



ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ
ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ FISH ME
ΣΤΟΧΟ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΗ
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ
ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

*ΣΕ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΜΕ
ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ*

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μαρνέρη Ματίνα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ τον καθηγητή μου Δάνο που με δέχτηκε στο εργαστήριο όταν ακόμα ήμουν στην Αμερική, συζήτησε διεξοδικά μαζί μου όλες μου τις αναζητήσεις και με βοήθησε όχι μόνο στο επιστημονικό κομμάτι της εργασίας αλλά έκανε και υπομονή και μου συμπαραστάθηκε σαν καλός μου φίλος όταν τα πράγματα ήταν δύσκολα στην προσωπική μου ζωή. Τις μεταπτυχιακές μου φοιτήτριες την Κορίνα, την Έφη και τη Λίνα για τη σκληρή δουλειά τους, την υπομονή τους, την αφοσίωση και τη φροντίδα που έδειξαν στην πειραματική δουλειά μου. Τα υπόλοιπα παιδιά στο εργαστήριο που με βοήθησαν με τις πειραματικές δοκιμές και τις φίλες μου την Τάνια, τη Ρούλα, τη Μαρίνα και τη Σοφία που με ενθάρρυναν και με βοήθησαν στην επιμέλεια του γραπτού μέρους της εργασίας μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Γιώργο που ήταν υπομονετικός συνοδοιπόρος μου σε όλο το ταξίδι, με ανέχτηκε και δεν μου επέτρεψε να εγκαταλείψω την προσπάθεια όταν ο στόχος φαινόταν πολύ μακριά. Πάνω απ' όλους, ιδιαίτερα ευχαριστώ την οικογένεια μου που μου έδωσαν τα εφόδια και τη δύναμη για να τα καταφέρω.

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ FISH ΜΕ ΣΤΟΧΟ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Πίνακας περιεχομένων

Πίνακας περιεχομένων.....	2
Περίληψη	2
Summary	12
Κεφάλαιο 1 ^ο - Εισαγωγή.....	15
1.1. Εισαγωγή	15
1.2. Σκοπός και Μεθοδολογία.....	16
1.3. Διάρθρωση εργασίας	19
2.1. Εισαγωγή	22
2.2. Σύντομη ανασκόπηση του προβλήματος του νηματοειδούς αφρισμού.....	23
2.3. Μικροσκοπική και μακροσκοπική εξέταση του φαινομένου του νηματοειδούς αφρισμού	28
2.4. Νηματοειδείς μικροοργανισμοί που προκαλούν αφρισμό.....	36
2.4.1. <i>Microthrix parvicella</i>	37
2.4.1.1. Μικροβιολογία	37
2.4.1.2. Φυσιολογία.....	42
2.4.1.3. Κινητική.....	46
2.4.2. <i>Gordona amarae</i>	48

2.4.2.1.	Μικροβιολογία	48
2.4.2.2.	Φυσιολογία	50
2.4.2.3.	Κινητική.....	50
2.5.	Προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού σε συστήματα ενεργού ιλύος	51
2.5.1.	Νηματοειδής αφρισμός & Λειτουργικά Χαρακτηριστικά	51
2.5.1.1.	Χρόνος παραμονής στερεών	52
2.5.1.2.	Καθεστώς ροής	54
2.5.1.3.	Αποδέκτης ηλεκτρονίων.....	57
2.5.1.4.	Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου.....	59
2.5.1.5.	Η συγκέντρωση των θρεπτικών.....	61
2.5.1.6.	Το pH του ανάμικτου υγρού	62
2.5.1.7.	Η θερμοκρασία του ανάμικτου υγρού.....	64
2.5.1.8.	Τα χαρακτηριστικά των λυμάτων.....	66
2.5.2.	Πρόληψη και αντιμετώπιση του προβλήματος	71
2.6.	Αναερόβια Χώνευση	84
2.6.1.	Εισαγωγικά στοιχεία.....	84
2.6.2.	Μικροβιολογία αναερόβιας χώνευσης	86
2.6.3.	Λειτουργικά χαρακτηριστικά συστημάτων αναερόβιας χώνευσης	89
2.6.3.1.	Θερμοκρασία.....	89
2.6.3.2.	Χρόνος παραμονής στερεών (SRT) & Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)	91
2.6.3.3.	Φόρτιση οργανικών στερεών.....	93
2.6.3.4.	Αλκαλικότητα και pH	94
2.6.3.5.	Θρεπτικές ουσίες.....	98
2.6.3.6.	Ανάδευση	100
2.6.4.	Σχεδιασμός συστημάτων αναερόβιας χώνευσης	102
2.6.4.1.	Μεσόφιλη χώνευση.....	102
2.6.4.2.	Θερμόφιλη χώνευση	104
2.6.4.3.	Πολυβάθμια συστήματα αναερόβιας χώνευσης.....	107

2.6.4.4.	Διαμερισματοποίηση αναερόβιας χώνευσης σε οξεογένεση και μεθανογένεση	109
2.6.4.5.	Διαμερισματοποίηση αναερόβιας χώνευσης σε θερμοφιλο και μεσόφιλο στάδιο	112
2.6.5.	Προβλήματα κατά τη λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης.....	115
2.6.5.1.	Τοξικότητα	116
2.6.5.2.	Αφρισμός	121
2.7.	Μέθοδοι Παρακολούθησης του Νηματοειδούς Αφρισμού	127
2.7.1.	Μικροσκοπικές μέθοδοι	127
2.7.2.	Φυσικοχημικές μέθοδοι	134
3.1	Στόχοι της έρευνας.....	137
3.2	Περιγραφή μεθοδολογικής προσέγγισης	138
3.3	Τρόπος οργάνωσης έρευνας	143
4.1.	Εισαγωγή	145
4.2.	Πρωτόκολλο FISH	145
4.3.	Πρωτόκολλο μοριακής τεχνικής προσδιορισμού βιωσιμότητας μικροοργανισμών με την τεχνική live/dead BacLight	149
4.4.	Πρωτόκολλο τεχνικής Pitt και Jenkins και τροποποίηση αυτής από Mamais <i>et al.</i> (1998)	151
4.5.	Μέθοδος φθορίζουσων μικροσφαιρών	152
4.6.	Πρόγραμμα δειγματοληψιών από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων ..	153
4.6.1.	Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Βόλου	154
4.6.2.	Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Χαλκίδας.....	155
4.6.3.	Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Ψυττάλειας.....	158
4.7.	Πιλοτικά πειράματα	161
4.7.1.	Περιγραφή πειραματικής διάταξης	161
4.7.2.	Λειτουργικά χαρακτηριστικά	164
4.7.2.1.	Τροφοδοσία	164
4.7.2.2.	Παράμετροι λειτουργίας	165
4.7.3.	Πρόγραμμα εργαστηριακών αναλύσεων.....	167

4.7.4.	Περιγραφή αναλυτικών μεθόδων	169
4.7.4.1.	Μέτρηση θερμοκρασίας και pH.....	169
4.7.4.2.	Μέτρηση βιοαερίου.....	169
4.7.4.3.	Μέτρηση ολικών και πτητικών στερεών	170
4.7.4.4.	Μέτρηση ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών	171
4.7.4.5.	Μέτρηση ολικού, κολλοειδούς και διαλυτού COD.....	171
4.7.4.6.	Μέτρηση αφρισμού.....	174
4.7.4.7.	Μέτρηση αφυδατωσιμότητας	176
4.7.4.8.	Μέτρηση αλκαλικότητας και πτητικών λιπαρών οξέων	180
4.7.5.	Πιλοτικά πειράματα διαλείποντος έργου	182
5.1.	Εισαγωγή	185
5.2.	Βελτιστοποίηση της εφαρμογής της μεθόδου FISH για τον προσδιορισμό των βακτηρίων <i>M. parvicella</i> και <i>G. amarae</i>	186
5.3.	Σύγκριση μεθόδου FISH με άλλες μικροσκοπικές μεθόδους προσδιορισμού βακτηρίων	195
5.4.	Σύνοψη κεφαλαίου 5	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
6.1.	Εισαγωγή	205
6.2.	Αποτελέσματα δειγματοληψιών από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων πλήρους κλιμακας.....	206
6.2.1.	Εισαγωγή.....	206
6.2.2.	Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Ψυττάλειας.....	207
6.2.2.1.	Συνοπτική περιγραφή	207
6.2.2.2.	Ροές μάζας νηματοειδών ανά θέση δειγματοληψίας.....	208
6.2.3.	Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Βόλου	213
6.2.3.1.	Συνοπτική περιγραφή	213
6.2.3.2.	Ροές μάζας νηματοειδών ανά θέση δειγματοληψίας.....	213
6.2.4.	Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Χαλκίδας.....	228
6.2.4.1.	Συνοπτική περιγραφή της ΕΕΛ	228
6.2.4.2.	Ροές μάζας νηματοειδών ανά θέση δειγματοληψίας.....	229

6.2.5. Καταστροφή Νηματοειδών στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης των ΕΕΛ Χαλκίδας και Βόλου	252
6.2.6. Συσχέτιση φαινομένων αφρισμού στην αναερόβια χώνευση με τους νηματοειδείς <i>M.parvicella</i> και <i>G.amarae</i>	253
6.2.7. Συμπεράσματα	255
6.3. Αποτελέσματα εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης συνεχούς τροφοδοσίας	260
6.3.1. Χρόνος παραμονής 20 ημερών	260
6.3.1.1. Θερμοκρασία - pH	262
6.3.1.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών	263
6.3.1.3. Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών	264
6.3.1.4. Πτητικά λιπαρά οξέα.....	265
6.3.1.5. Συγκέντρωση ολικού και διαλυτού COD	267
6.3.1.6. Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση	268
6.3.1.7. Νηματοειδείς μικροοργανισμοί & Αφρισμός.....	269
6.3.2. Χρόνος παραμονής 16 ημερών	272
6.3.2.1. Θερμοκρασία - pH.....	274
6.3.2.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών	275
6.3.2.3. Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών	276
6.3.2.4. Πτητικά λιπαρά οξέα.....	277
6.3.2.5. Συγκέντρωση ολικού και διαλυτού COD	279
6.3.2.6. Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση	280
6.3.2.7. Νηματοειδείς μικροοργανισμοί & Αφρισμός.....	280
6.3.3. Χρόνος παραμονής 13 ημερών	283
6.3.3.1. Θερμοκρασία - pH.....	285
6.3.3.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών	285
6.3.3.3. Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών	286
6.3.3.4. Κλασματοποίηση COD.....	287

6.3.3.5.	Πτητικά λιπαρά οξέα και αλκαλικότητα	290
6.3.3.6.	Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση	292
6.3.3.7.	Νηματοειδείς μικροοργανισμοί & Αφρισμός.....	293
6.3.4.	Χρόνος παραμονής 10 ημερών	296
6.3.4.1.	Θερμοκρασία - pH.....	298
6.3.4.2.	Οργανική φόρτιση χωνευτών	299
6.3.4.3.	Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών	299
6.3.4.4.	Κλασματοποίηση COD.....	301
6.3.4.5.	Πτητικά λιπαρά οξέα και αλκαλικότητα	303
6.3.4.6.	Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση	304
6.3.4.7.	Νηματοειδείς & Αφρισμός.....	305
6.3.5.	Σύγκριση μεταξύ διαφορετικών χρόνων παραμονής	308
6.3.5.1.	Απόδοση αναερόβιων χωνευτών.....	308
6.3.5.2.	Λειτουργικά χαρακτηριστικά αναερόβιων χωνευτών.....	312
6.3.5.3.	Αφρισμός & Νηματοειδείς μικροοργανισμοί.....	319
6.4.	Εργαστηριακής κλίμακας πειράματα αναερόβιων χωνευτών διαλείποντος έργου	325
6.4.1.	Εισαγωγή.....	325
6.4.2.	Παρουσίαση αποτελεσμάτων.....	326
6.4.2.1.	Σύγκριση πειραματικών αποτελεσμάτων διαλείποντος έργου και συνεχούς ροής.....	330
6.4.2.2.	Σύγκριση ποσοστών καταστροφής νηματοειδών βακτηρίων από τα εργαστηριακής κλίμακας πειράματα διαλείποντος έργου και από τις εγκαταστάσεις πλήρους κλίμακας.....	335
7.1.	Εισαγωγή	338
7.2.	Ανάπτυξη της μεθόδου FISH	339
7.3.	Ισοζύγια νηματοειδών μικροοργανισμών στις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας.....	340

7.4. Νηματοειδεις μικροοργανισμοι σε εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης	345
7.5. Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα.....	353
Ελληνική Βιβλιογραφία	356
Διεθνής Βιβλιογραφία.....	356
Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά με κριτές.....	374
Δημοσιεύσεις σε πρακτικά διεθνών συνεδρίων.....	374
Διπλωματικές εργασίες.....	375

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του φαινομένου του αφρισμού λόγω της υπερανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) με απομάκρυνση θρεπτικών, με έμφαση στον προσδιορισμό της επίδρασης της γραμμής επεξεργασίας της ιλύος στο νηματοειδή αφρισμό. Προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι δυσκολίες που προκύπτουν από την εφαρμογή της παραδοσιακής τεχνικής Pitt και Jenkins για την καταμέτρηση των νηματοειδών βακτηρίων που προκαλούν αφρισμό, αναπτύχθηκε μοριακή τεχνική καταμέτρησής τους με τη βοήθεια της Φθορίζουσας Επί Τόπου Υβριδοποίησης (Fluorescent *In Situ* Hybridization - FISH). Από τη σύγκριση των μέσων όρων των μετρήσεων των νηματοειδών των δύο μεθόδων προέκυψε ότι έχουν στατιστική διαφορά, γεγονός αναμενόμενο εφόσον η FISH προσδιορίζει τους βιώσιμους μικροοργανισμούς ενώ η Pitt και Jenkins το σύνολό τους. Επιπλέον, οι μέσοι όροι των νηματοειδών που ταυτοποιήθηκαν με τη FISH δεν είχαν στατιστική διαφορά από τους αντίστοιχους που ταυτοποιήθηκαν με την τεχνική LIVE/DEAD που προσδιορίζει τους ζώντες μικροοργανισμούς. Επομένως, στην παρούσα εργασία η FISH χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των βιώσιμων μικροοργανισμών.

Στη συνέχεια, με τη βοήθεια της μεθόδου FISH, διερευνήθηκε η υπερανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια τριών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων (Χαλκίδας, Βόλου και Ψυττάλειας). Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με τους εν λόγω νηματοειδείς μέσω της επανακυκλοφορίας των στραγγιδίων από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογική ιλύς από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία σταθεροποιούταν σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως ήταν δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε η εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae*, τα οποία φαίνεται να ευνοούνται τους χειμερινούς και θερινούς

μήνες αντίστοιχα. Επίσης, από τα ισοζύγια των ρών μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών προέκυψε ότι οι υπό εξέταση νηματοειδείς επιβιώνουν στη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης σε σημαντικό ποσοστό (ποσοστό καταστροφής από 36,2-77,6%). Επίσης, προέκυψε ότι οι ροές των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης επανατροφοδοτούν με βιώσιμους νηματοειδείς *M. parvicella* και *G. amarae* το σύστημα ενεργού ιλύος όλων των υπό εξέταση ΕΕΛ σε ποσοστό 0,4% - 27,1% της συνολικής μάζας των νηματοειδών στη δευτεροβάθμια διεργασία.

Παράλληλα, προσδιορίστηκε το ποσοστό καταστροφής των εν λόγω βακτηρίων και διερευνήθηκαν οι επιπτώσεις των υψηλών συγκεντρώσεων των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* σε εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης καθώς και η συσχέτισή τους με την απόδοση των χωνευτών και με πιθανά λειτουργικά προβλήματα. Για το σκοπό αυτό αξιολογήθηκε η λειτουργία διαφορετικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, μέσω της μελέτης της επίδρασης του χρόνου παραμονής, της θερμοκρασίας και της διαμερισματοποίησης. Πιο συγκεκριμένα εξετάστηκαν τέσσερα συστήματα, ένας μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής, ένας μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής και δύο διβάθμια συστήματα. Το ένα διβάθμιο σύστημα αποτελούταν από ένα πρώτο θερμόφιλο στάδιο με μικρότερο χρόνο παραμονής σε σειρά με δεύτερο μεσόφιλο στάδιο ενώ το δεύτερο διβάθμιο σύστημα αποτελούταν από δύο μεσόφιλους χωνευτές σε σειρά με ίσους χρόνους παραμονής. Όλα τα συστήματα λειτούργησαν σε 4 διαφορετικούς χρόνους παραμονής, στις 20, 16, 13 και 10 ημέρες.

Σύμφωνα με τις μετρήσεις FISH των *M. parvicella* και *G. amarae*, οι θερμόφιλοι χωνευτές πέτυχαν στατιστικά υψηλότερα ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών, αναλογικά με το χρόνο παραμονής τους. Πιο συγκεκριμένα, οι μέσοι όροι των ποσοστών καταστροφής στις αναερόβιες θερμόφιλες συνθήκες για τους νηματοειδείς *M. parvicella* και *G. amarae* ήταν αντίστοιχα 77,8% με 97,1% και 79,1% - 97,4%. Αντιστοίχως στις μεσόφιλες αναερόβιες συνθήκες τα ποσοστά καταστροφής ήταν για τα δύο βακτήρια αντιστοίχως 51,1% - 76,9% και 59,6% - 69,6%. Ωστόσο, παρόλο που οι θερμόφιλες συνθήκες πέτυχαν υψηλότερη καταστροφή των νηματοειδών, δε βελτίωσαν σημαντικά τα χαρακτηριστικά αφρισμού της ιλύος. Μπορεί να υποθέσει κανείς ότι το δυναμικό αφρισμού και η σταθερότητά του είναι συνδυαστικό αποτέλεσμα της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων και της συγκέντρωσης ενώσεων με επιφανειοδραστικές

ιδιότητες που περιέχονται στη χωνεμένη ιλύ. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από την αυξημένη συγκέντρωση του κολλοειδούς COD που μετρήθηκε.

Στα πλαίσια της παρούσας ερευνητικής εργασίας, διερευνήθηκε η απόδοση της αναερόβιας χώνευσης, ως προς την παραγωγή του βιοαερίου, τη μείωση των πτητικών στερεών και του COD. Επίσης, εξετάστηκαν τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των εργαστηριακών χωνευτών και πιο συγκεκριμένα μέσω των συγκεντρώσεων των πτητικών λιπαρών οξέων και του διαλυτού COD, των παραμέτρων αφρισμού και της καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, την υψηλότερη απόδοση πέτυχαν τα διβάθμια συστήματα και ειδικότερα το διβάθμιο θερμοφιλο/ μεσόφιλο σύστημα. Οι θερμοφιλοι χωνευτές παρουσίασαν ασταθή λειτουργία, όπως προσδιορίστηκε από τις υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων και διαλυτού COD υποδεικνύοντας ότι οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί είχαν μειωμένη απόδοση.

Συνοψίζοντας, το βέλτιστο σύστημα αναερόβιας χώνευσης για όλους τους χρόνους παραμονής αποδείχτηκε ότι ήταν το διβάθμιο θερμοφιλο/ μεσόφιλο σύστημα, το οποίο παρουσίασε υψηλή απόδοση, σταθερή λειτουργία και καλά χαρακτηριστικά χωνεμένης ιλύος. Ταυτόχρονα, πέτυχε υψηλή καταστροφή νηματοειδών σε συνδυασμό με μείωση του δυναμικού και της σταθερότητας του αφρισμού στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο.

Τέλος, προκειμένου να προσεγγιστεί η κινητική φθοράς των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι διαλείποντος έργου στους εργαστηριακούς χωνευτές σε μεσόφιλες και θερμοφιλες συνθήκες. Βρέθηκε πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων των πειραμάτων διαλείποντος έργου και αυτών της συνεχούς ροής. Η κινητική φθοράς των νηματοειδών αποδείχτηκε ότι ήταν πρώτης τάξης με συντελεστή $0,11 - 0,12 \text{ d}^{-1}$ στις μεσόφιλες συνθήκες και $1,09 - 1,04 \text{ d}^{-1}$ στις θερμοφιλες συνθήκες για τους *G. amarae* και *M. parvicella* αντίστοιχα, τιμές μεγαλύτερες από το συντελεστή φθοράς που αναφέρεται στη βιβλιογραφία για αερόβιες συνθήκες.

SUMMARY

The scope of this study was the investigation of foaming due to the overgrowth of the filamentous microorganisms *M. parvicella* and *G. amarae*. In order to overcome the difficulties arising from the implementation of the traditional technique of Pitt and Jenkins, a molecular counting technique was developed with the use of the Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH). As was expected the average counts of the filaments identified by the two methods were statistically different since FISH identifies only the viable bacteria while the Pitt and Jenkins technique accounts for the total of the gram positive bacteria. Furthermore, the average counts as identified by FISH weren't statistically different compared to those counted by means of the LIVE/DEAD technique that identifies only the live bacteria. Therefore, FISH within the scope of this study was used to determine the viable microorganisms.

After FISH was developed it was used to investigate the overgrowth of the filaments *M. parvicella* and *G. amarae* at the various processes of three WasteWater Treatment Plants (WWTPs) (of the cities of Chalkida, Volos and Psyttalia). The WWTPs were selected based on the severity and persistence of filamentous foaming events in their activated sludge systems. The scope was to test the hypothesis that filaments' recirculation, by means of the underflows from the solids treatment line, seed the activated sludge system. Furthermore, the WWTPs were selected based on the fact that their solids treatment process included anaerobic digestion for the stabilization of the waste activated sludge in order to calculate the filaments destruction there. The results indicated a seasonal variation of the filamentous bacteria and in specific, the overgrowth of *M. parvicella* and *G. amarae* during winter and summer months respectively. Also, the mass balances for the filaments showed that they could survive in the anaerobic digestion systems of the WWTPs (destruction rates ranged within 36,2 - 77,6%) and that the underflows from the thickening and dewatering processes seed the activated sludge system with viable *M. parvicella* and *G. amarae* at percentages equal to 0,4% - 27,1% of the total filament mass in the secondary treatment.

In order to investigate the viability of *G. amarae* and *M. Parvicella* in anaerobic digestion, a laboratory scale study was conducted that involved the operation of four lab-scale anaerobic digestion systems, two single - stage and two dual - stage,

operating in the mesophilic (35°C) and thermophilic (55°C) temperature ranges. All systems were operated at four different detention times of 20, 16, 13 and 10 days.

According to FISH counts of *M. Parvicella* and *G. amarae*, it appears that thermophilic conditions resulted in a higher destruction of the filamentous bacteria that averaged from 77,8% to 97,1% and 79,1% - 97,4% respectively, compared to the mesophilic systems that exhibited destruction rates within the range of 51,1% - 76,9% and 59,6% - 69,6%. Destruction rate was proportional to the detention time for all digestion systems. It should be underlined, however, that although anaerobic conditions induced a higher destruction of the filamentous foaming bacteria, they did not improve the sludge foaming characteristics significantly. Apparently, the foaming potential and stability of anaerobic digesters is a combined effect of both the concentration of the filamentous bacteria and the concentration of foam stabilizing materials in the digested sludge. This hypothesis was supported by the results of the colloidal COD.

Within the context of this study, the performance of digestion was evaluated in terms of biogas production per mass of volatile solids destroyed, volatile solids and total COD reduction. Also, the lab-scale digesters' operational characteristics were monitored and specifically by means of the soluble COD and VFA concentrations, the foaming characteristics, as well as the destruction of filamentous foaming bacteria. According to the results, the highest overall efficiencies were achieved by the dual anaerobic digestion systems and especially, the dual thermophilic/mesophilic system. The thermophilic digesters exhibited unstable performance, as indicated by the high volatile fatty acids and soluble COD concentrations indicating a reduced performance of methanogens.

Overall, the dual thermophilic/mesophilic system exhibited the highest performance and the most stable operation at all detention times. Also, this temperature phased system appeared to be able to minimize foaming problems as well as to decrease the concentration of filamentous foaming bacteria significantly, subsequently resulting in a decrease of the filaments in the recycle stream from the dewatering facilities to the activated sludge process.

Finally, in order to estimate the decay rate of *M. parvicella* and *G.amarae* in anaerobic digestion, two batch experiments were conducted in mesophilic and thermophilic conditions. The decay rate was found to follow first order kinetics with a coefficient of 0,11 - 0,12 d⁻¹ under mesophilic and of 1,09 - 1,04 d⁻¹ under thermophilic conditions for *G.amarae* and *M. parvicella* respectively, values higher

than the decay rate reported in the literature evaluated at aerobic conditions. The results correlated well with the continuous flow destruction rates.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σύστημα ενεργού ιλύος είναι το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο και ένα από τα πιο αποτελεσματικά συστήματα βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων, όσον αφορά τόσο στην ποιότητα εκροής όσο και στην οικονομία του. Στην απλούστερη μορφή του διακρίνεται σε δύο στάδια, του αερισμού και της καθίζησης. Στο αρχικό στάδιο του αερισμού, τα λύματα εισάγονται σε μια ή περισσότερες δεξαμενές με λειτουργικές συνθήκες ώστε να ενισχύεται η ανάπτυξη ενός πολύπλοκου και ισορροπημένου οικοσυστήματος αποτελούμενο από αερόβια ετεροτροφικά και αυτοτροφικά βακτήρια και ανώτερους μικροοργανισμούς. Το οικοσύστημα επιτυγχάνει ικανοποιητική επεξεργασία όταν στη δεξαμενή αερισμού απομακρύνονται οι ρύποι που βρίσκονται στα λύματα και όταν συμβάλλει στο σχηματισμό βιοκροκίδων με κατάλληλα χαρακτηριστικά καθίζησης ώστε στις ακόλουθες δεξαμενές καθίζησης να λαμβάνει χώρα επιτυχής διαχωρισμός στερεών και υπερκείμενου υγρού.

Επομένως, η σύνθεση της βιομάζας διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην απόδοση του συστήματος ενεργού ιλύος και τα σημαντικότερα λειτουργικά προβλήματα εκκινούν από τη μη ισορροπημένη ανάπτυξη των διαφορετικών ομάδων μικροοργανισμών. Ειδικότερα, η υπερβολική ανάπτυξη μίας ομάδας βακτηρίων είναι πιθανόν να προκαλέσει το φαινόμενο της δημιουργίας ενός μεγάλου στρώματος βιολογικού αφρού στην επιφάνεια των δεξαμενών αερισμού. Άμεσα αποτελέσματα είναι τα λειτουργικά προβλήματα τόσο στη διεργασία όσο και στον μηχανολογικό εξοπλισμό καθώς και οι επικίνδυνες εργασιακές συνθήκες. Επίσης, το πρόβλημα του αφρισμού μπορεί να συνοδεύεται και από προβλήματα διόγκωσης της ιλύος, της παραγωγής δηλαδή ιλύος που καθιζάνει με αργούς ρυθμούς και παρουσιάζει μικρή συμπύκνωση. Τα δύο αυτά φαινόμενα αποτελούν και τα σημαντικότερα λειτουργικά προβλήματα που αντιμετωπίζει μεγάλο ποσοστό εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων παγκοσμίως (40-50%).

Παράλληλα, το πρόβλημα του αφρισμού δεν περιορίζεται στη δευτεροβάθμια διεργασία αλλά μεταφέρεται και στους αναερόβιους χωνευτές περιορίζοντας την απόδοσή τους. Επίσης, με την επανακυκλοφορία των στραγγιδίων που περιέχουν

σημαντικό αριθμό των εν λόγω νηματοειδών βακτηρίων από τα στάδια επεξεργασίας της πάχυνσης και αφυδάτωσης της ιλύος, μπορεί να δημιουργηθεί ένας φαύλος κύκλος που να σταθεροποιεί ή και να ενισχύει το πρόβλημα του νηματοειδούς αφρισμού ακόμα και όταν εφαρμόζονται κατά τα άλλα αποτελεσματικές μέθοδοι αντιμετώπισής του.

