



ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



Βιομηχανικό Εργαστήριο Τεχνολογίας Τροφίμων

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ (EPS) ΣΕ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΝΕΡΓΟΥ ΙΛΥΟΣ ΜΕ ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ**

Λάχανη Μαρίνα

A.M. 3431

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Υποβολή πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή του πτυχίου του τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

Επιβλέπων καθηγητής:

ΣΑΜΑΡΑΣ ΠΕΤΡΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2015

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ (EPS) ΣΕ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΝΕΡΓΟΥ ΙΛΥΟΣ ΜΕ ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ**

Λάχανη Μαρίνα

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΑΤΕΙ), Σχολή ΣΤΕΤΡΟ-Δ,
Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 ΤΘ 141, Θεσσαλονίκη

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η ολοκλήρωση αυτής της πτυχιακής υλοποιήθηκε με την υποστήριξη ενός αριθμού ανθρώπων στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου. Πρώτα από όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σαμαρά Πέτρο για την καθοδήγηση και την βοήθεια που μου προσέφερε για την υλοποίηση της πτυχιακής εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στην κ. Μπαντή Δήμητρα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση της, για την επίλυση διάφορων θεμάτων κατά την εκτέλεση των πειραμάτων και κατά την επεξεργασία και ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Μαρία Σοφίδου για την άψογη συνεργασία της.

Μαρίνα Λάχανη

Φεβρουάριος 2015

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Χαρακτηρισμός εξωκυτταρικών πολυμερών σε συστήματα ενεργού ιλύος με ενίσχυση των μικροοργανισμών

Το περιεχόμενο και η σύνθεση των εξωκυτταρικών πολυμερών ουσιών (extracellular polymeric substances, EPS) των μικροβιακών συσσωματωμάτων διαδραματίζουν καίριο ρόλο στη βιολογική επεξεργασία των αποβλήτων. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε ανάγκη για περαιτέρω γνώση πάνω στην επεξεργασία των υγρών αποβλήτων και των αποχετευτικών συστημάτων. Έτσι οδηγηθήκαμε στην μέτρηση των EPS. Οι παράγοντες που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν η επίδραση του ενεργού άνθρακα και της ακτινοβολίας LED στην συγκέντρωση των EPS ως προς τον χρόνο κράτησης της ιλύος (Sludge Retention Time-SRT) κατά τη βιολογική επεξεργασία ενεργού ιλύος αποβλήτου μελάσας. Πραγματοποιήθηκαν τρεις κύκλοι πειραμάτων και μελετήθηκε επιπλέον και η επίδραση του τρόπου αποθήκευσης των δειγμάτων πριν την εκχύλιση στα EPS. Για τις μετρήσεις των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Lowry και των πολυσακχαριτών η μέθοδος Dubois. Τα δείγματα λαμβάνονταν λίγο πριν το τέλος της διαδικασίας αερισμού. Για κάθε δειγματοληψία πραγματοποιείται εκχύλιση των EPS, κατά την οποία λαμβάνονταν δείγματα και φυγοκεντρούνταν έτσι ώστε να παραληφθούν τα κλάσματα SEPS, LBEPS και TBEPS. Για τα κλάσματα αυτά των EPS πραγματοποιούνταν η μέτρηση της συγκέντρωσης πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών, δηλαδή των δύο βασικών συστατικών τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ενεργός άνθρακας δεν επηρεάζει τους πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS ενώ αντίθετα, στις πρωτεΐνες στα SEPS, παρατηρήθηκε κάποια μείωση. Η μείωση αυτή έχει, προφανώς, προκληθεί από την προσροφητική δράση του ενεργού άνθρακα. Η ακτινοβολία LED και στους τρεις κύκλους πειραμάτων επηρέασε τις συγκεντρώσεις των EPS και για τα τρία κλάσματα (SEPS, LBEPS, TBEPS), περισσότερο τις πρωτεΐνες και λιγότερο τους πολυσακχαρίτες. Στην περίπτωση ακτινοβολίας LED, συνεχούς αερισμού χωρίς ανοξική φάση, παρατηρούμε ότι οι συγκεντρώσεις των τριών κλασμάτων τόσο για τους πολυσακχαρίτες, όσο και για τις πρωτεΐνες είναι διαφορετικές από τον έλεγχο αλλά και από την ακτινοβολία LED με ανοξική φάση, συνεπώς περισσότερες μελέτες θα μας δώσουν πιο ακριβή συμπεράσματα. Τέλος είναι προτιμότερο η εκχύλιση των EPS να γίνεται άμεσα, μετά τη δειγματοληψία. Σε περίπτωση που είναι αναγκαία η αποθήκευση του δείγματος ο βέλτιστος τρόπος είναι η αποθήκευση στην κατάψυξη έως και δύο ημέρες.

Λέξεις κλειδιά: αστικά λύματα, ενεργός ιλύς, πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, EPS.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

| | |
|---|----|
| Περίληψη..... | 3 |
| 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... | 5 |
| 2.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ | |
| 2.1.Ορισμός, χαρακτηριστικά και κατανομή των εξωκυτταρικών πολυμερών | 6 |
| 2.2.Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των εξωκυτταρικών πολυμερών.... | 10 |
| 2.3.Σημασία των εξωκυτταρικών πολυμερών στη διαχείριση των υγρών αποβλήτων | 12 |
| 2.4.Επίδραση της ακτινοβολίας LED και του ενεργού άνθρακα στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών και στην παραγωγή των πολυμερών | 16 |
| 3.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ..... | 18 |
| 4.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ | |
| 4.1.Υλικά και μέθοδοι | |
| 4.1.1. Συστήματα βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων εργαστηριακής κλίμακα... | 19 |
| 4.1.2. Υλικά και αντιδραστήρια..... | 21 |
| 4.1.3. Όργανα..... | 21 |
| 4.2. Πρωτόκολλο εκχύλισης εξωκυτταρικών πολυμερών..... | 22 |
| 4.3. Μέθοδοι ανάλυσης..... | 23 |
| 5.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ | |
| 5.1.Παρασκευή πρότυπης καμπύλης πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών..... | 26 |
| 5.2.Επίδραση του τρόπου αποθήκευσης των δειγμάτων πριν την εκχύλιση στα EPS..... | 28 |
| 5.3.Μελέτη βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων με μίγμα αστικού αποβλήτου (90%) και αποβλήτου μελάσσας (10%) | |
| 5.3.1. Επίδραση προσθήκης ενεργού άνθρακα και ακτινοβολίας LED..... | 29 |
| 5.3.2. Επίδραση ακτινοβολίας LED..... | 33 |
| 5.4.Μελέτη βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων με μίγμα νερού (90%) και αποβλήτου μελάσσας (10%) | |
| 5.4.1.Επίδραση ακτινοβολίας LED και ακτινοβολίας LED χωρίς ενδιάμεση ανοξική φάση..... | 37 |
| 6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... | 42 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 46 |

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη βιολογική επεξεργασία αποβλήτων, οι μικροοργανισμοί έχουν την τάση να συσσωματώνονται σχηματίζοντας κροκιδώσεις, βιοφίλμ, ακόμη και κόκκους (Raszka et al., 2006). Η διαδικασία της ενεργού ιλύος αποτελεί την πιο διαδεδομένη βιολογική μέθοδο που χρησιμοποιείται στην διαχείριση των υγρών αποβλήτων, όπου με τη βοήθεια της βαρύτητας επιτυγχάνεται ο βιοδιαχωρισμός στερεού-υγρού. Η κροκιδωση της λάσπης μετατρέπει τα μικροβιακά κύτταρα σε σύνολα αδρανών συσσωματωμάτων (βιοφίλμ) και ρυθμίζει τον διαχωρισμό βιομάζας-νερού, όπου είναι και το κρίσιμο σημείο για το τελικό αποτέλεσμα της διαδικασίας. Ένα μεγάλο μέρος της δομής των βιοφίλμ σε ενεργοποιημένη ιλύς αποτελείται από εξωκυτταρικά πολυμερή (EPS) (Raszka et al., 2006). Το περιεχόμενο και η σύνθεση των EPS των μικροβιακών συσσωματωμάτων διαδραματίζουν καίριο ρόλο στη βιολογική επεξεργασία των λυμάτων (Ni et al., 2009). Τα EPS είναι κυρίως υπεύθυνα για την δομική και την λειτουργική ακεραιότητα των βιοφίλμ (Raszka et al., 2006) και θεωρούνται ότι είναι σημαντικά για, τις φυσικοχημικές ιδιότητες των μικροβιακών συσσωματωμάτων, συμπεριλαμβανομένων της δομής, του επιφανειακού φορτίου, την κροκιδωση, την καθίζηση, τις ιδιότητες αφυδάτωσης και την ικανότητα απορρόφησης (Sheng et al., 2010). Είναι φορτισμένα πολυμερή που αλληλεπιδρούν με το νερό με παρόμοιο τρόπο όπως τα πηκτώματα (Raszka et al., 2006). Δεσμεύονται με τα κύτταρα μέσω πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων για να σχηματίσουν μια τεράστια δικτυωτή δομή με άφθονο νερό που προστατεύει τα κύτταρα από την αφυδάτωση και τη βλάβη των τοξικών ουσιών (Sheng et al., 2010). Τα EPS συνήθως διαιρούνται σε δύο κύρια κλάσματα: στα διαλυτά EPS (soluble EPS-SEPS) και στα δεσμευμένα EPS (bound EPS – BEPS). Η προσκόλληση των SEPS στα κύτταρα είναι αδύναμη, και ως αποτέλεσμα αυτού τα SEPS απομακρύνονται ευκολότερα. Το εσωτερικό στρώμα των δεσμευμένων EPS αποτελείται από στενά δεσμευμένα EPS (Tightly Bound EPS-TBEPS), ενώ το εξωτερικό στρώμα αποτελείται από χαλαρά δεσμευμένα EPS (Loosely Bound EPS-LBEPS). Τα TBEPS έχουν ορισμένη μορφολογία ενώ τα LBEPS δεν έχουν διακριτό όριο. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, η παραγωγή EPS επηρεάζεται από το μέσο που χρησιμοποιείται (π.χ. των πόρων άνθρακα, C/N), τις συνθήκες ανάπτυξης, τις συνθήκες λειτουργίας (π.χ. χρόνος κατακράτησης ιλύος, DO) και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ. μέταλλα, φάρμακα, οι δυνάμεις διάτμησης) (Chen et al., 2013). Έτσι, η σε βάθος μελέτη των EPS είναι ένα θέμα μεγάλου ενδιαφέροντος (Sheng et al., 2010).

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. Ορισμός, χαρακτηριστικά και κατανομή των εξωκυτταρικών πολυμερών

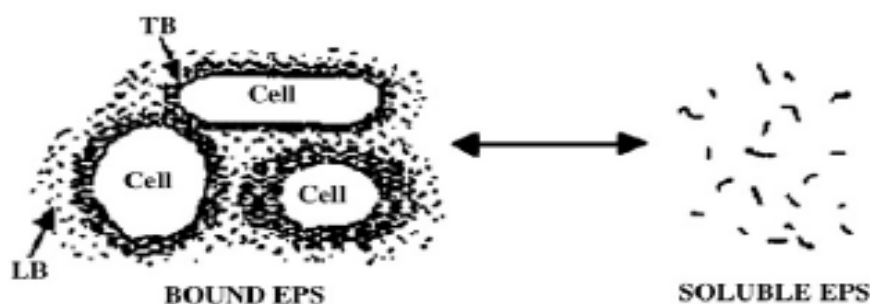
Ορισμός των εξωκυτταρικών πολυμερών

Τα EPS είναι μόρια υψηλού μοριακού βάρους (Flemming & Wingender 2010) και χρησιμοποιούνται ως σύντμηση "EPS" για την περιγραφή ενός πιο γενικού και ολοκληρωμένου όρου που αντιπροσωπεύει διαφορετικές κατηγορίες μακρομορίων όπως (Sheng et al., 2010) πολυσακχαρίτες, DNA, πρωτεΐνες, λιπίδια και χουμικά οξέα.

Πίνακας 1. Συστατικά των διαλυτών και δεσμευμένων EPS (Sheng et al., 2010)

| Διαλυτά EPS | Δεσμευμένα EPS |
|-------------|----------------------------|
| Μακρομόρια | Στενά δεσμευμένα πολυμερή |
| Κολλοειδή | Θυλακώδη πολυμερή |
| | Συμπυκνωμένη πηκτή |
| | Χαλαρά δεσμευμένα πολυμερή |
| | Οργανικό υλικό |

Απελευθερώνονται από τα μικρόβια και προσκολλώνται στις επιφάνειες των κυττάρων της ενεργοποιημένης ιλύος (βιοφίλμ) κατά την επεξεργασία των αποβλήτων (Flemming & Wingender 2010), καθώς επίσης προσροφούν οργανική ύλη από την ενεργοποιημένη ιλύ (Sheng et al., 2010) (Σχήμα 1). Οι μορφές EPS που υπάρχουν έξω από τα κύτταρα μπορούν να υποδιαιρεθούν σε διαλυτά EPS (διαλυτά μακρομόρια, κολλοειδή) και δεσμευμένα EPS (στενά συνδεδεμένα, θυλακώδη πολυμερή, συμπυκνωμένη πηκτή, χαλαρά συνδεδεμένα πολυμερή και οργανικά υλικά) (Πίνακας 1) (Raszka et al., 2006). Το εσωτερικό στρώμα έχει ένα ορισμένο σχήμα και αποτελείται από στενά δεσμευμένα EPS (TBEPs), τα οποία συγκρατούνται ισχυρά και σταθερά με την επιφάνεια του κυττάρου. Το εξωτερικό στρώμα, το οποίο αποτελείται από χαλαρά δεσμευμένα EPS (LBEPs), είναι ένα χαλαρό και διασπειρόμενο στρώμα ιλύς χωρίς εμφανή άκρα. Το περιεχόμενο των LBEPs σε μικροβιακά συσσωματώματα είναι πάντα μικρότερο από εκείνο των TBEPs, και έτσι μπορούν να έχουν κάποια επίδραση στα χαρακτηριστικά των μικροβιακών μεγεθών (Sheng et al., 2010).

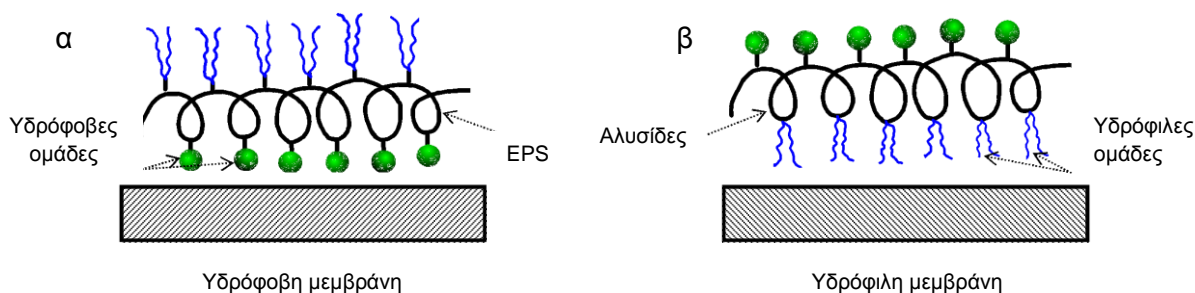


Σχήμα 1. Δομή των EPS (Sheng et al., 2010).

Χαρακτηριστικά των εξωκυτταρικών πολυμερών

Η παρουσία πολλών λειτουργικών ομάδων σε EPS, όπως καρβοξύλιο, φωσφορικό, σουλφυδρύλιο, φαινολικές ομάδες και ομάδες υδροξυλίου, μπορούν να δημιουργήσουν σύμπλοκα με βαρέα μέταλλα (Sheng et al., 2010). Η ικανότητα δέσμευσης και η δύναμη των δεσμών μεταξύ των EPS και των βαρέων μετάλλων είναι γνωστό ότι είναι υψηλά (Joshi & Juwarkar, 2009) καθώς επίσης η προσρόφηση υπακούει τις εξισώσεις Freundlich και Langmuir (Wang et al., 2007). Τα διαλυτά EPS έχουν ένα υψηλότερο κλάσμα πρωτεϊνών από τα δεσμευμένα EPS (Sheng et al., 2010). Επίσης προσροφούν οργανικούς ρύπους, εδαφικά οξέα και χρωστικές (Joshi & Juwarkar, 2009).

Η υδροφοβικότητα (ή η επιφανειακή ενέργεια) και το επιφανειακό φορτίο, οι οποίες είναι σχετικές με τις δυνάμεις μικρής και μεγάλης εμβέλειας, αντίστοιχα, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη προκειμένου να μπορούμε να περιγράψουμε την προσκόλληση των μικροοργανισμών σε ένα υπόστρωμα (Raszka et al., 2006). Διαπιστώθηκε ότι οι υδρόφοβες ομάδες αποτελούνται κυρίως από πρωτεΐνες ενώ οι υδρόφιλες από πολυσακχαρίτες. Η αναλογία υδρόφιλων/υδρόφοβων ομάδων επηρεάζει ακόμα και τον σχηματισμό των συσσωματωμάτων μέσα στους βιοαντιδραστήρες (Σχήμα 2) (Liu & Fang, 2003).



