



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**“ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΣΤΙΚΩΝ
ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΕΓΚΛΩΒΙΣΜΕΝΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ”**

ΦΑΡΑΖΑΚΗ ΜΑΡΙΑ



**ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ
LENTIKATS**



**ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ
LENTIKATS**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΠΕΤΡΟΣ ΓΚΙΚΑΣ

ΧΑΝΙΑ, 2016

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή **κ. Πέτρο Γκίκα**, Αναπληρωτή Καθηγητή της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος Πολυτεχνείου Κρήτης. Η καθοδήγησή του, οι πολύτιμες συμβουλές του καθώς και η βοήθεια που μου προσέφερε ήταν καθοριστικές για την εκπόνηση της μεταπτυχιακής διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τον **κ. Κομνίτσα Κωνσταντίνο**, Καθηγητή της Σχολής Μηχανικών Ορυκτών Πόρων Πολυτεχνείου Κρήτης και την **κα. Βενιέρη Δανάη**, Επίκουρη Καθηγήτρια της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος Πολυτεχνείου Κρήτης για την πρόθυμη συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή και την αξιολόγηση της παρούσας εργασίας.

Ευχαριστώ επίσης το **Μάρακα Χαρίδημο**, βοηθό του Εργαστηρίου Σχεδιασμού Περιβαλλοντικών Διεργασιών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος Πολυτεχνείου Κρήτης, κυρίως για την υπομονή αλλά και για τις συμβουλές που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της παρούσας εργασίας.

Τέλος ευχαριστώ θερμά τους γονείς μου για τη στήριξη, τη βοήθεια και την υπομονή τους όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	7
--------------------------	---

Abstract	9
--------------------------	---

Κεφάλαιο 1: εισαγωγή 11

1.1 ΔΙΑΡΘΡΩΣΗ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	11
1.2 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	12

Κεφάλαιο 2: μετασχηματισμοί αζωτού 14

2.1 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ.....	14
2.1.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	14
2.1.2 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ.....	16
2.1.3 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	17
2.2 ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ.....	26
2.2.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	26
2.2.2 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ.....	28
2.2.3 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	29
2.3 ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΑΝΝΑΜΟΧ.....	311
2.4 ΕΝΘΥΛΑΚΩΜΕΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....	32
2.5 ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΜΕΝΗ ΒΙΟΜΑΖΑ.....	324

Κεφάλαιο 3: ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS 36

3.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS.....	36
3.2 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΕΝΘΥΛΑΚΩΜΕΝΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ.....	36
3.3 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS.....	37
3.4 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ LENTIKATS.....	39
3.5 ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ LENTIKATS.....	40
3.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS ΣΕ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ.....	40

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : περιγραφή πειραματικών διατάξεων 46

4.1 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΡΩΤΗ – ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS.....	47
4.1.1 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR).....	47
4.1.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR).....	50
4.2 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΔΕΥΤΕΡΗ – ΜΕΜΟΝΟΜΕΝΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΕΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ.....	52
4.2.1 ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ (ΦΑΣΗ 1).....	52

4.2.2 ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ (ΦΑΣΗ 2).....	53
4.3 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΤΡΙΤΗ – ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	54
4.3.1 ΦΑΣΗ 1 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	54
4.3.2 ΦΑΣΗ 2 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	55
Κεφάλαιο 5: πειραματικές αναλύσεις	56
Κεφάλαιο 6: ηλεκτρονικό μικροσκόπιο	58
6.1 ΜΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS	60
6.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	64
6.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ..	65
6.4 ΜΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS	68
6.5 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	69
6.6 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	71
Κεφάλαιο 7: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	73
7.1 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΡΩΤΗ – ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS	73
7.1.1 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR).....	73
7.1.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR).....	74
7.2 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΔΕΥΤΕΡΗ – ΜΕΜΟΝΟΜΕΝΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΕΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ.....	75
7.2.1 ΦΑΣΗ 1 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	75
7.2.2 ΦΑΣΗ 2 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	76
7.3 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΤΡΙΤΗ – ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	77
7.3.1 ΦΑΣΗ 1 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	77
7.3.2 ΦΑΣΗ 2 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ	80
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ	87
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	89
ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	94
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α	95

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1:Βιοκαταλύτης Lentikats (<i>Bouskova et al.</i> , 2011)	13
Εικόνα 2: Σχηματικά η διαδικασία της βακτηριακής προσκόλλησης (Πηγή: <i>Bacterial adhesion : From mechanism to control</i> , 2010).....	352
Εικόνα 3: Ενθυλάκωση μικροοργανισμών με τη μέθοδο Lentikats (http://www.lentikats.eu)	37
Εικόνα 4: Εξωτερική και μικροσκοπική όψη των Βιοκαταλυτών Lentikats(<i>Sievers et al.</i> , 2002).	37
<u>Εικόνα 5: Βιοκαταλύτης Lentikats (http://www.lentikats.eu)</u>	<u>38</u>
Εικόνα 6: Δεξαμενή Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ της πόλης Ostrov u Macochy(<i>Letikats Bulletin</i> , 2009)	41
Εικόνα 7: Δεξαμενή Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ Εργοστασίου στην πόλη Tona (<i>Letikats Bulletin</i> , 2011).....	43
<u>Εικόνα 8: Δεξαμενή Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ Εργοστασίου στην πόλη Urice</u> <u>(http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/11).</u>	<u>44</u>
Εικόνα 9: Νιτροποιητικοί Βιοκαταλύτες Lentikats.....	47
Εικόνα 10: Διάταξη ενεργοποίησης νιτροποιητικών βακτηρίων σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου	49
Εικόνα 11: Διάταξη ενεργοποίησης απονιτροποιητικών βακτηρίων	52
Εικόνα 12: Συνεχές σύστημα νιτροποιητικών βακτηρίων με συνθετικό απόβλητο.	53
Εικόνα 13: Συνεχές σύστημα απονιτροποιητικών βακτηρίων με τεχνητό απόβλητο.....	53
Εικόνα 14 : Συνεχές σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με συνθετικό απόβλητο.....	54
Εικόνα 15 : Συνεχές σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με χρήση αστικού αποβλήτου	55
Εικόνα 16: Αρχή λειτουργίας SEM.....	59
Εικόνα 17: Scannin Electrone Microscope στη Μονάδα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας “Βασίλης Γαλανόπουλος” του Τμήματος Βιολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης.....	59
Εικόνα 18 : (α) Εξωτερική όψη μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats, (β) Εξωτερική και εσωτερική όψη μετά τη θρυμματίση νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM	61
Εικόνα 19: Εσωτερική όψη μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) 2500 (β)4000 και (γ) 6000	62
Εικόνα 20: Εσωτερική όψη μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) 8000 (β)10000 και (γ) 6000	63
Εικόνα 21: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) 500 (β)4000 και (γ) 6000.....	64
Εικόνα 22: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) 6000 και (β)4000.....	65
Εικόνα 23: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) 2200 και (β)6000.....	65
Εικόνα 24: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση 4000.....	66
Εικόνα 25 : Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α)500 , (β)4000 και (γ) 3000.....	67
Εικόνα 26: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση 2000	68
Εικόνα 27: (α) Εξωτερική όψη μη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats, (β) Εξωτερική όψη μετά τη θρυμματίση απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM	68
Εικόνα 28 : Εσωτερική όψη μη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) 2000 (β)4000 και (γ) 8000	69
Εικόνα 29: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM.....	70
Εικόνα 30: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM.....	70

Εικόνα 31: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM.....	70
Εικόνα 32: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγεθύνσεις (α) 30 (β) 500 και (γ) 500	71
Εικόνα 33: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγεθύνσεις (α) 3000. (β) 1800 και (γ) 10000	72

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά των νιτροποιητικών βακτηρίων (Madigan, 1997)	15
Πίνακας 2: Βιβλιογραφικά δεδομένα κινητικών σταθερών σε διεργασίες ενεργού ιλύος για το <i>Nitrosomonas</i>	19
Πίνακας 3: Βιβλιογραφικά δεδομένα κινητικών σταθερών σε διεργασίες ενεργού ιλύος για το <i>Nitrobacter</i>	19
Πίνακας 4: Βιβλιογραφικά δεδομένα για το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και τη σταθερά κορεσμού του <i>Nitrosomonas</i> σε διαφορετικές θερμοκρασίες και περιβάλλοντα.....	20
Πίνακας 5: Βιβλιογραφικά δεδομένα για το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και τη σταθερά κορεσμού του <i>Nitrobacter</i> σε διαφορετικές θερμοκρασίες και περιβάλλοντα.....	21
Πίνακας 6: Εξάρτηση του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης από τη θερμοκρασία (Randall et al. 1992).....	22
Πίνακας 7: Οργανικές ενώσεις στις οποίες οφείλεται η παρεμπόδιση της νιτροποίησης.....	24
Πίνακας 8: Ετερότροφοι μικροοργανισμοί που συμβάλλουν στη διεργασία της απονιτροποίησης	26
<u>Πίνακας 9: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ της πόλης Ostrov u Macochy (http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/14).....</u>	<u>41</u>
<u>Πίνακας 10: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ της πόλης Litomerice (http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/10)</u>	<u>42</u>
Πίνακας 11: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ Εργοστασίου στην πόλη Tona (Lentikats Bulletin, 2011).	43
<u>Πίνακας 12: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ στην πόλη Upice (http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/11).....</u>	<u>44</u>
<u>Πίνακας 13: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ στην πόλη Jevany – Bohumil (http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/15).....</u>	<u>45</u>
Πίνακας 14: Σύσταση του συνθετικού αποβλήτου σε 1L απιονισμένου νερού	48
Πίνακας 15: Σύσταση του διαλύματος TES.....	48
Πίνακας 16: Σύσταση συνθετικού αποβλήτου απονιτροποίησης	50
Πίνακας 17: Παρασκευή διαλύματος SL-6 (200 ml)	50
Πίνακας 18 :Απαιτούμενη συγκέντρωση NaNO_3	51
Πίνακας 19: Αποτελέσματα συγκέντρωσης NH_4^+-N και ενεργότητας για νιτροποιητικό Βιοκαταλύτη Lentikats σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου	73
Πίνακας 20 : Αποτελέσματα συγκέντρωσης NO_3^--N και ενεργότητας για απονιτροποιητικό Βιοκαταλύτη Lentikats σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου	74
<u>Πίνακας 21 : Αποτελέσματα ανάπτυξης μικροοργανισμών</u>	<u>81</u>

Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Σχεδιασμού Περιβαλλοντικών Διεργασιών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος Πολυτεχνείου Κρήτης στο χρονικό διάστημα από το Σεπτέμβριο 2013 μέχρι τον Ιούνιο 2015.

Οι διεργασίες της νιτροποίησης και απονιτροποίησης θεωρούνται από τα σημαντικότερα στάδια σε μια Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων, εφόσον σε αυτές τις διεργασίες επιδιώκεται η απομάκρυνση αζώτου. Η απομάκρυνση αζώτου είναι ευκαταία ακόμα και εάν δεν επιβάλλεται ρητά από την νομοθεσία, λόγω των αρνητικών επιπτώσεων που μπορεί να προκαλέσει η παρουσία του αζώτου στο οικοσύστημα. Στις περισσότερες Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων που διαθέτουν δεξαμενές νιτροποίησης και απονιτροποίησης εφαρμόζεται ανακυκλοφορία του ανάμεικτου υγρού από την δεξαμενή νιτροποίησης/βιολογικής οξείδωσης (αερόβια) προς την δεξαμενή απονιτροποίησης (ανοξική), με ρυθμούς που μπορεί να υπερβαίνουν το 20πλάσιο της παροχής εισόδου. Η ανακυκλοφορία απαιτεί σημαντική ενεργειακή δαπάνη, ενώ έχει σαν αποτέλεσμα την κατασκευή σχετικά μεγάλων δεξαμενών επεξεργασίας.

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη ενός συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης, με την προαναφερόμενη σειρά, χωρίς την ανάγκη για ανακυκλοφορία ανάμεικτου υγρού και χωρίς την χρήση εξωτερικής πηγής άνθρακα. Κάτι τέτοιο μπορεί να επιτευχθεί εάν στην δεξαμενή αερισμού επιτευχθεί οξείδωση της αμμωνίας με παράλληλη διατήρηση του μεγαλύτερου μέρους του BOD, το οποίο θα μπορέσει να χρησιμοποιηθεί ως πηγή άνθρακα στην κατάντη δεξαμενή απονιτροποίησης. Το τελευταίο μπορεί να συμβεί εάν ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στην δεξαμενή αερισμού είναι μικρότερος από τον χρόνο διπλασιασμού των ετερότροφων μικροοργανισμών, ενώ παράλληλα η συγκέντρωση των νιτροποιητών θα διατηρείται σε ψηλά επίπεδα με χρήση μεγάλης συγκέντρωσης ενθυλακωμένων νιτροποιητών.

Στη συγκεκριμένη εργασία εξετάζεται ένα σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με τη χρήση Βιοκαταλυτών Lentikats, χωρίς ανακυκλοφορία ανάμεικτου υγρού. Οι Βιοκαταλύτες Lentikats αποτελούνται από ενθυλακωμένους νιτροποιητές ή απονιτροποιητές σε γέλη πολυβινυλικής αλκοόλης (PVA gel), οι οποίοι παρασκευάζονται από την εταιρία Lentikats Biotechnologies (Τσέχικη Δημοκρατία).

Ως αρχικό βήμα για την πραγματοποίηση των πειραμάτων, θεωρείται η ενεργοποίηση των μικροοργανισμών. Η υλοποίηση των παρακάτω πειραματικών διαδικασιών πραγματοποιείται ενεργοποιώντας 250g από κάθε είδος βιοκαταλύτη. Η τελευταία λαμβάνει μέρος σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (batch bioreactors) ώσπου η ενεργότητά τους να κυμαίνεται στα επίπεδα 300 - 500 mg/(kg_{BL} h) και 500 - 600 mg/(kg_{BL} h), για τους νιτροποιητικούς και απονιτροποιητικούς Βιοκαταλύτες Lentikats, αντίστοιχα.

Στη συνέχεια, οι αποδόσεις των Βιοκαταλυτών Lentikats εξετάστηκαν σε δύο αντιδραστήρες συνεχούς ροής, χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο. Στη συνέχεια, η έξοδος του αντιδραστήρα

νιτροποίησης τροφοδοτείται στον αντιδραστήρα απονιτροποίησης. Στο σημείο αυτό, οι αποδόσεις των συστημάτων εξετάζονται με τη χρήση συνθετικού αποβλήτου, ενώ στη δεξαμενή της απονιτροποίησης προστίθεται η απαραίτητη ποσότητα αιθανόλης. Στα παραπάνω συστήματα, οι συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου είναι παρόμοιες με τις αντίστοιχες ενός αστικού αποβλήτου. Τέλος, εξετάζεται το σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με τη χρήση αστικού αποβλήτου, απουσία οργανικού άνθρακα, το οποίο έχει συλλεχθεί από το κανάλι μετά την πρωτοβάθμια καθίζηση (πριν τη δεξαμενή αερισμού) από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Χανίων.

Οι αντιδραστήρες λειτουργούσαν σε πρότυπες συνθήκες θερμοκρασίας 25 °C και pH ίσο με 7, ενώ όλα τα συστήματα που περιγράφηκαν παραπάνω εξετάστηκαν σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h.

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, βέλτιστα ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου συγκριτικά με το χρόνο παραμονής λειτουργίας του συστήματος παρατηρούνται σε χρόνο παραμονής 4h.

Επιπλέον, συγκρίνοντας τους ρυθμούς νιτροποίησης και απονιτροποίησης ανά ρυθμό μικροοργανισμών μεταξύ του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με χρήση Βιοκαταλυτών Lentikats και σε μια Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά. Χρησιμοποιώντας τους Βιοκαταλύτες Lentikats, η συγκέντρωση των νιτροποιητικών / απονιτροποιητικών μικροοργανισμών μπορεί να φτάσει έως 5.000 g_{microorganisms}/m³ σε σύγκριση με τους λιγότερο από τα 300 g_{microorganisms}/m³ που χρησιμοποιούνται σε συμβατικές μονάδες ενεργού ιλύος. Ως αποτέλεσμα, ο όγκος των δεξαμενών νιτροποίησης / απονιτροποίησης μπορεί να μειωθεί κατά περίπου 16 φορές.

Σε περαιτέρω πειράματα, λύματα από χοιροστάσιο πρόκειται να εξεταστούν καθώς οι Βιοκαταλύτες Lentikats μπορούν να αποδόσουν σε συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου ίσες με 2500 συγκεντρώσεων mg/L και 4200mg/L, αντίστοιχα.

Abstract

The present work elaborated in Design of Environmental Processes Laboratory in Department of Environmental Engineering, Technical University of Crete from September 2013 till June 2015.

Nitrification and denitrification processes can be considered as the most important stages in a WWTP, since these processes seek to nitrogen removal. Nitrogen removal is desirable even if it is not specifically required by legislation, due to the negative effects that the presence of nitrogen can cause in the ecosystem. In most WWTP, allocating with nitrification and denitrification tanks, recirculation of the mixed liquid is necessary from the nitrification / biological oxidation tank (aerobic) to the denitrification tank (anoxic), at rates that may exceed 20 times the input supply. Recirculation requires considerable energy expenditure, and results in the construction of large processing tanks.

The scope of the present work is to investigate the possibility for nitrification-denitrification process in once-through systems (e.i.: without recirculation) without the need for addition of extra carbon source (e.i. using wastewater BOD as carbon source), on real wastewater. This can be achieved, in case that ammonia oxidation will take place in nitrification tank while maintaining most of BOD, which could be used as carbon source in the downstream denitrification tank. The latter is achievable if retained nitrifiers are used in the aeration tank, while the hydraulic retention time is below the doubling time of the heterotrophic biomass with the above configuration heterotrophic microorganisms will fail to reproduce in the aeration tank.

In this paper, a nitrification - denitrification system is examined by the use of Lentikats biocatalysts, without recirculation of mixed liquid. Lentikats Biocatalysts consists of encapsulated nitrifiers and denitrifiers in a polyvinyl alcohol medium (PVA gel). Our Lab is provided Lentikats Biocatalysts by Lentikats Biotechnologies company (Czech Republic).

At first, 250g of each biocatalysts activated, in two different batch reacts with working volume 1.7L. Biocatalysts are ready to use their activity vary in levels 300 - 500 mg / kgBL / h and 500 - 600 mg / kgBL / h, for nitrifying and denitrifying bacteria, respectively.

Further experiments have been carried out in two continuous stirred tanks (CSTB), for nitrification and denitrification, respectively. Afterwards, the output of nitrification reactor was fed to the denitrification reactor. At this point, artificial wastewater is used, while in denitrification tank the required amount of ethanol is added. In all these systems, the concentrations of ammonia and nitrate nitrogen are similar with those of an urban wastewater. Finally, raw wastewater is examined with absence of organic carbon, which has been collected by the channel after the primary sedimentation (before the aeration tank) from Chania Wastewater Treatment Plant.

In both reactors, the pH was controlled to 7.1 ± 0.1 , while temperature was maintained at 25 °C. Nitrification tank has been continuously aerated at 2-4 mg /L. In both reactors, the volume of liquid in the reactors was 2L while 250 g of nitrifying and denitrifying biocatalyst was added, respectively.

Three different retention times were tested, at 8, 4 and 3h, in both reactors. Ammonia, nitrate and BOD concentration and in the feeding liquid varied between 52 – 60 mg (N-NH₄⁺)/L , 0.5 - 1 mg(N-NO₃⁻)/L , and 190 - 230 mg/L, respectively. According to the experimental results, optimum removal ammonium and nitrate nitrogen rates have been observed in 4h time residence.

Furthermore, Lentikats Biocatalysts can be applied to various types of industrial waste water, as their performance in high concentrations of ammonium and nitrate nitrogen are particularly promising.

Moreover, comparing the rates of nitrification and denitrification by microorganisms between nitrification - denitrification system using Lentikats biocatalysts and a WWTP, no significant difference has been observed. Using Lentikats biocatalyst system the concentration of nitrification/denitrification microorganisms can be up to 5000 gmicroorganisms/m³, compared to less than 300 gmicroorganisms/m³ used in conventional activated sludge plants. As a result the volume of nitrification/denitrification tanks may be reduced at about 16 times. Considering this, once-through nitrification-denitrification and saving space is achievable at the same time.

In further experiments, wastewater from piggery factory is going to be tested, as Lentikats Biocatalysts can handle up to 2500 mg/L and 4200mg/L ammonium and nitrate concentrations, respectively.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΔΙΑΡΘΡΩΣΗ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία αποτελείται συνολικά από οκτώ κεφάλαια, συμπεριλαμβανομένου της εισαγωγής στην οποία αναλύεται ο σκοπός και το αντικείμενο της εργασίας.

Στο δεύτερο κεφάλαιο αναφέρονται συνοπτικά:

- Διάφοροι μετασχηματισμοί του αζώτου στις διεργασίες νιτροποίησης και απονιτροποίησης
- Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τις παραπάνω διεργασίες
- Διεργασία ANAMMOX
- Ενθυλάκωση μικροοργανισμών
- Συστήματα νιτροποίησης – απονιτροποίησης προσκολλημένης βιομάζας

Στο τρίτο κεφάλαιο παρατίθενται πληροφορίες σχετικά με τους Βιοκαταλύτες Lentikats – οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή του πειράματος-, τη μέθοδο ενθυλάκωσης Lentikats, τα συστήματα νιτροποίησης και απονιτροποίησης με τη χρήση των συγκεκριμένων Βιοκαταλυτών, καθώς επίσης και εφαρμογές των τελευταίων σε διάφορες Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων.

Στο τέταρτο και πέμπτο κεφάλαιο περιγράφονται οι εργαστηριακές διατάξεις που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις διάφορες φάσεις των πειραμάτων και οι αναλυτικές μέθοδοι.

Στο έβδομο κεφάλαιο παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα που προέκυψαν σε όλες τις περιόδους του πειράματος.

Στο όγδοο κεφάλαιο εξάγονται συμπεράσματα που αφορούν την αποδοτική εφαρμογή των Βιοκαταλυτών Lentikats σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, ενώ παρατίθενται και κάποιες προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

1.2 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η απομάκρυνση αζώτου στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων θεωρείται ως μια επιτακτική ανάγκη λόγω των αρνητικών του επιπτώσεων στο οικοσύστημα. Συνήθως χρησιμοποιούνται οι διεργασίες νιτροποίησης και απονιτροποίησης για την απομάκρυνση των διάφορων μορφών του αζώτου από τα λύματα. Η νιτροποίηση μαζί με την οξείδωση των οργανικών λαμβάνει χώρα κάτω από αερόβιες συνθήκες, ενώ η απονιτροποίηση υπό ανοξικές συνθήκες. Στην ίδια δεξαμενή όπου λαμβάνει χώρα η διεργασία της νιτροποίησης λαμβάνει ταυτόχρονα χώρα και η διεργασία βιολογικής οξείδωσης του οργανικού άνθρακα (BOD), και μάλιστα με πολύ ταχύτερο ρυθμό αντίδρασης. Επειδή η διεργασία της απονιτροποίησης απαιτεί οργανικό άνθρακα για την πραγματοποίησή της, τα λύματα που έχουν υποστεί νιτροποίηση ανακυκλοφορούνται (με παροχή που μπορεί να φτάσει από 2 έως 4 φορές την παροχή ειόδου των λυμάτων) σε μία ανάντη ανοξική δεξαμενή, όπου αναμιγνύονται με ακατέργαστα λύματα (ή λύματα που εξέρχονται από την πρωτοβάθμια καθίζηση), ώστε να χρησιμοποιηθεί ο οργανικός άνθρακας των λυμάτων ως πηγή άνθρακα στην διεργασία της απονιτροποίησης. Εναλλακτικά, για να αποφευχθεί η ανακυκλοφορία και να βελτιωθεί η ποιότητα εκροής, μια εύκολα βιοδιασπώμενη πηγή άνθρακα (όπως μεθανόλη) μπορεί να προστεθεί στην εκροή της νιτροποίησης ανάντι της δεξαμενής απονιτροποίησης (Kadlec and Wallace, 2009). Καθώς η ανακυκλοφορία των λυμάτων από την δεξαμενή απονιτροποίησης προς την δεξαμενή νιτροποίησης έχει κόστος και οδηγεί στην κατασκευή ευμεγέθων δεξαμενών, θα ήτανε ευκαίριο εάν θα μπορούσε να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα χωρίς την ανάγκη ανακυκλοφορίας.

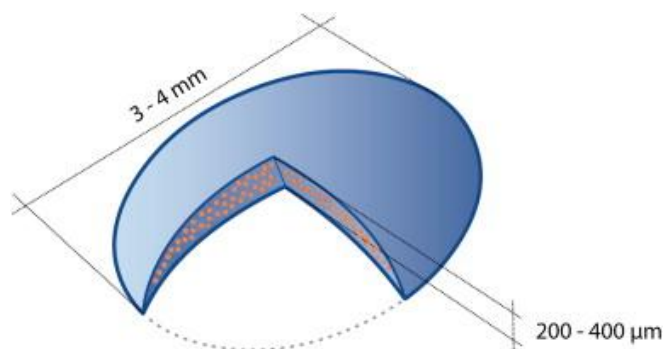
Θα ήταν λοιπόν ενδιαφέρον εάν η νιτροποίηση θα μπορούσε να επιτευχθεί στην δεξαμενή αερισμού χωρίς ταυτόχρονη οξείδωση του οργανικού άνθρακα (BOD) έχοντας ως αποτέλεσμα τη διατήρηση του BOD για μια κατάντη διεργασία απονιτροποίησης, χωρίς την ανάγκη για ανακυκλοφορία ή επιπλέον προσθήκη πηγής άνθρακα. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν θα ήταν εφικτό σε συμβατικά συστήματα ενεργού ιλύος αφού οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί έχουν σημαντικά υψηλότερο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης σε σύγκριση με τους νιτροποιητές (αυτότροφοι) (Knowles, 1982).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της δυνατότητας λειτουργίας ενός συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης, χωρίς την ανάγκη επιπλέον προσθήκης πηγής άνθρακα και χωρίς την ανάγκη για ανακυκλοφορία μεταξύ των δεξαμενών νιτροποίησης και απονιτροποίησης. Με αυτό τον τρόπο θα επιτευχθεί απομάκρυνση αμμωνιακού αζώτου χωρίς την απομάκρυνση BOD, το οποίο θα παραμένει για να χρησιμοποιηθεί κατάντη, στη διεργασία της απονιτροποίησης.

Ο συνολικός ρυθμός μιας βιοχημικής αντίδρασης (σε σταθερές συνθήκες περιβάλλοντος) εξαρτάται από δύο παράγοντες: την ταχύτητα της αντίδρασης και την συγκέντρωση των μικροοργανισμών. Καθότι ο πρώτος από τους παρααναφερόμενους παράγοντες είναι δεδομένος για συγκεκριμένους μικροοργανισμούς, αυτό που μπορεί να επηρεάσει τον συνολικό ρυθμό αντίδρασης είναι η συγκέντρωση των μικροοργανισμών, η οποία μπορεί να επιτευχθεί με χρήση συστημάτων ακινητοποιημένης ή κατακρατούμενης βιομάζας.

Για να επιτευχθεί νιτροποίηση χωρίς ταυτόχρονη οξείδωση του BOD θα πρέπει στον χώρο της αντίδρασης να υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση νιτροποιητών και μικρή (η καθόλου) παρουσία ετερότροφων μικροοργανισμών. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί εάν αυξηθεί η συγκέντρωση νιτροποιητών με χρήση τεχνικών ακινητοποίησης και παράλληλη αύξηση της παροχής, ώστε ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στον αντιδραστήρα να είναι μικρότερος από το χρόνο διπλασιασμού των ετερότροφων μικροοργανισμών. Με αυτό τον τρόπο, οι τελευταίοι δε θα είναι σε θέση να αναπαραχθούν με αποτέλεσμα την απομάκρυνσή τους από το σύστημα (Bryers, 1984, Gikas and Livingston, 2006).

Στα πειράματά μας ένα μίγμα από *Nitrosomonas* και *Nitrobacter windradskyi* (νιτροποιητικά βακτήρια) καθώς και *Paracoccus denitrificans* ή *Pseudomonas fluorescens* (απονιτροποιητικά βακτήρια) έχουν ενθυλακωθεί σε γέλη πολυβινυλικής αλκοόλης (PVA gel) (Εικόνα 1). Οι βιοκαταλύτες Lentikats περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μικροοργανισμών οι οποίοι είναι εγκλωβισμένοι στο PVA gel. Το εσωτερικό του βιοκαταλύτη αποτελείται από θύλακες στις οποίες οι μικροοργανισμοί δημιουργούν συσσωματώματα όταν πολλαπλασιάζονται. Μετά την πλήρωση των θυλάκων από μικροοργανισμούς, κάποιοι από αυτούς πεθαίνουν αφήνοντας με αυτό τον τρόπο χώρο στις κυψέλες για τον πολλαπλασιασμό νέων κυττάρων. Οι ενθυλακωμένοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται όμοια με τον τρόπο που θα αναπτύσσονταν αν ζούσαν στο ανάμεικτο υγρό. Το σχήμα του βιοκαταλύτη Lentikats είναι μοναδικό, εφόσον λόγω του μικρού πάχους των δισκίων (200-400 μm) επικρατεί αυξημένος ρυθμός διάχυσης, ενώ λόγω της σχετικά μεγάλης διαμέτρου των δισκίων (3-4 mm) αυτά μπορούν εύκολα να κατακρατηθούν εντός του βιοαντιδραστήρα (Vorlop and Jekel, 2000, Schlieker et al., 2006).



Εικόνα 1: Βιοκαταλύτης Lentikats (Bouskova et al., 2011)

Αρχικά χρησιμοποιήθηκε συνθετικό απόβλητο, ώστε να εξεταστεί η συμπεριφορά των νιτροποιητικών και απονιτροποιητικών βιοκαταλυτών Lentikats χωρίς την παρουσία ετεροτροφικών μικροοργανισμών. Στη συνέχεια, εξετάστηκε η συμπεριφορά των παραπάνω συστημάτων χρησιμοποιώντας αστικό απόβλητο που έχει συλλεχθεί από το κανάλι μετά την πρωτοβάθμια καθίζηση (πριν τη δεξαμενή αερισμού) από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Χανίων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΑΖΩΤΟΥ

2.1 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ

2.1.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

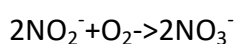
Νιτροποίηση είναι η βιολογική διεργασία μετατροπής του αμμωνιακού αζώτου ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), σε νιτρικά ($\text{NO}_3^-\text{-N}$). Είναι μία αυτοτροφική διεργασία, κατά την οποία η ενέργεια που απαιτείται από τους μικροοργανισμούς που την πραγματοποιούν λαμβάνεται από την οξείδωση ανόργανων ενώσεων του αζώτου, ενώ για την σύνθεση νέας κυτταρικής μάζας χρησιμοποιείται ανόργανος άνθρακας (Painter, 1970, E.P.A, 1975).

Η νιτροποίηση πραγματοποιείται σε δύο στάδια, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:

1ο στάδιο:



2ο στάδιο:



Στο πρώτο στάδιο η αμμωνία οξειδώνεται σε νιτρώδη (νιτρωδοποίηση) από νιτροδωποιητικούς μικροοργανισμούς. Οι τελευταίοι ανήκουν στα γένη *Nitrosomonas* (*N. europaea* και *N. monocella*) και *Nitrosococcus*, ενώ από το έδαφος έχουν απομονωθεί και άλλα είδη όπως τα *Nitrosolobulus* και *Nitrospira* (Painter, 1970). Σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων συνήθως εντοπίζονται μικροοργανισμοί που ανήκουν στο γένος *Nitrosomonas* και ιδιαίτερα το είδος *N. europaea*.

Στο δεύτερο στάδιο, πραγματοποιείται η μετατροπή των νιτρωδών σε νιτρικά ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) κυρίως από είδη που ανήκουν στα γένη *Nitrobacter* (*N. agilis* και *N. winogradskyi*) και *Nitrocystis*, αν και έχουν απομονωθεί και τα θαλάσσια είδη *Nitrosococcus mobilis* και *Nitrospira gracilis*. Το γένος *Nitrobacter* έχει μελετηθεί ευρύτατα και ο όρος χρησιμοποιείται για να υποδηλώσει γενικά τους μικροοργανισμούς που οξειδώνουν τα νιτρώδη (Metcalf and Eddy, 1991).

Ακόμα, η διεργασία της νιτροποίησης μπορεί να διεξαχθεί και από διάφορα ετεροτροφικά είδη βακτηρίων, μυκήτων και ακτινομυκήτων. Τα πιο συχνά εμφανιζόμενα μικροβιακά είδη είναι αυτά των *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nocardia* και *Streptomyces*. Η ετεροτροφική νιτροποίηση είναι πιο έντονη σε περιβάλλον με πολύ αλκαλικές ή πολύ όξινες συνθήκες, όμως οι ρυθμοί της είναι 10 φορές μικρότεροι από αυτούς της αυτοτροφικής νιτροποίησης (Painter, 1970, Focht-Chang, 1975).

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται τα αυτρότροφα νιτροποιητικά βακτήρια, τα χαρακτηριστικά τους αλλά και το περιβάλλον που παρατηρούνται.

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά των νιτροποιητικών βακτηρίων (Madigan, 1997)

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΓΕΝΟΣ	ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ
Νιτρωδοποιητές		
Ραβδοειδή, κινητά ή ακίνητα συστήματα, συστήματα μεμβρανών	Nitrosomonas	Έδαφος, Θάλασσα, Διεργασίες Επεξεργασίες Αποβλήτων, Νερό
Κόκκοι, κινητά, συστήματα μεμβρανών	Nitrosococcus	Νερό, Θάλασσα
Σπειροειδή, κινητά, όχι εμφανή συστήματα μεμβρανών	Nitrospira	Έδαφος
Πλειόμορφα, κινητά	Nitrosolobus	Έδαφος
Καμπυλόμορφα	Nitrosovibrio	Έδαφος
Νιτρικοποιητές		
Μικρά ραβδοειδή, κινητά, συστήματα μεμβρανών	Nitrobacter	Έδαφος, Θάλασσα, Νερό
Μεγάλα ραβδοειδή, ακίνητα, όχι εμφανή συστήματα μεμβρανών	Nitrospina	Θάλασσα
Κόκκοι, κινητά, συστήματα μεμβρανών	Nitrococcus	Θάλασσα
Ελικοειδή, ακίνητα, όχι εμφανή συστήματα μεμβρανών	Nitrospira	Θάλασσα

Μεταξύ των ειδών των νιτρωδοποιητών και των νιτρικοποιητών παρατηρούνται σημαντικές διαφορές ως προς τη μορφολογία και το μέγεθός τους, την κυτταρική τους μεμβράνη καθώς και στον τρόπο που κινούνται και αναπαράγονται. Όσον αφορά τις ομοιότητές τους, είναι και τα δύο Gram – αρνητικά βακτήρια και δεν παρουσιάζουν ενδοσπόρια.

Τόσο το *Nitrosomonas* όσο και το *Nitrobacter*, είναι αερόβια βακτήρια, και άρα απαιτείται παρουσία οξυγόνου για την ανάπτυξη τους, χρησιμοποιώντας ως τροφή τις αντίστοιχες μορφές αζώτου (NH_4^+-N και NO_2-N), επιτυγχάνοντας με αυτό τον τρόπο την οξείδωση της αμμωνίας αρχικά σε νιτρώδη και στη συνέχεια σε νιτρικά. Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα θεωρείται η συμπεριφορά των τελευταίων κάτω από συνθήκες έλλειψης οξυγόνου, εφόσον η απουσία οξυγόνου για μακρές περιόδους δεν οδηγεί στον θάνατο τους αλλά σε παρεμπόδιση του ρυθμού ανάπτυξής τους. Επιπλέον, κατά την απουσία τροφής, η πτώση του ρυθμού αναπνοής είναι βραδύτερη κάτω από αναερόβιες συνθήκες σε σύγκριση με την αντίστοιχη κάτω από αερόβιες συνθήκες (Painter, 1970). Το *Nitrobacter* έχει την δυνατότητα, κάτω από συνθήκες απουσίας οξυγόνου, να ανάγει τα νιτρικά προς νιτρώδη σύμφωνα με μία αντίδραση που είναι η αντίστροφη αυτής που παρουσιάζεται στο 2^ο στάδιο νιτροποίησης, ενώ και στο *Nitrosomonas* έχει εντοπιστεί ένζυμο ικανό να δρα ως καταλύτης της αναγωγής των νιτρωδών κάτω από την παρουσία υδροξυλαμίνης (Sharma and Ahlert, 1977). Κάτω από αναερόβιες επίσης συνθήκες, έχει

αναφερθεί μετατροπή ενός από τα ενδιάμεσα προϊόντα μεταξύ υδροξυλαμίνης και νιτρωδών, σε μονοξείδιο του αζώτου, χωρίς την δράση ενζύμων.

Η Νιτροσομονάδα είναι υποχρεωτικά αυτοτροφικός μικροοργανισμός, ενώ για το Νιτροβακτηρίδιο χρησιμοποιείται ο όρος επαμφοτερίζων αυτοτροφικός για να υποδηλώσει ότι η ανάπτυξη με βάση οργανικό άνθρακα, αν και βραδύτερη σε σύγκριση με αυτήν με βάση ανόργανο άνθρακα, είναι ωστόσο δυνατή. Εκτός από τους αυτοτροφικούς νιτροποιητικούς μικροοργανισμούς, ικανοί να παράγουν οξειδωμένες μορφές αζώτου, είναι και αρκετοί ετεροτροφικοί μικροοργανισμοί (Sharma and Ahlert, 1977, Wong-Chong and Loehr, 1978).

2.1.2 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Όσον αφορά τις κινητικές της νιτροποίησης (κινητικές ανάπτυξης των νιτροποιητικών μικροοργανισμών), έχουν χρησιμοποιηθεί εξισώσεις μηδενικής και πρώτης τάξης, όμως η ευρύτερα υιοθετούμενη προσέγγιση της περιγράφεται από τη σχέση Monod όπως εφαρμόζεται και για τους ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς (Εξίσωση 1) (Metcalf and Eddy, 1991).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \quad (1)$$

όπου :

μ = ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών (T^{-1}),

μ_{max} = μέγιστος ειδικός, ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών (T^{-1}),

S = συγκέντρωση περιοριστικού παράγοντα (τροφής) στην υγρή φάση ($M.L^{-3}$) και

K_s = σταθερά κορεσμού για τον περιοριστικό παράγοντα ($M.L^{-3}$).