Τις τρεις τελευταίες δεκαετίες τα φαινόμενα της νηματοειδούς διόγκωσης της ιλύος και του αφρισμού έχουν εξετασθεί από πλήθος ερευνητικών ομάδων σε όλο τον κόσμο. Σύμφωνα με αυτές, οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι μπορούν να αναγνωριστούν μικροσκοπικά και να διακριθούν με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά. Έτσι έως σήμερα έχουν αναγνωρισθεί περίπου τριάντα νηματοειδείς μικροοργανισμοί, από τους οποίους αυτοί που συνήθως παρουσιάζονται και δημιουργούν προβλήματα στις ΕΕΛ δεν είναι παραπάνω από δέκα. Από αυτούς οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που προκαλούν προβλήματα αφρισμού είναι ο *Microthrix parvicella* και ο *Gordona amarae*.

Παρόλη την ταχύτητα και ευκολία που παρουσιάζουν οι παραδοσιακές μέθοδοι ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των νηματοειδών μικροοργανισμών, ενέχουν και δύο σημαντικούς περιορισμούς. Καθώς η ταυτοποίηση γίνεται βάσει της μορφολογίας τους είναι εξαιρετικά δύσκολη η ποσοτικοποίηση ενός είδους νηματοειδών. Επίσης, οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί δε μπορούν να ταυτοποιηθούν ούτε κατά συνέπεια να ποσοτικοποιηθούν στην περίπτωση αλλοίωσης των μορφολογικών τους χαρακτηριστικών. Στις περιπτώσεις αυτές απαιτούνται άλλες μέθοδοι που δε βασίζονται στις κλασσικές μικροσκοπικές τεχνικές ταυτοποίησης όπως είναι οι μοριακές μέθοδοι.

1.2. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Ο στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση του φαινομένου του αφρισμού λόγω της υπερανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae*. Προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι δυσκολίες που προκύπτουν από την εφαρμογή της τεχνικής Pitt και Jenkins (Pitt and Jenkins, 1990), αναπτύχθηκε μέθοδος καταμέτρησης των νηματοειδών με τη μοριακή μέθοδο FISH. Η μέθοδος συσχετίστηκε με την κλασσική μέθοδο με αναμενόμενα αποτελέσματα την καλή συσχέτιση στα δείγματα των αερόβιων διεργασιών. Με τη μέθοδο FISH υβριδοποιείται το ριβοσωμικό RNA, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία μόνο όταν

υπάρχει έντονη μεταβολική δραστηριότητα. Ωστόσο ο παρατεταμένος χρόνος ημίσειας ζωής του μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της βιωσιμότητας ενός κυτταρικού δείγματος για το λόγο αυτό η FISH συσχετίστηκε και με άλλες φθορίζουσες μοριακές μεθόδους, οι οποίες προσδιορίζουν τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών και βρέθηκε πολύ καλή συμφωνία μεταξύ των διαφόρων μεθόδων.

Με τη βοήθεια της μεθόδου FISH, διερευνήθηκε η υπερανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* καταρχήν στα διάφορα στάδια τριών ΕΕΛ (Χαλκίδας, Βόλου και Ψυττάλειας). Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με τους εν λόγω νηματοειδείς. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογική ιλύς από το σύστημα ενεργού ιλύος σταθεροποιείται σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως είναι δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση. Έτσι λήφθηκαν δείγματα στις επιμέρους διεργασίες των ΕΕΛ για την ταυτοποίηση και καταμέτρηση των μικροοργανισμών.

Παράλληλα, προσδιορίστηκαν τα ποσοστά καταστροφής των εν λόγω βακτηρίων και διερευνήθηκαν οι επιπτώσεις της υψηλής συγκέντρωσης των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* σε εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και η συσχέτιση αυτής με την απόδοση των χωνευτών και με πιθανά λειτουργικά προβλήματα. Για το σκοπό αυτό αξιολογήθηκε η λειτουργία διαφορετικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, μέσω της μελέτης της επίδρασης του χρόνου παραμονής, της θερμοκρασίας και της διαμερισματοποίησης. Πιο συγκεκριμένα εξετάστηκαν τέσσερα συστήματα, ένας μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής, ένας μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής και δύο διβάθμια συστήματα.

Το ένα διβάθμιο σύστημα αποτελούνταν από ένα πρώτο θερμόφιλο στάδιο με μικρότερο χρόνο παραμονής σε σειρά με δεύτερο μεσόφιλο στάδιο ενώ το δεύτερο διβάθμιο σύστημα αποτελούνταν από δύο μεσόφιλους χωνευτές σε σειρά με ίσους χρόνους παραμονής. Όλα τα συστήματα λειτούργησαν σε 4 διαφορετικούς χρόνους παραμονής, στις 20, 16, 13 και 10 ημέρες.

Η απόδοση των χωνευτών αξιολογήθηκε με βάση την παραγωγή του βιοαερίου, την καταστροφή των πτητικών στερεών και την καταστροφή του ολικού COD, ενώ η σταθερότητα της λειτουργίας τους παρακολουθήθηκε μέσω της σταθερότητας της θερμοκρασίας και του pH, της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και της

συγκέντρωσης της αλκαλικότητας. Επίσης, εξετάστηκε το φαινόμενο του αφρισμού στους χωνευτές μέσω δοκιμών αφρισμού ενώ διερευνήθηκε η συσχέτισή του με τη συγκέντρωση των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* με την εφαρμογή της μοριακής μεθόδου FISH καθώς και με τη συγκέντρωση του κολλοειδούς COD. Τέλος, εξετάστηκαν τα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της ιλύος από κάθε εργαστηριακό χωνευτή και συγκρίθηκαν τόσο μεταξύ των διαφορετικών εργαστηριακών συστημάτων όσο και με αυτά της χωνεμένης ιλύος από την εγκατάσταση της Ψυττάλειας.

Στο πλαίσιο της διδακτορικής αυτής έρευνας πραγματοποιήθηκαν επίσης δύο κύκλοι πειραμάτων σε εργαστηριακής κλίμακας χωνευτές διαλείποντος έργου σε μεσόφιλες και θερμόφιλες συνθήκες, με στόχο τον προσδιορισμό του συντελεστή φθοράς των εν λόγω νηματοειδών βακτηρίων κάτω από αναερόβιες συνθήκες.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει σημαντικά στοιχεία πρωτοτυπίας, όπως είναι η ανάπτυξη της μοριακής τεχνικής FISH για την ποσοτικοποίηση των νηματοειδών βακτηρίων σε συνθήκες ανταγωνισμού, όπου η παραδοσιακή τεχνική αποτυγχάνει. Η τεχνική αυτή επέτρεψε με τη σειρά της την *in situ* παρακολούθηση των βακτηρίων σε συστήματα αναερόβιας χώνευσης, σε μεσόφιλες και σε θερμόφιλες συνθήκες και τη διερεύνηση των λειτουργικών προβλημάτων που δημιουργούνται από τη συσσώρευση των νηματοειδών. Επίσης, επέτρεψε την καταμέτρησή τους στο ρεύμα των στραγγιδίων που προκύπτει από τις διεργασίες της αφυδάτωσης. Με τον τρόπο αυτό μπόρεσε να διερευνηθεί η υπόθεση της επανατροφοδότησης του συστήματος ενεργού ιλύος λόγω της ανακυκλοφορίας των στραγγιδίων με βιώσιμους νηματοειδείς μικροοργανισμούς.

1.3. ΔΙΑΡΘΡΩΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η εργασία περιλαμβάνει εκτός από την παρούσα εισαγωγή, άλλα έξι κεφάλαια.

Στο Κεφάλαιο 2 της εργασίας παρουσιάζεται το θεωρητικό υπόβαθρο και γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με το θέμα της παρούσας εργασίας. Πιο συγκεκριμένα, εξετάζεται το φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού, η έκτασή του σε συστήματα ενεργού ιλύος και αναερόβιας χώνευσης, οι λειτουργικές παράμετροι που ευνοούν το σχηματισμό του αφρισμού και τη σταθεροποίησή του καθώς και τα μέτρα ελέγχου και αντιμετώπισής του. Επίσης, εξετάζονται οι σημαντικότεροι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που προκαλούν φαινόμενα αφρισμού ως προς τη μικροβιολογία, τη φυσιολογία και την κινητική τους.

Στη συνέχεια, αναλύονται διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και οι σημαντικότερες παράμετροι παρακολούθησης και ρύθμισής τους, η επίδραση των διαφορετικών φυσικών και χημικών παραμέτρων στη διεργασία, η απόδοσή τους και τα λειτουργικά προβλήματα που παρουσιάζουν με έμφαση στο πρόβλημα του νηματοειδούς αφρισμού.

Τέλος, εξετάζονται οι μέθοδοι ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των νηματοειδών μικροοργανισμών και συγκεκριμένα των *G. amarae* και *M. parvicella* και συγκεκριμένα τόσο της παραδοσιακής τεχνικής Pitt και Jenkins όσο και μοριακών μεθόδων και κυρίως της FISH.

Στο Κεφάλαιο 3 αναπτύσσεται η μεθοδολογία και ο τρόπος προσέγγισης του υπό εξέταση θέματος. Στο Κεφάλαιο 4 περιγράφονται οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία συμπεριλαμβανομένου του πρωτόκολλου της τεχνικής καταμέτρησης κατά FISH. Ακολουθεί περιγραφή των προγραμμάτων δειγματοληψιών και μετρήσεων από τις ΕΕΛ Βόλου, Χαλκίδας και Ψυττάλειας. Τέλος, γίνεται περιγραφή των έξι εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, του τρόπου λειτουργίας τους και του χρονοδιαγράμματος των πιλοτικών πειραμάτων.

Στο Κεφάλαιο 5 περιγράφεται η ανάπτυξη της μοριακής μεθόδου FISH για την ταυτοποίηση των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* και των λοιπών τεχνικών παρακολούθησης των νηματοειδών βακτηρίων με τις οποίες συσχετίστηκε η μέθοδος FISH.

Στο Κεφάλαιο 6 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων από τις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας, υπολογίζονται τα ισοζύγια μάζας των νηματοειδών βακτηρίων, τα ποσοστά επανατροφοδότησης τους στο σύστημα μέσω των ροών των

στραγγιδίων από τα στάδια πάχυνσης και αφυδάτωσης της ιλύος και τα ποσοστά καταστροφής τους στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Στη δεύτερη ενότητα αποτελεσμάτων παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τα τέσσερα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Η απόδοση των χωνευτών αξιολογήθηκε με βάση την παραγωγή του βιοαερίου, την καταστροφή των πτητικών στερεών και την καταστροφή του ολικού COD, ενώ η σταθερότητα της λειτουργίας τους παρακολούθηθηκε μέσω της σταθερότητας της θερμοκρασίας και του pH, της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και της συγκέντρωσης της αλκαλικότητας. Επίσης, εξετάστηκε το φαινόμενο του αφρισμού στους χωνευτές μέσω δοκιμών αφρισμού ενώ διερευνήθηκε η συσχέτισή του με τη συγκέντρωση των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* με την εφαρμογή της μοριακής μεθόδου FISH καθώς και με τη συγκέντρωση του κολλοειδούς COD. Τέλος, προκειμένου να προσεγγιστεί η κινητική μείωσης της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* σε θερμόφιλες και μεσόφιλες αναερόβιες συνθήκες πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι διαλείποντος έργου στους εργαστηριακούς χωνευτές.

Στο Κεφάλαιο 7 συνοψίζονται τα βασικότερα συμπεράσματα και οι παρατηρήσεις, που προέκυψαν από την έρευνα που διεξήχθη, σχολιάζονται οι ερευνητικές της αδυναμίες ενώ προτείνονται πιθανές κατευθύνσεις στις οποίες μπορεί να στραφεί η μελλοντική έρευνα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ικανότητα ορισμένων μικροοργανισμών να επιπλέουν και να δημιουργούν αφρισμό είναι ένα γεγονός με ευρύτατη αναγνώριση στη γενική μικροβιολογία. Τα λειτουργικά προβλήματα που προκαλεί ο αφρισμός σε συστήματα ενεργού ιλύος περιγράφηκαν για πρώτη φορά στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) Jones Island East Plant στο Milwaukee το Φεβρουάριο του 1969. Το φαινόμενο ονομάστηκε "Μυστήριο του Milwaukee " (Anonymous, 1969) και έκτοτε γρήγορα εξαπλώθηκε σε όλο τον κόσμο και πλέον κυρίως αντιμετωπίζεται σε ΕΕΛ με απομάκρυνση θρεπτικών, ωστόσο επίσης απαντάται συχνά σε συμβατικά συστήματα ενεργού ιλύος.

Το φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού έγινε γρήγορα αντικείμενο έρευνας από πλήθος ερευνητικών ομάδων σε παγκόσμια κλίμακα (Eikelboom *et al.*, 1975, Eikelboom *et al.*, 1981, Pitt and Jenkins, 1990; Seviour *et al.*, 1990; Pujol *et al.*, 1991; Eikelboom *et al.* 1998; Wanner *et al.*,1998). Επί του θέματος της νηματοειδούς διόγκωσης και αφρισμού έχουν γραφτεί πολυάριθμα άρθρα καθώς και βιβλία. Αξίζει να σημειωθούν τα εγχειρίδια του Wanner (1994) και του Jenkins *et al.* (2004), τα οποία περιγράφουν το φαινόμενο από την πλευρά του μηχανικού καθώς και των Seviour and Blackall (1999), τα οποία ερευνούν το πρόβλημα από την οπτική σκοπιά της μικροβιολογίας. Επίσης, πρόσφατα, οι Tandoi *et al.* (2006) εξέδωσαν βιβλίο στα προβλήματα της καθιζημασιμότητας της ιλύος συμπεριλαμβάνοντας την εμπειρία που έχει αποκτηθεί σε ΕΕΛ με πολύ διαφορετικά χαρακτηριστικά παγκοσμίως.

Στη συνέχεια του παρόντος κεφαλαίου δίνεται καταρχήν μια ανασκόπηση των προβλημάτων που προκαλεί ο νηματοειδής αφρισμός σε ΕΕΛ και περιγράφονται οι κυριότεροι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που προκαλούν αφρισμό. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι μέθοδοι παρακολούθησης της παρουσίας των νηματοειδών μικροοργανισμών και τέλος αναλύσσονται οι προτεινόμενοι τρόποι αντιμετώπισης των προβλημάτων αφρισμού στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων καθώς και στους αναερόβιους χωνευτές.

2.2. ΣΥΝΤΟΜΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΦΡΙΣΜΟΥ

Η βιολογική επεξεργασία των αστικών λυμάτων λαμβάνει χώρα με διάφορες μεθόδους, περισσότερο διαδεδομένη εκ των οποίων είναι το σύστημα της ενεργού ιλύος. Το σύστημα αυτό είναι το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο και το πιο αποτελεσματικό σύστημα βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων. Αναπτύχθηκε από τους Arden και Lockett στο Manchester της Αγγλίας στις αρχές του αιώνα, αλλά η ευρεία εφαρμογή του άρχισε μετά το 1940 (εικόνα 2.1). Από τότε, η συνεχής εξέλιξή του οδήγησε σε αρκετές παραλλαγές του τυπικού συστήματος, που αύξησαν τις δυνατότητες εφαρμογής του.



Εικόνα 2.1: Σύστημα ενεργού ιλύος σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στο Stockport της Αγγλίας στις πρώτες εφαρμογές του κατά τη χρονική περίοδο α) 1924-1927, β) και γ) 1935-1940

Στην απλούστερη μορφή της η διεργασία της ενεργού ιλύος διακρίνεται σε δύο στάδια, αυτό του αερισμού, το οποίο προηγείται από αυτό της καθίζησης. Στο αρχικό στάδιο του αερισμού, τα λύματα εισάγονται σε μια ή περισσότερες δεξαμενές με λειτουργικές συνθήκες ώστε να ενισχύεται η ανάπτυξη ενός πολύπλοκου και ισορροπημένου οικοσυστήματος. Το οικοσύστημα χαρακτηρίζεται υγιές και άρα η απόδοση της διεργασίας είναι υψηλή όταν συμβάλλει στο σχηματισμό βιοκροκίδων με κατάλληλα χαρακτηριστικά καθίζησης ώστε στις ακόλουθες δεξαμενές να λαμβάνει χώρα επιτυχής διαχωρισμός στερεών αφήνοντας καθαρό το υπερκείμενο υγρό και άρα παράγοντας καθαρή εκροή.

Στην Ελλάδα, το σύστημα ενεργού ιλύος, χρησιμοποιείται ευρύτατα ιδιαιτέρως με απομάκρυνση θρεπτικών (αζώτου και φωσφόρου), λόγω των αυστηρών απαιτήσεων επεξεργασίας που καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Οδηγία 91/271. Στα συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών εκτός από την αερόβια προστίθενται

αναερόβιες και ανοξικές δεξαμενές, οι οποίες αυξάνουν την πολυπλοκότητα της διεργασίας και καθιστούν δυσκολότερη τη διατήρηση των λειτουργικών συνθηκών για την ανάπτυξη «υγιούς» οικοσυστήματος.

Το πρόβλημα του νηματοειδούς αφρισμού αντιστοιχεί στο σχηματισμό ενός στρώματος σταθερού αφρού χρώματος καφέ, ο οποίος καλύπτει τις δεξαμενές ενεργού ιλύος καθώς και τις δεξαμενές καθίζησης ενώ μερικές φορές μεταφέρεται και στους αναερόβιους χωνευτές προκαλώντας σοβαρά λειτουργικά προβλήματα. Κατά τη διάρκεια αυτών των επεισοδίων, ο έλεγχος της δευτεροβάθμιας διεργασίας είναι εξαιρετικά δύσκολος εφόσον ένα σημαντικό ποσοστό των στερεών και άρα της βιομάζας μεταφέρεται στο στρώμα του αφρού. Ταυτόχρονα, ο αφρισμός συνεπάγεται προβλήματα στη συντήρηση καθώς και βλάβες του μηχανολογικού εξοπλισμού και των οργάνων μέτρησης ενώ μπορεί να οδηγήσει και σε προβλήματα στην ποιότητα της τελικής εκροής της ΕΕΛ.

Πιο συγκεκριμένα, η υπερχειλίση αφρού από τις δεξαμενές τελικής καθίζησης συνεπάγεται την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων πτητικών αιωρούμενων στερεών στην τελική εκροή και άρα και την αύξηση του οργανικού της φορτίου. Επιπρόσθετα, τα στερεά της εκροής είναι φορείς παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι δεν καταστρέφονται εύκολα στις μονάδες απολύμανσης που ακολουθούν, λόγω της μεγάλης θολότητας του επεξεργασμένου λύματος. Ένα επίσης πολύ συνηθισμένο και σοβαρό έμμεσο αποτέλεσμα της διαφυγής στερεών με την τελική εκροή είναι η αδυναμία διατήρησης επαρκούς βιομάζας στο σύστημα, με συνέπεια τη μείωση των αποδόσεων και κυρίως, λόγω της έκπλυσης των νιτροποιητικών βακτηρίων, την αδυναμία απομάκρυνσης αμμωνίας από το σύστημα.

Σε περιπτώσεις έντονου αφρισμού, ο αφρός αυτός υπερχειλίζει από τις δεξαμενές και καλύπτει τις γύρω περιοχές δημιουργώντας επικίνδυνες εργασιακές συνθήκες. Χαρακτηριστικές είναι οι παρακάτω φωτογραφίες (εικόνα 2.2) από ΕΕΛ στην Ελλάδα που παρουσιάζουν έντονο πρόβλημα νηματοειδούς αφρισμού.



Εικόνα 2.2: Διαφορετικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στην Ελλάδα που παρουσιάζουν έντονο πρόβλημα νηματοειδούς αφρισμού. Στις φωτογραφίες φαίνεται ο αφρός που έχει υπερχειλίσει τις δεξαμενές δευτεροβάθμιας επεξεργασίας δημιουργώντας επικίνδυνες εργασιακές συνθήκες.

Η υπερανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών μπορεί επίσης να προκαλέσει προβλήματα στα χαρακτηριστικά της καθιζησιμότητας της ιλύος προκαλώντας έτσι τη διόγκωσή της. Το φαινόμενο της διόγκωσης της ιλύος έγκειται στο σχηματισμό μη υγιών βιοκροκίδων, οι οποίες δεν καθιζάνουν ικανοποιητικά. Πιο συγκεκριμένα, σε ορισμένες περιπτώσεις τα νηματοειδή βακτήρια αναπτύσσονται υπερβολικά στο εσωτερικό των κροκίδων συντελώντας σε μια διάσπαρτη και ανοιχτή δομή. Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις οι νηματοειδείς προεξέχουν εκτός των βιοκροκίδων με αποτέλεσμα τη γεφύρωσή τους και άρα την προβληματική καθίζηση και συμπίκνωσή τους.

Όσον αφορά στα λειτουργικά προβλήματα που προκαλούνται λόγω της διόγκωσης της ιλύος αυτά μπορεί να περιορίζονται στις χαμηλές συγκεντρώσεις στερεών της επανακυκλοφορίας και της περίσσειας ιλύος. Η χαμηλή συγκέντρωση στερεών στην περίσσεια ιλύος συνεπάγεται προβλήματα στην αφυδάτωση (αυξημένη άντληση, χαμηλή απόδοση, υψηλή κατανάλωση πολυηλεκτρολύτη). Αντίστοιχα, στην επανακυκλοφορία ιλύος το κύριο πρόβλημα είναι η διατήρηση του επιθυμητού χρόνου παραμονής στο σύστημα ενεργού ιλύος και αντίστοιχα η υψηλή άντληση της επανακυκλοφορίας. Στην περίπτωση που τα προβλήματα διόγκωσης είναι έντονα, μπορεί να συμβεί και ανύψωση του στρώματος της ιλύος στις δεξαμενές καθίζησης με αποτέλεσμα την αστοχία της ΕΕΛ όσον αφορά στην ποιότητα της τελικής εκροής και στην τήρηση των περιβαλλοντικών της όρων.

Παράλληλα, το πρόβλημα του αφρισμού δεν περιορίζεται στη δευτεροβάθμια διεργασία αλλά εκκινεί προβλήματα και στους αναερόβιους χωνευτές. Αρχικά, οι

van Niekerk *et al.* (1987) και κατόπιν οι Pitt και Jenkins (1990), κατόπιν έρευνας που διενήργησαν σε αμερικανικές ΕΕΛ με προβλήματα αφρισμού στην αναερόβια χώνευση, κατέληξαν ότι στις περισσότερες περιπτώσεις υπαίτιος ήταν ο μικροοργανισμός *G. amarae*, που τροφοδοτούνταν με την περίσσεια βιολογικής ιλύος στους χωνευτές. Στην ίδια ερευνητική εργασία οι συγγραφείς έδειξαν σε εργαστηριακά πειράματα ότι αναερόβιοι χωνευτές που τροφοδοτούνταν μόνο με πρωτοβάθμια ιλύ δεν παρήγαγαν σταθερό αφρό, ενώ όταν στην τροφοδοσία προσέθεταν και βιολογική ιλύ που περιείχε *G. amarae* τότε ο αφρός που δημιουργούνταν ήταν σταθερός.

Ο αφρισμός στην αναερόβια χώνευση έχει προκαλέσει εμφράξεις στα συστήματα ανάδευσης με βιοαέριο, καθώς και στις αντλίες ανακυκλοφορίας ιλύος οδηγώντας σε αδυναμία θέρμανσης των χωνευτών, αναστροφή του προφίλ στερεών, εμφράξεις στο σύστημα συλλογής του βιοαερίου καθώς και επιδείνωση της ποιότητας του βιοαερίου και άρα προβλήματα και στις μηχανές συμπαραγωγής. Τέλος, στην περίπτωση των χωνευτών με κινούμενα μέρη αποθήκευσης βιοαερίου, ο νηματοειδής αφρισμός έχει οδηγήσει σε αστοχία λόγω της διείσδυσης του αφρού μεταξύ των κινούμενων τμημάτων και των τοιχείων των χωνευτών και της απότομης εκτόνωσης και κατόπιν κατάρρευσης του αφρού, κατά τη διάρκεια ανάδευσης των χωνευτών με βιοαέριο (εικόνα 2.3).

Επίσης, οι Westlund *et al.* (1998) αναφέρουν ότι τρεις μεγάλες μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων στην ευρύτερη περιοχή της Στοκχόλμης παρουσίασαν το φαινόμενο του αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές τους. Μικροσκοπική μελέτη του αφρού αποκάλυψε υπερανάπτυξη του νηματοειδούς βακτηρίου *Microthrix parvicella*.

Μια άλλη περίπτωση αστοχίας αναερόβιων χωνευτών που προκλήθηκε από συσσώρευση του νηματοειδούς μικροοργανισμού *Gordona amarae* αναφέρεται από τους Jones *et al.* (2003). Οι συγγραφείς συσχέτισαν την υπερανάπτυξη του νηματοειδούς μικροοργανισμού στη δευτεροβάθμια επεξεργασία με σημαντικά προβλήματα αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές. Ο αφρός που παρήχθη στους χωνευτές μείωσε τον ενεργό τους όγκο, προκάλεσε μείωση στο βαθμό σταθεροποίησης της ιλύος, οδήγησε στη μείωση της ποσότητας της αφαιρούμενης περίσσειας ιλύος και επομένως κατέστησε ακόμα δυσκολότερο τον έλεγχο των νηματοειδών βακτηρίων. Ο αφρισμός στους χωνευτές οδήγησε και σε ανεξέλεγκτη μεταφορά του περιεχομένου τους στα συστήματα πάχυνσης και αφυδάτωσης προκαλώντας μείωση της απόδοσης των διεργασιών. Επιπλέον, ο αφρισμός

προκάλεσε διακοπή της συλλογής του βιοαερίου και επηρέασε τη διεργασία παραγωγής ενέργειας από το βιοαέριο.



Εικόνα 2.3: Πρόβλημα νηματοειδούς αφρισμού σε αναερόβιο χωνευτή. Στη φωτογραφία φαίνεται αφρός που έχει υπερχειλίσει από το σύστημα συλλογής βιοαερίου του χωνευτή και έχει καλύψει την εξωτερική επιφάνεια της κεφαλής του.

Οι υψηλές συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών προκαλούν προβλήματα αφρισμού στην αναερόβια χώνευση αλλά ταυτόχρονα συντηρούν και επιδεινώνουν τα φαινόμενα αφρισμού στην ανάντη δευτεροβάθμια διεργασία. Η παρουσία των νηματοειδών μικροοργανισμών στο ρεύμα των στραγγιδίων στις κατάντη διεργασίες αφυδάτωσης «εμβολιάζει» συνεχώς το σύστημα ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς συντηρώντας τα φαινόμενα αφρισμού, ακόμα και όταν εφαρμόζονται θεωρητικά αποτελεσματικές τεχνικές αντιμετώπισής τους. Οι Pagilla *et al.* (1998) υπολόγισαν ότι ποσοστό ίσο με 4% των νηματοειδών στο ανάμικτο υγρό οφείλονταν στην ανακυκλοφορία των στραγγιδίων από τη μονάδα DAF σταθεροποιώντας έτσι το πρόβλημα του αφρισμού ΕΕΛ του Sacramento (Καλιφόρνια, ΗΠΑ).