Σχήμα 2. Προσκόλληση των EPS στην επιφάνεια σε (α) υδρόφοβη μεμβράνη και (β) υδρόφιλη μεμβράνη (Lin et al., 2014)

Αντίθετα από άλλους ερευνητές υποστηρίζεται ότι οι υδρόφοβες περιοχές βρίσκονται στους πολυσακχαρίτες και οι αρωματικές, αλειφατικές ενώσεις στις πρωτεΐνες, μια τέτοια μοριακή σύνθεση υποδεικνύει ότι τα EPS είναι επαμφοτερίζοντα

σε κάποιο βαθμό (Lin et al., 2014). Αυξάνοντας την υδροφοβικότητα των κυτταρικών επιφανειών προωθείται η αλληλεπίδραση κυττάρου προς κυττάρου και αυτό περαιτέρω χρησιμεύει ως προκαλούσα δύναμη των κυττάρων για τη συγκέντρωση από την υδρόφιλη υγρή φάση. Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι κυτταρικές υδρόφοβες ή υδρόφιλες αλληλεπιδράσεις, σε μεγάλο βαθμό, εξαρτώνται από την επιφανειακή τάση του χύδην διαλύματος στο οποίο ζουν τα βακτήρια. Κατά συνέπεια, η προσκόλληση των υδρόφιλων κυττάρων ενισχύεται σε χαμηλή επιφανειακή τάση υγρού, ενώ το αντίθετο ισχύει για υδρόφοβα κύτταρα (Raszka et al., 2006). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση και τα χαρακτηριστικά των EPS, ασκούν ομοίως επιπτώσεις στην υδροφοβικότητα και στην υδροφιλικότητα τους. Αυτοί οι παράγοντες θα μπορούσαν να είναι μια σειρά από λειτουργικές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων του διαλυμένου οξυγόνου (DO), την θερμοκρασία, το pH, την ιοντική ισχύ και το υπόστρωμα της ιλύος. Η υδροφοβικότητα ή υδροφιλικότητα των EPS σχετίζεται άμεσα με την προσκόλληση, την κροκίδωση, την καθίζηση και τις ιδιότητες αφυδάτωσης των EPS και των κροκίδων (Lin et al., 2014).

Τα EPS μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα βακτήρια και ως πηγές άνθρακα και ενέργειας. Στους αντιδραστήρες επεξεργασίας βιολογικών αποβλήτων τα ενζυμα για την βιοδιάσπαση των πολυμερών αυτών βρίσκονται σε αφθονία (Πίνακας 2). Τα βακτήρια της ενεργούς ιλύος μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα EPS που εξάγονται από άλλα βακτήρια για μεταβολικές αντιδράσεις (Zhang & Bishop, 2003). Ορισμένα μέρη του EPS δεν μπορούν να διασπαστούν από μικροοργανισμούς. Ο Sheng et al., αναφέρει πως τα EPS που εκχυλίζονται χρησιμοποιώντας διάφορες μεθόδους έχουν και διαφορετική βιοαποικοδομησιμότητα. Τέλος η βιοδιάσπαση των EPS συνεισφέρει και στην αποκροκίδωση των συσσωματωμάτων της ενεργού ιλύος (Sheng et al., 2010).

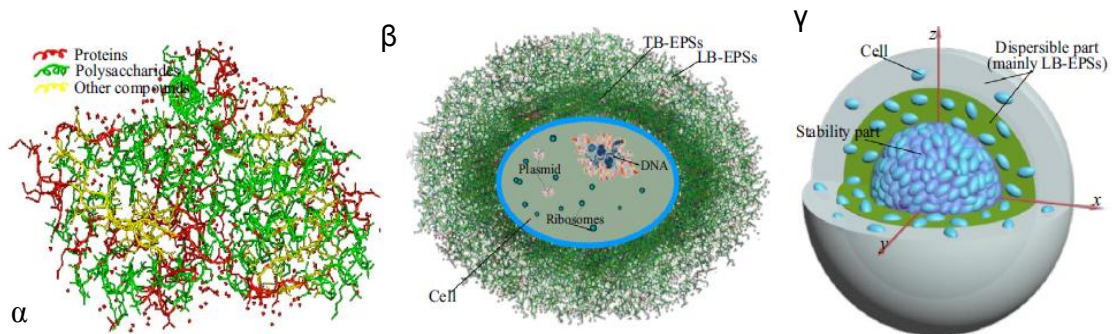
Πίνακας 2. Διαφορές μεταξύ διαλυτών και δεσμευμένων EPS (Sheng et al., 2010)

| | LBEPS | TBEPS |
|---|----------------------------|--------------------------|
| Χαρακτηριστικά της σύνδεσης με το κύτταρο | Χαλαρά δεσμευμένα | Στενά δεσμευμένα |
| Επίδραση στη φυγοκέντρωση | Παραμένουν στο υπερκείμενο | Παραμένουν με τα κύτταρα |
| Ο εντοπισμός των ενζύμων | εξωένζυμα | ένδοενζυμα |

Κατανομή των εξωκυτταρικών πολυμερών

Το περιεχόμενο και η σύνθεση των EPS που εκχυλίζονται από διάφορα μικροβιακά συσσωματώματα είναι ετερογενή όπως και μπορεί να παρατηρηθεί

χρησιμοποιώντας συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης με λέιζερ (CLSM, Confocal Laser Microscopy) ή μικροσκόπιο φθορισμού μετά από χρωματισμό των EPS με φθορίζουσες χρωστικές ή λεκτίνες. Τα EPS συμπυκνώνονται στο κέντρο συνάθροισης της ιλύος και ορισμένοι πολυσακχαρίτες υπάρχουν γύρω από το δίκτυο των νηματοειδών μυκήτων (McSwain et al, 2005). Τα EPS κατανεμήθηκαν σε στρώματα διαμέσου του βάθους του βιοφίλμ και η απόδοσή τους διαφέρει κατά μήκος του βάθους βιοφίλμ (Sheng et al., 2010). Όσον αφορά την αναερόβια κοκκώδη ιλύ, τα περισσότερα EPS βρέθηκαν στο εξωτερικό στρώμα, ενώ τα υπόλοιπα που βρίσκονται στο εσωτερικό στρώμα εκτιμήθηκε ότι είναι έως και τέσσερις φορές περισσότερα από ότι στο εξωτερικό (Wang et al., 2005). Άποψη που υποστηρίζεται και από τους Lin et al., οι οποίοι αναφέρουν ότι παρατηρήθηκε επίσης, σε αερόβια κοκκώδη ιλύ, η περιεκτικότητά των EPS (αναλογία μάζας EPS προς όγκο) που περιέχεται στο εσωτερικό στρώμα να είναι κατά προσέγγιση τέσσερις φορές μεγαλύτερη από ότι στο εξωτερικό στρώμα της ιλύος. Η περιεκτικότητα των εξωτερικών στρωμάτων (LB-EPS) ήταν μόνο περίπου το 1/5 του περιεχομένου TB-EPS (Lin et al., 2014). Τα EPS περιβάλλουν τα βακτήρια (Σχήμα 3), σχηματίζοντας μια δυναμική διπλή πολυεπίπεδη δομή όπου στενά συνδεδεμένα EPS (TB-EPS) σχηματίζουν το εσωτερικό στρώμα και χαλαρά δεσμευμένα EPS (LB-EPS) διαχέονται στο εξωτερικό στρώμα (Σχήμα 3 (β) και (γ)) (Lin et al., 2014).



Σχήμα 3. Σχηματική απεικόνιση (α) της δομής της EPS, (β) της δομής των κυττάρων, και (γ) της δομής κροκίδων ιλύος (Lin et al., 2014).

Ο Mcswain et al., παρατήρησε ότι στο εξωτερικό στρώμα απατώνονται κύτταρα και υδατάνθρακες, ενώ στο εσωτερικό οι πρωτεΐνες. Επίσης οι Chen et al., βρήκαν ότι σε αερόβια ιλύ που το υπόστρωμα τρέφεται με οξικό άλας, ο πυρήνας τους αποτελείται από πρωτεΐνες και β-D-γλυκοπυρανόζη, ενώ το εξωτερικό στρώμα από

πολυσακχαρίτες (α -D-γλυκοπυρανόζη). Σε υποστρώματα που τρέφονται με φαινόλη, οι πρωτεΐνες είναι αυτές που σχηματίζουν τον πυρήνα, ενώ στο εξωτερικό στρώμα βρέθηκαν κύτταρα και πολυσακχαρίτες (α -β-D-γλυκοπυρανόζη). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η κατανομή των EPS εξαρτάται από το είδος της μικροβιακής καλλιέργειας, την δομή και των τύπο των συσσωματωμάτων (Geng et al, 2007). Η μεταβολή στην σύνθεση των εξαγόμενων EPS αποδίδεται σε πολλούς παράγοντες, όπως ο πληθυσμός, η φάση ανάπτυξης, η παράμετρος της διαδικασίας, ο τύπος του βιοαντιδραστήρα, η μέθοδος εκχύλισης και το αναλυτικό εργαλείο που χρησιμοποιείται (Sheng et al., 2010).

2.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των εξωκυτταρικών πολυμερών

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή των EPS είναι :

- Τύπος υποστρώματος
- Περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά
- Φάση ανάπτυξης
- Εξωτερικές συνθήκες

Ο τύπος υποστρώματος έχει ουσιώδη επίδραση στις μικροβιακές κοινότητες στην ιλύ, και το μικροβιακό μεταβολισμό, με αποτέλεσμα να επηρεάζει την παραγωγή των EPS (Sheng et al., 2010). Στην ενεργοποιημένη ιλύ που το υπόστρωμα περιείχε γλυκόζη, υπήρχαν περισσότερα EPS από ότι σε αυτή με οξικό άλας. Επίσης εξετάστηκε η παραγωγή των EPS σε αντιδραστήρες με διαφορετικά απόβλητα και βρέθηκε ότι προκύπτει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη από απόβλητα επεξεργασίας κρασιού και αστικών λυμάτων, από ότι σε απόβλητα της επεξεργασίας χαρτοπολτού, πετροχημικών και υφασμάτων (Li & Yagn, 2007). Επίσης έπειτα από σύγκριση EPS που παρήχθησαν από διαφορετικά υποστρώματα, βρέθηκε ότι το υπόστρωμα βενζοϊκού είναι αυτό που υπερτερεί σε σχέση με το προπιονικού, βουτυρικού και οξικού άλατος. Αυτό σημαίνει ότι τα βακτήρια εκκρίνουν περισσότερα EPS κάτω από αντίξοες συνθήκες (Sheng et al., 2010).

Τα επίπεδα των θρεπτικών συστατικών παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή

και την σύνθεση των EPS. Τα EPS μπορεί να μεταβολιστούν από τα βακτήρια ως πηγή άνθρακα και ενέργειας όταν υπάρχει έλλειψη στο υπόστρωμα. Η αύξηση τους σχετίζεται με την αύξηση της αναλογίας τροφής/μικροοργανισμοί (Sheng et al., 2010). Έχει διαπιστωθεί ότι η περιεκτικότητα σε πολυσακχαρίτες στην εξόρυξη των EPS αυξήθηκε από ενεργοποιημένη ιλύς όταν ο φωσφόρος ήταν σε έλλειψη (Liu et al., 2006). Τέλος, τα EPS στην ενεργοποιημένη ιλύ είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, αλλά χαμηλά σε πολυσακχαρίτες, σε αναλογία άνθρακα προς άζωτο σε 5, αλλά καθώς η αναλογία άνθρακα προς άζωτο αυξάνεται στα 40, η ποσότητα της πρωτεΐνης μειώνεται απότομα ενώ η ποσότητα των πολυσακχαριτών αυξάνεται (Sheng et al., 2010). Άλλοι ερευνητές έχουν βρει ότι η ενεργοποιημένη ιλύς που αναπτύσσεται με λύματα που έχουν χαμηλή αναλογία άνθρακα προς άζωτο, τείνει να παράγει EPS με υψηλή αναλογία πρωτεϊνών / πολυσακχαριτών (Liu & Fang, 2003).

Διερευνήθηκαν οι επιδράσεις του χρόνου καλλιέργειας για την παραγωγή των EPS στη ενεργού ιλύος, και διαπιστώθηκε ότι η ποσότητα των EPS είναι στενά συνδεδεμένη με τη φάση της ανάπτυξης των βακτηρίων. Κατά τη διάρκεια της εκθετικής φάσης ανάπτυξης, το περιεχόμενο των EPS αυξήθηκε με τον χρόνο καλλιέργειας, αλλά κατά τη διάρκεια της στατικής φάσης μειώθηκε με την αύξηση του χρόνου καλλιέργειας. Αντίθετα, η περιεκτικότητα σε EPS από φωτοσυνθετικά βακτηριακά στελέχη μειώθηκε με τον χρόνο καλλιέργειας κατά την διάρκεια της εκθετικής φάσης ανάπτυξης, αλλά παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητο κατά τη διάρκεια της στατικής φάσης (Sheng et al., 2005). Ο χρόνος παραμονής (SRT, solid retention time) έχει επίσης σημαντική επίδραση στην παραγωγή των EPS, αλλά τα αποτελέσματα στην βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενα. Πολύ ερευνητές έχουν διαπιστώσει πως η αύξηση του SRT σε μικροβιακές καλλιέργειες προκαλεί αύξηση των EPS, βρέθηκε ότι είχε σημαντική και θετική συσχέτιση με την συνολική ποσότητα των EPS στην ενεργοποιημένη ιλύ και στην περιεκτικότητα τους σε πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες στα EPS. Η αναλογία των πρωτεϊνών προς τους πολυσακχαρίτες αυξήθηκε από 1,5 σε 2,5 με την αύξηση του SRT από 4 έως τις 20 ημέρες. Παρόλα αυτά μερικοί ερευνητές οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι δεν έχει σχέση ο SRT με την παραγωγή των EPS. Βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα σε EPS δεν άλλαξε σημαντικά καθώς η αναλογία πρωτεϊνών / πολυσακχαριτών αυξήθηκε με την αύξηση του SRT από 4 έως 12 ημέρες, αλλά παρέμεινε αμετάβλητη από 12 έως 16 ημέρες (Sheng et al., 2010). Τέλος άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι τα TB-EPS της ενεργού ιλύος δεν έχουν καμία σχέση με τον SRT και ότι τα LB-EPS μειώθηκαν με την αύξηση του SRT (Li & Yagn, 2007).

Τα EPS συνδέονται με τα κύτταρα μέσω κατιόντων πολυσθενών μετάλλων που παίζουν ρόλο ιόντων γεφύρωσης, έτσι η συγκέντρωση σε μέταλλα επηρεάζει τη συγκέντρωσή τους. Άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι η συγκέντρωση σε ασβέστιο δεν έχει καμία επίδραση στα EPS, ενώ κάποιοι άλλοι διαπίστωσαν ότι η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στα EPS στην ενεργοποιημένη ιλύ αυξήθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου και μαγνησίου καθώς επίσης υψηλές συγκεντρώσεις νατρίου δίνουν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Τέλος, οι υψηλές συγκεντρώσεις σιδήρου στην ενεργοποιημένη ιλύ μπορούν να μεταβάλουν τα χαρακτηριστικά και την σύνθεση των EPS (Sheng et al., 2010). Με την παρουσία τοξικών ουσιών, όπως βαρέα μέταλλα, τα μικροβιακά κύτταρα στην ενεργοποιημένη ιλύ και στα βιοφίλμ παρήγαγαν περισσότερα EPS για να προστατευθούν από το αντίξοο περιβάλλον (Priester et al., 2006). Επιπλέον σε τέτοιες τοξικές συνθήκες η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες υπερέβη κατά πολύ των άλλων συστατικών των EPS. Ωστόσο, ορισμένες τοξικές ουσίες, όπως βισμούθιο διμερκαπτοπροπανόλη, μπορούν επίσης να αναστέλλουν την παραγωγή EPS. Το σύνολο των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών μειώθηκε περίπου 95% σε διάστημα 5 ημερών μετά την έκθεσή τους σε βισμούθιο διμερκαπτοπροπανόλη σε επίπεδο κοντά σε αυτό της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (Badireddy et al., 2009). Η αύξηση του ρυθμού διάτμησης ή η ένταση αερισμού στους βιοαντιδραστήρες μπορεί να αυξήσει την περιεκτικότητα σε EPS στην ιλύ. Έρευνες έδειξαν πως ο αερισμός ευνοεί την περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, ενώ η περιεκτικότητα των πρωτεϊνών παρέμεινε σταθερή σε διάφορους ρυθμούς ροής του αέρα. Οι αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες, επίσης, μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή των EPS. Σε τρεις αντιδραστήρες με υψηλά επίπεδα διαλυτού οξυγόνου οι πολυσακχαρίτες αυξάνονται με τον χρόνο, ενώ σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου οι συγκεντρώσεις σε πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες παραμένουν χαμηλές (Sheng et al., 2010).

