συγκεντρώση τους. Το απόβλητο παρασκευαζόταν κάθε δύο μέρες και αποθηκευόταν στη δεξαμενή. Από εκεί τροφοδοτούνταν μέσω της αντλίας στις δεξαμενές των ΤΥ. Κάθε μονάδα ΤΥ δέχονταν εφαρμογή με 34 l/d ΣΑ. Στο σχήμα 2.1 απεικονίζονται οι σχεδιαστικές παράμετροι της πειραματικής εγκατάστασης.

Πίνακας 2.1: Σύθεση ΣΑ

Χημική Ένωση	g/m <sup>3</sup>
Glucose	100
H <sub>2</sub> NaO <sub>4</sub> PH <sub>2</sub> O	74.37
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	43.53
CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O	2.01
MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	25
FeSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	2
Cl <sub>2</sub> Mn-4H <sub>2</sub> O	1.43
Peptone	300

Το ΣΑ εισέρχονταν στους ΤΥ μέσω σωλήνα διαμέτρου φ15 το οποίο κατέληγε σε σταλακτήρα παροχής 4 L/h. Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) στις δεξαμενές υπολογίστηκε στις 3 ημέρες. Η ροή του λύματος γίνεται με αντλία μέχρι την εισαγωγή του

στις δεξαμενές και από κει και πέρα με τη βαρύτητα. Η έξοδός του από τις δεξαμενές γίνεται με υπερχείλιση.



Σχήμα 2.1: Σχεδιαστικές παράμετροι της πειραματικής εγκατάστασης

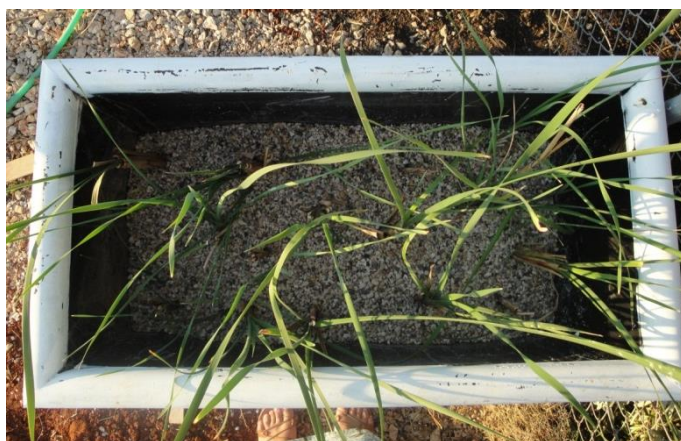
Στη βάση των δεξαμενών τοποθετήθηκε έδαφος βάθους 15 cm. Το πορώδες υλικό που χρησιμοποιήθηκε είναι καλά πλυμένο και με ορισμένη κοκκομετρία. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε χαλίκι (0.5-10 mm) το οποίο τοποθετήθηκε στις δεξαμενές σε ύψος 15 cm. Στις εικόνες 2.1–2.5 παρουσιάζεται η πειραματική εγκατάσταση και πιο λεπτομερειακά οι δεξαμενές ΤΥ.



Εικόνα 2.1: Κατά τα πρώτα στάδια της πειραματικής εγκατάστασης (πριν την αρχική τροφοδοσία με ΣΑ, όσο περιμέναμε να αναπτυχθούν τα φυτά



Εικόνα 2.2: Κάτοψη της δεξαμενής χωρίς βλάστηση



Εικόνα 2.3: Κάτοψη της φυτεμένης δεξαμενής με *T. Latifolia*



Εικόνα 2.4: Κάτοψη της φυτεμένης δεξαμενής με *A. Donax*



Εικόνα 2.5: Κοντινή όψη της φυτεμένης δεξαμενής με *A. Donax*. Στο βάθος διακρίνονται η δεξαμενή με *T. Latifolia* και η κενή

Τα φυτά παρουσίασαν πολύ καλή ανάπτυξη κατά την διάρκεια της εργασίας, η οποία ήταν μεγαλύτερη για τα φυτά του είδους *T. Latifolia*.

## 2.2 Δειγματοληψίες-Αναλύσεις

Για τις ανάγκες της διπλωματικής διατριβής έλαβαν χώρα συνολικά 13 δειγματοληψίες στο διάστημα από τις 24 Αυγούστου 2010 μέχρι τις 3 Νοεμβρίου 2010. Οι δειγματοληψίες, που ήταν κυρίως εβδομαδιαίες, πραγματοποιούνταν πάντα κατά τις πρωινές ώρες.

Τις τρεις πρώτες μέρες μετά την αρχική εφαρμογή του ΣΑ στους ΤΥ εφαρμόστηκαν πυκνές και συστηματικές δειγματοληψίες (4 τη μέρα ανά 4 ώρες). Αυτό έγινε στην προσπάθεια διαμόρφωσης μιας κινητικής εξίσωσης μονοπατιών της απομάκρυνσης του N καθώς και για την παρακολούθηση του συστήματος μέχρι την σταθεροποίησή του.

Τα δείγματα συλλέγονταν σε καθαρά κυλινδρικά πλαστικά δοχεία 50 mL από την έξοδο της εκάστοτε δεξαμενής. Επίσης, δείγμα συλλεγόταν κι από τη δεξαμενή αποθήκευσης του συνθετικού αποβλήτου.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η παρακολούθηση του κύκλου του N κατά την επεξεργασία υγρών αποβλήτων από ΤΥ. Έτσι, με την πειραματική εγκατάσταση που περιγράφεται προσδιορίστηκαν το pH, η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC), οι διάφορες μορφές N ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$ , TKN, AA) και το COD.

## 2.3 Πρωτόκολλα Μετρήσεων

Στην παράγραφο αυτή περιγράφονται συνοπτικά οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για την μέτρηση των παραμέτρων που προαναφέρθηκαν. Σε όλες τις μεθοδολογίες χρειάστηκε να δημιουργηθεί καμπύλη βαθμονόμησης (επιλέχτηκε κάθε φορά η γραμμή τάσης με  $R^2$  που να προσεγγίζει όσο το δυνατόν περισσότερο τη μονάδα).

### Νιτρικό N ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) και αμμωνιακό N ( $\text{NH}_4\text{-N}$ )

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του  $\text{NO}_3\text{-N}$  χρησιμοποιήθηκε το NitraVer® 5, Powder Pillows (HACH – εύρος προσδιορισμού 0-30 mg/L). Η μέτρηση έγινε φωτομετρικά



σε μήκος κύματος 540 nm. Η συγκέντρωση του  $\text{NH}_4\text{-N}$  προσδιορίστηκε φωτομετρικά με το αντιδραστήριο Nessler σε μήκος κύματος 425 nm. Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιήθηκε τόσο για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του  $\text{NO}_3\text{-N}$  όσο και του  $\text{NH}_4\text{-N}$  είναι το Perkin-Elmer UV/VIS Lambda 25.

#### **Αμινοξέα (AA)**

Σε φιαλίδια των 10 ml προστέθηκαν 2 ml του δείγματος, αντιδραστήριο νινυδρίνης και στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε water bath στους 95 °C για 25 λεπτά. Έπειτα τα δείγματα τοποθετούνταν σε άλλο water bath για να κρυώσουν σε θερμοκρασία δωματίου και αμέσως μετά γινόταν προσθήκη διαλύτη και μέτρηση της απορρόφησης φωτομετρικά, στα 570 nm.

Το πρωτόκολλο προσδιορισμού των αμινοξέων που χρησιμοποιήθηκε βασίζεται στην μέθοδο των Moore and Stein (1948)

#### **Χημικός απαιτούμενο οξυγόνο (COD)**

Το COD προσδιορίστηκε με τη χρωματομετρική μέθοδο. Τα δείγματα, αραιωμένα ή μη, προστίθενται σε φιαλίδια της εταιρείας HACH (το κάθε φιαλίδιο περιέχει 86% θειικό οξύ, θειικό υδράργυρο και τριοξείδιο του χρωμίου), τοποθετούνται σε αντιδραστήρα COD (COD Reactor HACH, Model 45600) και θερμαίνονται για 2 ώρες σε θερμοκρασία 150 °C. Έπειτα, τα δείγματα αφήνονται να κρυώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και τοποθετούνται στο φασματοφωτόμετρο (Portable Datalogging Spectrophotometer της HACH, DR/2010), σε μήκος κύματος 620 nm.

#### **Ολικό N (TKN)**

Το ολικό N προσδιορίστηκε βάση της μεθόδου Kjeldahl, χωνεύοντας τα δείγματα με πυκνό θειικό οξύ και μετρήθηκε με τη μέθοδο της υδροφαινόλης, φωτομετρικά.

### **2.4 Στατιστική Ανάλυση Επίδρασης της διαφορετικής βλάστησης στην απομάκρυνση του N**

Η σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών ειδών βλάστησης, αλλά και μεταξύ επεξεργασίας με βλάστηση και χωρίς, πραγματοποιήθηκε με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA test). Το Anova test πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του OriginPro 8. Σημαντική διαφοροποίηση σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μέθοδο έχουμε όταν εμφανίζεται το  $P < 0,05$ .

## Κεφάλαιο 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1 Απόδοση TY

Πριν προχωρήσουμε στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων που αφορούν τις διεργασίες απομάκρυνσης N στους TY, παρουσιάζονται αποτελέσματα που αφορούν τις μεταβολές στο pH, στην EC, στο διαλυμένο O<sub>2</sub>, παραμέτρων που έχει βρεθεί ότι έχουν σημαντική επίδραση στη σύνθεση και δραστηριότητα της μικροβιακής κοινότητας και συνεπώς στους μικροοργανισμούς που εμπλέκονται στην απομάκρυνση N. Επιπλέον, μελετήθηκε και η απόδοση των πειραματικών δεξαμενών ως προς την απομάκρυνση του οργανικού φορτίου, και πιο συγκεκριμένα ως προς την μείωση του COD. Η απόδοση των TY ως προς την αφαίρεση των ρύπων υπολογίσθηκε με βάση την εξίσωση που ακολουθεί:

$$R = \frac{C_{in} - C_{out}}{C_{in}} \quad (3.1)$$

Όπου C<sub>in</sub>: η συγκέντρωση ρύπου εισροής και

C<sub>out</sub>: η συγκέντρωση ρύπου εκροής

Ως συγκέντρωση εισροής θεωρείται η συγκέντρωση του ΣΑ, ενώ ως συγκέντρωση εκροής, η εκροή των εκάστοτε δεξαμενών TY.

Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος το pH διατηρήθηκε σταθερό, σε ουδέτερα επίπεδα (6.5-7.8). Στους TY επικράτησαν ανοξικές συνθήκες σε όλες τις εφαρμογές (~-200mV) και γενικά δεν διαπιστώθηκε ισχυρή μεταβολή των συνθηκών αυτών με το βάθος του αποβλήτου στους TY.

Στα διαγράμματα που εμφανίζονται παρακάτω παρουσιάζονται στον άξονα των Y οι συγκεντρώσεις των παραμέτρων που εξετάστηκαν συναρτήσει του χρόνου. Ο χρόνος εμφανίζεται ως ημέρες από την πρώτη δειγματοληψία.