Από τα παραπάνω γίνεται κατανοητό ότι η παρακολούθηση του πληθυσμού και της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών θα μπορούσε να παρέχει τη δυνατότητα καλύτερου ελέγχου των λειτουργικών προβλημάτων που δημιουργούνται από την υπερανάπτυξή τους στο σύστημα της ενεργού ιλύος ή και ακόμα πρόβλεψης και αποφυγής των φαινόμενων αφρισμού. Μέχρι σήμερα η πιο διαδεδομένη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των νηματοειδών μικροοργανισμών που προκαλούν αφρισμό είναι η μέθοδος Pitt και Jenkins της Gram χρώσης και της καταμέτρησης τμήσεων (Pitt και Jenkins, 1990). Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί τόσο στα βακτήρια *G. amarae* όσο και στα

M. parvicella σε δείγματα ενεργού ιλύος εφόσον είναι Gram θετικά με χαρακτηριστική μορφολογία.

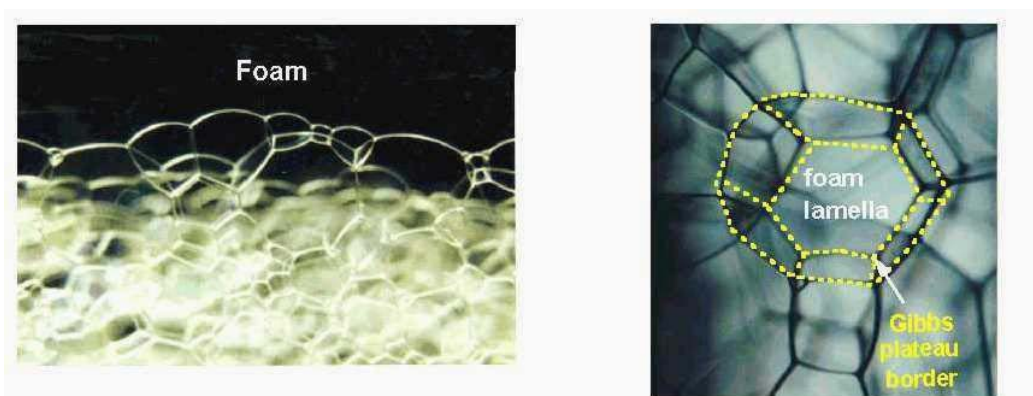
Ωστόσο, παρόλο που η τεχνική αυτή είναι απλή και σχετικώς γρήγορη, υπόκειται σε αρκετούς περιορισμούς, εφόσον δεν παρέχει πληροφορίες ούτε για την ταυτότητα αλλά ούτε για τη βιωσιμότητα των βακτηρίων. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι όταν ο μικροοργανισμός *G. amarae* υπόκειται σε συνθήκες ανταγωνισμού σε αναερόβιους ή ανοξικούς βιοεπιλογείς, διατηρεί ελάχιστα από τα Gram χαρακτηριστικά του. Τα χαρακτηριστικά αυτά χάνονται εντελώς στις αντίξοες συνθήκες της αναερόβιας χώνευσης, που αλλοιώνουν τα χαρακτηριστικά της κυτταρικής του μεμβράνης (Pitt και Jenkins, 1990). Επίσης, όπως αναφέρεται από τους Westlund *et al.* (1998), η μορφολογία του μεγάλου μήκους και λεπτού νήματος του *M. parvicella* επηρεάζεται από τις συνθήκες της αναερόβιας χώνευσης, στην οποία εμφανίζεται ως μικρότερα, μεγαλύτερου πάχους νήματα (Westlund *et al.*, 1998). Κατά συνέπεια, προκειμένου να μελετηθεί ο ρόλος των νηματοειδών βακτηρίων στην αναερόβια χώνευση, χρειάζεται να αναπτυχθούν και να εφαρμοστούν άλλες μοριακές μέθοδοι, όπως η Φθορίζουσα *Επί Τόπου* Υβριδοποίηση (Fluorescent *In Situ* Hybridization - FISH).

2.3. ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΚΑΙ ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΟΥ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΦΡΙΣΜΟΥ

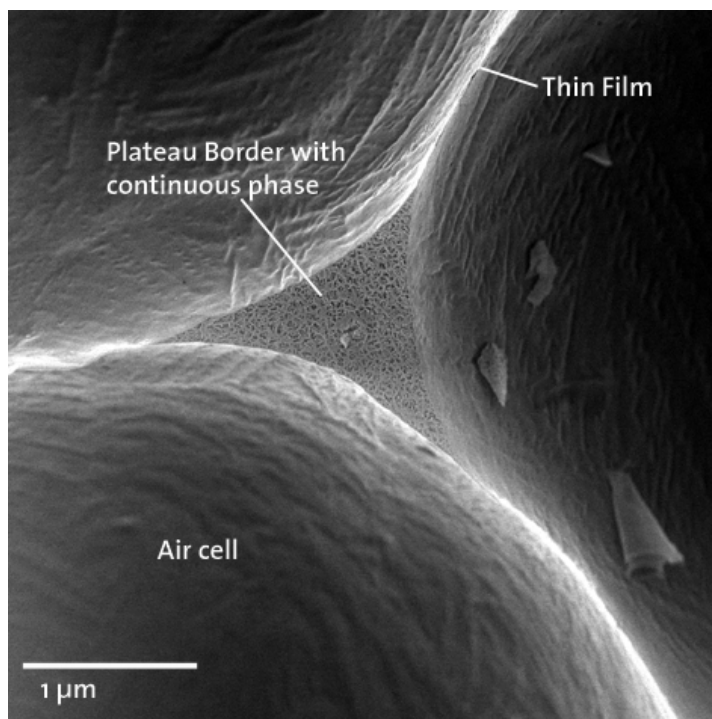
Ο αφρός αποτελεί διασπορά μιας ασυνεχούς φάσης σε μια συνεχή. Πιο συγκεκριμένα, ο αφρός σε ένα υγρό σύστημα εν γένει αποτελείται από μια αέρια φάση (ασυνεχή) διεσπαρμένη σε μια υγρή φάση (συνεχή). Όταν η αέρια φάση εισάγεται κάτω από την επιφάνεια του υγρού, τότε το υγρό εκτείνεται ώστε να περικλείσει το αέριο σε έναν υγρό υμένα, δημιουργώντας έτσι αφρό. Οι αέριες φυσαλίδες παράγονται στο υγρό κυρίως μέσω της έγχυσης αερίου υπό πίεση από ένα διαχυτή ή μια πορώδη μεμβράνη. Στις ΕΕΛ, ο αφρός που δημιουργείται συνηθέστερα οφείλεται στην εισαγωγή και στη διασπορά αέρα ή οξυγόνου στο ανάμικτο υγρό κατά τη διεργασία της ενεργού ιλύος, ενώ αντίστοιχα στην αναερόβια χώνευση συναντάται αφρός, του οποίου η αέρια φάση αποτελείται από διοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο.

Ο αφρός έχει μια περισσότερο ή λιγότερη σταθερή κυψελοειδή δομή αέριων κυψελίδων, που τα τοιχώματά τους αποτελούνται από λεπτούς υγρούς υμένες

(lamellae) με κατά προσέγγιση επίπεδες παράλληλες πλευρές. Όταν τρεις ή περισσότερες αέριες φυσαλίδες συναντώνται τότε αυτές οι διεπιφάνειες καμπυλώνονται σχηματίζοντας το τρίγωνο Gibbs ή το σύνορο Plateau (εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4: α) Κυψελοειδής δομή αέριων φυσαλίδων που τα τοιχώματά τους αποτελούνται από λεπτούς υγρούς υμένες (lamellae). β) Όταν τρεις ή περισσότερες αέριες φυσαλίδες συναντώνται τότε αυτές οι διεπιφάνειες καμπυλώνονται σχηματίζοντας το τρίγωνο Gibbs ή το σύνορο Plateau



Εικόνα 2.5: Το σύνορο Plateau σε μικροσκοπική φωτογραφία σάρκωσης ηλεκτρονίων σε δείγμα επεξεργασμένο με κρυογενετική. Πηγή: www.ilw.agrl.ethz.ch/.../naduerra/inde

Ανάμεσα στους μηχανισμούς που μπορεί να προκαλέσουν την κατάρρευση της δομής του αφρού, σημαντικότερος είναι αυτός της μεταφοράς μάζας του υγρού και του αερίου κατά μήκος της διεπιφάνειας τους. Η απορροή του υγρού γίνεται α) εξαιτίας του βάρους του και β) εξαιτίας της κλίσης πίεσης που δημιουργείται καθώς

η πίεση του υγρού μέσα στο τρίγωνο Gibbs είναι μικρότερη από ότι στις γειτονικές ευθύγραμμες περιοχές. Κατά συνέπεια το υγρό ρέει από τις δύο παράλληλες επιφάνειες των διεπιφανειών προς το τρίγωνο Gibbs προκαλώντας έτσι την προοδευτική μείωση του πάχους τους. Όταν ο υμένας φτάσει σ' ένα κρίσιμο πάχος 5-10nm, προκαλείται διάρρηξη των φυσαλίδων (Rosen, 1978). Επίσης, η υψηλότερη τριχοειδής πίεση που υφίστανται οι μικρές φυσαλίδες της αέριας φάσης οδηγεί σε διάχυση του αερίου από τις μικρότερες προς τις γειτονικές μεγαλύτερες δια μέσου και πάλι της διεπιφάνειάς τους. Με τον τρόπο αυτό συρρικνώνονται οι μικρές φυσαλίδες και εκτείνονται οι γειτονικές τους μεγαλύτερες, οδηγώντας και πάλι σε συρρίκνωση του υγρού υμένα τους και τελικώς στη διάρρηξη των φυσαλίδων.

Από μια θερμοδυναμική θεώρηση του αφρού, εξάγεται το συμπέρασμα ότι πρόκειται για ασταθές σύστημα, το οποίο τελικώς θα καταρρεύσει στις συστατικές του φάσεις και ότι προκειμένου να σταθεροποιηθεί χρειάζεται κάποιος μηχανισμός που θα καθυστερήσει την απορροή του υγρού ώστε να μην καταρρεύσει η δομή των αέριων κυψελίδων. Ένας τέτοιος μηχανισμός δημιουργείται με την εισαγωγή στο σύστημα μιας ακόμα φάσης τασιενεργών ενώσεων ή/και υδροφοβικών στερεών. Ο ρόλος των τασιενεργών ενώσεων είναι να επιβραδύνουν σημαντικά την απορροή του υγρού και τη συνένωση των αέριων κυψελίδων, σταθεροποιώντας με τον τρόπο αυτό τον αφρό. Οι επιφανειακά ενεργές ενώσεις προσροφούνται σε κάθε πλευρά της υγρής/αέριας διεπιφάνειας δημιουργώντας έτσι μονομοριακούς υμένες των τασιενεργών μορίων. Κατά συνέπεια, παρεμποδίζεται η εκτεταμένη απορροή του υγρού από τη διεπιφάνεια και άρα η μείωση του πάχους της. Ακόμα και στην περίπτωση που όλο το υγρό απομακρυνθεί ή εξατμιστεί, παραμένει ένα διπλό φύλλο της τασιενεργής ένωσης ή του υδροφοβικού στερεού.

Ο Leja (1982) έδειξε ότι τα υδροφοβικά σωματίδια επιλεκτικά προσκολλώνται στις αέριες φυσαλίδες. Επίσης, η έρευνα του έδειξε ότι η υδροφοβικότητα των στερεών σωματιδίων σε ένα υγρό έχει σημαντική επίδραση στη σταθερότητα του αφρού. Τα υδροφοβικά σωματίδια προσκολλώνται στη διεπιφάνεια του υγρού/αερίου σε πολύ μικρές αποστάσεις, ώστε η απορροή του υγρού να παρεμποδίζεται και ο αφρός να σταθεροποιείται. Επίσης, η παρουσία υδροφοβικών στερεών στη διεπιφάνεια υγρού - αερίου δημιουργεί γεφυρώσεις παρεμποδίζοντας την απορροή του υγρού κα άρα σταθεροποιώντας τον αφρό. Επιπροσθέτως, στο εσωτερικό των φυσαλίδων στη διεπιφάνεια μπορεί να σχηματιστούν πυκνά στρώματα κροκκιδωμένων σωματιδίων, δημιουργώντας συστήματα αφρού που πολύ δύσκολα καταρρέουν.

Από θερμοδυναμικής απόψεως, ένα τριφασικό σύστημα αφρού μπορεί να διατηρήσει τη δομή του μόνο όταν η ενέργεια του συστήματος είναι μικρότερη από τις αντίστοιχες των συστατικών του. Η ενέργεια του αφρού συμπεριλαμβάνει την ενέργεια του αερίου των φυσαλίδων, τη χημική ενέργεια των τασιενεργών ενώσεων στη διεπιφάνεια των υγρών υμένων και την ενέργεια των επιφανειών των υμένων των φυσαλίδων. Οι διαφορετικές αυτές μορφές ενέργειας μετρούνται με διάφορες παραμέτρους, όπως εσωτερική πίεση, επιφανειακή τάση, ελαστικότητα υμένα και ιξώδες.

Παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητα του αφρού είναι η επιφάνεια των φυσαλίδων, η θερμοκρασία, το pH και η συγκέντρωση των τασιενεργών ενώσεων (McGee, 1989). Όταν οι άλλοι παράγοντες είναι ίσοι, ένα σύστημα αφρού με μεγαλύτερη επιφάνεια φυσαλίδων είναι πιο σταθερό από ένα με μικρότερη. Οι αφροί με μικρότερες φυσαλίδες έχουν μεγαλύτερη επιφάνεια ανά μονάδα όγκου από ότι οι αφροί με μεγαλύτερες και άρα είναι πιο σταθεροί. Η θερμοκρασία, το pH και η συγκέντρωση τασιενεργών ή υδροφοβικών ενώσεων επηρεάζουν τον τρόπο που τα επιφανειοδραστικά μόρια τοποθετούνται στις διεπιφάνειες υγρού - αερίου στις φυσαλίδες. Οι τασιενεργές ενώσεις ρέουν προς περιοχές χαμηλότερης σταθερότητας των υμένων, λόγω των κλίσεων που δημιουργούνται στην επιφανειακή τάση και συγκέντρωση, ώστε να σταθεροποιήσουν τον αφρό. Τα υδροφοβικά στερεά συσσωρεύονται στη διεπιφάνεια και μπορούν να παρεμποδίζουν την απορροή του υγρού ουσιαστικά φράσσοντάς τη.

Η σταθερότητα του αφρού επηρεάζει σημαντικά τις ρεολογικές του ιδιότητες. Επιπροσθέτως, οι ρεολογικές ιδιότητες του αφρού επηρεάζουν τη ροή της ενεργού υλούς στις διεργασίες επεξεργασίας της. Η ροή του αφρού διαφέρει από τα συμβατικά υγρά, καθώς περιέχει ένα σημαντικό ποσοστό μιας ασυνεχούς αέριας φάσης, η οποία είναι διεσπαρμένη σε μη σφαιρικές κυψελίδες ανίκανη για οποιαδήποτε ανεξάρτητη κίνηση (Heller and Kuntamukula, 1987). Οι βασικές παράμετροι που επηρεάζουν τη ροή του αφρού είναι το μέσο μέγεθος των φυσαλίδων και η κατανομή μεγέθους, τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της ροής, οι ιδιότητες της αέριας και της υγρής φάσης, το ποσοστό του όγκου της αέριας φάσης και η πίεσή της (παράμετροι που προκύπτουν από τη συμπιεστότητα των δύο φάσεων), οι φυσικοχημικές ιδιότητες και η συγκέντρωση των τασιενεργών ενώσεων ή/ και των υδροφοβικών στερεών.

Επομένως, σύμφωνα με την παραπάνω θεώρηση προκειμένου να σχηματιστεί σταθερός αφρός σε ένα υγρό μέσο απαιτούνται τρία συστατικά: α) αέριες

φυσαλίδες, β) τασιενεργές ενώσεις και γ) υδροφοβικά σωματίδια. (Jenkins *et al.*, 2004).

Σε μια ΕΕΛ οι *αέριες φυσαλίδες* στο σύστημα ενεργού ιλύος είναι φυσαλίδες οξυγόνου ή αέρα στη δεξαμενή αερισμού, αζώτου στην απονιτροποίηση και βιοαέριο (μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα) στην αναερόβια χώνευση.

Οι *τασιενεργές* ενώσεις είναι είτε συστατικά των εισερχομένων λυμάτων (π.χ. απορρυπαντικά) είτε παράγονται από ορισμένα βακτήρια (Desai and Banat, 1997; Lemmer *et al.*, 2000; Pagilla *et al.*, 2002). Οι Hug (2006) αναφέρουν ότι η έναρξη του αφρισμού μπορεί να οφείλεται στην είσοδο υψηλών φορτίων τασιενεργών ουσιών στα λύματα και στη συνέχεια σταθεροποιείται από τα βακτήρια που περιέχουν μυκολικό οξύ.

Όσον αφορά στα *υδροφοβικά σωματίδια*, έχει αποδειχτεί ότι ορισμένοι νηματοειδείς μικροοργανισμοί, όπως οι *G. amarae* και *M. parvicella*, βρίσκονται σε ιδιαίτερες υψηλές συγκεντρώσεις στο στρώμα του αφρού λόγω της υδροφοβικής κυτταρικής τους επιφάνειας. Επομένως, όταν εξέχουν από τις βιοκροκίδες τις καθιστούν περισσότερο υδροφοβικές, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό την ικανότητά τους να επιπλέουν. Αλλά και ελεύθερα υδροφοβικά νηματοειδή μπορούν πολύ αποτελεσματικά να παράγουν αφρό (Jenkins *et al.*, 2004). Η ικανότητα παραγωγής τασιενεργών ενώσεων προκειμένου να αυξήσουν την υδροφοβικότητα του κυτταρικού τους τοιχώματος δίνει τη δυνατότητα στα βακτήρια να έχουν πρόσβαση σε υδροφοβικά υποστρώματα και να προσκολλώνται στη διεπιφάνεια αέρα - υγρού όπου η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι σημαντικά υψηλότερη (Blanchard and Parker, 1977; Dahlbäck *et al.*, 1981; Kjelleberg and Hermansson, 1984). Ο ρόλος των εξωκυτταρικών πολυμερών (EPS) και άλλων μεγαλομοριακών οργανικών ενώσεων που προέρχονται από τη βακτηριακή δραστηριότητα και φθορά δεν είναι αποσαφηνισμένος. Αυτά τα πολυμερή καλύπτουν τα βακτήρια στις κροκίδες και άρα ενδεχομένως καθορίζουν τις επιφανειακές ιδιότητές τους που είναι κρίσιμοι παράγοντες για την ενίσχυση του αφρισμού.

Έρευνα των Heard *et al.* (2008) εξέτασε την επίδραση τριών στελεχών του νηματοειδούς βακτηρίου *G. amarae* όσον αφορά στην έναρξη και σταθεροποίηση του αφρισμού. Καθαρές καλλιέργειες των τριών στελεχών κατόπιν της απομόνωσής τους από δείγματα αφρού ή ανάμικτου υγρού από ΕΕΛ με προβλήματα αφρισμού έδειξαν ότι η υπεύθυνη ουσία για την έναρξη του αφρισμού ήταν μια τασιενεργός ένωση που παράγονταν κατά την εκθετική φάση ανάπτυξης των βακτηρίων *G.*

amarae (η ουσία αυτή δεν παράγονταν κατά την ανάπτυξη των υπόλοιπων βακτηρίων). Βρέθηκε επίσης ότι κάθε στέλεχος *G. amarae* παρήγαγε διαφορετική τασιενεργό ένωση ή σε διαφορετική ποσότητα. Η σταθεροποίηση του αφρισμού αποδόθηκε στην παρουσία των *G. amarae* σε ποσοστό 55% των στελεχών στον αφρό. Το ποσοστό αυτό δε μεταβλήθηκε λόγω της προέλευσης των στελεχών και δε μεταβλήθηκε σημαντικά με το χρόνο (Heard et al., 2008).

Επομένως, τα νηματοειδή βακτήρια λόγω της παρουσίας λιπαρών οξέων στο κυτταρικό τους τοίχωμα όταν αναπτυχθούν σε υψηλά επίπεδα καθιστούν τις βιοκροκίδες υδροφοβικές, οι οποίες στη συνέχεια προσκολλώνται στη διεπιφάνεια αερίων-υγρών (π.χ. φυσαλίδες στη δεξαμενή αερισμού) και μεταφέρονται έτσι στην επιφάνεια της δεξαμενής. Στην επιφάνεια «στραγγίζουν» και έτσι αυξάνεται η συγκέντρωση των νηματοειδών στον αφρό. Έτσι σχηματίζεται πυκνός, καφέ αφρός στην επιφάνεια των δεξαμενών αερισμού, στα κανάλια μεταφοράς του ανάμικτου υγρού καθώς και στις δεξαμενές τελικής καθίζησης. Ο αφρός λόγω των πολύ βραδένων ρεολογικών του ιδιοτήτων, συσσωρεύεται στην επιφάνεια, έχει πολύ μεγάλο χρόνο παραμονής και «στραγγίζει» με την πάροδο του χρόνου, οπότε και φτάνει σε συγκεντρώσεις στερεών 2 - 4%.

Η εμφάνιση του νηματοειδούς αφρού μπορεί να διαφοροποιείται στα επιμέρους στάδια της ΕΕΛ. Έτσι όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα 2.6, στη δεξαμενή αερισμού, ο αφρός συνήθως αποτελείται από σχετικά μεγάλες φυσαλίδες καλυμμένες από ενεργό ιλύ, ενώ στα ανοξικά ή αναερόβια διαμερίσματα ή και στις δεξαμενές δευτεροβάθμιας καθίζησης σχηματίζονται σταθερά στρώματα αφρού με μικρές φυσαλίδες και υψηλή συγκέντρωση στερεών.



Εικόνα 2.6: Νηματοειδής αφρισμός με διαφορετικά χαρακτηριστικά σε επιμέρους στάδια της επεξεργασίας ενεργού ιλύος. Οι εικόνες α, β είναι από τις δεξαμενές βιολογικής επεξεργασίας, η α από το ανοξικό διαμέρισμα και η β από το διαμέρισμα αερισμού.



Εικόνα 2.6: Νηματοειδής αφρισμός με διαφορετικά χαρακτηριστικά σε επιμέρους στάδια της επεξεργασίας ενεργού ιλύος. Οι εικόνες α, β είναι από τις δεξαμενές βιολογικής επεξεργασίας, η α από το ανοξικό διαμέρισμα και η β από το διαμέρισμα αερισμού. Η εικόνα γ είναι από τη δεξαμενή καθίζησης και δείχνει το σύστημα συλλογής επιπλεόντων ενώ η εικόνα δ απεικονίζει το φρεάτιο συλλογής τους.

Άλλοι τύποι βιολογικού αφρισμού, οφείλονται κυρίως σε Gram-αρνητικά νηματοειδή βακτήρια, όπως ο type 1863 (Eikelboom and van Buijsen, 1981; Seviour *et al.*, 1997) και συμβαίνουν σε ΕΕΛ με υψηλή οργανική φόρτιση. Παρόμοιος στην εμφάνιση αφρός παρουσιάζεται και κατά τη θέση σε λειτουργία μιας εγκατάστασης καθώς και στην περίπτωση εισόδου υψηλών φορτίων τασιενεργών ουσιών στην ΕΕΛ.

Όπως προαναφέρθηκε τα φαινόμενα αφρισμού έχουν συσχετιστεί με την παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων νηματοειδών μικροοργανισμών. Μερικές φορές σχηματίζεται ένα πλέγμα των νηματοειδών γύρω από τις φυσαλίδες, αλλά δεν έχει αποδειχτεί αν οι εν λόγω νηματοειδείς προκαλούν ή απλώς σταθεροποιούν το φαινόμενο. Η θεωρία της επιλεκτικής επίπλευσης διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών έχει προταθεί από διάφορους ερευνητές ως ο κυρίαρχος μηχανισμός για την έναρξη του φαινομένου του αφρισμού.

Οι Wheeler και Rule (1980) ανέφεραν ότι ένα δείγμα ανάμικτου υγρού περιείχε νηματοειδείς μικροοργανισμούς σε συγκεντρώσεις 10^6 μικρο- αποικίες/mL ενώ ο αφρός που παρήγαγαν περιείχε 10^{12} μικρο- αποικίες/mL. Επίσης, ο Vera-Rodriguez (1983) παρατήρησε στο εργαστήριο ότι ο αερισμός δείγματος ενεργού ιλύος προκαλούσε μεταφορά των νηματοειδών *G. amarae* σε ποσοστό 75-90% στον αφρό. Στη συνέχεια, οι Blackall (1987) έδειξαν ότι καθαρές καλλιέργειες των νηματοειδών *G. amarae* είναι υδροφοβικές και ότι ήταν απαραίτητη τόσο η παρουσία των *G. amarae* όσο και των τασιενεργών ενώσεων για το σχηματισμό του αφρού.

Επίσης, οι Ho και Jenkins (1991) έδειξαν ότι οι τασιενεργές ενώσεις βελτιώνουν σημαντικά την παραγωγή και σταθερότητα του αφρού στην ενεργό ιλύ. Ο αφρός που παράγονταν από τασιενεργές ενώσεις σε συστήματα ενεργού ιλύος με μηδενικές συγκεντρώσεις του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* παρουσίαζε μικρότερη σταθερότητα και χαμηλότερες συγκεντρώσεις στερεών συγκρινόμενος με αφρό που παράγονταν από ενεργό ιλύ με υψηλότερες συγκεντρώσεις *G. amarae*. Επίσης, στην ίδια ερευνητική εργασία οι συγγραφείς έδειξαν ότι η συγκέντρωση των στερεών στο στρώμα του αφρού ήταν μεγαλύτερη από ότι στο ανάμικτο υγρό και η παρουσία των νηματοειδών και των τασιενεργών ενώσεων ενίσχυε αυτό το φαινόμενο. Οι Khan *et al.* (1991) απέδειξαν ότι υπάρχει μια σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην υδροφοβικότητα των στερεών της ιλύος και στην τάση της αλλά και στη σταθερότητα του αφρισμού. Επίσης, απέδειξαν ότι υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των *Gordona* και της υδροφοβικότητας της ενεργού ιλύος.

Οι Hiraoka και Tsumura (1984) έδειξαν ότι η παρουσία των *Gordona* στην ενεργό ιλύ σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από μια τιμή «κατώφλι» είναι απαραίτητη για την έναρξη του αφρισμού. Επίσης έδειξαν ότι οι υδροφοβικοί μικροοργανισμοί *Gordona* συγκεντρώνονται στη διεπιφάνεια υγρού/αερίου των φυσαλίδων και επομένως υπέθεσαν ότι οι εν λόγω μικροοργανισμοί προσροφούνται ή προσκολλώνται επιλεκτικά στις φυσαλίδες, οι οποίες ανέρχονται στην επιφάνεια της δεξαμενής αερισμού δημιουργώντας στρώμα αφρού. Οι Hao *et al.* (1988) πρόσθεσαν στην παραπάνω υπόθεση ότι σημαντικό ρόλο ενδέχεται να παίζει και ο μεγάλος λόγος επιφάνειας προς όγκο των νηματοειδών εφόσον αυξάνει τις πιθανότητες επαφής μεταξύ των κυττάρων και των φυσαλίδων.

Οι De los Reyes and Raskin (2002) πραγματοποίησαν πειράματα διαλείποντος έργου, κατά τα οποία προσέθεσαν *G. amarae* σε ενεργό ιλύ προκειμένου να προσδιορίσουν το κατώφλι της συγκέντρωσης που απαιτείται για την έναρξη και σταθεροποίηση του αφρισμού. Οι τιμές που υπολογίστηκαν ήταν αντίστοιχα 2×10^8 $\mu\text{m}/\text{ml}$ and 1×10^9 $\mu\text{m}/\text{ml}$ (στη συγκεκριμένη εργασία μετρούνταν το μήκος νημάτιου). Οι Davenport and Curtis (2002) βρήκαν ότι μη νηματοειδή βακτήρια που περιείχαν μυκολικό οξύ και αποτελούσαν το 79% του συνόλου των βακτηρίων που περιείχαν μυκολικό οξύ συσχετιζονταν με φαινόμενα αφρισμού σε 3 ΕΕΛ με φαινόμενα αφρισμού. Οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί αποτελούσαν μικρότερο ποσοστό από 21% του συνόλου των μυκολικών βακτηρίων σε περιόδους έντονου αφρισμού και οι συγκεντρώσεις τους δε μεταβάλλονταν σημαντικά σε περιόδους με έντονο αφρισμό.