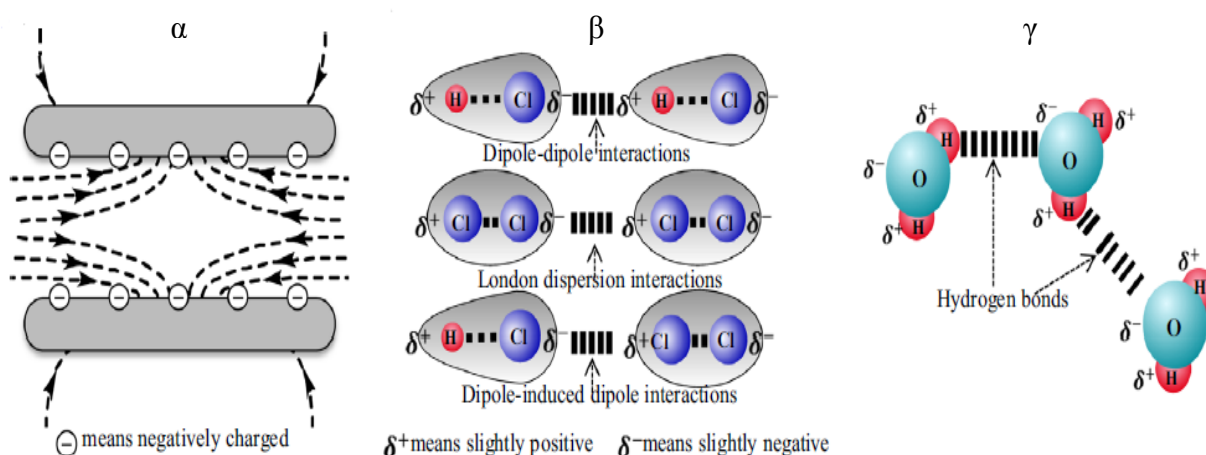
2.3. Σημασία των εξωκυτταρικών πολυμερών στη διαχείριση των υγρών αποβλήτων

Οι πιο σημαντικές λειτουργίες των EPS είναι η προσκόλληση σε επιφάνειες, η συσσωμάτωση των βακτηριακών κυττάρων σε κροκίδες, η σταθεροποίηση της δομής των κροκίδων, η δυνατότητα καθίζησης των μικροβιακών συσσωματωμάτων, ο σχηματισμός ενός προστατευτικού φράγματος που παρέχει αντίσταση σε βιοκτόνα ή

περαιτέρω δυσμενείς συνθήκες, η κατακράτηση του νερού, η απορρόφηση των εξωγενών οργανικών ενώσεων για τη συσσώρευση των θρεπτικών συστατικών από το περιβάλλον. Επίσης συμβάλλουν στις ενζυματικές δραστηριότητες, όπως η πέψη και η δέσμευση των εξωγενών μακρομορίων για θρεπτικά συστατικά, βοηθώντας έτσι τους μικροοργανισμούς στη λήψη μεταλλικών θρεπτικών στοιχείων (Comte et al., 2006).

Συσσωμάτωση βακτηριακών κυττάρων σε κροκίδες

Τα EPS διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κροκίδωση των μικροβιακών κυττάρων (Sheng et al., 2010). Η κροκίδωση μπορεί να περιγραφεί με την θεωρία Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO). Στην θεωρία αυτή η ολική ενέργεια προσκόλλησης είναι αποτέλεσμα των δυνάμεων Van der Waals και των απωστικών δυνάμεων των στρωμάτων, εκτός από αυτές τις δυνάμεις λαμβάνεται υπόψη και η κίνηση Brown. Αν η κινητική των κυττάρων μπορεί να υπερνικήσει τις δυνάμεις αυτές τότε κροκιδώνονται (Sheng et al., 2010). Οι Lin et al., 2014 αναφέρουν ότι οι δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στην ενεργοποιημένη ιλύ και των επιφανειακών ουσιών έχουν αντίκτυπο στην κροκίδωση και μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις αυτό το είδος της αλληλεπίδρασης είναι πολύ υψηλότερο από τις παραπάνω αναφερόμενες δυνάμεις. Επεκτείνοντας έτσι την κλασική θεωρία DLVO στη θεωρία XDLVO (Σχήμα 4) (Lin et al., 2014).



Σχήμα 4. Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων της θεωρίας XDLVO: (α) ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (β) Van der Waals αλληλεπιδράσεις και (γ) αλληλεπιδράσεις δεσμών υδρογόνου (Lin et al., 2014).

Οι περισσότεροι από τους προτεινόμενους μηχανισμούς για την βιοκροκίδωση βασίζονται στις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των πολυμερών, υψηλού μοριακού βάρους, τα οποία δεσμεύονται ηλεκτροστατικά και σωματικά με τις μικροβιακές επιφάνειες (Raszka et al., 2006). Ο Sheng, 2010 αναφέρει πως υπάρχουν δύο μηχανισμοί κροκίδωσης που προκαλούνται από κατιόντα : διπλής συμπίεσης στρώματος και ιοντικής γεφύρωσης μέσω EPS. Η υψηλή ιοντική συγκέντρωση βοηθά την βακτηριακή κροκίδωση και με την σειρά του το φαινόμενο αυτό οδηγεί στην συμπίεση του διπλού ηλεκτρικού στρώματος. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ιόντων γεφύρωσης, των πολυσθενών κατιόντων και των EPS παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην μικροβιακή κροκίδωση. Πολυσθενή κατιόντα (Ca^{2+} και Mg^{2+}) τείνουν να σχηματίζουν γέφυρες με τα EPS βελτιώνοντας την κροκίδωση των μικροβιακών συνόλων. (Sheng et al., 2010). Τα κατιόντα που είναι συνδεδεμένα στις επιφάνειες των κροκίδων εξουδετερώνουν εν μέρη τις αρνητικές φορτισμένες ομάδες των πολυμερών και επηρεάζουν το επιφανειακό φορτίο (Raszka et al., 2006). Παρόλα αυτά αύξηση πολυσθενών κατιόντων στην ενεργό ιλύ θα υποβάθμιζε τα χαρακτηριστικά της ιλύς και την δομή του συνόλου. Τα διεσπαρμένα κύτταρα στην ενεργό ιλύ έχουν την τάση να επανακροκιδώνονται με την προσθήκη Ca^{2+} . Η απευθείας προσθήκη πολυσθενών κατιόντων ίσως είναι ένας τρόπος που αξίζει να εξετασθεί για την βελτίωση της κροκίδωσης (Sheng et al., 2010). Οι Raszka et al., 2006 αναφέρουν πως αυξανόμενες συγκεντρώσεις των πολυσθενών κατιόντων Ca, Mg, Fe και Al στις κροκίδες συνέβαλαν στη βελτίωση της συμπίεστικότητας και της δυνατότητας καθίζησης. Τα μικροβιακά σύνολα έχουν την τάση να αποκροκιδώνονται μετά την αφαίρεση τους από την επιφάνεια των πρωτεϊνών. Προσθήκη πρωτεολυτικών ενζύμων σε αντιδραστήρα οδηγεί σε αποκροκίδωση, ενώ προσθήκη ενζύμων που υδρολύουν πολυσακχαρίτες προκαλούν λιγότερη αποκροκίδωση. Τα νουκλειικά οξέα παίζουν επίσης ρόλο στην κροκίδωση. Η βακτηριακή κροκίδωση χειροτέρευσε μετά την υποβάθμιση των νουκλειικών οξέων στα EPS του *Rhodovulum* sp. Επίσης βρέθηκε ότι η ικανότητα κροκίδωσης αυξήθηκε με την αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου, ενώ μειώθηκε με την αύξηση του συνόλου των EPS (Sheng et al., 2010). Όσον αφορά την επίδραση των πρωτεϊνών στην ικανότητα κροκίδωσης οι Raszka et al., 2006 αναφέρουν πως οι πρωτεΐνες είναι το πιο σημαντικό συστατικό των EPS για την κροκίδωση. Άλλοι ερευνητές εντόπισαν μια θετική συσχέτιση ($r = 0,8$) μεταξύ της ικανότητας κροκίδωσης και της αύξηση συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα ιλύος και στα EPS. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες στα EPS δημιουργούνται κυρίως από υδρόφοβα αμινοξέα τα οποία πρέπει να προωθούν την κροκίδωση (Raszka et al.,

2006). Τα LBEPS έδωσαν ενδείξεις ότι επιδρούν αρνητικά στην κροκίδωση της λάσπης και την κυτταρική συγκράτηση (Li & Yang 2007).

Από τη μία πλευρά η παρουσία των EPS επηρεάζει την ικανότητα κροκίδωσης και το αποτέλεσμα είναι θετικό. Από την άλλη πλευρά, η παρουσία των EPS μπορεί να προκαλέσει δυσκολίες στην αφυδάτωση και την ικανότητα διήθησης. Πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες και DNA, τα οποία περικλείονται σε EPS, παγιδεύουν το νερό και προκαλούν ένα υψηλό ιξώδες. Τα συστατικά των EPS επηρεάζουν τις ιδιότητες σύνδεσης του νερού, και ως εκ τούτου έχουν επίσης επίδραση στην αφυδατωσιμότητα της ιλύος. Οι μεμονωμένες δεσμευτικές δυνάμεις μεταξύ των λειτουργικών ομάδων στο μακρομόριο επηρεάζονται από την περιεκτικότητα σε νερό και αυξάνουν μαζί με την αύξηση της συγκέντρωσης του πολυμερούς, το οποίο είναι ένα επιχείρημα στην αποικοδόμηση των EPS για τη βελτίωση της αφυδατώσεως (Raszka et al., 2006).

Σταθεροποίηση δομής των κροκίδων

Η σταθερότητα των μικροβιακών συνόλων είναι πολύ σημαντική για τον διαχωρισμό στέρεου/υγρού στην βιολογική επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Ως σταθερότητα ορίζεται η αντίσταση των συνόλων στην υδροδυναμική και μηχανική διάτμηση. Σωματίδια, βακτήρια, EPS διαβρώνονται από την επιφάνεια των συνόλων λόγω υδροδυναμικών δυνάμεων διάτμησης. Η δομή των συνόλων παίζει σημαντικό ρόλο στην σταθερότητα και στον διαχωρισμό στερεού/υγρού. Οι ηλεκτροστατικές επιδράσεις, οι δυνάμεις Van Der Waals, οι δεσμοί υδρογόνου και οι ιοντικές γέφυρες συμβάλουν στην σταθερότητα (Σχήμα 4). Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε EPS της ιλύος θα οδηγήσει σε μεγαλύτερη σταθερότητα ιλύος (Sheng et al., 2010).

Δυνατότητα καθίζησης μικροβιακών συσσωματωμάτων

Πολλές μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα EPS έχουν αρνητική επίδραση στην καθίζηση των μικροβιακών συνόλων. Τα EPS είναι αρνητικά φορτισμένα, αύξηση της συγκέντρωσης τους έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή στο φορτίο της επιφάνειας και την αύξηση των απωστικών δυνάμεων μεταξύ των κυττάρων και την μείωση της καθίζησης των μικροβιακών συσσωματωμάτων (Morgan et al., 1990). Τα LBEPS επίσης έχουν αρνητική επίδραση στην καθίζηση της ιλύος γιατί η αύξηση τους δεσμεύει περισσότερο νερό μέσα στα μικροβιακά σύνολα παράγοντας έτσι συσσωματώματα

χαμηλής πυκνότητας (πορώδη κροκίδες). Ο δείκτης όγκου ιλύος (SVI) χρησιμοποιείται συχνά για να χαρακτηρίσει την καθίζηση της ιλύος, η χαμηλή τιμή SVI δηλώνει καλή καθίζηση. Σε γενικές γραμμές, η SVI των μικροβιακών συνόλων αυξάνει όσο αυξάνει η περιεκτικότητα σε EPS. Ωστόσο, μέχρι τώρα, οι επιπτώσεις από τα κύρια συστατικά των EPS για τη καθίζηση των μικροβιακών συνόλων δεν έχουν διευκρινιστεί καλά. Οι πρωτεΐνες και το DNA των EPS έχουν σημαντικότερες επιπτώσεις στην καθίζηση των μικροβιακών συνόλων, παρουσιάζουν μια θετική σχέση με το SVI, ενώ η επίδραση της περιεκτικότητας των πολυσακχαριτών των EPS σχετικά με το SVI δεν είναι σημαντική (Sheng et al., 2010).

2.4. Επίδραση της ακτινοβολίας LED και του ενεργού άνθρακα στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών και στην παραγωγή πολυμερών

Η επίδραση της ακτινοβολίας LED και του ενεργού άνθρακα στη βιολογική επεξεργασία αποβλήτων μελετάται τα τελευταία χρόνια και οι γνώσεις για το πώς επηρεάζουν τους μικροοργανισμούς και την παραγωγή πολυμερών είναι περιορισμένες.

Η ακτινοβολία LED χαρακτηρίζεται από στενή ζώνη μήκους κύματος, όπου φως της ενέργειας αυξάνεται, και οι λαμπτήρες LED μπορούν να προσαρμοστούν σε μια συγκεκριμένη ζώνη μήκους κύματος που ταιριάζει με τα φάσματα απορρόφησης φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών. Κατά συνέπεια, τα LED μπορούν να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα της μετατροπής του φωτός. Υποστηρίζεται ότι φως διαφόρων μηκών κύματος που εκπέμπονται από λυχνίες LED έδωσε διαφορετικές επιδράσεις στην κυτταρική ανάπτυξη και την παραγωγή της ασταξανθίνης σε μικροάλγη (Kuo et al., 2012). Επίσης βρέθηκε ότι η συγκέντρωση των κυττάρων στο πλαίσιο του συστήματος 12 ώρες φωτισμός και 12 ώρες συσκότιση (L/D - Light/Dark) ήταν μικρότερη από ότι στο πλαίσιο του συστήματος συνεχούς φωτισμού. Ωστόσο, η εισαγωγή κύκλων L/D δίνει καλύτερη απόδοση στην απομάκρυνση του οργανικού άνθρακα και του φωσφόρου ανά αυξανόμενη βιομάζα, ενώ η αποδοτικότητα απομάκρυνσης νιτρικού κάτω από το συνεχές φως είναι ελαφρώς υψηλότερη από ότι στο πλαίσιο των κύκλων L/D. Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν ότι η χρήση μικροφυκών, που είναι φιλικά προς το περιβάλλον είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος επεξεργασίας αποβλήτων, ιδιαίτερα για ενώσεις ευτροφικές που έχουν χαμηλό λόγο C/N (Lee & Lee, 2001).

Ο ενεργός άνθρακας χρησιμοποιείται ευρέως και αποτελεσματικά σε μονάδες επεξεργασίας πόσιμου νερού για την απομάκρυνση οργανικών προσμείξεων, όπου συνήθως συνδυάζεται με οζονοποίηση για προ-οξειδωση λίγο πριν την προσθήκη ενεργού άνθρακα. Ο ενεργός άνθρακας έχει υψηλή ειδική επιφάνεια και μια πολύ ανεπτυγμένη δομή πόρων, έτσι χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη επίδραση στην απορρόφηση του διαλυμένου οξυγόνου και των οργανικών διαλυτών. Χρησιμοποιείται ως φορέας, συσσωρεύοντας ή ακινητοποιώντας τεχνητά τους μικροοργανισμούς. Κάτω από κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και διατροφής, οι μικροοργανισμοί προβαίνουν σε αναπαραγωγή επί της επιφανείας του ενεργού άνθρακα. Η σχέση μεταξύ του ενεργού άνθρακα και των οργανικών προσμείξεων είναι απλά το αποτέλεσμα της απορρόφησης του ενεργού άνθρακα, και η αντίδραση εξαρτάται από τις ιδιότητες του ενεργού άνθρακα και των αποβλήτων (Jin et al., 2013). Χρησιμοποιείται ακόμα σε βιολογική επεξεργασία αποβλήτων με MBR, όπου βοηθάει στην αύξηση της διάρκειας ζωής των μεμβρανών. Οι μεμβράνες των MBR συστημάτων φράζουν από τα EPS και άλλα οργανικά συστατικά των αποβλήτων, έτσι επιτυγχάνεται βελτίωση των χαρακτηριστικών διήθησης του μικτού υγρού με την προσθήκη ενεργοποιημένου άνθρακα σε σκόνη (PAC). Χαμηλή συγκέντρωση διαλυτών EPS μαζί με την προσθήκη ενεργοποιημένου άνθρακα σε σκόνη (PAC) βελτιώνει την διήθηση της μεμβράνης σε ένα MBR σύστημα (Khan et al., 2012). Επίσης άλλοι ερευνητές συμφωνούν στην θετική επίδραση του ενεργού άνθρακα (AC) και υποθέτουν ότι η μείωση της αντίστασης διήθησης στα MBR σε αντιστοιχία από με τη δοσολογία του ενεργού άνθρακα (AC) οφείλεται στην προσρόφηση των EPS. Μάλιστα αναφέρεται ότι οι πολυσακχαρίτες και οι χουμικές ουσίες των EPS μπορούν να επηρεάσουν την αντίσταση διήθησης, ενώ η πρωτεΐνη είναι απίθανο να έχει οποιαδήποτε επίδραση δεδομένου ότι 99% της πρωτεΐνης ήταν στο διήθημα (Fang et al., 2006).

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Κατά την εργασία αυτή πραγματοποιείται μελέτη των μηχανισμών ανάπτυξης των διαλυτών και δεσμευμένων εξωκυτταρικών πολυμερών (EPS) κατά τη βιολογική επεξεργασία ενεργού ιλύος. Εξετάζονται δύο σενάρια αποβλήτων. Σύμφωνα με το 1^ο σενάριο επεξεργάζεται 90% αστικό λύμα με 10% απόβλητο από επεξεργασία μελάσας και σύμφωνα με το 2^ο σενάριο 90% νερό για την αραιώση αποβλήτου από επεξεργασία μελάσας συγκέντρωσης 10%. Επιπλέον παρακολουθούνται τα EPS για την περίπτωση προσθήκης ενεργού άνθρακα (PAC) στη δεξαμενή βιολογικής επεξεργασίας των αποβλήτων. Τέλος παρακολουθούνται τα EPS για την περίπτωση εκπομπής ακτινοβολίας LED στο εσωτερικό της δεξαμενής. Τα EPS αποτελούν το πιο βασικό συστατικό της ενεργού ιλύος που καθορίζει τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και τη δομή της. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η κατανόηση των μηχανισμών συνεπεξεργασίας του αποβλήτου και τελικά η βελτιστοποίηση της απόδοσης του συστήματος βιολογικής επεξεργασίας.