Έτσι, για την περιγραφή του ρυθμού ανάπτυξης της Νιτροσομονάδας και του Νιτροβακτηριδίου χρησιμοποιούνται αντίστοιχα οι Εξισώσεις 2 και 3, εφόσον η ανάπτυξη του *Nitrosomonas* και *Nitrobacter* περιορίζεται από τη συγκέντρωση αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου αντίστοιχα :

$$\mu_{NS} = \mu_{max,NS} \frac{NH_4^+ - N}{K_{NS} + NH_4^+ - N} \quad (2)$$

$$\mu_{NB} = \mu_{max,NB} \frac{NO_2^- - N}{K_{NB} + NO_2^- - N} \quad (3)$$

όπου οι δείκτες NS και NB αναφέρονται αντίστοιχα στην Νιτροσομονάδα και το Νίτρο βακτηρίδιο.

Ο ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος προκύπτει ως εξής:

$$U = \frac{\mu}{Y} \quad (4)$$

όπου :

U = ειδικός ρυθμός κατανάλωσης τροφής (T^{-1}),

Y = συντελεστής απόδοσης ($M.M^{-1}$).

Ο χρόνος παραμονής ιλύος, που αποτελεί την κρίσιμότερη παράμετρο σχεδιασμού σε ένα σύστημα νιτροποίησης, ορίζεται ως ο λόγος της ολικής βιομάζας στο υπό εξέταση σύστημα, προς την ποσότητα της βιομάζας που απομακρύνεται από το σύστημα καθημερινά

$$\frac{1}{\theta_c} = \frac{\mu_{max}}{b_N} \quad (5)$$

όπου :

θ_c = χρόνος παραμονής ιλύος (Τ),

b_N = συντελεστής φθοράς των νιτροποιητών (T^{-1}).

Για να είναι επομένως δυνατή η ανάπτυξη των νιτροποιητών, είναι αναγκαίο ο εφαρμοζόμενος χρόνος παραμονής ιλύος να είναι όχι μικρότερος από την τιμή που προκύπτει από την Εξίσωση 5.

2.1.3 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

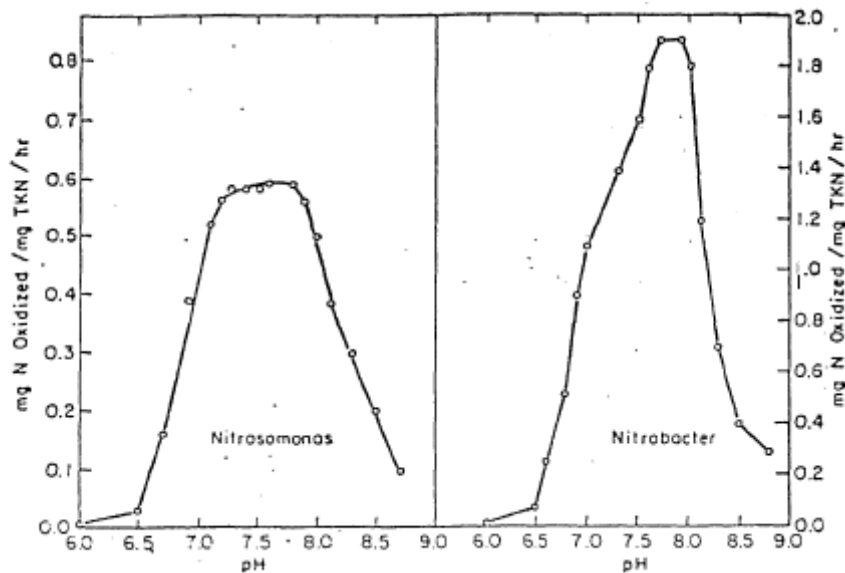
Η νιτροποίηση επηρεάζεται από έναν αριθμό περιβαλλοντικών παραγόντων οι οποίοι περιλαμβάνουν το pH, το διαλυμένο οξυγόνο, τη θερμοκρασία και τις αναχαιτιστικές ουσίες.

➤ Συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου (pH)

Η επίδραση του pH στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης των ετεροτροφικών μικροοργανισμών αλλά και στο ρυθμό νιτροποίησης είναι αρκετά σημαντική. Ο ρυθμός νιτροποίησης σε pH μεταξύ 6 με 8 δεν παρουσιάζει ιδιαίτερες μεταβολές. Καθώς το pH κινείται σε όξινες περιοχές ο ρυθμός νιτροποίησης μειώνεται σημαντικά. Σύμφωνα με τους Antoniou *et al.* (1990), ο ρυθμός νιτροποίησης στους 20 °C είναι 84% μικρότερος σε pH 6.9 από αυτόν στους 7.9. Αντίθετα, στα αντίστοιχα pH αλλά σε θερμοκρασία 15°C ο ρυθμός νιτροποίησης είναι 42% μικρότερος. Επίσης, σύμφωνα με τους Poduska και Andrews (1975), όταν το pH μεταβάλλεται από 7.2 σε 5.8 ο ρυθμός νιτροποίησης μειώθηκε σημαντικά σε αντίθεση με την περίπτωση μεταβολής του pH από 7.2 σε 6.4. Η επαναφορά του pH στους 7.2 οδήγησε σε ραγδαία βελτίωση, υποδηλώνοντας ότι η χαμηλή τιμή του pH free ammonia ήταν απλά παρεμποδιστική και όχι τοξική για τα νιτροποιητικά βακτήρια.

Αντίθετα, κατά την πραγματοποίηση της νιτροποίησης δύο γεγονότα οδηγούν στην ανάγκη θεώρησης της επίδρασης του pH. Το πρώτο προκύπτει με το ότι η νιτροποίηση προκαλεί μια σημαντική κατανάλωση αλκαλικότητας, δημιουργώντας έτσι την δυνατότητα για μια δραστική μείωση του pH, άρα πιθανότατα και την ανάγκη προσθήκης χημικών λ.χ. ασβέστη (Bailey *et al.*, 1983), για τον έλεγχο του. Το δεύτερο είναι ότι οι νιτροποιητές παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία στο pH.

Από το Σχήμα 1, φαίνεται ότι η βέλτιστη τιμή του pH κυμαίνεται μεταξύ 7.5 με 8 (Grady and Limm, 1980).



Σχήμα 1: Επίδραση του pH στη δραστηριότητα των νιτροποιητών, σε εμπλουτισμένες καλλιέργειες (Grady and Lim, 1980)

Για την απεικόνιση της επίδρασης του pH στον ρυθμό ανάπτυξης της νιτροσομονάδας, οι Downing et al., (Downing et al., 1964), πρότειναν για την περιοχή του pH = 6.0 έως 7.2 την έκφραση (Εξίσωση 6):

$$\mu = \mu_{max} * [1 - 0.833 * (7.2 - pH)] \quad (6)$$

όπου μ_{max} = ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης που λαμβάνεται σταθερός μεταξύ pH 7.2 και 8.0, ενώ καθώς η νιτροποίηση τείνει να ταπεινώνει το pH, τιμές μεγαλύτερες από pH = 8.0, δεν εξετάστηκαν.

➤ Διαλυμένο οξυγόνο (DO)

Κατά τη διεργασία της νιτροποίησης η παρουσία του οξυγόνου είναι απολύτως απαραίτητη και καθοριστική για την ανάπτυξη τόσο της νιτροσομονάδας όσο και του νιτροβακτηριδίου. Ο ρυθμός νιτροποίησης επηρεάζεται απόλυτα από τη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στην ενεργό ιλύ, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνεται σε συγκεντρώσεις διαλυμένου αζώτου μεταξύ 3 και 4 mg/L. Στην Εξίσωση 7 παρουσιάζεται ο ρυθμός νιτροποίησης υπό την επίδραση διαλυμένου οξυγόνου σε χαμηλές συγκεντρώσεις φορτίσεων.

$$\mu_n = \mu_{n,max} \left(\frac{N}{K_n + N} \right) \left(\frac{DO}{K_o + DO} \right) \quad (7)$$

Όπου: DO = συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου (mg/L)

K_o = σταθερά ημικορεσμού για το κορεσμένο οξυγόνο (mg/L)

Στους Πίνακες 2, 3, 4 και 5 παρουσιάζονται βιβλιογραφικά δεδομένα αφορούν κινητικές σταθερές σε διεργασίες ενεργού ιλύος για το *Nitrosomonas* και το *Nitrobacter*.

Πίνακας 2: Βιβλιογραφικά δεδομένα κινητικών σταθερών σε διεργασίες ενεργού ιλύος για το *Nitrosomonas*

ΑΝΑΦΟΡΑ	$\mu_{n,max}$ (d ⁻¹)	Y (mg VSS / mg NH ₃ -N)	K _n (mg/L)
Melamend et al. (1970)	0.17		0.37
Knowles et al. (1965)			0.2 - 1.7
Stratton & McCarty (1967)			1.25 - 5.59
Painter(1970)			10
Yantarasri (1989)	0.5055	0.15	0.16
Barners & Bliss (1983)	0.46 - 2.2		0.06 - 5.6
Saxton & Brune (1985)	0.525		0.5
Loehr et al. (1973)	0.71		
Keen & Prosser (1987)	0.036 - 2.2		
Bakti (1988)	1.5		
McCarty (1974)		0.265	
Lawrence & McCarty (1970)	0.33	0.05	1.0
Poduska & Andrews (1974)	1.08	0.05	0.063
Harleman (1978)	1.2	0.05	0.6
Williamson & McCarty (1974)	0.24		

Πίνακας 3: Βιβλιογραφικά δεδομένα κινητικών σταθερών σε διεργασίες ενεργού ιλύος για το *Nitrobacter*

ΑΝΑΦΟΡΑ	$\mu_{n,max}$ (d ⁻¹)	Y (mg VSS / mg NH ₃ -N)	K _n (mg/L)
Melamend et al. (1970)			0.25
Knowles et al. (1965)			0.18 - 0.25
Stratton & McCarty (1967)			1.25 - 5.59
Painter(1970)			5.0 - 8.4
Yantarasri (1989)	0.2046	0.15	0.027
Barners & Bliss (1983)	0.20 - 1.44		0.06 - 8.4
Bakti (1988)	6.41		
McCarty (1974)		0.077	
Lawrence & McCarty (1970)	0.14	0.02	2.1
Poduska & Andrews (1974)	1.44	0.02	0.16
Harleman (1978)	1.8	0.02	1.7

Πίνακας 4: Βιβλιογραφικά δεδομένα για το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και τη σταθερά κορεσμού του *Nitrosomonas* σε διαφορετικές θερμοκρασίες και περιβάλλοντα

ΑΝΑΦΟΡΑ	ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	$\mu_{n,max}$ (d ⁻¹) στη συγκεκριμένη θερμοκρασία, °C								
		8	12	15	16	20	21	23	25	30
Gujer & Jenkins (1974)	Ενεργός ιλύς		0.40				0.85			
Gujer & Jenkins μαθηματικό μοντέλο (1974)	Ενεργός ιλύς		0.34				0.65			
Wuhman (1968)	Ενεργός ιλύς				0.57					
Melamed et al. (1970)	Ενεργός ιλύς								0.17	
Balakrishnan & Eckenfeinder (1969)	Ενεργός ιλύς							0.37		
Loehr et al. (1973)	Ενεργός ιλύς					0.71				
Lawrence & McCarty (1970)	Ενεργός ιλύς			0.21		0.48			0.55	
Poduska & Andrews (1974)	Ενεργός ιλύς							1.08		
Lawrence & Brown (1973)	Ενεργός ιλύς	0.25				0.5				
		$K_{n,max}$ (mg N/L) στη συγκεκριμένη θερμοκρασία, °C								
Melamed et al. (1970)	Ενεργός ιλύς								0.37	
Stratton & McCarty (1967)	Γλυκό νερό			2.8		3.6			3.4	
Hoffman & Lees (1953)	Καλλιέργειες									10
Haug & McCarty (1971)	Καλλιέργειες			0.5 - 1.0		0.5 - 1.0				
Ulken (1963)	Καλλιέργειες								3.5	
Loveless & Painter (1968)	Καλλιέργειες					1.0				
Williamson & McCarty (1974)	Καλλιέργειες					0.5				

Πίνακας 5: Βιβλιογραφικά δεδομένα για το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και τη σταθερά κορεσμού του *Nitrobacter* σε διαφορετικές θερμοκρασίες και περιβάλλοντα

ΑΝΑΦΟΡΑ	ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	$\mu_{n,max}$ (d ⁻¹) στη συγκεκριμένη θερμοκρασία, °C							
		15	20	21	23	25	28	30	32
Stratton & McCarty (1967)	Γλυκό νερό	0.28		0.34		0.53			
Lawrence & McCarty (1970)	Γλυκό νερό								
Poduska & Andrews (1974)	Ενεργός ιλύς				1.44				
		$K_{n,max}$ (mg N/L) στη συγκεκριμένη θερμοκρασία, °C							
Melamed et al. (1970)	Ενεργός ιλύς	0.7	1.1			0.25			
Stratton & McCarty (1967)	Γλυκό νερό					0.7			
Lawrence & McCarty (1970)	Γλυκό νερό								
Gould & Lees (1960)	Καλλιέργειες						5		
Ulken (1963)	Καλλιέργειες					5			
Lees & Simpson (1957)	Καλλιέργειες							6	8.4
Laudelot & van Tichelen (1960)	Καλλιέργειες								
Williamson & McCarty (1974)	Καλλιέργειες		0.07						

Όπως φαίνεται, η σταθερά κορεσμού κυμαίνεται σε αρκετά ευρύ φάσμα τιμών, γεγονός που υποδηλώνει μια σχετική αβεβαιότητα όσον αφορά τις αναμενόμενες τιμές της σταθεράς κάτω από οποιεσδήποτε συνθήκες. Επίσης, παρατηρείται μια αρκετά μεγάλη διαφορά μεταξύ των σταθερών κορεσμού του *Nitrosomonas* από του *Nitrobacter*. Σύμφωνα με τους Loveless & Painter(1968), Peeters et al. (1969) και Laudelout et al. (1974) οι σταθερές κορεσμού για το *Nitrosomonas* είναι ίσες με 0.3, 0.25 και 0.50 αντίστοιχα. Σύμφωνα με τους Peeters et al. (1969) και Laudelout et al. (1974), οι σταθερές κορεσμού για το *Nitrobacter* είναι ίσες με 1.84, και 0.72 αντίστοιχα.

➤ Θερμοκρασία

Η επίδραση της θερμοκρασίας στη διεργασία της νιτροποίησης παρουσιάζεται καταλυτική (Grady and Lim, 1980) τόσο στους ρυθμούς ανάπτυξης των νιτροποιητών όσο και στις αντίστοιχες σταθερές κορεσμού. Ως βέλτιστη θερμοκρασία προτείνεται αυτή στους 30 °C ενώ σε συνθήκες θερμοφιλικών θερμοκρασιών, -από 50 έως 60 °C-, νιτροποιητικές διεργασίες δεν μπορούν να

πραγματοποιηθούν λόγω της απενεργοποίησης των κυτταρικών πρωτεϊνών (Henze et al., 1995b). Η απόκριση των νιτροποιητών στις μεταβολές της θερμοκρασίας, έχει βρεθεί ότι ακολουθεί περίπου μια εξίσωση Arrhenius (Focht and Chang, 1975 ; Knowles et al., 1965 ; Whong-Chong and Loeher, 1975, 1978 ; Bridle et al., 1979 ; Hall and Murphy, 1985; Quinlan, 1986) του τύπου (Εξίσωση 8):

$$\mu_{max,T} = \mu_{max,15} * \exp[K * (T - 15)] \quad (8)$$

όπου : $\mu_{max,T}$

$\mu_{max,T}$ και $\mu_{max,15} = \mu_{max,15}$ = ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των νιτροποιητών σε θερμοκρασίες T και 15 °C (d⁻¹)

K = η σταθερά θερμοκρασίας (°C⁻¹).

Μια εναλλακτική μέθοδος για την έκφραση της επίδρασης της θερμοκρασίας, είναι μέσω του καθορισμού του λόγου των ρυθμών ανάπτυξης για μια αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10,°C (Q₁₀) σύμφωνα με την Εξίσωση 9:

$$Q_{10} = \left(\frac{\mu_{max,(T+10)}}{\mu_{max,T}} \right) \quad (9)$$

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζεται η εξάρτηση του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης από τη θερμοκρασία.

Πίνακας 6: Εξάρτηση του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης από τη θερμοκρασία (Randall et al. 1992)

ΠΗΓΗ	ΣΧΕΣΗ $\mu_{n,max}$ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ T (°C)	$\mu_{n,max}$ (d ⁻¹)		
		10 (°C)	15 (°C)	20 (°C)
Downling (1964a)	$(0.47)e^{0.098(T-150)}$	0.29	0.47	0.77
Downling (1964b)	$(0.18)e^{0.116(T-15)}$	0.10	0.18	0.32
Hultman (1971)	$(0.50)10^{0.033(T-20)}$	0.23	0.34	0.50
Barnard (1975)	$0.33(1.127)^{(T-20)}$	0.10	0.18	0.37
Paiteir (1983)	$(0.18)e^{0.0729(T-15)}$	0.12	0.18	0.26

Οι Knowles et al. (1965) προτείνουν την Εξίσωση 10 για τον υπολογισμό της σταθεράς ημικορεσμού από τη θερμοκρασία.

$$K_n = 10^{0.051T-1.147} \quad (10)$$

Με σκοπό την χρήση τους κατά τον σχεδιασμό και την λειτουργία εγκαταστάσεων, παρουσιάζονται στο εγχειρίδιο Nutrient Control (W.P.C.F., 1983) συντηρητικές εκτιμήσεις του

μέγιστου ειδικού ρυθμού ανάπτυξης της νιτροσομονάδας σε τρεις θερμοκρασίες, 10, 20 και 30 °C, με βάση σύνοψη βιβλιογραφικών αναφορών αντίστοιχου εγχειριδίου της Ε.Ρ.Α. (1975). Αυτές οι εκτιμήσεις είναι $\mu = 0.30, 0.65$ και 1.2 d^{-1} αντίστοιχα, ενώ για θερμοκρασίες στα ενδιάμεσα διαστήματα προτείνεται η υιοθέτηση τιμών όπως αυτές προκύπτουν από γραμμική παρεμβολή.

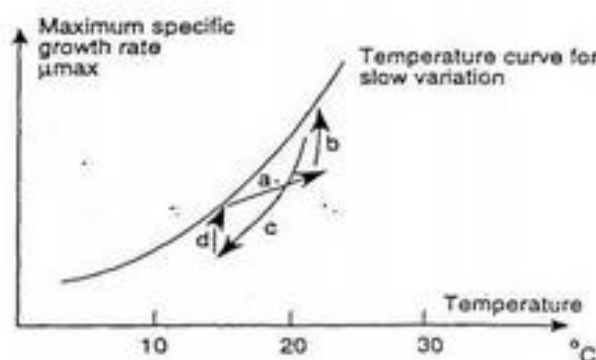
Όσον αφορά τις σταθερές κορεσμού για την νιτροσομονάδα και το νιτροβακτηρίδιο, τόσο σχετικά με την τροφή, αμμωνιακά και νιτρώδη, όσο και σχετικά με το οξυγόνο, έχει βρεθεί (Knowles et al., 1965 Painter, 1977 ; Sharma and Ahlert, 1977) ότι αυξάνονται με την θερμοκρασία. Οι Knowles et al., πιο συγκεκριμένα, αναφέρουν για την τροφή τις σχέσεις 11 και 12.

$$K_{NS,T} = K_{NS,15} * \exp^{0.118 (T-15)} \text{ για την νιτροσομονάδα (11)}$$

$$K_{NB,T} = K_{NB,15} * \exp^{0.146 (T-15)} \text{ για το νιτροβακτηρίδιο (12)}$$

με $K_{NS,15} = 0.405$ και $K_{NB,15} = 0.625$.

Παρατηρώντας το Σχήμα 2 (Henze et al., 1995b) φαίνεται ότι οι νιτροποιητές είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι σε ξαφνικές μεταβολές της θερμοκρασίας. Όταν η αύξηση είναι ταχεία, λ.χ. μέσα σε διάστημα λίγων ωρών, η αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης είναι χαμηλότερη από την αναμενόμενη, ενώ μια απότομη πτώση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μια πολύ υψηλότερη μείωση της νιτροποιητικής δραστηριότητας, σε σχέση με αυτήν που θα μπορούσε να αναμένεται. Βέβαια καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις η θερμοκρασία μεταβάλλεται σχετικά αργά, λ.χ. εποχιακά, η μακροπρόθεσμη θερμοκρασιακή εξάρτηση έχει πρακτικά την μεγαλύτερη σημασία.



Σχήμα 2: Επίδραση των γρήγορων και αργών μεταβολών της θερμοκρασίας στο ρυθμό ανάπτυξης

➤ Ουσίες παρεμπόδισης

Οι νιτροποιητικοί οργανισμοί είναι ευαίσθητοι σε μια μεγάλη ποικιλία οργανικών και ανόργανων ενώσεων και σε συγκεντρώσεις πολύ χαμηλότερες από εκείνες που θα επηρέαζαν τους αερόβιους ετερότροφους οργανισμούς. Σε πολλές περιπτώσεις, οι ρυθμοί νιτροποίησης παρεμποδίζονται ακόμα και αν τα βακτήρια συνεχίζουν να αυξάνονται και να οξειδώνουν την

αμμωνία και τα νιτρώδη, αλλά με σημαντικά μειωμένους ρυθμούς. Σε μερικές περιπτώσεις, μπορεί να υπάρχει αρκετή τοξικότητα όχι μόνο για την παρεμπόδιση της νιτροποίησης αλλά και για τη θανάτωση των βακτηρίων. Παρόλα αυτά λόγω των πολύπλοκων και σύνθετων διεργασιών σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων θεωρείται αρκετά δύσκολη η επισήμανση τη πηγής τοξικότητας.

Ακόμα μία ουσία παρεμπόδισης για τη διεργασία της νιτροποίησης θεωρείται η παρουσία μετάλλων. Τα μέταλλα επηρεάζουν τους νιτροποιητικούς οργανισμούς με τους Skinner and Walker να έχουν δείξει πλήρη παρεμπόδιση της οξείδωσης της αμμωνίας σε 0,25mg/L νικελίου, 0,25mg/L χρωμίου και 0,10mg/L χαλκού. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικότερα οργανικές ενώσεις στις οποίες οφείλεται η παρεμπόδιση της νιτροποίησης καθώς επίσης και οι συγκεντρώσεις τους.

Πίνακας 7: Οργανικές ενώσεις στις οποίες οφείλεται η παρεμπόδιση της νιτροποίησης

ΕΝΩΣΗ	Συγκέντρωση (mg/L) που προκαλεί περίπου 75% παρεμπόδιση
Αιθανόλη	2000
Χλωροφόρμιο	18
ο – κρεζόλη	12.8
2,3 - δινιτροφαινόλη	460
Αιθανόλη	2400
Υδραζίνη	58
Φαινόλη	5.6
Σκατόλη	7
Θειουρία	0.076
Τριμεθυλαμίνη	118
Θειοακεταμίδιο	0.53
ΕΝΩΣΗ	Συγκέντρωση (mg/L) που προκαλεί περίπου 50% παρεμπόδιση
Ανιλίνη	<1
Π-μεθυλανίνη	<1
Αιθυλενοδιαμίνη	15
Π-νιτροανιλίνη	31
Βενζιδίνη	45
Π-φαινυλαζοανιλίνη	72
Εξαμεθυλενοδιαμίνη	85
Π-νιτροβενζαλδευδη	87
Τραιθυλαμίνη	127
Νινυδρίνη	>100
Βενζοκαΐνη	>100
Βενζυλαμίνη	>100
Ταννικό οξύ	>150
Μοναιθανολαμίνη	>150

Τέλος, παρεμποδιστική δράση εμφανίζουν οι ίδιες μορφές αζώτου, το αμμωνιακό και νιτρικό άζωτο. Σύμφωνα με τους Anthonisen et al. (1976) οι μη ιονισμένες μορφές αμμωνιακού και

νιτρικού αζώτου - ελεύθερη αμμωνία (FA) και το ελεύθερο ή μη ιονισμένο νιτρώδες οξύ (FNA) – παρεμποδίζουν τη νιτροποίηση ανάλογα το pH, το οποίο επηρεάζει την ιονική κατανομή αυτών των ενώσεων. Η επίδραση από την παρεμπόδιση εξαρτάται από την ολική συγκέντρωση των διαφορετικών μορφών του αζώτου, τη θερμοκρασία και το pH. Στους 20 °C και σε pH 7.0, συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου ίσες με 100 mg/L και 20 mg/L, μπορεί να προκαλέσουν έναρξη για την παρεμπόδιση της οξείδωσης της αμμωνίας και των νιτρωδών ,αντίστοιχα, ενώ συγκεντρώσεις NO₂-N στα 280 mg/L μπορεί να προκαλέσουν έναρξη στην παρεμπόδιση της οξείδωσης NO₂-N.

Παρακάτω παρουσιάζονται ο εξισώσεις 13 και 14 για τον προσδιορισμό των FA και FNA:

$$FA = \frac{(TA)(10^{pH})^{\frac{17}{14}}}{\frac{K_b}{K_w} + 10^{pH}} \quad (13)$$

Όπου:

TA = ολική συγκέντρωση αμμωνίας (mg/L)

K_b = σταθερά ιονισμού αμμωνίας

K_w = σταθερά ιονισμού του νερού

$$FNA = \frac{(NO)(\frac{46}{14})}{(K_\alpha)10^{pH}} \quad (14)$$

Όπου:

NO = ολική συγκέντρωση ελεύθερου νιτρώδους οξέος και νιτρώδους αζώτου σαν άζωτο (mg/L)

K_α = σταθερά ιονισμού του νιτρώδους οξέος

Όλες οι σταθερές ιονισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία σύμφωνα με τις σχέσεις 15 και 16 ως εξής:

$$\frac{K_b}{K_w} = e^{6344/(273+T)} \quad (15)$$

$$K_\alpha = e^{(-2300)/(273+T)} \quad (16)$$

2.2 ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ

2.2.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

Ο όρος απονιτροποίηση περιγράφεται ως η διαδικασία κατά την οποία τα νιτρικά ανάγονται σε οξείδια του αζώτου, υποοξείδια του αζώτου (N_2O) και αέριο άζωτο (N_2) (Metcalf and Eddy, 1991).

Έχει αποδειχθεί ότι αρκετά είδη βακτηρίων μπορούν να συμβάλλουν στη διεργασία της απονιτροποίησης, αλλά παρόμοια μικροβιακή ικανότητα δεν έχει βρεθεί στα φύκη και στους μύκητες. Βακτήρια ικανά για απονιτροποίηση κάτω από ανοξικές συνθήκες είναι τόσο ετερότροφοι αλλά και αυτότροφοι μικροοργανισμοί. Τα ετερότροφα βακτήρια χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα διάφορες οργανικές ενώσεις, ενώ τα αυτότροφα χρησιμοποιούν διοξείδιο του άνθρακα ή ανθρακικές ρίζες. Οι μικροοργανισμοί που πραγματοποιούν την απονιτροποίηση ανήκουν στα γένη του Πίνακα 8.

Πίνακας 8: Ετερότροφοι μικροοργανισμοί που συμβάλλουν στη διεργασία της απονιτροποίησης

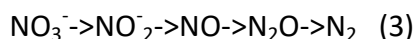
Achromobacter	Corynebacterium
Acinetobacter	Flavobacterium
Agrobacterium	Hypomicrobium
Alcaligenes	Moraxella
Arthrobacter	Neisseria
Bacillus	Paracoccus
Chromobacterium	Propionibacterium
Pseudomonas	Rhizobium
Spirillum	Rhodopsaudomonas
Vibrio	Halobacterium

Το γένος *Pseudomonas* περιλαμβάνει τα πιο γνωστά και πλέον πιο διαδεδομένα απονιτροποιητικά βακτήρια. Ορισμένα είδη δεν χρησιμοποιούν νιτρικό άζωτο αλλά ξεκινούν την απονιτροποίηση από νιτρώδες άζωτο. Τα *Pseudomonas* χρησιμοποιούν μεγάλη ποικιλία οργανικών ενώσεων στην οποία περιλαμβάνονται: μεθανόλη, υδατάνθρακες, οργανικά οξέα, αλκοόλες και αρωματικές ενώσεις.

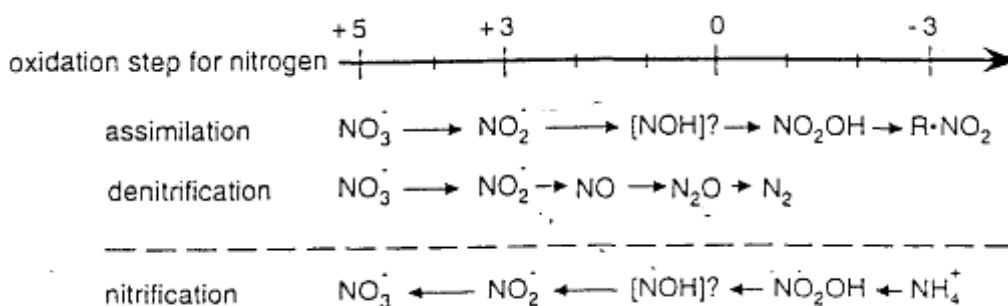
Αν και το βακτήριο *Nitrosomonas europaea* θεωρείται αυτότροφο νιτροποιητικό βακτήριο, όταν δεν υπάρχει διαλυμένο οξυγόνο, μπορεί να χρησιμοποιεί τα νιτρώδη για την οξείδωσή τους, έχοντας ως αποτέλεσμα την παραγωγή αζώτου (Bockel al. , 1995).

Απομάκρυνση αζώτου μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας τους μικροοργανισμούς ANAMMOX, οι οποίοι παρουσιάζονται αναλυτικότερα σε παρακάτω Κεφάλαιο.

Κατά την διεργασία αυτή, τα νιτρικά λειτουργούν ως τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων για την αναπνοή των μικροοργανισμών, κάτω από απουσία οξυγόνου. Η στοιχειομετρική αντίδραση που περιγράφει τη διεργασία της βιολογικής απονιτροποίησης είναι:



Στο Σχήμα 3 παρουσιάζεται η αλληλουχία αντιδράσεων κάτω από την καταλυτική επίδραση ενζύμων. Επίσης φαίνονται τα βήματα αυτής της διεργασίας, ενώ παράλληλα με τον ίδιο τρόπο παρουσιάζονται και οι διεργασίες της αφομοιωτικής μετατροπής των νιτρικών και της νιτροποίησης. Με μια σχετικά απλουστευμένη θεώρηση κατά το πρώτο στάδιο της απονιτροποίησης τα νιτρικά ανάγονται προς νιτρώδη, τα οποία στην συνέχεια ανάγονται προς υποξείδιο και μονοξείδιο του αζώτου και αέριο άζωτο. Αν και σαν τελικό προϊόν μπορεί να απελευθερώνεται οποιαδήποτε από τις τρεις ενώσεις γενικά φαίνεται ότι το αέριο άζωτο είναι το κύριο προϊόν που σχηματίζεται από τις μικροβιακές κοινότητες που αναπτύσσονται στα συστήματα επεξεργασίας.



Σχήμα 3: Διεργασίες βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου (Henze et al., 1995b)

Η ουσιαστική διαφορά μεταξύ της αερόβιας αναπνοής και της απονιτροποίησης, προκύπτει από ένα συγκεκριμένο ένζυμο, την ρεδοκτάση των νιτρικών, που παράγεται κάτω από απουσία οξυγόνου και η οποία ολοκληρώνει την διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων, που απαιτείται για την αναγωγή των νιτρικών. Αυτή η ομοιότητα μεταξύ των δύο διεργασιών, είναι εξάλλου υπεύθυνη και για το γεγονός ότι τα απονιτροποιητικά βακτηρίδια που αναφέρονται παραπάνω, έχουν την δυνατότητα να εναλλάσσουν με ευκολία το οξυγόνο και τα νιτρικά ως αποδέκτες ηλεκτρονίων, κατά την οξείδωση των οργανικών ενώσεων. Για τον λόγο άλλωστε αυτό, χαρακτηρίζονται και ως επαμφοτερίζοντα.

Ενδεχομένως όμως, δεν είναι όλοι οι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε συστήματα ενεργού υλός, ικανοί να απονιτροποιούν. Οι Henze *et al* θεωρώντας δεδομένο ότι ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης οργανικής τροφής κάτω από ανοξικές συνθήκες είναι συχνά μικρότερος από τον αντίστοιχο κάτω από αερόβιες συνθήκες, εκτιμούν ότι αυτό συμβαίνει ή επειδή ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των ετεροτροφικών μικροοργανισμών είναι μικρότερος κάτω από ανοξικές συνθήκες, είτε επειδή μόνον ένα κλάσμα της ετεροτροφικής βιομάζας μπορεί να λειτουργήσει με τα νιτρικά ως τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων.

2.2.2 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Οι περιορισμοί τόσο των νιτρικών όσο και του οργανικού άνθρακα σε ένα σύστημα απονατροποίησης, είναι παρόμοιοι με τους περιορισμούς οξυγόνου και οργανικής τροφής σε ένα αερόβιο σύστημα. Για την περιγραφή τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια σχέση τύπου Monod εκφρασμένη για δύο περιοριστικές ουσίες (Εξίσωση 17) (E.P.A, 1975)

$$\mu_d = \mu_{dn,max} \left(\frac{N}{K_d + N} \right) \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (17)$$

όπου:

μ_d = ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των απονιτροποιητών (d^{-1})

μ_{max} = μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των απονιτροποιητών (d^{-1})

N = συγκέντρωση νιτρικού αζώτου ($mg\ NO_3^- -N /L$)

K_d = σταθερά κορεσμού για το νιτρικό άζωτο

S = συγκέντρωση οργανικού υποστρώματος,

K_s = σταθερά κορεσμού για το οργανικό υπόστρωμα

Σε σύγκριση με την αερόβια διεργασία, η ουσιαστική διαφορά είναι ότι με την απονιτροποίηση, κανονικά σκοπός είναι η επίτευξη χαμηλών συγκεντρώσεων και για τον δότη, αλλά κυρίως για τον αποδέκτη ηλεκτρονίων, ενώ κάτω από αερόβιες συνθήκες, στόχος είναι μόνον ο έλεγχος της οργανικής τροφής, του δότη δηλαδή ηλεκτρονίων.

Ο ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος (NO_3^-) προκύπτει ως το πηλίκο του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης των μικροοργανισμών δια του συντελεστή απόδοσης σύμφωνα με τη Εξίσωση 18:

$$\frac{dN}{dt} = \mu_d * \frac{1}{Y} \quad (18)$$

Η σταθερά κορεσμού για τα νιτρικά είναι χαμηλή με τιμές 0.1 έως 0.2 mg/L (Engberg and Schroeder, 1975) ή 0.2 έως 0.5 mg/L (Stensel *et al*, 1973; Henze and Harremoes, 1977), ενώ για την οργανική τροφή αναφέρονται τιμές από 0.1 (W.P.C.F., 1983), 4 (Grady and Lim, 1980) ή 5 έως 10 mg/L για την μεθανόλη και 10 έως 20 mg/L για την οργανική ύλη σε ανεπεξέργαστα λύματα (Henze *et al.*, 1995b).

2.2.3 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι κυριότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στη διεργασία της απονιτροποίησης είναι η παρουσία του διαλυμένου οξυγόνου (DO), το pH και η θερμοκρασία.

➤ **Διαλυμένο οξυγόνο (DO)**

Καθώς η απονιτροποίηση είναι μία αυστηρά ανοξική διεργασία (Payne, 1973; Knowles, 1982), το οξυγόνο αναχαιτίζει την διεργασία της καταστέλλοντας τη σύνθεση των ενζύμων που είναι απαραίτητα για την αναγωγή των νιτρικών (Grady and Lim, 1980; W.P.C.F., 1983). Επίσης, το διαλυμένο οξυγόνο παρεμποδίζει την δράση των ήδη σχηματισμένων ενζύμων (Dawson and Murphy, 1972).

Οι Grady and Lim (1980) αναφέρουν ότι η επίδραση του οξυγόνου στην δραστηριότητα των ενζύμων, εξαρτάται από τα είδη μικροοργανισμών που συμμετέχουν στην διεργασία. Σε ορισμένα, η ενζυμική δραστηριότητα ελαττώνεται κάτω από την παρουσία οξυγόνου, ενώ σε άλλα όχι. Έτσι, ενδεχομένως η απονιτροποίηση μπορεί να πραγματοποιείται με μειωμένους ρυθμούς κάτω από την παρουσία οξυγόνου, με την προϋπόθεση ότι έχουν προηγηθεί ανοξικές συνθήκες κατά την διάρκεια των οποίων έγινε δυνατή η σύνθεση των απαραίτητων ενζύμων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ότι συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου μεγαλύτερη από 0.2 mg/L παρεμποδίζει την απονιτροποίηση σε καλλιέργειες *Pseudomonas* καθώς και την επεξεργασία αστικών λυμάτων ενεργού ιλύος (Metcalf and Eddy, 1991).

Οι Nakajima *et al.* (1984a,b), έπειτα από πειραματική διερεύνηση διαπίστωσαν ότι ο ρυθμός αναγωγής των νιτρικών μειώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου και αναστέλλεται εντελώς για D.O. > 1.0 mg/L, ενώ αντίθετα η αναγωγή των νιτρικών πραγματοποιείται ακόμη και κάτω από αερόβιες συνθήκες με ρυθμό από 10 έως 60 % του αντίστοιχου κάτω από απουσία οξυγόνου.