Στη συνέχεια, οι De los Reyes *et al.* (2002) ανέφεραν ότι μεγάλοι αριθμοί του νηματοειδούς *M. parvicella*, ενεργοί και μη, συνδέονταν με φαινόμενα αφρισμού σε συστήματα ενεργού ιλύος. Το μήκος των νηματίων στα δείγματα ανάμικτου υγρού με προβλήματα αφρισμού ήταν $2,6 \times 10^9$ $\mu\text{m}/\text{ml}$. Οι Hwang και Tanaka (1998) επίσης αναφέρουν ότι εποχιακά προβλήματα αφρισμού σε εγκατάσταση ενεργού ιλύος οφείλονταν σε αυξημένες συγκεντρώσεις *M. parvicella* και υπολόγισαν τα μήκη νηματίων μεταξύ 200 - 500 μm .

Συμπερασματικά, ο νηματοειδής αφρισμός είναι ένα λειτουργικό πρόβλημα στις ΕΕΛ που επηρεάζει αρνητικά την απόδοση της επεξεργασίας των λυμάτων και ως εκ τούτου έχει εξεταστεί ευρέως από πολλούς ερευνητές. Έτσι, σε αρκετές εργασίες έχει συνδεθεί το φαινόμενο του αφρισμού με την παρουσία τασιενεργών ενώσεων, βιολογικής και μη προέλευσης καθώς και με την παρουσία μικροοργανισμών που περιέχουν μυκολικό οξύ. Πρόσφατες εργασίες (Hug, 2006; Heard *et al.*, 2008) έχουν δείξει ότι η έναρξη του αφρισμού οφείλεται στις τασιενεργές ενώσεις που υπάρχουν στα λύματα ή/και που παράγονται από τους μικροοργανισμούς κατά τη βιολογική επεξεργασία. Ωστόσο το κατώφλι των συγκεντρώσεων των ενώσεων αυτών δεν έχει ποσοτικοποιηθεί εξαιτίας των πολυάριθμων ενώσεων που εμπλέκονται στο φαινόμενο και τη μεταβολή τους μεταξύ των διαφορετικών ιλύων. Η σταθεροποίηση του αφρισμού οφείλεται κυρίως στους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και *M. Parvicella*, ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι και μη - νηματοειδείς μικροοργανισμοί που περιέχουν μυκολικό οξύ, εκ των οποίων συγκεκριμένα είδη δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί, δρουν επίσης ως σταθεροποιητικοί παράγοντες του αφρού. Σε κάθε περίπτωση οι ακριβείς μηχανισμοί της δημιουργίας του αφρισμού και της σταθεροποίησής του δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί, πιθανότατα εξαιτίας της πολυπλοκότητας της διεργασίας (μηχανισμοί αποδόμησης και πολυάριθμες επιφανειακά ενεργές ενώσεις στα λύματα).

2.4. ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΕΙΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΑΦΡΙΣΜΟ

Όπως προαναφέρθηκε, τα φαινόμενα αφρισμού έχουν συσχετιστεί με την παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων νηματοειδών μικροοργανισμών. Μερικές φορές σχηματίζεται ένα πλέγμα των νηματοειδών γύρω από τις φυσαλίδες αλλά δεν έχει αποδειχτεί αν οι εν λόγω νηματοειδείς προκαλούν ή απλώς σταθεροποιούν το φαινόμενο.

Μια από τις πρώτες προσεγγίσεις σε αυτό το θέμα, αποτέλεσε η πρωτοποριακή εργασία των Eikelboom (1975) και Eikelboom and van Buijsen (1981). Σύμφωνα με αυτές τις εργασίες, οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την δημιουργία του φαινομένου της διογκωμένης ιλύος και του αφρισμού μπορούν να αναγνωριστούν μικροσκοπικά και να διακριθούν με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά. Έτσι έως σήμερα έχουν αναγνωρισθεί περίπου τριάντα νηματοειδείς μικροοργανισμοί από τους οποίους αυτοί που συνήθως παρουσιάζονται και δημιουργούν προβλήματα στις ΕΕΛ δεν είναι παραπάνω από δέκα. Από αυτούς οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που προκαλούν προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού είναι ο *M. Parvicella* και ο *G. amarae* (Jenkins *et al.*, 1993).

Στο σημείο αυτό κρίνεται σκόπιμη η ανασκόπηση των σημαντικότερων χαρακτηριστικών της μικροβιολογίας καθώς και της φυσιολογίας των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και ο *G. amarae* ώστε να διερευνηθεί ο τρόπος που εμπλέκονται στο φαινόμενο του αφρισμού. Επίσης, θα γίνει μια ανασκόπηση των ιδιαίτερων μορφολογικών και λοιπών μικροβιολογικών χαρακτηριστικών τους ώστε στη συνέχεια να είναι ευκολότερα κατανοητές οι τεχνικές ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης τους.

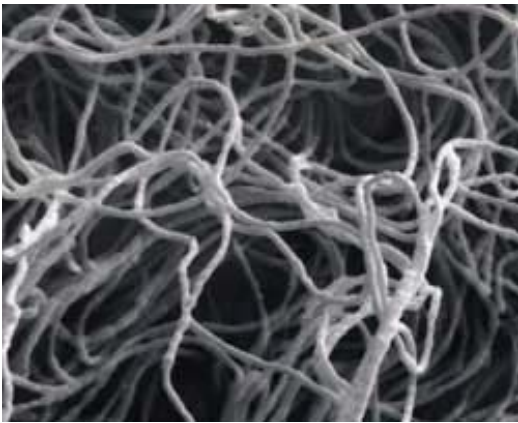
2.4.1. *Microthrix parvicella*

2.4.1.1. Μικροβιολογία

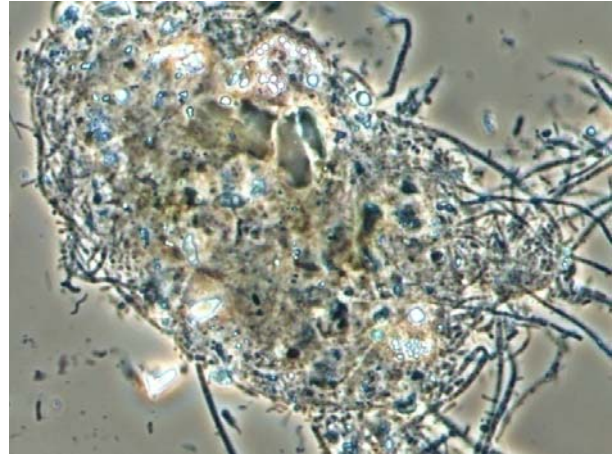
Πρώτος ο Pasveer περιέγραψε το βακτήριο το 1969 σε ιλύ από μια Ολλανδική ΕΕΛ με προβλήματα καθιζησιμότητας και στη συνέχεια ακολούθησαν και άλλοι που ανέφεραν την παρουσία αυτού του χαρακτηριστικού νηματοειδούς βακτηρίου. Το όνομα *Microthrix parvicella* δόθηκε στον μικροοργανισμό από τον Van Veen το 1973, ο οποίος και περιέγραψε τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά του, συμπεριλαμβανομένων της μορφολογίας, των διαστάσεων, των τύπων χρώσεων και της παρουσίας ενδοκυτταρικών εγκλήσεων.

Ο μικροοργανισμός αυτός μπορεί να περιγραφεί ως νημάτια που σχηματίζουν ακανόνιστες σπείρες διαμέτρου 0,6-0,8μm και μήκους 50-200μm και βρίσκονται είτε μπλεγμένα στις βιοκροκίδες είτε ελεύθερα στο υγρό. Δεν παρουσιάζουν περίβλημα,

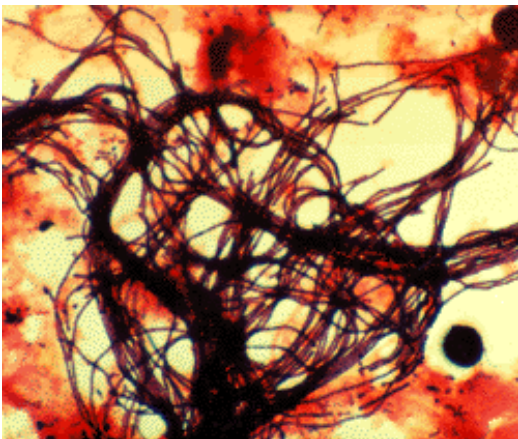
προσαρτημένη ανάπτυξη ή διακλαδώσεις. Κυτταρική μεμβράνη δεν παρατηρείται, ωστόσο αρκετές φορές απαντώνται μικρά ενδοκυτταρικά τεμάχια. Το νηματοειδές αυτό βακτήριο δίνει ισχυρή Gram θετική χρώση αν και άδεια κύτταρα που έχουν αυτολυθεί δίνουν Gram αρνητική χρώση (Blackall *et al*, 1994). Ο *M. parvicella* δίνει Neisser αρνητική χρώση συχνά με Neisser θετικούς κόκκους. Στις παρακάτω εικόνες (2.7-2.10) παρουσιάζονται διάφορες μικροσκοπικές φωτογραφίες του νηματοειδούς *M. parvicella*.



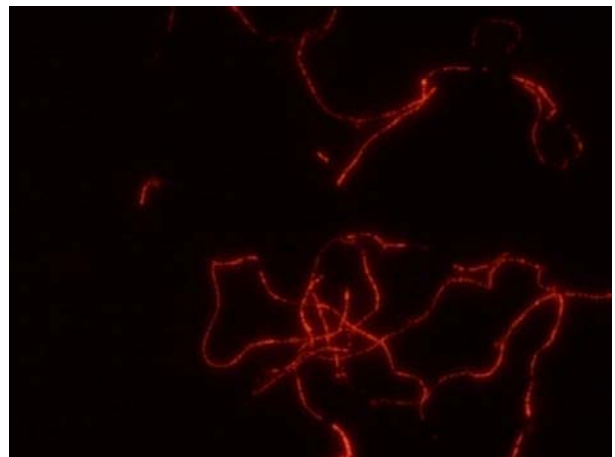
Εικόνα 2.7: Καθαρή καλλιέργεια *M. parvicella* σε μικρογραφία ηλεκτρονικής σάρωσης. Πηγή: Blackall *et al.*, 1994)



Εικόνα 2.8: Δείγμα ανάμικτου υγρού υπό μεγέθυνση 1000. Στην εικόνα φαίνεται βιοκροκίδα από την οποία προεξέχουν οι νηματοειδείς. Πηγή: Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας



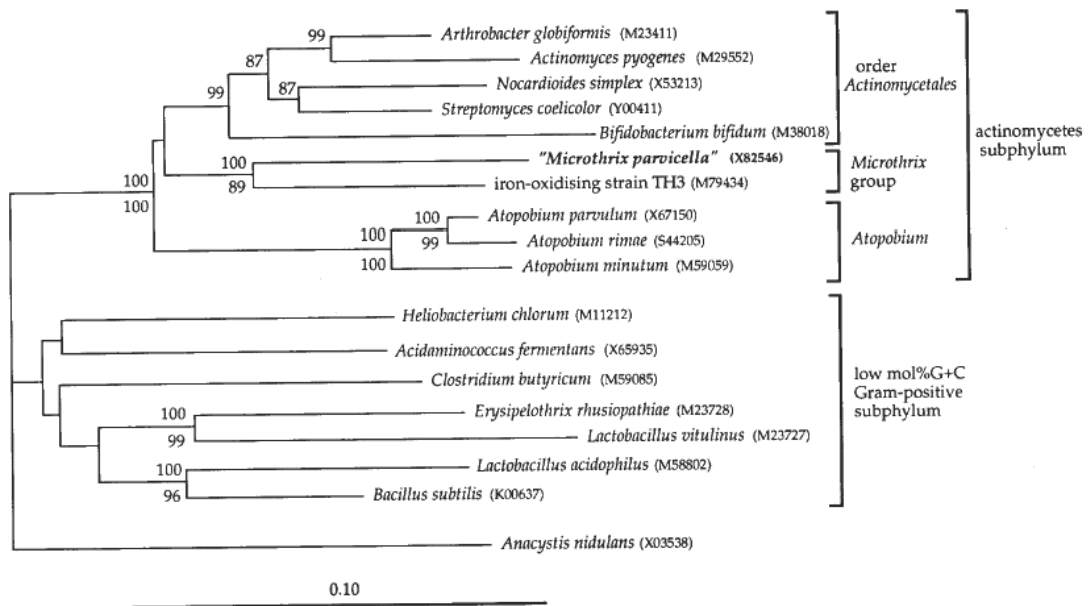
Εικόνα 2.9: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φωτεινό πεδίο) κατά Gram. Διακρίνονται μικροοργανισμοί με τη χαρακτηριστική μορφολογία του *M. parvicella*. Πηγή: Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας



Εικόνα 2.10: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φθορισμός, φίλτρο Cy3) που έχει επεξεργαστεί με τη μοριακή μέθοδο FISH. Διακρίνονται οι υβριδοποιημένοι μικροοργανισμοί *M. parvicella*. Πηγή: Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας

Το 1994 οι Blackall *et al.* απομόνωσαν για πρώτη φορά στελέχη του είδους *M. parvicella* (DAN1-3) από μια ΕΕΛ στην Αυστραλία με τεχνικές μικροανατομής. Στη συνέχεια ενίσχυσαν το 16S rDNA από την καλλιεργημένη βιομάζα με την τεχνική PCR (Polymerase Chain Reaction- Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης) και καταγράφηκε η ακολουθία βάσεων του μορίου. Βάσει αυτών των στοιχείων το βακτήριο τοποθετήθηκε στο φυλογενετικό δέντρο ως ένα βαθιά διακλαδισμένο μέλος του υπο-φύλου των ακτινομυκήτων (aktinomycetes), που ανήκει στο φύλο των Gram θετικών του βασιλείου των βακτηρίων (Blackall *et al.*, 1994).

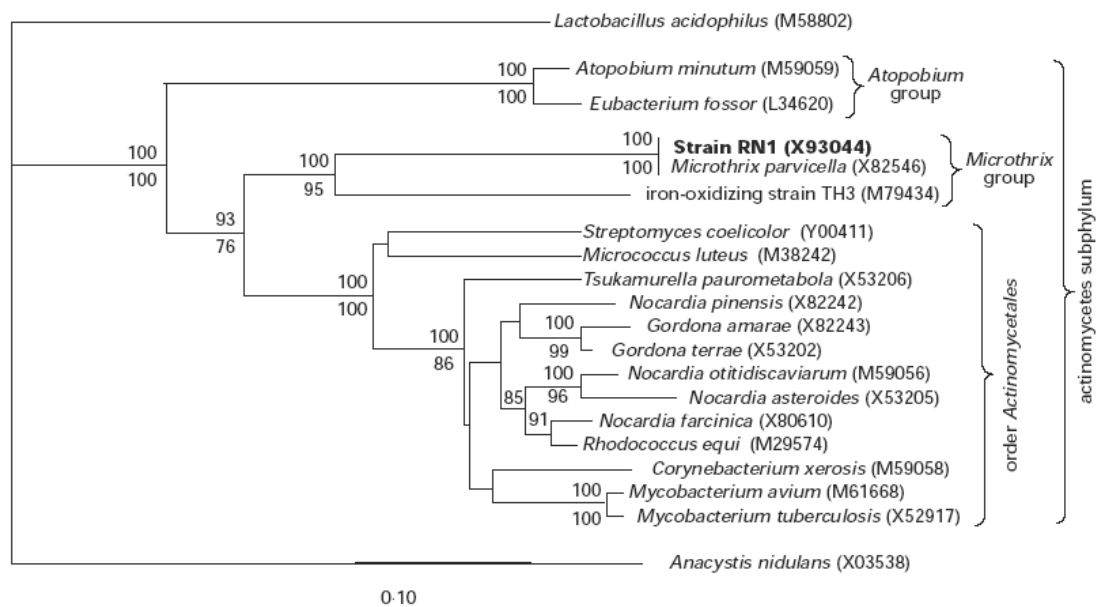
Το 1996 οι Blackall *et al.* απομόνωσαν και άλλο στέλεχος του είδους *M. parvicella* (BEN43) από ΕΕΛ στην Αυστραλία και δημιούργησαν βιβλιοθήκη κλώνων από ενεργό ιλύ από διαφορετική ΕΕΛ της Αυστραλίας. Στη βιβλιοθήκη αυτή βρέθηκαν δύο κλώνοι με γονιδίωμα πανομοιότυπο των DAN1-3 και BEN43 (βλ. σχήμα 2.1). Επίσης οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η ονομασία *M. parvicella* δεν είναι σωστή από ταξινομική άποψη και πρότειναν να μεταβληθεί η κατάσταση του μικροοργανισμού σε *Candidatus* (υποψήφιος) αλλά να διατηρηθεί το ανεπίσημο όνομά του με το οποίο είναι γνωστός *M. parvicella*. Έτσι το όνομα του μικροοργανισμού μεταβλήθηκε σε *Candidatus Microthrix parvicella* (Blackall *et al.*, 1996).



Σχήμα 2.1: Φυλογενετικό δέντρο του *M. parvicella* και των πιο συγγενών φυλογενετικά ειδών βασισμένο σε συγκριτική ανάλυση 1110 θέσεων του ολιγονουκλεοτιδίου 16S rDNA (Blackall *et al.*, 1996).

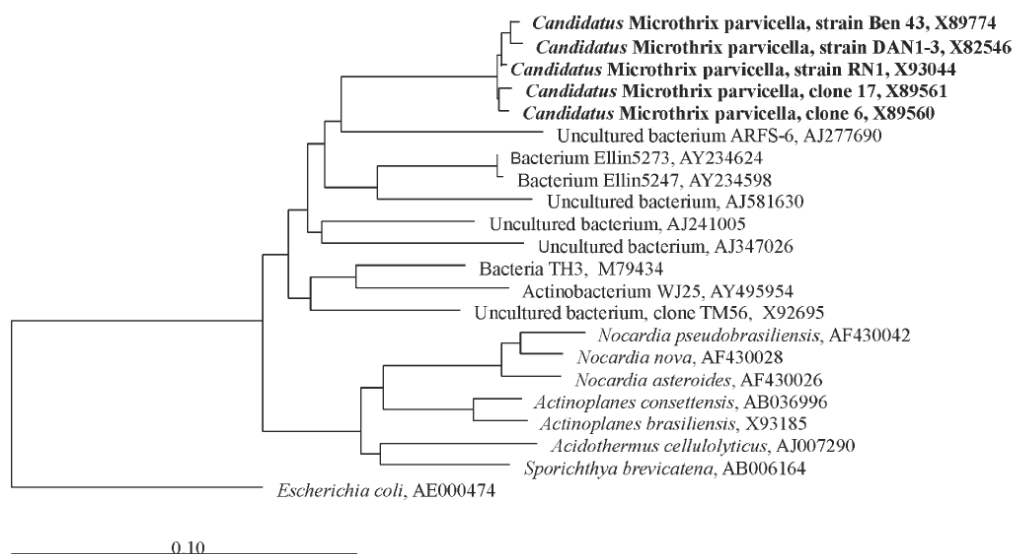
Ακολούθησε η απομόνωση ενός ιταλικού στελέχους του είδους *M. parvicella* από τους Rossetti *et al.* (RN1) που απέδειξε ότι δύο ανεξαρτήτως απομονωμένα στελέχη σε δύο μακρινά κράτη έχουν πανομοιότυπες ακολουθίες 16S rDNA και ενίσχυσε την υπόθεση ότι πρόκειται για βαθιά διακλαδισμένο μέλος του υπο-φύλου των ακτινομυκήτων. Το στέλεχος προστέθηκε στο φυλογενετικό δέντρο όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα 2.2 (Rossetti *et al.*, 1997):

Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική ανασκόπηση



Σχήμα 2.2: Φυλογενετικό δέντρο όπου φαίνεται και το καινούργιο στέλεχος *M. parvicella* RN1 (Rossetti *et al*, 1997).

Το 2005 οι Rossetti *et al.* δημοσίευσαν επιστημονική εργασία συνοψίζοντας τις γνώσεις του επιστημονικού χώρου πάνω στον μικροοργανισμό *M. parvicella*. Στο παρακάτω φυλογενετικό δέντρο (σχήμα 2.3) από την εν λόγω εργασία παρουσιάζονται όλες οι δημοσιευμένες ακολουθίες του *Candidatus Microthrix parvicella*.



Σχήμα 2.3: Φυλογενετικό δέντρο όπου φαίνεται όλα τα δημοσιευμένα στελέχη *M. parvicella*, (Rossetti *et al*, 2005).

2.4.1.2. Φυσιολογία

Ο *M. parvicella* είναι αερόβιος, ετερότροφος μικροοργανισμός που μπορεί να ανάγει το νιτρικό άζωτο σε νιτρώδες και μπορεί να αναπτυχθεί σε διάφορες συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου. Έχει βρεθεί ότι συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου μεγαλύτερες από 6mg/L μπορεί να είναι τοξικές για τον μικροοργανισμό ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,4 mg/L) αναπτύσσεται σε μακριά και κανονικά νήματα χωρίς να παρουσιάζει παραμορφωμένα ή άδεια κύτταρα όπως έχει παρατηρηθεί σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (Tandoi *et al.*, 1998).

Οι Rossetti *et al.* (2002) μελέτησαν τη φυσιολογία και την κινητική του *M. parvicella* και συμπέραναν ότι πρόκειται για ένα εξαιρετικά ευπροσάρμοστο βακτήριο, το οποίο μπορεί να μεγαλώνει με διαφορετικά υποστρώματα σε μεγάλος εύρος συγκεντρώσεων και πολύ διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας. Ο μικροοργανισμός δε μπορεί να αναπτυχθεί παρουσία νιτρικών και νιτρώδων ως δέκτες ηλεκτρονίων αλλά μπορεί να επιβιώσει κάτω από αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες για μεγάλα χρονικά διαστήματα χωρίς να χάσει την ιδιότητά του να αναπτύσσεται με ρυθμούς συγκρίσιμους με αυτούς πριν τις αναερόβιες συνθήκες μετά την αποκατάσταση των αερόβιων συνθηκών.

Έτσι τα συγκριτικά πλεονεκτήματα που παρουσιάζει ο *M. parvicella* έναντι των συσσωματούμενων μικροοργανισμών είναι: α) η αποθηκευτική του ικανότητα κάτω από αναερόβιες, αερόβιες και ανοξικές συνθήκες, β) η αντίστασή του σε έκθεση σε μακρές ανοξικές ή και αναερόβιες περιόδους με πλήρη ανάκτηση της κινητικής του μετά την αποκατάσταση των αερόβιων συνθηκών, γ) δυνατότητα ανάπτυξης με αξιόλογη κινητική σε χαμηλές θερμοκρασίες έως 7°C και δ) χαμηλή τιμή k_s όπως παρουσιάζεται και παρακάτω, η οποία υποδηλώνει υψηλή συνάφεια του μικροοργανισμού σε σχέση με το υπόστρωμα και άρα ανταγωνιστικότητά του όταν η συγκέντρωση υποστρώματος είναι χαμηλή. Τέλος, πειράματα έδειξαν ότι η κινητική του μικροοργανισμού όπως προσδιορίστηκε σε μελέτες που έχουν γίνει σε καθαρές καλλιέργειες δε μεταβάλλεται σημαντικά από τα συστήματα ενεργού ιλύος και άρα τα αποτελέσματα αυτών των μελετών μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε συστήματα πλήρους κλίμακας.

Καθαρές καλλιέργειες του μικροοργανισμού μπορούν να χρησιμοποιούν ευρύ φάσμα πηγών άνθρακα όπως οργανικά οξέα, σύνθετα υποστρώματα και λιπαρά

οξέα. Ωστόσο στο περισσότερο ανταγωνιστικό περιβάλλον της ενεργού ιλύος για εύκολα βιοαποδομήσιμα υποστρώματα, ο *M. parvicella* φαίνεται να προτιμά πιο πολύπλοκες οργανικές ενώσεις στις οποίες έχει προνομιακή πρόσβαση (Andreasen *et al.*, 1997). Έτσι ενώ οι καθарές καλλιέργειες δείχνουν τα δυναμικά χαρακτηριστικά της φυσιολογίας του μικροοργανισμού, πειράματα με ενεργό ιλύ δείχνουν τη συμπεριφορά του μικροοργανισμού σε συστήματα επεξεργασίας λυμάτων.

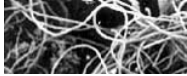
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ο μικροοργανισμός μπορεί να επιβιώνει σε ανοξικά και αναερόβια περιβάλλοντα αποθηκεύοντας ενώσεις. Οι Andreasen και Nielsen (2000) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μικρο-αυτο-ραδιογραφίας απέδειξαν ότι ο *M. parvicella* δεν προσλαμβάνει ορθοφωσφορικές ενώσεις κάτω από ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες και άρα δεν ανήκει στους οργανισμούς συσώρευσης πολυφωσφορικών ενώσεων. Ωστόσο ο μικροοργανισμός έχει τη δυνατότητα πρόσληψης μεγάλων ποσοτήτων μακρών αλυσίδων λιπαρών οξέων (ΜΑΛΟ) κάτω από αναερόβιες συνθήκες όταν ελάχιστοι άλλοι μικροοργανισμοί μπορούν να ανταγωνιστούν για υπόστρωμα, καθώς και αποθήκευσης και χρησιμοποίησης τους για ανάπτυξη κάτω από ανοξικές και αερόβιες συνθήκες. Έτσι οι συγγραφείς ανέπτυξαν την υπόθεση ότι ο *M. parvicella* καταναλώνει εξειδικευμένα τις ΜΑΛΟ με μεγάλη αποθηκευτική δυνατότητα κάτω από αναερόβιες συνθήκες και μπορεί να αναπτύσσεται κάτω από ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες υπερνικώντας έτσι πολλά άλλα βακτήρια σε συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών (σχήμα 2.4).

Αερόβιες (ανοξικές) συνθήκες

Σωματιδιακά λιπίδια και
ΜΑΛΟ στα λύματα

Προσρόφηση
Προσροφημένα
λιπίδια και ΜΑΛΟ

Διαλυμένες ΜΑΛΟ



M. parvicella

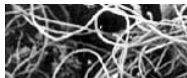
Βιοκροκίδα

Αναερόβιες συνθήκες

Σωματιδιακά λιπίδια και
ΜΑΛΟ στα λύματα

Προσρόφηση
Προσροφημένα
λιπίδια και ΜΑΛΟ

Διαλυμένες ΜΑΛΟ



M. parvicella

Βιοκροκίδα

Σχήμα 2.4: Σχηματική απεικόνιση της υπόθεσης των Andreasen και Nielsen περί εξειδικευμένης κατανάλωσης των ΜΑΛΟ από τον *M. parvicella* (Andreasen και Nielsen, 2000).

Σύμφωνα με την υπόθεση των Andreasen και Nielsen (2000), η ανταγωνιστική σχέση μεταξύ των νηματοειδών και των συσσωματούμενων βακτηρίων βάσει της κινητικής επιλογής του διαλυμένου οργανικού υποστρώματος πρέπει να αναθεωρηθεί ώστε να περιλαμβάνει το μετασχηματισμό των προσροφημένων ΜΑΛΟ και άλλων λιπιδίων στα σωματίδια (λόγω της υδροφοβικής φύσης τους) σε διαλυμένες ενώσεις που μπορούν να καταναλωθούν. Διεργασίες υδρόλυσης και ζύμωσης στο σύστημα αποχέτευσης και στις δεξαμενές πρωτογενούς καθίζησης καθορίζουν τη μορφή των λιπαρών οξέων και των λιπιδίων. Οι περισσότερες λιπαρές ενώσεις προσροφούνται στο σωματιδιακό κλάσμα και ιδιαίτερα στην περίπτωση διαφορικής συγκέντρωσης υποστρώματος (όπως στους αντιδραστήρες εμβολικής ροής) ενσωματώνονται κυρίως στις βιοκροκίδες. Στη συνέχεια στο εσωτερικό των βιοκροκίδων καταναλώνονται κάτω από οξικές συνθήκες - αλλά και κάτω από ανοξικές σε μικρότερο ποσοστό - ενώ κάτω από αναερόβιες συνθήκες

απελευθερώνονται στο κυρίως διάλυμα όπου προσλαμβάνονται και αποθηκεύονται από τον *M. parvicella*.