4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.1. Υλικά και μέθοδοι

4.1.1. Συστήματα βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων εργαστηριακής κλίμακας

Η μελέτη της παραγωγής εξωκυτταρικών πολυμερών πραγματοποιήθηκε σε 3 συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας με τρεις διαφορετικούς κύκλους. Σε κάθε κύκλο μελετούνται διάφοροι παράγοντες, καθώς και το πώς επηρεάζεται η παραγωγή EPS. Σε όλα τα συστήματα πραγματοποιείται βιολογική επεξεργασία του αποβλήτου. Η μόνη διαφορά μεταξύ των συστημάτων είναι η προσθήκη ενεργού άνθρακα στο ένα και η ακτινοβολία με LED στο άλλο.

Τα συστήματα αυτά λειτούργησαν ως αντιδραστήρες διαλείποντος έργου εναλλασσόμενης λειτουργίας (Sequencing Batch Reactors - SBR), εφαρμόζοντας ένα 12ωρο κύκλο επεξεργασίας με την ακόλουθη χρονική ακολουθία σταδίων: τροφοδοσία (1/2 ώρας), ανοξική φάση (2 ώρες), αερισμός (8 ώρες), καθίζηση (1 ώρα), εκροή (1/2 ώρας). Η παροχή στο σύστημα κατά τη φάση της τροφοδοσίας ήταν 2 L/hr και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής 2,5 ημέρες.

Οι συνθήκες λειτουργίας των συστημάτων για τον πρώτο κύκλο πειραμάτων παρουσιάζονται στη συνέχεια (Σχήμα 5):

Το σύστημα 1 αποτελούσε το μάρτυρα και τροφοδοτούνταν με μίγμα 90% αστικού λύματος και 10% αποβλήτων μελάσας.

Το σύστημα 2 τροφοδοτούνταν με μίγμα 90% αστικού λύματος και 10% αποβλήτων μελάσας ενώ έγινε προσθήκη 0.5 gr σκόνης ενεργού άνθρακα/L, δηλαδή 3 gr για το σύνολο της δεξαμενής.

Τέλος, το σύστημα 3 τροφοδοτούνταν, ομοίως με το σύστημα 2, με μίγμα 90% αστικού λύματος και 10% αποβλήτου μελάσας και είχε ακτινοβολία στο ορατό φάσμα φωτός.



Σχήμα 5. Συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας

Όσον αφορά το δεύτερο κύκλο πειραμάτων:

Το σύστημα 1 αποτελούσε το μάρτυρα και τροφοδοτούνταν με μίγμα 90% αστικού λύματος και 10% αποβλήτων μελάσας για μια ολόκληρη εβδομάδα, όπου στη συνέχεια η εισροή στον αντιδραστήρα αντικαταστήθηκε με νερό. Η εισροή άλλαξε και έγινε 90% νερό και 10% απόβλητο μελάσας.

Το σύστημα 2 τροφοδοτούνταν, ομοίως με το σύστημα 1, με μίγμα 90% αστικού λύματος και 10% αποβλήτου μελάσας και είχε ακτινοβολία LED στο ορατό φάσμα φωτός.

Επιπλέον σε αυτό τον κύκλο πειραμάτων μελετήθηκε και η επίδραση του τρόπου αποθήκευσης των δειγμάτων πριν την εκχύλιση στα EPS. Πάρθηκαν δύο δείγματα από την ίδια δεξαμενή όπου έγινε απ' ευθείας εκχύλιση και μέτρηση πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών. Στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν με διαφορετικούς τρόπους, το πρώτο αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη και το δεύτερο στο ψυγείο προσθέτοντας νατραζίδιο (NaN_3). Επαναλαμβάνεται εκχύλιση και μέτρηση πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών έπειτα από δύο και έξι μέρες.

Όσον αφορά τον τρίτο κύκλο πειραμάτων:

Το σύστημα 1 αποτελούσε το μάρτυρα και τροφοδοτούνταν με μίγμα 90% νερό και 10% απόβλητο μελάσας.

Το σύστημα 2 τροφοδοτούνταν με μίγμα 90% νερό και 10% αποβλήτων μελάσας ενώ είχε ακτινοβολία LED χωρίς ανοξική φάση με 10 ώρες συνεχούς αερισμού αντί για 8 ώρες αερισμό και 2 ώρες ανοξική φάση

Τέλος, το σύστημα 3 τροφοδοτούνταν, ομοίως με το σύστημα 1, δηλαδή 8 ώρες αερισμός με 2 ώρες ανοξική φάση και είχε ακτινοβολία LED

Το αστικό λύμα προέρχονταν από την ανακυκλοφορία του βιολογικού καθαρισμού μετά την α' βάρθια επεξεργασία του δήμου Θεσσαλονίκης που στεγάζεται στη Σίνδο και το απόβλητο μελάσας προέρχονταν από το εργοστάσιο επεξεργασίας μαγιός και αρτοποιίας που στεγάζεται στην ίδια περιοχή.

Η συλλογή των δειγμάτων για τη μέτρηση των EPS πραγματοποιούνταν 1 ώρα πριν από το τέλος της αερόβιας φάσης από το ανάμικτο υγρό κάθε συστήματος. Στη συνέχεια ακολουθούσε η εκχύλιση των EPS και τα εκχυλισμένα κλάσματα

αποθηκεύονταν σε χαμηλή θερμοκρασία, -18°C , για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών.

4.1.2. Υλικά και αντιδραστήρια

Για την μέθοδο Lowry (Lowry et al., 1951):

- Αλβουμίνη βόειου ορού (BSA)
- Αντιδραστήριο Folin : Folin and Ciocalteus Phenol Reagent, 2N
- Τρυγικό Νάτριο : Sodium tartrate
- Θειικός χαλκός : $\text{CuSO}_4 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$
- Λοιπά χημικά : NaOH , Na_2CO_3
- Αποσταγμένο νερό

Για την μέθοδο Dubois (Dubois, 1956):

- Θειικό οξύ 95,5%
- Φαινόλη 5%
- Αποσταγμένο νερό

Για την εκχύλιση (Hwang et al., 2010):

- Χλωριούχο Νάτριο 0,05%

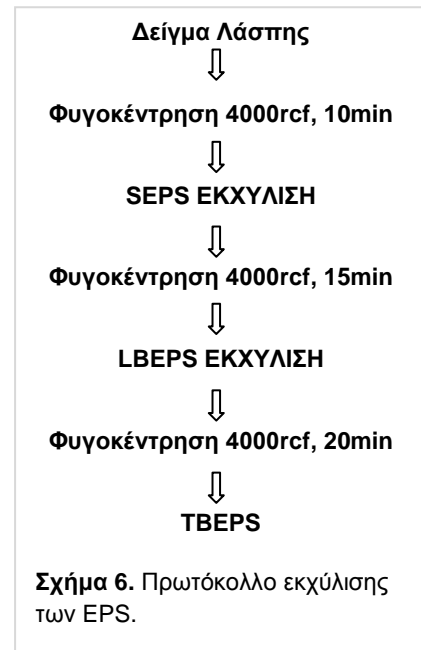
4.1.3. Όργανα

- Μικροπιπέτες 200-1000 μl
- Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας (Fisher Stirring Hotplate, Fisher Scientific).
- Αναλυτικός ζυγός (KERN & Sohn GmbH, Electronic Balance, ABJ 220-4M, max 180g, $d=0.1\text{mg}$).
- Φυγόκεντρος τύπου
- Φασματοφωτόμετρο έως 750nm
- Γυάλινες πιπέτες των 5 και 10 ml

- Συσκευή Vortex
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 50ml
- Πλαστικοί σωλήνες φυγοκέντρησης
- Υδατόλουτρο
- Πλαστικά δοχεία αποθήκευσης δειγμάτων-κλασμάτων εκχύλισης

4.2. Πρωτόκολλο εκχύλισης EPS

Μέχρι σήμερα έχουν απαντηθεί στην βιβλιογραφία διάφορες μέθοδοι εκχύλισης των EPS με διαφορετικές αποδόσεις. Η επιλογή αποτελεί κρίσιμο σημείο για την περαιτέρω ανάλυση τους. Η μέθοδος θα πρέπει να είναι αποτελεσματική, να προκαλεί όσο το δυνατόν ελάχιστη κυτταρική λύση ώστε να μην υποβαθμίζει την δομή τους. Γενικότερα οι μέθοδοι εκχύλισης χωρίζονται σε φυσικές, χημικές και σε συνδυασμό αυτών (Hwang et al., 2010). Η φυγοκέντρηση συγκαταλέγεται στις φυσικές μεθόδους και έχει σκοπό στην απόσπαση των EPS από τα κύτταρα και την περαιτέρω διάλυση τους σε διαλύτη.



Για την εκχύλιση των EPS 35ml δείγματος (με την χρήση ογκομετρικών κυλίνδρων) τοποθετούνται στους ειδικούς σωλήνες φυγοκέντρησης και φυγοκεντρούνται στις 4000 (rcf) για δέκα λεπτά με την χρήση κεφαλής F 28/50 (Hwang et al., 2010).

Μετά το πέρας της φυγοκέντρησης παραλαμβάνεται το πρώτο κλάσμα (αιώρημα). Στη συνέχεια για την παραλαβή των επιμέρους κλασμάτων LBEPS και TBEPS ακολουθούν δυο επιμέρους φυγοκεντρήσεις-εκχυλίσεις (Sheng et al., 2010) όπως φαίνεται και από το Σχήμα 6. Έπειτα επαναιωρείται το εναπομείναν κλάσμα με θερμό NaCl 0,05% έως τα 35ml, ζυγίζονται και φυγοκεντρούνται για 15 λεπτά. Παραλαμβάνεται και αποθηκεύεται το δεύτερο κλάσμα (LBEPS). Τέλος για την απομάκρυνση των TBEPS η μέθοδος γίνεται πιο επιθετική επαναιωρώντας με NaCl 0.05% και αυτή τη φορά τα δείγματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο 60°C για 30 λεπτά. Τέλος όλα τα κλάσματα αποθηκεύονται στην κατάψυξη έως ότου αυτά

χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω ανάλυση.

4.3. Μέθοδοι ανάλυσης

Πρωτόκολλο Lowry (Lowry et al., 1951)

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu phenol αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους υπολογισμού συγκέντρωσης πρωτεϊνών σε βιολογικά δείγματα. Το πρωτόκολλο Lowry αποτελεί συνδυασμό των αντιδραστηρίων Lowry και του απαραίτητου για την διαδικασία αντιδραστηρίου Folin. Το τελικό προϊόν της αντίδρασης δίνει μπλε χρώμα το οποίο προσδιορίζεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 750nm και χρήση πρότυπης καμπύλης κατασκευασμένης με πρωτεΐνη που έχουμε επιλέξει (BSA). Κύριο μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η πιθανότητα παρεμποδίσεων από άλλες ουσίες (οξέα, λιπαρά οξέα, ζάχαρα, λιπίδια). Παρόλα αυτά όμως 27 διαφορετικές πρωτεΐνες μας δίνουν το ίδιο χρωματικό αποτέλεσμα με αυτό της πρωτεΐνης BSA. Το αντιδραστήριο Lowry παρασκευάζεται πάντα φρέσκο την ημέρα της μέτρησης και αποτελεί μίξη των διαλυμάτων A, B και C σε αναλογία 100:1:1 (Lowry et al., 1951).

Διάλυμα A (αλκαλικό διάλυμα) - για 500ml αποσταγμένο νερό: 2.8598g NaOH

14.3084g Na₂CO₃

Διάλυμα B - για 100ml αποσταγμένο νερό : 1.4232 g CuSO₄·5(H₂O)

Διάλυμα C - για 100ml αποσταγμένο νερό: 2.85299g Na₂Tartrate·2(H₂O)

Στη συνέχεια προστίθεται 0,5 ml H₂O (για το τυφλό) και 0,5 ml δείγματος σε δοκιμαστικούς σωλήνες και 0,7 ml από το διάλυμα Lowry. Ανακινείται με τη βοήθεια της συσκευής Vortex και παραμένει για 20 λεπτά στο λουτρό νερού στους 25⁰C στο σκοτάδι. Στα τελευταία 5 λεπτά της 20 λεπτής παραμονής (στο σκοτάδι) ετοιμάζεται το αντιδραστήριο Folin.

Παρασκευή αντιδραστηρίου 2N Folin-Ciocalteu: Σε ποτήρι ζέσεως προστίθεται 7ml Folin-Ciocalteu (μίξη οξέων) και 0,252 ml αποσταγμένο νερό (H₂O), από αυτά

λαμβάνονται 5ml και προσθέτω 6ml H₂O και αναδεύονται. Το διάλυμα είναι φωτοευαίσθητο, για αυτό πρέπει να παρασκευάζεται κατά τα τελευταία 5 min.

Μετά το πέρας των 20 λεπτών προστίθεται 0,1ml από το αραιωμένο διάλυμα Folin-Ciocalteu σε κάθε δοκιμαστικό και ακολουθεί ανάδευση με την συσκευή Vortex. Ακολουθεί 30 λεπτή παραμονή στο λουτρό νερού στους 25⁰C στο σκοτάδι. Τέλος γίνεται μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο στα 750nm (UV-VIS), όπου μηδενίζεται με αποσταγμένο νερό και η μέτρηση ξεκινάει με το τυφλό.

Σημειώσεις :

- *Η επιλογή μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης ως πρότυπο καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων είναι σημαντική.*
- *Τα δείγματα αναλύονται εις διπλούν και τριπλούν.*
- *Πάντα παρασκευάζεται τυφλό.*
- *Η διαδικασία αυτή εκτελείτε στο **ΣΚΟΤΑΔΙ**.*

Μέθοδος Dubois

Οι περισσότερες μέθοδοι μέτρησης πολυσακχαριτών είναι χρωματομετρικές, μια από αυτές έχει αποδειχθεί εξαιρετικά χρήσιμη και συμπεριλαμβάνει τη χρήση αντιδραστήριου φαινόλης. Ο μηχανισμός της μεθόδου στηρίζεται στην υδρόλυση των πολυσακχαριτών σε μονοσακχαρίτες μέσω της προσθήκης θειικού οξέος. Η φαινόλη μας δίνει μεγάλη εξειδίκευση στους πολυσακχαρίτες και όλα τα σάκχαρα φαίνεται να προσδίδουν ίδια χρωματική ένταση. Γλυκόζη (glucose Panreac) χρησιμοποιείται ως πρότυπο για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης συγκέντρωσης (Dubois, 1956).

Δείγματα 1ml προστίθενται σε δοκιμαστικούς σωλήνες, έπειτα προσθέτουμε 1ml 5% φαινόλης και 5ml πυκνό θειικό οξύ γρήγορα και με προσοχή ώστε να μην πέσει στο τοίχωμα του σωλήνα αλλά κατευθείαν στην υγρή επιφάνεια. Οι σωλήνες αφήνονται σε ηρεμία για δέκα λεπτά. Έπειτα ανακινούνται με την βοήθεια της συσκευής Vortex και αφήνονται για μισή ώρα είτε σε θερμοκρασία δωματίου είτε σε υδατόλουτρο αντίστοιχης θερμοκρασίας (25-30 °C). Μετά το πέρας των 30 λεπτών ακολουθεί φασματοφωτομετρική μέτρηση στα 490nm.

Σημειώσεις :

- Η διαδικασία εκτελείται ΠΑΝΤΑ με διπλά γάντια και μάσκα.
- Ετοιμασία τυφλού.
- Οι μετρήσεις μπορούν να γίνουν και αρκετές ώρες αργότερα γιατί το χρώμα παραμένει σταθερό.

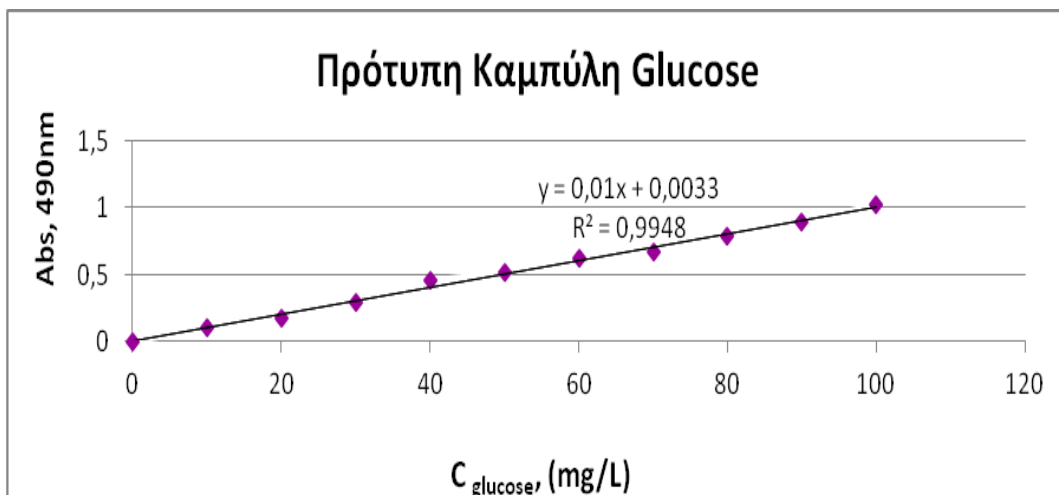
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. Παρασκευή πρότυπης καμπύλης πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών

Για την παρασκευή της πρότυπης καμπύλης συγκέντρωσης σακχάρων (Σχήμα 7) χρησιμοποιήθηκε διάλυμα γλυκόζης. Οι αραιώσεις των διαλυμάτων και οι απορροφήσεις δίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πινάκας 3).