Ένας παράγοντας που περιπλέκει τον προσδιορισμό της επίδρασης του οξυγόνου στην απονιτροποίηση σε συστήματα ενεργού ιλύος, είναι η μορφή των κροκίδων στις οποίες συσσωματώνονται οι μικροοργανισμοί. Το ποσοστό της βιομάζας στην κροκίδα που εκτίθεται σε μηδενικό DO ή ανοξικές συνθήκες, θα εξαρτάται από τη συγκέντρωση DO του υγρού μέσου, το μέγεθος της κροκίδας και τις φορτίσεις οργανικών και αμμωνιακού αζώτου που επηρεάζουν τους ρυθμούς αναπνοής οξυγόνου. Όσον αφορά το μέγεθος αυτών των κροκίδων οδηγεί, λόγω περιορισμών στην διάχυση, σε κλίσεις συγκεντρώσεων D.O. και στην πιθανότητα σχηματισμού σημαντικών περιοχών με χαμηλή στάθμη ή απουσία διαλυμένου οξυγόνου, στο εσωτερικό τους. Έτσι ερμηνεύεται και η εμφάνιση απονιτροποίησης, κάτω από φαινομενικά αερόβιες συνθήκες (Kruil, 1976; W.P.C.F., 1983).

Εξετάζοντας πάντως όλους τους παράγοντες που είναι γνωστό ότι σχετίζονται με την σύνθεση και την δραστηριότητα των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την απονιτροποίηση, εκτιμάται (Grady

and Lim, 1980) ότι γενικά για την επίτευξη σταθερά καλής απόδοσης, τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου πρέπει να είναι σχεδόν μηδενικά.

Η σταθερά κορεσμού κυμαίνεται ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες, εξαρτώμενη κυρίως από το μέγεθος των κροκίδων και την ένταση της ανάδευσης. Αναφέρονται τιμές από 0.1 έως 0.5 mg/L (Henze *et al.*, 1995a,b).

➤ **Θερμοκρασία**

Η απονιτροποίηση λαμβάνει χώρα σε ένα ευρύτερο φάσμα θερμοκρασιών από 0 έως 50 °C (Henze and Harremoës, 1977). Τα επίπεδα της θερμοκρασίας στα οποία λειτουργούν οι Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων κυμαίνονται μεταξύ 5 έως 30 °C .

Σε αυτά τα επίπεδα θερμοκρασίας, ο ρυθμός απονιτροποίησης με βάση την επίδραση της θερμοκρασίας ακολουθεί μια συνάρτηση τύπου Arrhenius (Dawson and Murphy, 1972; W.P.C.F., 1983) σύμφωνα με την Εξίσωση 19.

$$r(T) = r(20\text{ }^{\circ}\text{C}) * 1.116^{T-20} \quad (19)$$

όπου $r(T)$ και $r(20\text{ }^{\circ}\text{C})$ ο ρυθμός απονιτροποίησης, g N-NO₃⁻ / (kg VSS* h) στους T°C και 20 °C αντίστοιχα.

Οι τιμές που δίνονται για την αύξηση του ρυθμού της διεργασίας με την θερμοκρασία, κυμαίνονται από 1.5 έως 2.0 ανά 10 °C (E.P.A., 1975), 1.94 έως 2.11 (Lewandowski, 1982), ή 3.3 ανά 10 °C (Timmermans and van Haute, 1983), ενώ η επίδραση είναι εντονότερη για θερμοκρασίες μικρότερες από 15 °C, παρά για μεγαλύτερες (Focht and Chang, 1975).

➤ **Συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου (pH)**

Κατά την απονιτροποίηση παράγεται μια σημαντική ποσότητα αλκαλικότητας, περίπου 3.0 g CaCO₃ ανά g NO₃⁻-N (W.P.C.F., 1983), που είναι σε θέση να ανυψώνει το pH του συστήματος και να αντισταθμίζει σε ένα βαθμό τις απώλειες που προκαλεί η νιτροποίηση.

Παρόλα αυτά δεν έχει αναφερθεί σημαντική επίδραση στο ρυθμό απονιτροποίησης σε pH μεταξύ 7 και 8, ενώ σε pH μεταξύ 6 με 7 παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού απονιτροποίησης (Metcalf and Eddy, 1991).

2.3 ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ANAMMOX

Η απομάκρυνση του αζώτου μπορεί να επιτευχθεί επίσης από ετερότροφα – και αυτότροφα – νιτροποιητικά βακτήρια κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες και από ένα μοναδικό βακτήριο ου σχετίζεται με τη διεργασία ANAMMOX (ANerobic AMMonia Oxidation). Τα ετερότροφα βακτήρια, *Paracoccus pantotrophus*, έχουν μελετηθεί διεξοδικά για ταυτόχρονη οξείδωση της αμμωνίας και αναγωγή των νιτρικών. Η οξείδωση της αμμωνίας από ετερότροφα βακτήρια απαιτεί ενέργεια, η οποία μπορεί να αποκτηθεί από την αναγωγή των νιτρικών ή νιτρικών από το *Paracoccus pantotrophus* κάτω από αερόβιες συνθήκες. Απαιτείται επίσης ένα εύκολα διαθέσιμο υπόστρωμα, όπως τα οξικά άλατα. Λόγω της ανάγκης για υπόστρωμα άνθρακα, του οποίου η παροχή είναι περιοριστική σε αερόβια συστήματα ενεργού ιλύος, αναμένεται μικρή ανάπτυξη των ετερότροφων νιτροποιητών σε αερόβια συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (Metcalf and Eddy, 1991)..

Αυτότροφα νιτροποιητικά βακτήρια, όπως το *Nitrosomonas europaea* μπορούν να χρησιμοποιούν τα νιτρώδη για να οξειδώσουν την αμμωνία, με την παραγωγή αέριου αζώτου, όταν δεν υπάρχει διαλυμένο οξυγόνο. Παρουσία οξυγόνου, αυτά τα βακτήρια μπορούν να οξειδώσουν την αμμωνία με το οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων.

Η διεργασία ANAMMOX παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και παρουσιάζεται παρακάτω:

Τα βακτήρια ANAMMOX είναι η τελευταία κύρια πρόσθεση στον κύκλο του αζώτου λόγω της μοναδικής ιδιότητας τους να οξειδώνουν την αμμωνία σε απουσία οξυγόνου. Τα κύτταρα των βακτηρίων Anammox αποτελούνται από πρωτεΐνες του κυτοχρώματος τύπου c, συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων που εκτελούν τις βασικές καταβολικές αντιδράσεις της διαδικασίας anammox. Η διεργασία ANAMMOX αρχικά βρέθηκε να πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες μόνο από 20°C έως 43°C, αλλά πιο πρόσφατα έχει παρατηρηθεί και σε θερμοκρασίες από 36 °C έως 52 °C (Metcalf and Eddy, 1991).

Σύμφωνα με τη φυλογενετική ανάλυση των βακτηρίων με 16S rRNA, το βακτήριο ανήκει στην τάξη των *Planctomycetes*, οι οποίοι από προκαρυωτική άποψη χαρακτηρίζονται ως εξαιρετικά πολύπλοκα κύτταρα που περιέχουν ενδοκυτταρικά οργανίδια. Σε ANAMMOX βακτήρια, το οργανίδιο που ονομάζεται anammoxosome, περιλαμβάνει το 50-70 % του όγκου του κυττάρου. Οι κυτταρικές μεμβράνες γύρω από το anammoxosome καθώς και τα εξωτερικά μέρη του κυττάρου αποτελούνται από τις δομές των λιπιδίων, που ονομάζονται ladderanes.

Μέχρι στιγμής έχουν απομονωθεί εννέα είδη anammox τα οποία χωρίζονται σε πέντε γένη, που ανήκουν όλα στην ίδια σειρά *Brocadiales*, η οποία αποτελεί μονοφυλετικό κλάδο και είναι μια διακλάδωση των *Planctomycetes*. Τα παραπάνω πέντε γένη βακτηρίων με τα είδη των οποίων έχουν παρατηρηθεί είναι τα εξής:

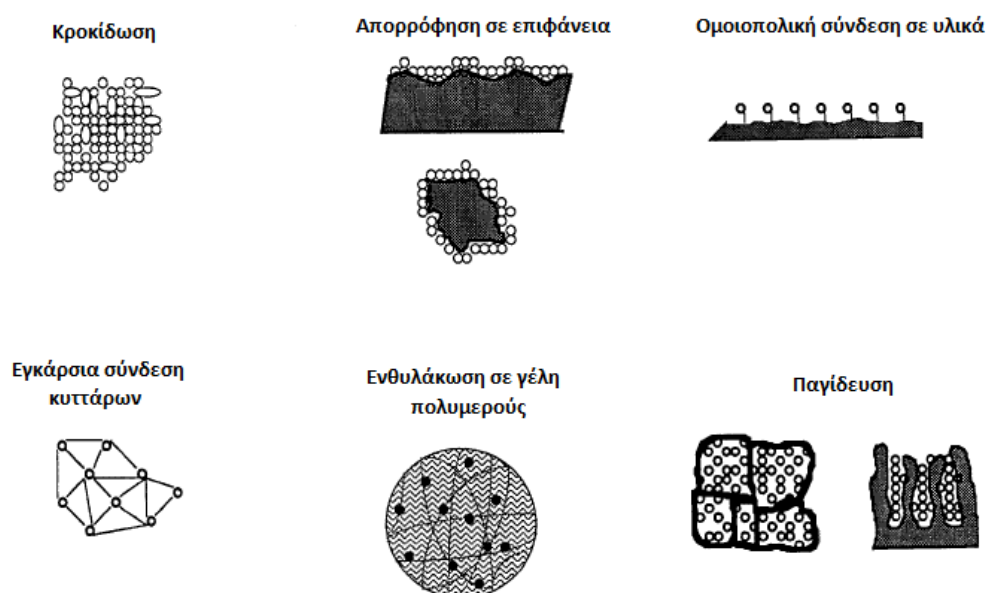
- *Kuenenia* (με το είδος *K. stuttgartiensis*)
- *Brocardia* (με τα είδη *B. anammoxidans*, *B. fulgida*, και *B. sinica*)
- *Anammoxoglobus* (με το είδος *A. propionicus*)
- *Jettenia* (με το είδος *J. asiatica*)
- *Scalindua* (με τα είδη *S. brodae*, *S. sorokinii*, και *A. wagneri*)

Πρόσφατη έρευνα απέδειξε ότι το πράττουν με την ενεργοποίηση της ένωσης σε υδραζίνη, χρησιμοποιώντας την οξειδωτική δύναμη του μονοξειδίου του αζώτου. Το τελευταίο παράγεται από την αναγωγή του νιτρώδους και είναι ο τερματικός δέκτης ηλεκτρονίων κατά τη διαδικασία της οξείδωσης της αμμωνίας. Το σπάσιμο των δεσμών αζώτου οφείλεται στη σύνθεση της υδραζίνης, το οποίο είναι ένα ένζυμο με αρκετή χαμηλή δραστηριότητα που εξηγεί τα αργή ποσοστά ανάπτυξης και τους μεγάλους χρόνους διπλασιασμού των οργανισμών. Η οξείδωση της υδραζίνης οδηγεί στο σχηματισμό του τελικού προϊόντος .

Γενικά, τα βακτήρια ANAMMOX έχουν χαμηλότερη απόδοση ή/και πολύ υψηλότερη δραστηριότητα κυτταρικής συντήρησης σε χαμηλότερη θερμοκρασία (περίπου 12 °C), καθώς επίσης η παρουσία οξυγόνου αναχαιτίζει τη δράση των βακτηρίων ANAMMOX καθώς εδώ έχουμε αναερόβιες διεργασίες και για αναερόβιους μικροοργανισμούς (Metcalf and Eddy, 1991). .

2.4 ΕΝΘΥΛΑΚΩΜΕΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Ο όρος ακινητοποίηση περιγράφει πολλές διαφορετικές μορφές κυτταρικής προσκόλλησης ή παγίδευσης. Αυτές οι μορφές περιλαμβάνουν κροκίδωση, προσρόφηση σε επιφάνειες, ομοιοπολική σύνδεση σε υλικά, εγκάρσια σύνδεση των κυττάρων, ενθυλάκωση σε μία γέλη πολυμερούς καθώς και παγίδευση σε διάφορα υλικά (Εικόνα 2)(Cassidy et al., 1996). Ως ενθυλάκωση θεωρείται η μη αναστρέψιμη ακινητοποίηση των μικροοργανισμών στο εσωτερικό ενός πολυμερούς. Κατά την ενθυλάκωση, οι μικροοργανισμοί περιορίζονται από τα τοιχώματα μεμβράνης η οποία συνήθως βρίσκεται σε μορφή μιας κάψουλας (Martins et al., 2013). Ταυτόχρονα, ενώ οι μικροοργανισμοί έχουν ενθυλακωθεί μπορούν συνήθως να κινούνται ελεύθερα εντός του υλικού (Górecka and Jastrzębska, 2011). Η ίδια η μεμβράνη είναι ημιδιαπερατή, επιτρέποντας την ελεύθερη ροή των υποστρωμάτων και των θρεπτικών υλικών (όταν χρησιμοποιούνται κύτταρα ως μικροοργανισμοί), ενώ ο μικροοργανισμός δεν διαπερνά τις μεμβράνες. Με αυτό τον τρόπο ο βιοκαταλύτης προστατεύεται από τις σκληρές περιβαλλοντικές συνθήκες (Park and Chang, 2000).



Εικόνα 2: Μέθοδοι ακινητοποίησης ζωντανών μικροβιακών κυττάρων (Cassidy et al., 1996)

Ωστόσο, υψηλή κυτταρική συγκέντρωση μπορεί να επιτευχθεί στη μέθοδο της ενθυλάκωσης, αν και οι κάψουλες μπορούν να εξασθενήσουν (Song et al., 2005). Ο περιορισμός της διάχυσης είναι ένα από τα αναπόφευκτα μειονεκτήματα που σχετίζονται με τη μέθοδο της ενθυλάκωσης (Lozinsky και Plieva, 1998).

Έχει αποδειχθεί ότι τα ενθυλακωμένα κύτταρα έχουν πλεονεκτήματα σε σχέση με τα ελεύθερα κύτταρα (Rostron et al., 2001). Όσον αφορά την ενθυλάκωση νιτροποιητικών βακτηρίων, διασφαλίζεται η παραμονή τους στο σύστημα επεξεργασίας καθώς επίσης και η μείωση του όγκου των δεξαμενών στις οποίες είναι τοποθετημένοι, στην περίπτωση που έχει χρησιμοποιηθεί υψηλή κυτταρική συγκέντρωση. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε σχετικά μικρούς αντιδραστήρες και μπορεί να προσφέρει προστασία από τοξικά σοκ και ακατάλληλες θερμοκρασίες προς αυτούς, που θα βοηθούσε στη διατήρηση του χρόνου επεξεργασίας και σε καλύτερους ρυθμούς νιτροποίησης (Rostron et al., 2001).

Σύμφωνα με μελέτη με στόχο την σύγκριση του συστήματος επεξεργασίας αποβλήτων με ενθυλακωμένους και ελεύθερους νιτροποιητές, χρησιμοποιήθηκε μεικτός πληθυσμός μικροοργανισμών για νιτροποίηση αποβλήτων υπό μορφή ελεύθερων κυττάρων αλλά και ενθυλακωμένων κυττάρων σε αλγινικό νάτριο. Σημειώνεται ότι με τη χρήση των ενθυλακωμένων κυττάρων η οξείδωση του αμμωνίου ολοκληρώθηκε σε 5-7 ημέρες, το ήμισυ του χρόνου που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η διαδικασία με τα ελεύθερα κύτταρα. Επιπλέον κατά την επεξεργασία του αποβλήτου χρησιμοποιώντας τα ελεύθερα κύτταρα υπήρχε μια φάση υστέρησης 1 ή 2 ημέρες μέχρι να ξεκινήσει η οξείδωση του αμμωνίου. Αντίθετα, όταν χρησιμοποιήθηκαν οι ενθυλακωμένοι μικροοργανισμοί δεν παρατηρήθηκε καμία φάση υστέρησης (Cassidy et al., 1996).

Για την επεξεργασία λυμάτων, τα υλικά πλήρωσης πρέπει να είναι αδιάλυτα, μη-βιοδιασπώμενα, μη τοξικά, μη ρυπογόνα, ελαφριά, να έχουν ευελιξία στο σχήμα τους, υψηλή μηχανική και χημική σταθερότητα, υψηλή ικανότητα διάχυσης, απλή διαδικασία ακινητοποίησης καθώς και υψηλή κατακράτηση της βιομάζας, ελάχιστη προσκόλληση άλλων οργανισμών και χαμηλό κόστος (Leenen et al, 1996). Επιπλέον κριτήρια επιλογής του υλικού πλήρωσης θεωρούνται τα φυσικά χαρακτηριστικά του (πορώδες, διόγκωση, συμπίεση, το υλικό και η μέση συμπεριφορά των σωματιδίων), καθώς και η δυνατότητα για την ανάπτυξη των μικροβίων σε αυτό. (Górecka και Jastrzębska, 2011).

Τα υλικά ταξινομούνται ως ανόργανα (ζεόλιθος, άργιλος, ανθρακί, πορώδες γυαλί, με ενεργό άνθρακα, και κεραμικά) και οργανικά πολυμερή. Τα ανόργανα υλικά επιλέγονται για την ακινητοποίηση των μικροοργανισμών λόγω της αντίστασης μικροβιακής αποδόμησης και μπορούν να θεωρηθούν ως θερμοσταθερές (Cassidy et al, 1996). Τα οργανικά πολυμερή μπορούν να είναι είτε φυσικά είτε συνθετικά (Cassidy et al., 1996). Αρκετά συνθετικά υλικά (ακρυλαμίδιο, πολυουρεθάνη, πολυβινυλοχλωρίδιο, ρητίνες) καθώς επίσης και φυσικά πολυμερή (αλγινικό, καραγενάνη, άγαρ, αγαρόζη), και χιτοζάνη, μια αμινο πολυσακχαρίτη που προέρχεται από χιτίνη, έχει χρησιμοποιηθεί πειραματικά. Τα πιο συχνά χρησιμοποιημένα φυσικά πολυμερή είναι το αλγινικό και καραγενάνη, παρόλο που τα φυσικά πολυμερή είναι λιγότερο σταθερά κατά τη διάρκεια επεξεργασίας αποβλήτων από τα συνθετικά πολυμερή (Martins et al., 2013).

Η ενθυλάκωση σε πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) έχει αποδειχθεί με επιτυχία, καθώς με η μέθοδος της κατάψυξης είναι απλή τεχνική και ταυτόχρονα δεν περιλαμβάνει έναρξη χρησιμοποιώντας χημικά μέσα.

Παρακάτω παρουσιάζεται ένα παράδειγμα της μεθόδου ενθυλάκωσης νιτροποιητικών βακτηρίων σε PVA gel (Rostron et al., 2001).

-Μέσα ακινητοποίησης

Τα μέσα ακινητοποίησης που επιλέχθηκαν ήταν: Linpor (αφρός πολυουρεθάνης κομμένος σε κύβους $0,6 \times 0,6 \times 0,6$ cm) και Kaldnes (πολυαιθυλένιο σε σχήματα "ζυμαρικών" διαμέτρου 1 cm), δύο εμπορικά σωματίδια προσρόφησης, και ενθυλάκωση σε κύβους PVA ($0,8 \times 0,8 \times 0,8$ cm). Όγκος ενός λίτρου κάθε υλικού ακινητοποίησης προστέθηκε στους αντιδραστήρες (25% πλήρωσης του αντιδραστήρα).

-Παρασκευή των σωματιδίων PVA

Αρχικά προστίθεται σε υδατικό διάλυμα PVA 20% w/v, μια ποσότητα βιομάζας νιτροποίησης ($2,5 \text{ g VSS}^{-1}$), συμπληρώνοντας με αυτό τον τρόπο όγκος ενός λίτρου. Το μίγμα καταψύχεται επί 39 ώρες στους -20°C , ενώ μετά την τήξη του παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου επί 24 ώρες. Έπειτα το μίγμα κόβεται σε κύβους 0.8 cm και πλένεται με νερό πριν από τη χρήση.

Ακόμα, επιλέγοντας την πολυβινυλική αλκοόλη ως υλικό ενθυλάκωσης, επιτυγχάνονται υψηλοί ρυθμοί νιτροποίησης. Ακόμα ένα πλεονέκτημα της ενθυλάκωσης με τη χρήση PVA είναι το γεγονός ότι το υγρό μέσο διαχέεται στο εσωτερικό του υλικού ενώ οι ενθυλακωμένοι μικροοργανισμοί δε μεταφέρονται στο εξωτερικό του. Επιπλέον, τα σωματίδια πολυβινυλικής αλκοόλης είναι συχνά επαναχρησιμοποιήσιμα.

2.5 ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΜΕΝΗ ΒΙΟΜΑΖΑ

Το βακτηριακό βιοφίλμ είναι πανταχού παρόν στο περιβάλλον και μπορεί να παρουσιαστεί σχεδόν σε οποιαδήποτε ενυδατωμένη επιφάνεια. Πολλές από αυτές τις κοινότητες βακτηρίων μπορούν να θεωρηθούν ευεργετικές στην αποικοδόμηση των επικίνδυνων χημικών ουσιών στο έδαφος, σε βιοαντιδραστήρες για την επεξεργασία λυμάτων ή απασέρου, σε γεωργικές χρήσεις της ρίζας οζιδίου βακτηρίων στη ριζόσφαιρα, στην αποικοδόμηση των βιοπολυμερών όπως της κυτταρίνης, και στο διαχωρισμό των σωματιδίων του άνθρακα για να χρησιμοποιηθούν για επεξεργασία αποβλήτων (Rendueles and Ghigo, 2011).

Από την άλλη κάποιες άλλες κοινότητες βακτηρίων – αναφερόμενες ως biofouling - μπορεί να είναι επιζήμιες τόσο για την ανθρώπινη ζωή όσο και στις βιομηχανικές διαδικασίες, προκαλώντας λοίμωξη που σχετίζεται με ιατρικά εμφυτεύματα, περιοδοντίτιδα ή τερηδόνα, μόλυνση των τροφίμων από τον εξοπλισμό επεξεργασίας, ενίσχυση της διαβρώσεως του μετάλλου και σχηματισμό των θαλάσσιων βιοφίλμ σε πλοία. Ιδιαίτερο πρόβλημα biofouling παρουσιάζεται στα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων, και πιο συγκεκριμένα σε συστήματα μεμβρανών διότι τα βακτηριακά κύτταρα συνδέονται με τη μεμβράνη, αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να

παράγουν εξωπολυκυτταρικές ουσίες (EPS), μπλοκάροντας με αυτό τον τρόπο τους πόρους της μεμβράνης (Bos *et al.*, 1999).

Ο μηχανισμός της βακτηριακής ακινητοποίησης κυττάρων σε στέρεες επιφάνειες, μετά από μια αρχική προσκόλληση ελεύθερων κυττάρων πάνω σε μια στερεή επιφάνεια, τα κύτταρα αρχίζουν να αποικίζουν σε όλη την επιφάνεια έχοντας ως αποτέλεσμα το σχηματισμό βιοφίλμ (Gikas, 1996). Σε συνεχή συστήματα, αυτό το φαινόμενο επιταχύνεται όταν οι ρυθμοί αραίωσης του συστήματος είναι υψηλότεροι από το μέγιστο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Η δυναμική καμπύλη ανάπτυξης βιοφίλμ μπορεί να περιγραφεί ως μια σιγμοειδής καμπύλη, όπου παρατηρούνται τρία διαφορετικά στάδια:

1. Αρχική προσκόλληση του κυττάρου πάνω σε στερεό υπόστρωμα
2. Εκθετική ή λογαριθμική κυτταρική συσσώρευση
3. Σταθερή κατάσταση σχηματισμού βιοφίλμ

Στις βιομηχανίες της βιοτεχνολογίας, αντιδραστήρες ακινητοποιημένων μικροοργανισμών προτιμούνται από αυτούς με ελεύθερη αιωρούμενη βιομάζα εξαιτίας της υψηλότερης απόδοσης που προσφέρουν (Gikas, 1996). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι στις περισσότερες εφαρμογές βιοτεχνολογίας, ο κύριος στόχος είναι να αυξήσουν το βαθμό αντίδρασης, το οποίο μπορεί να επιτευχθεί ως εξής:

1. Αυξάνοντας την ογκομετρική δραστηριότητα ή
2. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του προϊόντος στο ρεύμα εξόδου

Τα κύρια πλεονεκτήματα των αντιδραστήρων ακινητοποιημένης βιομάζας από την ελεύθερη αιωρούμενη βιομάζα, τα οποία επιτυγχάνουν τους παραπάνω σκοπούς είναι :

1. Η πιθανότητα να λειτουργούν σε υψηλότερα ποσοστά αραίωσης από το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης μικροοργανισμών, αποφεύγοντας έκπλυσης
2. Η αύξηση της ογκομετρικής δραστηριότητας

Ένα από τα πιο σημαντικά προβλήματα του biofouling εμφανίζεται σε συστήματα βιοαντιδραστήρων μεμβρανών, το οποίο είναι η αρχική προσκόλληση των μικροοργανισμών, δεδομένου ότι η βακτηριακή προσκόλληση είναι ένα απαραίτητο πρώτο βήμα για το σχηματισμό βιοφίλμ. Λόγω της αλληλεπίδρασης των μικροοργανισμών που σχηματίζουν βιοφίλμ στη μεμβράνη, θεωρείται σημαντική η κατανόηση των βακτηριακών αλληλεπιδράσεων (Blanchain-Avet *et al.*, 2011). Οι θεωρίες της βακτηριακής προσκόλλησης που περιγράφονται παρακάτω βασίζονται σε δύο φυσικοχημικές προσεγγίσεις, τη θεωρία Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) και τη θερμοδυναμική προσέγγιση, ενώ στη συνέχεια περιγράφεται η πολυπλοκότητα της διαδικασίας της πραγματικής προσκόλλησης των βακτηρίων. Κάτι τέτοιο θα οδηγήσει τόσο στην πλήρη κατανόηση του τι ακριβώς συμβαίνει στην επιφάνεια της μεμβράνης αλλά και στη βελτίωση της διαδικασίας της διήθησης (Hori and Matsumoto, 2010).

$\Delta G_{adh} = \gamma_{sm} + \gamma_{sl} + \gamma_{ml}$ (20) $\gamma_{sm}, \gamma_{sl}, \gamma_{ml}$ είναι οι διεπιφανειακές ελεύθερες ενέργειες στους στερεό-μικροοργανισμούς, $\Delta G^{adh} = \Delta G^{vdW} + \Delta G^{dl} + \Delta G^{AB}$ (21) ΔG^{vdW} είναι η αλληλεπίδραση

Lifshitz-van der Waals, ΔG^{dl} είναι η ηλεκτρική αλληλεπίδραση διπλής στρώσης ΔG^{AB} αναφέρεται σε αλληλεπιδράσεις οξέος-βάσεως

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS

3.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS

Το Εργαστήριο Σχεδιασμού Περιβαλλοντικών Διεργασιών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος Πολυτεχνείου προμηθεύεται τους βιοκαταλύτες Lentikats από την Τσέχικη εταιρία Lentikats Biotechnologies. Η εταιρία Lentikat's ιδρύθηκε στην Τσεχία το 2006, και κατέχει μια παγκόσμια πατέντα για την ενθυλάκωση μικροοργανισμών σε βιοϋλικά. Σύμφωνα με τη μέθοδο των Lentikat's, είδη μικροοργανισμών ή ένζυμα παγιδεύονται εντός ενός πορώδους φορέα. Η συγκεκριμένη πατέντα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές όπως στη φαρμακευτική βιομηχανία και σε βιομηχανίες επεξεργασίας τροφίμων, σε αποστακτήρια καθώς επίσης και στην επεξεργασία λυμάτων(<http://www.lentikats.eu/en/company>).

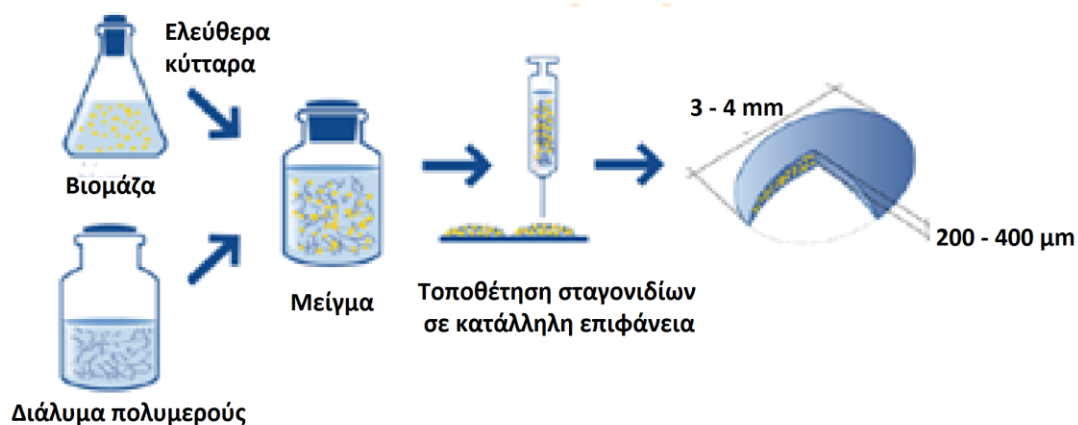
Αναλυτικότερα, όσον αφορά τη φαρμακευτική βιομηχανία και τις βιομηχανίες επεξεργασίας τροφίμων, η εταιρία Lentikats μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή των ευγενών χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται ως δραστικές φαρμακευτικές ουσίες, πρόσθετα, συμπληρώματα, γλυκαντικές ουσίες και άλλα αρωματικά και γευστικά χημικά στη βιομηχανία τροφίμων αλλά και βασικά χημικά προϊόντα και δραστικά συστατικά στη βιομηχανία καλλυντικών (<http://www.lentikats.eu/en/pharmaceutical-food-industry>).

Στον τομέα των αποστακτηρίων, η εταιρία Lentikats έχει αναπτύξει τεχνολογία για την παραγωγή βιοαιθανόλης από ζάχαρη, άμυλο ή λιγνοκυτταρινική πρώτη ύλη που χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς που παράγουν αιθανόλη (μαγιά, βακτήρια) ή ένζυμα ακινητοποιημένα σε πορώδη πολυβινυλική αλλκοόλη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη χρήση αυτής της τεχνολογίας σε διαδικασίες ζύμωσης, είτε για εντατικοποίηση των υφιστάμενων αποστακτηρίων είτε σε νέες εγκαταστάσεις, στις οποίες η παραγόμενη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο ή για άμεση κατανάλωση σε ποτά και αναψυκτικά (<http://www.lentikats.eu/en/distilleries>).

Τέλος, όσον αφορά την επεξεργασία λυμάτων, η βιοτεχνολογία Lentikats χρησιμοποιείται στις διεργασίες της νιτροποίησης και απονιτροποίησης τόσο σε αστικά αλλά και βιομηχανικά απόβλητα (<http://www.lentikats.eu/en/wastewater-treatment>).

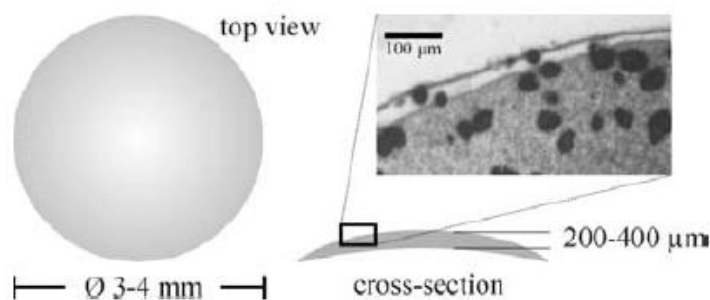
3.2 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΕΝΘΥΛΑΚΩΜΕΝΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Για την παρασκευή των ενθυλακωμένων μικροοργανισμών, το προς πολυμερισμό υλικό αναμιγνύεται με την καλλιέργεια των μικροοργανισμών. Έπειτα σταγόνες από το πιο πάνω υγρό μείγμα τοποθετούνται σε κατάλληλη επιφάνεια. Όταν αυτές οι σταγόνες εκτεθούν στον αέρα αρχίζουν να εξατμίζονται οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο στην ενίσχυση του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Όταν το 70% του διαλύματος πολυμερούς – βιοκαταλύτη απομακρυνθεί παραμένει η γέλη η οποία είναι αρκετά σταθερή και μπορεί να ξαναδιογκωθεί σε ένα σταθεροποιημένο διάλυμα πριν δημιουργηθούν τα τελικά Lentikats (Sievers *et al.*, 2002).



Εικόνα 2: Ενθυλάκωση μικροοργανισμών με τη μέθοδο Lentikats (<http://www.lentikats.eu>)

Με αυτή την διαδικασία σχηματίζονται σωματίδια τα οποία συνδυάζουν τα πλεονεκτήματα των μικρών και των μεγάλων σφαιριδίων. Από τη μια έχουν διάμετρο 3-4mm και μπορούν να διατηρηθούν κατά τη διεργασία της εσχάρωσης και της καθίζηση ενώ από την άλλη έχουν πολύ μικρό πάχος 200-400μm με αποτέλεσμα να μην δημιουργούν περιορισμούς στη διάχυση των ενθυλακωμένων βιοκαταλυτών (Sievers *et al.*, 2002).



Εικόνα 3: Εξωτερική και μικροσκοπική όψη των Βιοκαταλυτών Lentikats (Sievers *et al.*, 2002).

Με δεδομένο ότι τα Lentikats έχουν ως βάση το PVA, οι ιδιότητες τους είναι παρόμοιες με τις ιδιότητες των υδροτζελ από PVA. Κατά συνέπεια κατά την ψύξη τους ενισχύονται οι δεσμοί στη δομή τους και αυξάνεται η σταθερότητα τους (Janch *et al.*, 2002).

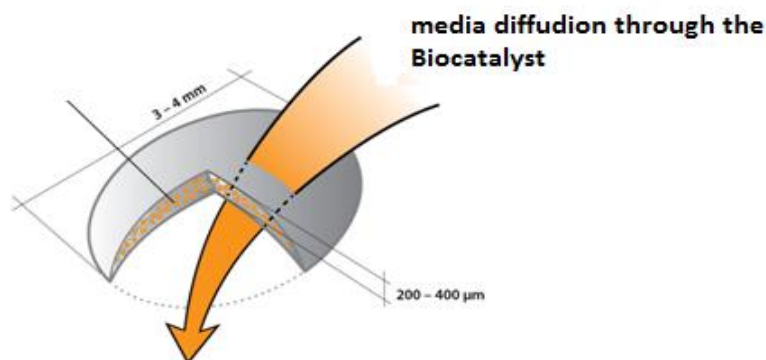
3.3 ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS

Μια σύγχρονη λύση για την απομάκρυνση ανόργανων μορφών αζώτου από τα βιομηχανικά και αστικά απόβλητα αποτελεί η βιοτεχνολογία των Lentikat's η οποία βασίζεται στην ενθυλάκωση νιτροποιητικών και απονιτροποιητικών βακτηρίων σε μια πορώδη μήτρα από υδροτζελ κατασκευασμένη από πολυβινυλική αλκοόλη (PVA). Η γέλη της πολυβινυλικής αλκοόλης χρησιμοποιείται διότι παρουσιάζει τόσο υψηλή δυνατότητα ενθυλάκωσης των μικροοργανισμών μέσα σε αυτό, καθώς επίσης και φυσικά και μηχανικά χαρακτηριστικά τα οποία ευθύνονται για την ανθεκτικότητα των βιοκαταλυτών (Schlieker and Vorlop, 2006, Bouskova *et al.*, 2011)). Το φακοειδές σχήμα των Βιοκαταλυτών διασφαλίζει τη διάχυση του υποστρώματος

σταενθυλακωμένα βακτήρια ενώ ταυτόχρονα διατηρεί ένα συμβατικό μέγεθος που διευκολύνει το διαχωρισμό του βιοκαταλύτη από το υγρό.

Επιπλέον, το PVA αποτελεί ένα υλικό βιολογικό, μη διασπώμενο και μη τοξικό, ενώ παράλληλα είναι ένα φθηνό υλικό ενθυλάκωσης χωρίς παράλληλες επιδράσεις στη βιοχημική διαδικασία. Συγκριτικά με τις άλλες τεχνικές ενθυλάκωσης που εφαρμόζονται στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων οι οποίες χαρακτηρίζονται από την ανάπτυξη μιας μικτής μικροβιακής κοινότητας στην επιφάνεια ενός στερεού φορέα, οι Βιοκαταλύτες Lentikats περιέχουν μεγάλη συγκέντρωση προκαθορισμένης ποσότητας ενθυλακωμένης βιομάζας στο εσωτερικό του φορέα. Κατά συνέπεια με το συγκεκριμένο βιοκαταλύτη διατηρείται η υψηλή του ενεργότητα ανεξάρτητα από την συγκέντρωση των μέσων επεξεργασίας (Bouskova et al., 2011).

Οι ενθυλακωμένοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στο εσωτερικό της πολυβινυλικής αλκοόλης αφού τους παρέχεται το απαραίτητο υπόστρωμα αλλά και τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται ώστε να πραγματοποιήσουν τις βιοχημικές αντιδράσεις, να πολλαπλασιαστούν αλλά και να προβούν στη λύση τους. Σημαντική συγκέντρωση των αρχικών ενθυλακωμένων βακτηρίων παραμένουν στους πόρους της πολυβινυλικής αλκοόλης ενώ μικρή ποσότητα από αυτούς μπορεί να μεταναστεύσει έξω από τη γέλη από τους πόρους της μήτρας. Όλος ο κύκλος ζωής των ενθυλακωμένων βακτηρίων πραγματοποιείται στο εσωτερικό της γέλης όμοια με αυτόν που θα πραγματοποιούνταν στο ανάμεικτο υγρό σε ένα συμβατικό σύστημα ενεργού ιλύος. Σύμφωνα με την εταιρία που κατασκευάζει του ενθυλακωμένους μικροοργανισμούς, η συγκέντρωσή τους εντός της γέλης είναι σχετικά σταθερή όταν το σύστημα λειτουργεί υπό σταθερές. Σε συνθήκες πενίας ο αριθμός τους μειώνεται, ενώ σε αυξημένες συγκεντρώσεις υποστρώματος ο αριθμός τους αυξάνεται με συνέπεια πλεονάζοντας μικροοργανισμοί να ωθούνται εκτός της γέλης. Το εξωτερικό κέλυφος της πορώδους μήτρας προστατεύει την εγκλεισμένη βιομάζα αυξάνοντας την αντοχή της έναντι αρνητικών περιβαλλοντικών επιπτώσεων όπως τα χημικά σοκ ή η παρουσία τοξικών ενώσεων (Schlieker and Vorlop, 2006).