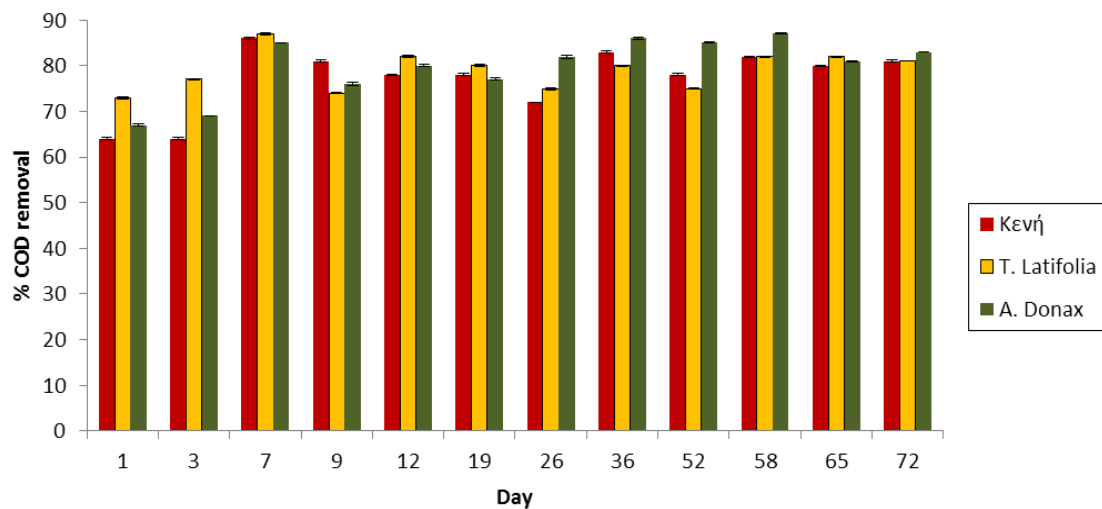
### 3.2 Μείωση της συγκέντρωσης COD

Η μείωση του COD κατά τις πρώτες μέρες λειτουργίας των TY εκτιμήθηκε στο 60%, ενώ με την πάροδο του χρόνου η απόδοση των TY βελτιώθηκε ακόμη περισσότερο (80%) (Σχ. 3.1). Όταν λήφθηκε υπόψη η απόδοση του σύστηματος για όλη τη διάρκεια του πειράματος, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των διαφορετικών φυτών και των δεξαμενών χωρίς βλάστηση. Ωστόσο, αν εστιάσουμε στο διάστημα 26-72 ημερών, διαπιστώνουμε ότι οι TY υγροβιότοποι χωρίς βλάστηση ή φυτεμένοι με *T. Latifolia* είχαν

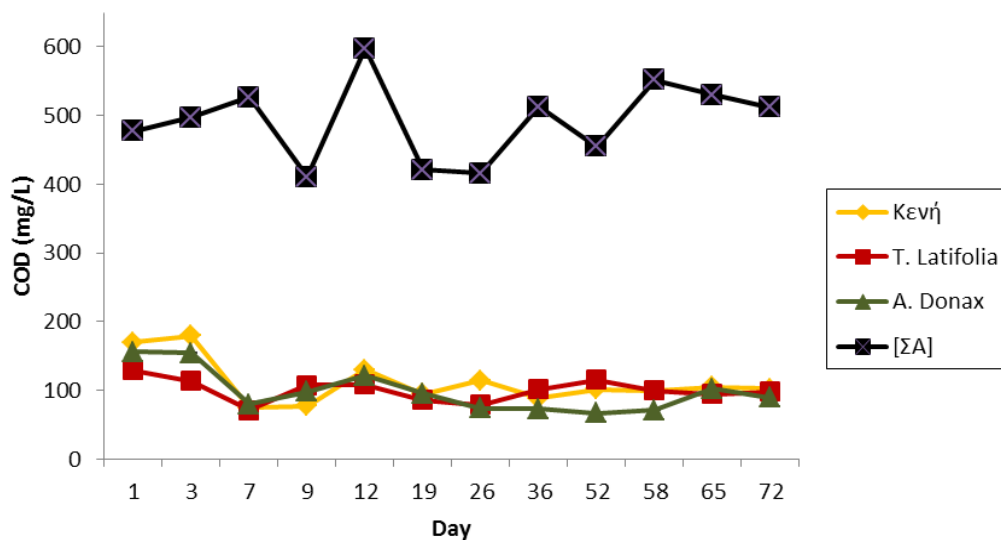
χαμηλότερη απόδοση σε σχέση με τους ΤΥ που ήταν φυτεμένοι με *A. Donax* ( $P=0,033$  και  $0,02$  αντίστοιχα).

Η μεταβολή της συγκέντρωσης του COD πριν και μετά την επεξεργασία στους ΤΥ παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.2.

Όπως εμφανίζεται και στο Σχήμα 3.2 η συγκέντρωση COD στην έξοδο των τριών ΤΥ κυμαίνονταν σε πολύ κοντινά επίπεδα, χωρίς μεγάλη διαφοροποίηση ούτε μεταξύ των μεταχειρίσεων, ούτε και με την πάροδο του χρόνου.



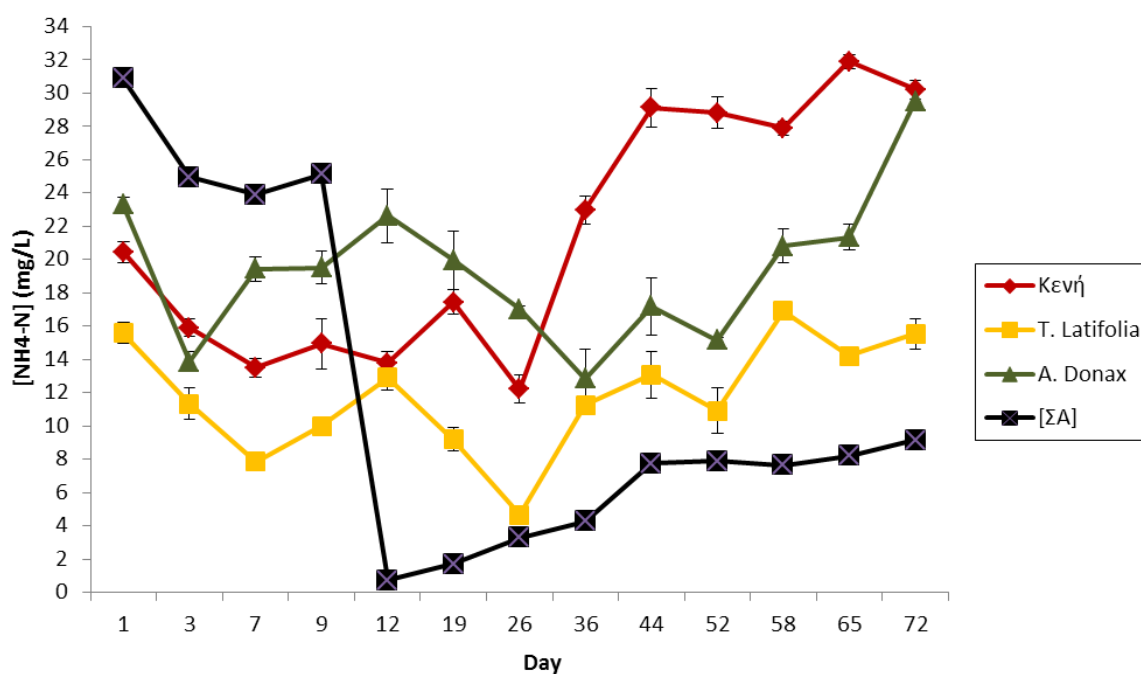
Σχήμα 3.1 Απόδοση της απομάκρυνσης του COD στους 3 διαφορετικούς ΤΥ



Σχήμα 3.2 Χρονική Μεταβολή της συγκέντρωσης COD στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

### 3.3 Συγκέντρωση $\text{NH}_4\text{-N}$

Κατά την πρώτη περίοδο εφαρμογής του αποβλήτου στους ΤΥ παρατηρήθηκε αυξομείωση της συγκέντρωσης του  $\text{NH}_4\text{-N}$ , η οποία ωστόσο έδειξε μία ανοδική τάση από τα μέσα ως το τέλος του πειράματος (Σχ. 3.3). Η συγκέντρωση του  $\text{NH}_4\text{-N}$  παρατηρούμε ότι αυξάνεται κατά την επεξεργασία του ΥΑ σε όλες τις μεταχειρίσεις ανεξάρτητα από την παρουσία βλάστησης. Κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών, μέχρι να σταθεροποιηθούν τα συστήματα, το  $\text{NH}_4\text{-N}$  καταναλώνεται μέσα στους υγροβιότοπους, ενώ μετά την σταθεροποίηση των συστημάτων φαίνεται να παράγεται μέσα στους ΤΥ. Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δύο διαφορετικών φυτών ( $P = 5,3 \times 10^{-5}$ ), αλλά και μεταξύ των ΤΥ φυτεμένων με *T. Latifolia* και μη φυτευμένων δεξαμενών ( $P = 2,3 \times 10^{-4}$  για *T. Latifolia*/Κενή). Μεταξύ των φυτεμένων με *A. Donax* και ΤΥ που δεν έφεραν βλάστηση δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση. Μεγαλύτερη ελευθέρωση  $\text{NH}_4\text{-N}$  παρουσίασαν οι δεξαμενές που δεν έφεραν βλάστηση. Οι ρυθμοί απομάκρυνσης  $\text{NH}_4\text{-N}$  συνοψίζονται στον Πίνακα 3.1.



Σχήμα 3.3 Χρονική Μεταβολή της συγκέντρωσης  $\text{NH}_4\text{-N}$  στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