Πίνακας 3. Αραιώσεις και τιμές απορρόφησης για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης γλυκόζης.

| Διάλυμα γλυκόζης (ml) 0.1mg/ml | H ₂ O (ml) | Συγκέντρωση γλυκόζης (mg/L) | Abs 490nm |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------|
| 0 | 100 | 0 | 0,000 |
| 10 | 90 | 10 | 0,102 |
| 20 | 80 | 20 | 0,179 |
| 30 | 70 | 30 | 0,296 |
| 40 | 60 | 40 | 0,458 |
| 50 | 50 | 50 | 0,518 |
| 60 | 40 | 60 | 0,618 |
| 70 | 30 | 70 | 0,674 |
| 80 | 20 | 80 | 0,789 |
| 90 | 10 | 90 | 0,890 |
| 100 | 0 | 100 | 1,026 |

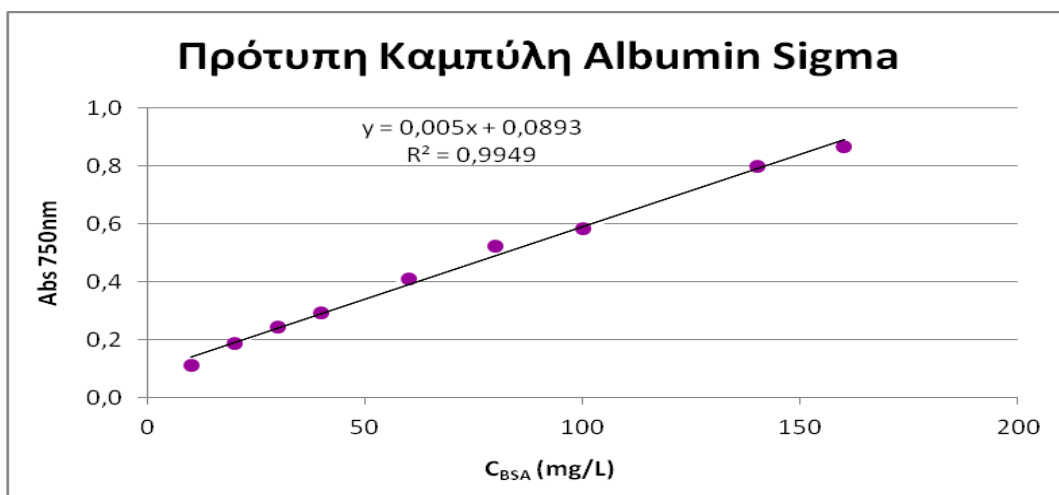


Σχήμα 7. Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης γλυκόζης (glucose Panreas).

Για την παρασκευή της πρότυπης καμπύλης συγκέντρωσης πρωτεϊνών (Σχήμα 3) χρησιμοποιήθηκε διάλυμα αλβουμίνης, οι αραιώσεις των διαλυμάτων και οι απορροφήσεις δίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πινάκας 4).

Πίνακας 4. Αραιώσεις και τιμές απορρόφησης μικρότερες των 160mg/L για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης BSA.

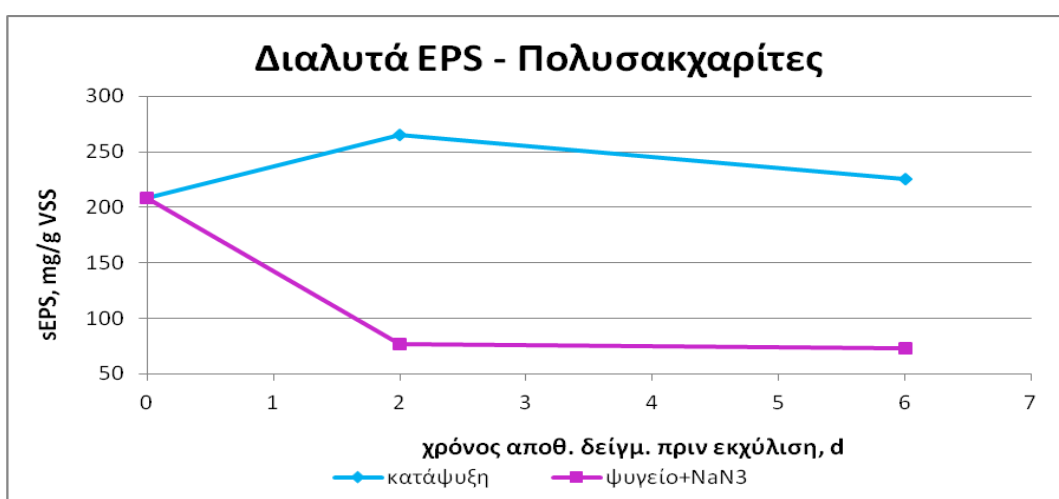
| Διάλυμα BSA (ml) 400mg/L | Απεστ. H ₂ O (ml) | Συγκέντρωση BSA (mg/L) | Abs 750nm |
|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------|
| 2,5 | 97,5 | 10 | 0,110 |
| 5,0 | 95 | 20 | 0,186 |
| 7,5 | 92,5 | 30 | 0,245 |
| 10 | 90 | 40 | 0,291 |
| 15 | 85 | 60 | 0,410 |
| 20 | 80 | 80 | 0,521 |
| 25 | 75 | 100 | 0,584 |
| 35 | 65 | 140 | 0,800 |
| 40 | 60 | 160 | 0,868 |



Σχήμα 8. Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης αλβουμίνης (Albumin Sigma)

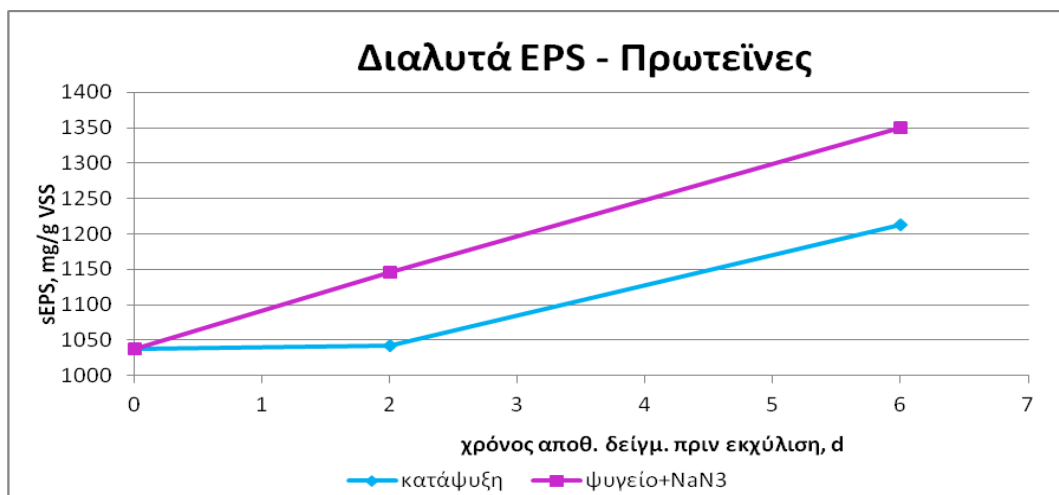
5.2. Επίδραση του τρόπου αποθήκευσης των δειγμάτων πριν την εκχύλιση στα EPS

Όπως παρατηρούμε στο παρακάτω σχήμα το νατραζίδιο μέσα σε δύο μέρες μείωσε κατά πολύ τους πολυσακχαρίτες (Σχήμα 9) των διαλυτών EPS , από 208,12 mg/g VSS σε 76,75 mg/g VSS, ενώ στις έξι μέρες η μείωση συνεχίστηκε μέχρι τα 72,63 mg/g VSS. Συνολικά από την αρχική τιμή σημειώνεται μείωση 126 mg/g VSS. Αντίθετα, τις πρωτεΐνες (Σχήμα 10) τις αύξησε πολύ, από 1036,86 mg/g VSS σε 1145,10 mg/g VSS στις δύο μέρες και 1349,41 mg/g VSS στις έξι ημέρες, εδώ η αύξηση είναι κατά 200 mg/g VSS από την αρχική τιμή.



Σχήμα 9. Συγκεντρώσεις των SEPS για τους πολυσακχαρίτες των δύο δειγμάτων σε σχέση με τον χρόνο.

Η αποθήκευση στην κατάψυξη για τους πολυσακχαρίτες (Σχήμα 9) στις δύο ημέρες επέδωσε μια μικρή αύξηση κατά 60 mg/g VSS περίπου, ενώ στις έξι μέρες η αύξηση ήταν κατά 20 mg/g VSS σε σύγκριση με την αρχική τους τιμή. Στις πρωτεΐνες για τις πρώτες δύο μέρες (Σχήμα 10) η τιμή κατά μέσο όρο είναι ίδια με την αρχική, ενώ στις έξι από 1036,86 mg/g VSS αυξάνεται στα 1212,96 mg/g VSS διαλυτά SEPS, περίπου 170 mg/g VSS.



Σχήμα 10. Συγκεντρώσεις των SEPS για τις πρωτεΐνες των δύο δειγμάτων σε σχέση με τον χρόνο.

Συνεπώς σύμφωνα με τα πειράματα αυτά προκύπτει το συμπέρασμα ότι είναι προτιμότερο η εκχύλιση των EPS να γίνεται άμεσα μετά τη δειγματοληψία. Σε περίπτωση που είναι αναγκαία η αποθήκευση του δείγματος, καταλήξαμε ότι ο βέλτιστος τρόπος είναι η αποθήκευση στην κατάψυξη για δύο ημέρες το πολύ.

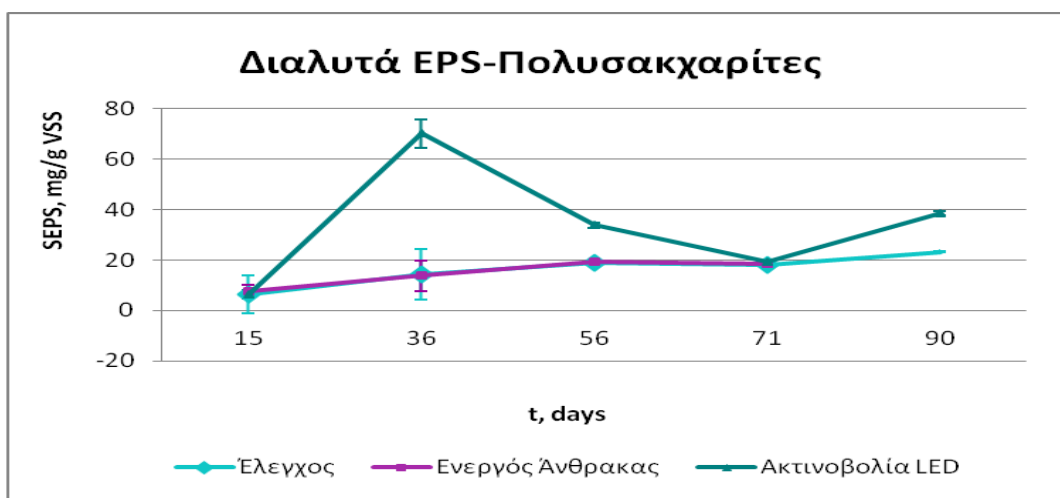
5.3. Μελέτη βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων με μίγμα αστικού αποβλήτου (90%) και αποβλήτου μελάσσας (10%)

5.3.1. Επίδραση προσθήκης ενεργού άνθρακα και ακτινοβολίας LED

Συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών

Στη δεξαμενή με την ακτινοβολία LED (Σχήμα 11) παρατηρείται μια μεγάλη αύξηση των πολυσακχαριτών για τα διαλυτά EPS με υψηλότερη τιμή τα 70,26 mg/g VSS στις 36 ημέρες σε σχέση με τη βιολογική επεξεργασία και αυτό οφείλεται στην αύξηση των

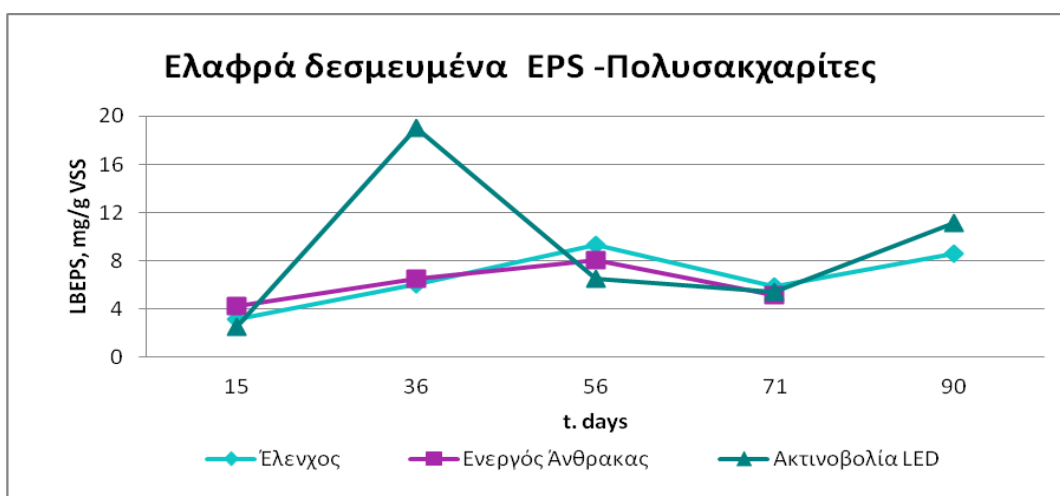
μικροαλγών. Αυτά αυξήθηκαν λόγω της ακτινοβολίας LED που εξέπεμπε στο εσωτερικό της δεξαμενής. Τα μικροάλγη είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί οι οποίοι έχουν την ικανότητα να απομακρύνουν θρεπτικά συστατικά όπως το άζωτο και το φώσφορο καθώς επίσης και να εκκρίνουν EPS .



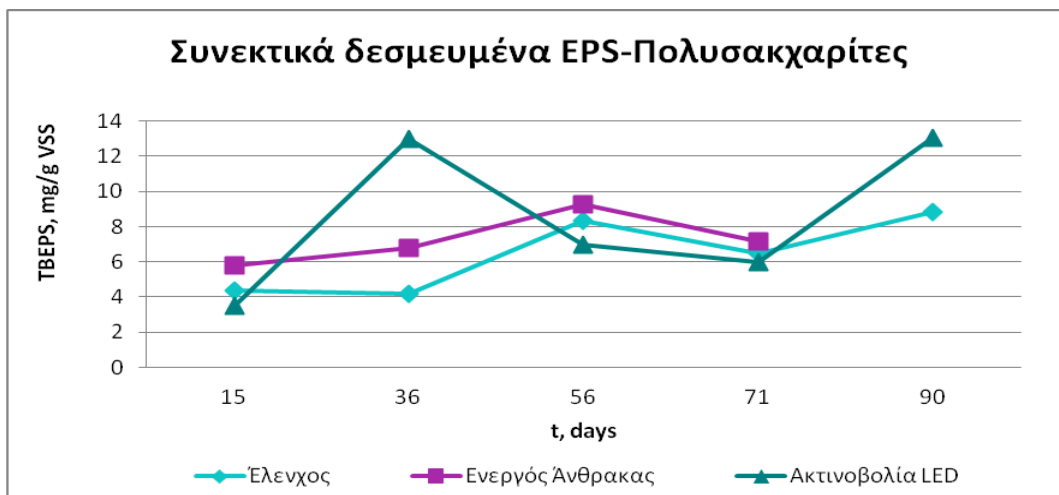
Σχήμα 11. Συγκεντρώσεις των SEPS υδατανθράκων των τριών δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.

Οι οργανισμοί αυτοί ακολουθούν έναν κύκλο ζωής και όταν παύουν να υπάρχουν στο σύστημα (πιθανότατα λόγω αύξησης του pH, στη συγκεκριμένη περίπτωση), παρατηρείται μείωση των SEPS , όπως αυτή που παρατηρείται στις 71 ημέρες.

Τέλος, όσον αφορά την δεξαμενή με τον ενεργό άνθρακα δεν παρουσιάζει κάποια μεταβολή σε σχέση με την δεξαμενή βιολογικής επεξεργασίας (Σχήμα 11). Δηλαδή δεν επηρεάζει ο ενεργός άνθρακας τους πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS.



Σχήμα 12. Συγκεντρώσεις των πολυσακχαριτών στα LBEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο



Σχήμα 13. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα TBEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.

Στα παραπάνω διαγράμματα (Σχήματα 12,13) αναπαριστώνται οι συγκεντρώσεις των πολυσακχαριτών των LB-EPS και TB-EPS σε σχέση με τον χρόνο. Οι μετρήσεις κυμαίνονται από 2,5 έως 18 mg/g VSS περίπου και στα δύο κλάσματα των EPS, δηλαδή σε πολύ μικρό εύρος για να είναι στατιστικώς σημαντικές οι διαφορές τους.