Εικόνα 4: Βιοκαταλύτης Lentikats (<http://www.lentikats.eu>)

Η απομάκρυνση του αζώτου πραγματοποιείται σε δύο διαφορετικά στάδια με τη νιτροποίηση και την απονιτροποίηση χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικά είδη βιοκαταλυτών Lentikats. Ο

βιοκαταλύτης νιτροποίησης περιέχει ένα μίγμα *Nitrosomonas* και *Nitrobacter windradskyi* ενώ *Paracoccus denitrificans* ή *Pseudomonas fluorescens*, κλπ., χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του βιοκαταλύτη απονιτροποίησης. Εξαιτίας της φύσης των μικροοργανισμών ακινητοποίησης είναι απαραίτητο να αποδίδεται οξυγόνο και οργανικό υπόστρωμα για τη νιτροποίηση και την απονιτροποίηση αντίστοιχα.

Αυτά τα συστήματα μπορούν να επιτύχουν απόδοση απομάκρυνσης τουλάχιστον 98% ανεξάρτητα από την αρχική συγκέντρωση αζώτου. Εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσης των ενθυλακωμένων μικροοργανισμών μέσα στο κέλυφος, η συγκεκριμένη τεχνολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε τόσο υψηλές συγκεντρώσεις όσο 2500 mg/L N-NH₄⁺ ή 4000mg/L N-NO₃ (Bouskova et al.,2011)

Οι Βιοκαταλύτες Lentikats εφαρμόζονται σε διάφορους τύπους βιομηχανικών λυμάτων, κυρίως χάρη στην ικανότητά του να λειτουργεί σε πολύ καλά συγκεντρώσεις αζώτου. Η τεχνολογία έχει δοκιμαστεί με επιτυχία για την αφαίρεση του αζώτου από διάφορες βιομηχανίες σφαγεία, πετροχημικές, συσκευασίες κρεάτων καθώς και μονάδας βιοαερίου λυμάτων (Schlieker and Vorlop,2006, Bouskova et al, 2011) .

3.4 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS

Σε σύγκριση με άλλες διαθέσιμες τεχνολογίες, η Βιοτεχνολογία Lentikats παρουσιάζει μια σταθερή, συμπαγή και αξιόπιστη εναλλακτική λύση, παρέχοντας 98% απόδοση των συστημάτων της. Η παρουσία υψηλής συγκέντρωσης των ακινητοποιημένων βακτηρίων οδηγεί σε υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση του υδραυλικού χρόνου παραμονής των προς επεξεργασία ρύπων, εντός του βιοαντιδραστήρα και την μείωση των απαιτούμενων όγκων αντίδρασης. Επίσης, με τη χρήση των Βιοκαταλυτών Lentikats υπάρχει μειωμένη απαίτηση για μεγάλους όγκους αντιδραστήρων τόσο κατά τη διαδικασία της νιτροποίησης αλλά και της απονιτροποίησης. Σε σχέση με τα παραπάνω, η Βιοτεχνολογία Lentikats οδηγεί σε μείωση λειτουργικού και επενδυτικού κόστους(Bouskova et al., 2011).

Επιπλέον πλεονεκτήματα της χρήσης των Βιοκαταλυτών Lentikats θεωρούνται οι αυξημένες αποδόσεις του συστήματος σε παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων αζώτου, η ενισχυμένη ευρωστία των ακινητοποιημένων μικροοργανισμών κάτω από ακραίες συνθήκες ο εύκολος διαχωρισμός τους από το μέσο που βρίσκονται αλλά και ο χρόνος ζωής τους (10 χρόνια) (<http://www.lentikats.eu/en/advantages-cisteni>).

Ακόμα ένα σημαντικό πλεονέκτημα που προκύπτει κατά τη λειτουργία των βιοκαταλυτών Lentikats, θεωρείται το γεγονός ότι είναι ικανή η αυτοματοποίηση των διαδικασιών, καθιστώντας με αυτό τον τρόπο ευκολότερο και σταθερό έλεγχο στη μονάδα. Επιπλέον, συγκριτικά με το παραδοσιακό σύστημα ενεργού ιλύος, παρατηρούμε χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας καθώς και μείωση της παραγόμενης βιομάζας (Bouskova et al.,2011).

3.5 ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS

Ένα από τα βασικότερα μειονεκτήματα των ενθυλακωμένων μικροοργανισμών Lentikats θεωρείται το κόστος μεταφοράς τους. Οι Βιοκαταλύτες Lentikats θα πρέπει να μεταφέρονται υπό συνθήκες ψύξης. Έτσι, είναι αναγκαία η άμεση παραλαβή τους από τον παραλήπτη, προς αποφυγή λύσης των βακτηρίων. Κάτι τέτοιο καθιστά το κόστος μεταφοράς τους αυξημένο.

Επίσης, έπειτα την παράδοσή τους στον παραλήπτη οι βιοκαταλύτες δεν είναι έτοιμοι προς χρήση, αφού απαιτείται η ενεργοποίησή τους. Συγκεκριμένα για τους νιτροποιητικούς και απονιτροποιητικούς βιοκαταλύτες απαιτείται χρόνος ενεργοποίησης 10 και 15 ημερών, αντίστοιχα. Επομένως ο παραλήπτης πρέπει να προβλέψει το χρόνο ενεργοποίησής των μικροοργανισμών σε περίπτωση που χρειάζεται άμεσα τη χρήση τους.

Επιπλέον, κατά τη διάρκεια χρήσης τους απαιτούν καθημερινό έλεγχο δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στις παραμέτρους του pH και της θερμοκρασίας. Σε περίπτωση μεγάλης αύξησης ή μείωσής του pH και της θερμοκρασίας από 7 και 25°C αντίστοιχα, τα βακτήρια καταστέλλονται με αποτέλεσμα είτε να χρειάζονται ενεργοποίηση είτε να εμφανιστούν προβλήματα στην απόδοσή τους. Επιπλέον, απαιτείται ειδικό σύστημα απομάκρυνσης του υγρού ώστε να αποφευχθεί η παράσυρση των καψουλών με αυτό.

Τελειώνοντας, αν και ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα των Βιοκαταλυτών Lentikats θεωρείται η μεγάλη διάρκεια χρόνου ζωής τους, η αντικατάστασή τους είναι αναπόφευκτη με την πάροδο του χρόνου.

3.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS ΣΕ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ

➤ Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων της πόλης Ostrov u Macochy

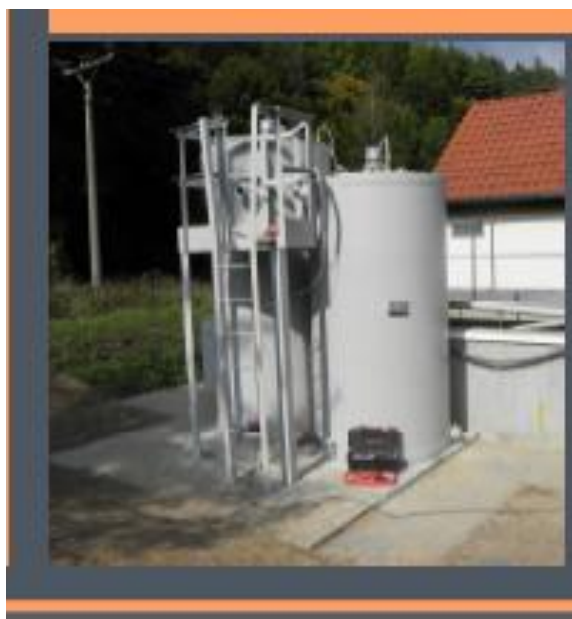
Η πρώτη εφαρμογή της τεχνολογίας των Lentikats σε μεγάλη κλίμακα τοποθετείται στην Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων της πόλης Ostrov u Macochy της Μοραβίας το 2009. Σκοπός της χρήσης των Βιοκαταλυτών Lentikats ήταν η επιτυχής απομάκρυνση φωσφόρου και οργανικού υλικού στην εκροή της μονάδας. Η συγκεκριμένη ΕΕΛ έχει σχεδιαστεί να εξυπηρετεί 1000 ι.κ ενώ επεξεργάζεται τα απόβλητα από γειτονικές πόλεις με ελάχιστη παροχή βιομηχανικών αποβλήτων νιτρικών (Lentikats Bulletin, 2009).

Η συγκέντρωση των νιτρικών στην εκροή της μονάδας συμμορφώνεται στο όριο που καθορίζεται από την Αρχή Υδάτων (10 mg N-NO₃/L) με τη βοήθεια των απονιτροποιητών βιοκαταλυτών Lentikats, ενώ ακολουθεί καθίζηση της υπολειμματικής οργανικής ύλης και φωσφόρου σε δύο αντιδραστήρες που συνδέονται σε σειρά. Η εκροή από τον αντιδραστήρα καθίζησης επιστρέφει πίσω στην ήδη υπάρχουσα δεξαμενή καθίζησης μέσα στην κύρια γραμμή επεξεργασίας ΕΕΛ (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/14>).

Τα τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 9, ενώ στην Εικόνα 6 παρουσιάζεται η δεξαμενή στην οποία είναι τοποθετημένοι οι Βιοκαταλύτες Lentikats.

Πίνακας 9: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ της πόλης Ostrov u Macochy (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/14>)

Τυπικά χαρακτηριστικά συστήματος	
Όγκος της δεξαμενής απονιτροποίησης	5 m ³
Όγκος της δεξαμενής καθίζησης	4.5 m ³
Ποσότητα Βιοκαταλύτη Lentikats	540 Kg
Ρυθμός απομάκρυνσης N-NO ₃ ⁻	0.05 kg/hr
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	0.7 hr
Ποσοστό απομάκρυνσης N-NO ₃ ⁻	62%
Διάρκεια ζωής Βιοκαταλύτη	10 χρόνια
Τύπος του εξωτερικού οργανικού υποστρώματος	Brenntapplus VP1



Εικόνα 5: Δεξαμενή Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ της πόλης Ostrov u Macochy (Lentikats Bulletin, 2009).

➤ Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων της πόλης Litomerice

Η δεύτερη εφαρμογή σε πλήρους κλίμακας των Βιοκαταλυτών Lentikats στεγάζεται στην ΕΕΛ της πόλης Litomerice (70km βόρεια της Πράγας) με εξυπηρετούμενο πληθυσμό σχεδιασμού στους 40000 ι.κ. Η συγκεκριμένη ΕΕΛ είναι μια μονάδα μηχανικής – βιολογικής επεξεργασίας με εκτεταμένη διαχείριση της ιλύος καθώς εισέρχεται μεγάλο φορτίο από βιομηχανικά απόβλητα, βιομηχανίας τροφίμων. Οι βιοκαταλύτες χρησιμοποιούνται για τη μείωση της συγκέντρωσης των νιτρικών (Lentikats Bulletin, 2009).

Στη μονάδα αυτή ο αντιδραστήρας της νιτροποίησης συνδέεται σε σειρά με αυτόν της απονιτροποίησης. Το υπερκείμενο υγρό που προκύπτει από την αφυδάτωση της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, το οποίο περιέχει μηδενική συγκέντρωση αζώτου εξακολουθεί να εισέρχεται στο στάδιο βιολογικής επεξεργασίας της ΕΕΛ. Τα λύματα που έχουν υποστεί νιτροποίηση εισάγονται στα πρώτα στάδια της υπάρχουσας μονάδας επεξεργασίας λυμάτων, πριν την πρωτοβάθμια δεξαμενή καθίζησης επειδή ένα μεγάλο μέρος του εύκολου αποικοδομήσιμου COD αφαιρείται στην τελευταία δεξαμενή (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/10>). Τα τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ της πόλης Litomerice (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/10>)

Τυπικά χαρακτηριστικά συστήματος	
Όγκος της δεξαμενής παραμονής του βιοκαταλύτη	188 m ³
Όγκος της δεξαμενής νιτροποίησης	58 m ³
Ποσότητα Βιοκαταλύτη Lentikats	4427 Kg
Ρυθμός απομάκρυνσης N-NH ₄ ⁺	1.77 kg/hr
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	5.2 hr
Ποσοστό απομάκρυνσης N-NH ₄ ⁺	85%
Διάρκεια ζωής Βιοκαταλύτη	10 χρόνια

➤ Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Εργοστασίου στην πόλη Tona

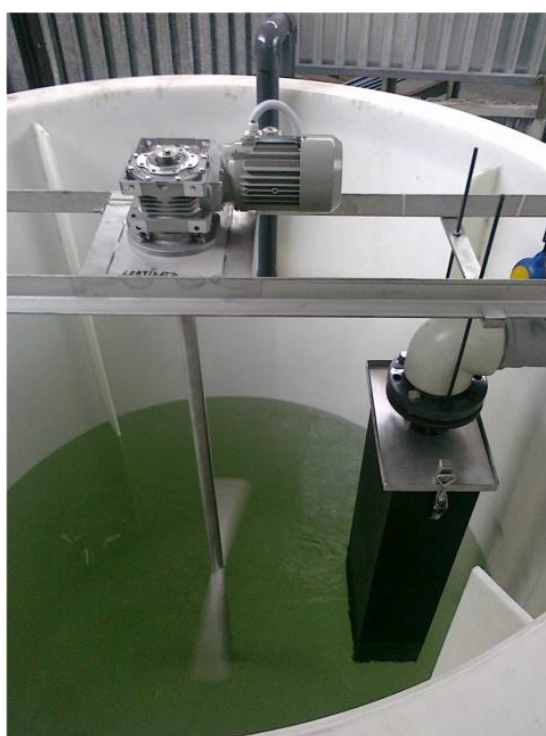
Η συγκεκριμένη εγκατάσταση, η οποία τοποθετείται περίπου 30 χιλιόμετρα ανατολικά της Πράγας, είναι εγκατάσταση εργοστασίου και δέχεται τεχνολογικές εκροές αλλά και τις εκροές από πλυσίματα τεχνολογικών συσκευών.

Στη μονάδα έχουν παρατηρηθεί υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών στην εκροή της (35 mg N-NO₃ /L) καθώς επίσης και παραβίαση των ορίων τους. Οι Βιοκαταλύτες Lentikats επιλέχθηκαν λόγω του ποσοστού απομάκρυνσης υψηλών συγκεντρώσεων νιτρικού αζώτου αλλά και λόγω του μικρού διαθέσιμου χώρου της μονάδας.

Ο σχεδιασμός αποτελείται από ένα μηχανικώς αναδευόμενο αντιδραστήρα που περιέχει απονιτροποιητικούς Βιοκαταλύτες Lentikats εφοδιασμένο με ένα εξωτερικό σύστημα δοσομέτρησης οργανικό άνθρακα νιτρικών. Στην Εικόνα 7 φαίνεται η δεξαμενή των Βιοκαταλυτών ενώ στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται τα τυπικά χαρακτηριστικά της μονάδας (Lentikats Bulletin, 2011).

Πίνακας 11: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ Εργοστασίου στην πόλη Tona (Lentikats Bulletin, 2011).

Μέγιστη παροχή (m ³ /d)	70.5
Θερμοκρασία (°C)	14 - 19
pH	7.4
Όγκος δεξαμενής (m ³)	6.0
Ποσότητα Βιοκαταλύτη (Kg)	510
Ρυθμός απομάκρυνσης (kg N/hr)	0.11
Διάρκεια ζωής Βιοκαταλύτη (years)	2
Υδραυλικός χρόνος παραμονής (h)	2



Εικόνα 6: Δεξαμενή Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ Εργοστασίου στην πόλη Tona (Lentikats Bulletin, 2011).

➤ Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων στην πόλη Urice

Ακόμα μια χρήση των Βιοκαταλυτών Lentikats παρουσιάζεται το 2011 στην ΕΛΛ της πόλης Urice, της περιοχής Trutnov, στοχεύοντας στην αποτελεσματική απομάκρυνση του αζώτου από μια μονάδα παραγωγής βιοαερίου.

Ο εξυπηρετούμενος πληθυσμός της ΕΕΛ ισούται με 2000 ι.κ. Στόχος είναι η νιτροποίηση του αμμωνιακού αζώτου της ύλης με τη χρήση νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με παράλληλη φυσική απονιτροποίηση των παραγόμενων νιτρικών στα πρώτα στάδια της επεξεργασίας εντός της ΕΕΛ (πρωτοβάθμια δεξαμενή καθίζησης) (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/11>). Στον Πίνακα 12

παρουσιάζονται τα τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος και στην Εικόνα 8 φαίνεται η δεξαμενή των Βιοκαταλυτών.

Πίνακας 12: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ στην πόλη Urice (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/11>).

Τυπικά χαρακτηριστικά συστήματος	
Όγκος της δεξαμενής νιτροποίησης	69 m ³
Ποσότητα Βιοκαταλύτη Lentikats	5469 Kg
Ρυθμός απομάκρυνσης N-NH ₄ ⁺	2.7 kg/hr
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	22 hr
Ποσοστό απομάκρυνσης N-NH ₄ ⁺	94%
Διάρκεια ζωής Βιοκαταλύτη	10 χρόνια



Εικόνα 7: Δεξαμενή Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ Εργοστασίου στην πόλη Urice (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/11>).

➤ Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων στην πόλη Jevany – Bohumil

Μια ακόμα εφαρμογή των Βιοκαταλυτών Lentikats εμφανίζεται στην ΕΕΛ της πόλης Jevany – Bohumil, η οποία εξυπηρετεί 4000 ι.κ. Στη συγκεκριμένη ΕΕΛ χρησιμοποιούνται απονιτροποιητικοί Βιοκαταλύτες στοχεύοντας στη μείωση της συγκέντρωσης των νιτρικών της εκροής της μονάδας εντός των ορίων της Οδηγίας. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι στη μονάδα εισέρχονται απόβλητα από φαρμακευτική βιομηχανία.

Η δεξαμενή απονιτροποίησης τοποθετείται σε μια υπάρχουσα αχρησιμοποίητη δεξαμενή ενώ ακολουθεί απομάκρυνση των υπολειμματικών αιωρούμενων στερεών σε αμμόφιλτρο (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/15>).

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται τα τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος.

Πίνακας 13: Τυπικά χαρακτηριστικά του συστήματος Βιοκαταλυτών Lentikats στην ΕΕΛ στην πόλη Jevany – Bohumil (<http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/15>).

Τυπικά χαρακτηριστικά συστήματος	
Όγκος της δεξαμενής απονιτροποίησης	38 m ³
Ποσότητα Βιοκαταλύτη Lentikats	5396 Kg
Ρυθμός απομάκρυνσης N-NO ₃ ⁻	0.5 kg/hr
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	2.1 hr
Ποσοστό απομάκρυνσης N-NO ₃ ⁻	80 %
Διάρκεια ζωής Βιοκαταλύτη	10 χρόνια
Τύπος του εξωτερικού οργανικού υποστρώματος	Brenntapplus VP1

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΤΑΞΕΩΝ

Το Εργαστήριο Σχεδιασμού Περιβαλλοντικών Διεργασιών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος Πολυτεχνείου Κρήτης, προμηθεύεται τους βιοκαταλύτες Lentikats από την Τσέχικη εταιρία Lentikats Biotechnologies, με έδρα την Πράγα. Για τη μεταφορά τους, οι Βιοκαταλύτες τοποθετούνται σε πλαστικά μπουκάλια τα οποία περιέχουν μικρή ποσότητα διαλύματος με pH μεταξύ 6 με 7 και συγκέντρωση αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου στα 10 mg/L, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, φυλλάσσονται σε παγοκουφέλες μέχρι την παράδοσή τους, οποία πρέπει να γίνει με ταχυμεταφορά διάρκειας μιας ημέρας. Η μακροχρόνια αποθήκευσή τους απαιτεί τη φύλαξή τους σε ψυγείο, με τη θερμοκρασία να κυμαίνεται μεταξύ 2 έως 5°C, ενώ οι νιτροποιητικοί και απονιτροποιητικοί βιοκαταλύτες φυλάσσονται σε διάλυμα με pH μεταξύ 6 με 7 και συγκέντρωση αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου στα 10 mg/L, αντίστοιχα.

Η υλοποίηση των παρακάτω πειραματικών διαδικασιών πραγματοποιείται ενεργοποιώντας 250g από κάθε είδος βιοκαταλύτη. Συνολικά το πείραμα αποτελείται από τρεις περιόδους, με δύο φάσεις έκαστη.

Κατά την πρώτη περίοδο -η οποία συνήθως διαρκεί από μία έως δύο εβδομάδες για τα νιτροποιητικά και απονιτροποιητικά βακτήρια, αντίστοιχα-, πραγματοποιείται ενεργοποίηση των νιτροποιητικών και απονιτροποιητικών βακτηρίων σε ξεχωριστούς αντιδραστήρες διαλείποντος έργου χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο. Ως πρώτη φάση χαρακτηρίζεται η ενεργοποίηση των νιτροποιητικών βιοκαταλυτών, ενώ ως δεύτερη φάση εννοείται η ενεργοποίηση των απονιτροποιητικών βιοκαταλυτών.

Μετά την ενεργοποίηση των νιτροποιητικών και απονιτροποιητικών βιοκαταλυτών, το πείραμα προχωράει στη δεύτερη περίοδό του, όπου οι αντιδραστήρες διαλείποντος έργου μετατρέπονται σε αντιδραστήρες ροής πλήρους ανάμιξης (συνεχούς ροής). Στη δεύτερη περίοδο, η διαδικασία της νιτροποίησης (φάση 1) και απονιτροποίησης (φάση 2) λειτουργούν ανεξάρτητα, χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο.

Κατά τη διάρκεια της τρίτης περιόδου, η έξοδος του αντιδραστήρα νιτροποίησης τροφοδοτείται απευθείας στον αντιδραστήρα απονιτροποίησης. Αρχικά εξετάζεται η απόδοση των βιοκαταλυτών σαν ένα σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο. ενώ στη συνέχεια εξετάζεται η απόδοση του παραπάνω συστήματος χρησιμοποιώντας αστικό απόβλητο. Το αστικό απόβλητο που χρησιμοποιείται συλλέγεται καθημερινά από το κανάλι που μεταφέρει τα λύματα από τη δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης στη δεξαμενή αερισμού, από την Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Χανίων.

Στις δύο τελευταίες περιόδους του πειράματος, τα συστήματα εξετάζονται σε τρεις διαφορετικούς χρόνους παραμονής. Οι χρόνοι παραμονής είναι στις 8, 4 και 3h.

Στις παρακάτω παραγράφους περιγράφεται αναλυτικά η πειραματική διαδικασία κάθε περιόδου.

4.1 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΡΩΤΗ – ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS

4.1.1 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR)

Πριν την εφαρμογή των βιοκαταλυτών θεωρείται αναγκαία η ενεργοποίησή τους, η οποία πραγματοποιείται με μια σειρά πειραμάτων σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου με όγκο 2L, χρησιμοποιώντας ένα πρότυπο διάλυμα (συνθετικό απόβλητο).

Η διαδικασία που ακολουθείται για την ενεργοποίηση του νιτροποιητικού βιοκαταλύτη περιγράφεται στα ακόλουθα βήματα:

- Αρχικά ζυγίζονται 250g του νιτροποιητικού βιοκαταλύτη (Εικόνα 9). Ο βιοκαταλύτης μεταφέρεται σε κόσκινο με καθορισμένο βάρος ώστε να αποστραγγιστεί η υγρασία του βιοκαταλύτη από το πρότυπο διάλυμα στο οποίο είναι αποθηκευμένος. Έπειτα από χρονικό διάστημα ενός λεπτού το ακριβές βάρος καταγράφεται και απομακρύνεται το βάρος του κόσκινου.
- Στη συνέχεια ο βιοκαταλύτης μεταφέρεται στον αντιδραστήρα (Adams&Chittenden Scientific, USA) και αφού παρασκευαστεί το συνθετικό απόβλητο (Πίνακας 14 και 15) προστίθενται 2L από αυτό στον αντιδραστήρα.
- Τόσο το συνθετικό απόβλητο όσο και ο βιοκαταλύτης βρίσκονται σε συνεχή και πλήρη ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα ενώ τα επίπεδα αερισμού βρίσκονται . Ταυτόχρονα η θερμοκρασία είναι ρυθμισμένη στους 26 ± 1 °C χρησιμοποιώντας έναν θερμοστάτη CAL 9900 UK ενώ το pH ρυθμίζεται στο 7.1 ± 0.1 με την είσοδο της απαραίτητης συγκέντρωσης βάσεως ή οξέος χρησιμοποιώντας μια περισταλτική αντλία τύπου BIOFLO 110 UK peristaltic.
- Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου διατηρείται στα 4mg/L ή σε υψηλότερα επίπεδα. συνεχή παροχή αέρα μέσω ενός διατηρητού σωλήνα και μετριέται με τη χρήση ελεγκτή AlphaDOPPG, Eutech UK DO controller.
- Κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης του νιτροποιητικού βιοκαταλύτη η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου πρέπει να βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα. Έτσι κατά την παρασκευή του συνθετικού αποβλήτου προστίθενται 3 με 4 gr $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ανά λίτρο.



Εικόνα 8: Νιτροποιητικοί Βιοκαταλύτες Lentikats

Στους Πίνακες 14 και 15 εμφανίζονται αναλυτικά τα συστατικά και οι ποσότητες ανά λίτρο που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του συνθετικού αποβλήτου. Η σύσταση του διαλύματος βάσης (πριν την προσθήκη του $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) προτείνεται από την εταιρία κατασκευής των Βιοκαταλυτών.

Πίνακας 14: Σύσταση του συνθετικού αποβλήτου σε 1L απιονισμένου νερού

ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ
K_2HPO_4	1.16 g L^{-1}
KH_2PO_4	0.23 g L^{-1}
NaHCO_3	0.34 g L^{-1}
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 g L^{-1}
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.01 g L^{-1}
TES	1.5 mL L^{-1}

Το διάλυμα TES είναι ένα από τα συστατικά του συνθετικού αποβλήτου (Πίνακας 15). Αρχικά παρασκευάζεται 1L του συγκεκριμένου διαλύματος, το οποίο φυλλάζεται στο ψυγείο, και προστίθεται ως τελευταίο συστατικό του συνθετικού αποβλήτου, προς αποφυγή αντιδράσεων που πραγματοποιούνται με το NaHCO_3 .

Πίνακας 15: Σύσταση του διαλύματος TES

ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ
Na-EDTA	2.5 g L^{-1}
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.5 g L^{-1}
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0 g L^{-1}
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.3 g L^{-1}
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.3 g L^{-1}
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02 g L^{-1}
H_3BO_3	0.3 g L^{-1}
HCl (37% w/w)	1.0 mL L^{-1}

Το πρότυπο διάλυμα πρέπει να αντικαθίσταται δυο φορές την εβδομάδα, ενώ η μέτρηση της συγκέντρωσης των αμμωνιακών πραγματοποιείται δύο φορές την ημέρα με διάστημα 2 ωρών μεταξύ τους. Η δοκιμή επαναλαμβάνεται μέχρι ο βιοκαταλύτης να επιτύχει σταθερή ενεργότητα της τάξης των 500-800 $\text{mg}/(\text{kg}_{\text{LB}} \text{ hr})$.

Ο υπολογισμός της ενεργότητας γίνεται με βάση την εξίσωση:

$$\text{ενεργότητα} = \frac{[c_{in}(N-NH_4) - c_{out}(N-NH_4)] * Q}{m_{LB}} \quad (22)$$

Όπου:

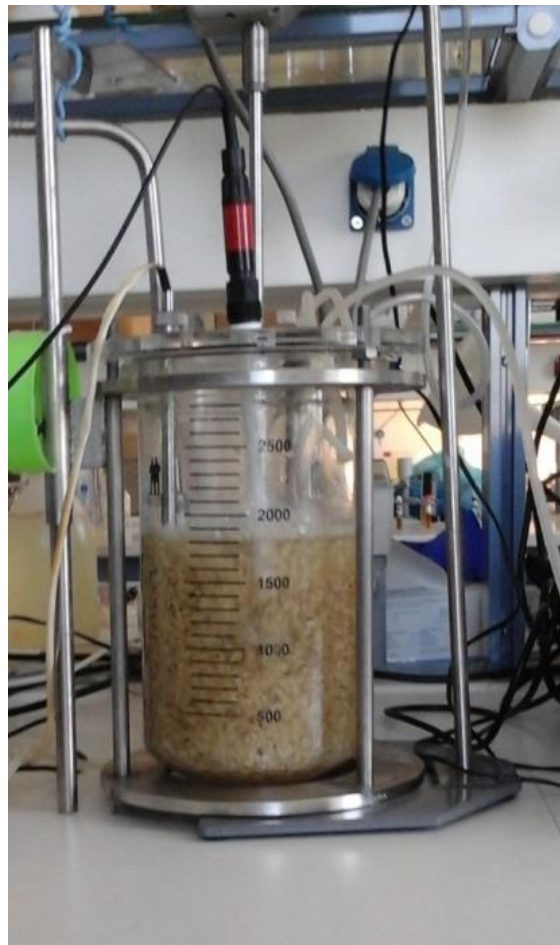
$c_{in}(N-NH_4)$: η αρχική συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου (mg/L)

$C_{out}(N-NH_4)$: είναι η τελική συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου (mg/L)

V : ο όγκος του αντιδρώντος μέσου (L)

t : η διάρκεια των δοκιμών (h)

m_{BL} : η ποσότητα των βιοκαταλυτών Lentikats (g)



Εικόνα 9: Διάταξη ενεργοποίησης νιτροποιητικών βακτηρίων σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου

4.1.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR)

Η διαδικασία που ακολουθείται για την ενεργοποίηση του απονιτροποιητικού βιοκαταλύτη είναι όμοια με αυτή που περιγράφηκε παραπάνω, με τη διαφορά ότι στον αντιδραστήρα της απονιτροποίησης δεν παροχετεύεται οξυγόνο και στην παρασκευή του συνθετικού αποβλήτου χρησιμοποιούνται διαφορετικά συστατικά.

Για την παρασκευή του συνθετικού αποβλήτου της απονιτροποίησης χρησιμοποιείται ο Πίνακας 16.

Πίνακας 16: Σύσταση συνθετικού αποβλήτου απονιτροποίησης

ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ [mg/L]
KH_2PO_4	2300
K_2HPO_4	2900
NH_4Cl	1000
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	500
NaHCO_3	500
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	10
$\text{Fe}(\text{NH}_4)$ citrate	50
SL-6 (ml)	0.5

Αντίστοιχα για την παρασκευή του διαλύματος SL-6 σε ποσότητα 200ml οι συστάσεις των χημικών φαίνονται στον Πίνακα 17.

Πίνακας 17: Παρασκευή διαλύματος SL-6 (200 ml)

ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	Ποσότητα για 200 ml του SL-6 [g]
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.006
H_3BO_3	0.06
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.04
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.002
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.004
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.006
distilled water	200 ml

Στη συνέχεια προστίθεται η απαιτούμενη ποσότητα NaNO_3 και αιθανόλης από αλκοολούχο ποτό ως υπόστρωμα και ξεκινάει η ανάμιξη.

Πίνακας 18 :Απαιτούμενη συγκέντρωση NaNO_3

Συγκέντρωση [mgNO_3/L]	Ποσότητα NaNO_3 για 10Lπρότυπου διαλύματος [mg]
500	6857

Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στο ότι ο τελικός λόγος BOD έτσι ώστε ο λόγος BOD/N να είναι σταθερός και ίσος με 4,25/1. Έτσι πραγματοποιήθηκαν πειράματα μέτρησης του BOD της αιθανόλης, ώστε να υπολογιστεί ακριβώς η ποσότητα αιθανόλης που χρειάζεται ο αντιδραστήρας της απονιτροποίησης. Για τον επιτυχή υπολογισμό BOD της αιθανόλης, αρχικά έγινε αραίωσή της 1:1500, και στη συνέχεια 1:150. Το BOD της αιθανόλης με 1:1500 αραίωση υπολογίστηκε στα 494 mg/L. Επομένως γνωρίζοντας το BOD της αιθανόλης και την αρχική ποσότητα νιτρικού αζώτου στον αντιδραστήρα υπολογιζόταν κάθε φορά η ποσότητα της αιθανόλης που έπρεπε να προστεθεί στον αντιδραστήρα.

Η συγκέντρωση του N-NO_3 μετριέται με τη λήψη δείγματος κάθε δύο ώρες και ανάλυση του ενώ οι απονιτροποιητικοί βιοκαταλύτες θεωρούνται ενεργοποιημένοι όταν η ενεργότητά τους έχει σταθεροποιηθεί στα 500-600mg/kg.hr.

$$\text{ενεργότητα} = \frac{[c_{in}(\text{N-NO}_3) - c_{out}(\text{N-NO}_3)] \cdot Q}{m_{LB}} \quad (23)$$

Όπου $c_{in}(\text{N-NO}_3)$ = συγκέντρωση εισόδου του νιτρικού αζώτου (mgL^{-1})

$c_{out}(\text{N-NO}_3)$ = συγκέντρωση εξόδου του νιτρικού αζώτου (mgL^{-1})

Q= ρυθμός ροής αντιδρώντος μέσου (h^{-1})

m_{LB} = ποσότητα των βιοκαταλυτών Lentikats (g)



Εικόνα 10: Διάταξη ενεργοποίησης απονιτροποιητικών βακτηρίων

4.2 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΔΕΥΤΕΡΗ – ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΕΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ

4.2.1 ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ (ΦΑΣΗ 1)

Αρχικά εξετάστηκε η νιτροποίηση σε έναν αντιδραστήρα συνεχούς ροής. Το συνθετικό απόβλητο εισάχθηκε και αποβλήθηκε χρησιμοποιώντας δύο περισταλτικές αντλίες για τον αντιδραστήρα νιτροποίησης.

Η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους $26 \pm 1^\circ\text{C}$ χρησιμοποιώντας έναν θερμοστάτη CAL 9900. Το pH μετριόνταν συνεχώς με ένα πεχάμετρο pH 800 Eutech, UK, pHcontroller και διατηρούνταν συνεχώς στο $7.1 \pm 0,1$ από την είσοδο του απαραίτητου οξέος ή βάσης με τη χρήση της BIOFLO 110 UK περισταλτικής αντλίας. Το DO ρυθμίστηκε να διατηρηθεί σταθερό ανάμεσα σε 2-4mg/L με συνεχή παροχή αέρα μέσω διάτρητου σωλήνα και μετριούνταν με τη χρήση οξυγονόμετρου Alpha DO PPG, Eutech UK DO.

Προσομοιάζοντας το συνθετικό απόβλητο με πραγματικό αστικό απόβλητο, οι τιμές συγκέντρωσης των αμμωνιακών κυμαίνονταν μεταξύ 50 – 57 mg/L.



Εικόνα 11: Συνεχές σύστημα νιτροποιητικών βακτηρίων με συνθετικό απόβλητο.

4.2.2 ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ (ΦΑΣΗ 2)

Η απονιτροποίηση εξετάστηκε σε έναν αντιδραστήρα συνεχούς ανάδευσης (CSTR). Το συνθετικό απόβλητο εισάγονταν με δύο περισταλτικές αντλίες και επίσης χρησιμοποιούνταν δύο περισταλτικές αντλίες για τον αντιδραστήρα απονιτροποίησης.

Η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους $26 \pm 1^\circ\text{C}$ χρησιμοποιώντας έναν θερμοστάτη CAL9900 UK το pH μετριούνταν συνεχώς με έναν ελεγκτή Alpha -pH 800 και διατηρούνταν στο $7.1 \pm 1^\circ\text{C}$ με την εισαγωγή του απαραίτητου οξέος ή της συγκέντρωσης βάσεως χρησιμοποιώντας έναν ελεγκτή Alpha DO PPG, Eutech UK DO. Η εισαγωγή της αιθανόλης (από αλκοολούχο ποτό) πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια περισταλτική αντλία..



Εικόνα 12: Συνεχές σύστημα απονιτροποιητικών βακτηρίων με τεχνητό απόβλητο

4.3 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΤΡΙΤΗ – ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

4.3.1 ΦΑΣΗ 1 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Έχοντας αποδείξει ότι οι αποδόσεις των βιοαντιδραστήρων ενώ λειτουργούν ανεξάρτητα θεωρούνται ικανοποιητικές το επόμενο στάδιο που πρέπει να μελετηθεί είναι η απόδοση του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης στο οποίο η έξοδος του αντιδραστήρα νιτροποίησης τροφοδοτείται στον αντιδραστήρα απονιτροποίησης. Για την επίτευξη του συνεχούς συστήματος χρησιμοποιούνται περισταλτικές αντλίες.

Με δεδομένο ότι το συνθετικό απόβλητο που χρησιμοποιείται για την νιτροποίηση δεν περιέχει $\text{Fe}(\text{NH}_4)$, προσθέτουμε έναν κόκκο από αυτό στο αλκοολούχο ποτό, έτσι ώστε ο βιοαντιδραστήρας της απονιτροποίησης να έχει όλα τα απαραίτητα άλατα. Επιπλέον προστίθενται 0,5mL από το διάλυμα SL-6.



Εικόνα 13 : Συνεχές σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με συνθετικό απόβλητο

4.3.2 ΦΑΣΗ 2 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Το αστικό απόβλητο συλλέγεται καθημερινά από το κανάλι πριν τη δεξαμενή αερισμού της Εγκατάστασης Επεξεργασίας Λυμάτων Χανίων.

Αρχικά κατασκευάζεται η καμπύλη των μικροοργανισμών, ώστε να διασφαλιστεί ότι είναι σιγμοειδής. Αυτό επιτυγχάνεται, προσθέτοντας γλυκόζη στο απόβλητο και για 24 ώρες η απορρόφηση του δείγματος στο φασματοφωτόμετρο μετριέται ανά μία ώρα. Για την επίτευξη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων, η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιείται τρεις φορές.