Η υπόθεση αυτή μπορεί να εξηγήσει την εμπειρική παρατήρηση ότι με μείωση της θερμοκρασίας σημειώνεται παροδική αύξηση του *M. parvicella*. Αυτό συμβαίνει εφόσον μειώνεται η διαλυτότητα των ΜΑΛΟ και άρα ο *Microthrix* αποκτά συγκριτικό πλεονέκτημα σε σχέση με τους υπόλοιπους λιγότερο εξειδικευμένους μικροοργανισμούς. Στο αναερόβιο στάδιο τα διαλυμένα ΜΑΛΟ είναι περισσότερο προσιτά και αποθηκεύονται από τον *M. parvicella*, ενώ το σωματιδιακό μέρος αυτών υδρολύεται από τα συσσωματούμενα βακτήρια εξασφαλίζοντας επιπρόσθετη πηγή λιπιδίων για τον μικροοργανισμό. Τα προϊόντα αποθήκευσης χρησιμοποιούνται στην επόμενη αερόβια φάση για ανάπτυξη. Σε αντίθεση, εάν προηγείται η αερόβια ζώνη, τότε τα συσσωματούμενα βακτήρια μπορούν να υπερνικήσουν τον *M. parvicella*. Έχει αποδειχθεί ότι τα αποθηκευμένα προϊόντα δε μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ανάπτυξη κάτω από αναερόβιες συνθήκες, αλλά δεν έχει μελετηθεί η μεταβολική ικανότητα του μικροοργανισμού κάτω από ανοξικές συνθήκες.

Σε επόμενη εργασία τους οι Nielsen *et al.* (2002) έδειξαν ότι όταν ραδιενεργό υπόστρωμα (^{14}C -σημασμένο ολεϊκό οξύ) προστέθηκε σε ενεργό ιλύ με *M. parvicella*, η σημαντικότερη ποσότητα ραδιενεργού προϊόντος (^{14}C - CO_2) παράχθηκε κάτω από αερόβιες συνθήκες και μικρή ποσότητα κάτω από αναερόβιες. Επίσης, με τη μέθοδο της μικροαυτοραδιογραφίας, οι συγγραφείς έδειξαν ότι ο *M. parvicella* προσροφά ολεϊκό οξύ κάτω από αναερόβιες και αερόβιες συνθήκες, ενώ ελάχιστα βακτήρια που σχηματίζουν βιοκροκίδες είχαν αυτή την ικανότητα. Εξαγωγή και απομόνωση της ραδιενεργής βιομάζας από διαφορετικά κλάσματα λιπιδίων έδειξε ότι το ολεϊκό οξύ ήταν αποθηκευμένο κυρίως ως ουδέτερα λιπίδια κάτω από αναερόβιες συνθήκες, ενώ η μετατροπή του σε φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης συνέβη μόνο κάτω από αερόβιες συνθήκες υποδεικνύοντας ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Η επιφάνεια του *M. parvicella* βρέθηκε υδροφοβική με τη βοήθεια υδροφοβικών φθορίζουσών μικροσφαιρών.

Επιπλέον, παρατηρήθηκε η δράση μιας λιπάσης στην επιφάνεια του κυττάρου που ενδεχομένως αυξάνει την ικανότητα του μικροοργανισμού να λαμβάνει προϊόντα λύσης και λιπαρά οξέα από λιπίδια, που σχετίζονται με την κυτταρική επιφάνεια. Επομένως, οι συγγραφείς με την εργασία τους αυτή ενίσχυσαν τη θεωρία τους για την ανταγωνιστική δράση του *M. parvicella* όπως αυτή περιγράφηκε στο σχήμα 2.4. Έτσι μπορεί να μην είναι ξεκάθαρο πώς ο *M. parvicella* αποκομίζει την

ενέργεια που χρειάζεται για τη λήψη των λιπαρών οξέων και την αποθήκευση ενώσεων κάτω από αναερόβιες συνθήκες (εφόσον δεν εμφανίζει ενεργό μηχανισμό πρόσληψης και απελευθέρωσης ορθοφωσφορικών παρόμοιο με αυτόν των μικροοργανισμών που συσσωρεύουν πολυφωσφορικές ενώσεις). Ωστόσο, είναι πιθανόν ότι άλλα ενδοκυτταρικά αποθέματα όπως το γλυκογόνο δίνουν την απαιτούμενη ενέργεια για πρόσληψη τροφής και αποθήκευση κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Όταν οξυγόνο ή νιτρικά είναι διαθέσιμοι δέκτες ηλεκτρονίων, τότε το αποθηκευμένο υλικό χρησιμοποιείται για ανάπτυξη.

Σχετικά με τη λιπάση, που βρέθηκε να δρα στην επιφάνεια του *M. parvicella* οι Schade και Lemmer (2005) χρησιμοποιώντας μέθοδο με ενζυμικούς φθορίζοντες ικνηλάτες, μελέτησαν την ενζυματική δραστηριότητά της *in situ* καθώς από το φθορίζον ένζυμο σχηματίζεται ένα φθορίζον ίζημα επί τόπου στο σημείο που δρα στην ενεργό ιλύ και στον αφρό. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι υπάρχει συσχέτιση της πληθώρας των *M. parvicella* με τη δραστηριότητα του ενζύμου λιπάση υποδεικνύοντας επομένως ότι ο εν λόγω μικροοργανισμός μπορεί να αποικοδομεί λιποφιλικές ενώσεις. Επιπλέον, η μέθοδος αποδείχθηκε κατάλληλη για την παρακολούθηση του μικροοργανισμού σε φαινόμενα αφρισμού.

Όσον αφορά στις υδροφοβικές ιδιότητες του *M. parvicella* οι Müller *et al.* (2005) έδειξαν ότι λιποφιλικές ενώσεις που προέρχονταν από την πρωτοβάθμια επεξεργασία προσροφώνταν από την υδατική φάση στην εξωκυτταρική δομή πολυμερών ενώσεων αυξάνοντας άμεσα την υδροφοβικότητα αλλά και ενισχύοντας την ανάπτυξη των υδροφοβικών μικροοργανισμών όπως του *G. amarae* καθώς και του *M. parvicella*.

2.4.1.3. Κινητική

Όσον αφορά στην κινητική του μικροοργανισμού δεν υπάρχουν πολλές μελέτες λόγω της δυσκολίας απομόνωσης και καλλιέργειας του. Οι βασικές μελέτες είναι του Slijkuis (1983), των Tandoi *et al.* (1998), Rossetti *et al.* (2002) και Noutsopoulos *et al.* (2007). Έτσι στον παρακάτω πίνακα 2.1 παρουσιάζονται οι τιμές του μ_{\max} που έχουν υπολογιστεί από τους ερευνητές αυτούς:

Πίνακας 2.1: Μέγιστοι ρυθμοί ανάπτυξης του *M. parvicella* που έχουν προσδιοριστεί σε καθαρές καλλιέργειες και μικτή βιομάζα.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ	ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΔΕΙΚΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ	μ_{\max} (d ⁻¹)	ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ
Ασυνεχείς (batch) σε υγρό μέσο	Καθαρή	Tween 80	Πρωτεΐνη	0,38	Slijkuis (1983)
Ασυνεχείς (υγρό μέσο)	Καθαρή	Σύνθετες πηγές άνθρακα	Ολικό εκτεταμένο μήκος νημάτιου (TEFL)	0,3-0,5	Tandoi (1998)
Ασυνεχείς (δισκίο άγαρ)	Καθαρή	R2A	TEFL	0,37-0,66	Rossetti (2002)
Ασυνεχείς (δισκίο άγαρ)	Μικτή	R2A	TEFL	0,66	Rossetti (2002)
Ασυνεχείς (υγρό μέσο)	Μικτή	Tween 80	Τμήσεις νηματοειδών	0,68	Noutsopoulos (2002)
Συνεχείς (χημοστάτης)	Καθαρή	Tween 80	Ξηρό βάρος	1,44	Slijkuis (1983)

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρεί κανείς ότι τα k_{\max} που έχουν υπολογιστεί σε ασυνεχείς συνθήκες καλύπτουν περιορισμένη περιοχή τιμών, η οποία είναι αρκετά χαμηλότερη από των συνεχών συστημάτων. Τα συνεχή συστήματα ωστόσο προσομοιάζουν καλύτερα τα συστήματα επεξεργασίας αστικών λυμάτων, τα οποία παρουσιάζουν μεγαλύτερους ρυθμούς ανάπτυξης.

Ο συντελεστής αύξησης της βιομάζας Y , ο οποίος ορίζεται σαν την παραγόμενη βιομάζα προς την καταναλισκόμενη τροφή, προσδιορίστηκε από τον Slijkuis (1983) σε συνεχές σύστημα με ταχύτητα ανάπτυξης στην περιοχή $0,01-0,05h^{-1}$ ίσος με $0,17mgVSS/mgCOD$. Οι ερευνητές Tandoi και Rossetti (1998) υπολόγισαν το Y από το ολικό εκτεταμένο μήκος νημάτιου (TEFL) ίσο με $0,1mgVSS/mgCOD$. Οι χαμηλές αυτές τιμές του Y υποδηλώνουν ότι ο *M. parvicella* έχει πολύ υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις για ανάπτυξη.

Είδαμε παραπάνω ότι ο *M. parvicella* παρουσιάζει μεγάλη ικανότητα λήψης του υποστρώματος λόγω της υδροφοβικής επιφάνειας και άρα αναμένεται η τιμή του k_s για τον μικροοργανισμό να είναι χαμηλή. Ο υπολογισμός του εγγενούς k_s σε συστήματα ενεργού ιλύος είναι δύσκολος λόγω προβλημάτων διάχυσης του υποστρώματος στις βιοκροκίδες οπότε οι τιμές που υπολογίζονται είναι οι φαινομενικές. Έτσι ο Slijkuis (1983) υπολόγισε το φαινόμενο k_s ίσο με 15 και $8mg/L$ (30 και $23 mgCOD/L$) χρησιμοποιώντας το Tween 80 και το ολεϊκό οξύ σαν περιοριστικά υποστρώματα αντίστοιχα. Οι Tandoi και Rossetti (1998) προσδιόρισαν

το k_s ίσο με 3,9mgCOD/L για ένα νημάτιο περιορίζοντας έτσι τα φαινόμενα διάχυσης και άρα υπολογίζοντας την εγγενή τιμή του k_s για τον μικροοργανισμό.

Έχει βρεθεί ότι το pH δεν έχει σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη του μικροοργανισμού στην περιοχική τιμών 6,7-8,0 και ότι ελάχιστη μείωση παρατηρήθηκε σε pH=8,4 (Tandoi *et al*, 1998). Όσον αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας, ο βέλτιστος ρυθμός ανάπτυξης βρέθηκε στους 22-25°C, στους 7°C ο ρυθμός ανάπτυξης του *M. parvicella* είναι ακόμη σημαντικός, ενώ θερμοκρασίες άνω των 30°C σταματούν την ανάπτυξη.

Όσον αφορά στο συντελεστή φθοράς του μικροοργανισμού, οι Noutsopoulos *et al*. (2007) έχουν προσδιορίσει την τιμή του ίση με $0,0164d^{-1}$ σε πειράματα ενδογενούς αναπνοής και ίση με $0,031 \pm 0,006d^{-1}$ βάσει του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης k_{max} .

2.4.2. *Gordona amarae*

2.4.2.1. Μικροβιολογία

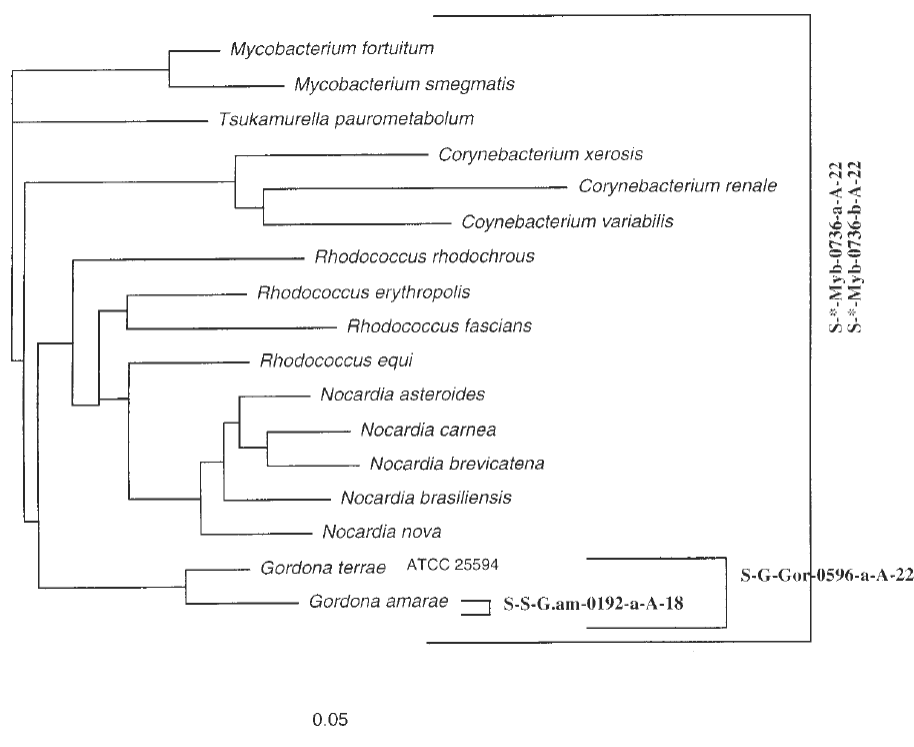
Το βακτήριο *G. amarae* σχηματίζει νημάτια, τα οποία καμπυλώνουν ακανόνιστα, με διάμετρο 1μm και μήκος 5-30μm και τα οποία βρίσκονται είτε μπλεγμένα στις βιοκροκίδες είτε ελεύθερα στο ανάμικτο υγρό. Συχνά στα νημάτια παρατηρείται διακλαδισμένο μυκήλιο. Δεν παρουσιάζουν περίβλημα ή προσαρτημένη ανάπτυξη και το κυτταρικό σχήμα είναι ακανόνιστο και αρκετές φορές απαντώνται μικρά ενδοκυτταρικά τεμάχια. Το νηματοειδές αυτό βακτήριο δίνει ισχυρή Gram θετική χρώση και Neisser αρνητική χρώση. Ο μικροοργανισμός έχει παρόμοιες ιδιότητες με τον *M. parvicella* (Jenkins *et al*, 1993).

Όσον αφορά στην ανακάλυψη του μικροοργανισμού, πρώτοι οι Lechevalier και Lechevalier (1974) προσπάθησαν να απομονώσουν τα αίτια για το φαινόμενο του αφρισμού βακτήρια σε καθαρές καλλιέργειες. Μεταξύ άλλων απομόνωσαν και έναν μικροοργανισμό που δεν είχε περιγραφεί στο παρελθόν και ο οποίος βρέθηκε στα περισσότερα δείγματα ανάμικτου υγρού που οι συγγραφείς πήραν από διάφορες αμερικανικές ΕΕΛ που παρουσίαζαν προβλήματα αφρισμού. Ο μικροοργανισμός αναγνωρίστηκε ως ο ακτινομύκτης *Nocardia amarae*. Από τότε ο μικροοργανισμός

απομονώθηκε επανειλημμένα ως το κυριότερο μέλος του οικοσυστήματος του ανάμικτου υγρού και του αφρού σε ΕΕΛ με προβλήματα αφρισμού.

Είκοσι χρόνια αργότερα οι Klatt *et al.* (1994) πρότειναν βασισμένοι σε γενετικές και ταξινομικές μεθόδους τη μεταφορά του *Nocardia amarae* στο γένος *Gordona* ως *Gordona amarae*. Η πρόταση αυτή υποστηρίχτηκε και από τις σχεδόν ταυτόχρονες μελέτες των Goodfellow *et al.* (1994) και των Ruimy *et al.* (1994) και έτσι επικράτησε η ταξινομική κατάταξη του μικροοργανισμού στο γένος *Gordona* ως *Gordona amarae*.

Το 1997 οι De los Reyes *et al.* ανέπτυξαν ιχνηλάτες ειδικούς για το γένος *Gordona* και πιο συγκεκριμένους για το είδος *G. amarae*. Στο σχήμα 2.5 φαίνεται το φυλογενετικό δέντρο όπως κατασκευάστηκε στο συγκεκριμένο άρθρο:



Σχήμα 2.5: Φυλογενετικό δέντρο με τους κυριότερους ακτινομύκητες που περιέχουν mycolic acid το οποίο δημιουργήθηκε με σύγκριση ακολουθιών του SSU rRNA. Στο σχήμα επίσης φαίνονται οι ιχνηλάτες FISH που παρασκευάστηκαν στα πλαίσια της ερευνητικής εργασίας των De los Reyes *et al.*, (1997) και οι μικροοργανισμοί που στοχεύονται (De los Reyes *et al.*, 1997).

Το 1998 οι De los Reyes *et al.* πραγματοποίησαν συγκριτική ανάλυση της αλληλουχίας του ριβοσωμικού RNA πέντε στελεχών *G. amarae* και εξήγαγαν το

συμπέρασμα ότι τα στελέχη αυτά αντιπροσώπευαν δύο γραμμές εξελικτικής καταγωγής. Στη συνέχεια σχεδίασαν 3 ικνηλάτες, έναν ειδικό για το είδος *G. amarae* και έναν για κάθε ομάδα.

2.4.2.2. Φυσιολογία

Ο μικροοργανισμός *G. amarae* είναι αυστηρώς αερόβιο βακτήριο, το οποίο δε μπορεί να προσλάβει τροφή κάτω από ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες. Αναπτύσσεται σε θερμοκρασιακό εύρος 23°-37°C, με βέλτιστη θερμοκρασία τους 28°C ενώ η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξης του μικροοργανισμού είναι 10 - 15°C (Soddell and Seviour, 1990). Η προτίμηση του βακτηρίου *G. amarae* για υψηλότερες θερμοκρασίες εξηγεί πιθανόν την επικράτησή του στις θερμότερες αμερικανικές πολιτείες κυρίως τη θερινή περίοδο (Pitt και Jenkins, 1990, στην California - Jones *et al.*, 2003, Jolis *et al.*, 2007, στο Illinois - Oerther *et al.*, 2000, De los Reyes III και Raskin, 2002, Frigon *et al.*, 2006) σε αντίθεση με το *M. parvicella* που επικρατεί στις ψυχρότερες ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως τη χειμερινή περίοδο (Westlund *et al.*, 1998, Andreadakis *et al.*, 1999, Andreasen and Nielsen, 2000). Επίσης, με αυτό τον τρόπο μπορεί να εξηγηθεί και το εποχικό φαινόμενο του αφρισμού στις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας που παρατηρήθηκε στην παρούσα εργασία. Πιο συγκεκριμένα, μικροσκοπικές παρατηρήσεις του αφρού έδειξαν την επικράτηση του *M. parvicella* στο ανάμικτο υγρό και τον αφρό κατά τους χειμερινούς μήνες ενώ κατά τη διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών την επικράτηση του *G. amarae*. Στην ανάπτυξη του μικροοργανισμού επιδρά και το pH με βέλτιστη τιμή το 7,8 και με ελάχιστη ανάπτυξη να παρατηρείται σε τιμές pH μικρότερες από 5 (Soddell και Seviour, 1990).

2.4.2.3. Κινητική

Όσον αφορά στην κινητική του *G. amarae* είναι σχετικά βραδέως αναπτυσσόμενο βακτήριο με $\mu_{\max}=0,117/h$ και $0,129/h$ και $k_s=0,5mg$ οξικού/L και $2,6mg$ οξικού/L, όπως εκτιμήθηκε από τους Blackall *et al.* (1989). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά των Kim και Pagilla (2000) οι οποίοι υπολόγισαν $\mu_{\max}=2,3/d$ και $Y_{obs}=0,23gVSS/gCOD$ και καταδεικνύουν τους σημαντικά υψηλότερους ρυθμούς

ανάπτυξης του *G. amarae* σε σχέση με του *M. parvicella*. Επίσης, στην εργασία αυτή οι συγγραφείς έδειξαν ότι ο *G. amarae* δεν προσλαμβάνει τροφή κάτω από ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες και άρα θεωρητικά θα εκπλένονταν σε συστήματα, τα οποία περιλαμβάνουν ανοξικούς ή αναερόβιους επιλογείς. Ωστόσο στην πράξη αυτή η μέθοδος ελέγχου του νηματοειδούς βακτηρίου δεν έχει πάντοτε τα κατάλληλα αποτελέσματα γεγονός που συνδέεται κυρίως με φαινόμενα παγίδευσης και ανακύκλωσης του αφρού στα δεξαμενές αερισμού.

Το κυτταρικό τοίχωμα του *G. amarae* είναι υδροφοβικό (Jenkins *et al.*, 1993) και όπως προαναφέρθηκε οι Müller *et al.* (2005) έδειξαν ότι λιποφιλικές ενώσεις που προέρχονταν από την πρωτοβάθμια επεξεργασία προσροφώνταν από την υδατική φάση στην εξωκυτταρική δομή πολυμερών ενώσεων αυξάνοντας άμεσα την υδροφοβικότητα αλλά και ενισχύοντας την ανάπτυξη του μικροοργανισμού οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό αφρού καθώς και στη σταθεροποίησή του.

Μελέτες που έγιναν σχετικά με τα υποστρώματα που καταναλώνει ο *G. amarae* κατέληξαν σε ευρύ φάσμα πηγών άνθρακα όπως οργανικά οξέα, σύνθετα υποστρώματα και λιπαρά οξέα, όπως και για τον *M. parvicella*. Ωστόσο η προνομιακή ανάπτυξη του μικροοργανισμού δε μπορεί να εξηγηθεί με την υπόθεση της μείωσης της διαλυτότητας των λιπών που συμβαίνει με τη μείωση της θερμοκρασίας και η οποία συνεπάγεται μεγαλύτερη πρόσβαση για τον *M. parvicella*, εφόσον ο *G. amarae* αναπτύσσεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Στα πλαίσια αυτής της θεωρίας σε υψηλές θερμοκρασίες (29°C) τα λίπη διαλυτοποιούνται, ο *M. parvicella* χάνει το συγκριτικό του πλεονέκτημα και αναπτύσσονται άλλα βακτήρια συμπεριλαμβανομένου του *G. amarae* που τελικά τον υπερνικούν (Frigon, 2006).

2.5. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΦΡΙΣΜΟΥ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΝΕΡΓΟΥ ΙΛΥΟΣ

2.5.1. Νηματοειδής αφρισμός & Λειτουργικά Χαρακτηριστικά

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών αναπτύχθηκαν εν μέρει και στις προηγούμενες παραγράφους κατά τη συζήτηση των

μικροβιολογικών τους χαρακτηριστικών καθώς και της φυσιολογίας τους. Στις επόμενες παραγράφους επιχειρείται μια περισσότερο συστηματική προσέγγιση και συσχέτιση των λειτουργικών παραμέτρων μιας ΕΕΛ και του φαινομένου του αφρισμού.

Έτσι, οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών είναι οι εξής (Νουτσόπουλος, 2002):

- Ο χρόνος παραμονής στερεών
- Το καθεστώς ροής
- Ο αποδέκτης ηλεκτρονίων
- Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου
- Η συγκέντρωση των θρεπτικών
- Το pH του ανάμικτου υγρού
- Η θερμοκρασία του ανάμικτου υγρού
- Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των λυμάτων
- Η συγκέντρωση των επιφανειακών τασιενεργών

Στους παραπάνω παράγοντες πρέπει να προστεθεί και η παγίδευση του αφρού στην επιφάνεια των διεργασιών αλλά και η ανακυκλοφορία των νηματοειδών, η οποία μπορεί να γίνεται είτε άμεσα μέσω απομάκρυνσης του αφρού από την επιφάνεια των δεξαμενών και εν συνεχεία την ανακυκλοφορία του είτε έμμεσα μέσω των στραγγιδίων των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης.

2.5.1.1. Χρόνος παραμονής στερεών

Ο χρόνος παραμονής στερεών είναι μία από τις λειτουργικές παραμέτρους που ρυθμίζουν τη σύνθεση της βιοκοινότητας της ενεργού ιλύος. Έτσι, σε συστήματα που λειτουργούν σε μικρούς χρόνους παραμονής στερεών, όσοι μικροοργανισμοί έχουν μικρή ταχύτητα ανάπτυξης, δε δύναται να αναπτυχθούν. Οι κινητικές των δύο νηματοειδών υπό εξέταση και άρα και οι ταχύτητες ανάπτυξής τους έχουν εξεταστεί σε προηγούμενες παραγράφους.

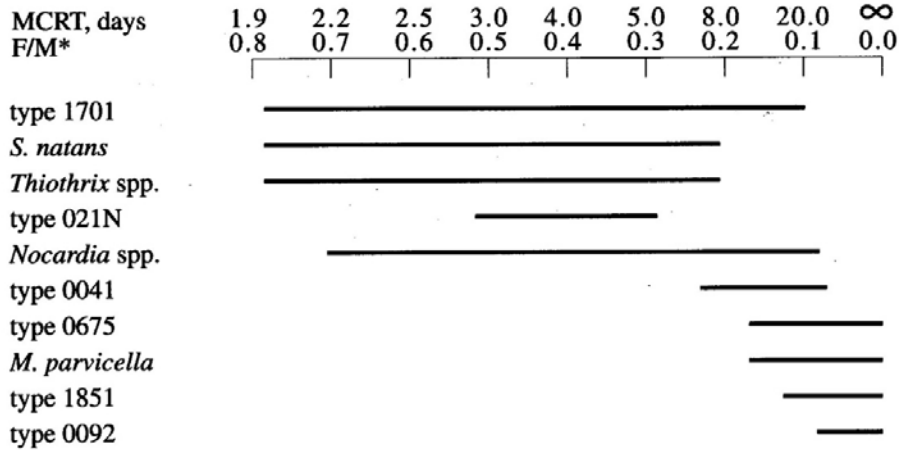
Ο ελάχιστος χρόνος που απαιτείται για την ανάπτυξη του νηματοειδούς μικροοργανισμού *M. parvicella* κυμαίνεται μεταξύ 5,2 και 6,0 ημέρες, για θερμοκρασίες μεταξύ 14 - 18°C (Νουτσόπουλος, 2002). Επομένως, ο μέγιστος

χρόνος παραμονής στερεών για την αποφυγή του φαινομένου της νηματοειδούς διόγκωσης είναι οι 6 ημέρες για θερμοκρασίες χαμηλότερες από 18°C. Από μία έρευνα σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στο Colorado των ΗΠΑ, φάνηκε ότι απαιτούνταν $\Theta_c > 10$ d, ώστε να παρατηρηθούν σημαντικές λειτουργικές αστοχίες στις εγκαταστάσεις εξαιτίας υπερανάπτυξης του *M. parvicella* (Tchobanoglous *et al.*, 2002; German Standard ATV-DVWK-A 131E, 2000).

Όσον αφορά στο νηματοειδή *G. amarae*, αυτός αναπτύσσεται σε πολύ μικρότερα Θ_c και άρα είναι πιο δύσκολη η αντιμετώπιση του φαινομένου του αφρισμού που προκαλείται από την υπερανάπτυξή του με μείωση του χρόνου παραμονής. Πιο συγκεκριμένα, οι Pitt και Jenkins (1991) και οι Cha *et al.* (1992) πραγματοποίησαν εργαστηριακά πειράματα προκειμένου να διερευνήσουν τη σχέση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών *G. amarae* και του χρόνου παραμονής σε διάφορες θερμοκρασίες. Τα αποτελέσματα και των δύο μελετών έδειξαν ότι εν γένει ο πληθυσμός των εν λόγω μικροοργανισμών αυξάνεται καθώς αυξάνει ο χρόνος παραμονής. Στη μελέτη των Cha *et al.* (1992), ο ελάχιστος χρόνος παραμονής ώστε να εκπλυθούν από το σύστημα οι νηματοειδείς ήταν οι 2,2 μέρες όταν η θερμοκρασία ήταν γύρω στους 16°C ενώ στην υψηλότερη θερμοκρασία των 24°C ο χρόνος παραμονής έπρεπε να μειωθεί στη 1,5 μέρα.