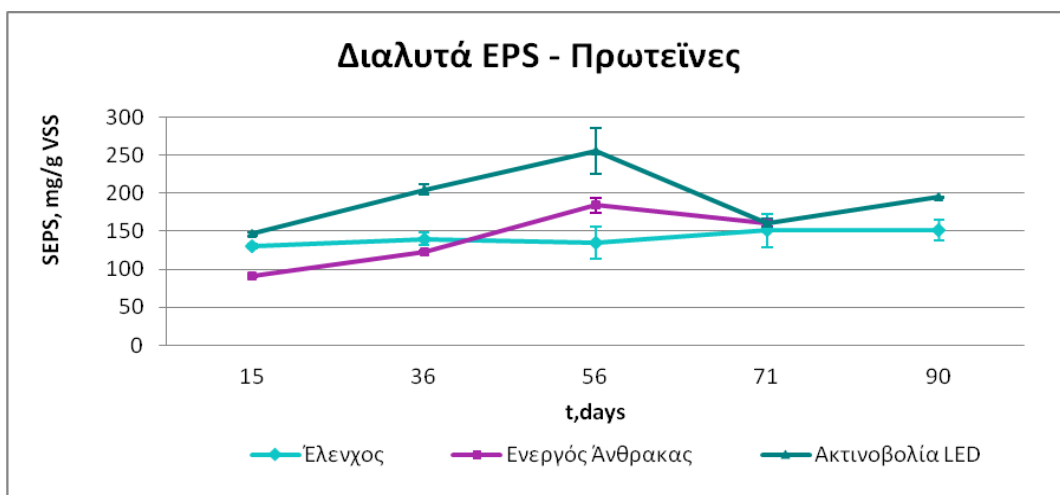
Στα δύο κλάσματα οι συγκεντρώσεις των πολυσακχαριτών από την δεξαμενή ενεργού άνθρακα είναι περίπου ίδιες με την δεξαμενή ελέγχου.

Ένα αξιοσημείωτο αποτέλεσμα είναι ότι κατά τις 36 ημέρες λειτουργίας του συστήματος με ακτινοβολία LED αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των EPS και για τα τρία κλάσματα (SEPS, LBEPS, TBEPS). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε μεγάλη ανάπτυξη των μικροαλγών κατά τη διάρκεια εκείνης της χρονικής περιόδου. Σύμφωνα με τους Sheng et al. (2010), η αύξηση των LBEPS προκαλεί μείωση της ικανότητας κροκίδωσης, καθώς δυσκολεύει την προσκόλληση των κυττάρων μεταξύ τους. Όσο μειώνεται η ικανότητα κροκίδωσης στο σύστημα, τόσο μειώνεται και η ποιότητα του αποβλήτου εκροής και αυξάνεται η θολότητα στο σύστημα. Συνεπώς δεν είναι ιδιαίτερα θετική για το σύστημα η αύξηση των LBEPS κατά τις 36 ημέρες λειτουργίας του. Το θετικό είναι ότι στη συνέχεια τα LBEPS μειώνονται σε επίπεδα όμοια με το σύστημα ελέγχου.

Συγκεντρώσεις πρωτεϊνών

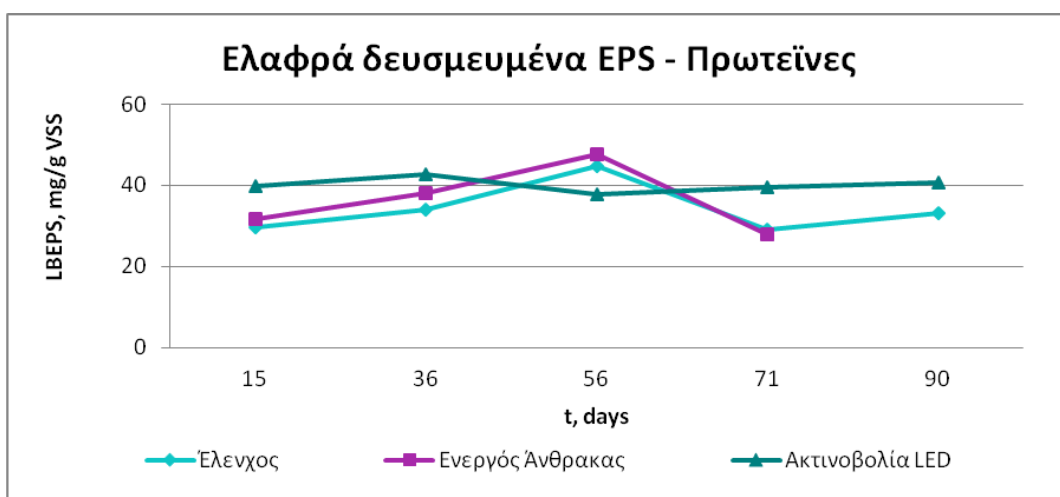
Στο σύστημα ενεργού άνθρακα αρχικά παρατηρούνται χαμηλότερες τιμές συγκέντρωσης (90,96 mg/g VSS την 15^η ημέρα) σε σχέση με την δεξαμενή ελέγχου

(130,48 mg/g VSS την 15^η ημέρα) και αυτό οφείλεται στην απορρόφηση των sEPS από την σκόνη ενεργού άνθρακα που προστέθηκε (Σχήμα 14).

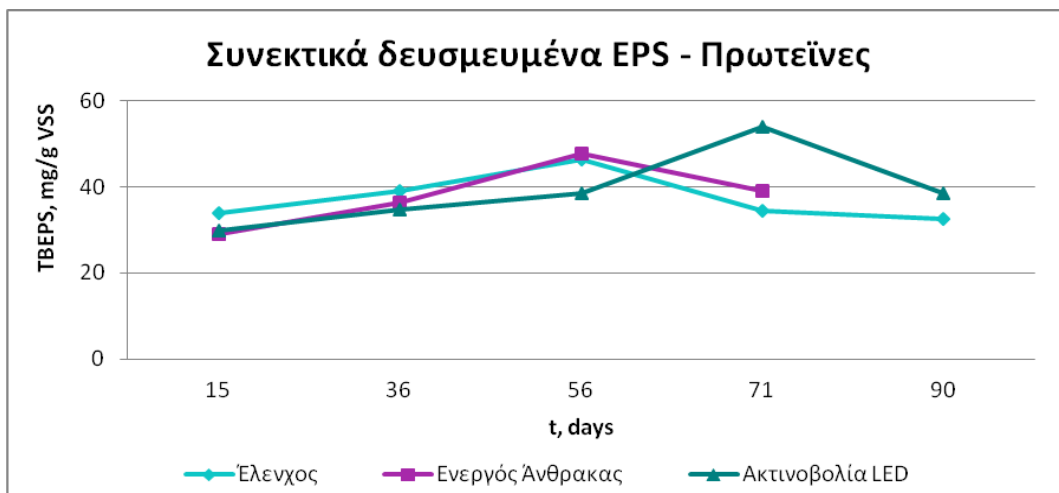


Σχήμα 14. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα SEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο

Στις 56 ημέρες ο ενεργός άνθρακας έφτασε στο σημείο κορεσμού του οπότε από εκείνο το σημείο και έπειτα (Σχήμα 14), παρατηρείται μείωση διότι το σύστημα προσπαθεί να ξαναφτάσει σε κατάσταση ισορροπίας. Όσον αφορά την δεξαμενή με την ακτινοβολία LED, εμφανίζονται αυξημένες τιμές συγκεντρώσεων σε σχέση με την δεξαμενή ελέγχου, διότι οι λαμπτήρες led συνέβαλαν στην ανάπτυξη μικροαλγών, οπότε και στην αύξηση των SEPS που εκκρίνονται.



Σχήμα 15. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα LBEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.



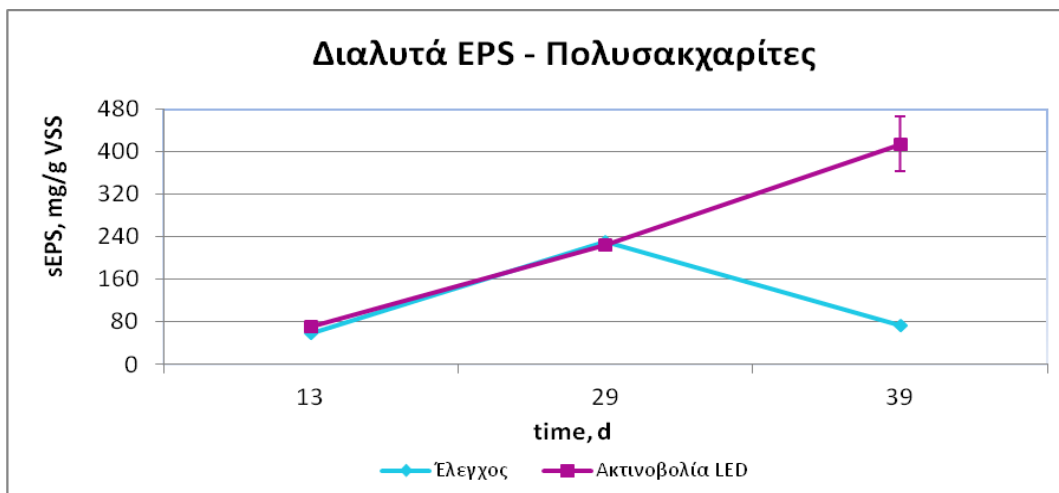
Σχήμα 16. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα TBEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.

Στα παραπάνω διαγράμματα (Σχήματα 15,16) αναπαριστώνται οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα TB-EPS και LB-EPS σε σχέση με τον χρόνο. Από τα τρία ανωτέρω διαγράμματα παρατηρείται ότι η ακτινοβολία LED προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών και για τα τρία κλάσματα των EPS σε σύγκριση με την απλή βιολογική επεξεργασία. Σύμφωνα με τους Sheng et al. (2010) η αύξηση του περιεχομένου των πρωτεϊνών προκαλεί στην ενεργό ιλύ αύξηση της ικανότητας κροκίδωσης και συνεπώς βελτίωση της ποιότητας του αποβλήτου εκροής. Οπότε είναι ένα ιδιαίτερα θετικό συμπέρασμα για τη βελτιστοποίηση της απόδοσης του συστήματος.

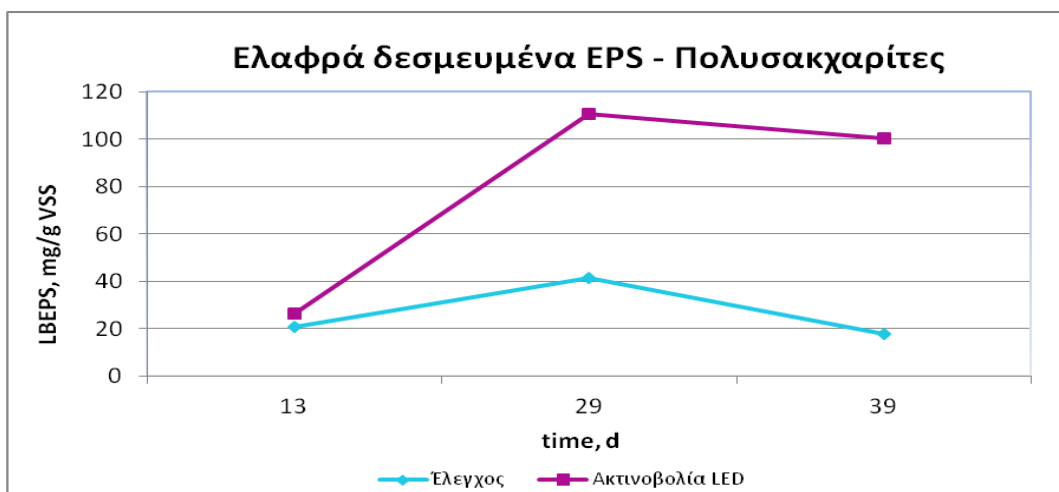
5.3.2. Επίδραση ακτινοβολίας LED

Συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών

Οι πολυσακχαρίτες των SEPS (σχήμα 17) στο σύστημα με πρόσθετη ακτινοβολία LED ακολουθούν την ίδια τάση με το σύστημα έλεγχο μέχρι τις 29 ημέρες και έπειτα αυξάνονται στα 414,77 mg/g VSS, λόγω της ανάπτυξης των μικροαλγών.

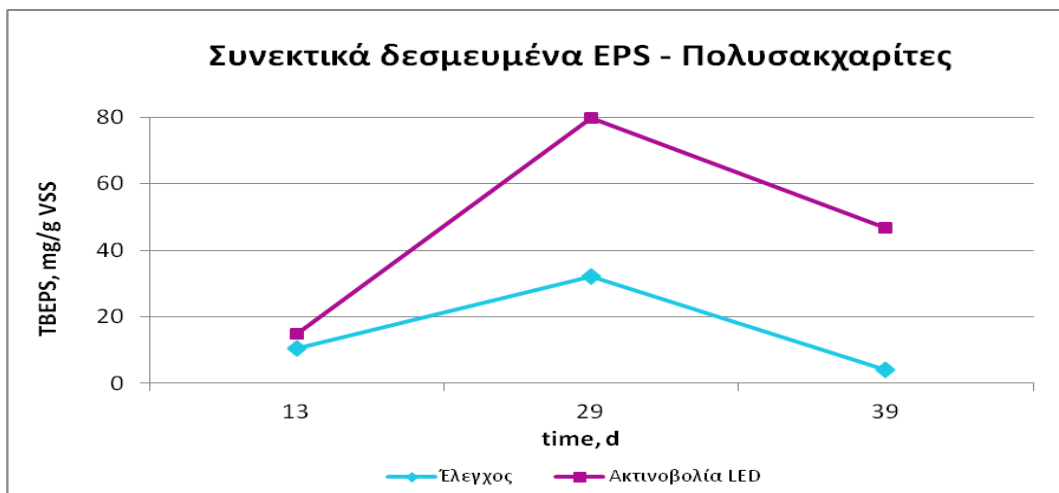


Σχήμα 17. Συγκεντρώσεις των SEPS υδατανθράκων δύο δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.



Σχήμα 18. Συγκεντρώσεις στα LBEPS υδατανθράκων των τριών δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.

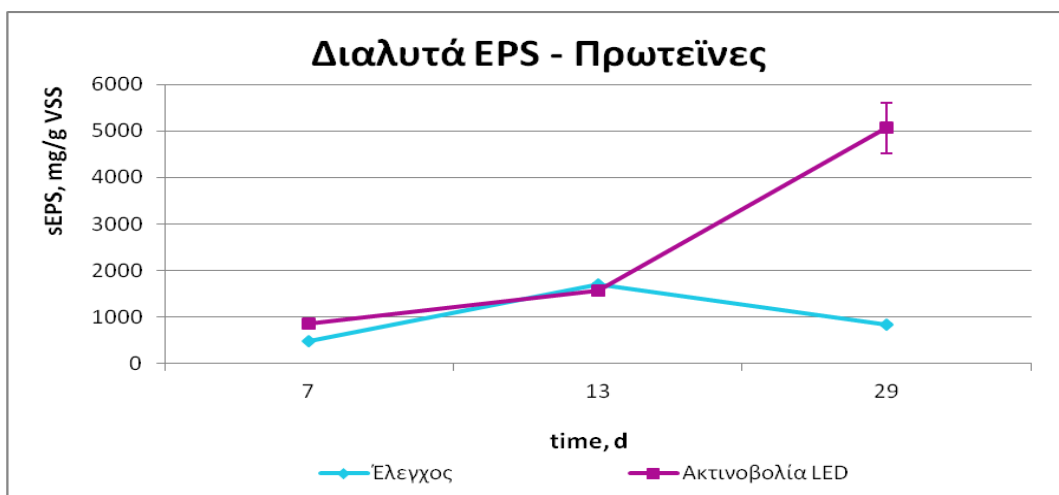
Στους πολυσακχαρίτες LBEPS και TBEPS (Σχήμα 18,19) παρατηρείται στην δεξαμενή με την ακτινοβολία LED γενικότερα εξ' αρχής αύξηση των τιμών τους από τα 20 mg/g VSS στα 100 mg/g VSS, περίπου, σε σύγκριση με την απλή βιολογική επεξεργασία.



Σχήμα 19. Συγκεντρώσεις στα TBEPS υδατανθράκων των τριών δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.

Συγκεντρώσεις πρωτεϊνών

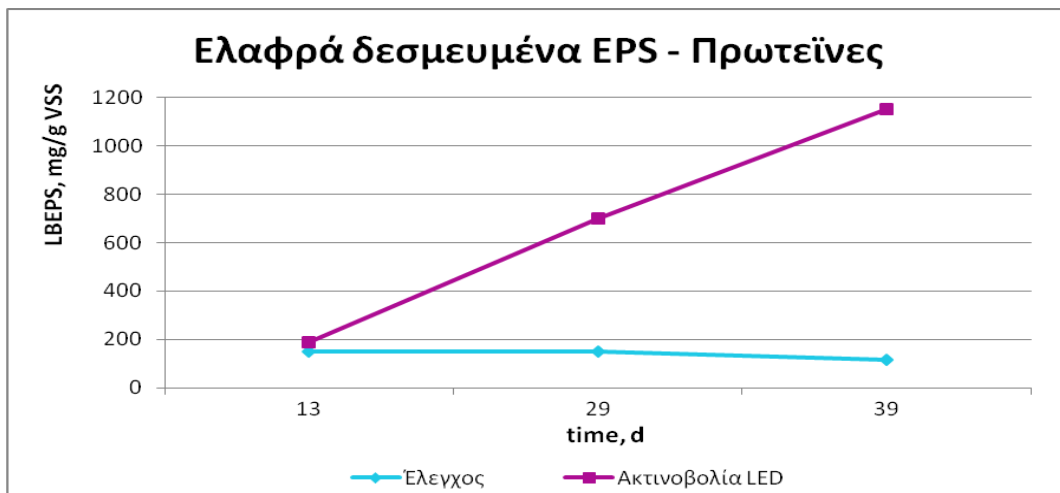
Οι πρωτεΐνες των διαλυτών EPS (σχήμα 20) ακολουθούν την ίδια ακριβώς τάση με τους πολυσακχαρίτες. Δηλαδή έχουν παραπλήσιες τιμές με το σύστημα έλεγχο μέχρι τις 29 ημέρες και έπειτα αυξάνονται στα 5065,12 mg/g VSS, λόγω της ανάπτυξης των μικροαλγών.