Αφού συλλεχθεί το δείγμα και μεταφερθεί στο Εργαστήριο Περιβαλλοντικών Διεργασιών πραγματοποιείται κροκίδωση του λύματος για την αποφυγή εισόδου μεγάλης συγκέντρωσης στερεών στους αντιδραστήρες. Αρχικά τοποθετήθηκαν 0,2g πολυηλεκτρολύτη σε 100ml απιονισμένου νερού και πραγματοποιήθηκε ανάδευση με το μαγνητικό αναδευτήρα για μισή ώρα σε 150 στροφές το λεπτό, μέχρι το διάλυμα να γίνει παχύρευστο και να διαλυθούν όλοι οι κόκκοι του πολυηλεκτρολύτη. Έπειτα, σε 2L λύματος προστέθηκαν 1,2ml PAC και γινόταν αργή χειροκίνητη ανάδευση. Στη συνέχεια, προσθέτονταν 12ml του διαλύματος πολυηλεκτρολύτη και γινόταν αργή χειροκίνητη ανάδευση και το λύμα αφηνόταν να ηρεμήσει. Με αυτόν τον τρόπο στο λύμα δημιουργούνταν κροκιδώματα τα οποία καθίζαναν σε μικρό χρόνο.

Η πειραματική διάταξη της συγκεκριμένης φάσης είναι ίδια με αυτή που περιγράφηκε στο κεφάλαιο 2.4 ,διαφέροντας στο γεγονός ότι κατά τη διάρκεια του συγκεκριμένου πειραματικού σταδίου δεν προστίθεται αιθανόλη.



Εικόνα 14 : Συνεχές σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με χρήση αστικού αποβλήτου

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων λήφθηκαν μετρήσεις αμμωνιακών, νιτρικών και νιτρώδων συγκεντρώσεων καθώς επίσης συγκεντρώσεων BOD, COD, TOC και TSS.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι πειραματικές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε κάθε περίοδο και φάση του πειράματος.

- Στην πρώτη περίοδο:
 - Φάση 1: Μετρήσεις συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου κάθε μέρα ανά δύο ώρες.
 - Φάση 2: Μετρήσεις συγκέντρωσης νιτρικού αζώτου και TOC κάθε μέρα ανά δύο ώρες.
- Στη δεύτερη περίοδο:
 - Φάση 1: Μετρήσεις συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου κάθε μέρα στην είσοδο και έξοδο του αντιδραστήρα.
 - Φάση 2: Μετρήσεις συγκέντρωσης νιτρικού αζώτου και TOC κάθε μέρα στην είσοδο και έξοδο του αντιδραστήρα.
- Στην τρίτη περίοδο:
 - Φάση 1: Μετρήσεις συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου, νιτρικού αζώτου, νιτρώδου αζώτου, TOC και TSS κάθε μέρα στην είσοδο και έξοδο κάθε αντιδραστήρα.
 - Φάση 2: Μετρήσεις συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου, νιτρικού αζώτου, νιτρώδου αζώτου, BOD, COD, TOC και TSS κάθε μέρα στην είσοδο και έξοδο κάθε αντιδραστήρα.

Οι μετρήσεις για τα αμμωνιακά πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο ammonium-Nessler 2458200 Ammonia Reagent Set , για τα νιτρώδη με τα cuvette test LCK 341 και για τα νιτρικά με τα LCK 339 της εταιρίας HACH.

Η μέτρηση του COD πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τα αντιδραστήρια LCK 514, LCK 314, LCK 114 της εταιρίας HACH καθώς επίσης και το φούρνο HACH LT200. Όλες οι παραπάνω μετρήσεις αναλύθηκαν στο DR2800 φασματοφωτόμετρο της εταιρίας HACH.

Για τη μέτρηση του TOC, το δείγμα διηθούνται σε φιλτράκι σύριγγας Sartorius Minisart 0,45μm και στη συνέχεια τοποθετούνταν στο μηχάνημα του Shimadzu TOC-5000A.

Για τη μέτρηση των TSS χρησιμοποιήθηκε φούρνος Memmert 'UL50' Lab Oven και φιλτράκια Whatman glass microfiber filters, Grade 934 0,45μm - 47mm. Για τη μέτρηση του BOD, μετά τη δημιουργία της ανάλογης αραιώσης, σε κάθε λίτρο δείγματος προστίθενταν 1ml από φωσφορικό διάλυμα (Σε 1L νερού έχει: 8,5g KH_2PO_4 , 21,7g K_2HPO_4 , 1,7g NH_4Cl), 1 ml από διάλυμα θειικού μαγνησίου (Σε 1L νερού έχει: 22,5g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) και 1ml από διάλυμα χλωριούχου μαγνησίου (Σε 1L νερού έχει: 27,5g CaCl_2). Το δείγμα αεριζόταν για περίπου 5 λεπτά και στη συνέχεια τοποθετούνταν σε γυάλινα μπουκάλια Robotic BOD Bottles των 300ml. Έπειτα λαμβανόταν η μέτρηση οξυγόνου με τη χρήση Οξυγονόμετρο-pHmeter: WTW Mutli 3410. Στη συνέχεια τα μπουκαλάκια επωάζονταν σε επωαστικός κλίβανο WTW BOD ρυθμισμένος στους 20 °C και έπειτα από 5 ημέρες λαμβανόταν μέτρηση οξυγόνου με τη χρήση Οξυγονόμετρο-pHmeter WTW Mutli 3410. Η μέτρηση του BOD προκύπτει από την αφαίρεση των δύο αυτών μετρήσεων

και τον πολλαπλασιασμό με την εκάστοτε αραίωση, σύμφωνα με τη μέθοδο 5210B των Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

Το ζύγισμα το βιοκαταλυτών πραγματοποιούνται στη ζυγαριά: Scaltec SPB42, ενώ το ζύγισμα των πρότυπων διαλυμάτων σε ζυγαριά ακριβείας Kern & Sohn ABJ-NM.

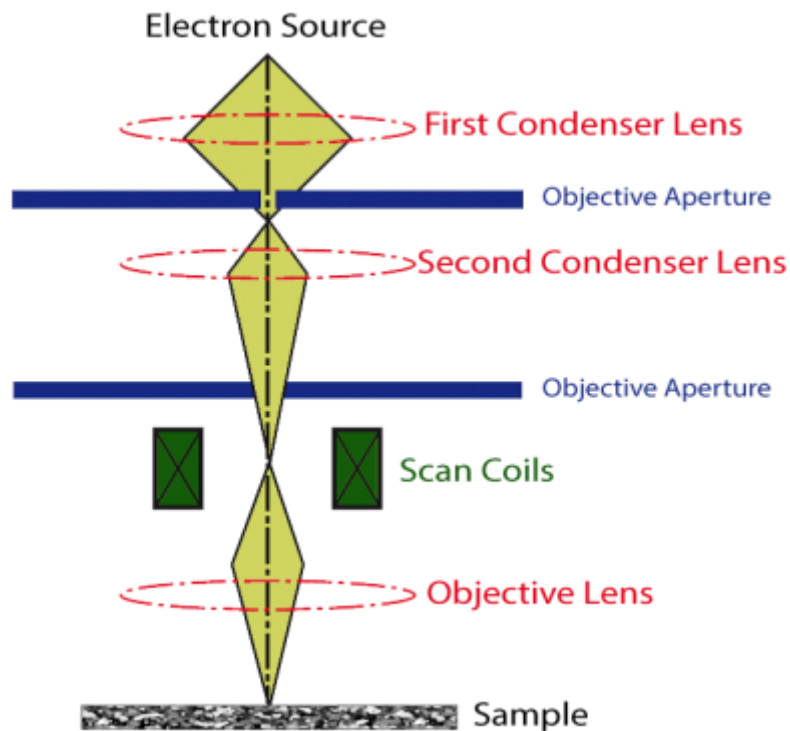
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Στοχεύοντας σε αναλυτικότερη εξέταση της ποσότητας και της θέσης των μικροοργανισμών μέσα στο PVA gel, χρησιμοποιήθηκε το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο Scanning Electrone Microscope (SEM).

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ανάλυση εικόνων υψηλής ανάλυσης. Το SEM χρησιμοποιεί τα ηλεκτρόνια για την απεικόνιση με τον ίδιο τρόπο που το οπτικό μικροσκόπιο χρησιμοποιεί το οπτικό φως. Το SEM έχει τη δυνατότητα υψηλότερης ανάλυσης από το οπτικό μικροσκόπιο.

Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης παράγεται μια δέσμη τυχαίων ηλεκτρονίων σε μια στήλη ηλεκτρονίων που βρίσκεται πάνω από το θάλαμο δείγματος. Τα ηλεκτρόνια παράγονται από μια πηγή θερμικής εκπομπής, όπως για παράδειγμα ένα θερμαινόμενο σύρμα τιτανίου ή από μια κάθοδο εκπομπής. Η ενέργεια των τυχαίων ηλεκτρονίων μπορεί να είναι μικρή της τάξης των 100eV ή πολύ υψηλή της τάξης των 30keV ανάλογα με το αντικείμενο εκτίμησης. Τα ηλεκτρόνια εστιάζονται σε μια μικρή δέσμη από μια σειρά ηλεκτρομαγνητικών φακών, οι οποίοι με τη βοήθεια ελασμάτων σάρωσης στο άκρο της στήλης κατευθύνουν τη δέσμη στην επιφάνεια του δείγματος. Η ηλεκτρονική δέσμη σαρώνεται σε ένα επιφανειακό μοτίβο προκειμένου να δημιουργηθεί η επιφάνεια. Η δέσμη μπορεί επίσης να εστιαστεί σε ένα απλό σημείο κατά μήκος του άξονα ανάλυσης με ακτίνες x.

Τα τυχαία ηλεκτρόνια προκαλούν τα ηλεκτρόνια να αποβληθούν από το δείγμα εξαιτίας ελαστικών και ανελαστικών ιδιοτήτων της επιφάνειας του δείγματος και του κοντά στην επιφάνεια υλικού. Η υψηλή ενέργεια των ηλεκτρονίων που απορρίπτεται από μια ελαστική σύγκρουση των τυχαίων ηλεκτρονίων με πυρήνες ατόμων του δείγματος αναφέρονται ως οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια. Η ενέργεια αυτών των ηλεκτρονίων είναι συγκρίσιμη με αυτή της τυχαίας δέσμης των ηλεκτρονίων. Τα εκπεμπόμενα ηλεκτρόνια χαμηλής ενέργειας είναι αποτέλεσμα της ανελαστικής σκέδασης και ονομάζονται δευτερεύοντα ηλεκτρόνια. Αυτά μπορούν να δημιουργηθούν από συγκρούσεις με τους πυρήνες από τις οποίες χάνεται ενέργεια. Η ενέργεια των δευτερεύοντων ηλεκτρονίων είναι 50eV ή μικρότερη.



Εικόνα 15: Αρχή λειτουργίας SEM

Τα δείγματα στάλθηκαν στη Μονάδα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας “Βασίλης Γαλανόπουλος” του Τμήματος Βιολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης.



Scanning Electron Microscope

Εικόνα 16: Scannin Electrone Microscope στη Μονάδα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας “Βασίλης Γαλανόπουλος” του Τμήματος Βιολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

Πριν την τοποθέτηση των δειγμάτων στο SEM, τα τελευταία ξεπλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα κακοδυλικού νατρίου 0.1M pH 7.4. Η μονιμοποίηση έγινε με διάλυμα 2% γλουταρικής αλδεΐδης και 2% παραφορμαλδεΐδης στο ίδιο ρυθμιστικό διάλυμα για τρία τέταρτα της ώρας. Ακολούθησε ξέπλυμα με το ρυθμιστικό διάλυμα. Η αφυδάτωση έγινε με μια σειρά αλκοολών -αιθανόλης- αυξανόμενης συγκέντρωσης -30%, 50%, 70%, 90%, 100%- . Η διαδικασία έγινε στους 4°C. Τα δείγματα πέρασαν σε ξηρή αλκοόλη σε θερμοκρασία δωματίου και ξηράθηκαν με τη μέθοδο ξήρανσης κρίσιμου σημείου (όργανο: Baltec, CPD 030), επικαλύφθηκαν με χρυσό (όργανο: Baltec, SCD 050) και η παρατήρησή τους έγινε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (JEOL, modelJSM-6390LV).

Στοχεύοντας στην παρατήρηση του πολλαπλασιασμού των βακτηρίων μέσα στο PVA – gel, εξετάστηκαν δείγματα τόσο από το μπουκάλι αποθήκευσής τους αλλά και από τους αντιδραστήρες. Πιο αναλυτικά, τα δείγματα που εξετάστηκαν στο SEM είναι:

- Μη ενεργοποιημένοι νιτροποιητικοί βιοκαταλύτες
- Ενεργοποιημένοι νιτροποιητικοί βιοκαταλύτες σε συνθετικό απόβλητο
- Ενεργοποιημένοι νιτροποιητικοί βιοκαταλύτες σε πραγματικό απόβλητο
- Μη ενεργοποιημένοι απονιτροποιητικοί βιοκαταλύτες
- Ενεργοποιημένοι απονιτροποιητικοί βιοκαταλύτες σε συνθετικό απόβλητο
- Ενεργοποιημένοι απονιτροποιητικοί βιοκαταλύτες σε πραγματικό απόβλητο

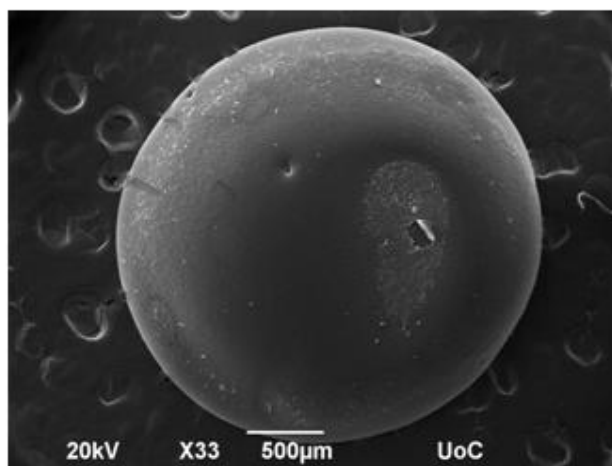
Έχοντας σαν πρότυπο (τυφλό δείγμα) τους μη ενεργοποιημένους βιοκαταλύτες, είναι ευκολότερη η παρατήρηση τόσο για τον πληθυσμό τους αλλά και για την ικανότητά τους να διαπερνούν ή όχι το PVA – gel. Επιπλέον, παρατηρώντας τους βιοκαταλύτες οι οποίοι βρίσκονταν σε διαφορετικά υγρά – συνθετικό / πραγματικό απόβλητο- θα μας δώσει την ευκαιρία να εξετάσουμε και τους μικροοργανισμούς του αποβλήτου.

Αρχικά πραγματοποιείται παρατήρηση εξωτερικά του δείγματος, ενώ στη συνέχεια το δείγμα θρυμματίζεται ώστε να πραγματοποιηθεί παρατήρηση και στο εσωτερικό του.

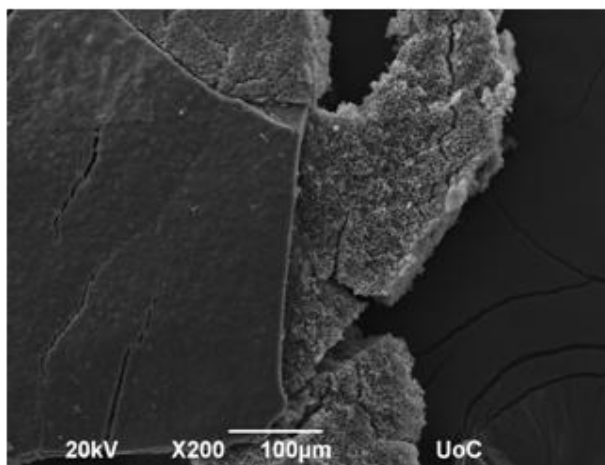
Παρακάτω παρουσιάζονται οι εικόνες που προέκυψαν από την παρατήρηση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου:

6.1 ΜΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS

Αρχικά παρουσιάζεται το εξωτερικό μέρος του βιοκαταλύτη αλλά και μια εικόνα μετά τη θρυμματίση του ώστε να αποκαλυφθεί και το εσωτερικό του μέρος (Εικόνα 18). Το σχήμα τους παρουσιάζεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ως σφαιρικό που σχηματίζει συσσωματώματα όταν πολλοί από αυτούς ενωθούν. Η επιφάνεια του βιοκαταλύτη είναι λεία και ως εκ τούτου δεν ευνοείται η προσκόλληση άλλων μικροοργανισμών στην επιφάνειά της. Ακόμα, οι σχηματισμένες κυψέλες στο εσωτερικό του βιοκαταλύτη λειτουργούν ως «φωλιά» για τα νέα κύτταρα που παράγονται από πολλαπλασιασμό των παλαιότερων.



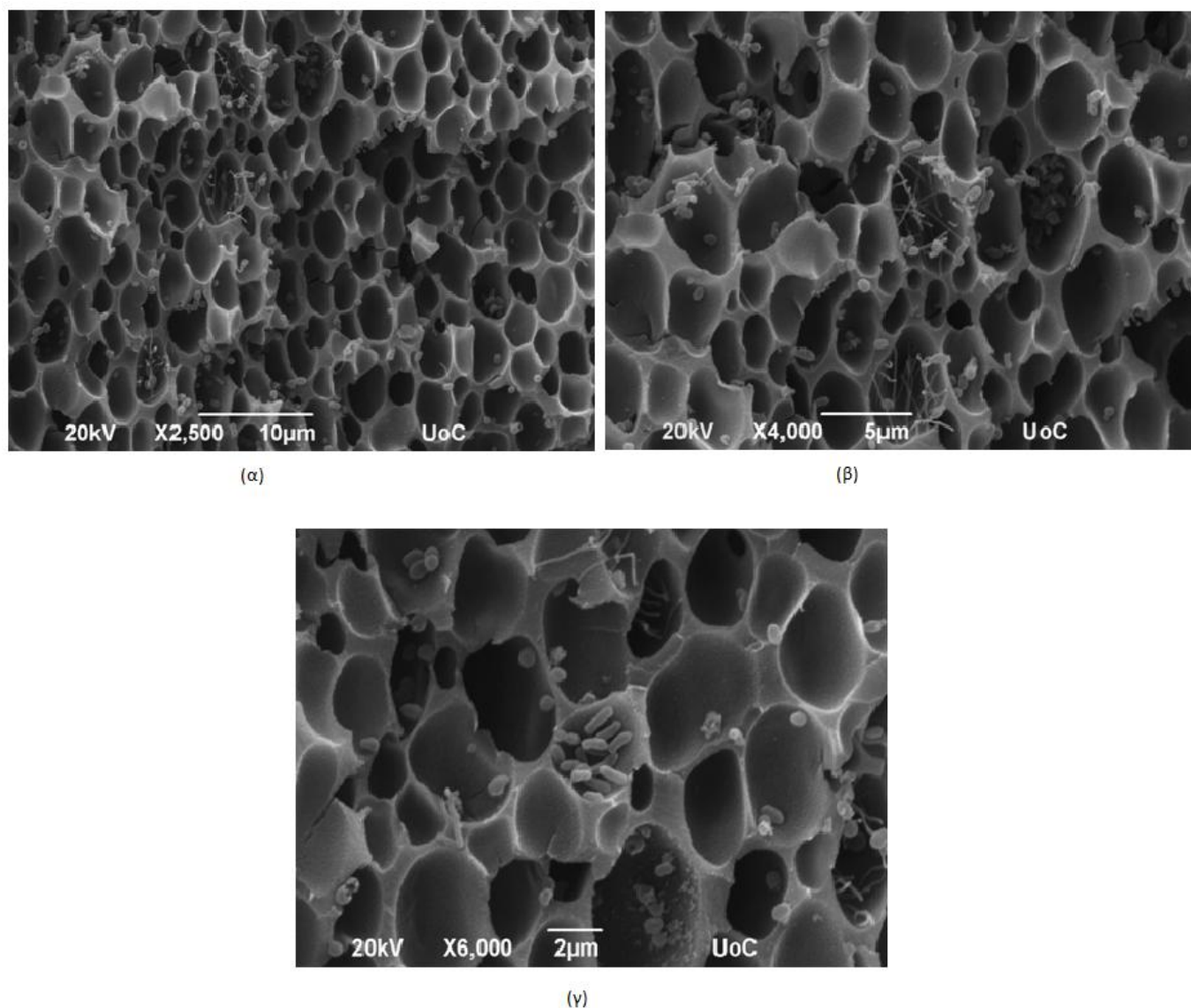
(α)



(β)

Εικόνα 17 : (α) Εξωτερική όψη μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats, (β) Εξωτερική και εσωτερική όψη μετά τη θρυμματίση νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM

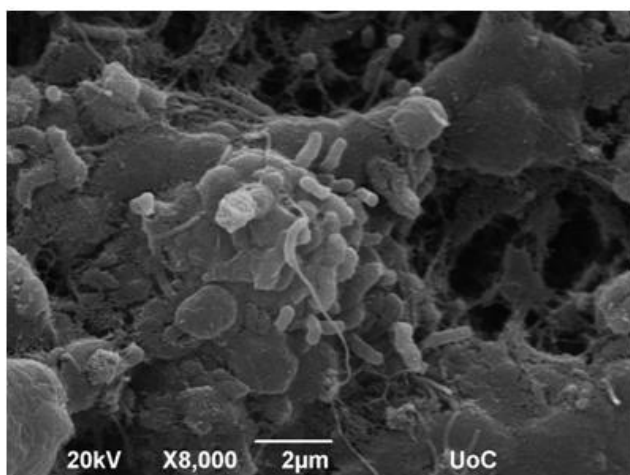
Στη συνέχεια παρουσιάζεται το εσωτερικό του νιτροποιητικού βιοκαταλύτη σε διάφορες μεγεθύνσεις (Εικόνα 19), με σκοπό την παρατήρηση των βακτηρίων τόσο μέσα σε ομάδες αλλά και μεμονωμένα.



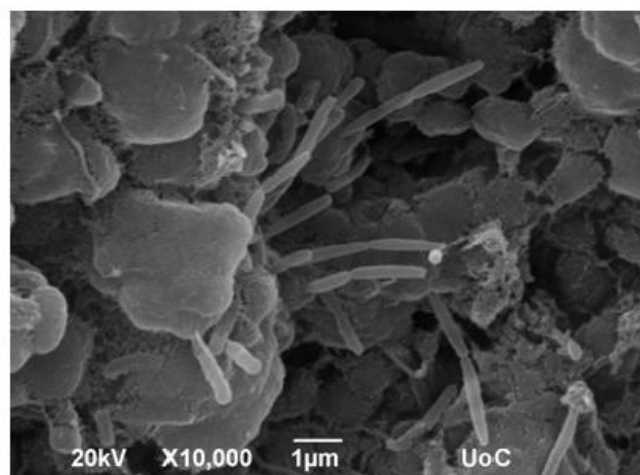
Εικόνα 18: Εσωτερική όψη μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x2500 (β) x4000 και (γ) x6000

Παρατηρώντας τις παραπάνω εικόνες, είναι εμφανής η τάση των βακτηρίων να δημιουργούν ομάδες μέσα στις οπές του PVA – gel. Όπως φαίνεται από τις εικόνες του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου η ενσωμάτωση των μικροοργανισμών όταν αυτοί είναι μη ενεργοποιημένοι είναι σποραδική και μη ομοιόμορφη. Επιπλέον παρατηρείται το γεγονός ότι δεν είναι όλες οι οπές γεμάτες από μικροοργανισμούς. Αυτό συμβαίνει επειδή σε κάθε φακοειδή βιοκαταλύτη εκχύεται συγκεκριμένος αριθμός μικροοργανισμών (40 g/g), έτσι ώστε οι μικροοργανισμοί να έχουν χώρο κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής τους και να αποτραπεί η έξοδός τους από το υλικό.

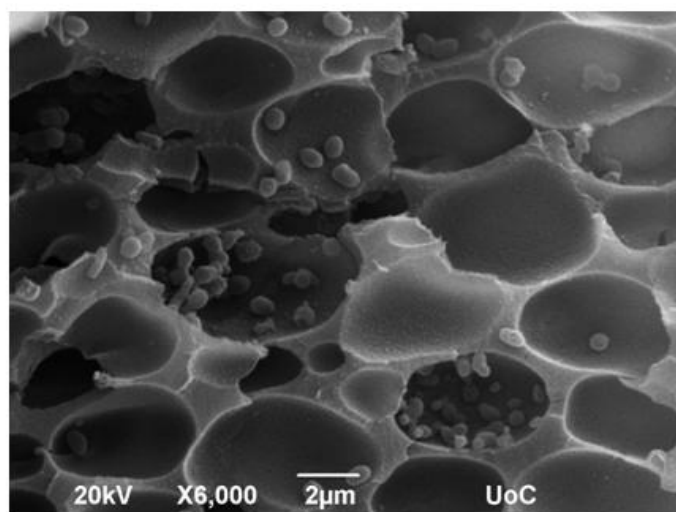
Στοχεύοντας στην παρατήρηση του σχήματος των μικροοργανισμών, πραγματοποιήθηκε μεγαλύτερη μεγέθυνση στους μικροοργανισμούς (Εικόνα 20). Όπως παρουσιάζεται παρακάτω τα βακτήρια παρουσιάζουν ραβδοειδές αλλά και κοκκοειδές σχήμα.



(α)



(β)

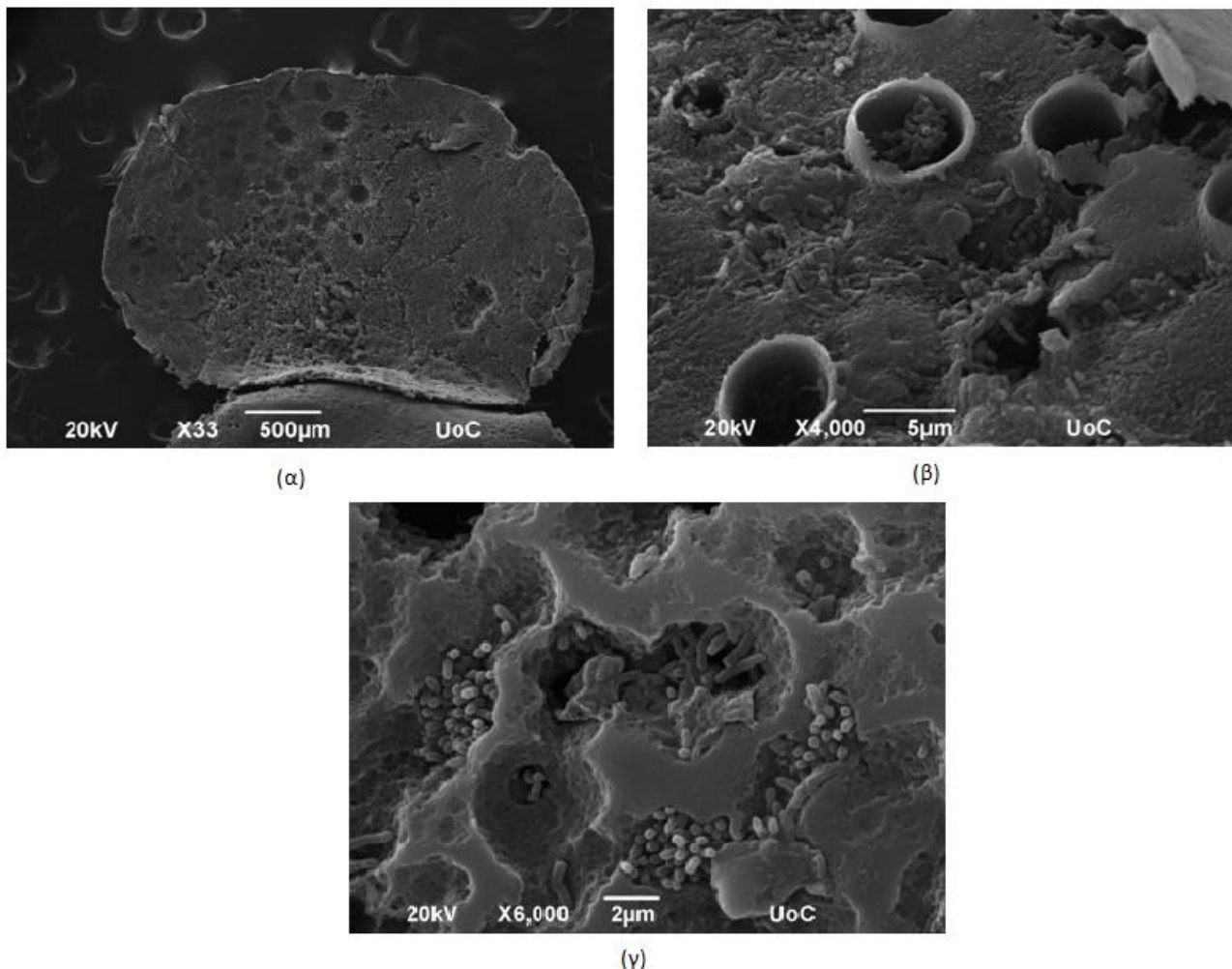


(γ)

Εικόνα 19: Εσωτερική όψη μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x8000 (β)x10000 και (γ) x6000

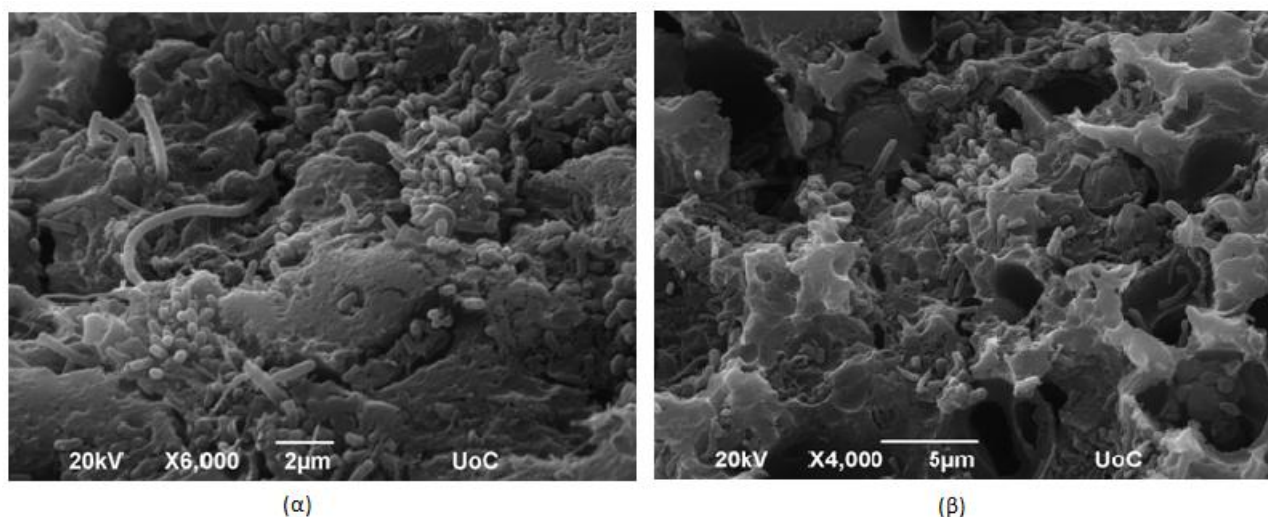
6.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ ΛΕΝΤΙΚΑΤΣ ΜΕΣΑ ΣΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Συγκρίνοντας την εικόνα της εξωτερικής μορφής ενός μη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού βιοκαταλύτη με αυτή ενός ενεργοποιημένου, παρατηρείται ότι ο τελευταίος παρουσιάζεται αρκετά ταλαιπωρημένος, χωρίς λεία μορφή με κάποια ανοίγματα – σκισίματα του PVA – gel από τα οποία όπως φαίνεται στην Εικόνα 21 μπορούν να εξέλθουν οι μικροοργανισμοί.



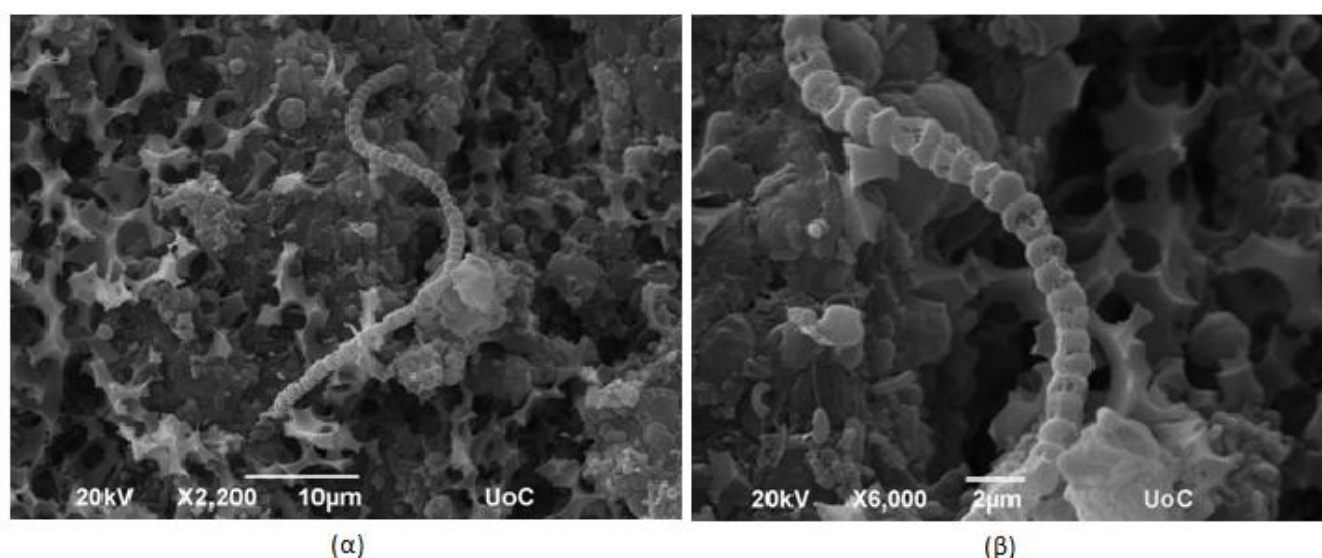
Εικόνα 20: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x500 (β)x4000 και (γ) x6000

Όπως ήταν αναμενόμενο, εισέρχοντας στο εσωτερικό του υλικού, παρατηρείται αυξημένος πληθυσμός βακτηρίων από αυτόν στους μη ενεργοποιημένους νιτροποιητές. Τα βακτήρια έχουν καταλάβει το μεγαλύτερο μέρος των οπών του υλικού (Εικόνα 22), ενώ ο πληθυσμός τους σε κάθε οπή είναι αρκετά αυξημένος. Το σχήμα και το μέγεθός τους δεν παρουσιάζει αλλαγές.



Εικόνα 21: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x6000 και (β)x4000

Επιπλέον, στο συγκεκριμένο δείγμα ήταν εμφανής και η αναπαραγωγή των βακτηρίων με κοκκοειδές σχήμα δημιουργώντας το σχήμα «αλυσίδας» έτσι ώστε οι μικροοργανισμοί να αποκτούν τη μορφή «σκουλικίου» (Εικόνα 23).



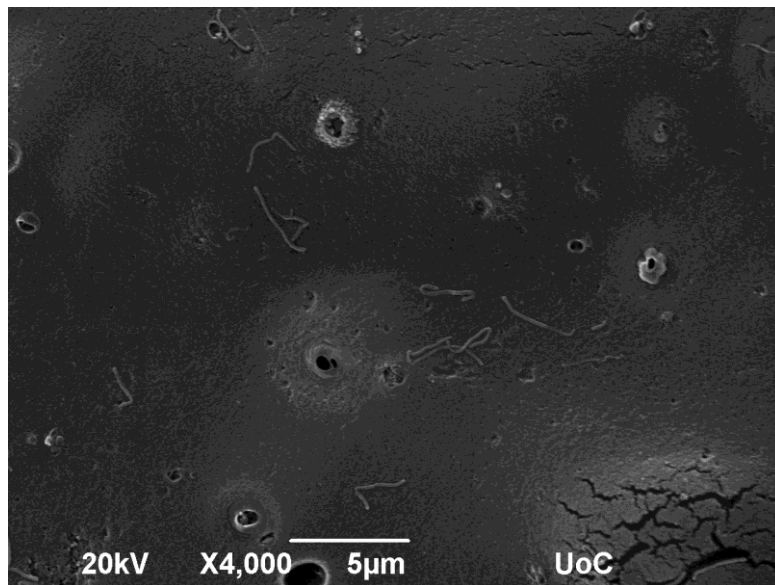
Εικόνα 22: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x2200 και (β)x6000

6.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

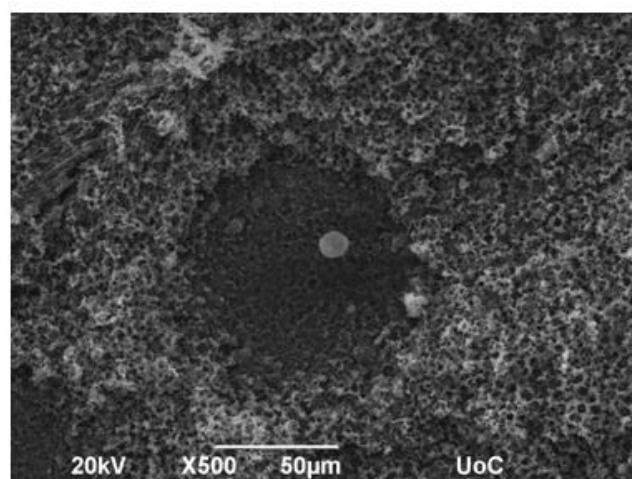
Παρατηρώντας το εξωτερικό μέρος του νιτροποιητικού βιοκαταλύτη, ο οποίος βρίσκονταν σε βιοαντιδραστήρα με αστικό απόβλητο, είναι μικρός πληθυσμός μικροοργανισμών ο οποίος θα μπορούσε να είναι από το απόβλητο όπως φαίνεται στην Εικόνα 24. Παρόλα αυτά, το γεγονός ότι δεν εμφανίζεται σημαντική ανάπτυξη μικροοργανισμών στην επιφάνεια του βιοκαταλύτη

υποδεικνύει ότι δεν υπάρχει σημαντική ανάπτυξη ετερότροφων μικροοργανισμών στο βιοαντιδραστήρα της νιτροποίησης.