Στη μελέτη των Pitt και Jenkins (1991) η μείωση του χρόνου παραμονής δεν αποδείχτηκε αποτελεσματικό μέτρο για την εξάλειψη του φαινομένου του αφρισμού και δεν υπήρχε συσχέτιση με τη θερμοκρασία. Αυτό αποδόθηκε στις διαφορετικές πρακτικές διαχείρισης του αφρού και πιο συγκεκριμένα στην ανακυκλοφορία του χωρίς καμία επεξεργασία ενώ στην εργασία των Cha *et al.* (1992) οδηγούνταν στη γραμμή σταθεροποίησης της ιλύος. Ωστόσο, η υπόθεση αυτή δε μπόρεσε να αποδειχτεί καθώς η παραδοσιακή μέθοδος ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των νηματοειδών αποδείχτηκε ανεπαρκής γιατί οι μικροοργανισμοί ήταν σε κατάσταση πίεσης οπότε και επηρεάζονταν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους.

Στο σχήμα 2.6 που ακολουθεί φαίνεται η συσχέτιση του χρόνου παραμονής (και του αντιστρόφως ανάλογου λόγου τροφής /μικροοργανισμών - F/M) με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς που ευνοούνται. Στο σχήμα συμπεριλαμβάνονται ο *M. parvicella* και ο *Nocardia spp.* που αντιστοιχεί στον *G. amarae* καθώς όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο το 1994 άλλαξε η ταξινομική κατάταξη του μικροοργανισμού.



*F/M as kg BOD₅/kg MLVSS, day

Σχήμα 2.6: Συσχέτιση ανάπτυξης νηματοειδών μικροοργανισμών και χρόνου παραμονής στερεών MCRT ή του αντιστρόφως ανάλογου λόγου F/M (Richard, 1989; Jenkins, 1992)

2.5.1.2. Καθεστώς ροής

Λεπτομερής διερεύνηση της επίδρασης του καθεστώτος ροής των λυμάτων στα χαρακτηριστικά καθίζησης πραγματοποιήθηκε στην ερευνητική εργασία των Chudoba *et al.* (1973). Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκαν τέσσερα συστήματα εργαστηριακής κλίμακας που τροφοδοτούνταν με συνθετικά λύματα με την ίδια οργανική φόρτιση και διαφοροποίηση ως προς το βαθμό διασποράς, ο οποίος αποτελεί μαθηματική έκφραση του βαθμού ανάμιξης. Το ένα σύστημα λειτουργούσε ως πλήρους μίξης, με θεωρητικά άπειρο βαθμό διασποράς, ένα άλλο λειτουργούσε με βαθμό διασποράς που αντιστοιχούσε σε διαίρεση του βιοαντιδραστήρα σε τέσσερα διαμερίσματα, το τρίτο λειτουργούσε με βαθμό που αντιστοιχούσε σε διαίρεση του βιοαντιδραστήρα σε οκτώ διαμερίσματα και το τελευταίο λειτούργησε με βαθμό που αντιστοιχούσε σε 16 μικρούς βιοαντιδραστήρες πλήρους μίξης σε σειρά. Τα αποτελέσματα σε όρους SVI ήταν ιδιαίτερα εντυπωσιακά, αφού οι μέσες τιμές του δείκτη καθιζησιμότητας για τα τέσσερα συστήματα ήταν 517, 300, 91 και 51 mL/gSS αντίστοιχα. Οι υψηλές τιμές του SVI στο σύστημα πλήρους μίξης αποδίδονται στην υπερβολική ανάπτυξη νηματοειδών μικροοργανισμών.

Παρόμοια αποτελέσματα με τα παραπάνω προέκυψαν και από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε συστήματα πλήρους κλίμακας. Γενικά παρατηρήθηκε ότι

όσο αυξάνει ο βαθμός εμβολοειδούς ροής, τόσο τα χαρακτηριστικά της καθίζησης βελτιώνονται (Tomlinson και Chambers, 1983). Η διαφορά στην ποιότητα καθίζησης ανάμεσα στα συστήματα πλήρους μίξης και εμβολοειδούς ροής μπορεί να εξηγηθεί με την παρουσία ή απουσία νηματοειδών μικροοργανισμών από τα συστήματα. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενες παραγράφους, στους νηματοειδείς μικροοργανισμούς αποδίδονται μικρότεροι συντελεστές ημικορεσμού για τον οργανικό άνθρακα σε σχέση με τους συσσωματούμενους μικροοργανισμούς. Επίσης, οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί έχουν μεγαλύτερους μέγιστους ρυθμούς ανάπτυξης και πρόσληψης τροφής από τους συσσωματούμενους σε συνθήκες, που επικρατούν χαμηλές συγκεντρώσεις οργανικής ύλης. Έτσι εξηγείται η υπερβολική ανάπτυξή τους σε συστήματα πλήρους μίξης, όπου οι συγκεντρώσεις όλων των θρεπτικών είναι χαμηλές. Το αντίθετο συμβαίνει όταν οι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε συνθήκες έντονης κλίσης τροφής, όπως αυτές που επικρατούν σε συστήματα εμβολοειδούς ροής. Στη διαπίστωση αυτή βασίζεται και η χρησιμότητα των επιλογέων (Chudoba *et al.*, 1973).

Λόγω των παραπάνω, έχει επικρατήσει ο σχεδιασμός των βιοαντιδραστήρων ως συστήματα εμβολοειδούς ροής που μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω πολλών βιοαντιδραστήρων στη σειρά (Levenspiel, 1962), είτε με διαμερισματοποίηση του βιοαντιδραστήρα (Chudoba *et al.*, 1973). Ο αριθμός των βιοαντιδραστήρων ή των διαμερισμάτων καθορίζουν την κλίση του λόγου F/M, ο οποίος με τη σειρά του επηρεάζει το βαθμό διασποράς της οργανικής ύλης στη βιομάζα, καθώς και το ρυθμό πρόσληψής της.

Συγκεκριμένα, όσον αφορά στο νηματοειδή μικροοργανισμό *M. parvicella*, οι Matamis *et al.* (1998) έδειξαν ότι η προσθήκη ανοξικού ή αναερόβιου επιλογέα σε συστήματα πλήρους μίξης είναι αμφίβολης αποτελεσματικότητας σχετικά με τον έλεγχο της ανάπτυξης του μικροοργανισμού. Ωστόσο, έδειξαν ότι αποτελεσματική μέθοδος ελέγχου του νηματοειδούς μικροοργανισμού μπορεί να είναι η εφαρμογή εμβολοειδούς ροής. Ομοίως, η διδακτορική εργασία του Νουτσόπουλου (2002) έδειξε ότι η επιβολή εμβολοειδούς ροής σε συστήματα παρατεταμένου αερισμού με βιολογική απομάκρυνση αζώτου οδηγεί σε επαρκή έλεγχο της ανάπτυξης του μικροοργανισμού. Η αποτελεσματικότητα ενός τέτοιου συστήματος βασίζεται στη μεγαλύτερη βιοπροσροφητική ικανότητα των συσσωματούμενων βακτηρίων στις συνθήκες υψηλής οργανικής φόρτισης καθώς και στην αποφυγή προβλημάτων διάχυσης των προϊόντων υδρόλυσης που παράγονται την αερόβια κυρίως ζώνη του βιοαντιδραστήρα.

Ο συγγραφέας επίσης έδειξε ότι η λειτουργία του πρώτου διαμερίσματος της ανοξικής ζώνης ως ανοξικού επιλογέα έχει ως αποτέλεσμα τη βελτιστοποίηση της επιβαλλόμενης αρχικής οργανικής φόρτισης και συνεπώς την επικράτηση των ιδανικών συνθηκών ως προς την προσρόφηση των ΜΑΛΟ και του εύκολα βιοαποικοδομησιμού COD (RBCOD). Πιο συγκεκριμένα, λόγω της μειωμένης αποτελεσματικότητας ενός ανοξικού επιλογέα ως προς την απομάκρυνση των ΜΑΛΟ, σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις αυτών μεταφέρονται στην ανοξική ζώνη και ακολούθως στην αερόβια. Λόγω της έντονης κλίσης συγκεντρώσεων σε όλο το μήκος του βιοαντιδραστήρα και άρα τη διατήρηση της υψηλής αποθηκευτικής ικανότητας από τους συσσωματούμενους μικροοργανισμούς αλλά και τον περιορισμό της διάχυσης των προϊόντων της υδρόλυσης τους, ο μικροοργανισμός *M. parvicella* υπόκειται σε αντίξοες συνθήκες για την ανάπτυξή του (Νουτσόπουλος, 2002).

Όσον αφορά στο νηματοειδή μικροοργανισμό *G. amarae* οι Cha *et al.* (1992) σύγκριναν ένα σύστημα πλήρους μίξης με ένα σύστημα με κλίση τροφής σε αερόβιες συνθήκες. Σε χρόνο παραμονής 5 ημερών το σύστημα εμβολοειδούς ροής κατάφερε να ελέγξει τη συγκέντρωση των μικροοργανισμών *G. amarae*, γεγονός που δεν ίσχυε σε χρόνο παραμονής 10 ημερών. Οι συγγραφείς στη συνέχεια εξέτασαν την αποτελεσματικότητα ενός ανοξικού επιλογέα στο σύστημα εμβολοειδούς ροής σε μεγαλύτερο χρόνο παραμονής (12 ημέρες), το οποίο αποδείχτηκε αποτελεσματικό στον έλεγχο της ανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae*.

Σχετικά με την εφαρμογή αναερόβιων επιλογέων για τον έλεγχο της ανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* αυτοί έχουν αμφίβολα αποτελέσματα καθώς ο χρόνος παραμονής που απαιτείται για την επίτευξη συνθηκών βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου είναι μεγαλύτερος από αυτόν που απαιτείται για την απομάκρυνση των νηματοειδών σε θερμοκρασίες μικρότερες από 26°C (Jenkins, 1993).

Στην επόμενη παράγραφο γίνεται αναλυτική περιγραφή της επίδρασης του αποδέκτη ηλεκτρονίων στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella*.

2.5.1.3. Αποδέκτης ηλεκτρονίων

Για την προστασία των αποδεκτών της τελικής εκροής των ΕΕΛ από ευτροφισμό προέκυψε η ανάγκη για επίτευξη χαμηλών συγκεντρώσεων αζώτου και φωσφόρου στην έξοδό τους, η οποία με τη σειρά της οδήγησε στην κατασκευή ανοξικών και αναερόβιων διαμερισμάτων στις δεξαμενές δευτεροβάθμιας επεξεργασίας. Στα παραπάνω συστήματα ενεργού ιλύος με βιολογική απομάκρυνση αζώτου ή/και φωσφόρου, ένα μεγάλο ποσοστό της εύκολα βιοδιασπάσιμης οργανικής ύλης διασπάται απουσία διαλυμένου οξυγόνου. Έτσι πολλοί νηματοειδείς μικροοργανισμοί που παραδοσιακά αναπτύσσονται σε πλήρως αερόβια συστήματα, όπως οι *Type 021N* και *Thiothrix spp.*, πρακτικά δεν εμφανίζονται σε συστήματα που επιτελούν βιολογική απομάκρυνση αζώτου ή /και φωσφόρου.

Η χρήση όμως ανοξικών ή/και αναερόβιων αντιδραστήρων φαίνεται ότι υποκινεί την ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών χαμηλής οργανικής φόρτισης. Έτσι δικαιολογείται και η επικράτηση των *Type 0092*, *Type 0041* και *Type 0675* αλλά κυρίως του *M. parvicella* στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με απομάκρυνση θρεπτικών (Wanner, 1994; Blackbeard *et al.*, 1988; Richard, 1989; Gabb *et al.*, 1991; Krinstensen, 1992; Casey *et al.*, 1992; Jenkins *et al.*, 1993; Eikelboom, 1994; Ekama *et al.*, 1996; Andreadakis *et al.*, 1999; Madoni *et al.*, 2000; Eikelboom, 2000). Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι μετά τη μετατροπή 23 ολλανδικών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων από συμβατικά συστήματα σε συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης θρεπτικών, το SVI αυξήθηκε στο 60% των ΕΕΛ και ο *M. parvicella* ήταν κυρίαρχος στο 87% των δειγμάτων των παραπάνω ΕΕΛ (Eikelboom, 1994).

Η επικράτηση του *M. parvicella* σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με απομάκρυνση θρεπτικών υποδηλώνει ότι ο μικροοργανισμός πιθανώς να διαθέτει τα κατάλληλα ένζυμα για πρόσληψη τροφής κάτω από ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες. Η μέγιστη ταχύτητα ανάπτυξής του σε ανοξικές συνθήκες έχει υπολογιστεί από πειράματα εργαστηριακής κλίμακας ίση με $0,53 \text{ d}^{-1}$, ίση δηλαδή με το 80% της μέγιστης ταχύτητας ανάπτυξης του μικροοργανισμού σε αερόβιες συνθήκες. Το γεγονός αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο *M. parvicella* παρουσιάζει ρυθμούς ανοξικής αναπνοής ανάλογους με τους ετεροτροφικούς συσσωματούμενους μικροοργανισμούς (Νουτσόπουλος, 2002). Άλλοι ερευνητές πάντως υποστηρίζουν ότι ο *M. parvicella* δεν είναι ικανός να πραγματοποιήσει

πλήρη απονιτροποίηση και πρόσληψη τροφής σε μη αερόβιες συνθήκες (Tandoi *et al.*, 1998; Tomei *et al.*, 1999; Rossetti *et al.*, 2001; Rossetti *et al.*, 2002).

Παράλληλα, η ικανότητά του για σύνθεση και η εσωκυτταρική αποθήκευση προϊόντων, είναι μία απαραίτητη προϋπόθεση για την αφομοίωση της οργανικής ύλης και την απόκτηση της απαραίτητης ενέργειας σε συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Ένα προφανές ερώτημα που προκύπτει, είναι κατά πόσο ο *M. parvicella* είναι ικανός να προσλαμβάνει τροφή σε αναερόβιες συνθήκες με ρυθμούς συγκρίσιμους με τα πολυφωσφορικά βακτήρια. Σε προηγούμενη παράγραφο αναφέρθηκε η έρευνα των Andeasen και Nielsen (2000) σύμφωνα με την οποία, ο μικροοργανισμός έχει τη δυνατότητα πρόσληψης μεγάλων ποσοτήτων μακρών αλυσίδων λιπαρών οξέων (ΜΑΛΟ) κάτω από αναερόβιες συνθήκες, όταν ελάχιστοι άλλοι μικροοργανισμοί μπορούν να ανταγωνιστούν για υπόστρωμα, καθώς και αποθήκευσης και χρησιμοποίησης τους για ανάπτυξη κάτω από ανοξικές και αερόβιες συνθήκες. Έτσι έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι ο *M. parvicella* καταναλώνει εξειδικευμένα τους ΜΑΛΟ με μεγάλη αποθηκευτική δυνατότητα κάτω από αναερόβιες συνθήκες και μπορεί να μεγαλώνει κάτω από ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες υπερνικώντας με τον τρόπο αυτό πολλά άλλα βακτήρια σε συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών (Andreasen and Nielsen, 2000).

Επομένως, η επικράτηση του *M. parvicella* σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με απομάκρυνση θρεπτικών σχετίζεται πιθανότατα με τη διάσπαση των λιπαρών οξέων και των λιπιδίων σε αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες. Ειδικότερα, καθώς η ταχύτητα διάσπασης των μεγάλου μοριακού βάρους οργανικών αυτών ενώσεων σε συνθήκες απουσίας διαλυμένου οξυγόνου είναι αργή, βακτήρια, όπως ο *M. parvicella*, που έχουν την ικανότητα να προσροφούν τις ενώσεις αυτές, αποκτούν ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε σχέση με την πλειονότητα των νηματοειδών αλλά και των συσσωματούμενων βακτηριδίων, που είναι ικανά για προσρόφηση μόνο παρουσία διαλυμένου οξυγόνου ως διαθέσιμου δέκτη ηλεκτρονίων (Eikelboom, 2000). Εξάλλου σε επόμενη εργασία τους οι Nielsen *et al.* (2002) ενίσχυσαν τη θεωρία τους για την ανταγωνιστική δράση του *Microthrix* σε αναερόβιες συνθήκες εξετάζοντας την πρόσληψη τροφής και συγκεκριμένα λιπαρών οξέων με τη χρήση ραδιενεργών ισοτόπων.

Έτσι μπορεί να μην είναι ξεκάθαρο πώς ο *M. parvicella* αποκομίζει την ενέργεια που χρειάζεται για τη λήψη των λιπαρών οξέων και την αποθήκευση ενώσεων κάτω από αναερόβιες ή ανοξικές συνθήκες, ωστόσο, είναι πιθανόν ότι άλλα ενδοκυτταρικά αποθέματα όπως το γλυκογόνο δίνουν την απαιτούμενη ενέργεια για

πρόσληψη τροφής και αποθήκευση κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Όταν οξυγόνο ή νιτρικά είναι διαθέσιμοι δέκτες ηλεκτρονίων, τότε το αποθηκευμένο υλικό χρησιμοποιείται για ανάπτυξη.

Όσον αφορά στην ανάπτυξη του νηματοειδούς *G. amarae* σε ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες ο Pagilla (1987) στη διδακτορική του εργασία έδειξε ότι ο μικροοργανισμός δεν προσλαμβάνει τροφή και άρα εκπλένεται από συστήματα, τα οποία περιλαμβάνουν ανοξικούς ή αναερόβιους επιλογείς. Ωστόσο, η εφαρμογή των ανερόβιων ή ανοξικών επιλογέων σε πλήρη κλίμακα, δεν έχει πάντοτε τα αναμενόμενα αποτελέσματα ελέγχου του νηματοειδούς βακτηρίου, γεγονός που συνδέεται κυρίως με φαινόμενα παγίδευσης και ανακύκλωσης του αφρού στα δεξαμενές αερισμού (Pagilla, 1987, Jolis *et al.*, 2007).

2.5.1.4. Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου

Η επίδραση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στην ανάπτυξη των νηματοειδών βακτηρίων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα 2.2 (Jenkins *et al.*, 1993).

Πίνακας 2.2: Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών. Πηγή: Jenkins *et al.*, 1993.

Ομάδα 1 - Μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου σε αερόβιες συνθήκες	
Χαρακτηριστικά	Ευκολοδιασπάσιμο υπόστρωμα Χαμηλή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου Ευρεία κλίμακα χρόνων παραμονής
Μικροοργανισμοί	<i>S. natans</i> , type 1701, <i>H. hydrossis</i>
Τρόποι ελέγχου	Αερόβιοι, ανοξικοί ή αναερόβιοι βιοεπιλογείς
Ομάδα 2 - Μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε μικτότροφες αερόβιες συνθήκες	
Χαρακτηριστικά	Ευκολοδιασπάσιμο υπόστρωμα κυρίως οργανικά οξέα χαμηλού MB Μεσαίοι - υψηλοί χρόνοι παραμονής Οξειδωση σουλφιδίων για την αποθήκευση θείου

<p>Πίνακας 2.2: Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών. Πηγή: Jenkins <i>et al.</i>, 1993.</p>	
	Υψηλός ρυθμός πρόσληψης θρεπτικών σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών
Μικροοργανισμοί	type 021N, <i>Thiothrix spp.</i>
Τρόποι ελέγχου	Αερόβιοι, ανοξικοί ή αναερόβιοι βιοεπιλογείς
	Προσθήκη θρεπτικών
	Απομάκρυνση σουλφιδίων και/ή υψηλών συγκεντρώσεων οργανικών οξέων (μείωση σηπτικότητας)
<p>Ομάδα 3 - Λοιποί Μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες</p>	
Χαρακτηριστικά	Ευκολοδιασπάσιμο υπόστρωμα
	Μεσαίοι με υψηλοί χρόνοι παραμονής
Μικροοργανισμοί	type 1851, <i>N. limicola spp.</i>
Τρόποι ελέγχου	Αερόβιοι, ανοξικοί ή αναερόβιοι βιοεπιλογείς
	Μείωση χρόνου παραμονής
<p>Ομάδα 4 - Λοιποί Μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε αερόβιες, ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες</p>	
Χαρακτηριστικά	Ανάπτυξη σε πλήρως αερόβια καθώς και σε συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών N και P
	Υψηλοί χρόνοι παραμονής
Μικροοργανισμοί	type 0041, type 0675, type 0092, <i>M. Parvicella</i>
Τρόποι ελέγχου	Διατήρηση ικανοποιητικών επιπέδων διαλυμένου οξυγόνου και διαμερισματοποίηση του αερόβιου σταδίου

Από τον πίνακα φαίνεται ότι ο *M. parvicella* κατατάσσεται στους νηματοειδείς που αναπτύσσονται σε ζώνες που επικρατούν αερόβιες, ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες (all zone growers) (Wanner και Grau, 1988).

2.5.1.5. Η συγκέντρωση των θρεπτικών

Για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών απαιτείται ένας μεγάλος αριθμός θρεπτικών συστατικών. Με τον όρο θρεπτικά συστατικά εννοούνται κυρίως το άζωτο και ο φώσφορος. Εκτός από αυτά όμως, υπάρχουν και άλλα στοιχεία τα οποία, αν και απαιτούνται σε μικρότερες ποσότητες, είναι εξίσου σημαντικά για τη λειτουργία και αναπαραγωγή των κυττάρων.

Όταν οι υφιστάμενες συγκεντρώσεις θρεπτικών δεν ικανοποιούν τις απαιτήσεις των κυττάρων, μπορεί να σταματήσει η διαδικασία σύνθεσης νέας βιομάζας ή να αλλάξουν οι βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στις διεργασίες κατανάλωσης των οργανικών ενώσεων. Αυτό που έχει παρατηρηθεί (Wanner, 1994) είναι ότι σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών επιτελείται μία μεταβολή στη χρήση των οργανικών ενώσεων. Έτσι, αντί να χρησιμοποιείται ο διαθέσιμος οργανικός άνθρακας για την παραγωγή των απαραίτητων μακρομορίων και των άλλων δομικών στοιχείων των κυττάρων, πραγματοποιείται παραγωγή πολυσακχαριδίων. Το ποσοστό των πολυσακχαριδίων σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών είναι μεγαλύτερο από 20-25% (Jenkins *et al.*, 1993). Λαμβάνοντας υπόψη ότι σε ένα τυπικό προκαρυωτικό κύτταρο το ποσοστό των πολυσακχαριδίων δεν ξεπερνά το 5%, φαίνεται ότι η έλλειψη θρεπτικών μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε ανακοπή της διεργασίας αναπαραγωγής. Αυτό συμβαίνει καθώς σημαντικές μακρομοριακές ενώσεις, όπως οι πρωτεΐνες (οι οποίες συνήθως αποτελούν το 55% του ξηρού βάρους ενός προκαρυωτικού κυττάρου), δεν παράγονται στις απαιτούμενες για αναπαραγωγή ποσότητες.

Παράλληλα, η αδυναμία των κυττάρων να χρησιμοποιήσουν τις διαθέσιμες οργανικές ενώσεις για την παραγωγή νέου κυτταρικού υλικού, έχει ως συνέπεια τη συσσώρευση αυτών είτε με τη μορφή εξωκυτταρικού πολυμερούς υλικού, είτε με προσρόφησή τους στο βιοπολυμερές πλέγμα των κροκίδων. Με άλλα λόγια, οι συνθήκες έλλειψης θρεπτικών μπορούν να οδηγήσουν στο φαινόμενο της ιξώδους διόγκωσης.

Παρά την αδυναμία αρκετών μικροοργανισμών να συνθέσουν νέα κυτταρική ύλη σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών, υπάρχουν κάποιοι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που κατά τα φαινόμενα ευνοούνται. Από τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς χαμηλής οργανικής φόρτισης τέτοιοι είναι οι *Type 0041* και *Type 0675*.

Φαινόμενα διόγκωσης της ιλύος λόγω ανάπτυξης νηματοειδών μικροοργανισμών, τα οποία ευνοούνται από συνθήκες έλλειψης κάποιου θρεπτικού, μπορούν να αντιμετωπισθούν εάν εντοπισθεί το θρεπτικό, το οποίο βρίσκεται σε χαμηλότερες από τις απαιτούμενες για τις μεταβολικές ανάγκες των κυττάρων, συγκεντρώσεις. Στη συνέχεια, με προσθήκη της αναγκαίας ποσότητας του θρεπτικού αυτού, είναι δυνατόν να αναχαιτισθεί η υπερανάπτυξη τέτοιων νηματοειδών μικροοργανισμών. Έχει επικρατήσει η άποψη ότι επαρκείς ποσότητες αζώτου και φωσφόρου υπάρχουν, όταν ο λόγος BOD₅/ N/ P είναι 100/ 5/ 1 (Jenkins *et al.*, 1993).

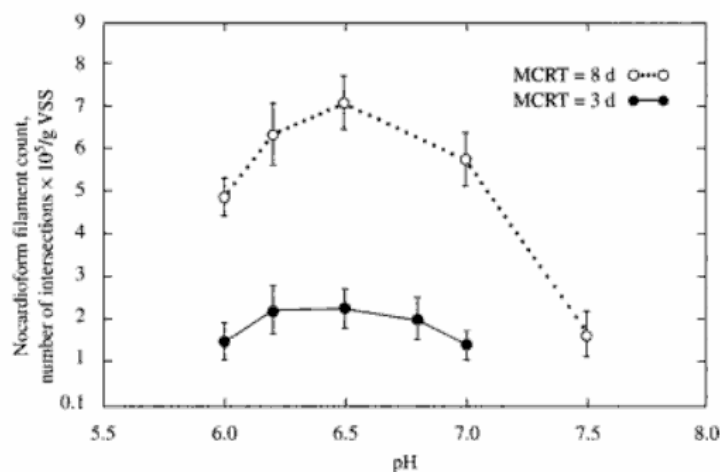
2.5.1.6. Το pH του ανάμικτου υγρού

Κάθε μικροοργανισμός μπορεί να αναπτύσσεται σε ένα συγκεκριμένο εύρος τιμών του pH. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε συστήματα ενεργού ιλύος αντιμετωπίζουν προβλήματα αναχαίτισης στη μεταβολική τους δράση για τιμές του pH μικρότερες από 6,5 και μεγαλύτερες από 8,5. Τιμές του pH μικρότερες από 6 ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων, καθώς σε όξινες μόνο συνθήκες οι μύκητες έχουν την ικανότητα να ανταγωνιστούν τα ετεροτροφικά βακτήρια στην πρόσληψη της τροφής. Γενικά, φαινόμενα διόγκωσης της ιλύος, λόγω υπερανάπτυξης μυκήτων, είναι περιορισμένα σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών λυμάτων, καθώς τα αστικά λύματα διαθέτουν αρκετή αλκαλικότητα, ώστε το pH του ανάμικτου υγρού να διατηρείται ουδέτερο ακόμη και σε περιπτώσεις πλήρους νιτροποίησης (Μαμάης και Νουτσόπουλος, 2002).