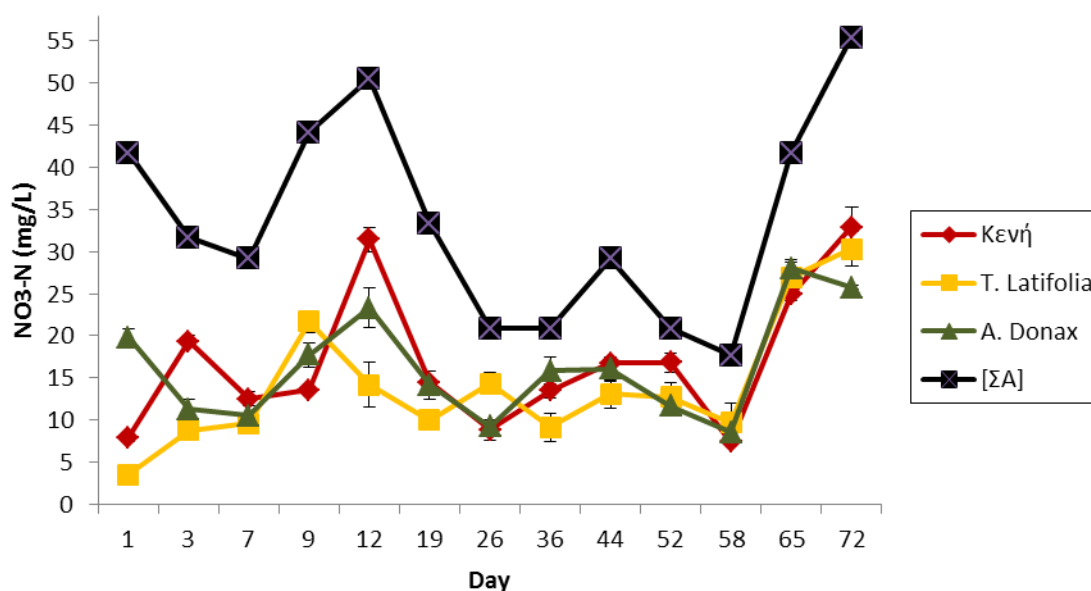


Πίνακας 3.1: Ρυθμοί απομάκρυνσης NO<sub>3</sub>-N και NH<sub>4</sub>-N

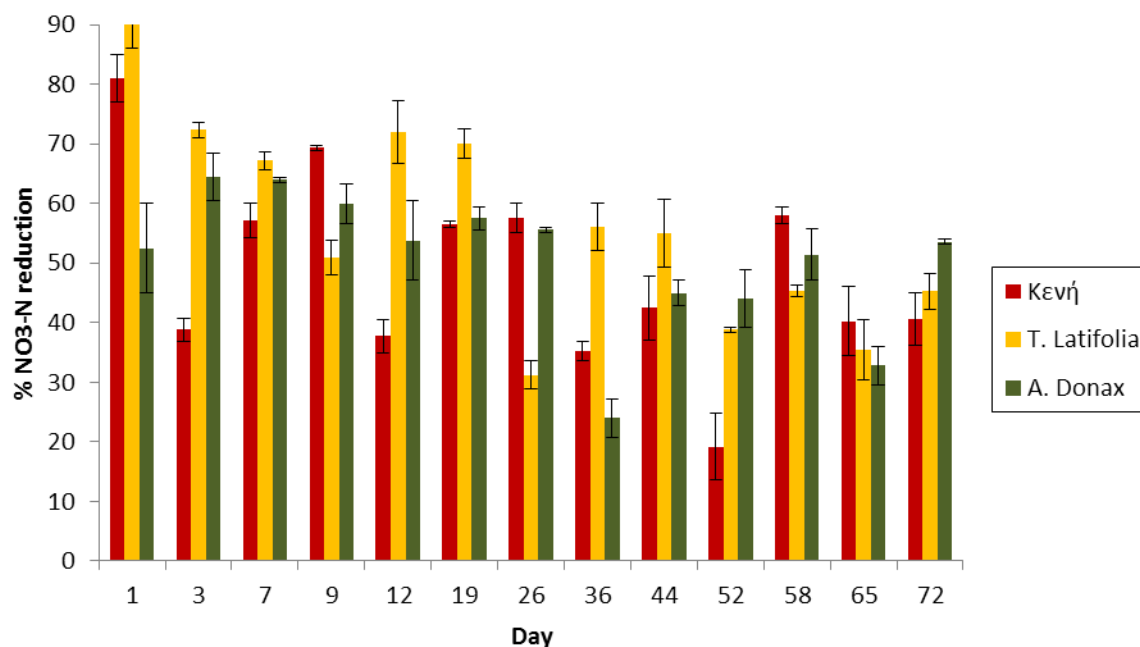
Treatment	NO <sub>3</sub> -N removal rates	Standard Error	NH <sub>4</sub> -N removal rates	Standard Error	NH <sub>4</sub> -N removal rates	Standard Error
	(mg/m <sup>2</sup> /d)		(mg/m <sup>2</sup> /d)		(mg/l/d)	
Empty	5,75	±3,84	-62,94	±0,38	-0,27	±0,002
Typha	61,95	±2,57	-10,08	±0,72	-0,04	±0,003
Reed	9,28	±8,00	-26,41	±3,82	-0,11	±0,017

### 3.4 Συγκέντρωση NO<sub>3</sub>-N

Η συγκέντρωση NO<sub>3</sub>-N μειώθηκε και στις τρεις μεταχειρίσεις. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των διαφορετικών ειδών βλάστησης ούτε και μεταξύ ΤΥ φυτεμένων και μη φυτεμένων. Στο Σχήμα 3.4 παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης NO<sub>3</sub>-N κατά τη διάρκεια του πειράματος, ενώ στο Σχήμα 3.5 παρουσιάζεται η απόδοση των ΤΥ όσον αφορά την απομάκρυνση NO<sub>3</sub>-N. Η απόδοση κυμαίνεται από πολύ καλή (92% *T. Latifolia*) έως καθόλου ικανοποιητική στο σύστημα χωρίς βλάστηση (20%). Κατά μέσο όρο η μείωση της συγκέντρωσης των NO<sub>3</sub>-N εκτιμήθηκε στο 77% στους ΤΥ χωρίς βλάστηση και 79% στους ΤΥ με βλάστηση. Οι ρυθμοί απομάκρυνσης των NO<sub>3</sub>-N εμφανίζονται στον πίνακα 3.1.



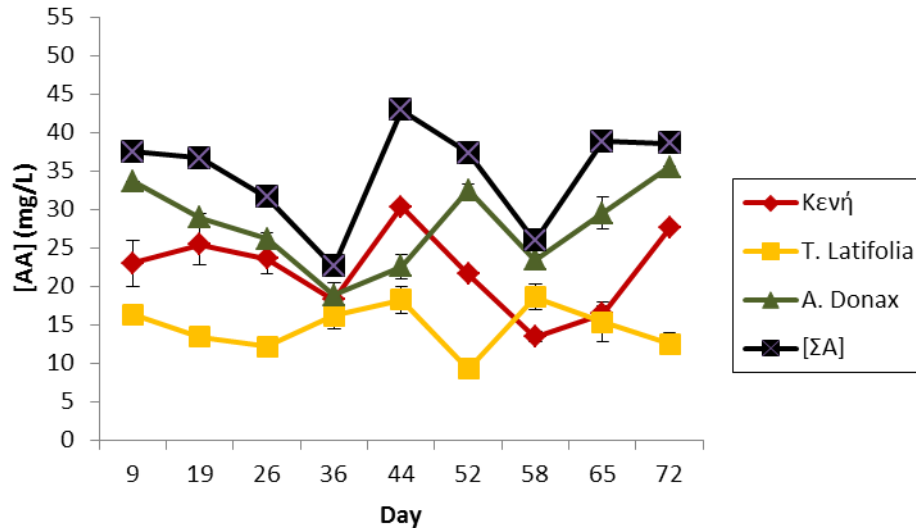
Σχήμα 3.4 Χρονική Μεταβολή της συγκέντρωσης NO<sub>3</sub>-N στους 3 διαφορετικούς ΤΥ



Σχήμα 3.5: Χρονική μεταβολή της απόδοσης μείωσης της συγκέντρωσης  $\text{NO}_3\text{-N}$  στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

### 3.5 Amino Acids (AA – Αμινοξέα)

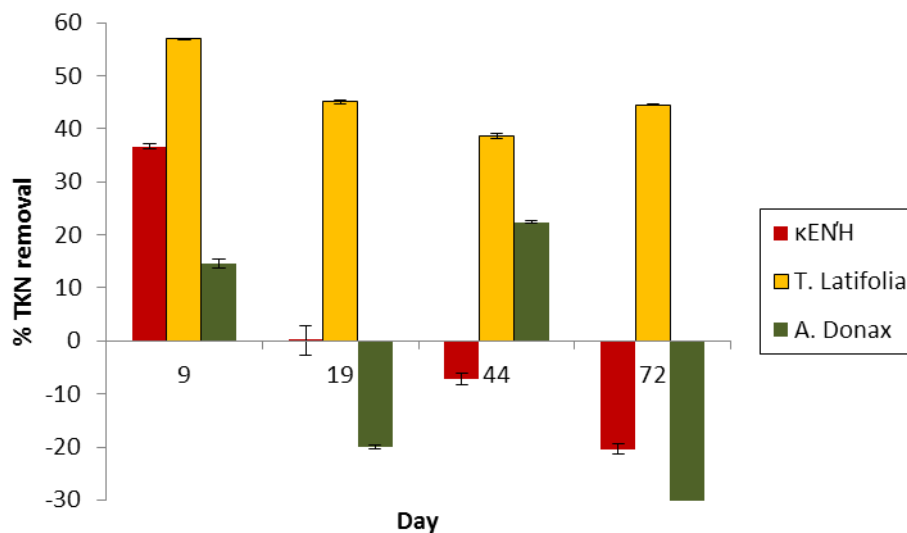
Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.6 η απομάκρυνση AA παρέμεινε ως επι το πλείστον σταθερή στις μεταχειρίσεις με κάποιες εποχιακές διακυμάνσεις. Επιπλέον, η ανάλυση ANOVA έδειξε σημαντική επίδραση μεταξύ των μεταχειρίσεων. Τα συστήματα με βλάστηση παρουσίασαν καλύτερη απομάκρυνση AA σε σχέση με τα συστήματα χωρίς βλάστηση ( $P=0.002$  για ΤΥ *T. Latifolia*/χωρίς βλάστηση και  $P=0,042$  για ΤΥ *A. donax*/χωρίς βλάστηση). Όσον αφορά τα συστήματα με *T. Latifolia* και τα συστήματα με *A. Donax*, τα πρώτα έδειξαν αισθητά καλύτερη απομάκρυνση σε σχέση με τα τελευταία ( $P=1.2 \times 10^{-5}$  για τους ΤΥ με *T. Latifolia* και *A. Donax*).



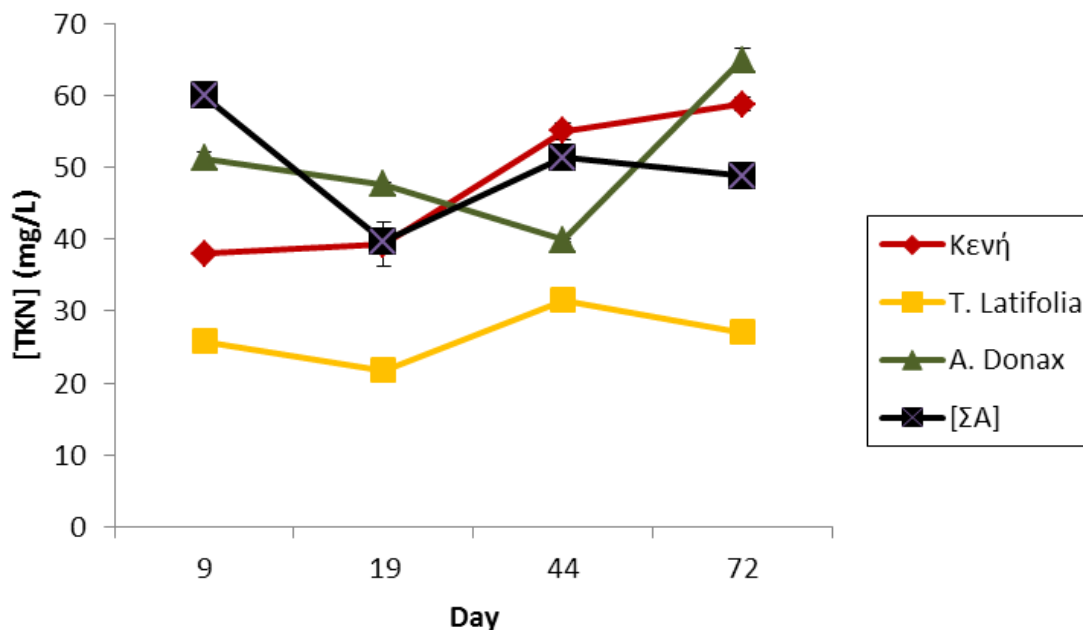
Σχήμα 3.6 Χρονική Μεταβολή της [AA] στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

### 3.6 Ολικό N (TKN)

Η απομάκρυνση TKN παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.7 Η απομακρύνση TKN διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα για τους ΤΥ χωρίς βλάστηση ή αυτούς που ήταν φυτεμένοι με το *A. Donax* ενώ σε ορισμένες δειγματοληψίες διαπιστώθηκε και αρνητική απομακρυνση. Εξαίρεση αποτέλεσαν οι ΤΥ με το *T. latifolia* οι οποίοι είχαν μέσο όρο απομάκρυνσης 46%. Στο Σχήμα 3.8 εμφανίζεται η αρχική συγκέντρωση του TKN και η συγκέντρωση εκροής των δεξαμενών. Οι μετρήσεις δεν τεκμηριώνουν κάποια σημαντική διαφοροποίηση ανάμεσα στους μη φυτεμένους υδροβιότοπους και σε αυτούς με το είδος *A. donax* ( $P=0.7$ ). Σημαντική διαφοροποίηση ωστόσο παρατηρήθηκε ανάμεσα σε ΤΥ φυτεμένους με το είδος *T. Latifolia* και σε αυτούς με το είδος *A. donax* ( $P = 0.01$ ), τόσο και ανάμεσα σε αυτούς με *T. Latifolia* και σε αυτούς χωρίς βλάστηση ( $P = 0.005$ ).