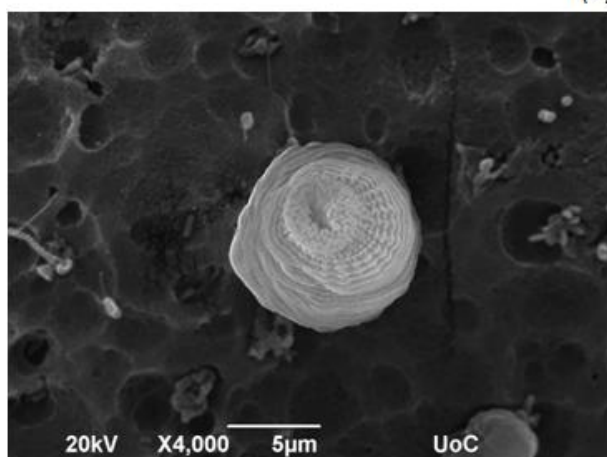
Επίσης στην Εικόνα 25 εμφανίζεται το πρωτόζωο *Vorticella*. Σημαντική παρατήρηση θεωρείται το γεγονός ότι στη γύρω περιοχή της, δεν παρατηρείται πληθυσμός βακτηρίων. Σύμφωνα με την τελευταία παρατήρηση, υποθέτουμε ότι το συγκεκριμένο πρωτόζωο μπορεί να επιφέρει μικρή μείωση στο μικροβιακό πληθυσμό των νιτροποιητών.



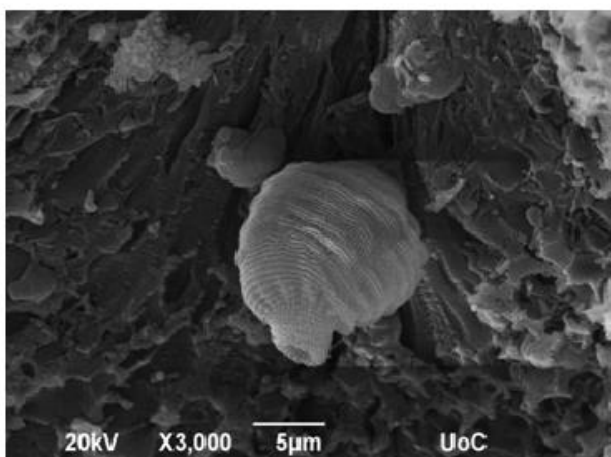
Εικόνα 23: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση x4000



(α)



(β)



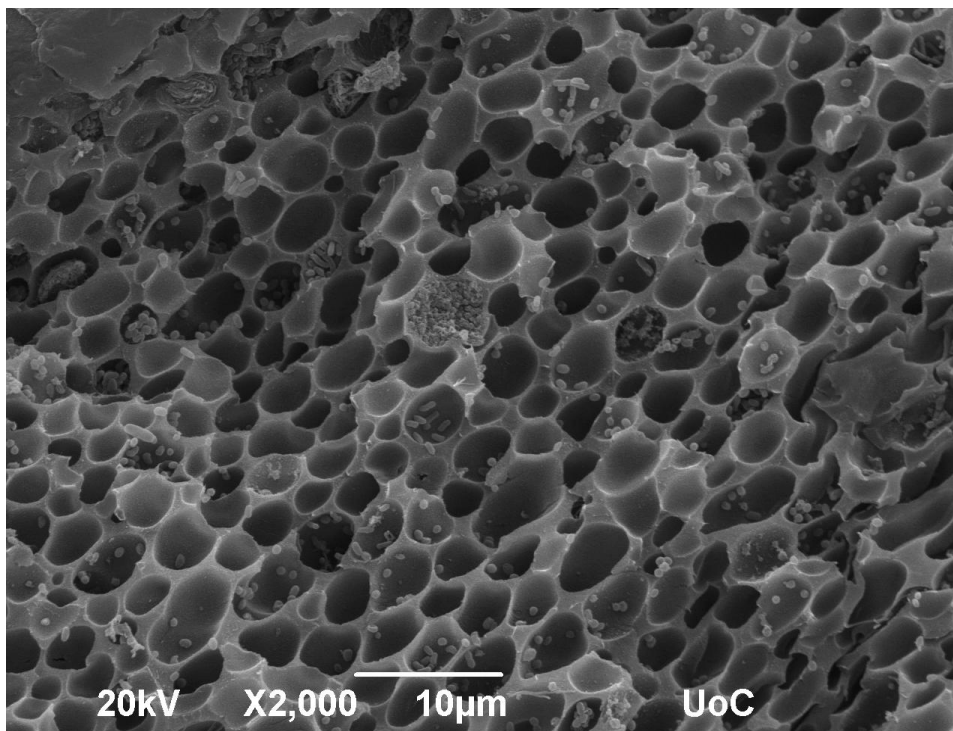
(γ)

Εικόνα 24 : Εμφάνιση του πρωτόζωου *Vorticella* στην εξωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x500 , (β) x4000 και (γ) x3000

Η *Vorticella* είναι ετερότροφος μικροοργανισμός που τρέφεται με βακτήρια. Η *Vorticella* χρησιμοποιεί τις βλεφαρίδες τους για να δημιουργήσουν ένα ρεύμα του νερού (vortex) ώστε κατευθύνει τα τρόφιμα προς το στόμα του (Amos, 1972).

Το συγκεκριμένο πρωτόωο εμφανίζεται σε γλυκά ή αλμυρά νερά που συνδέονται με υδρόβια φυτά, βυθισμένος αντικείμενα, ή σε υδρόβια ζώα (Itabashi et al., 2002).

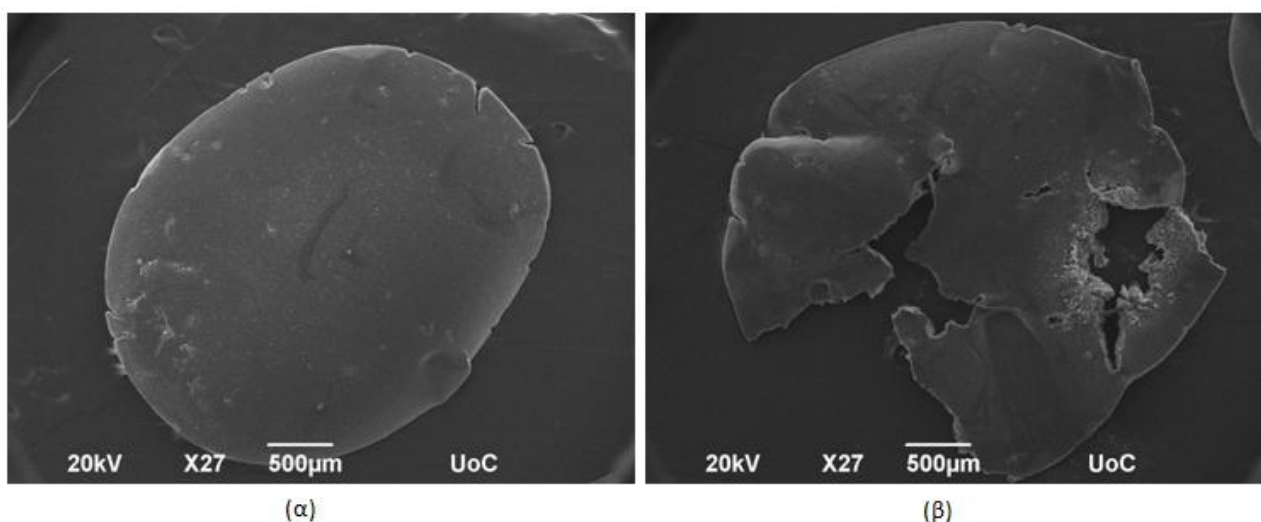
Παρατηρείται επίσης αυξημένο πλήθος νιτροποιητών στο εσωτερικό της κυψέλης, και πιο συγκεκριμένα στις οπές του υλικού όπως μπορούμε να δούμε στην Εικόνα 26.



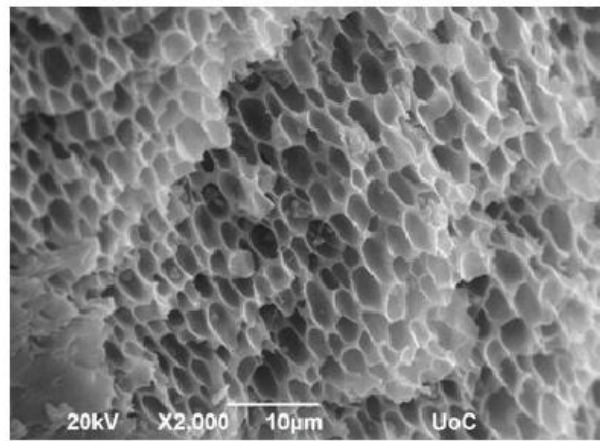
Εικόνα 25: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση x2000

6.4 ΜΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS

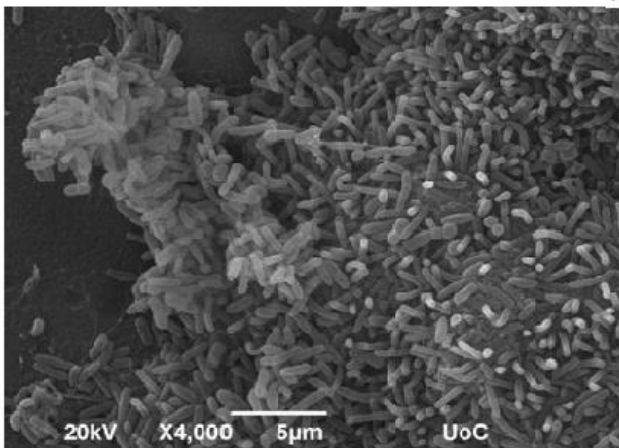
Στην περίπτωση των μη ενεργοποιημένων απονιτροποιητών το σχήμα τους είναι παρόμοιο με αυτό των νιτροποιητών. Παρακάτω στην Εικόνα 27 παρουσιάζεται η συνολική και η θρυμματισμένη εξωτερική μορφή του μη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού βιοκαταλύτη. Ο βιοκαταλύτης θρυμματίστηκε με σκοπό την παρατήρηση των ενθυλακωμένων βακτηρίων στο εσωτερικό του. Επιπλέον, παρατηρώντας την Εικόνα 27 είναι εμφανής η ομοιότητα του εσωτερικού της κυψέλης με αυτή των νιτροποιητικών βιοκαταλυτών. Ουσιαστικά στο ίδιο υλικό έχουν ενθυλακωθεί διαφορετικά είδη μικροοργανισμών.



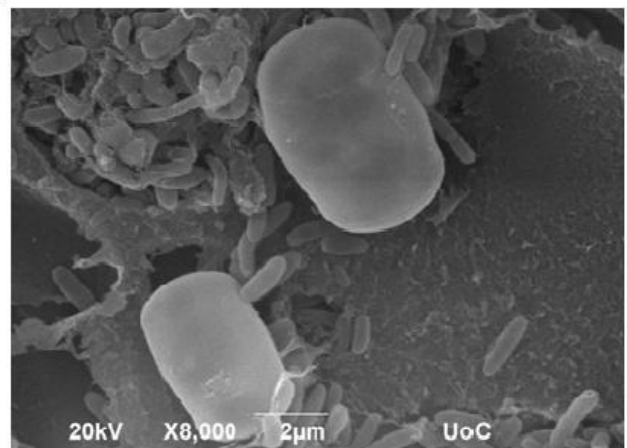
Εικόνα 26: (α) Εξωτερική όψη μη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats, (β) Εξωτερική όψη μετά τη θρυμμάτιση απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM



(α)



(β)



(γ)

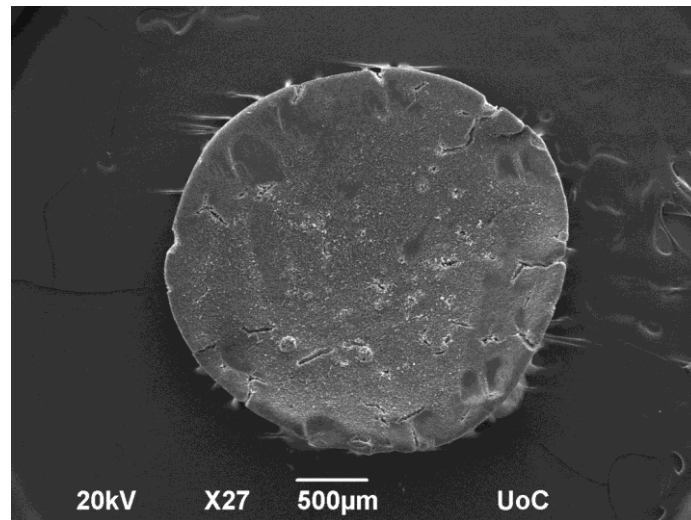
Εικόνα 27 : Εσωτερική όψη μη ενεργοποιημένου απο νιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγέθυνση (α) x2000 (β)x4000 και (γ)x 8000

Τα διαφορετικά είδη μικροοργανισμών είναι πιο εμφανή στην Εικόνα 28 (β) και (γ) , με μεγαλύτερη μεγέθυνση. Παρατηρούνται βακτήρια με ραβδοειδές σχήμα αλλά και με πιο σφαιρικό. Μια σημαντική παρατήρηση είναι διαφορά το πλήθος αυτών των δύο μικροοργανισμών που έχουν εκχυθεί στο PVA – gel, με το βακτήριο ραβδοειδούς σχήματος να υπερτερεί πληθυσμιακά.

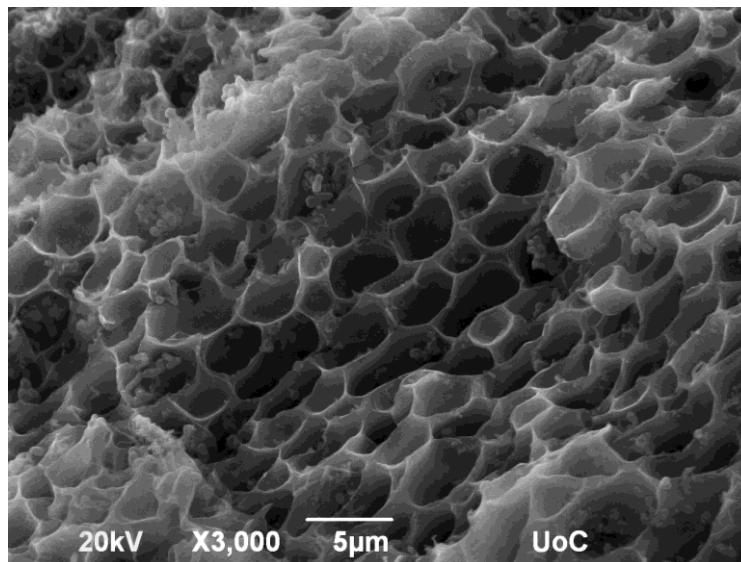
6.5 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Όπως ήταν αναμενόμενο η μορφή του ενεργοποιημένου βιοκαταλύτη παρουσιάζει διαφορές από το μη ενεργοποιημένο. Φαίνεται πως όταν οι απονιτροποιητές ενεργοποιούνται η επιφάνεια χάνει τη λειότητα της και οι απονιτροποιητές δημιουργούν ανομοιογένεια σε αυτήν κάτι το οποίο διακρίνεται στην Εικόνα 29.

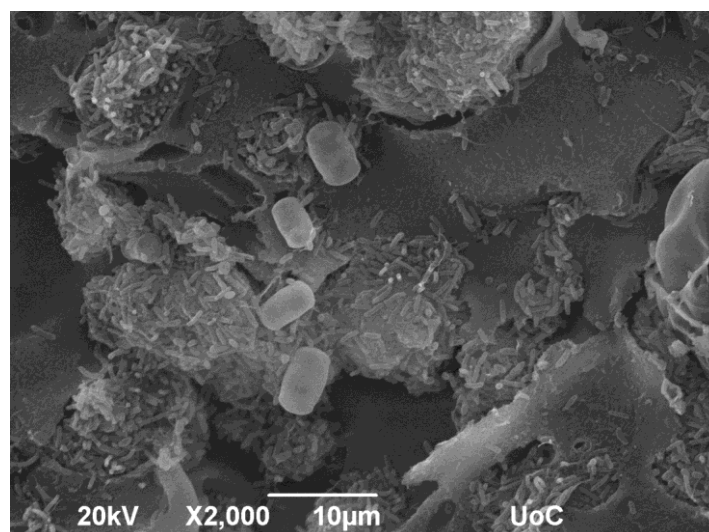
Επίσης παρουσιάζεται μεγαλύτερος μικροβιακός πληθυσμός μέσα στις οπές της κυψέλης, ενώ ακόμα και στο ενεργοποιημένο βιοκαταλύτη το βακτήριο με το ραβδοειδές σχήμα φαίνεται να υπερτερεί πληθυσμιακά όπως φαίνεται στην Εικόνα 30 και στην Εικόνα 31.



Εικόνα 28: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lenticats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM



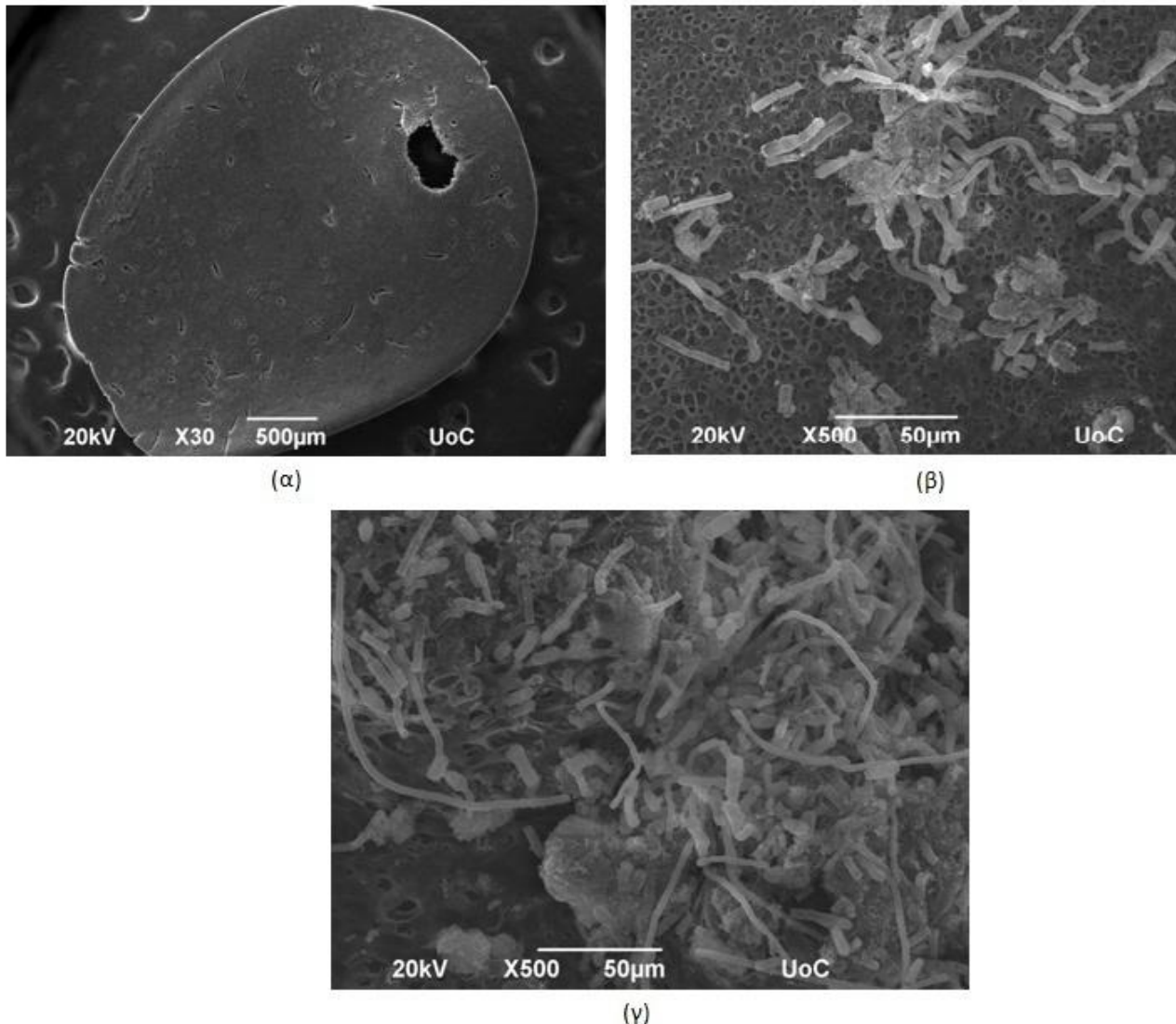
Εικόνα 29: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lenticats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM



Εικόνα 30: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lenticats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM

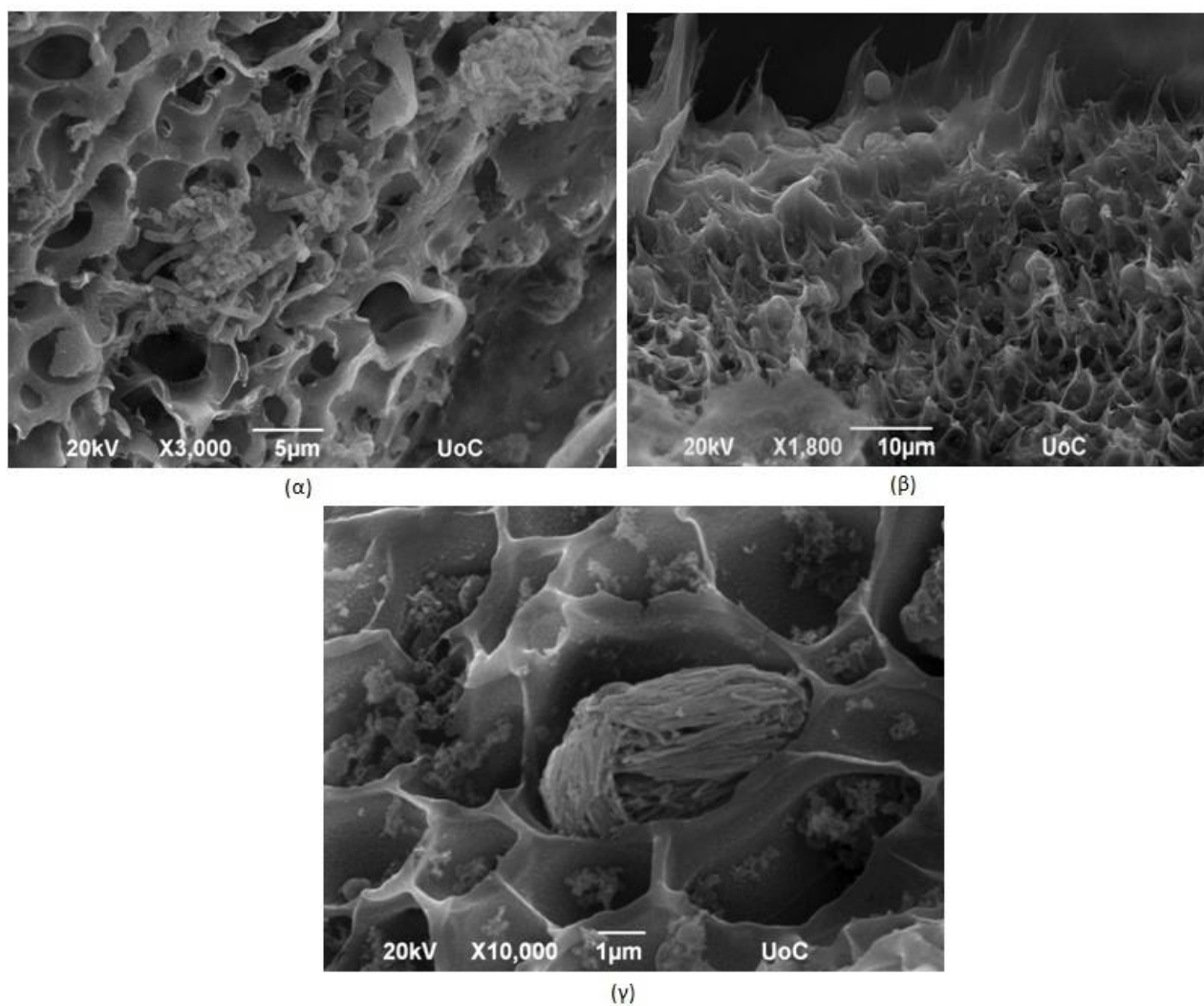
6.6 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ LENTIKATS ΜΕΣΑ ΣΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Παρατηρώντας την Εικόνα 32, παρουσιάζεται μικροβιακό φορτίο στο εξωτερικό μέρος της κυψέλης, το οποίο υπάρχει πιθανότητα να οφείλεται στο μικροβιακό πληθυσμό του αστικού αποβλήτου. Παρόλα αυτά, παρατηρώντας και τα ανοίγματα στις οπές της κυψέλης δεν μπορούμε να αποκλείσουμε την πιθανότητα εξόδου των βακτηρίων από αυτή.



Εικόνα 31: Εξωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία αστικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγεθύνσεις (α) x30 (β) x500 και (γ)x500

Παρατηρώντας την Εικόνα 33 όπου φαίνεται το εσωτερικό της κυψέλης, εμφανίζονται ανομοιόμορφοι σχηματισμοί στις ομάδες των μικροβίων, ενώ παρατηρούνται το ίδιο είδος μικροβίων με των προηγούμενων απονιτροποιητικών δειγμάτων.



Εικόνα 32: Εσωτερική όψη ενεργοποιημένου απονιτροποιητικού Βιοκαταλύτη Lentikats με λειτουργία συνθετικού αποβλήτου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο SEM σε μεγεθύνσεις (α) x3000. (β) x1800 και (γ) x10000

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν σε όλες τις περιόδους και φάσεις του πειράματος.

7.1 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΡΩΤΗ – ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΚΑΤΑΛΥΤΩΝ LENTIKATS

7.1.1 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR)

Σύμφωνα με τον Πίνακα 19, η ενεργοποίηση των νιτροποιητικών βακτηρίων πραγματοποιείται μετά από χρονικό διάστημα δέκα ημερών. Αναμένοντας ότι στις αρχικές πρώτες ημέρες οι βιοκαταλύτες δεν είχαν ενεργοποιηθεί, το αμμωνιακό άζωτο μετρήθηκε σε χρονικό διάστημα διαφορετική των 2 ωρών. Έπειτα, για τον υπολογισμό της ενεργότητας η μέτρηση του αμμωνιακού αζώτου γινόταν σε χρονικό διάστημα 2 ωρών, κάθε ημέρα.

Παρατηρώντας την στήλη της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου, αντιστοιχούν δύο διαφορετικές τιμές σε κάθε ημέρα. Η πρώτη μέτρηση αμμωνιακού αζώτου κάθε ημέρας πραγματοποιείται μετά την προσθήκη του $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ στον αντιδραστήρα, ενώ η δεύτερη μέτρηση πραγματοποιείται μετά από τον αντίστοιχο χρόνο αντίδρασης, όπως φαίνεται στον Πίνακα 19. Έτσι, ανάλογα τον χρόνο αντίδρασης παρατηρείται κατανάλωση του αμμωνιακού αζώτου από τους βιοκαταλύτες, σύμφωνα με την οποία υπολογίζεται και η ενεργότητά τους.

Σύμφωνα με την εταιρία Lentikats οι νιτροποιητικού βιοκαταλύτες θεωρούνται ενεργοποιημένοι και έτοιμοι προς χρήση όταν η ενεργότητά τους κυμαίνεται μεταξύ 300 με 500 $\text{mg}/(\text{kg}_{\text{BL}} \text{ h})$.

Πίνακας 19: Αποτελέσματα συγκέντρωσης $\text{NH}_4^+\text{-N}$ και ενεργότητας για νιτροποιητικό Βιοκαταλύτη Lentikats σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου

Ημέρα	Συγκέντρωση $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/L)	Χρόνος αντίδρασης (h)	Ενεργότητα (mg/(kg _{BL} h))
1	127	24	42.3
	0.25		
2	301.25	24	68.8
	94.75		
3	275	1.5	193.3
	238.75		
4	225	1.6	142.5
	196.5		
5	210	1.5	160
	180		
6	135	2	146
	98.5		
7	151.25	2	102
	125.75		
8	186.5	2	166
	145		
9	179.5	2	358
	90		
10	181.5	2	382
	86		

7.1.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ (BATCH BIOREACTOR)

Τα απονιτροποιητικά βακτήρια ενεργοποιούνται με τη μέθοδο που αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο. Η ενεργότητα των απονιτροποιητικών βακτηρίων υπολογίστηκε με βάση τις μετρήσεις που φαίνονται στον Πίνακα 20. Για τον υπολογισμό της ενεργότητας των απονιτροποιητικών βακτηρίων χρησιμοποιείται η κατανάλωση του νιτρικού αζώτου κάθε ημέρας, εξαρτώμενη από τον αντίστοιχο χρόνο αντίδρασης. Η παραπάνω κατανάλωση νιτρικού αζώτου προκύπτει από την αφαίρεση των συγκεντρώσεων νιτρικού αζώτου κάθε ημέρας, αντίστοιχα. Η πρώτη μέτρηση νιτρικού αζώτου κάθε ημέρας πραγματοποιείται μετά την προσθήκη του NaNO_3 στον αντιδραστήρα, ενώ η δεύτερη μέτρηση πραγματοποιείται μετά από τον αντίστοιχο χρόνο αντίδρασης, όπως φαίνεται στον Πίνακα 20.

Σύμφωνα με την εταιρία Lentikats, οι απονιτροποιητικού βιοκαταλύτες θεωρούνται ενεργοποιημένοι και έτοιμοι προς χρήση όταν η ενεργότητά τους κυμαίνεται μεταξύ 500 με 600 $\text{mg}/(\text{kg}_{\text{BL}} \text{ h})$.

Συγκριτικά με τους νιτροποιητικούς βιοκαταλύτες, απαιτήθηκε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για την ενεργοποίηση των απονιτροποιητικών. Παρατηρείται ότι οι απονιτροποιητικοί βιοκαταλύτες χρειάστηκαν 15 ημέρες για να ενεργοποιηθούν.

Επίσης, σύμφωνα με την εταιρία Lentikats Biotechnologies, στο συγκεκριμένο στάδιο, η συγκέντρωση του TOC έπρεπε να υπερβαίνει τα 800mg/L.

Πίνακας 20 : Αποτελέσματα συγκέντρωσης $\text{NO}_3^- \text{-N}$ και ενεργότητας για απονιτροποιητικό Βιοκαταλύτη Lentikats σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου

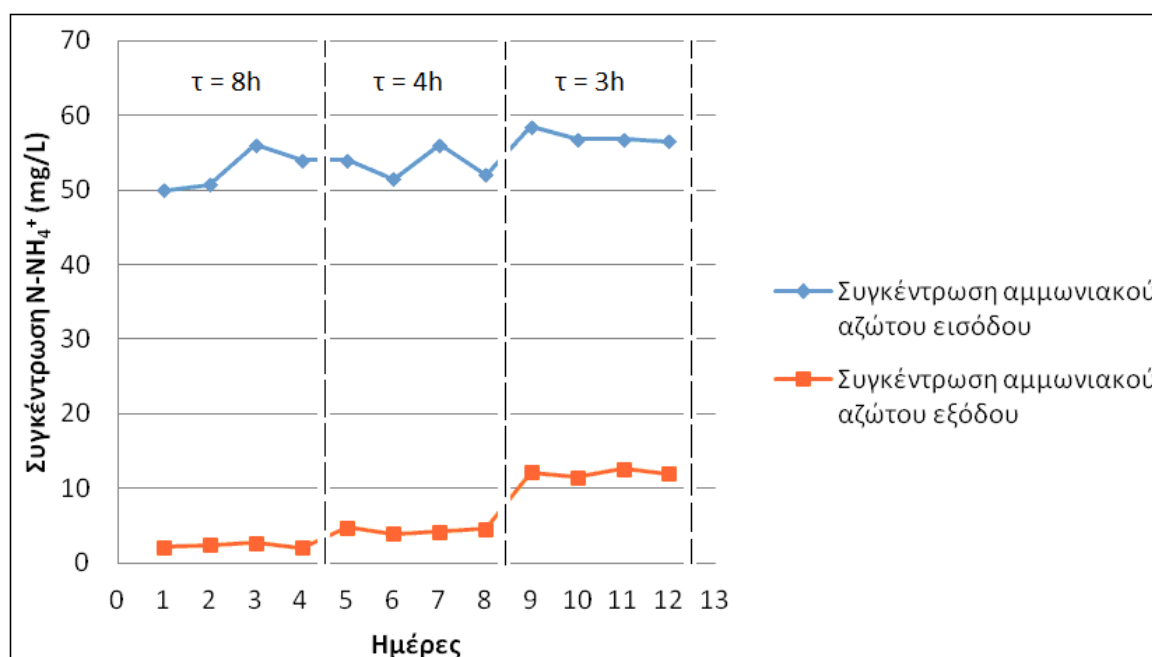
Ημέρα	Συγκέντρωση $\text{NO}_3^- \text{-N}$ (mg/L)	Χρόνος αντίδρασης (h)	Ενεργότητα ($\text{mg}/(\text{kg}_{\text{BL}} \text{ h})$)
1	40	24	11
	2		
2	85	24	23
	5		
3	95	24	24
	10		
4	195	24	50
	19		
5	215	24	60
	2		
6	255	24	72
	2		
7	230	24	63
	9		
8	190	2	160
	143		
9	185	2	204
	125		

10	195	2	211
	133		
11	200	2	272
	120		
12	260	2	408
	140		
13	270	2	510
	120		
14	346	2	520
	193		
15	320	2	554
	157		

7.2 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΔΕΥΤΕΡΗ – ΜΕΜΟΝΟΜΕΝΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΕΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ

7.2.1 ΦΑΣΗ 1 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Στο Διάγραμμα 1 (και Πίνακα 1^A Παραρτήματος) φαίνονται τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις της πρώτης φάσης της δεύτερης περιόδου. Επομένως μελετάμε τον βιοαντιδραστήρα συνεχούς ροής της νιτροποίησης με χρήση συνθετικού αποβλήτου, εξετάζοντας τις συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου στην είσοδο και στην έξοδο από αυτόν.



Διάγραμμα 1: Συγκέντρωση $N-NH_4^+$ στα ρεύματα εισόδου και εξόδου του αντιδραστήρα νιτροποίησης συνεχούς ροής Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h.

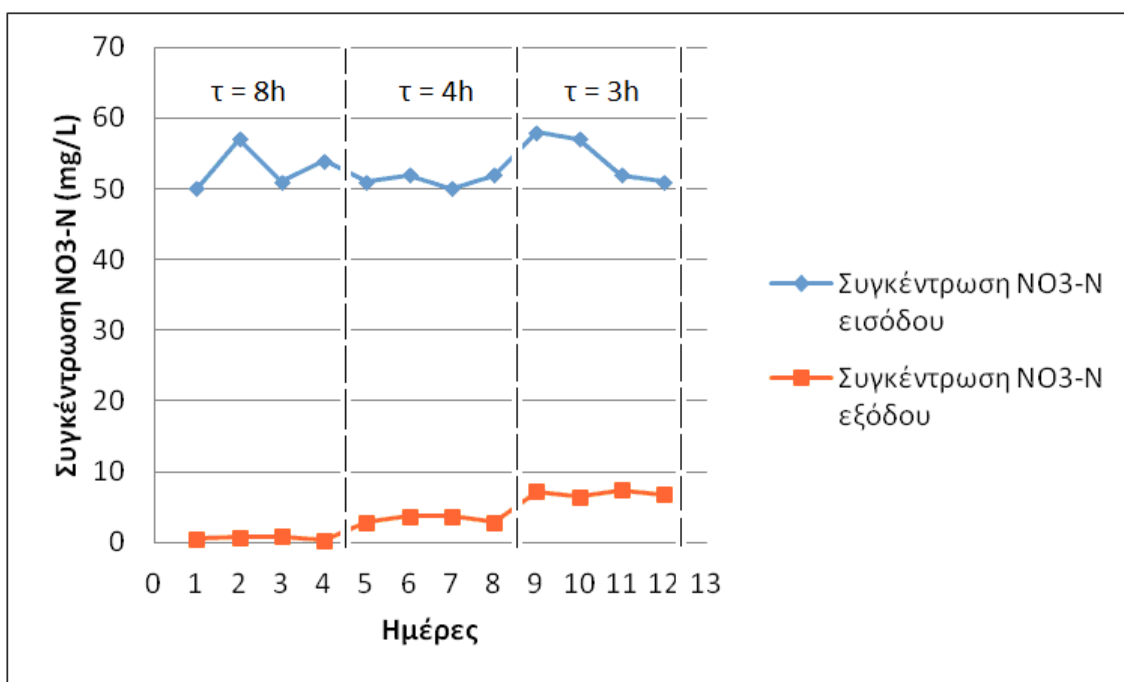
Οι συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου στην είσοδο του αντιδραστήρα έχουν προσαρμοστεί σύμφωνα με αυτές αστικού αποβλήτου και κυμαίνονται μεταξύ 50 με 57 mg/L.

Τα ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακού αζώτου του συγκεκριμένου συστήματος, για χρόνους παραμονής ίσους με 8, 4 και 3h είναι ίσα με 95.6%, 91.75% και 78.85%, αντίστοιχα. Όπως ήταν

αναμενόμενο το σύστημα συμπεριφέρεται καλύτερα σε μεγαλύτερους χρόνους παραμονής. Στο σημείο αυτό είναι σημαντικό να παρατηρήσουμε ότι σε χρόνο παραμονής 8h το ποσοστό απομάκρυνσης αμμωνιακού αζώτου μπορεί να φθάσει περίπου το 96%, παρουσιάζοντας χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου στην έξοδο του αντιδραστήρα. Παρατηρείται επίσης ομοιομορφία στις μετρήσεις της εξόδου του αντιδραστήρα, επομένως υπάρχει μικρή πιθανότητα σφαλμάτων.

7.2.2 ΦΑΣΗ 2 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Στο Διάγραμμα 2 (Πίνακας 2^Α Παραρτήματος) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το συνεχές σύστημα απονιτροποιητικών βακτηρίων με χρήση συνθετικού αποβλήτου- δεύτερη φάση της δεύτερης περιόδου του πειράματος. Η συγκέντρωση νιτρικού αζώτου μετράται τόσο στην είσοδο όσο και στην έξοδο του βιοαντιδραστήρα.



Διάγραμμα 2: Συγκέντρωση $N-NO_3^-$ στα ρεύματα εισόδου και εξόδου του αντιδραστήρα απονιτροποίησης συνεχούς ροής Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h.