Όσον αφορά στους νηματοειδείς μικροοργανισμούς χαμηλής οργανικής φόρτισης πολύ λίγα είναι γνωστά για το εύρος του pH στο οποίο αναπτύσσονται καθώς και για τη βέλτιστη τιμή του pH. Για την ακρίβεια, αναφορές υπάρχουν μόνο για τον *M. parvicella*. Η ανάπτυξη του μικροοργανισμού αυτού δεν είναι δυνατή για τιμές του pH μικρότερες από 7,1, ενώ η βέλτιστη ανάπτυξή του παρατηρείται μεταξύ 7,7-8,0 (Slijkhuis, 1983; Slijkhuis *et al.*, 1984; Slijkhuis *et al.*, 1988). Ύστερα από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε καθαρές καλλιέργειες *M. parvicella* διαπιστώθηκε ότι η ανάπτυξή του πραγματοποιείται για τιμές του pH μεταξύ 6,7-8,4. Σ' αυτό το εύρος μάλιστα δεν παρατηρείται καμία εξάρτηση της μέγιστης ταχύτητας ανάπτυξής του από το pH (Tomei *et al.*, 1999).

Οι Cha *et al.* (1992) εξέτασαν την επίδραση του pH στην ανάπτυξη του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* σε εργαστηριακά συστήματα ενεργού

ιλύος πλήρους μίξης που λειτούργησαν σε περιοχή pH μεταξύ 6,5 και 7,5 και χρόνους παραμονής 3 και 8 ημερών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας και στους δύο χρόνους παραμονής η διακύμανση του pH επηρέασε τη συγκέντρωση των νηματοειδών όπως φαίνεται στο γράφημα 2.1:



Γράφημα 2.1: Επίδραση του pH στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* σε συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας (Cha *et al.*, 1992).

Από το διάγραμμα 2.1 είναι φανερή η μεγαλύτερη επίδραση του pH στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* στο χρόνο παραμονής των 8 ημερών συγκριτικά με το χρόνο παραμονής των 3 ημερών ωστόσο και στους δύο χρόνους παραμονής παρατηρείται μέγιστη τιμή ανάπτυξης για pH ίσο με 6,5. Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγεί την παρατήρηση των Pitt και Jenkins (1990) στα πλαίσια έρευνας που διεξήγαγαν σε εγκαταστάσεις πλήρους κλίμακας στις ΗΠΑ σχετικά με πιθανά φαινόμενα νηματοειδούς αφρισμού, ότι όλες οι ΕΕΛ που λειτουργούσαν με συστήματα αερισμού καθαρού οξυγόνου αντιμετώπιζαν προβλήματα αφρισμού λόγω του νηματοειδούς βακτηρίου *G. amarae*. Πρέπει να σημειωθεί ότι η μέση τιμή του pH σ' αυτές τις ΕΕΛ είναι κοντά στην τιμή 6,5 καθώς το ανάμικτο υγρό έρχεται σε επαφή με μια αέρια φάση πλούσια σε διοξείδιο του άνθρακα, σε αντίθεση με τις ΕΕΛ με συστήματα αερισμού με ατμοσφαιρικό αέρα που η τιμή του pH είναι περίπου 7,0. Μια μείωση του pH από 7,0 σε 6,5 συνεπάγεται αύξηση της τιμής της συγκέντρωσης των νηματοειδών κατά 20% που σε συνδυασμό με φαινόμενα παγίδευσης των νηματοειδών που υπάρχουν στα συστήματα καθαρού οξυγόνου (απομάκρυνση του ανάμικτου υγρού κάτω από την επιφάνεια του υγρού) μπορούν να δημιουργήσουν ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξή τους (Jenkins *et al.*, 1993).

Ομοίως, η έναρξη της νιτροποίησης σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του πληθυσμού των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* καθώς στις περιπτώσεις αυτές ο χρόνος παραμονής στο σύστημα είναι μεγαλύτερος από 6 ημέρες ενώ ταυτόχρονα καταναλώνεται ποσοστό της αλκαλικότητας που μπορεί ακολούθως να μειώσει και το pH (Jenkins *et al.*, 1993).

2.5.1.7. Η θερμοκρασία του ανάμικτου υγρού

Η θερμοκρασία είναι ίσως ο περιβαλλοντικός παράγοντας με τη μεγαλύτερη επίδραση στην ανάπτυξη και επιβίωση των μικροοργανισμών. Μπορεί να επηρεάσει τους μικροοργανισμούς με δύο τρόπους. Καταρχήν, αύξηση της θερμοκρασίας έχει σαν αποτέλεσμα αύξηση των χημικών και ενζυματικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα σε ένα κύτταρο και κατά συνέπεια αύξηση της ταχύτητας ανάπτυξής του. Παρόλα αυτά, σε θερμοκρασία παραπάνω από κάποιο όριο, οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα και άλλα συστατικά του κυττάρου μπορεί να καταστούν αμετακλήτως ανενεργά. Πάνω από μια δεδομένη θερμοκρασία, που είναι διαφορετική για κάθε μικροοργανισμό, καμία διεργασία δεν πραγματοποιείται από τα κύτταρα. Έτσι κάθε μικροοργανισμός έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται με αυξανόμενες ταχύτητες αναλογικά με τη θερμοκρασία μέχρι κάποιο όριο, πέρα από το οποίο λαμβάνει χώρα αδρανοποίηση των διεργασιών. Οι λόγοι για τους οποίους επέρχεται αδρανοποίηση και σε κάποιο ελάχιστο θερμοκρασίας για κάθε μικροοργανισμό δεν είναι ξεκάθαροι ακόμη. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ταχύτητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών παρουσιάζεται ενδεικτικά στο παρακάτω γράφημα 2.2.



Γράφημα 2.2: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ταχύτητα ανάπτυξης μ των μικροοργανισμών

Εκτός όμως από την επίδραση που έχει στην ταχύτητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών, η θερμοκρασία επηρεάζει και τη διαλυτότητα του οξυγόνου στο ανάμικτο υγρό. Η αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της διαλυτότητας του οξυγόνου στο ανάμικτο υγρό και την αύξηση της ταχύτητας των μεταβολικών διεργασιών που πραγματοποιούνται με κατανάλωση οξυγόνου ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Φαίνεται επομένως ότι η επίδραση της θερμοκρασίας είναι ίσως μεγαλύτερη στους νηματοειδείς μικροοργανισμούς χαμηλών συγκεντρώσεων διαλυμένου οξυγόνου. Για την αποφυγή επομένως φαινομένων διόγκωσης της ιλύος, λόγω ανάπτυξης των νηματοειδών αυτών μικροοργανισμών, απαιτείται αύξηση της παροχής του οξυγόνου, έτσι ώστε να αυξηθεί η συγκέντρωσή του στο ανάμικτο υγρό κατά τις περιόδους σημαντικής αύξησης της θερμοκρασίας (Νουτσόπουλος, 2002).

Όσον αφορά στην εποχιακή διακύμανση των μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* που εξετάζονται στην παρούσα εργασία έχει παρατηρηθεί ότι στο σύνολο σχεδόν των εγκαταστάσεων που αντιμετωπίζουν προβλήματα αφρισμού, η συγκέντρωση του *M. parvicella* περιορίζεται σε μεγάλο ποσοστό κατά τους θερινούς μήνες.

Η προνομιακή ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει αποδοθεί στη μικρότερη διαλυτότητα των λιπών στις θερμοκρασίες αυτές, τα οποία συγκεντρώνονται στην επιφάνεια της δεξαμενής και άρα ο *M. parvicella* έχει μεγαλύτερη πρόσβαση, μια θεωρία ωστόσο που δεν έχει ακόμη αποδειχθεί πειραματικά. Στα πλαίσια αυτής της θεωρίας σε υψηλές θερμοκρασίες (29°C) τα λίπη διαλυτοποιούνται και άρα χάνει ο *M. parvicella* το συγκριτικό του πλεονέκτημα και επιπλέον αναπτύσσονται άλλα βακτήρια συμπεριλαμβανομένου του *G. amarae*, τα οποία επικρατούν.

Η επίδραση της θερμοκρασίας έχει επίσης διερευνηθεί σε σχέση με την οργανική φόρτιση του συστήματος ενεργού ιλύος όσον αφορά στην ανάπτυξη του νηματοειδούς *M. parvicella*. Σύμφωνα με αποτελέσματα μικροσκοπικών αναλύσεων σε τέσσερις γερμανικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, φάνηκε ότι θερμοκρασίες της τάξης των 12°C οδηγούν σε υπερβολική ανάπτυξη του *M. parvicella* σε συστήματα χαμηλής οργανικής φόρτισης (0,08 kg/kg-d), με αποτέλεσμα οι δείκτες καθιζημασιότητας να ξεπεράσουν ακόμα και τα 390 mL/gSS (Κnoor και Kunst, 1998). Σύμφωνα με αντίστοιχα πειράματα εργαστηριακής κλίμακας, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η βέλτιστη ανάπτυξη του *M. parvicella* επιτυγχάνεται σε θερμοκρασίες κοντά στους 15 °C και σε οργανικές φορτίσεις

μικρότερες από 0,1 kg/kg-d (Miana *et al.*, 2002). Σε συμβατικά συστήματα που δεν επιτελούν απομάκρυνση θρεπτικών, η παρουσία του είναι μηδενική για όλο το εύρος των θερμοκρασιών (Knoor και Kunst, 1998).

Ο *M. parvicella* μπορεί να αναπτυχθεί χωρίς πρόβλημα, ως προς την κυριαρχία του στη βιομάζα ενός συστήματος παρατεταμένου αερισμού, ακόμα και στους 9 °C, ενώ η ανάπτυξή του συνεχίζεται απρόσκοπτα μέχρι τους 19-20 °C. Αντίθετα, για θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 20-21 °C παρατηρείται συνεχής μείωση της παρουσίας του μικροοργανισμού και για τιμές που κυμαίνονται μεταξύ 23-29 °C παρατηρείται η εξαφάνισή του (Νουτσόπουλος, 2002).

2.5.1.8. Τα χαρακτηριστικά των λυμάτων

Εκτός από τη σύσταση των λυμάτων ως προς τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών, εξίσου σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει άμεσα την καθιζηματικότητα ενός συστήματος ενεργού ιλύος είναι τα χαρακτηριστικά των λυμάτων, κυρίως ως προς την ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους κλασμάτων της οργανικής ύλης.

Η οργανική ύλη των λυμάτων αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό οργανικών ενώσεων, οι οποίες διαφέρουν ως προς το βαθμό διαθεσιμότητάς τους στους μικροοργανισμούς. Ο χαρακτηρισμός της οργανικής ύλης βασίζεται πλέον περισσότερο στη μέτρηση του COD παρά του BOD για λόγους απλότητας και ταχύτητας της μέτρησης του COD. Η οργανική ύλη των λυμάτων, εκφρασμένη ως COD, μπορεί να χωρισθεί, ανάλογα με το βαθμό βιοδιασπασιμότητάς και τη φυσική της κατάσταση, σε τέσσερα επιμέρους κλάσματα: το εύκολα βιοδιασπασίμο, το αργά βιοδιασπασίμο, το διαλυτό μη βιοδιασπασίμο (αδρανές διαλυτό) και το σωματιδιακό μη βιοδιασπασίμο (αδρανές σωματιδιακό).

Το διαλυτό και το σωματιδιακό αδρανές οργανικό φορτίο απομακρύνονται από ένα σύστημα ενεργού ιλύος χωρίς να λάβουν μέρος σε βιολογικές διεργασίες. Έτσι, το διαλυτό κλάσμα του μη βιοδιασπασίμου τμήματος της οργανικής ύλης απομακρύνεται με την τελική εκροή, ενώ το σωματιδιακό κλάσμα παγιδεύεται στις κροκίδες και απομακρύνεται με την περίσσεια ενεργό ιλύ. Όσον αφορά στο βιοδιασπασίμο κλάσμα της οργανικής ύλης, αυτό χωρίζεται σε διαλυτό και

σωματιδιακό. Υψηλές ταχύτητες βιοδιάσπασης συνδέονται με τις διαλυτές οργανικές ενώσεις και χαμηλές με τις σωματιδιακές ενώσεις (Νουτσόπουλος, 2002).

Το εύκολα βιοδιασπάσιμο κλάσμα της οργανικής ύλης αποτελείται από διαλυτές οργανικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους, των οποίων η πρόσληψη από τους μικροοργανισμούς είναι άμεση όπως και η κατανάλωσή τους είτε σε αερόβιες, είτε σε ανοξικές είτε και σε αναερόβιες συνθήκες. Έχει παρατηρηθεί ότι χρειάζονται λίγα μόλις λεπτά για την απομάκρυνση των απλών οργανικών ενώσεων από την υγρή φάση. Συνήθως οι εύκολα βιοδιασπάσιμες διαλυτές οργανικές ενώσεις αποτελούν το 10-30% του συνολικού COD των λυμάτων (Henze *et al.*, 1987; Karpeler *et al.*, 1992; Sperandio *et al.*, 2000; Andreottola *et al.*, 2001).

Με δεδομένο ότι οι περισσότεροι μικροοργανισμοί, ανάμεσά τους και η πλειοψηφία των νηματοειδών μικροοργανισμών, αναπτύσσονται με πρόσληψη και κατανάλωση του εύκολα βιοδιασπάσιμου κλάσματος της οργανικής ύλης, γίνεται κατανοητό ότι ο ανταγωνισμός για τις περιορισμένες συγκεντρώσεις τους είναι ιδιαίτερα έντονος. Στο τέλος επικρατούν οι μικροοργανισμοί αυτοί που έχουν ευκολότερη πρόσβαση στις διαλυτές εύκολα βιοδιασπάσιμες ενώσεις.

Η ταχύτητα συσσώρευσης των εύκολα βιοδιασπάσιμων ενώσεων στα κύτταρα των μικροοργανισμών είναι τόσο γρήγορη ώστε είναι πρακτικά αδύνατον να χρησιμοποιούνται από τα κύτταρα για αναβολικές και καταβολικές αντιδράσεις με τον ίδιο ρυθμό. Αποτέλεσμα του γεγονότος αυτού είναι ένα μέρος των συσσωρευμένων ενώσεων να χρησιμοποιείται για το μεταβολισμό των κυττάρων και ένα άλλο τμήμα να χρησιμοποιείται για παραγωγή εσωκυτταρικών προϊόντων αποθήκευσης. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η ικανότητα συσσώρευσης εύκολα βιοδιασπάσιμων οργανικών ενώσεων από τους μικροοργανισμούς περιορίζεται από τη διαθέσιμη από τα κύτταρα ενέργεια που απαιτείται για την συγκράτηση των ενώσεων αυτών μέσα σ' αυτά (Νουτσόπουλος, 2002).

Η παραμονή των αποθηκών άνθρακα και ενέργειας μέσα στο κύτταρο μπορεί να διαρκέσει αρκετά μεγάλα χρονικά διαστήματα, αφού η ενέργεια που απαιτείται για τη συγκράτησή τους είναι ελάχιστη. Η διαλυτότητα των αποθηκευμένων οργανικών προϊόντων είναι μικρή, με αποτέλεσμα να μην παρουσιάζεται πρόβλημα οσμωτικής πίεσης (Wanner, 1994). Αυτά τα προϊόντα επομένως μπορεί να παραμείνουν εσωκυτταρικά μέχρις ότου εξαντληθεί η εξωγενής διαθέσιμη οργανική ύλη. Γι' αυτό το λόγο, η χρησιμοποίησή τους πραγματοποιείται συνήθως στην ενδογενή φάση ανάπτυξης των μικροοργανισμών.

Η παραγωγή προϊόντων αποθήκευσης εσωκυτταρικά σε συστήματα ενεργού ιλύος στα οποία υπάρχει κλίση τροφής, είναι μία διεργασία που έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές (Cech και Chudoba, 1983; Matzuzawa *et al.*, 1991; Majone *et al.*, 1996). Σε συνθήκες που η συγκέντρωση της διαθέσιμης τροφής είναι πολύ υψηλή, με αποτέλεσμα να μην προλαβαίνουν οι μικροοργανισμοί να τη χρησιμοποιήσουν για την παραγωγή κυτταρικής μάζας (ισορροπημένη ανάπτυξη), οι μικροοργανισμοί, οι οποίοι δύνανται να αποθηκεύσουν εσωκυτταρικά οργανικές ενώσεις και να τις καταναλώσουν αργότερα για παραγωγή ενέργειας και σύνθεση βιομάζας, έχουν ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε σύγκριση με αυτούς που αδυνατούν. Αυτό ισχύει και στον ανταγωνισμό των συσσωματούμενων βακτηρίων με τα νηματοειδή.

Σύμφωνα με τις περισσότερες αναφορές (Cech και Chudoba, 1983; Wanner *et al.*, 1994; Jenkins *et al.*, 1993; Dionisi *et al.*, 2001), οι συσσωματούμενοι μικροοργανισμοί πλεονεκτούν των νηματοειδών ως προς την ικανότητά τους να αποθηκεύουν εσωκυτταρικά οργανικές ενώσεις αλλά και ως προς το ρυθμό πρόσληψης της οργανικής τροφής. Για το λόγο αυτό, επαρκής έλεγχος της νηματοειδούς διόγκωσης μπορεί να επιτευχθεί σε συνθήκες μη-ισορροπημένης ανάπτυξης (φρεάτια επιλογής), όπου επικρατούν υψηλές συγκεντρώσεις τροφής. Σε αυτές τις συνθήκες, οι συσσωματούμενοι μικροοργανισμοί πλεονεκτούν έναντι των νηματοειδών και αποθηκεύουν εσωκυτταρικά τις διαθέσιμες σε μεγάλες συγκεντρώσεις οργανικές ενώσεις, τις οποίες διασπούν και καταναλώνουν όταν βρεθούν σε συνθήκες περιορισμένης οργανικής φόρτισης.

Παρόλα αυτά, τα φρεάτια επιλογής δεν έδωσαν επιτυχή αποτελέσματα αναφορικά με τον έλεγχο της ανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών χαμηλής οργανικής φόρτισης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την πιθανή ικανότητα των μικροοργανισμών αυτών να αποθηκεύσουν εσωκυτταρικά οργανικές ενώσεις με ρυθμούς συγκρίσιμους με αυτούς των συσσωματούμενων μικροοργανισμών ή τη δυνατότητά τους να αναπτύσσονται καταναλώνοντας δύσκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις, όπως περιγράφηκε σε προηγούμενες παραγράφους. Ασφαλώς, η περιορισμένη αποτελεσματικότητα των βιοεπιλογέων μπορεί να σχετίζεται και με φαινόμενα παγίδευσης ή ανακυκλοφορίας του αφρού που μπορεί να συντηρούν ή και να επιδεινώνουν το φαινόμενο του αφρισμού.

Το δύσκολα βιοδιασπάσιμο κλάσμα του οργανικού άνθρακα χωρίζεται σε ταχέως και βραδέως υδρολύσιμο τμήμα ανάλογα με την ταχύτητα υδρόλυσης. Ταχέως υδρολύσιμες ενώσεις είναι συνήθως μεγάλου μοριακού βάρους διαλυτές ενώσεις,

κολλοειδή καθώς και μικρού μοριακού βάρους σωματιδιακές ενώσεις. Οι μεγάλοι μοριακού βάρους διαλυτές οργανικές ενώσεις και τα κολλοειδή μεταφέρονται γρήγορα στις κροκίδες μέσω φυσικής προσρόφησης, όπου και υδρολύονται μέσω κατάλληλων ενζύμων. Η ταχύτητα υδρόλυσης αυτών των ενώσεων είναι ταχύτερη, με αποτέλεσμα ο ρυθμός χρησιμοποίησης των μικρού μοριακού βάρους προϊόντων της υδρόλυσης να αποτελεί περιοριστικό παράγοντα (Νουτσόπουλος, 2002).

Ως αργά υδρολύσιμες οργανικές ενώσεις χαρακτηρίζονται σύνθετες ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους όπως λιπίδια, μεγάλου μοριακού βάρους λιπαρά οξέα, πολυσακχαρίδια, πρωτεΐνες κλπ. Πολύ σημαντικό ποσοστό του συνολικού οργανικού άνθρακα των λυμάτων που φτάνει μέχρι και το 30% αποτελούν τα λιπίδια και τα μεγάλοι μοριακού βάρους λιπαρά οξέα (ελαϊκό, παλμιτικό, στεαρικό οξύ). Η υδρόλυση των μεγάλου μοριακού βάρους οργανικών ενώσεων αποτελεί ένα σύνολο διεργασιών, οι οποίες διαφέρουν ανάλογα με το είδος της οργανικής ένωσης. Μετά την υδρόλυση των μεγάλου μοριακού βάρους οργανικών ενώσεων σε απλές διαλυτές οργανικές ενώσεις ακολουθεί μεταφορά αυτών στο εσωτερικό των κυττάρων, είτε μέσω διάχυσης (diffusion), είτε μέσω ενεργοποίησης ειδικών πρωτεϊνών μεταφοράς διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης (carrier-mediated transport), οπότε και λαμβάνουν χώρα τόσο καταβολικές (παραγωγή ενέργειας) όσο και αναβολικές αντιδράσεις (παραγωγή νέας βιομάζας) (Νουτσόπουλος, 2002).

Ένα μεγάλο πρόβλημα που απασχολεί τους ερευνητές σχετίζεται με τη διαθεσιμότητα των προϊόντων της υδρόλυσης στους συσσωματούμενους και στους νηματοειδείς μικροοργανισμούς. Καταρχήν, θεωρείται ότι τα προϊόντα της υδρόλυσης είναι εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις, άμεσα καταναλώσιμες από τους μικροοργανισμούς. Παρόλα αυτά και επειδή παράγονται πάνω και μέσα στις κροκίδες δεν είναι καθόλου σίγουρο εάν είναι το ίδιο διαθέσιμες στους μικροοργανισμούς όσο και οι εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις των λυμάτων. Οι τελευταίες εισέρχονται με τα λύματα και είναι πλήρως ομογενοποιημένες στην υγρή φάση. Έτσι, μετά την επαφή των λυμάτων με το ανάμικτο υγρό, οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί, προεξέχοντας από τις κροκίδες στην υγρή φάση, βρίσκονται σε πλεονεκτικότερη θέση για να προσλάβουν τις ενώσεις αυτές σε σύγκριση με τους συσσωματούμενους μικροοργανισμούς που βρίσκονται μέσα στις κροκίδες και επομένως υπόκεινται λόγω αντίστασης στη διάχυση σε μικρότερες συγκεντρώσεις.

Δε συμβαίνει το ίδιο όμως και με τα προϊόντα της υδρόλυσης. Ως προς αυτό έχουν διατυπωθεί δύο διαφορετικές θεωρίες. Η πρώτη ισχυρίζεται ότι τα προϊόντα της

υδρόλυσης δεν καταναλώνονται πλήρως μέσα στις κροκίδες αλλά απελευθερώνονται στην υγρή φάση που τις περιβάλλει. Εκεί καθίστανται διαθέσιμα τόσο για τους συσσωματούμενους όσο και για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς (Ekama και Marais, 1986). Η δεύτερη θεωρία ισχυρίζεται ότι, καθώς τα προϊόντα υδρόλυσης είναι παγιδευμένα μέσα στις κροκίδες, είναι πρωτίστως διαθέσιμα στους συσσωματούμενους μικροοργανισμούς που βρίσκονται μέσα σε αυτές και επομένως πολύ κοντά στα προϊόντα αυτά (λόγω της μικρής απόστασης είναι ελάχιστη η αντίσταση στη διάχυση). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η θεωρία αυτή δίνει ένα σημαντικό πλεονέκτημα στους συσσωματούμενους μικροοργανισμούς όσον αφορά στην κατανάλωση των προϊόντων της υδρόλυσης στην περίπτωση που συναγωνίζονται τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς που βρίσκονται έξω από τις κροκίδες. Παρόλα αυτά υπάρχουν νηματοειδείς μικροοργανισμοί, οι οποίοι είτε αναπτύσσονται αποκλειστικά μέσα στις κροκίδες (*Type 0092*), είτε βρίσκονται εν μέρει μέσα σε αυτές (*M. parvicella*, *Type 0041*, *Type 0675*) και επομένως δε βρίσκονται σε μειονεκτικότερη θέση από τους συσσωματούμενους μικροοργανισμούς (Kappeler και Gujer, 1992).

Αξιοσημείωτη είναι η ικανότητα του *M. parvicella* να αποθηκεύει εσωκυτταρικά πηγές οργανικού άνθρακα (Slijkhuis, 1983; Slijkhuis *et al.*, 1984; Slijkhuis *et al.*, 1988; Andreasen *et al.*, 1998; Andreasen *et al.*, 2000; Rossetti *et al.*, 2001), οι οποίες στην πλειοψηφία τους αποτελούνται από λιπίδια (λιπίδια, PHB, glycogen), τα οποία μπορούν να φθάσουν έως και το 35% του συνολικού ξηρού βάρους. Υπάρχουν βέβαια και άλλες αναφορές (Tandoi *et al.*, 1998; Tomei *et al.*, 1999; Rossetti *et al.*, 2001), σύμφωνα με τις οποίες ο *M. parvicella* μπορεί να προσλαμβάνει και να χρησιμοποιεί απλές και σύνθετες οργανικές ενώσεις σαν πηγή άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου. Η προτίμηση που παρουσιάζει ο μικροοργανισμός αυτός στα λιπαρά οξέα μεγάλου ΜΒ (ΜΑΛΟ) δεν έγκειται ίσως στην προτιμώμενη ενεργειακή αξιοποίησή τους, αλλά στο γεγονός ότι είναι πιο ανταγωνιστικός στη διεκδίκησή τους σε σχέση με τις ενεργειακά πιο συμφέρουσες εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις. Η διαπίστωση αυτή θα μπορούσε να εξηγήσει τις παραπάνω αντικρουόμενες απόψεις (Νουτσόπουλος, 2002).

Τέλος, η συγκέντρωση των τασιενεργών ενώσεων φαίνεται να ευνοεί την ανάπτυξη του *M. parvicella*. Οι δύο κυριότερες πηγές τασιενεργών είναι τα απορρυπαντικά που εισρέουν με τα λύματα και τα τασιενεργά που παράγονται από τη λύση των κυττάρων και αποτελούν και οι δύο μαζί, πηγές απελευθέρωσης σημαντικών συγκεντρώσεων ΜΑΛΟ για την ανάπτυξη του *M. parvicella*.

2.5.2. Πρόληψη και αντιμετώπιση του προβλήματος

Στις προηγούμενες παραγράφους επιχειρήθηκε να δοθεί απάντηση στο ερώτημα πώς αποκτούν οι *G. amarae* και *M. parvicella* το συγκριτικό πλεονέκτημα έναντι των υπολοίπων συσσωματούμενων βακτηρίων; Έτσι υπάρχουν θεωρίες σχετικά με την κινητική στρατηγική των μικροοργανισμών που αποδίδουν στο *G. amarae* στρατηγική τύπου k_s και άλλες που του αποδίδουν στρατηγική τύπου μ_{max} ή και ικανότητα εναλλαγής μεταξύ των δύο τύπων στρατηγικής. Οι Stephanopoulos και Hendrickson το 1979 υποστήριξαν ότι ο μικροοργανισμός αναπτύσσεται σε μικροπεριβάλλοντα που ενισχύουν την ανάπτυξη του ενώ οι Blackall *et al.* το 1985 ανέπτυξε ένα μαθηματικό μοντέλο στο οποίο ο αφρός που σχηματίζεται αρχικά, αποτελεί πηγή επανατροφοδότησης των *G. amarae* στο ανάμικτο υγρό και άρα παρεμποδίζει την έκπλυσή του από το σύστημα.