Σχήμα 3.7 Απόδοση της απομάκρυνσης του TKN στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

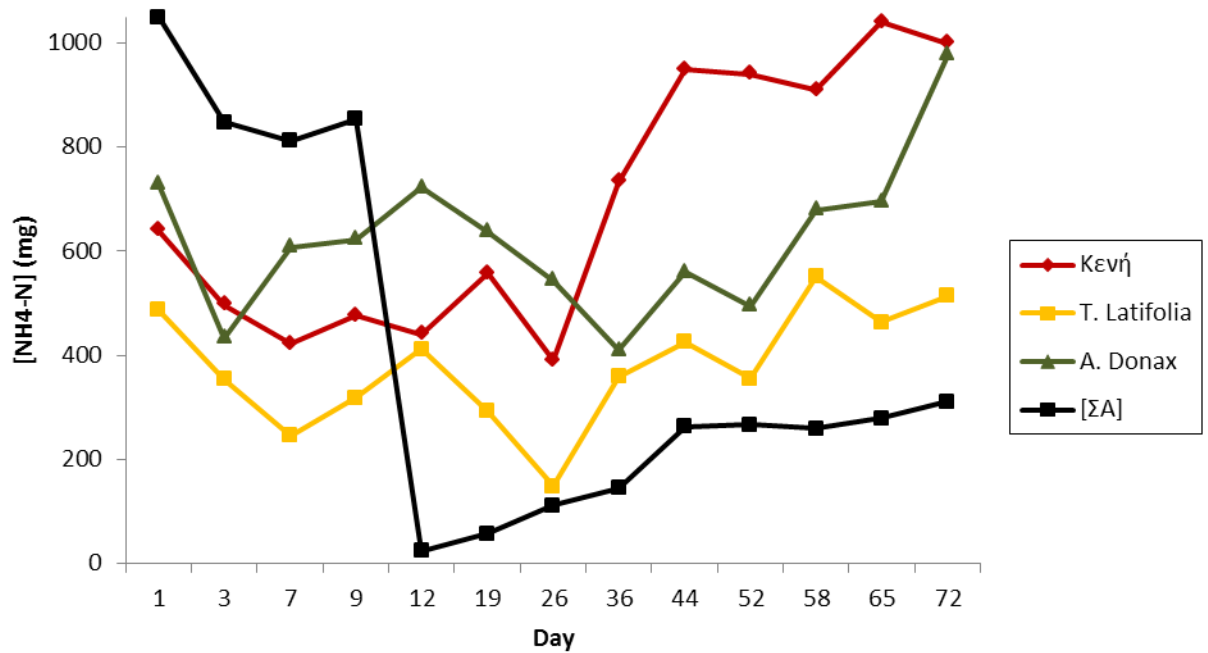


Σχήμα 3.8 Χρονική Μεταβολή της συγκέντρωσης TKN στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

### 3.8 Επίδραση της εξατμισοδιαπνοής (ΕΤο)

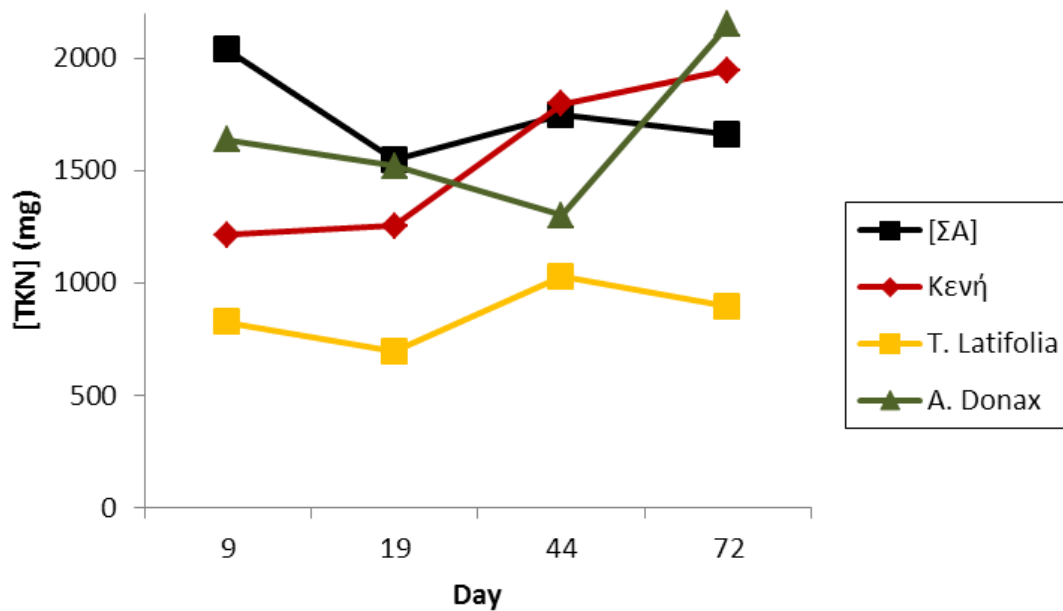
Για την κατανόηση της αρνητικής απομάκρυνσης  $\text{NH}_4\text{-N}$  και TKN, υπολογίστηκε το υδρολογικό ισοζύγιο για τα υπό εξέταση συστήματα. Για τον σκοπό αυτόν, χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα της εξατμισοδιαπνοής στον νομό Χανίων για τους μήνες Αύγουστο – Νοέμβριο, που έλαβαν χώρα οι δειγματοληψίες. Για τους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκαν μέσες τιμές εξατμισοδιαπνοής όπως υπολογίστηκαν από φοιτητές του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος με τη χρήση του προγράμματος CropWat 8.0, με βάση μετεωρολογικά δεδομένα για τον νομό Χανίων τη περίοδο 2006-2013. Με βάση το υδρολογικό ισοζύγιο υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις  $\text{NH}_4\text{-N}$  και TKN και τα αποτελέσματα εμφανίζονται στα διαγράμματα που ακολουθούν (Σχ. 3.9, 3.10 και 3.11).

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.9, η  $\text{NH}_4\text{-N}$  ακολουθεί την ίδια πορεία που φαινόταν να έχει και πριν την εφαρμογή του υδρολογικού ισοζυγίου, χωρίς ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις. Αυξάνεται κατά την επεξεργασία του ΥΑ σε όλες τις μεταχειρίσεις ανεξάρτητα από την παρουσία βλάστησης. Εξαίρεση αποτελούν οι πρώτες μέρες, μέχρι να σταθεροποιηθούν τα συστήματα, που η  $\text{NH}_4\text{-N}$  καταναλώνεται μέσα στους υγροβιότοπους. Μεγαλύτερη παραγωγή  $\text{NH}_4\text{-N}$  παρουσιάζουν οι δεξαμενές που ήταν χωρίς βλάστηση.

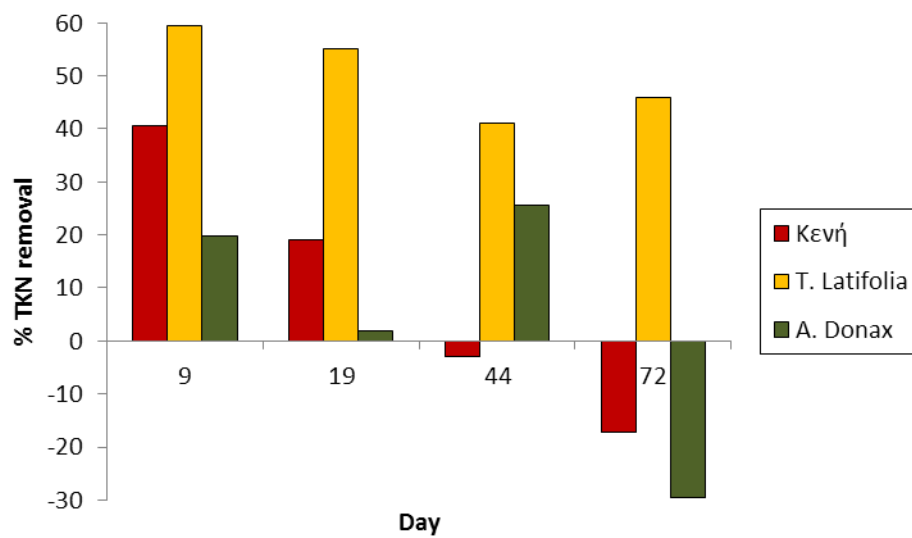


Σχήμα 3.9: Χρονική μεταβολή της μάζας  $\text{NH}_4\text{-N}$  στους 3 διαφορετικούς ΤΥ

Μετά την εφαρμογή του υδρολογικού ισοζυγίου, η απομάκρυνση του TKN (όπως φαίνεται στο σχήμα 3.11) φαίνεται να βελτιώνεται με μέσο όρο στα 9,8% για τους ΤΥ χωρίς βλάστηση και 4,4% για τους ΤΥ φυτεμένους με *A. Donax*. Οι ΤΥ φυτεμένοι με το είδος *T. Latifolia*, εμφανίζουν απομάκρυνση 50,4%. Στο σχήμα 3.10 παρουσιάζονται η αρχική συγκέντρωση του TKN και οι συγκεντρώσεις εκροής των δεξαμενών.



Σχήμα 3.10: Χρονική μεταβολή της μάζας TKN στους 3 διαφορετικούς TY



Σχήμα 3.11: Απόδοση της απομάκρυνσης του TKN στους 3 διαφορετικούς TY μετά τον υπολογισμό του υδρολογικού ισοζυγίου

## Κεφάλαιο 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1 Απόδοση TY

Η απομάκρυνση των οργανικών ενώσεων διενεργείται με μεγάλη ταχύτητα σε όλα τα συστήματα TY. Στη βιβλιογραφία εμφανίζονται πολλές μελέτες στις οποίες η απομάκρυνση του οργανικού φορτίου στους TY παρουσιάζει πολύ υψηλούς ρυθμούς. Αναλογα και στην παρούσα εργασία, το ποσοστό απομάκρυνσης του COD διατηρήθηκε σε πολύ υψηλά επίπεδα. Οι Chen et al. (2006) σε πιλοτικά συστήματα FWS ανέφεραν ποσοστά απομάκρυνσης 30-61%, με τη διαφορά ότι τα συστήματα επεξεργάζονταν βιομηχανικά ΥΑ, κι όχι αστικά ΥΑ, δηλαδή απόβλητα με πολύ υψηλές τιμές COD. Σε άλλη παρόμοια πειραματική εγκατάσταση οι Lin et al. (2008) κατέγραψαν ποσοστό απομάκρυνσης COD 68%, ενώ οι Lim et al., (2001) ανέφεραν ακόμη υψηλότερα ποσοστά 83% και 84% σε μη φυτεμένους και φυτεμένους με *Typha Latifolia* TY αντίστοιχα. Στην πραγματικότητα η απομάκρυνση του COD σε FWS κυμαίνεται από 60 έως 99%.