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 2 η συγκέντρωση των $N-NO_3$ που εισέρχονται στον αντιδραστήρα καταναλώνονται με σταθερό ρυθμό και σχεδόν ολοκληρωτικά ανεξάρτητα από τις ημέρες αντίδρασης στις οποίες πραγματοποιείται η μέτρηση.

Τα ποσοστά απομάκρυνσης νιτρικού αζώτου σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h ισούται με 98.84%, 93.56% και 87.15%, αντίστοιχα. Κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα στο χρόνο παραμονής 8h παρατηρούνται μηδενικές συγκεντρώσεις νιτρικού αζώτου στην έξοδο του αντιδραστήρα.

Παρατηρείται επίσης ομοιομορφία στις μετρήσεις μεταξύ των ίδιων χρόνων παραμονής, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο την πιθανότητα σφάλματος στη μέτρηση.

7.3 ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΤΡΙΤΗ – ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

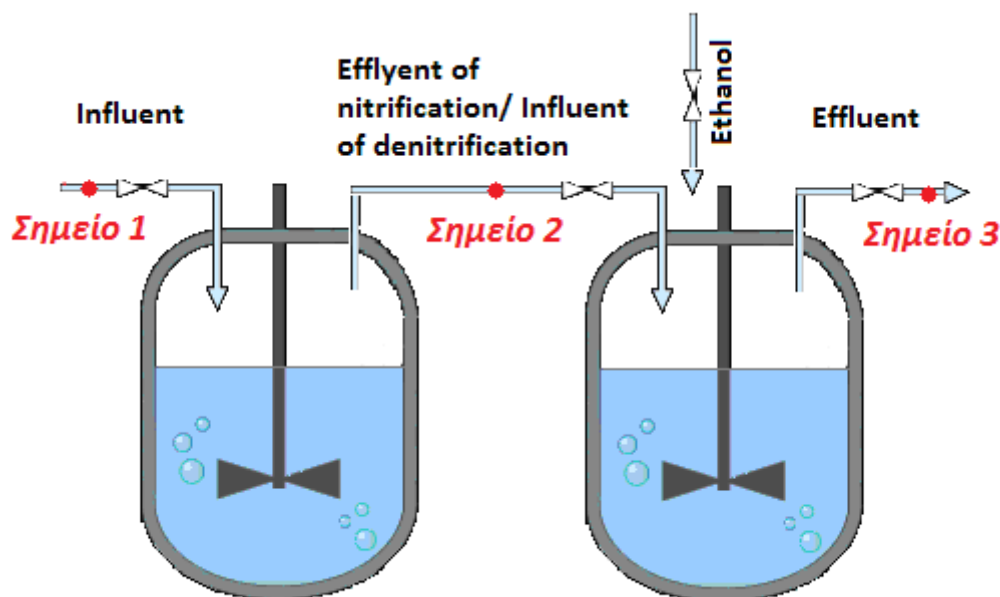
7.3.1 ΦΑΣΗ 1 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Στα Διαγράμματα 3, 4, 5 και 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πρώτης φάσης της τρίτης περιόδου του πειράματος. Στο σημείο αυτό παρουσιάζεται ένα διάγραμμα ροής της πειραματικής διάταξης ώστε να γίνουν κατανοητά τα σημεία στα οποία αναφέρονται οι μετρήσεις.

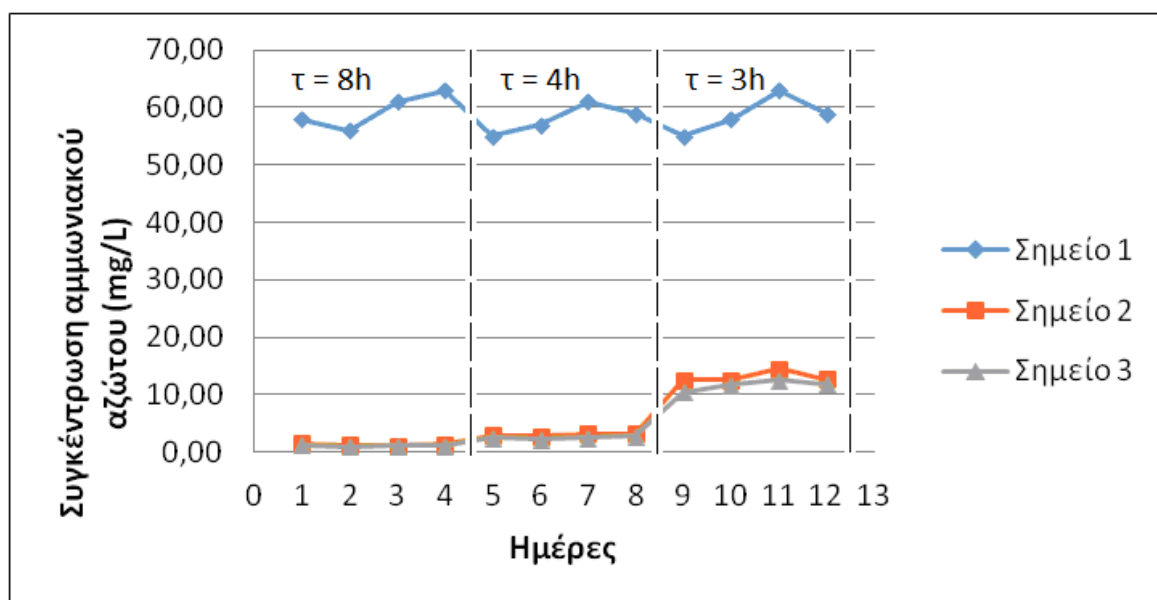
Ως σημείο 1 έχει ονομαστεί η είσοδος του αντιδραστήρα της νιτροποίησης. Το σημείο 2 αναφέρεται στην έξοδο του αντιδραστήρα της νιτροποίησης και επομένως της εισόδου στον αντιδραστήρα της απονιτροποίησης. Ως σημείο 3 ονομάστηκε η έξοδος του αντιδραστήρα της απονιτροποίησης.

Σε κάθε σημείο πραγματοποιούνται μετρήσεις συγκέντρωσης αμμωνιακού, νιτρικού και νιτρώδους αζώτου καθώς και της συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα.

Στην περίοδο αυτή μελετάται ακόμα το συνθετικό απόβλητο, του οποίου οι συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου έχουν προσομοιαστεί με πραγματικές συγκεντρώσεις από αστικό απόβλητο.

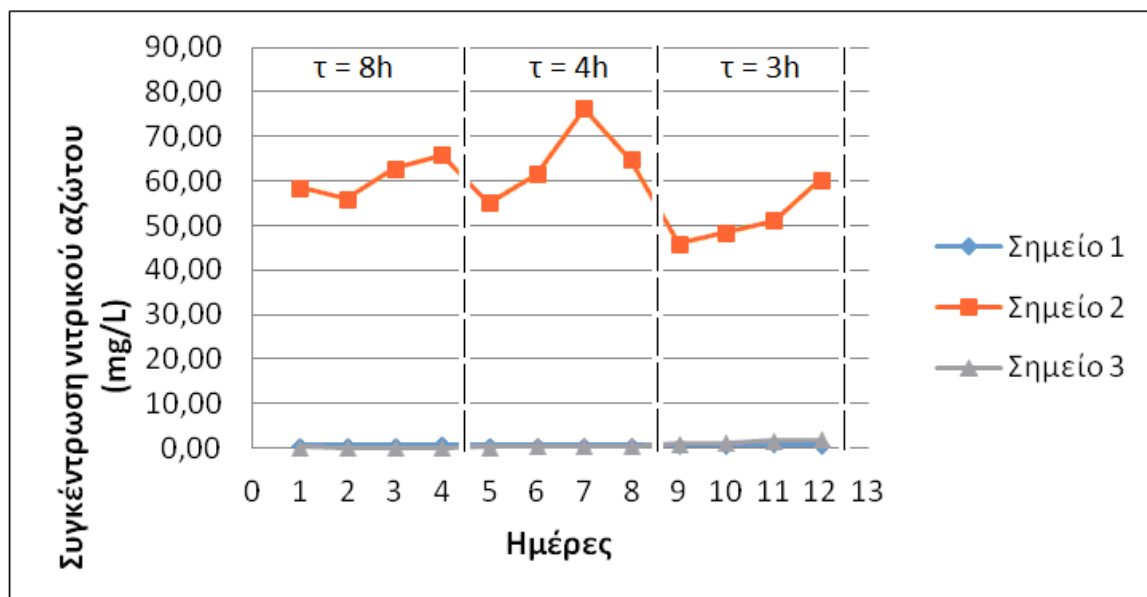


Σχήμα 4: Διάγραμμα ροής νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο

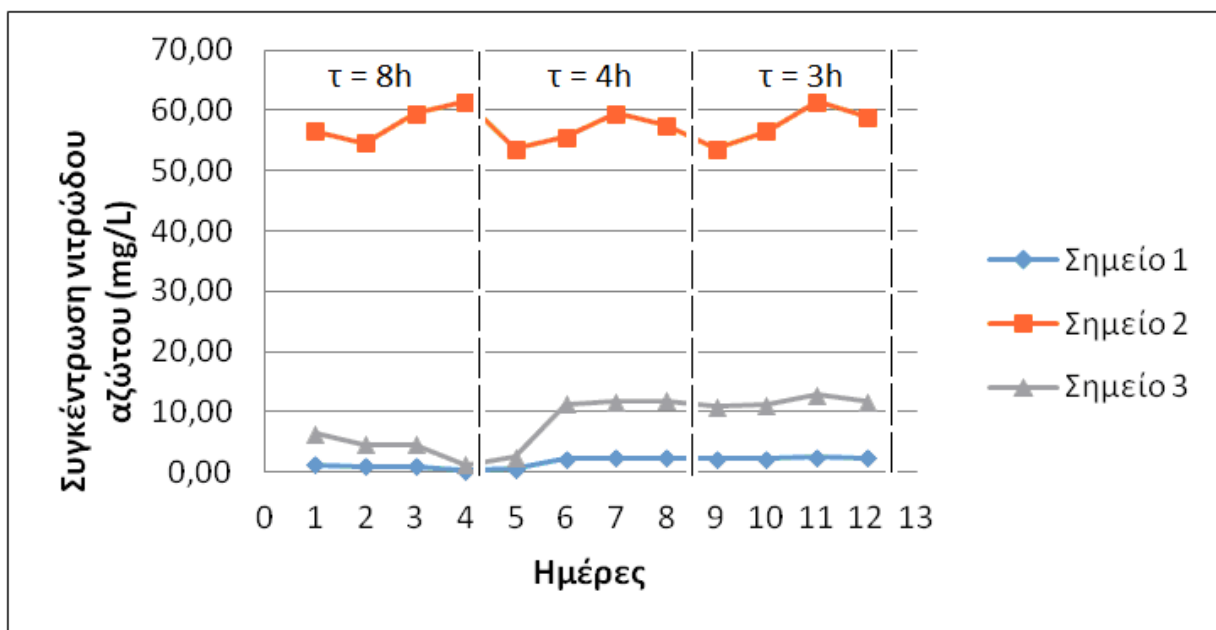


Διάγραμμα 3 : Συγκέντρωση N-NH_4^+ στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h

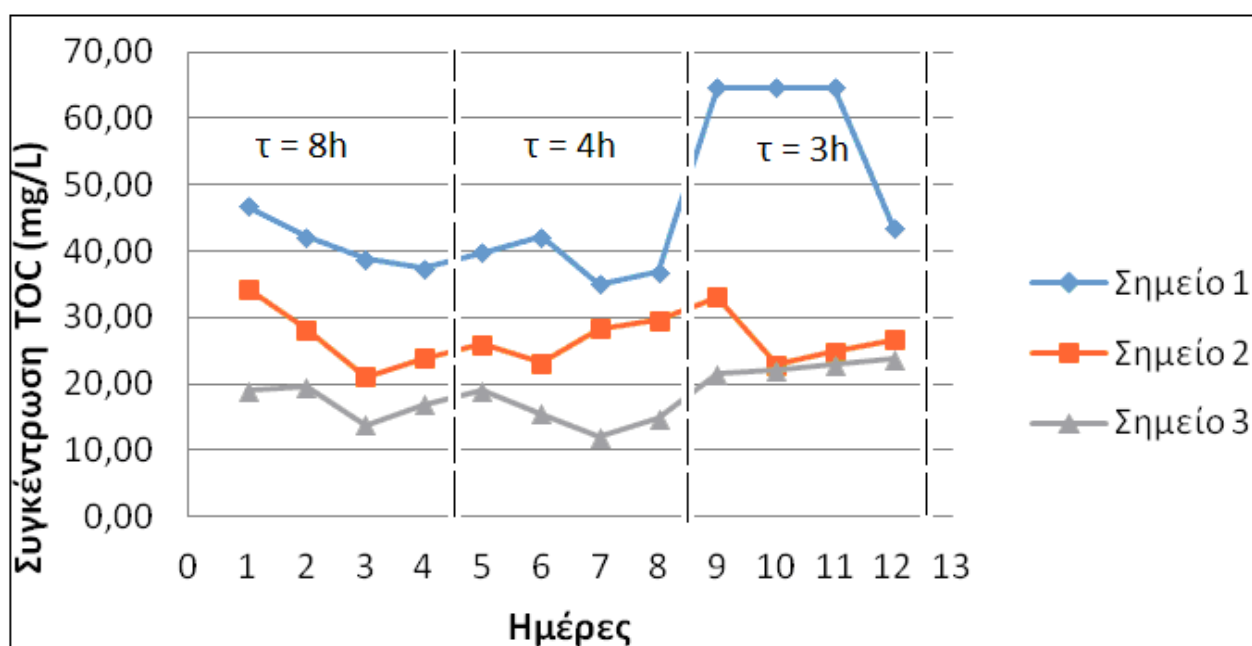
Αντίστοιχα στο Διάγραμμα 4 φαίνεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρικών στο οποίο φαίνεται πως η κατανάλωση των νιτρικών είναι σχεδόν πλήρης αφού η συγκέντρωση στην έξοδο είναι σχεδόν μηδενική.



Διάγραμμα 4 : Συγκέντρωση N-NO_3^- στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h



Διάγραμμα 5: Συγκέντρωση N-NO₂⁻ στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h



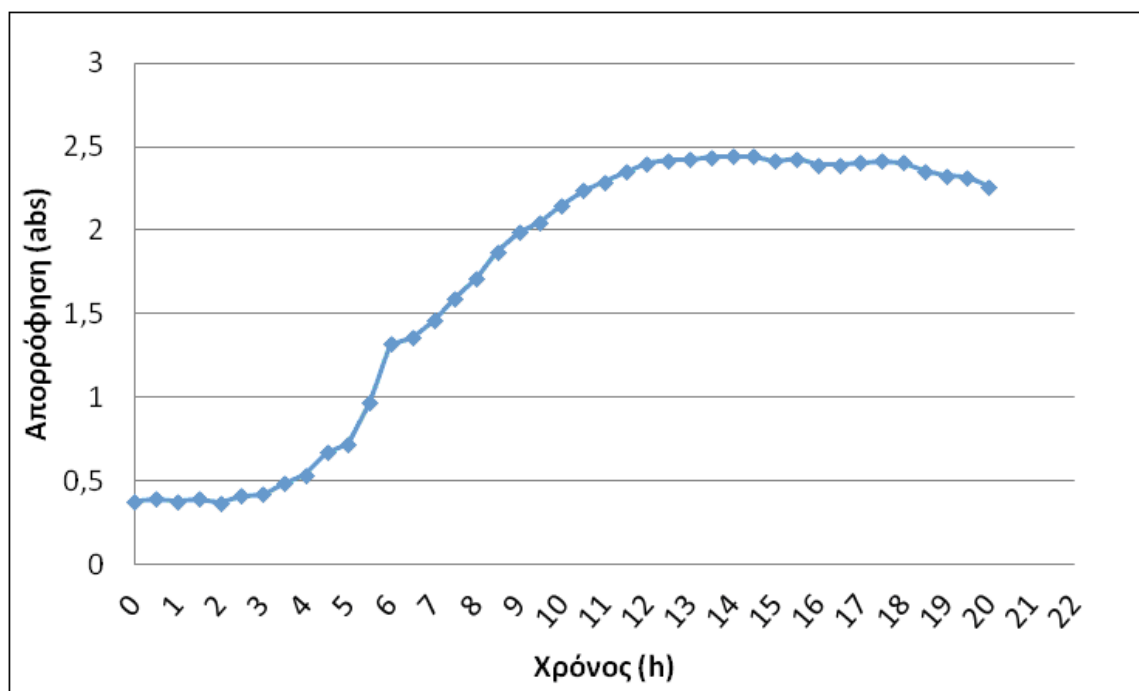
Διάγραμμα 6: Συγκέντρωση TOC στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h

7.3.2 ΦΑΣΗ 2 - ΣΥΝΕΧΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ (CSTR) ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ- ΑΠΟΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕ ΑΣΤΙΚΟ ΑΠΟΒΛΗΤΟ

Πριν τη μελέτη του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με τη χρήση των Βιοκαταλυτών Lentikats, συλλέχθηκε δείγμα από το κανάλι πριν τη δεξαμενή αερισμού της Εγκατάστασης

Επεξεργασίας Λυματων Χανίων. Εξαιτίας των ποικίλων μικροβιακών ειδών που εμφανίζονται στα αστικά απόβλητα, θεωρήθηκε καλό να αποδειχθεί ότι τα διάφορα μικροβιακά είδη (κυρίως βακτήρια) ακολουθούν τη σιγμοειδή καμπύλη ανάπτυξης, και να υπολογιστεί ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης τους.

Επομένως μετά τη συλλογή του αποβλήτου, τοποθετήθηκε σε βιοαντιδραστήρα και προτέθηκαν 5gr ζάχαρης ως θρεπτικό υλικό. Στη συνέχεια εξεταζόταν η θολερότητα του δείγματος ανά μισή ώρα για 24 ώρες στο φασματοφωτόμετρο στα 560 nm.



Διάγραμμα 7: Καμπύλη μικροοργανισμών

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 7, οι μικροοργανισμοί ακολουθούν τη σιγμοειδή καμπύλη ανάπτυξης. Πιο αναλυτικά, στις δύο πρώτες ώρες παρατηρείται η φάση προσαρμογής των μικροοργανισμών, από τη δεύτερη έως της δωδέκατη ώρα εντοπίζεται η λογαριθμική φάση, από τη δωδέκατη έως τη δέκατη όγδοη ώρα παρατηρείται η στάσιμη φάση, ενώ από τη δέκατη όγδοη ώρα 12 ώρα και έπειτα παρατηρείται η φάση θανάτου.

Τα αποτελέσματα της ανάπτυξης των μικροοργανισμών φαίνονται στον Πίνακα 27 που ακολουθεί.

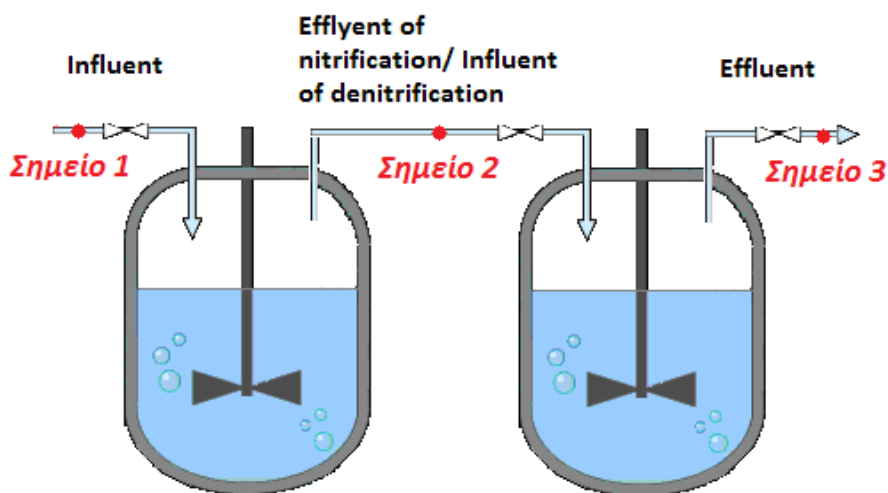
Πίνακας 21: Αποτελέσματα ανάπτυξης μικροοργανισμών

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ				
1.	Ημέρα 1 ^η	Ημέρα 2 ^η	Ημέρα 3 ^η	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ
Ρυθμός ανάπτυξης, μ	0.0691	0.0795	0.0835	0.1259
Χρόνος διπλασιασμού, t_d	10.03	8.72	8.30	5.51

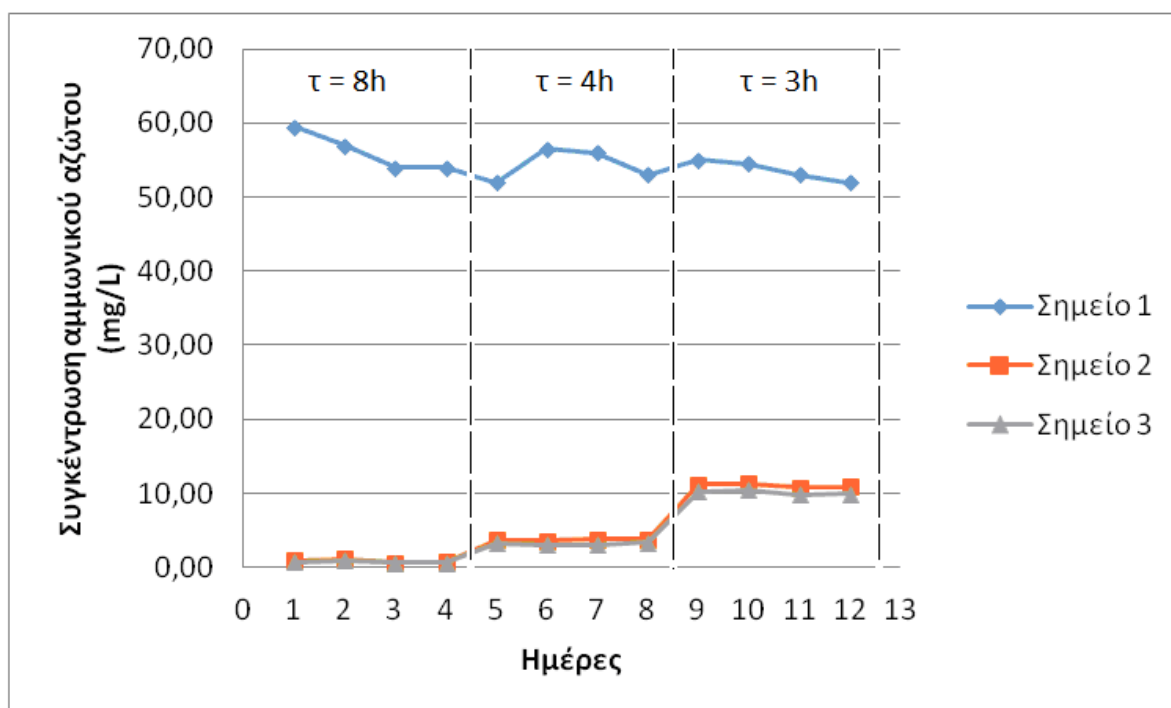
Στα Διαγράμματα 8 έως 13 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της δεύτερης φάσης της τρίτης περιόδου του πειράματος. Στο σημείο αυτό παρουσιάζεται ένα διάγραμμα ροής της πειραματικής διάταξης (Σχήμα 5) ώστε να γίνουν κατανοητά τα σημεία στα οποία αναφέρονται οι μετρήσεις.

Ως σημείο 1 έχει ονομαστεί η είσοδος του αντιδραστήρα της νιτροποίησης. Το σημείο 2 αναφέρεται στην έξοδο του αντιδραστήρα της νιτροποίησης και επομένως της εισόδου στον αντιδραστήρα της απονιτροποίησης. Ως σημείο 3 ονομάστηκε η έξοδος του αντιδραστήρα της απονιτροποίησης. Στην περίοδο αυτή μελετάται αστικό απόβλητο.

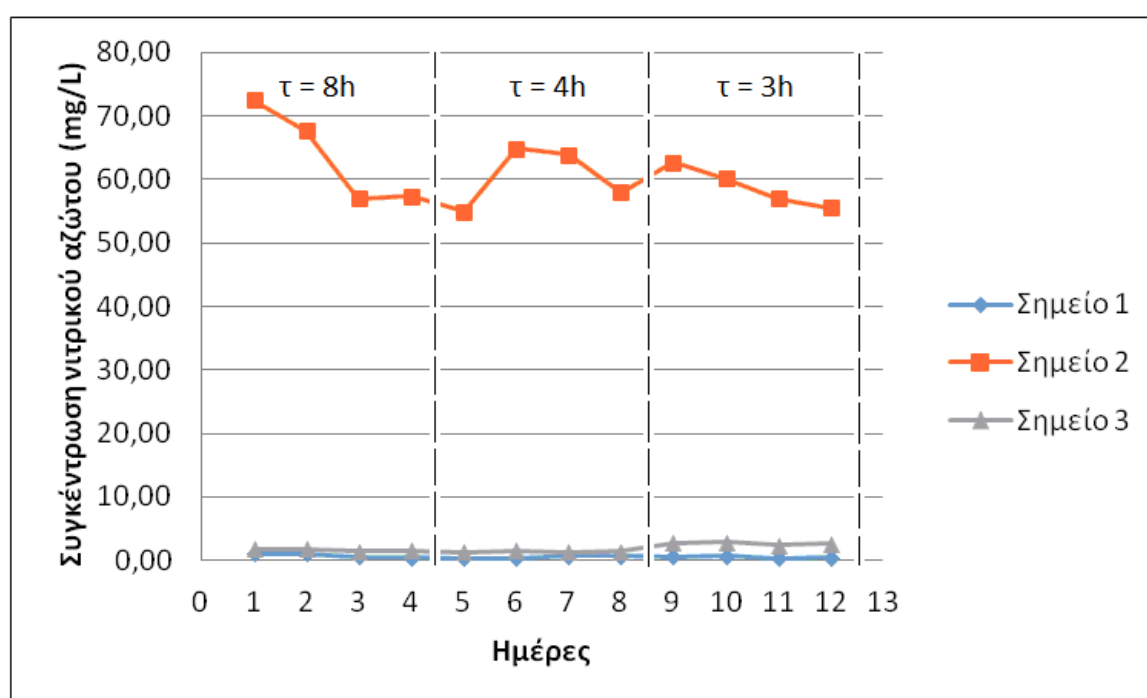
Σε κάθε σημείο πραγματοποιούνται μετρήσεις συγκέντρωσης αμμωνιακού, νιτρικού και νιτρώδους αζώτου. Εποπλέον εξετάζονται οι συγκεντρώσεις Βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου, Χημικά απαιτούμενου οξυγόνου καθώς και της συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα.



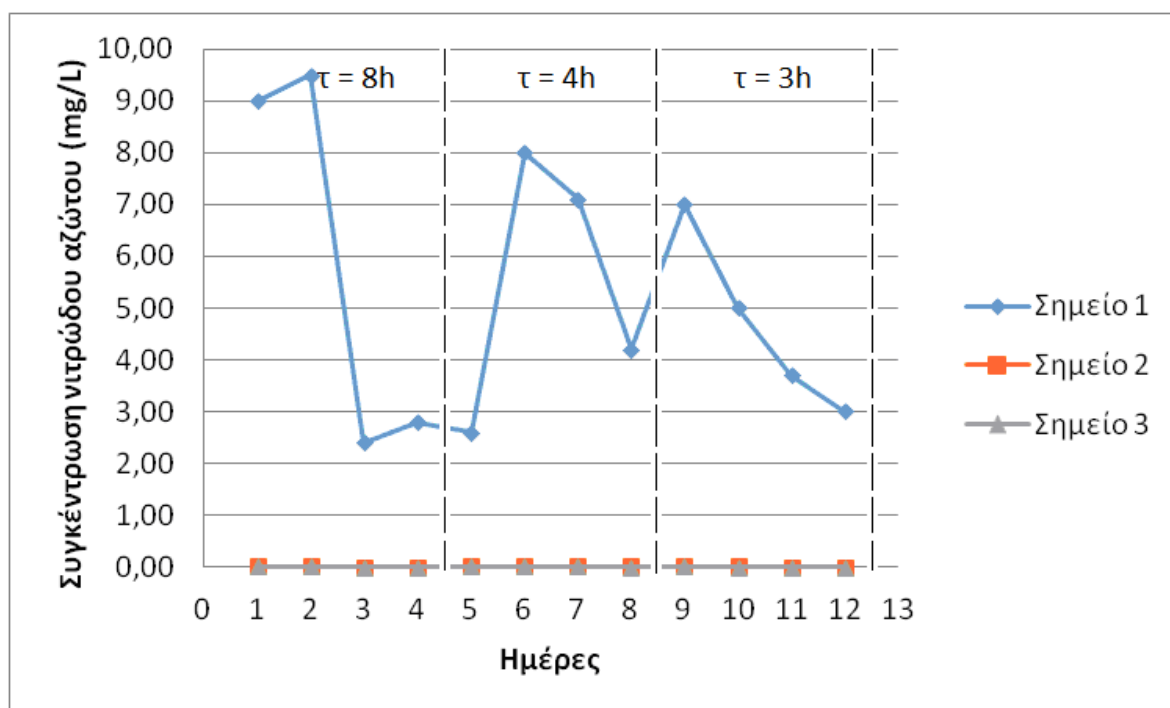
Σχήμα 5: Διάγραμμα ροής νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας αστικό απόβλητο



Διάγραμμα 8: Συγκέντρωση N-NH_4^+ στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με αστικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h



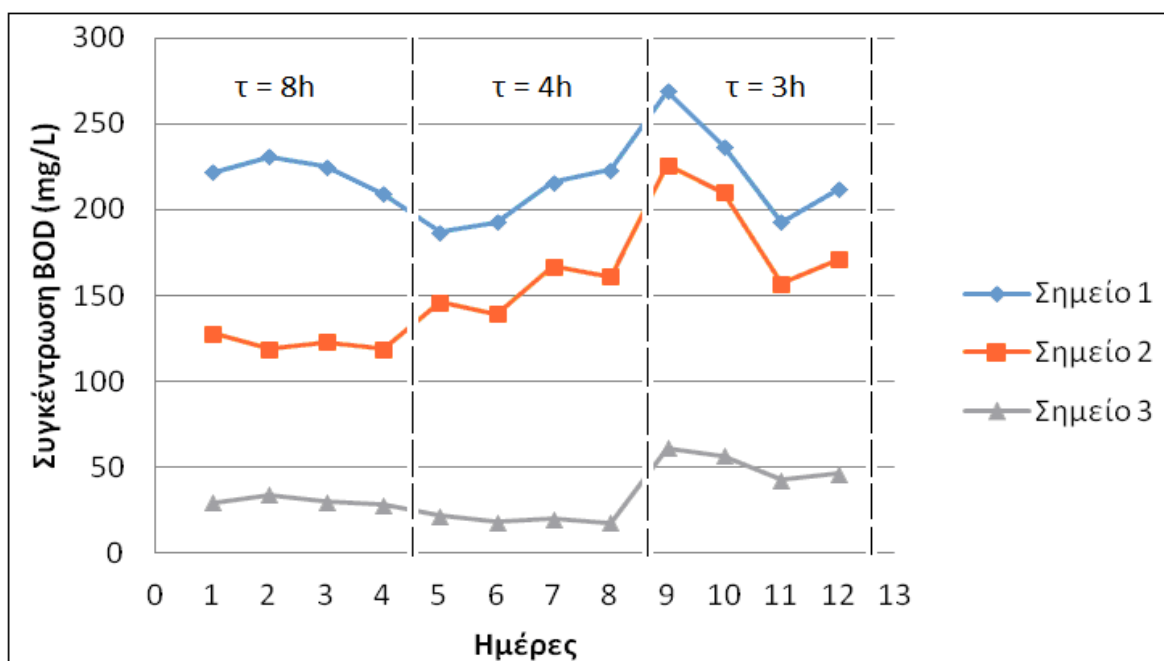
Διάγραμμα 9: Συγκέντρωση N-NO_3^- στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με αστικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h



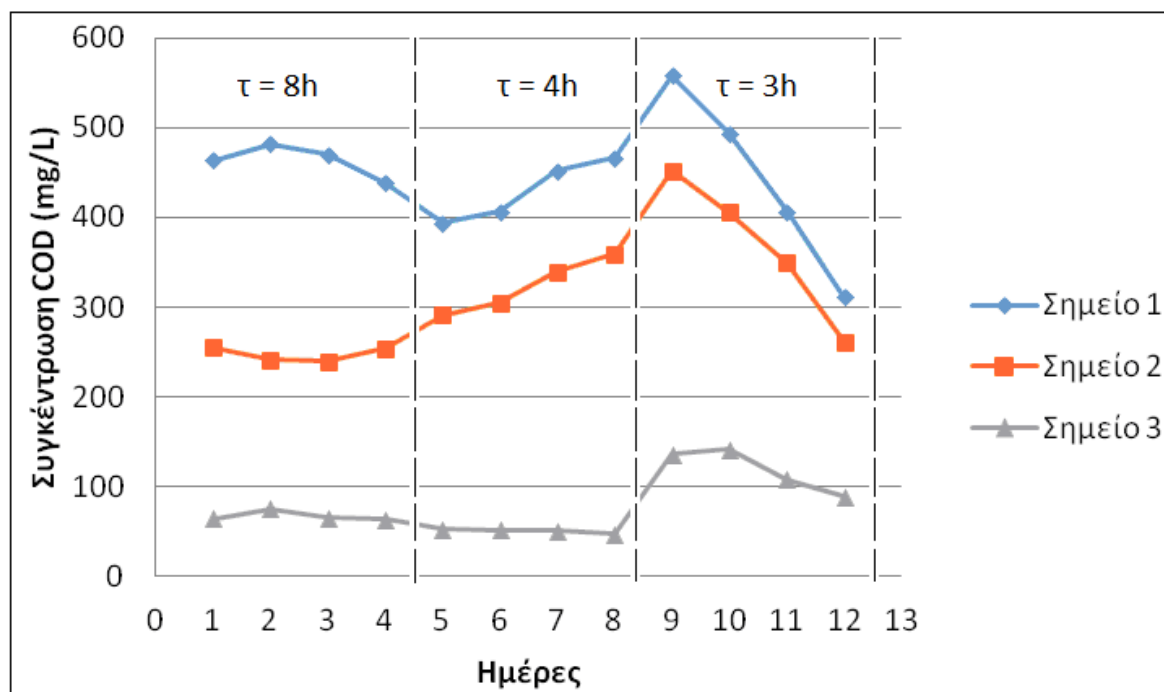
Διάγραμμα 10 : Συγκέντρωση N-NO_2^- στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών **Lentikats** με αστικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h

Αν και παρατηρείται μεγάλη διακύμανση στη συγκέντρωση νιτρώδους αζώτου εισόδου είναι σημαντικό το γεγονός ότι διατηρείται το ισοζύγιο μάζας αζώτου στο σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών **Lentikats**(Διαγράμματα 8, 9 και 10),. Πιο αναλυτικά, αθροίζοντας τις συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου παρατηρείται ότι προκύπτει η πειραματική μέτρηση της συγκέντρωσης νιτρικού αζώτου.

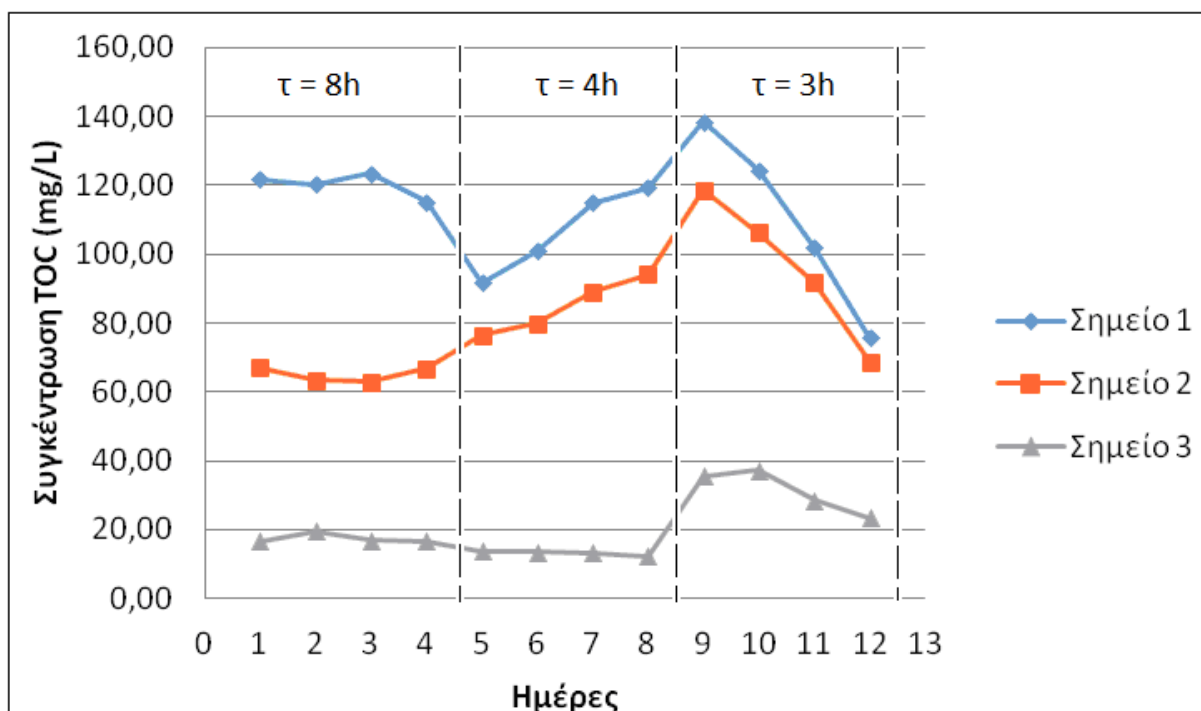
Όμοια με το σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με συνθετικό απόβλητο, τα μεγαλύτερα ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου εμφανίζονται σε χρόνο παραμονής **8h**. Σύμφωνα με τον Πίνακα 28, ως βέλτιστος χρόνος παραμονής θεωρείται αυτός στις **4h**. Παρόλα αυτά, για την εκτίμηση του βέλτιστου χρόνου παραμονής του συγκεκριμένου συστήματος, θεωρείται αναγκαίο να ληφθούν υπόψη και τα ποσοστά απομάκρυνσης του **BOD** και **COD**.