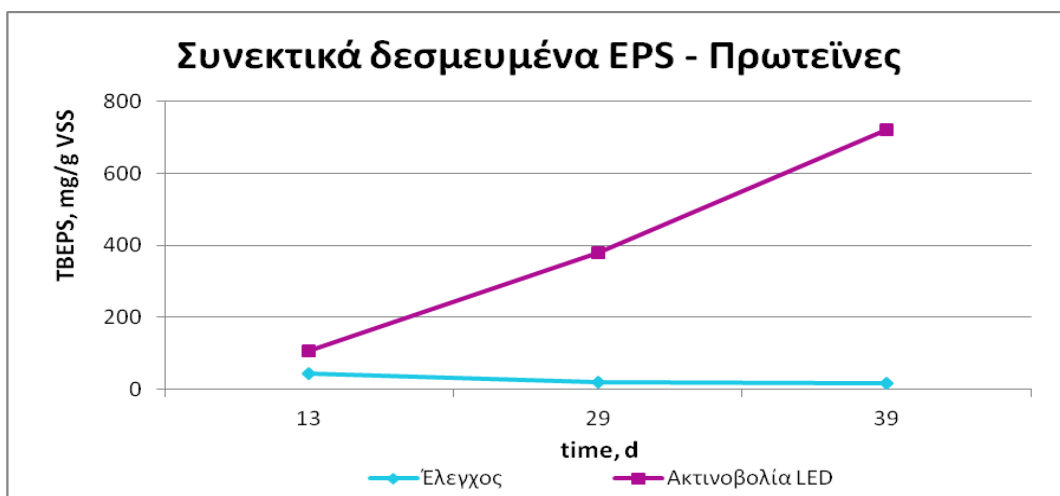
Σχήμα 20. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα SEPS των δύο δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο

Ομοίως με τους πολυσακχαρίτες των LBEPS και TBEPS (σχήμα 21,22), στις πρωτεΐνες των LBEPS και TBEPS παρατηρείται εξ' αρχής αύξηση των τιμών τους από τα 170 mg/g VSS, μέσο όρο και των δύο δεξαμενών, στα 1151,16 mg/g VSS και από τα

80 mg/g VSS, μέσο όρο και των δύο δεξαμενών, στα 720,93 mg/g VSS, αντίστοιχα των κλασμάτων, σε σύγκριση με την απλή βιολογική επεξεργασία, στην οποία οι τιμές τους διατηρούνται σταθερές.



Σχήμα 21. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα LBEPS των δύο δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.



Σχήμα 22. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα TBEPS των δύο δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.

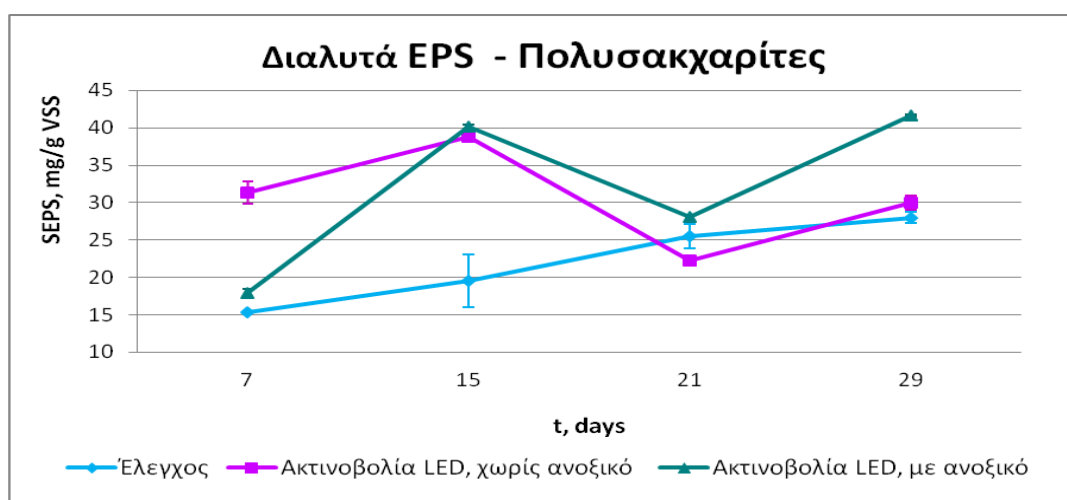
Από τη σύγκριση των διαγραμμάτων του 2^{ου} κύκλου επεξεργασίας με τον 1^ο κύκλο, επαληθεύεται το γεγονός ότι τα EPS ακολουθούν τον κύκλο ζωής των μικροαλγών. Όσο αναπτύσσονται και αυξάνονται τα μικροάλλα, τόσο περισσότερα EPS εκκρίνονται στο σύστημα.

5.4. Μελέτη βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων με μίγμα νερού (90%) και αποβλήτου μελάσσας (10%)

5.4.1. Επίδραση ακτινοβολίας LED και ακτινοβολίας LED χωρίς ενδιάμεση ανοξική φάση

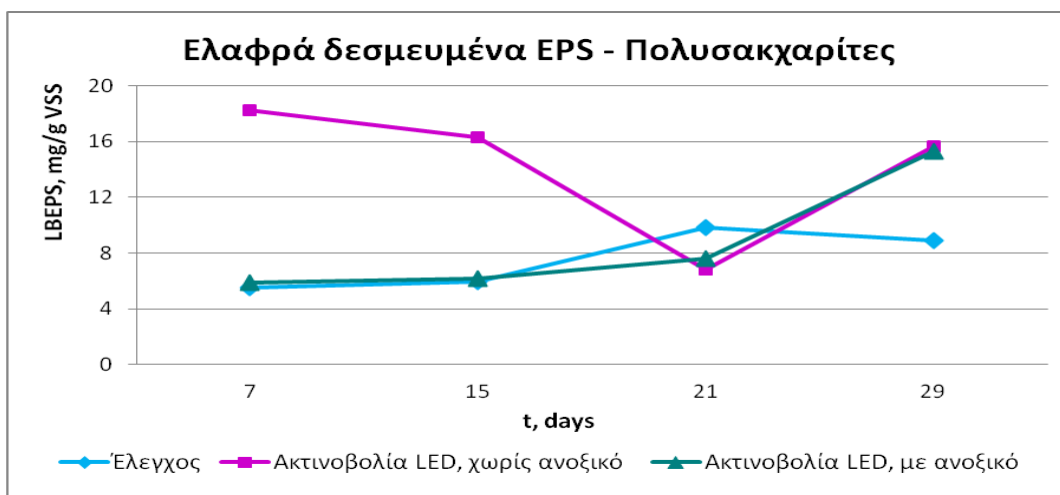
Συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών

Για το σενάριο της ακτινοβολίας με LED με αερισμό, ανοξική φάση, καθίζηση (πράσινη γραμμή), παρατηρείται ότι οι πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS έχουν την ίδια ακριβώς τάση με τους δύο προηγούμενους κύκλους (Σχήμα 23). Δηλαδή παρουσιάζουν σταθερά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από το σύστημα ελέγχου με μέγιστη τιμή 41,67 mg/g VSS και ακολουθούν μια αυξομείωση πιθανότατα αντίστοιχη με τον κύκλο ζωής των μικροαλγών.



Σχήμα 23. Συγκεντρώσεις των SEPS υδατανθράκων των τριών δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.

Για την περίπτωση του συνεχούς αερισμού χωρίς ανοξική φάση (ρόζ γραμμή) παρατηρείται αρχικά αυξημένη τιμή στα 38,75 mg/g VSS στους πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS σε σύγκριση με το σύστημα έλεγχο (Σχήμα 23). Κατά τις 21 ημέρες λειτουργίας του συστήματος όμως η τιμή τους μειώνεται στα 22,29 mg/g VSS, δηλαδή στα ίδια επίπεδα με την απλή βιολογική επεξεργασία.

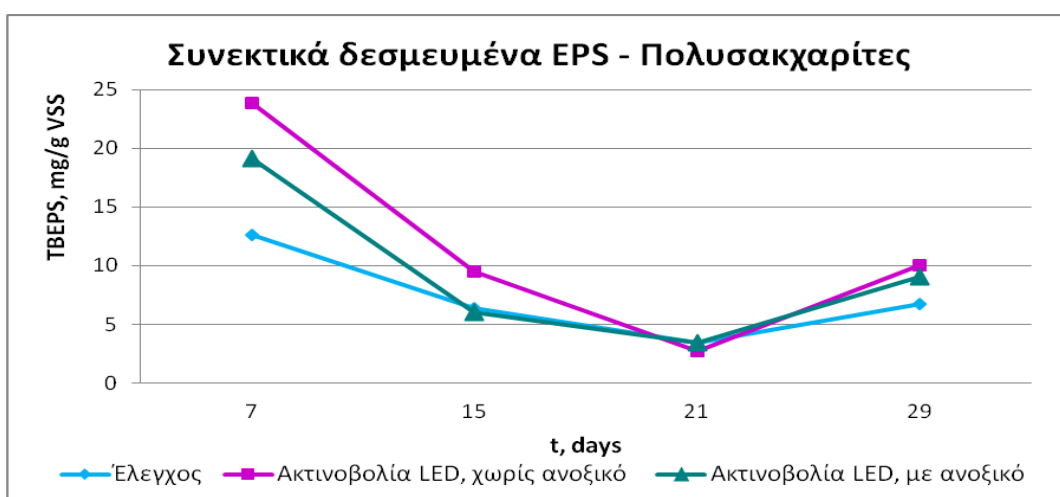


Σχήμα 24. Συγκεντρώσεις στα LBEPS υδατανθράκων των τριών δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.

Οι πολυσακχαρίτες των LBEPS (Σχήμα 24), για την περίπτωση του συστήματος χωρίς ανοξική φάση, παρουσιάζουν αρχικά τιμές αρκετά υψηλότερες από το σύστημα ελέγχου και στη συνέχεια κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα.

Οι πολυσακχαρίτες των LBEPS (Σχήμα 24), για την περίπτωση του συστήματος με ανοξική φάση, έχουν ίδιες συγκεντρώσεις με το σύστημα έλεγχου, μέχρι τις 21 ημέρες όπου αυξάνεται στα 15,32 mg/g VSS

Σε γενικές γραμμές πάντως, οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ των συστημάτων είναι μικρές (από 6 έως 18 mg/g VSS).

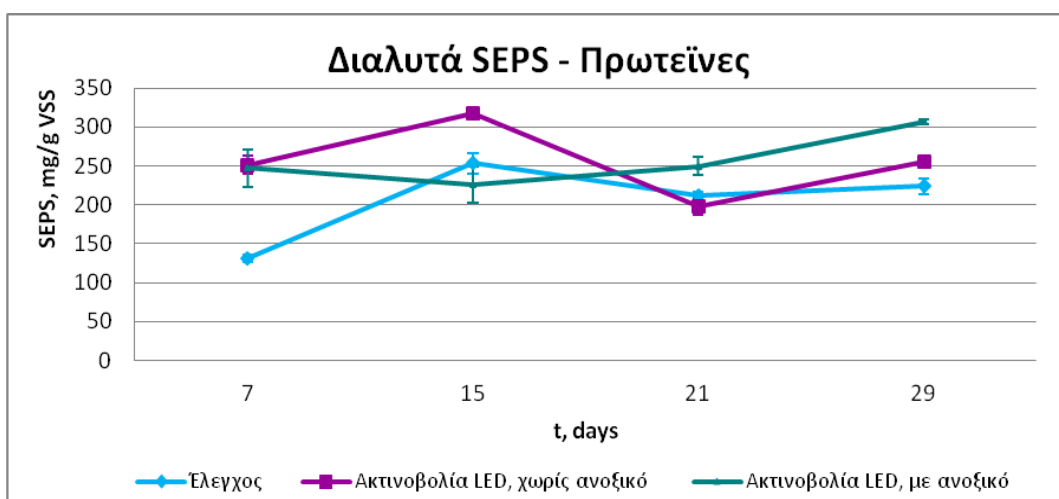


Σχήμα 25. Συγκεντρώσεις στα TBEPS υδατανθράκων των τριών δεξαμενών σε σχέση με τον χρόνο.

Οι πολυσακχαρίτες των TBEPS (Σχήμα 25) ακολουθούν τις ίδιες πορείες, στις 21 ημέρες παρουσιάζουν ίδιες συγκεντρώσεις. Κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα, με μεγαλύτερη συγκέντρωση την δεξαμενή με την ακτινοβολία LED χωρίς ανοξική φάση από 23,83 mg/g VSS έως 9,99 mg/g VSS.

Συγκεντρώσεις πρωτεϊνών

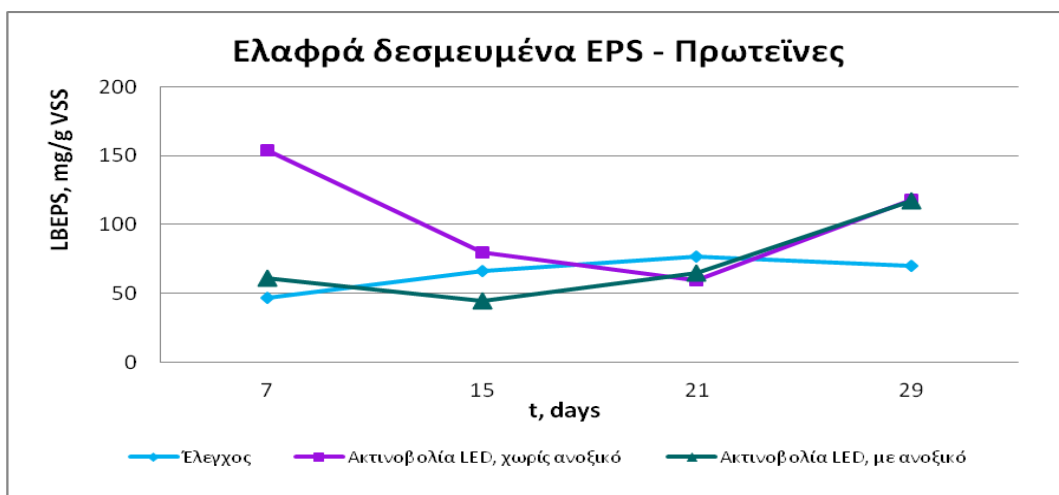
Οι πρωτεΐνες για το σενάριο της ακτινοβολίας με LED (Σχήμα 26) με την κλασσική μέθοδο βιολογικής επεξεργασίας (πράσινη γραμμή), παρουσιάζουν μικρή διαφορά περίπου 50 mg/g VSS από την έναρξη της διεργασίας και είναι ελαφρώς μεγαλύτερα του συστήματος ελέγχου.



Σχήμα 26. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα SEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο

Για την περίπτωση του συνεχούς αερισμού χωρίς ανοξική φάση (ρόζ γραμμή) παρατηρείται αρχικά μια αύξηση στις 15 ημέρες στα 318,2 mg/g VSS στις πρωτεΐνες των διαλυτών EPS (Σχήμα 26). Σε σύγκριση με το σύστημα ελέγχου ακολουθεί σχεδόν ίδια πορεία στις συγκεντρώσεις, ώσπου στις 21 ημέρες λειτουργίας του συστήματος η τιμή τους μειώνεται στα 197,8 mg/g VSS, δηλαδή στα ίδια επίπεδα με την απλή βιολογική επεξεργασία, όπως και στους πολυσακχαρίτες.

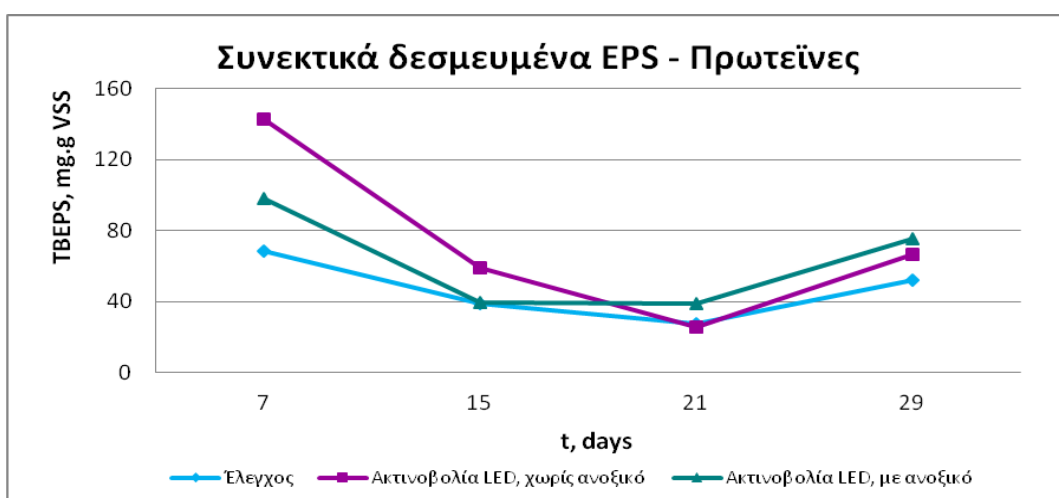
Γενικώς οι διαφορές στις συγκεντρώσεις και στις τρεις δεξαμενές κυμαίνονται στα 100 mg/g VSS περίπου.