### 4.2 Συγκέντρωση $\text{NH}_4\text{-N}$

Μετρήσεις σε TY έδειξαν ότι σε κάποιες περιπτώσεις η συγκέντρωση  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  στην εκροή διατηρείται υψηλότερη από αυτήν στην εισροή (Reed et al., 1995). Αυτό οφείλεται κυρίως στην αποδόμηση του οργανικού N που εμπεριέχεται στο ΥΑ, από τους ετερότροφους οργανισμούς οι οποίοι είναι ποιο ανταγωνιστικοί από τους αυτότροφους οργανισμούς όσο αφορά την πρόσληψη του διαθέσιμου  $\text{O}_2$  ώστε να επιβραδύνεται η διεργασία της νιτροποίησης. Ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης της  $\text{NH}_4\text{-N}$  στα συστήματα TY, φαίνεται να είναι η νιτροποίηση, ακολουθούμενη από απονιτροποίηση του παραγόμενου  $\text{NO}_3\text{-N}$  (Vymazal, 2007, Lee et al., 2009). Οι αρνητικές τιμές απομάκρυνσης της  $\text{NH}_4\text{-N}$  πιθανώς να προκλήθηκαν από ελλιπή νιτροποίηση όταν συνέβαινε η ανοργανοποίηση του οργανικού N, καταλήγοντας σε υψηλότερες συγκεντρώσεις  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  στην έξοδο. Το φαινόμενο αυτό δεν είναι συνηθισμένο στους TY. Παρόλα αυτά, έχουν καταγραφεί TY με αποδόσεις από -45% έως και -1328% (Reed et al., 1995). Έτσι συμπεραίνουμε ότι ο κύριος μηχανισμός που λαμβάνει χώρα στις υπό εξέταση πειραματικές εγκαταστάσεις είναι η αμμωνιοποίηση. Το γεγονός αυτό ενισχύεται από τα αποτελέσματα των AA και του TKN, όπου παρατηρήθηκε μείωση του οργανικού N (AA). Οι χρόνοι παραμονής περιπτώσεων αρνητικής απομάκρυνσης  $\text{NH}_4\text{-N}$  κυμαινόταν από 1 έως 4 ημέρες. Κινητικά η αμμωνιοποίηση διεξάγεται γρηγορότερα από ότι η νιτροποίηση η οποία είναι μία σχετικά αργή διεργασία (Kadlec and Knight, 1996). Στη βιβλιογραφία αναφέρονται χρόνοι παραμονής για να πραγματοποιηθεί ικανοποιητική νιτροποίηση από 6-8 ημέρες. Στο πείραμα αυτό ο χρόνος παραμονής ήταν υποδιπλάσιος. Έτσι, είναι πολύ πιθανό η απομάκρυνση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  να βελτιώνονταν αν παρατείνονταν ο χρόνος παραμονής στους TY. Από την άλλη πλευρά, οι Ruiz-Rueda et al. (2008) σε παρόμοια πιλοτικά συστήματα, κατέγραψαν ρυθμούς απομάκρυνσης της  $\text{NH}_4\text{-N}$  από  $4,7 \pm 1,5$  έως  $7,7 \pm 1,4$  mg/l/d, σε αντίθεση με τους ρυθμούς απομάκρυνσης που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη που ήταν από -0,27 mg/l/d (χωρίς



βλάστηση), -0,12 mg/l/d (*A. Donax*) και -0,04 mg/l/d (*T. Latifolia*). Επίσης, οι Lim et al. (2001), αναφέρουν ποσοστά απομάκρυνσης του  $\text{NH}_4\text{-N}$  68-99%. Βασισμένοι στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων οι εφαρμογές διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους όσον αφορά την απομάκρυνση των  $\text{NH}_4\text{-N}$ . Η ανωτερότητα των φυτεμένων συστημάτων έναντι των μη φυτεμένων ΤΥ, έχει παρατηρηθεί πολλές φορές (Gersberg et al., 1986; Wathugala et al., 1987; Breen, 1990; Rogers et al., 1991). Ένας άλλος παράγοντας που φαίνεται να είχε σημαντική επίδραση στην επικράτηση αρνητικών τιμών απομάκρυνσης  $\text{NH}_4\text{-N}$  και TKN είναι η συμπύκνωση της εκροής λόγω της ΕΤ. Παρόλο που η προσαρμογή των τιμών απομάκρυνσης με την χρήση μέσων τιμών ΕΤ από την περιοχή που πραγματοποιήθηκε το πείραμα δεν οδήγησε σε σημαντική διαφοροποίηση των ευρημάτων, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι οι τιμές της ΕΤ στα μεμονωμένα συστήματα ήταν πολύ υψηλότερη από αυτή που υπολογίσθηκε από τα κλιματικά δεδομένα. Ο κυριότερος λόγος που οδήγησε σε αυτό το συμπέρασμα είναι η αυξημένη μεταφορά θερμότητας στις δεξαμενές λόγω και του χρώματος τους που οδήγησε σε ένα φαινόμενο γνωστό ως oasis effect (Allen et al., 1998). Η υπόθεση μας αυτή βεβαιώνεται από τις παρατηρήσεις μας ότι κατά την διάρκεια της ημέρας την περίοδο του θέρους δεν διαπιστώνονταν εκροή από τους υγροβιοτόπους.

### 4.3 Συγκέντρωση $\text{NO}_3\text{-N}$

Στους ΤΥ, η διεργασία της απονιτροποίησης μπορεί να απομακρύνει το 60-70-% του συνολικού N (Spieles and Mitsch, 2000; Reddy and D'Angelo, 1997). Η πολύ ικανοποιητική μείωση που παρατηρείται στις δεξαμενές μας ωθεί στο συμπέρασμα ότι η επικρατέστερη διεργασία στους υπό εξέταση υγροβιοτόπους, όσον αφορά τον μετασχηματισμό των  $\text{NO}_3\text{-N}$ , είναι η αναγωγή νιτρικών. Οι ανοξικές συνθήκες, οι κατάλληλες θερμοκρασιακές συνθήκες, καθώς και η επαρκής πηγή οργανικού-C (ΥΑ καθώς και φυτικών καταλοίπων), αναμένουμε να είχαν θετική επίδραση στην απονιτροποίηση, παρόλα αυτά κάτι τέτοιο δεν καταγράφηκε στα συστήματα με *A. Donax* και στα μη φυτεμένα. Μόνο στα συστήματα με *T. Latifolia* όπου καταγράφηκε απομάκρυνση του N μπορούμε να πούμε ότι η διεργασία απομάκρυνσης N που κυριαρχεί είναι η απονιτροποίηση. Οι Chen et al. (2006) κατέγραψαν συγκεντρώσεις  $\text{NO}_3\text{-N}$  στην έξοδο από 3-7 mg/l, με συγκέντρωση  $\text{NO}_3\text{-N}$  στην είσοδο 13 mg/l, και μείωσή τους, από 26% έως 54%. Οι παρατηρήσεις αυτές όμως, σε συνδυασμό με τους ρυθμούς απομάκρυνσης του  $\text{NH}_4\text{-N}$  τους οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η απονιτροποίηση συντελούνταν ταυτόχρονα με την νιτροποίηση στους FWS. Οι Lin et al. (2008), παρατήρησαν συγκεντρώσεις 20 mg/l – 26.73 mg/l στην εισροή και 0.24 mg/l -24.05 mg/l στην εκροή. Ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης  $\text{NO}_3\text{-N}$  εκτιμήθηκε σε 910 mg/m<sup>2</sup>/d για HLR = 0,12 m/d. Τέλος, οι Bachand et al., (2000) παρατήρησαν ρυθμούς απομάκρυνσης των  $\text{NO}_3\text{-N}$  από 131-902 mg/m<sup>2</sup>/d, ρυθμοί πολύ υψηλότεροι από αυτούς που καταγράφηκαν στην παρούσα μελέτη (από 5.75 mg/m<sup>2</sup>/d για τις δεξαμενές χωρίς βλάστηση έως 9.3 mg/m<sup>2</sup>/d για τις δεξαμενές με *A. Donax* και 62 mg/m<sup>2</sup>/d για τις δεξαμενές με *T. Latifolia*).

### 4.4 Διεργασία ANAMMOX

Όλοι οι υγροβιοτόποι σημείωσαν αύξηση στις συγκεντρώσεις  $\text{NH}_4\text{-N}$  και επιπλέον δεν σημειώθηκε ικανοποιητική απομάκρυνση ολικού N (στην πραγματικότητα ήταν αρνητική η

απομάκρυνση). Επιπλέον, τα ANAMMOX βακτήρια αναπτύσσονται αργά και απαιτούν  $\text{NO}_2^-$ -N σαν ηλεκτρονικό δέκτη για την αναερόβια οξείδωση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  (Jetten et al., 2010). Στους TY είχαμε αναγωγικές συνθήκες, ευνοώντας έτσι τη μερική νιτροποίηση, δηλαδή την παραγωγή  $\text{NO}_2\text{-N}$ , η οποία, σε συνδυασμό με τις συγκεντρώσεις της  $\text{NH}_4\text{-N}$ , ευνοούν τη διεργασία ANAMMOX να έχει κάποια συμβολή. Δυστυχώς όμως, τη συμβολή αυτή δεν καταφέραμε να την τεκμηριώσουμε καθώς για κάτι τέτοιο κρίνονται απαραίτητες οι κατάλληλες τεχνικές (όπως π.χ. η τεχνική FISH, ή μέθοδος qPCR ή η χρήση ισοτόπων N). Οι συνθήκες πάντως φαίνεται να ήταν ευνοϊκές (ανοξικό περιβάλλον, ουδέτερο pH, κοκ.). Τέλος, ενώ η παρουσία των ANAMMOX έχει επιβεβαιωθεί με μοριακά εργαλεία (Dong et al., 2007; Shipin et al., 2005), η συνεισφορά τους στην συνολική παραγωγή  $\text{N}_2$  και στην απομάκρυνση  $\text{NH}_4\text{-N}$ , στους FWS δεν έχει μέχρι τώρα ποσοτικοποιηθεί.

## Κεφάλαιο 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Έξι μονάδες ΤΥ επιφανειακής ροής με τρεις διαφορετικές μεταχειρίσεις (δύο χωρίς βλάστηση, δύο με *T. Latifolia*, δύο με *A. Donax*) εξετάστηκαν πάνω στην προσπάθεια αποτύπωσης του κύκλου του Ν στους FWS.

Οι ΤΥ με βλάστηση είχαν καλύτερη απόδοση έναντι αυτών χωρίς βλάστηση, κυρίως όσον αφορά την απομάκρυνση της  $\text{NH}_4\text{-N}$  και των ΑΑ. Επιπλέον, παρατηρήθηκε καλύτερη απόδοση στους ΤΥ που ήταν φυτεμένοι με *T. Latifolia* συγκριτικά με αυτά με *A. Donax*, η οποία παρατηρείται τόσο στα ΑΑ, στην  $\text{NH}_4\text{-N}$ , όσο και στο ΤΚΝ. Παρόλα αυτά, και παρά τη μεγάλη βιβλιογραφική αναφορά ότι οι φυτεμένοι ΤΥ έχουν καλύτερη απόδοση στην απομάκρυνση ρύπων από τους μη φυτεμένους, δεν βρέθηκε σημαντική διαφοροποίηση των συστημάτων γενικότερα (στην απομάκρυνση οργανικού υλικού,  $\text{NO}_3\text{-N}$ , κλπ).

Οι ρυθμοί απομάκρυνσης  $\text{NH}_4\text{-N}$  κυμάνθηκαν από  $-62,94 \text{ mg/m}^2/\text{d}$  έως  $-10,08 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ . Η παραγωγή  $\text{NH}_4\text{-N}$  μέσα στους υδροβιότοπους με τις υψηλές τους συγκεντρώσεις, υποδεικνύει ότι η διεργασία της νιτροποίησης παρεμποδίζονταν από το υψηλό οργανικό φορτίο. Η νιτροποίηση πιθανώς αναστάλη λόγω ανοξικού περιβάλλοντος και μη επαρκούς χρόνου παραμονής μέσα στο σύστημα (μόλις 3 μέρες).

Η κύρια διεργασία απομάκρυνσης Ν στο σύστημα με βλάστηση *T. Latifolia* φαίνεται να είναι η απονιτροποίηση, παρά τους χαμηλότερους ρυθμούς απομάκρυνσης  $\text{NO}_3\text{-N}$ , συγκριτικά με άλλα παρόμοια τέτοια συστήματα. Στα συστήματα όμως χωρίς βλάστηση και σε αυτά με *A. Donax* όπου η απομάκρυνση του ολικού Ν εμφανίζεται να είναι αρνητική, δεν φαίνεται να επικρατεί καμία διεργασία απομάκρυνσης Ν, παρά μόνο μετασχηματισμού του.