Διάγραμμα 11: Συγκέντρωση BOD στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με αστικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h



Διάγραμμα 12: Συγκέντρωση COD στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με αστικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h



Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση TOC στα Σημεία 1, 2 και 3 του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης Βιοκαταλυτών Lentikats με αστικό απόβλητο σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h

Σύμφωνα με τις πειραματικές μετρήσεις των Διαγραμμάτων 11, 12 και 13, παρατηρείται ότι το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης παρατηρείται σε χρόνο παραμονής 4h.

Τα ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακού αζώτου σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h, είναι ίσα με 98.5%, 93.2% και 73.2%, αντίστοιχα. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι το κύριο ποσοστό απομάκρυνσης αμμωνιακού αζώτου επιτυγχάνεται στον βιοαντιδραστήρα νιτροποίησης, ενώ παρατηρείται και ελάχιστη απομάκρυνση αμμωνιακού αζώτου στο βιοαντιδραστήρα της απονιτροποίησης.

Επιπλέον, τα ποσοστά απομάκρυνσης νιτρικού αζώτου στους αντίστοιχους χρόνους παραμονής είναι ίσα με 99%, 97.5% και 95.5%

Εξετάζοντας τα ποσοστά απομάκρυνσης του Βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD) σε όλα τα σημεία δειγματοληψίας καθώς και στους αντίστοιχους χρόνους παραμονής που αναφέρθηκαν παραπάνω, παρατηρείται ότι οι συγκεντρώσεις BOD δε μειώνονται αισθητά στον αντιδραστήρα της νιτροποίησης. Τα ποσοστά απομάκρυνσης BOD σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h είναι ίσα με 86.32%, 90.43% και 77.42%, αντίστοιχα. Τα ποσοστά απομάκρυνσης τόσο του COD αλλά και του TOC, ακολουθούν την ίδια διακύμανση στους ίδιους χρόνους παραμονής με αυτά του BOD.

Ως βέλτιστος χρόνος παραμονής απόδοσης του συστήματος θεωρείται αυτός στις 4h, καθώς στο χρόνο αυτό επιτυγχάνεται ταυτόχρονα βέλτιστη απομάκρυνση BOD καθώς και αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου.

Επίσης, οι Βιοκαταλύτες Lentikats περιέχουν συγκέντρωση μικροοργανισμών περίπου 40mg/g. Έτσι, με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα και βιβλιογραφικά δεδομένα, οι ρυθμοί νιτροποίησης και απονιτροποίησης ανά ρυθμό μικροοργανισμών μεταξύ του παραπάνω συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης και σε μια Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων είναι αρκετά παρόμοιοι. Οι ρυθμοί νιτροποίησης των παραπάνω συστημάτων υπολογίστηκαν ίσοι με 0.21 και $0.23 \text{ g}_{\text{NH}_4 + \text{-Nremoved}} / (\text{g}_{\text{nitrifiers}} \cdot \text{d})$, αντίστοιχα, ενώ για την απονιτροποίηση οι σχετικές τιμές είναι 0.23 και $0.25 \text{ g}_{\text{NO}_3\text{-Nremoved}} / (\text{g}_{\text{denitrifiers}} \cdot \text{d})$, αντίστοιχα. Επομένως, στο σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats η συγκέντρωση μικροοργανισμών μπορεί να είναι έως $5000 \text{ g}_{\text{microorganisms}}/\text{m}^3$. Αντίθετα, σε συστήματα Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Λυμάτων, η ίδια συγκέντρωση είναι περίπου $300 \text{ g}_{\text{microorganisms}}/\text{m}^3$ (Metcalf and Eddy, 1991). Συγκρίνοντας τα παραπάνω προκύπτει ότι ο όγκος των δεξαμενών νιτροποίησης και απονιτροποίησης μπορεί να μειωθεί περίπου 16 φορές, εξοικονομώντας χώρο αλλά και ενέργεια εφόσον δεν υπάρχει ανακυκλοφορία μεταξύ των δεξαμενών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της δυνατότητας λειτουργίας ενός συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης, χωρίς την ανάγκη επιπλέον προσθήκης πηγής άνθρακα και χωρίς την ανάγκη για ανακυκλοφορία μεταξύ των δεξαμενών νιτροποίησης και απονιτροποίησης.

Τα πειράματα διεξάχθηκαν σε αντιδραστήρες συνεχούς ροής νιτροποίησης και απονιτροποίησης με συνολικό όγκο στα 2L, σε θερμοκρασία 25°C και pH 7. Η ενεργότητα των νιτροποιητικών και απονιτροποιητικών Βιοκαταλυτών *Lentkats* μετρήθηκε εντός των ορίων 300 - 500 mg/(kg_{BL} h) και 500 - 600 mg/(kg_{BL} h), αντίστοιχα.

Στα πειράματα με τη χρήση συνθετικού αποβλήτου, το τελευταίο προσομοίαζε τις συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου του αστικού αποβλήτου. Εξετάζοντας τους αντιδραστήρες σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h, συμπεραίνεται ότι ο βέλτιστος χρόνος παραμονής είναι στις 4 h, σε όλες τις περιόδους του πειράματος.

Πιο αναλυτικά:

- Στη δεύτερη περίοδο οι βιοαντιδραστήρες της νιτροποίησης και απονιτροποίησης λειτουργούν ως αντιδραστήρες συνεχούς ροής και ανεξάρτητα:
 - Στο βιοαντιδραστήρα της νιτροποίησης (φάση 1), τα ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακού αζώτου σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h είναι ίσα με 95.6%, 91.75% και 78.85%, αντίστοιχα. Ως βέλτιστος χρόνος παραμονής επιλέγεται στις 4h, εφόσον σε μικρότερο χρόνο παραμονής παρατηρείται υπέρβαση των 10mg N/L.
 - Στο βιοαντιδραστήρα της απονιτροποίησης (φάση 2), τα ποσοστά απομάκρυνσης νιτρικού αζώτου σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h είναι ίσα με 90.84%, 93.57% και 87.15%, αντίστοιχα. Ως βέλτιστος χρόνος παραμονής επιλέγεται στις 4h, εφόσον σε μικρότερο χρόνο παραμονής παρατηρείται υπέρβαση των 10mg N/L.
- Στην τρίτη περίοδο, μελετάται η απόδοση του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης, όπου η έξοδος του αντιδραστήρα της νιτροποίησης τροφοδοτείται στον αντιδραστήρα της απονιτροποίησης:
 - Στη φάση 1, όπου χρησιμοποιείται συνθετικό απόβλητο, τα ποσοστά απομάκρυνσης αμμωνιακού και αζώτου σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h είναι ίσα με 97.86%, 94.82% και 77.73%, και 99.67%, 99.33% και 97.12% αντίστοιχα..
 - Όμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και στη φάση 2 του πειράματος, στην οποία έχει χρησιμοποιηθεί αστικό απόβλητο. Στο σημείο αυτό θεωρείται σημαντικό το γεγονός ότι αποδείχθηκε ότι το σύστημα νιτροποίησης – απονιτροποίησης μπορεί να λειτουργήσει χωρίς προσθήκη επιπλέον πηγής άνθρακα και χωρίς ανακυκλοφορία υλός. Παρατηρείται επίσης ότι οι συγκεντρώσεις BOD δε μειώνονται αισθητά στον αντιδραστήρα της νιτροποίησης. Επίσης, τα ποσοστά απομάκρυνσης BOD σε χρόνους παραμονής 8, 4 και 3h είναι ίσα με 86.32%, 90.43% και 77.42%, αντίστοιχα. Ως βέλτιστος χρόνος παραμονής επιλέγεται στις 4h, εφόσον σε μικρότερο χρόνο παραμονής παρατηρείται υπέρβαση της συγκέντρωσης αμμωνιακού αζώτου των 10mg

N/L, καθώς επίσης στο συγκεκριμένο χρόνο παραμονής το BOD δεν υπερβαίνει τη συγκέντρωση των 25 mg/L.

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι με τη χρήση των ενθυλακωμένων νιτροποιητικών και απονιτροποιητικών βακτηρίων Lentikats μπορεί να επιτευχθεί σημαντική μείωση του όγκου δεξαμενών στις συμβατικές Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων καθώς σε παρόμοιους ρυθμούς νιτροποίησης η συγκέντρωση των ενθυλακωμένων μικροοργανισμών είναι 16 φορές μεγαλύτερη από αυτή των ενθυλακωμένων.

Περαιτέρω μελέτες του παραπάνω συστήματος μπορούν να διεξαχθούν χρησιμοποιώντας βιομηχανικά απόβλητα τα οποία περιέχουν υψηλότερη συγκέντρωση αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου, αφού οι Βιοκαταλύτες Lentikats μπορούν να αποδώσουν σε συγκεντρώσεις αμμωνιακού και νιτρικού αζώτου ίσες με 2500 συγκεντρώσεων mg/L και 4200mg/L, αντίστοιχα.. Συγκεκριμένα, λύματα από χοιροστάσιο θεωρούνται κατάλληλα προς μελέτη, λόγω των υψηλών τους φορτίων σε αμμωνιακά.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. W.B Amos, 1972, "Structure and Coiling of the Stalk in the Peritrich Ciliates *Vorticella* and *Carchesium*", *Journal of Cell Science*, 10, 95-122.
2. P. Antoniou, J. Hamilton, B. Koopman, R. Jain, B. Holloway, G. Lyberatos and S.A. Svoronos, 1990, "Effect of Temperature and pH on the Effective Maximum Specific Growth Rate of Nitrifying Bacteria", *Water Research*, 24(1), 97-101.
3. A.C Anthonisen, R.C. Loehr and T.B. Prakasam, 1976, "Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid", *Journal of Water Pollution Control Federation*, 48(5), 835-852
4. W.F. Bailey, J.D. Bonomo and E.R. Jones, 1983, "Nitrification Facilities Start-Up and Initial Operation", *Journal of Water Pollution Control Federation*, 55(3), 221-228.
5. N.A.K. Bakti, 1988, "Diffusional Limitation in nitrifying suspended – growth biological reactor", Ph.D. Thesis, Cornell University, Ithaca. New York.
6. N.A.K. Bakti and R.I. Dick, 1992, "A model for nitrifying suspended – growth reactor incorporating intraparticle diffusional limitation.", *Journal of Water Research*, 26(12), 1681-1690.
7. S. Balakrishnan and W.W. Eckenfelder, 1969, "Nitrogen Relationships in Biological Waste Treatment Processes- I, Nitrification in the Activated Sludge Process", *Journal of Water Research*, 3(1), 73-81.
8. J.L. Barnard, 1973, "Biological Denitrification", *Journal of International Water Pollution Federation*, 72, 705-720.
9. D. Barners and P.J. Bliss, 1983, "Biological Control of Nitrogen in Wastewater Treatment" E & F.N. Spon Publishers. New York.
10. T.R. Bridle, D.C. Climenhage, and A. Stelzig, 1979, "Operation of a full-scale Nitrification-Denitrification Industrial Waste Treatment Plant" *Journal Water Pollution Control Federation*, 51(1), 127-139.
11. A. Boušková, J. Mrákota, R. Stloukal, J. Trögl, V. Pilařová, L. Křiklavová and T. Lederer, 2011, "Three examples of nitrogen removal from industrial wastewater using *Lentikats* Biotechnology" *Desalination*, 280(1-3), 191-196.
12. R. Bos, H. van Mei, and H.J. Busscher, 1999, "Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions- its mechanisms and methods for study", *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 179-230.
13. J.D. Bryers, 1984, "Biofilm formation and chemostat dynamics: pure and mixed culture considerations" *Biotechnology and Bioengineering*, 26(8), 948-958.
14. M.B. Cassidy, H. Lee and J.T. Trevors, 1996, "Environmental applications of immobilized microbial cells: a review", *Journal of Industrial Microbiology*, 16, 79-101.
15. P.N. Danes, L.A. Pratt and R. Kolter, 2000, "Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture", *Journal of Bacteriology*, 182(12), 3593-3596.
16. D.G. Davies, A.M. Chakrabarty and G.G. Geesey, 1993, "Exopolysaccharide production in biofilms – substratum activation of alginate gene-expression by *Pseudomonas aeruginosa*", *Journal of Applied Environmental Microbiology*, 59(4), 1181-1186.

17. R.N. Dawson, and K.L. Murphy, 1972, " The Temperature Dependency of Biological Denitrification", Water Research, 6(1), 71-83.
18. A.L. Downing, H.A. Painter and G. Knowles, 1964, "Nitrification in the activated sludge process", Journal of Proc. Inst. Sewage Purification, 130-153.
19. D.J. Engberg and E.D. Schroeder, 1975, "Kinetics and Stoichiometry of Bacterial Denitrification as a function of Cell residence Time", Water Research , 9(1), 1051-1054.
20. Environmental Protection Agency (1975). Process Design Manual for Nitrogen Control. U.S.E.P.A., Washington D.C.
21. D.D Focht and A.C. Chang , 1975, " Nitrification and Denitrification Processes Related to Waste Water Treatment", Journal of Advances in Applied Microbiology, 19, 153 – 186.
22. P. Gikas and A. G. Livingston ,2006, "Investigation of Biofilm Growth and Attrition in a Three Phase Air Lift Bioreactor Using 35S as a Radiolabelled Tracer", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 81(6), 858-865.
23. P. Gikas, 1996, "Influence of Biomass Activity on the Performance of Immobilized Cell Bioreactors", Ph.D Thesis Department of Chemical Engineering and Chemical Technology, Imperial College of Science, Technology and Medicine, London.
24. E. Górecka and M. Jastrzębska , 2011," Immobilization techniques and biopolymer carriers.",Journal of Biotechnology and Food Sciences, 75, 65-86
25. G.E. Gould and H. Lees, 1960, "The isolation and culture of the nitrifying organisms.Part I. Nitrobacter", Canadian Journal of Microbiology, 6(3), 299-307.
26. C.P.L Grady and H.C. Lim , 1980, "Performance of Denitrification Systems. Biological Wastewater Treatment, Theory and Applications", New York: Marcel Dekker Inc., 895
27. W. Gujer and D. Jenkins, 1974, " The Contact Stabilization Process- Oxygen and Nitrogen Mass Balances", Sanitary Engineering Research Lab, University of California, SERL Report 74-2.
28. E.R. Hall and K.L. Murphy, 1985, " Sludge Age and Substrate Effects on Nitrification Kinetics", Journal Water Pollution Control Federation, 57(5), 413-418.
29. D.R.F. Harleman, 1978, "A comparison of water quality models of the aerobic nitrogen cycle", Research Memorandum, 78-83. International Institute for Applied System Analysis, Laxenburg, Austria.
30. R.T Haug and P.L. McCarty, 1971, " Nitrification with the Submerged Filter", Report by the Department of Civil Engineering, Stanford University for the Environmental Protection Agency, Research Grant No. 107010 EPM.
31. C.M. Henze and P. Harremoës, 1977, "Biological Denitrification of Sewage: A Literature Review", Journal of Progress Water Technology, 8, 509-555.
32. C.M. Henze and P. Harremoës, 1978, " Nitrification and Denirification in Wastewater Treatment", Journal of Water Pollution Microbiology, 2, Edited by Mitchell, R, Willey , J and Sons Inc, New York.
33. M. Henze, P. Harremoës, Jansen Jes la Cour and E. Arvin, 1995, "Wastewater Treatment. Biological and Chemical Processes", Springer-Verlag, Denmark.
34. M. Henze, W. Gujer, T. Mino, M.C. Wentzel and C.v.R Marais, 1995, "Activated Sludge Model", I.A.W.Q., 2, London.

35. T. Hoffman and H. Lees, 1953, "The Biochemistry of the Nitrifying Organisms. 4. The Respiration and Intermediate Metabolism of *Nitrosomonas*", *Journal of Biochemistry*, 54(4), 579-583.
36. K. Hori and S. Matsumoto, 2010, "Bacterial adhesion : From mechanism to control", *Journal of Biochemical Engineering*, 48(3), 424-434
37. T. Itabashi , K. Mikami , J Fang and H Asai, 2002, "Phylogenetic relationships between *Vorticella convallaria* and other species inferred from small subunit rRNA gene sequences", *Journal of Zoological Science*, 19(8), 931-937
38. Kadlec and Wallace.(2009). *Treatment Wetlands*, 2th edition, CRC Press, New York
39. G.A. Keene and J.I. Prosser, 1987, "Steady state transient growth of autotrophic nitrifying bacteria", *Journal of Archive Microbiology*, 147, 73-79
40. G. Knowles, A.L. Downing, and M.J. Barrett, 1965, "Determination of Kinetic Constants for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture, with the Aid of an Electronic Computer", *Journal of Gen. Microbiol.*, 38, 263-278.
41. G. Knowles, A.L. Downing, and M.J. Barrett, 1965, "Determination of Kinetic Constants for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture, with the Aid of an Electronic Computer", *Journal of Genetics Microbiology*, 38, 263-278.
42. R. Knowles, 1982, "Denitrification", *Microbiological Reviews*. 46, 43-70.
43. J.M. Krul, 1976, "The relationship Between Dissimilatory Nitrate Reduction and Oxygen Uptake by Cells of an *Alcaligenes* Strain in Flocs and in Suspension and by Activated Sludge Flocks" *Water Research*, 10, 337-341.
44. H. Laudelout and L. Van Tichelen, 1960, "Kinetics of the nitrite oxidation by *Nitrobacter winogradskyi*", *Journal of Bacteriology*, 79(1), 39-42.
45. H. Laudelout, R. Lambert and M.L. Pham, 1974, "Effect of Temperature on the velocity of oxidation of ammonia to nitrate in mixed nitrifier culture", *Journal of Ann Microbiol*, 17-117.
46. A.W. Lawrence and P.L. McCarty, 1970, "Unified basis for biological treatment design and operation", *Journal of the Sanitary Engineering Division*, 96(3), 757-778.
47. E. Leenen, V.A.P DosSantos, K.C.F Grolle, J. Tramper, R.H Wijffels ,1996, "Characteristics of and selection criteria for support materials for cell immobilization in wastewater treatment", *Water Research*, 30(12), 2985-2996
48. H. Lees and J.R. Simpson, 1957, "The biochemistry of the nitrifying organisms. 5. Nitrite oxidation by *Nitrobacter*", *Journal of Biochemistry*, 65(2), 297-305.
49. *Lentikats Bulletin* (2009). 1(4).
50. *Lentikats Bulletin* (2010). 2(1).
51. Z. Lewandoswki, 1982, "Temperature Dependency of Biological Denitrification with Organic Materials Addition", *Water Research*, 16(1), 19-22.
52. R.C. Loehr, T.B.S. Prakasam, E.G. Srinath, and Y.D. Yoo, 1973, "Development and demonstration of nutrient removal from animal wastes", EPA Report R2 -73-095. Washington, D.C., US Environmental Protection Agency.
53. J.E. Loveless and H.A. Painter, 1968, "The influence of metal ion concentration and pH value on the Growth of a *Nitrosomonas* strain isolated from activated sludge", *Journal of Gen. Microbiology*, 52, 1-14.

54. V.I Lozinsky, F.M Plieva ,1998, " Poly (vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. Overview of recent research and developments", *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, 23, 227-242.
55. M.T. Madigan, J.M. Martinko and J. Parker, 1997, "Biology of Microorganisms", 8th edition. Prentice-Hall, New Jersey.
56. S.C.S Martins, C.M Martins, L.M.C Fiuza and S.T Santaella, 2013, "Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater", *African Journal of Biotechnology*, 12(28), 4412-4418.
57. G.W. McCarty and J.M. Bremner, 1989, " Inhibition of nitrification in soil by heterocyclic nitrogen compounds", *Journal of Biology and Fertility Soils*, 8(3), 204 – 211.
58. P.L. McCarty, 1974, "Stoichiometry of biological reactions. Presented at the Summer Institute in Water Pollution Control", *Biological Waste Treatment*, Manhattan College, New York.
59. S. Melamed, C. Salitemik, A.M. Wachs, 1970, "BOD Removal and nitrification of Anaerobic Effluent by Activated Sludge", 5th IAWPRC Conference, San Francisco, California, July- August.
60. Metcalf and Eddy, 1991, "Wastewater Engineering. Treatment, Disposal and Reuse", Revised by Tchobanoglous, G. and Burton, Fr.L. 3rd edition, McGraw-Hill, International Editions.
61. M. Nakajima, T. Hayamizu and H. Nishimura, 1974, "Effect of Oxygen Concentration on the Rates of Denitrification in the Sediments of an Eutrophic Lake", *Water Research*, 18(2), 335-338.
62. M. Nakajima, T. Hayamizu and H. Nishimura, 1974, "Inhibitory Effect of Oxygen on Denitrification and Denitrification in Sludge from an Oxidation Ditch", *Water Research*, 18, 339-343.
63. H.A Painter, 1970, " A Review Of Literature on Inorganic Nitrogen Metabolism in Micro-organisms", *Water Research*, 4(6), 393 – 450.
64. H.A Painter, 1977, " Microbial Transformation of Inorganic Nitrogen", *Journal of Progress Water Technology*, 8(4/5), 3-29.
65. J.K Park and H.N Chang, 2000, "Microencapsulation of microbial cells", *Journal of Biotechnology Advances*, 18(4), 303-319.
66. T.L. Peeters, A.D. van Gool and H. Laudelout, 1969, "Kinetic study of oxygen limited respiration in nitrifying bacteria", *Bact. Proc.*, 141
67. R.A. Poduska and J.F. Andrews, 1975, "Dynamics of Nitrification in the Activated Sludge Process", *Journal Water Pollution Control Federation*, 47(11), 2599-2619.
68. A.V Quinlan, 1986, "Optimum Temperature Shift for *Nitrobacter Winogradskyi*. Effect of Dissolved Oxygen and Nitrite Concentrations", *Water Research*, 20(5), 611-617.
69. W.B. Rostron, D.C Stuckey and A.A Young, 2000, "Nitrification of high strength ammonia wastewaters: Comparative study of immobilisation media", *Water Research*, 35(5), 1169-1178.
70. C.H. Saxton and D.E. Brune, 1985, "Maintaining water quality in recirculating trout culture field evaluation of a retained biomass nitrification filter", *ASAE* , 85 – 5011

71. M. Schlieker and K.-D. Vorlop, 2006, "A novel immobilization method for entrapment: LentiKats®", in: J.M. Gusian (Ed.), Immobilization of Enzymes and Cells, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, 333–343.
72. N.K. Shammash, 1986, " Interactions of Temperature, pH and Biomass on the Nitrification Process.", Journal Water Pollution Control Federation, 58(1), 52-59.
73. B. Sharma and R.C. Ahlert, 1977, "Nitrification and Nitrogen Removal" , Water Research, 11(10), 897-925.
74. S.H Song, S.S Choi, K. Park and Y.Y Yoo ,2005,"Novel hybrid immobilization of microorganisms and its applications to biological denitrification", Journal of Enzyme and Microbial Technology 37, 567-573.
75. H.D. Stensel, R.C. Loehr and A.W. Lawrence, 1973, "Biological Kinetics of Suspended – Growth Denitrification.", Journal Water Pollution Control Federation ,45(2), 249-261.
76. F.E Stratton and P.L. McCartym, 1967, "Prediction of nitrification effects on the dissolved oxygen balance of streams", Environmental Science and Technology, 1, 405 – 410.
77. P. Timmermans and A. van Haute, 1983, " Denitrification with Methanol. Fundamental Study of the Growth and Denitrification Capacity of Hyphomicrobium Sp", Water Research, 17(10), 1249-1255.
78. A. Ulken, 1963, " Die Herkunft des Nitrits in der Elbe" Journal of Archive Hydrobiology, 59, 486-501.
79. K.D. Vorlop, and M. Jekel, 2000, "Verfahren zur Herstellung eines Gels aus Polyvinylalkohol und nach dem Verfahren hergestelltes mechanisch hochstabiles Gel, Patent No.: DE 1998127552"
80. K.J. Wiliamson and P.L. McCarty, 1974, " Rapid measurement of Monod half – velocity coefficients for bacterial kinetics", Stanford University.
81. G.M Wong-Chong, and R.C. Loehr, 1978, "Kinetics of microbial nitrification Q nitrite-nitrogen oxidation", Water Research, 12(7),605-609.
82. K. Wuhrman, 1968, " Research Developmentr in Regard to Concept and Base Values of the Activated Sludge System. In Advances in Water Quality Improvement E.F. Gloyna", W.W. Eckenfelder, eds The University of Texas at Austin.
83. T. Yantarasri, 1989, "The effect of available free energy on nitrification kinetics.", PhD. Thesis, Texas A & M University College Station, Texas.
84. P. Yong –zhen, M.A. Yong, W. Shu-ying, 2007, " Denitrification potential enhancement by addition of external carbon sources in a pre – denitrification process.", Journal of Environmental Sciences, 19, 284-189.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. <http://www.lentikats.eu/en/company>
2. <http://www.lentikats.eu/en/pharmaceutical-food-industry>
3. <http://www.lentikats.eu/en/distilleries>
4. <http://www.lentikats.eu/en/wastewater-treatment>
5. <http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/14>
6. <http://www.lentikats.eu/en/advantages-cisteni>
7. <http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/10>
8. <http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/11>
9. <http://www.lentikats.eu/en/studie-detail/case-studies-cisteni/15>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά τα πειραματικά αποτελέσματα που προέκυψαν σε κάθε περίοδο του πειράματος.

Στον Πίνακα 1Α φαίνονται τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις της πρώτης φάσης της δεύτερης περιόδου. Επομένως μελετάμε τον βιοαντιδραστήρα συνεχούς ροής της νιτροποίησης με χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο.

Πίνακας 21Α: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων στον αντιδραστήρα νιτροποίησης συνεχούς ροής Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο

Ημέρα	Παροχή (L/d)	Χρόνος παραμονής (h)	Συγκέντρωση $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ εισόδου (mg/L)	Συγκέντρωση $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ εξόδου (mg/L)	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)
1	4.5	8	50	2.15	95.7
2	4.5	8	50.75	2.43	95.2
3	4.5	8	56	2.68	95.2
4	4.5	8	54	2.03	96.2
5	9	4	54	4.78	91.1
6	9	4	51.5	3.95	92.3
7	9	4	56	4.18	92.5
8	9	4	52	4.61	91.1
9	12	3	58.5	12.14	79.2
10	12	3	56.75	11.53	79.7
11	12	3	56.75	12.67	77.7
12	12	3	56.5	11.96	78.8

Στον Πίνακα 2Α παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το συνεχές σύστημα απονιτροποιητικών βακτηρίων με χρήση συνθετικού αποβλήτου- δεύτερη φάση της δεύτερης περιόδου του πειράματος.

Πίνακας 2Α: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων στον αντιδραστήρα απονιτροποίησης συνεχούς ροής Βιοκαταλυτών Lentikats με συνθετικό απόβλητο

Ημέρες	Χρόνος παραμονής (h)	Συγκέντρωση TOC μέσα στον αντιδραστήρα (mg/L)	Συγκέντρωση NO_3^- -N εισόδου (mg/L)	Συγκέντρωση NO_3^- -N εξόδου (mg/L)	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)
1	8	674	50	0.524	98.95
2	8	645	57	0.731	98.72
3	8	696	51	0.851	98.33
4	8	656	54	0.353	99.35
5	4	625	51	2.894	94.33
6	4	631	52	3.742	92.80
7	4	629	50	3.682	92.64
8	4	682	52	2.862	94.50
9	3	623	58	7.253	87.49
10	3	691	57	6.513	88.57
11	3	647	52	7.381	85.81
12	3	629	51	6.763	86.74

Στους Πίνακες 3Α και 4Α παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πρώτης φάσης της τρίτης περιόδου του πειράματος.

Πίνακας 22Α: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο

Ημέρες	Παροχή (L/d)	Χρόνος παραμονής (h)	NH ₄ ⁺ -N (mg/L)				NO ₃ ⁻ -N (mg/L)				NO ₂ ³ -N (mg/L)			
			Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)
1	4.50	8.00	58.00	1.45	1.23	97.50	0.73	58.55	0.33	99.44	1.25	56.59	6.34	88.80
2	4.50	8.00	56.00	1.18	0.98	97.89	0.71	56.02	0.18	99.69	0.93	54.63	4.60	91.58
3	4.50	8.00	61.00	1.12	1.08	98.16	0.77	62.88	0.17	99.73	0.90	59.51	4.65	92.19
4	4.50	8.00	63.00	1.32	1.16	97.90	0.80	65.94	0.12	99.81	0.24	61.46	1.20	98.04
5	9.00	4.00	55.00	2.89	2.56	94.75	0.70	55.11	0.27	99.51	0.49	53.66	2.43	95.47
6	9.00	4.00	57.00	2.75	2.19	95.18	0.72	61.50	0.58	99.05	2.22	55.61	11.28	79.71
7	9.00	4.00	61.00	3.25	2.50	94.67	0.77	76.30	0.45	99.41	2.38	59.51	11.73	80.29
8	9.00	4.00	59.00	3.15	2.75	94.66	0.75	64.80	0.43	99.34	2.30	57.56	11.84	79.43
9	12.00	3.00	55.00	12.51	10.50	77.25	0.70	46.00	1.12	97.57	2.15	53.66	10.89	79.71
10	12.00	3.00	58.00	12.62	11.75	78.24	0.73	48.50	1.23	97.46	2.26	56.59	11.16	80.29
11	12.00	3.00	63.00	14.45	12.50	77.06	0.80	51.20	1.76	96.56	2.46	61.46	12.82	79.14
12	12.00	3.00	59.00	12.76	11.83	78.37	0.70	60.32	1.89	96.87	2.34	58.93	11.75	80.06

Πίνακας 23Α: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας συνθετικό απόβλητο

Ημέρες	Παροχή (L/d)	Χρόνος παραμονής (h)	TOC (mg/L)			TSS (mg/L)		
			Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3
1	4.50	8.00	46.82	34.32	19.04	0.01	0.03	0.02
2	4.50	8.00	42.12	28.14	19.53	0.05	0.03	0.01
3	4.50	8.00	38.85	21.03	13.85	0.11	0.05	0.02
4	4.50	8.00	37.48	23.86	16.93	0.04	0.03	0.03
5	9.00	4.00	39.75	25.97	18.94	0.09	0.04	0.04
6	9.00	4.00	42.12	23.19	15.50	0.15	0.06	0.06
7	9.00	4.00	35.03	28.28	12.05	0.10	0.12	0.13
8	9.00	4.00	36.82	29.54	14.76	0.05	0.09	0.12
9	12.00	3.00	64.66	33.03	21.53	0.02	0.04	0.08
10	12.00	3.00	64.66	22.87	22.02	0.02	0.06	0.10
11	12.00	3.00	64.66	24.87	22.94	0.06	0.07	0.12
12	12.00	3.00	43.63	26.64	23.74	0.04	0.06	0.09

Πριν τη πραγματοποίηση των μετρήσεων μετρήθηκε η απορρόφηση με το φασματοφωτόμετρο προκειμένου να δημιουργηθεί η καμπύλη των μικροοργανισμών. Για το διάγραμμα της καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα του ακόλουθου Πίνακα 5Α.

Πίνακας 5Α: Αποτελέσματα μετρήσεων για την καμπύλη των μικροοργανισμών

Ημέρα 1 ^η		Ημέρα 2 ^η		Ημέρα 3 ^η		ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	
Χρόνος (h)	Απορρόφηση (abs)	Χρόνος (h)	Απορρόφηση (abs)	Χρόνος (h)	Απορρόφηση (abs)	Χρόνος (h)	Απορρόφηση (abs)
0	0.352	0	0.304	0	0.477	0	0.378
0.5		0.5	0.294	0.5	0.485	0.5	0.39
1	0.35	1	0.322	1	0.46	1	0.377
1.5		1.5	0.335	1.5	0.444	1.5	0.39
2	0.326	2	0.359	2	0.414	2	0.366
2.5		2.5	0.397	2.5	0.422	2.5	0.41
3	0.37	3	0.473	3	0.416	3	0.42
3.5		3.5	0.521	3.5	0.443	3.5	0.482
4	0.42	4	0.664	4	0.516	4	0.533
4.5		4.5	0.776	4.5	0.565	4.5	0.671
5	0.529	5	1.004	5	0.637	5	0.723
5.5		5.5	1.163	5.5	0.782	5.5	0.973
6	0.636	6	1.335	6	1.038	6	1.321
6.5		6.5	1.492	6.5	1.15	6.5	1.355
7	0.913	7	1.645	7	1.507	7	1.46
7.5	1.123	7.5	1.742	7.5	1.515	7.5	1.592
8	1.199	8	1.933	8	1.644	8	1.715
8.5	1.443	8.5	1.974	8.5	1.728	8.5	1.872
9	1.686	9	2.053	9	1.878	9	1.986
9.5	1.777	9.5	2.157	9.5	2.023	9.5	2.05
10	1.948	10	2.187	10	2.014	10	2.152
10.5	2.093	10.5	2.262	10.5	2.1	10.5	2.238
11	2.218	11	2.29	11	2.206	11	2.289
11.5	2.331	11.5	2.332	11.5	2.204	11.5	2.35
12	2.387	12	2.358	12	2.304	12	2.402
12.5	2.456	12.5	2.418	12.5	2.332	12.5	2.42
13	2.501	13	2.4	13	2.36	13	2.423
13.5	2.511	13.5	2.358	13.5	2.399	13.5	2.437
14	2.496	14	2.433	14	2.383	14	2.442
14.5	2.5	14.5	2.422	14.5	2.405	14.5	2.442
15	2,546	15	2,393	15	2,388	15	2,416
15,5	2,461	15,5	2,385	15.5	2.403	15.5	2.427
16	2.457	16	2.397	16	0	16	2.39
16.5	2.467	16.5	2.312	16.5	0	16.5	2.389
17	2.389	17				17	2.404
17.5	2.404					17.5	2.416
18	2.416					18	2.406
18.5	2.406					18.5	2.355
19	2.355					19	2.327
19.5	2.327					19.5	2.315
20	2.315					20	2.263
20.5	2.263					20.5	

Στους Πίνακες 6Α, 7Α και 8Α παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της δεύτερης φάσης της τρίτης περιόδου του πειράματος.

Πίνακας 6Α: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας αστικό απόβλητο

Ημέρες	Χρόνος παραμονής (h)	NH ₄ ⁺ -N (mg/L)				NO ₃ ⁻ -N (mg/L)				NO ₂ ⁻ -N (mg/L)			
		Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)
1	8	59.50	0.96	0.74	98.39	1.02	72.52	1.83	98.86	9.00	0.01	0.01	99.89
2	8	57.00	1.12	0.92	98.04	1.09	67.59	1.76	98.88	9.50	0.01	0.01	99.92
3	8	54.00	0.61	0.57	98.87	0.54	56.94	1.47	99.18	2.40	0.00	0.00	99.99
4	8	54.00	0.72	0.56	98.67	0.49	57.29	1.52	99.09	2.80	0.00	0.00	99.98
5	4	52.00	3.63	3.30	93.02	0.29	54.89	1.27	97.69	2.60	0.01	0.00	99.85
6	4	56.50	3.60	3.04	93.63	0.34	64.84	1.58	97.56	8.00	0.01	0.01	99.92
7	4	56.00	3.81	3.06	93.20	0.73	63.83	1.35	97.89	7.10	0.01	0.01	99.93
8	4	53.00	3.77	3.37	92.89	0.72	57.92	1.43	97.54	4.20	0.00	0.00	99.94
9	3	55.00	11.23	10.22	79.58	0.63	62.63	2.72	95.66	7.00	0.01	0.00	99.94
10	3	54.50	11.30	10.43	79.27	0.67	60.17	2.93	95.13	5.00	0.00	0.00	99.94
11	3	53.00	10.74	9.79	79.74	0.33	57.03	2.36	95.86	3.70	0.00	0.00	99.95
12	3	52.00	10.91	9.98	79.02	0.49	55.49	2.59	95.33	3.00	0.00	0.00	99.97

Πίνακας 24: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας αστικό απόβλητο

Ημέρες	Χρόνος παραμονής (h)	BOD (mg/L)				COD (mg/L)				TOC (mg/L)			
		Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)	Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο 3	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)
1	8	222	128	29	86.74	464	255.2	63.8	86.25	121.78	66.98	16.75	86.25
2	8	231	119	34	85.28	482	241	75	84.50	120.20	63.25	19.61	83.69
3	8	225	123	30	86.67	470	239.7	65	86.23	123.36	62.91	16.99	86.23
4	8	209	119	28	86.60	438	254.04	64	85.50	115.26	66.68	16.67	85.54
5	4	187	146	22	88.29	394	291.56	52	86.68	91.63	76.52	13.77	84.97
6	4	193	139	18	90.64	406	304.5	52	87.25	101.00	79.92	13.59	86.55
7	4	216	167	20	90.72	452	339	51	88.75	115.01	88.98	13.35	88.40
8	4	223	161	18	92.06	466	358.82	47	89.99	119.18	94.18	12.24	89.73
9	3	269	226	61	77.32	558	451.98	136	75.70	138.46	118.63	35.59	74.30
10	3	237	210	57	76.08	494	405.08	142	71.30	124.43	106.32	37.21	70.09
11	3	193	157	42	78.04	406	349.16	108	73.34	101.75	91.64	28.41	72.08
12	3	212	171	46	78.22	311	261.24	89	71.44	75.67	68.57	23.31	69.19

Πίνακας8Α: Αποτελέσματα πειραματικών μετρήσεων του συστήματος νιτροποίησης – απονιτροποίησης με Βιοκαταλύτες Lentikats χρησιμοποιώντας αστικό απόβλητο

Ημέρες	Χρόνος παραμονής (h)	TSS (mg/L)		
		Σημείο 1	Σημείο 2	Σημείο3
1	8	57.5031	82.5031	92.5031
2	8	62.3013	87.3013	97.3013
3	8	30.0714	55.0714	65.0714
4	8	26.8718	51.8718	61.8718
5	4	27.5164	52.5164	62.5164
6	4	65.9134	90.9134	100.9134
7	4	72.7284	97.7284	107.7284
8	4	12.6713	37.6713	47.6713
9	3	42.8813	67.8813	77.8813
10	3	39.4024	64.4024	74.4024
11	3	52.5913	77.5913	87.5913
12	3	61.4163	86.4163	96.4163