Σχήμα 27. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα LBEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.

Όπως και στους πολυσακχαρίτες, παρατηρούμε στις πρωτεΐνες των LBEPS (Σχήμα 27), για την περίπτωση του συστήματος χωρίς ανοξική φάση, ότι παρουσιάζουν αρχικά τιμές υψηλότερες από το σύστημα ελέγχου και στη συνέχεια μετά την 21^η ημέρα κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα με τα LBEPS του συστήματος με ανοξική φάση.

Οι πρωτεΐνες των LBEPS (Σχήμα 27), για την περίπτωση του συστήματος με ανοξική φάση, έχουν τιμές ελαφρώς μικρότερες μετά την 15^η μέρα σε σχέση με το σύστημα ελέγχου, μέχρι τις 21 ημέρες όπου η τιμή αυξάνεται στα 117 mg/g VSS. Αυτό το αποτέλεσμα είναι αντίθετο με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελέτων που υποστηρίζουν ότι η ακτινοβολία LED βοηθάει στην ανάπτυξη των μικροαλγών και συνεπώς και την παραγωγή των κλασμάτων EPS.



Σχήμα 28. Συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στα TBEPS των τριών δεξαμενών σε σχέση με το χρόνο.

Ομοίως οι πρωτεΐνες των TBEPS (Σχήμα 28) παρουσιάζουν ακριβώς ίδια πορεία με τους πολυσακχαρίτες των TBEPS (Σχήμα 23). Κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα, με μεγαλύτερη συγκέντρωση την δεξαμενή με την ακτινοβολία LED χωρίς ανοξική φάση, από 143 mg/g VSS έως 66,7 mg/g VSS.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Επίδραση του τρόπου αποθήκευσης των δειγμάτων

Όσον αφορά την επίδραση του τρόπου αποθήκευσης των δειγμάτων πριν την εκχύλιση στα EPS προκύπτει το συμπέρασμα ότι μπορούμε να αποθηκεύσουμε στην κατάψυξη το δείγμα πριν την εκχύλιση έως και δύο ημέρες. Ιδίως όσον αφορά τις πρωτεΐνες δεν θα έχουμε κάποια μεταβολή, σε σύγκριση με τους πολυσακχαρίτες που θα έχουν μια μικρή αύξηση. Ωστόσο είναι προτιμότερο η εκχύλιση των EPS να γίνεται άμεσα, μετά τη δειγματοληψία. Σε περίπτωση που είναι αναγκαία η αποθήκευση του δείγματος ο βέλτιστος τρόπος είναι η αποθήκευση στην κατάψυξη. Το νατραζίδιο καλό είναι να μην χρησιμοποιείται.

Πρώτος κύκλος πειραμάτων

Στον πρώτο κύκλο πειραμάτων όσον αφορά την δεξαμενή με τον ενεργό άνθρακα για τους πολυσακχαρίτες, παρατηρούμε ότι δεν παρουσιάζεται κάποια μεταβολή σε σχέση με την δεξαμενή βιολογικής επεξεργασίας. Δηλαδή δεν επηρεάζει ο ενεργός άνθρακας τους πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS. Οι συγκεντρώσεις των πολυσακχαριτών των TB-EPS και LB-EPS παρουσιάζουν πολύ μικρό εύρος για να είναι στατιστικά σημαντικές οι διαφορές τους, ωστόσο και στα δύο κλάσματα οι συγκεντρώσεις των πολυσακχαριτών της δεξαμενής ενεργού άνθρακα είναι περίπου ίδιες με την δεξαμενή ελέγχου. Αντίθετα στις πρωτεΐνες στα διαλυτά EPS, παρατηρήθηκε μείωση κατά μέσο όρο από 130 mg/g VSS (βιολογική διαδικασία) έως 90 mg/g VSS. Η μείωση αυτή έχει, προφανώς, προκληθεί από την προσροφητική δράση του ενεργού άνθρακα, μέχρι την 56^η ημέρα που έφτασε στο σημείο κορεσμού του οπότε από εκείνο το σημείο και έπειτα, παρατηρείται μείωση διότι το σύστημα προσπαθεί να ξαναφτάσει σε κατάσταση ισορροπίας.

Όσον αφορά την ακτινοβολία LED, η μόνη αξιοσημείωτη μεταβολή αφορά τις πρωτεΐνες των διαλυτών EPS, οι οποίες αυξάνουν κατά μέσον όρο από τα 130 mg/g VSS της βιολογικής επεξεργασίας στα 200 mg/g VSS για την περίπτωση ακτινοβολίας LED. Αυτή η αύξηση, κατά πάσα πιθανότητα, έλαβε χώρα λόγω της βιοενίσχυσης των μικροοργανισμών από την ακτινοβολία. Ένα αξιοσημείωτο αποτέλεσμα είναι ότι στις 36 ημέρες λειτουργίας του συστήματος με ακτινοβολία LED αυξάνονται οι συγκεντρώσεις

των EPS και για τα τρία κλάσματα (SEPS, LBEPS, TBEPS).

Δεύτερος κύκλος πειραμάτων

Οι πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS στο σύστημα με πρόσθετη ακτινοβολία LED ακολουθούν την ίδια τάση με το σύστημα ελέγχου μέχρι τις 29 ημέρες και έπειτα αυξάνονται στα 414,77 mg/g VSS, λόγω της ανάπτυξης των μικροαλγών. Για τα κλάσματα LBEPS και TBEPS υπάρχει γενικότερα εξ' αρχής αύξηση των τιμών τους από τα 20 mg/g VSS στα 100 mg/g VSS, περίπου, σε σύγκριση με την απλή βιολογική επεξεργασία, λόγω της ανάπτυξης των μικροαλγών.

Οι πρωτεΐνες των διαλυτών EPS ακολουθούν την ίδια ακριβώς τάση με τους πολυσακχαρίτες. Δηλαδή έχουν παραπλήσιες τιμές με το σύστημα ελέγχου μέχρι τις 29 ημέρες και έπειτα αυξάνονται στα 5065,12 mg/g VSS. Για τα κλάσματα LBEPS και TBEPS, ομοίως με τους πολυσακχαρίτες, υπάρχει αύξηση των τιμών τους από τα 170 mg/g VSS, μέσο όρο και των δύο δεξαμενών, στα 1151,16 mg/g VSS και από τα 80 mg/g VSS, μέσο όρο και των δύο δεξαμενών, στα 720,93 mg/g VSS, αντίστοιχα των παραπάνω κλασμάτων, σε σύγκριση με την απλή βιολογική επεξεργασία (σύστημα ελέγχου), στην οποία οι τιμές διατηρούνται σταθερές.

Τρίτος κύκλος πειραμάτων

Οι πολυσακχαρίτες των διαλυτών EPS με ακτινοβολία LED και ανοξική φάση έχουν την ίδια ακριβώς τάση με τους δύο προηγούμενους κύκλους. Δηλαδή είναι σταθερά μεγαλύτερα του συστήματος ελέγχου με μέγιστη τιμή 41,67 mg/g VSS και ακολουθούν μια αυξομείωση πιθανότατα αντίστοιχη με τον κύκλο ζωής των μικροαλγών. Οι συγκεντρώσεις αυτών στα LBEPS, είναι ίδιες με το σύστημα έλεγχο, μέχρι τις 21 ημέρες όπου αυξάνονται στα 15,32 mg/g VSS. Τέλος τα TBEPS ακολουθούν τις ίδιες πορείες και στις 21 ημέρες παρουσιάζουν παρόμοιες συγκεντρώσεις.

Οι πρωτεΐνες παρουσιάζουν μια μικρή αύξηση περίπου 50 mg/g VSS σε σύγκριση με το σύστημα ελέγχου κατά την έναρξη της διεργασίας. Οι πρωτεΐνες των LBEPS είναι ελαφρώς μικρότερες μετά την 15^η μέρα λειτουργίας του συστήματος LED σε σύγκριση με το σύστημα έλεγχο, μέχρι τις 21 ημέρες, όπου αυξάνονται στα 117 mg/g VSS.

Για την περίπτωση ακτινοβολίας LED, του συνεχούς αερισμού χωρίς ανοξική φάση παρατηρήθηκε αρχικά αυξημένη τιμή στα 38,75 mg/g VSS των διαλυτών EPS σε σύγκριση με το σύστημα έλεγχου. Κατά τις 21 ημέρες λειτουργίας του συστήματος όμως η τιμή τους μειώνεται στα 22,29 mg/g VSS, δηλαδή στα ίδια επίπεδα με την απλή βιολογική επεξεργασία. Οι πολυσακχαρίτες των LBEPS, για την περίπτωση του συστήματος αυτού, παρουσιάζουν αρχικά τιμές αρκετά υψηλότερες από το σύστημα ελέγχου και στη συνέχεια κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα. Οι πολυσακχαρίτες των TBEPS ακολουθούν την ίδια πορεία, όπως και στην δεξαμενή με ακτινοβολία LED με ανοξική φάση, όπου στις 21 ημέρες παρουσιάζουν ίδιες συγκεντρώσεις. Ωστόσο σε αυτή την δεξαμενή παρατηρείται η μεγαλύτερη συγκέντρωση TBEPS από 23,83 mg/g VSS έως 9,99 mg/g VSS. Ομοίως τα TBEPS των πρωτεϊνών παρουσιάζουν ακριβώς ίδια πορεία με τα TBEPS των πολυσακχαριτών

Οι πρωτεΐνες των διαλυτών EPS παρουσιάζουν μια αύξηση στις 15 ημέρες στα 318,2 mg/g VSS σε σύγκριση με το σύστημα ελέγχου και ακολουθούν σχεδόν ίδια πορεία στις συγκεντρώσεις, ώσπου στις 21 ημέρες λειτουργίας του συστήματος η τιμή τους μειώνεται στα 197,8 mg/g VSS, δηλαδή στα ίδια επίπεδα με την απλή βιολογική επεξεργασία (έλεγχου), όπως και στους πολυσακχαρίτες. Οι πρωτεΐνες των LBEPS, παρουσιάζουν αρχικά τιμές υψηλότερες από το σύστημα ελέγχου και στη συνέχεια μετά τις 21 ημέρες κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα με τα LBEPS του συστήματος με ανοξική φάση. Ομοίως τα TBEPS των πρωτεϊνών παρουσιάζουν ακριβώς ίδια πορεία με τα TBEPS των πολυσακχαριτών με μεγαλύτερη συγκέντρωση την δεξαμενή με την ακτινοβολία LED χωρίς ανοξική φάση, από 143 mg/g VSS έως 66,7 mg/g VSS.

Από τη σύγκριση των διαγραμμάτων του 1^{ου} κύκλου επεξεργασίας μέχρι τον 3^ο κύκλο, επαληθεύεται το γεγονός ότι τα EPS ακολουθούν τον κύκλο ζωής των μικροαλγών. Όσο αναπτύσσονται και αυξάνονται τα μικροάλλα τόσο περισσότερα EPS εκκρίνονται στο σύστημα.

Προτάσεις :

- Βιολογική επεξεργασία με προσθήκη κροκιδωτικών για βελτίωση της απόδοσης του συστήματος – Μελέτη επίδρασης στα EPS
- Βιολογική επεξεργασία με προσθήκη μεταφορέων για βελτίωση της απόδοσης του συστήματος – Μελέτη επίδρασης στα EPS
- Σύγκριση αποτελεσμάτων προσθήκης σκόνης ενεργού άνθρακα με προσθήκη κοκκώδους ενεργού άνθρακα και απομάκρυνση του ενεργού άνθρακα κατά τον κορεσμό του – Μελέτη επίδρασης στα EPS
- Δοκιμή ακτινοβολίας LED στο κάθε χρώμα μεμονωμένα και σύγκριση με τα αποτελέσματα της ακτινοβολίας σε όλο το φάσμα χρωμάτων
- Δοκιμή εναλλαγής φωτός / σκοταδιού για βελτίωση της απομάκρυνσης των θρεπτικών συστατικών – Μελέτη επίδρασης στα EPS.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Raszka A., Chorvatova M. & Wanner J. (2006). The role and significance of extracellular polymers in activated sludge. Part I: Literature review. *Acta hydrochim. Hydrobiol*, **34**:411 – 424.
2. Sheng G.P., Yu H.Q. & Li X.Y., (2010). Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances*, **28**:882–894.
3. Ni B.J., Fang F., Xie W.M., Sun M., Sheng G.P., Li W.H. & Yu H.Q., (2009). Characterization of extracellular polymeric substances produced by mixed microorganisms in activated sludge with gel-permeating chromatography, excitation–emission matrix fluorescence spectroscopy measurement and kinetic modeling. *Science Direct*, **43**:1350-1358.
4. Frolund B., Palmgren R., Keiding K. & Nielsen P.H., (1996). Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*, **30**:1749–1758.
5. Chen Y.P., Zhang P., Guo J.S., Fang F., Gao X. & Li C., (2013). Functional groups characteristics of EPS in biofilm growing on different carriers. *Chemosphere*, **92**:633–638.
6. Flemming H.C. & Wingender J., (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, **8**:623-633.
7. Comte S., Guibaud G. & Baudu M., (2006). Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) resulting from activated sludge according to their type: Soluble or bound. *Process Biochemistry* **41**:815–823.
8. Joshi R.M. & Juwarkar A.A., (2009). In vivo studies to elucidate the role of extracellular polymeric substances from *Azotobacter* in immobilization of heavy metals. *Journal Environmental Science & Technology*, **43**:5884–5889.
9. Liu Y., & Fang H., (2003). Influence of extracellular polymeric substances (EPS) on flocculation, settling, and dewatering of activated sludge. *Journal Critical Reviews Environmental Science Technologies*, **33**:237–273.
10. Zhang X. & Bishop P.L., (2003). Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances. *Journal Chemosphere*, **50**:63–69
11. McSwain B.S., Irvine R.L., Hausner M. & Wilderer P.A., (2005). Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. *Journal Applied and Environmental Microbiology*, **71**:1051–1057.

12. Wang Z.W., Liu Y. & Tay J.H., (2005). Distribution of EPS and cell surface hydrophobicity in aerobic granules. *Journal Applied Microbiology Biotechnology*, **69**:469–73.
13. Sheng G.P., Zhang M.L., & Yu H.Q., (2008). Characterization of adsorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) extracted from sludge. *Journal Colloids and Surfaces B Bionterfaces*, **62**:83–90.
14. Geng Z., Hall E.R. & Berube P.R., (2007). Membrane fouling mechanisms of a membrane enhanced biological phosphorus removal process. *Journal of Membrane Science*, **296**:93–101.
15. Wang Z.W., Liu Y. & Tay J.H., (2007). Biodegradability of extracellular polymeric substances produced by aerobic granules. *Journal Applied Microbiology Biotechnology* **74**:462–6.
16. Li X.Y. & Yagn S.F., 2007. 'Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge'. *Journal Water Research*, **41(5)**: 1022–1030.
17. Liu J.R., Liu C.T., Edwards E.A. & Liss S.N., (2006). Effect of phosphorus limitation on microbial floc structure and gene expression in activated sludge. *Journal Water Science Technologies*, **54(1)**:247–55.
18. Priester J.H., Olson S.G., Webb S.M., Neu M.P., Hersman L.E. & Holden P.A., (2006) Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* Unsaturated Biofilms. *Journal Applied and Environmental Microbiology* **72**:1988–1996.
19. Badireddy A.R., Chellam S., Yanina S., Gassman P., Rosso K.M., (2008). Bismuth dimercaptopropanol (BisBAL) inhibits the expression of extracellular polysaccharides and proteins by *brevundimonas diminuta*: implications for membrane microfiltration. *Journal Biotechnol Bioeng*, **99**:634–643.
20. Jin P., Jin X., Wang X., Feng Y. & Wang X.C., (2013). Biological Activated Carbon Treatment Process for Advanced Water and Wastewater Treatment. *Engineering: "Biomass Now - Cultivation and Utilization"*: **Chapter 7**
21. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J., (1951). Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal Biological Chemistry*, **193**, 265-275.
22. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Reber P.A. & Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Journal Analytical Chemistry*, **28**,350–356.

23. Lin H., Zhang M., Wang F., Meng F., Liao B.Q., Hong H., Chen J., Gao W., (2014). A critical review of extracellular polymeric substances (EPSs) in membrane bioreactors: Characteristics, roles in membrane fouling and control strategies. *Journal of Membrane Science*, **460**:110–125
24. Khan S. J., Visvanathan C. & Jegatheesan V., (2012). Effect of powdered activated carbon (PAC) and cationic polymer on biofouling mitigation in hybrid MBRs. *Journal Bioresource Technology* **113**:165–168.
25. Fang H.P., Shi X. & Zhang T., (2006). Effect of activated carbon on fouling of activated sludge filtration. *Journal Desalination* **189**:193–199
26. Kuo F.S., Chien Y.H. & Chen C.J., (2012). Effects of light sources on growth and carotenoid content of photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*. *Journal Bioresource Technology*, **113**:315–318.
27. Lee K. & Lee C.G., (2001). Effect of Light/dark Cycles on Wastewater Treatments by Microalgae. *Journal Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **6**:194-199.
28. Hwang B.K., Kim J.H., Ahn C.H., Lee C.H., Song J.Y. & Ra Y.H. (2010). Effect of disintegrated sludge recycling on membrane permeability in a membrane bioreactor combined with a turbulent jet flow ozone contactor. *Journal Water Research*, **44**(6):1833-1840