Τέλος, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, αναδεικνύουν την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη και έρευνα πάνω στη διερεύνηση του κύκλου του Ν στους ΤΥ, στην ποσοτικοποίηση της συνεισφοράς των ΑΝΑΜΜΟΧ σε αυτόν, καθώς και στην βελτιστοποίηση του σχεδιασμού ΤΥ ως προς την απόδοση απομάκρυνσης Ν από τα επεξεργαζόμενα ΥΑ.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alleman, J.E., 1985. Elevated nitrite occurrence in biological waste-water treatment systems. *Water Sci. Technol.* 17 (2/3), 409–419
- Angeloni, N.L., Jankowski, K.J., Tuchman, N.C., Kelly, J.J., 2006. Effects of an invasive cattail species (*Typha x glauca*) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland. *FEMS Microbiol. Lett.* 263, 86–92
- Atkin OK. Reassessing the nitrogen relations of arctic plants: a minireview. *Plant Cell Environ* 1996;19:695–704
- Bachand, P.A.M., Horne, A.J., 2000. Denitrification in constructed free-water surface wetlands: II. Effects of vegetation and temperature. *Ecol. Eng.* 14, 17–32
- Backman, J.S.K., Hermansson, A., Tebbe, C.C., Lindgren, P.E., 2003. Liming induces growth of a diverse flora of ammonia-oxidizing bacteria in acid spruce forest soil as determined by SSCP and DGGE. *Soil Biol. Biochem.* 35, 1337–1347
- Bernet N, Dangcong P, Delgenes J-P, Moletta R. Nitrification at low oxygen concentration in biofilm reactor. *J Environ Energy* 2001;127:266–71
- Bojcevska, H., Tonderski, K., 2007. Impact of loads, season and plant species on the performance of a tropical constructed wetland polishing effluent from sugar factory stabilization ponds. *Ecol. Eng.* 29, 66–76
- Braker, G., Fesefeldt, A., Witzel, K.P., 1998. Development of PCR primers systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3769–3775
- Bremner JM, Shaw K. Denitrification in soil. II. Factors affecting denitrification. *J Agric Sci* 1958;51:40–52
- Brix, 1999 – Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands, *water Sci. Technol.*, 35 (1997), 11-17
- Broadbent FE, Clark F. Denitrification. In: Bartholomew WV, Clark FE, editors. *Soil nitrogen*, vol. 10. Agronomy; 1965. p. 344–59
- Bruns, M.A., Stephen, J.R., Kowalchuk, G.A., Prosser, J.I., Paul, E.A., 1999. Comparative diversity of ammonia oxidizer 16S rRNA gene sequences native, tilled and successional soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2994–3000
- Burchell II, M.R., Skaggs, R.W., Lee, C.R., Broome, S., Chescheir, G.M., Osborne, J., 2007. Substrate organic matter to improve nitrate removal in surface-flow constructed wetlands. *J. Environ. Qual.* 36, 194–207
- Buresh RJ, Casselman ME, Patrick Jr WH. Nitrogen fixation in flooded soil systems: a review. *Adv Agron* 1980;33:149–92
- Chen T.Y. a, C.M. Kao a,\*, T.Y. Yeh b, H.Y. Chien a, A.C. Chao c, 2006, Application of a constructed wetland for industrial wastewater treatment: A pilot-scale study *Chemosphere* 64 (2006) 497–502
- Cookson, W. R., Cornforth, I. S., and Rowarth, J. S. (2002). Winter soil temperature (2-15 degrees C) effects on nitrogen transformations in clover green manure amended or unamended soils; a laboratory and field study. *Soil Biol. Biochem.* 34, 1401–1415
- Cooper, P.F.; Job, G.D.; Green, M.B.; Shutes, R.B.E, 1996, *Reed Beds and Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*; WRC Publications: Medmenham, UK, 1996

- Dalhammar, G., Grunditz, C., Gumaelius, L., 1999. Comparison of inhibition assays using nitrogen removing bacteria: application to industrial wastewater. *Water Res.* 32, 2995–3000
- Davidsson, T.E., Stahl, M., 2000. The influence of organic carbon on nitrogen transformations in five wetland soils. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 64, 1129–1136
- DeLaune, R.D., Boar, R.R., Lindan, C.W., Kleiss, B.A., 1996. Denitrification in bottomland hardwood wetland soils of the cache river. *Wetlands* 16, 309–320
- Davidsson, T.E., Stahl, M., 2000. The influence of organic carbon on nitrogen transformations in five wetland soils. *Soil Soc. Am. J.* 64, 1129–1136
- Dionisi HM, Layton AC, Harms G, Gregory IR, Robinson KG, Sayler GS. Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:245–53.
- Dong Zeqin, Sun Tieheng, 2007, A potential new process for improving nitrogen removal in constructed wetlands—Promoting coexistence of partial-nitrification and ANAMMOX, 2007, *Ecological engineering* 3 1 (2007) 69–78
- Edwards, K.R., Cizkova, H., Zemanova, K., Santruckova, H., 2006. Plant growth and microbial processes in a constructed wetland planted with *Phalaris arundinacea*. *Ecol. Eng.* 27, 153–165
- Egli, K., Ranger, U., Alvarez, P.J.J., Siegrist, H., van der Meer, J.R., Zehnder, A.J.B., 2001. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. *Arch. Microbiol.* 175, 198–207
- Engler RM, Patrick Jr WH. Nitrate removal from floodwater overlying flooded soils and sediments. *J Environ Qual* 1974;3:409–13
- EPA, 2000, Constructed wetlands treatment of municipal wastewaters, Cincinnati, Ohio.
- Eriksson, P.G., Andersson, J.L., 1999. Potential nitrification and cation exchange on litter of emergent, freshwater macrophytes. *Freshw. Biol.* 42, 479–486
- Flood, J.A., Ashbolt, N.J., Poolard, P.C., 1999. Complementary independent molecular, radio isotopic and fluorogenic techniques to assess biofilm communities in two wastewater wetlands. *Water Sci. Technol.* 39 (7), 65–70
- Focht, D.D., Verstrate, W., 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Adv. Microb. Ecol.* 1, 135–214
- Garnett TP, Shabala SN, Smethurst PJ, Newman IA. Simultaneous measurement of ammonium, nitrate and proton fluxes along the length of eucalyptus roots. *Plant Soil* 2001;236:55–62
- Gomez-Villalba, B., Calvo, C., Vilchez, R., Gonzalez-Lopez, J., Rodelas, B., 2006. TGGE analysis of the diversity of ammonia-oxidizing and denitrifying bacteria in submerged filter biofilms for the treatment of urban wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72, 393–400
- Gorra R, Coci M, Ambrosoli R, Laanbroek HJ. Effects of substratum on the diversity and stability of ammonia-oxidizing communities in a constructed wetland used for wastewater treatment. *J Appl Microbiol* 2007;103:1442–52
- Grant WD, Long PE. *Environmental microbiology*. Glasgow: Blackie and Son; 1981
- Gersberg, R.M., Elkin, B.V., Goldman, C.R., 1984. Use of artificial wetlands to remove nitrogen from wastewater. *J. Water Pollut. Control Federation* 56, 152–156
- Gersberg, G.M., Elkins, B.V., Goldman, C.R., 1983. Nitrogen removal in artificial wetlands. *Water Res.* 17, 1009–1014
- Gopal B. *Biology and ecology*. In: Patten BC, editor. *Wetlands and shallow continental water bodies*. The Hague: SPB Academic Publishing; 1991. p. 91-239

- Hallin S, Lydmark P, Kokalj S, Hermansson M, Sorensson F, Jarvis A, Lindgren PE. Community survey of ammonia-oxidizing bacteria in full-scale activated sludge processes with different solids retention time. *J Appl Microbiol* 2005;99:629–40
- Hammer, D.A. (Ed.), 1989, *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment, Municipal, Industrial and Agricultural*, Lewis Publishers, Chelsea, MI; p. 416–69
- Hammer, M.J., Hammer Jr., M.J., 2001. *Water and Wastewater Technology*, 4th ed. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, USA.
- Hanson, G.C., Groffman, P.M., Gold, A.J., 1994, Denitrification in riparian wetlands receiving high and low groundwater nitrate inputs. *J. Environ. Qual.* 23, 917–922
- Harms G, Layton AC, Dionisi HM, Gregory IR, Garrett VM, Hawkins SA, Robinson KG, Sayler GS. Real-time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant. *Environ Sci Technol* 2003;37:343–51.
- Hauck RD (1984) Technological approaches to improving the efficiency of nitrogen fertilizer use by crop plants. In: Hauck RD et al. (eds) *Nitrogen in crop production*. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, pp 551–560
- Helmer, C., Tromm, C., Hippen, A., Rosenwinkel, K.H., Seyfried, C.F., Kunst, S., 2001. Single stage biological nitrogen removal by nitrification and anaerobic ammonium oxidation in biofilm systems. *Water Sci. Technol.* 43, 311–320
- Hernandez, M.E., Mitsch, W.J., 2007. Denitrification potential and organic matter as affected by vegetation community, wetland age, and plant introduction in created wetlands. *J. Environ. Qual.* 36, 333–342
- Herskowitz, J., Black, S., Sewandowski, W., 1987. Listowel artificial marsh treatment project. In: Reddy, K.R., Smith, W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnolia Publishing Co., Orlando, FL, USA
- Hooper AB, Vannelli T, Bergmann DJ and Arciero DM. (1997). Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 71:59–67
- Howard-Williams, C., 1985. Cycling and detention of nitrogen and phosphorus in wetlands: a theoretical and applied perspective. *Freshwater Biol.* 15, 391–431
- Howard-Williams, C., Downes, M.T., 1989, Short term nitrogen dynamics in a small Brazilian wetland (Lago Infernao Sao Paulo). *J. Trop. Ecol.* 5, 323–335
- Hunt, P.G., Matheny, T.A., Szogi, A.A., 2003. Denitrification in constructed wetlands used for treatments of swine wastewater. *J. Environ. Qual.* 32, 727–735
- Hunt PG, Poach ME, Liehr SK. Nitrogen cycling in wetland systems, Dunne EJ, Reddy KR, Carton OT, editors. *Nutrient management in agricultural watersheds: a wetland solution*. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2005. p. 93-104
- Ibekwe, A.M., Kennedy, A.C., Frohne, P.S., Papiernik, S.K., Yang, C.H., Crowley, D.E., 2002a. Microbial diversity along a transect of agronomic zones. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39, 183–191
- Ibekwe, A.M., Grieve, C.M., Lyon, S.R., 2003. Characterization of microbial communities and composition in constructed dairy wetland wastewater effluent. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 5060–5069
- Ibekwe, A.M., Lyon, S.R., Leddy, M., Jacobson-Meyers, M., 2007. Impact of plant density and microbial composition on water quality from a free water surface constructed wetland. *J. Appl. Microbiol.* 102, 921–936
- Imfeld G., Braechevelt M., Kusch P., Richnow H.H., 2009. Monitoring and assessing processes of organic chemicals removal in constructed wetlands. *Chemosphere*, 74 (2009) 349-362



- Inamori, R., Gui, P., Dass, P., Matsumura, M., Xu, K.Q., Kondo, T., Ebie, Y., Inamori, Y., 2007. Investigating CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from eco-engineering wastewater treatment processes using constructed wetland microcosms. *Process Biochem.* 42, 363–373
- Ingersoll, T.L., Baker, L.A., 1998. Nitrate removal in wetland microcosms. *Water Res.* 32, 677–684
- Jenssen, P.D., Mahlum, T., Krogstad, T., Vrale, M., 2005. High performance constructed wetlands for cold climate. *J. Environ. Sci. Health* 40, 1343–1353
- Jetten MSM, Logemann S, Muyzer GM, Robertson LA, DeVries S, Van Loosdrecht MCM, et al. Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds. *Antonie van Leeuwenhoek* 1997;71:75–93
- Jetten, M.S.M., Strous, M., van de Pas-Schoonen, K.T., Schalk, J., van Dongen, U.G.J.M., van de Graaf, A.A., Logemann, S., Muyzer, G., van Loosdrecht, M.C.M., Kuenen, J.G., 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol. Rev.* 22, 421–437
- Jetten MSM, Wagner M, Fuerst J, van Loosdrecht MCM, Kuenen JG, Strous M, 2001, Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation (anammox) process. *Curr Opin Biotechnol* 12:283–288
- Johnston CA 1991. Sediments and nutrient retention by freshwater wetlands: effects on surface water quality. *CRC Crit Rev Environ Control* 1991;21:491–565
- Johnson, K.D., Martin, C.D., Moshiri, G.A., McCrory, W.C., 1999. Performance of a constructed wetland leachate treatment system at the Chunchula Landfill, Mobile County, Alabama. In: Mulamootil, G., McBean, E.A., Rovers, F. (Eds.), *Constructed Wetlands for the Treatment of Landfill Leachates*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, USA, pp. 57–70
- Juretschko, S., Timmermann, G., Schmid, M., Schleifer, K.-H., Pommerening-Roser, A., Koops, H.-P., Wagner, M., 1998. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrosospira*-like bacteria as dominant populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3042–3051
- Kadlec RH, Knight RL, 1996, *Treatment wetlands*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1996. 893 pp
- Kadlec, R.H., Tanner, C.C., Hally, V.M., Gibbs, M.M., 2005. Nitrogen spiraling in subsurface-flow constructed wetlands: implications for treatment response. *Ecol. Eng.* 25, 365–381
- Kallner Bastviken, S., Eriksson, P.G., Ekstrom, A., Tonderski, K., 2007. Seasonal denitrification potential in wetland sediments with organic matter from different plant species. *Water Air Soil Pollut.* 183, 25–35
- Kang H, Freeman C, Lee D, Mitsch W. Enzyme activities in constructed wetlands: implication for water quality amelioration. *Hydrobiologia* 1998;368:231–5
- Kozub, D.D., Liehr, S.K., 1999, Assessing denitrification rate limiting factors in a constructed wetland receiving landfill leachate. *Water Sci. Technol.* 40, 75–82
- Kartal B, van Niftrik L, Rattray J, van de Vossenberg JL, Schmid MC, Sinninghe Damsté JS, Jetten MS, Strous M, 2008, Candidatus 'Brocadia fulgida': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. *FEMS Microbiol Ecol* 63(1):46–55
- Keeney DR, Chen RL, Graetz DA. Denitrification and nitrate reduction in sediments: importance to the nitrogen budget in lakes. *Nature* 1972;233:66–7
- Keeney DR, Fillery IR, Marx GP. Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Sci Soc Am J* 1979;43:1124–8
- Knowles R. Denitrification. *Microbiol Rev* 1982;46:43–70
- Kowalchuk, G.A., Stienstra, A.W., Heilig, H.W., Stephen, J.R., Woldendorp, J.W., 2000. Molecular analysis of ammonia-oxidizing bacteria in soil of successional grasslands of the Drentsche A (The Netherlands). *FEMS Microbiol. Ecol.* 31, 207–215

- Kuenen JG, Robertson LA. Ecology of nitrification and denitrification. In: Cole JA, Ferguson SJ, editors. The nitrogen and sulphur cycles. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1987. p. 162–218
- Kuschik, P., Wiesner, A., Kappelmeyer, U., Weisbrodt, E., Kastner, M., Stottmeister, U., 2003. Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Res.* 37 (17), 4236–4242
- Kyambadde, J., Kansiime, F., Dahlhammar, G., 2006. Distribution and activity of ammonia-oxidizing bacteria in Nakivubo wastewater channel and wastewater treatment wetland, Uganda. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 34, 137–145
- Laanbroek HJ. Bacterial cycling of minerals that affect plant growth in waterlogged soils: a review. *Aquat Bot* 1990;38:109–25
- Lambers H, Chapin III FS, Pons L. Plant physiological ecology. New York: Springer; 1998
- Lee Ch., Fletcher T., Sun G., 2009. Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Eng. Life Sci.* (2009) 9, No 1, 11–22
- Lim P.E. \*, T.F. Wong, D.V. Lim , 2001, Oxygen demand, nitrogen and copper removal by free-water-surface and subsurface-flow constructed wetlands under tropical conditions *Environment International* 26 (2001) 425±431
- Lin, Y.F., Jing, S.R., Wang, T.W., Lee, D.Y., 2002. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. *Environ. Pollut.* 119, 420–423
- Lowrance, R., Vellidis, G., Hubbard, R.K., 1995, Wetlands and aquatic processes. *J. Environ. Qual.* 24, 808–815
- Mitsch WJ, Gosselink JG. Wetlands. New York: Van Nostrand Reinhold Company; 2000. 920 pp
- Munch, C., Kuschik, P., Roske, I., 2005. Root stimulated nitrogen removal: only a local effect or important for water treatment? *Water Sci. Technol.* 51 (9), 185–192
- Mulder, A., van de Graaf, A.A., Robertson, L.A., Kuenen, J.G., 1995, Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized-bed reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16, 177–183
- Myrold, D.D., 1998. Transformations of nitrogen. In: Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G., Zuberer, D.A. (Eds.), *Principles and Applications of Soil Microbiology*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA, pp. 259–294
- Noorvee, A., Poldvere, E., Mander, U., 2007. The effect of pre-aeration on the purification processes in the long-term performance of a horizontal subsurface flow constructed wetland. *Sci. Total Environ.* 380, 229–236
- Nurk, K., Truu, J., Truu, M., Mander, U., 2005. Microbial characteristics and nitrogen transformation in planted soil filter for domestic wastewater treatment. *J. Environ. Sci. Health* 40, 1201–1214
- OECD, 1996. Guideline for Testing of Chemicals Simulation Test—Aerobic Sewage Treatment. Technical Report. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France
- Okabe, S., Hiratia, K., Ozawa, Y., Watanabe, Y., 1996. Spatial microbial distribution of nitrifiers and heterotrophs in mixed-population biofilms. *Biotechnol. Bioeng.* 50, 24–35.
- Okabe, S., Satoh, H., Watanabe, Y., 1999. In situ analyses of nitrifying biofilms as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3182–3191
- Painter, H.A., 1986. Nitrification in the treatment of sewage and waste-waters. In: Prosser, J.I. (Ed.), *Nitrification*. Society for General Microbiology 20. Information Printing Ltd., Oxford, UK, pp. 185–211
- Paredes, D., Kuschik, P., Mbwette, T.S.A., Stange, F., Muller, R.A., Koser, H., 2007. New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment—a review. *Eng. Life Sci.* 7 (1), 13–25

- Paul, E.A., Clark, F.E., 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, Inc., San Diego, CA, USA
- Paul EA, Clark FE. Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. San Diego, California: Academic Press; 1996. 340 pp
- Prosser, J.I., 1989. Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Microbial Physiol.* 30, 125–181
- Purkhold, U., Pommerening-Roser, A., Juretschko, S., Schmid, M.C., Koops, H.P., Wagner, M., 2000. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and *amoA* sequence analysis: implications for molecular diversity surveys. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 5368–5382.
- Purkhold, U., Wagner, M., Timmermann, G., Pommerening-Roser, A., Koops, H.P., 2003. 16S rRNA and *amoA*-based phylogeny of 12 novel beta-proteobacterial ammonia-oxidizing isolates: extension of the data set and proposal of a new lineage within the nitrosomonads. *Int. J. Syst. Evol. Micro.* 53, 1485–1494
- Pynaert, K., Smets, B.F., Wyffels, S., Beheydt, D., Siciliano, S.D., Verstraete, W., 2003. Characterization of an autotrophic nitrogen-removing biofilm from a highly loaded lab-scale rotating biological contactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3626–3635
- Ragab, M., Aldag, R., Mohamed, S., Mehana, T., 1994. Denitrification and nitrogen immobilization as affected by organic matter and different forms of nitrogen added to an anaerobic water–sediment system. *Biol. Fertil. Soils* 17, 219–224
- Reddy K. R., Patrick W. H., 1984, "Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments", *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, vol.13, pp.273-309.
- Reddy KR, DeBusk WF, 1987. Nutrient storage capabilities of aquatic and wetland plants. In: Reddy KR, Smith WH, editors. *Aquatic plants for water treatment and resource recovery*. Orlando, Florida: Magnolia Publishing; 1987. p. 337–57
- Reddy KR, Graetz DA 1988. Carbon and nitrogen dynamics in wetland soils. In: Hook DD, et al, editor. *Ecology and management of wetlands*. Ecology of Wetlands Portland, Oregon: Timber Press; 1988. p. 307–18
- Reddy, K.R., D'Angelo, E.M., 1994. Soil processes regulating water quality in wetlands. In: Mitsch, W.J. (Ed.), *Global Wetlands: Old World and New*. Elsevier, Amsterdam, pp. 309–324
- Reddy KR, D'Angelo EM, 1997. Biogeochemical indicators to evaluate pollution removal efficiency in constructed wetlands. *Water Sci Technol* 1997;35(5):1-10
- Reed, S.C., Crites, R.W. and Middlebrooks, E.J., 1995, *Natural Systems for Waste Management and Treatment*. 2nd Ed., McGraw - Hill, Inc., New York.
- Renman, G., Kietlin'ska, A., 2000. A compact constructed wetland for treatment of landfill leachate. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 27, 629–632.
- Riley, K.A., Stein, O.R., Hook, P.B., 2005. Ammonium removal in constructed wetland microcosms as influenced by presence and species of plants and organic carbon load. *J. Environ. Sci. Health, Part A* 40 (6–7), 1109–1121
- Robins, J.P., Rock, J., Hayes, D.F., Laquer, F.C., 2000, Nitrate removal for Platte Valley. Nebraska synthetic groundwater using constructed wetland model. *Environ. Technol.* 21, 653–659
- Rose AH. Chemical microbiology. New York: Plenum Press; 1976
- Rowan AK, Snape JR, Fearnside D, Barer MR, Curtis TP, Head IM. Composition and diversity of ammonia-oxidising bacterial communities in wastewater treatment reactors of different design treating identical wastewater. *FEMS Microbiol Ecol* 2003;43:195–206
- Sartoris, J.J., Thullen, J.S., Barber, L.B., Salas, D.E., 2000, Investigation of nitrogen transformations in a southern California constructed wastewater treatment wetland. *Ecol. Eng.* 14, 49–65
- Savant NK, DeDatta SK. Nitrogen transformations in wetland rice soils. *Adv Agron* 1982;35:241–302

- Schalk J, de Vries S, Kuenen JG, Jetten MSM. Involvement of a novel hydroxylamine oxidoreductase in anaerobic ammonium oxidation. *Biochemistry* 2000;39:5405–12
- Schmid, M., Wachtmann, U.T., Klein, M., Strous, M., Juretschko, S., Jetten, M.S.M., Metzger, J.W., Schleifer, K.H., Wagner, M., 2000a, Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. *Syst. Appl. Microbiol.* 23, 93–106
- Schmid, M., Wachtmann, U., Klein, M., Strous, M., Juretschko, S., Jetten, M.S.M., Metzger, J., Schleifer, K.-H., Wagner, M., 2000b. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. *Syst. Appl. Microbiol.* 23, 93–106.
- Schmid, M., Walsh, K., Webb, R., Rijpstra, W.I.C., van de Pas-Schoonen, K., Verbruggen, M.J., Hill, T., Moffett, B., Fuerst, J., Schouten, S., Damste, J.S.S., Harris, J., Shaw, P., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2003. *Candidatus "Scalindua brodae"*, sp nov., *Candidatus "Scalindua wagneri"* sp nov. two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 26, 529–538
- Schmidt EL. 1982, Nitrification in soils. In: Stevenson FJ, editor. *Nitrogen in agricultural soil*, vol. 22. Am. Soc. Agron, Madison, Wisconsin, Agronomy; 1982. p. 253–67
- Schmidt, I., Sliekers, O., Schmid, M., Cirpus, I., Strous, M., Bock, E., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 2002. Aerobic and anaerobic ammonia oxidising bacteria—competitors or natural partners? *FEMS Microbiol. Ecol.* 39, 175–181
- Schmidt I, Sliekers O, Schmid M, Bock E, Fuerst J, Kuenen JG, 2003. New concepts of microbial treatment process for the nitrogen removal from wastewaters. *FEMS Microbiol Rev* 2003;27:481–92
- Schramm, A., Larsen, L.H., Revsbech, N.P., Ramsing, N.B., Amann, R., Schleifer, K.-H., 1996. Structure and function of a nitrifying biofilm as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 4641–4647
- Shackle VJ, Freeman C, Reynolds B 2000. Carbon supply and the regulation of enzyme activity in constructed wetlands. *Soil Biol Biochem* 2000;32:1935–40
- Shipin O, Koottatep T, Khanh NT, Polprasert C 2005. Integrated natural treatment systems for developing communities: low-tech n-removal through the fluctuating microbial pathways. *Water Sci Technol* 2005;51:299–306
- Sliekers AO, Derwort N, Campos Gomez JL, Strous M, Kuenen JG, Jetten MSM. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor. *Water Resour* 2002;36:2475–82
- Sikora FJ, Zhu T, Behrend LL, Steinberg SL, Coonrod HS. Ammonium removal in constructed wetlands with recirculating subsurface flow: removal rates and mechanisms. *Water Sci Technol* 1995;32 (3):193–202
- Silyn-Roberts, G., Lewis, G., 2001. In situ analysis of *Nitrosomonas* spp. in wastewater treatment wetland biofilms. *Water Res.* 35, 2731–2739
- Sirivedhin, T., Grey, K.A., 2006. Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: fields and laboratory studies. *Ecol. Eng.* 26, 167–181
- Song, Z., Zheng, Z., Li, J., Sun, X., Han, X., Wang, W., Xu, M., 2006. Seasonal and annual performance of a full-scale constructed wetland for sewage treatment in China. *Ecol. Eng.* 26, 272–282
- Sørensen J., 1978, Capacity for denitrification and reduction of nitrate to ammonia in a coastal marine sediments. *Appl Environ Microbiol* 1978;35:301–5
- Starr, R.C., Gillham, R.W., 1993. Denitrification and organic carbon availability in two aquifers. *Ground Water* 31, 934–947
- Stein O.R., Hook P.B., 2005, Temperature, plants and oxygen: how does season affect constructed wetlands performance, *Sci. Health A*, 40 (2005), 1331–1342

- Stephen, J. R., A. E. McCaig, Z. Smith, J. I. Prosser, and T. M. Embley. 1996, Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to beta-subgroup ammonia-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 4147–4154
- Stephen, J.R., Kowalchuk, G.A., Bruns, M-A.V., McCaig, A.E., Phillips, C.J., Embley, T.M., Prosser, J.I., 1998. Analysis of  $\beta$ -subgroup proteobacterial ammonia oxidizer populations in soil by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and hierarchical Phylogenetic probing. *Appl. Environ. Microbiol.* 64,2958–2965
- Stewart WDP. Nitrogen fixation. In: Carr NG, Whitton BA, editors. *The biology of the blue-green algae*. Berkeley, California: University of California Press; 1973. p. 260–78
- Stottmeister U.\* , A. Wießner, P. Kusch, U. Kappelmeyer, M. Kaßner, O. Bederski, R.A. Muller, H. Moormann, 2003, Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment, *Biotechnology Advance* 22, 93-117
- Strous M, van Gerven E, Kuenen JG, Jetten M, 1997. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) sludge. *Appl Environ Microbiol* 1997;63:2446–8
- Strous M, Jetten MSM 2004. Anaerobic oxidation of methane and ammonium. *Annu Rev Microbiol* 2004; 58:99-117
- Sundblad, K., Wittgren, H.B., 1991. Wastewater nutrient removal and recovery in an infiltration wetland. In: Etnier, C., Guterstam, B. (Eds.), *Ecological Engineering for Wastewater Treatment*. Boksögen, Göteborg, Sweden, pp. 190–198
- Sundberg, C., Stendahl, J.S.K., Tonderski, K., Lindgren, P.E., 2007a. Overland flow systems for treatment of landfill leachates—potential nitrification and structure of the ammonia-oxidizing bacterial community during a growing season. *Soil Biol. Biochem.* 39, 127–138
- Sundberg, C., Tonderski, K., Lindgren, P.E., 2007b. Potential nitrification and denitrification and the corresponding composition of the bacterial communities in a compact constructed wetland treating landfill leachates. *Water Sci. Technol.* 56 (3), 159–166
- Tanner, C.C., Kadlec, R.H., Gibbs, M.M., Sukias, J.P.S.M., Long, N., 2002, Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands—influence of wastewater characteristics. *Ecol. Eng.* 18, 499–520
- Tanita, S., Kimberly, A.G., 2006, Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: field and laboratory studies. *Ecol. Eng.* 26 (2), 167–181
- Tao W, Hall KJ, Duff SJB, 2007a. Microbial biomass and heterotrophic production of surface flow mesocosm wetlands treating woodwaste leachate: responses to hydraulic and organic loading and relations with mass reduction. *Ecol Eng* 2007a;31:132–9.
- Tao W, Hall KJ, Ramey W. Effects of influent strength on microorganisms in surface flow mesocosm wetlands. *Water Res* 2007b;41:4557–65
- Tchobanoglous, G.; Burton, F. L. (1991) *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. (3rd edn.) Metcalf and Eddy, Inc.: San Francisco, California, USA
- Thompson, S.P., Paerl, H.W., Go, M.C., 1995. Seasonal patterns of nitrification and denitrification in a natural and a restored marsh. *Estuaries* 18, 399–408
- Tjasa, G.Bulc, 2006. Long term performance of a constructed wetland for landfill leachate treatment. *Ecol. Eng.* 26 (4), 365–374
- Tietz, A., Hornek, R., Langergraber, G., Kreuzinger, N., Haberl, R., 2007a. Diversity of ammonia oxidizing bacteria in a vertical flow constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 56 (3), 241–247
- Tietz, A., Kirschner, A., Langergraber, G., Sleytr, K., Haberl, R., 2007b. Characterization of microbial biocoenosis in vertical subsurface flow constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380, 163–172

- Toet, S., Huibers, L.H.F.A., Van Logtestijn, R.S.P., Verhoeven, J.T.A., 2003. Denitrification in the periphyton associated with plant shoots and in the sediment of a wetland system supplied with sewage treatment plant effluent. *Hydrobiologia* 501, 29–44
- Truu Marika, Juhanson Jaanis, Truu Jaak, 2009, Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands Institute of Molecular and Cell Biology, Faculty of Science and Technology, University of Tartu, 23 Riia Str, 51010, Tartu, Estonia Science of the total Environment 407 (2009 ) 3958 – 3971
- Truu, J., Nurk, K., Juhanson, J., Mander, U., 2005. Variation of microbiological parameters within planted soil filter for domestic wastewater treatment. *J. Environ. Health* 40, 1191–1200
- van de Graaf, A.A., Mulder, A., Debruijn, P., Jetten, M.S.M., Robertson, L.A., Kuenen, J.G., 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1246–1251
- van Niel, E.W.J., Robertson, L.A., Kuenen, J.G., 1993. A mathematical description of the behavior of mixed chemostat cultures of an autotrophic nitrifier and a heterotrophic nitrifier/aerobic denitrifier; a comparison with experimental data. *FEMS Microbiol. Ecol.* 102, 99–108
- van Oostrom, A.J., Russell, J.M., 1994, Denitrification in constructed wastewater wetlands receiving high concentrations of nitrate. *Water Sci. Technol.* 29, 7–14
- Vymazal J, 1995. *Algae and element cycling in wetlands*. Chelsea, Michigan: Lewis Publishers; 1995. 698 pp
- Vymazal J, 2001. Types of constructed wetlands for wastewater treatment: their potential for nutrient removal. In: Vymazal J, editor. *Transformations of nutrients in natural and constructed wetlands*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers; 2001. p. 1-93
- Vymazal J, 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 25 (5), 478–490
- Vymazal J., Removal of nutrients in various types of constructed wetlands, *Sci. Total Environ.* 2007, 380, 48–65
- Wallace Scott, Austin David, 2008, Emerging models for nitrogen removal in treatment wetlands. *National Environmental Health Association*, vol 71 number 4
- Webster, G., Embley, T.M., Prosser, J.I., 2002. Grassland management regimes reduce small-scale heterogeneity and species diversity of  $\alpha$ -proteobacterial ammonia oxidizer populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 20–30
- Wetzel RG. *Limnology*. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2001. 1006 pp.
- Whitney DM, Chalmers AG, Haines EB, Hanson RB, Pomeroy LR, Sherr B. The cycles of nitrogen and phosphorus. In: Pomeroy RL, Wiegert RG, editors. *The ecology of a salt marsh*. Berlin: Springer-Verlag; 1981. p. 163–81
- Willems, H.P.L., Rotelli, M.D., Berry, D.F., Smith, E.P., Reneau Jr., R.B., Mostaghimi, S., 1997, Nitrate removal in riparian wetland soils: effects of flowrate, temperature, nitrate concentration and soil depth. *Water Res.* 31, 841–849
- Xie, S., Zhang, X., Wang, Z., 2003. Temperature effect on aerobic denitrification and nitrification. *J. Environ. Sci.* 15, 669–673
- Xue, Y.; Kovacic, D. A.; David, M. B.; Gentry, L. E.; Mulvaney, R. L.; Lindau, C. W. In situ measurements of denitrification in constructed wetlands. *J. Environ. Qual.* 1999, 28, 263-269
- Yalcuk Arda, Aysenur Ugurlu, 2009, Comparison of horizontal and vertical constructed wetland systems for landfill leachate treatment. *Bioresource Technology* 100 (2009) 2521-2526
- Yang, L., Chang, H., Huang, M.L., 2001, Nutrient removal in gravel- and soil-based wetland microcosms with and without vegetation. *Ecol. Eng.* 18 (1), 91



- Ying-Feng Lin a,\*, Shuh-Ren Jing a, Der-Yuan Lee b, Yih-Feng Chang c, Kai-Chung Shih a, 2008, Nitrate removal from groundwater using constructed wetlands under various hydraulic loading rates. *Bioresource Technology* 99 (2008) 7504–7513
- Zhao Y., Liu B., Zhang W., Hu Ch. An Sh., 2010. Effects of plant and influent C:N:P ratio on microbial diversity in pilot-scale constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 36 (2010) 441-449
- Zhu, T., Sikora, F.J., 1994. Ammonium and nitrate removal in vegetated and unvegetated gravel bed microcosm wetlands. *Water Sci. Technol.* 32 (3), 219–228
- Αγγελάκης, Α.Ν. και Τσομπάνογλου, Γ. (1995), *Υγρά Απόβλητα: Φυσικά Συστήματα Επεξεργασίας και Ανάκτηση, Επεξεργασία και Διάθεση Εκροών*. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Αγγελάκης Α.Ν., Παρανυχιανάκης Ν.Β., Τσαγκαράκης Κ.Π., *Φυσικά συστήματα επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων: Μηχανισμοί επεξεργασίας, αρχές σχεδιασμού και λειτουργίας*. Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Ινστιτούτο Ηρακλείου, 71307 Ηράκλειο Κρήτης
- Αποστολάκης Α., Δημητρίου Α., Ζουμπουλάκη Ρ., Σιάκα Μ., Αραπάκης Π., Μυτιληναίος Γ., (2014), *Μελέτη για τον υπολογισμό της εξατμισοδιαπνοής του φυτού της ελιάς με την χρήση του προγράμματος CropWat 8.0 σε επίπεδο περιφέρειας Κρήτης*.
- Καραμούζης Διαμαντής, 2006, *Μικρά αποκεντρωμένα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων*. Πρακτικά συνεδρίου με θέμα: «Αναπτυξιακό συνέδριο νομού Δράμας», Δράμα, σελ. 2-42.