Όσον αφορά στην κινητική ανάπτυξη του *M. parvicella*, εξάγεται το συμπέρασμα ότι αναπτύσσεται σε σχετικά υψηλές τιμές του χρόνου παραμονής της βιολογικής λάσπης και άρα ο *M. parvicella* ευνοείται σε συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών. Επιπλέον, ο μικροοργανισμός ευνοείται σε συστήματα ενεργού ιλύος που παρουσιάζουν παροδικά (χωρικά ή χρονικά) χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου, όπως συμβαίνει στα συστήματα απομάκρυνσης θρεπτικών, καθώς και στις χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα. Έτσι σε πολλές ΕΕΛ παρουσιάζεται το φαινόμενο της εμφάνισης του το φθινόπωρο, της έναρξης του αφρισμού στις αρχές του χειμώνα και της σταδιακής μείωσης του την άνοιξη. Η προνομιακή ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει αποδοθεί στη μικρότερη διαλυτότητα των λιπών στις θερμοκρασίες αυτές, τα οποία έτσι συγκεντρώνονται στην επιφάνεια της δεξαμενής και άρα ο *M. parvicella* έχει μεγαλύτερη πρόσβαση, μια θεωρία ωστόσο που δεν έχει ακόμη αποδειχθεί πειραματικά. Στα πλαίσια αυτής της θεωρίας σε υψηλές θερμοκρασίες (29°C) τα λίπη διαλυτοποιούνται και άρα χάνει ο *M. parvicella* το συγκριτικό του πλεονέκτημα και επιπλέον αναπτύσσονται άλλα βακτήρια τα οποία τελικώς τον υπερνικούν.

Έτσι από τα παραπάνω προκύπτουν οι στρατηγικές για την αντιμετώπιση του αφρισμού, οι οποίες έχουν αναπτυχθεί και εφαρμοστεί με επιτυχία σε

συγκεκριμένες περιπτώσεις. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα παρακάτω προληπτικά αυτά μέτρα δεν εξαλείφουν τους νηματοειδείς αλλά μάλλον διατηρούν τον πληθυσμό τους κάτω από επίπεδα αφρισμού.

- Μείωση του χρόνου παραμονής στερεών για την έκπλυση από το σύστημα των βραδέως αναπτυσσόμενων μικροοργανισμών.
- Προσθήκη φρεατίων επιλογής για τη δημιουργία περιβάλλοντος με συγκριτικό μειονέκτημα για τους νηματοειδείς, ενθαρρύνοντας την ανάπτυξη των ανταγωνιστών τους.
- Δέσμευση των ελεύθερων νηματοειδών στα συσσωματώματα ενεργού ιλύος με τη χρήση κατιονικών πολυμερών υψηλού βάρους.
- Πρόληψη της παγίδευσης του αφρού στο σύστημα ενεργού ιλύος. Ο παγιδευμένος αφρός δίνει στους νηματοειδείς μεγαλύτερο πραγματικό χρόνο παραμονής από αυτό του συστήματος.
- Επιλεκτική απόρριψη του αφρού, προκειμένου να χρησιμοποιηθεί η τάση των νηματοειδών να συγκεντρώνονται στον αφρό εναντίον τους. Με αυτό τον τρόπο ο πραγματικός χρόνος παραμονής τους στο σύστημα μπορεί να μειωθεί κάτω από τον χρόνο παραμονής του συστήματος εντείνοντας έτσι την έκπλυσή τους από αυτό.

Στην επιλεκτική απόρριψη του αφρού, ο ακάθαρτος αφρός συνήθως στέλνεται στις διεργασίες διαχείρισης στερεών, όπου αν η ποσότητα των νηματοειδών αυξηθεί επαρκώς, μπορεί να προκαλέσει σοβαρά επεισόδια αφρισμού εκεί. Μια πιθανή λύση σε αυτό το πρόβλημα είναι η επεξεργασία του δευτεροβάθμιου ακάθαρτου αφρού ανάντη των αναερόβιων χωνευτήρων για την καταστροφή ή απενεργοποίηση των νηματοειδών. Μία τέτοια μέθοδος που έχει μελετηθεί πιλοτικά είναι η θερμική υδρόλυση των *G. amarae* (Marneri και Jolis, 2006).

Παρακάτω αναπτύσσονται με μεγαλύτερη λεπτομέρεια οι προαναφερθείσες μέθοδοι ελέγχου των νηματοειδών μικροοργανισμών.

Μείωση του χρόνου παραμονής στερεών για την έκπλυση από το σύστημα των βραδέως αναπτυσσόμενων νηματοειδών μικροοργανισμών.

Η μείωση του χρόνου παραμονής της βιομάζας στο σύστημα ενεργού ιλύος μπορεί να αποδειχτεί αποτελεσματική τεχνική για την έκπλυση του *M. Parvicella* εφόσον όπως συζητήθηκε σε προηγούμενες παραγράφους αναπτύσσεται σε σχετικά μεγάλους χρόνους παραμονής. Χρειάζεται προσοχή στα συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης θρεπτικών ώστε ο χρόνος παραμονής να μη μειωθεί περισσότερο

από τον ελάχιστο χρόνο που απαιτείται για τις μικροβιολογικές διεργασίες απομάκρυνσης αζώτου αλλά και στα υπόλοιπα συστήματα χρειάζεται προσοχή ώστε η μείωση του χρόνου παραμονής να είναι καθολική για όλο το σύστημα ανάμικτου υγρού - αφρού.

Ο ελάχιστος χρόνος παραμονής που απαιτείται για την ανάπτυξη του νηματοειδούς μικροοργανισμού *M. parvicella* κυμαίνεται μεταξύ 5,2 - 6,0 ημέρες για θερμοκρασίες 14 - 18°C. Ο μέγιστος χρόνος παραμονής στερεών για την αποφυγή του νηματοειδούς αφρισμού σε συστήματα προαπονιτροποίησης είναι οι 6 ημέρες για θερμοκρασίες μικρότερες από 18°C. Η μείωση του χρόνου παραμονής έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της υδροφοβικότητας των κυττάρων του νηματοειδούς *M. parvicella*, η οποία αφαιρεί από τον μικροοργανισμό τον κυρίαρχο μηχανισμό που του δίνει την ικανότητα να επιπλέει και επομένως εξαλείφει τα φαινόμενα αφρισμού. Αυτή η μείωση όμως δε συντελεί και σε πλήρη αδυναμία ανάπτυξης του μικροοργανισμού πιθανότατα λόγω κατανάλωσης των εσωκυτταρικά αποθηκευμένων οργανικών ενώσεων. Έτσι η συνεχής αύξηση της οργανικής φόρτισης ενός συστήματος έχει ως αποτέλεσμα πρώτα την απομάκρυνση του φαινομένου του νηματοειδούς αφρισμού και στη συνέχεια την απομάκρυνση του μικροοργανισμού *M. parvicella* (Νουτσόπουλος, 2002).

Ο έλεγχος των *G. amarae* με μείωση του χρόνου παραμονής στερεών αποτελεί επιτυχημένη τεχνική όταν ο χρόνος παραμονής στερεών μειωθεί σε τιμή μικρότερη των 2-3 ημερών. Ωστόσο, η έκπλυση των *G. amarae* από το σύστημα δεν είναι εφικτή στην περίπτωση παγίδευσης του αφρού. Επίσης, η μείωση του χρόνου παραμονής κάτω από 2-3 ημέρες δεν είναι δυνατή στην περίπτωση εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων με απομάκρυνση θρεπτικών εφόσον αυτού του τύπου οι ΕΕΛ λειτουργούν με χρόνο παραμονής μεγαλύτερο από 5 μέρες.

Προσθήκη φρεατίων επιλογής για τη δημιουργία περιβάλλοντος με συγκριτικό μειονέκτημα για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς, ενθαρρύνοντας την ανάπτυξη των ανταγωνιστών τους.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί έχουν μεγαλύτερους μέγιστους ρυθμούς ανάπτυξης και πρόσληψης τροφής από τους συσσωματούμενους σε συνθήκες που επικρατούν χαμηλές συγκεντρώσεις οργανικής ύλης. Έτσι εξηγείται η υπερβολική ανάπτυξή τους σε συστήματα πλήρους μίξης, ενώ η συγκέντρωσή τους περιορίζεται όταν οι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε συνθήκες έντονης κλίσης τροφής, όπως αυτές που επικρατούν σε συστήματα εμβολοειδούς ροής ή όταν προστίθενται στο σύστημα φρεατία επιλογής (Chudoba *et al.*, 1992).

Σχετικά με τον έλεγχο του μικροοργανισμού *M. parvicella*, οι Mamais *et al.* (1998) έδειξαν ότι συστήματα εμβολοειδούς ροής μειώνουν τη συγκέντρωση των μικροοργανισμών συγκριτικά με τα συστήματα πλήρους μίξης. Στην περίπτωση αυτή οι ανοξικοί ή αναερόβιοι επιλογείς μπορεί να αποδειχτούν αποτελεσματικοί στον έλεγχο του νηματοειδούς *M. parvicella* (Νουτσόπουλος, 2002).

Για τον έλεγχο του νηματοειδούς *G. amarae* η εφαρμογή αερόβιου επιλογέα μπορεί να αποδειχτεί αποτελεσματικό μέτρο σε χρόνο παραμονής του συστήματος ίσο με 5 ημέρες ενώ η αποτελεσματικότητα του περιορίζεται σε μεγαλύτερους χρόνους παραμονής. Από την άλλη η προσθήκη ανοξικού επιλογέα μπορεί να αποδειχτεί αποτελεσματική και σε μεγαλύτερους χρόνους παραμονής (12 ημέρες) (Cha *et al.*, 1992). Σχετικά με την εφαρμογή αναερόβιων επιλογέων για τον έλεγχο της ανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* δεν έχει αποδειχτεί η αποτελεσματικότητά τους (Jenkins, 1993).

Σε κάθε περίπτωση τα θετικά αποτελέσματα των επιλογέων μπορούν να αντισταθμιστούν στην περίπτωση παγίδευσης του αφρού ή/ και ανακύκλωσης των νηματοειδών μικροοργανισμών μέσω των ροών των στραγγιδίων των διεργασιών επεξεργασίας της ιλύος.

Δέσμευση των ελεύθερων νηματοειδών στα συσσωματώματα ενεργού ιλύος με τη χρήση κροκιδωτικών.

Η προσθήκη κροκιδωτικών σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος αποσκοπεί κυρίως στην αύξηση της ταχύτητας καθίζησης λόγω αύξησης του ειδικού βάρους της ιλύος και δε σχετίζεται άμεσα με την απομάκρυνση των νηματοειδών μικροοργανισμών από το σύστημα. Τα συνηθέστερα ανόργανα κροκιδωτικά που χρησιμοποιούνται είναι ο κλωριούχος και ο θειικός σίδηρος, το θειικό αργίλιο, τα κλωριούχα πολυαργιλικά υδροξείδια χαμηλής και υψηλής βασικότητας. Η χρήση τέτοιων ανόργανων αλάτων του σιδήρου και του αργιλίου χρησιμοποιούνται συνήθως για την υποβοήθηση της απομάκρυνσης του φωσφόρου. Παρόλα αυτά η χρησιμοποίησή τους συνδέεται σε μερικές περιπτώσεις και με ταυτόχρονη απομάκρυνση ορισμένων νηματοειδών μικροοργανισμών (Yamatomo *et al.*, 1998).

Οι συνηθέστερα εφαρμοζόμενες δόσεις αλάτων αργιλίου και σιδήρου κυμαίνονται μεταξύ 50 και 60 mg/L Al και 10-14 mg/L Fe αντίστοιχα. Η μέθοδος αυτή είναι περισσότερο επιτυχής στην καταπολέμηση της νηματοειδούς διόγκωσης παρά στην περίπτωση του αφρισμού. Μειονέκτημα αυτής της μεθόδου αποτελεί η σημαντική αύξηση της παραγωγής ιλύος (15-25%) (Νουτσόπουλος, 2002).

Σε περιπτώσεις που είναι αναγκαία η άμεση βελτίωση της καθαρισιμότητας ενός συστήματος πραγματοποιείται προσθήκη συνθετικών πολυμερών. Ο τύπος του πολυμερούς και η δόση του θα πρέπει να υπολογίζονται για κάθε περίπτωση χωριστά. Συνήθως χρησιμοποιούνται κατιονικοί πολυηλεκτρολύτες ή συνδυασμός ανιονικών και κατιονικών πολυηλεκτρολυτών. Η μέθοδος αυτή, αν και έχει ιδιαίτερα υψηλό κόστος, θεωρείται αρκετά επιτυχής στην καταπολέμηση τόσο της νηματοειδούς διόγκωσης όσο και του αφρισμού. Οι τυπικά εφαρμοζόμενες δόσεις κυμαίνονται μεταξύ 2 και 6 mg/L. Η προσθήκη γίνεται συνήθως στην έξοδο της δεξαμενής αερισμού σε θέσεις καλής ανάμιξης. Πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής σε σχέση με την προσθήκη ανόργανων κροκιδωτικών είναι η περιορισμένη αύξηση της περισσειας ιλύος (Νουτσόπουλος, 2002).

Η προσθήκη κροκιδωτικών έχει μελετηθεί για την αντιμετώπιση του φαινομένου του αφρισμού που έχει προκληθεί από την υπερανάπτυξη του *M. parvicella*. Εκτεταμένα έχει διερευνηθεί η αποτελεσματική δράση του χλωριούχου πολυαλουμινίου (PAX), το οποίο φαίνεται να έχει εξειδικευμένη δράση ως προς τον *M. parvicella*. Η δράση του δεν έχει αποδειχτεί αλλά υποθέσεις έχουν γίνει σχετικά με αλλαγή στις υδροφοβικές ιδιότητες του μικροοργανισμού και στη συσσώρευση λιπών τα οποία στη συνέχεια παγιδεύονται στο εσωτερικό των βιοκροκιδών (Nielsen *et al*, 2005).

Πιο συγκεκριμένα, το PAX ή PAX-14 ή χλωριούχο πολυαργιλικό υδροξείδιο είναι ένα κροκιδωτικό ή πηκτικό μέσο που χρησιμοποιείται ευρέως στην επεξεργασία νερού και λυμάτων. Ο αριθμός 14 αναφέρεται στο ειδικό βάρος του χημικού. Σύμφωνα με τους Nielsen *et al.*, (2005) ο ακριβής χημικός τύπος του PAX-14 είναι $Al_{13}O_4(OH)_{24}(H_2O)_{12}^{7+}$ και παράγεται από το $Al(OH)_3$ σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης. Τα PAX-14 και PAX-18 χρησιμοποιούνται σε διάφορες χώρες με επιτυχία στον έλεγχο του αφρισμού- συγκεκριμένα στη Δανία το PAX -14 εφαρμόστηκε επιτυχώς σε 91 από τις 500 εγκαταστάσεις επεξεργασίας με βιολογική απομάκρυνση θρεπτικών.

Το PAX θεωρείται ως το καλύτερο μέσο για την αντιμετώπιση του *M. parvicella*, καθώς καταργεί το σημαντικότερο πλεονέκτημα του μικροοργανισμού σε σχέση με τους υπόλοιπους νηματοειδείς. Αναστέλλει δηλαδή, την ικανότητά του να καταναλώνει λίπη περιορίζοντας τη δραστηριότητα των εξωκυτταρικών ενζύμων (λιπάσες) της επιφάνειας του μικροοργανισμού, μειώνοντας έτσι την ανταγωνιστικότητά του (Nielsen *et al.*, 2005).

Για την αντιμετώπιση του *M. parvicella*, το PAX-14 μπορεί να χορηγείται είτε στην ανακυκλοφορία ιλύος είτε στην έξοδο της δεξαμενής αερισμού. Η επίδρασή του είναι ταχύτερη όταν η προσθήκη γίνεται στην ανακυκλοφορία, όπου το PAX δεν στοχεύει στην απομάκρυνση του φωσφόρου αλλά μπορεί να προσκολληθεί στην επιφάνεια του *M. parvicella* και πιθανώς να μπορεί να εμποδίσει την πρόσληψη λιπαρών οξέων μεγάλου μοριακού βάρους.

Οι Jakobsen *et al.*, (1998) περιγράφουν τα αποτελέσματα της λειτουργίας μίας Δανέζικης ΕΕΛ (4 γραμμές λειτουργίας) με απομάκρυνση N και P. Ύστερα από αλλαγή του κροκιδωτικού από χλωριούχο σίδηρο σε χλωριούχο πολυαργιλικό υδροξείδιο οι ερευνητές παρατήρησαν βελτίωση της καθιζησιμότητας (μείωση του δείκτη καθιζησιμότητας από 200-300 σε <150 ml/gSS) ακόμα και σε μικρές δόσεις κροκιδωτικού (14 gr Al/ kgMLSS). Ωστόσο, οι ερευνητές σημειώνουν ότι δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση της δόσης του PAX 14 με τη συγκέντρωση του *M. parvicella* (μετρούμενου ως τμήσεις κατά Gram/gSS) και επομένως δεν αποδείχτηκε ότι η βελτίωση της καθιζησιμότητας οφειλόταν στον περιορισμό του μικροοργανισμού αυτού. Ως μειονέκτημα της χρήσης του PAX 14 αναφέρεται η αναχαίτιση της νιτροποίησης (για δόσεις μεγαλύτερες από 15 gr Al/ kgMLSS).

Τα αποτελέσματα της προσθήκης PAX-14 στη μικροβιολογία και στη μορφολογία του *M. parvicella* σε εννιά διαφορετικές εγκαταστάσεις στο Βέλγιο μελέτησαν οι T. Roels *et al.* σε μια έρευνα που διεξήχθη από το Νοέμβριο του 1999 μέχρι το Φεβρουάριο του 2001. Όλες οι εγκαταστάσεις ήταν συστήματα ενεργού ιλύος χαμηλής φόρτισης που αντιμετώπιζαν προβλήματα διόγκωσης ή αφρισμού με κυρίαρχο νηματοειδή μικροοργανισμό το *M. parvicella*. Το PAX-14 εφαρμόστηκε όταν όλες οι υπόλοιπες μέθοδοι, όπως αύξηση της συγκέντρωσης οξυγόνου και μείωση του αριθμού των συνολικών αιωρούμενων στερεών ή η επαναλαμβανόμενη αφαίρεση του επιφανειακού στρώματος αφρού, αποδείχτηκαν ανεπαρκείς.

Αντιθέτως, με τη χρήση του PAX επιτεύχθηκε μείωση των υψηλών τιμών SVI και έλεγχος των προβλημάτων αφρισμού. Εργαστηριακές δοκιμές έδειξαν ότι η κρίσιμη δόση του PAX -14 ήταν μεταξύ 150 και 250 $\mu\text{L/L}$ (ή 7 και 12 $\text{g Al}^{3+}/\text{kg MLSS}$) για συγκέντρωση MLSS 2g/l. Για δόσεις μεγαλύτερες των 250 $\mu\text{L/L}$, παρατηρήθηκε αύξηση ελεύθερων βακτηριδίων και μείωση της δραστηριότητας των πρωτόζωων ενώ δόσεις 500 και 1000 $\mu\text{L/L}$ προκάλεσαν το θάνατο μέρους της βιομάζας. Σε πειράματα πραγματικής κλίμακας οι δόσεις του PAX κυμάνθηκαν μεταξύ 1,5 και 4,5 $\text{g Al}^{3+}/\text{kg MLSS}$.

Στην εν λόγω εργασία πριν την προσθήκη του κροκιδωτικού αφαιρέθηκε το επιφανειακό στρώμα αφρού έτσι ώστε ο ρυθμός χορήγησης του κροκιδωτικού να είναι ο χαμηλότερος δυνατός. Η απομάκρυνση του στρώματος αυτού είναι απαραίτητη προκειμένου να εξασφαλιστεί η γρήγορη επίδραση των αλάτων του αργιλίου στον *M.Parvicella*. Ουσιαστικά αυτή η επιπλέουσα σταθερή μάζα αφρού αποτελεί μια αυτόνομη μικροβιακή νησίδα μέσα στην οποία το αργίλιο μπορεί να διεισδύσει μέχρι ένα συγκεκριμένο βαθμό. Η χορήγηση των δόσεων πρέπει να συνδυάζεται με υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου στη δεξαμενή αερισμού (μεγαλύτερη από 2,5 mg/l) και χαμηλή συγκέντρωση MLSS (μικρότερη από 2,5g/l) αφού ο *M.parvicella* ευδοκίμει σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου. Η διάρκεια τροφοδότησης του συστήματος με PAX -14 ήταν ίση με τρεις εβδομάδες οπότε και περιορίστηκε η ποσότητα των νηματοειδών και μεταβλήθηκαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του *Microthrix parvicella*. Άλλοι νηματοειδείς μικροοργανισμοί όπως οι *Nostocoida limicola* και *G. amarae* έμειναν ανεπηρέαστοι.

Ο μηχανισμός ελέγχου του νηματοειδούς αφρισμού με την προσθήκη του PAX-14 αποτέλεσε αντικείμενο έρευνας από τους Nielsen *et al.* (2005). Στόχος ήταν να διευκρινιστεί κατά πόσο η επιτυχία του PAX-14 σχετιζόταν με τη φυσιολογία του *M.parvicella*, την ικανότητα πρόσληψης τροφής, τα χαρακτηριστικά της κυτταρικής του επιφάνειας και τη δράση των λιπασών ή εάν υπήρχε και κάποιος άλλος δυνατός μηχανισμός. Μετά την προσθήκη του PAX-14 παρατηρήθηκε μέσω μικροσκοπικών αναλύσεων μείωση του ρυθμού κατανάλωσης λιπών, η οποία ερμηνεύτηκε ως αποτέλεσμα της επίδρασης του PAX στη μορφολογία του *M.parvicella* ή στην ικανότητά του να μεταφέρει τροφή στο εσωτερικό του κυττάρου. Δε σημειώθηκε κάποια αλλοίωση των χαρακτηριστικών της υδρόφοβης κυτταρικής επιφάνειας αλλά μια σημαντική μείωση της δραστηριότητας των εξωκυτταρικών ενζύμων. Η παραγωγή λιπασών δεν αναχαιτίστηκε, καταδεικνύοντας έτσι την ανάγκη για συνεχή τροφοδότηση του συστήματος με PAX. Επιπροσθέτως, καθώς το PAX είναι ένα ισχυρό κροκιδωτικό μέσο, συνέβαλε στη διαμόρφωση συμπαγών κροκιδών μέσα στις οποίες βρέθηκε και ο *M.parvicella* με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η πρόσληψη τροφής μέσω διάχυσής της δια της κυτταρικής μεμβράνης. Επομένως, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το PAX έχει αποτελεσματική δράση έναντι του αφρισμού μέσω τριών μηχανισμών: α) τη μεταβολή της φυσιολογίας των λιπασών και εν μέρει την αναχαίτιση της παραγωγής τους, β) την αύξηση της δυσκολίας προσβασιμότητας στο εσωτερικό του κυττάρου και γ) την επίτευξη καλύτερης κροκίδωσης.

Εκτός από το PAX-14 έχουν εξεταστεί και διάφορα άλλα άλατα του αργιλίου για την αντιμετώπιση του αφρισμού. Δεν έχει διευκρινιστεί αν η επιτυχής ή όχι δράση τους εξαρτάται από τον τύπο του άλατος ή τις λειτουργικές παραμέτρους της κάθε εγκατάστασης. Στην εργασία των Nielsen *et al.* εξετάστηκαν ορισμένα άλατα του Al όπως το $Al(OH)_3$, το οποίο προκάλεσε μια μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας ανάλογη αυτής που προκλήθηκε από το PAX, η οποία όμως ήταν πολύ μικρής διάρκειας και η δραστηριότητα επανήλθε στο αρχικό της επίπεδο έπειτα από δύο ώρες, γεγονός που αιτιολογεί την μεγαλύτερη δραστικότητα του PAX.

Η αποτελεσματικότητα του χλωριούχου αργιλίου $AlCl_3$ εξετάστηκε από τους Paris *et al.* (2003), οι οποίοι έδειξαν ότι για δόση $3,5g Al^{3+}/kg.d$ επιτεύχθηκε μια βελτίωση των χαρακτηριστικών καθιζημασιότητας της ενεργού ιλύος. Μειώθηκε η συχνότητα εμφάνισης του *M. parvicella* και κατά συνέπεια ο πληθυσμός των νηματοειδών μικροοργανισμών συνολικά. Παρατηρήθηκαν μορφολογικές τροποποιήσεις, μείωση της υδροφοβικότητας και της τάσης επίπλευσης της ιλύος. Η απώλεια της υδροφοβικότητας σχετίστηκε με την αλληλεπίδραση του αργιλίου με τις λιπόφιλες ουσίες και τη λιποφιλική επιφάνεια του *M. parvicella* που μπορεί να οδήγησε σε μια χαλαρότερη προσκόλληση και άρα σε μία στέρηση τροφής για το βακτήριο. Μετά τη διακοπή της χορήγησης του $AlCl_3$ οι λιποφιλικές ουσίες συσσωρεύτηκαν στο σύστημα και ήταν διαθέσιμες σαν υδρολύσιμη τροφή για τον *M. parvicella*. Ωστόσο, για το χρονικό διάστημα που τα νήματα ήταν εγκλωβισμένα μέσα στις κροκίδες η ενεργός ιλύς εξακολουθούσε να έχει ικανοποιητικά χαρακτηριστικά καθιζημασιότητας.

Από τα αποτελέσματα πειραμάτων εργαστηριακής και πλήρους κλίμακας, οι Hwang *et al.*, (1998) βρήκαν ότι η χρήση πολυακρυλαμιδικού κατιονικού πολυμερούς είχε μερική επιτυχία στην απομάκρυνση του νηματοειδούς βακτηριδίου *M. parvicella* από το σύστημα. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι σημαντική επιτυχία ως προς την απομάκρυνση του μικροοργανισμού είχαν με τη χρήση ενός άλλου πολυτετραδικού αμμωνιακού κατιονικού πολυμερούς (polyquaternary ammonium-based anti-filament polymer - AFP). Τα πειράματα εφαρμογής πεδίου επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα και μάλιστα δεν παρατηρήθηκε κάποια αξιοσημείωτη μεταβολή της ποιότητας εκροής πριν και μετά την τροφοδότηση με το πολυμερές .

Παρομοίως, για τον έλεγχο των *G. amarae* έχει μελετηθεί η δοσομέτρηση κατιονικού πολυμερούς στη γραμμή ανακυκλοφορίας ιλύος στη δεξαμενή αερισμού του συστήματος ενεργού ιλύος. Η υδρόφιλη φύση του πολυμερούς μειώνει την επιφανειακή τάση μεταξύ των φυσαλίδων και των ενισχυμένων με *G. amarae*

συσσωματωμάτων μειώνοντας έτσι την τάση τους να συγκεντρώνονται στον αφρό και επιτρέποντας την απόρριψη τους μέσω της ιλύος στην ίδια αναλογία με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς. Μια ενδεικτική δόση είναι 0,5mg/L του πολυακρυλαμιδικού κατιονικού πολυμερούς Clarifloc LA-2691 στο ανάμεικτο υγρό (εισερχόμενη παροχή 64ML/d) (Shao *et al.*, 1997)

Το Φεβρουάριο του 1994 στην ΕΕΛ Terminal Island Treatment Plant στο Los Angeles της Καλιφόρνιας παρουσιάστηκαν έντονα προβλήματα αφρισμού εξαιτίας του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae*. Προσπάθειες αντιμετώπισης του αφρισμού με μεθόδους όπως μείωση του μέσου χρόνου παραμονής και αφαίρεση του αφρού δεν είχαν επιτυχία. Τον Απρίλιο του ίδιου έτους προστέθηκε στην εγκατάσταση ένα κατιονικό πολυμερές, με αποτέλεσμα μέσα σε τρεις μέρες να μειωθεί ο αφρός. Το κατιονικό πολυμερές μπόρεσε να περιορίσει το φαινόμενο του αφρισμού συνενώνοντας τα διεσπαρμένα νήματα του *G.amarae*, ενσωματώνοντάς τα στα συσσωματώματα ενεργού ιλύος, και έτσι μειώνοντας την τάση τους να δημιουργήσουν αφρό. Με τον τρόπο αυτό μετατοπίστηκε η ισορροπία των *G.amarae* μεταξύ του ανάμικτου υγρού και του στρώματος αφρού και οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί έχασαν το πλεονέκτημα της παγίδευσής τους στον αφρό. Με τον τρόπο αυτό μπόρεσε πλέον να γίνει η απομάκρυνση των μικροοργανισμών από το σύστημα ενεργού ιλύος με ρυθμό ίσο με αυτό των υπόλοιπων μικροοργανισμών του ανάμικτου υγρού.

Η αποτελεσματικότητα του κατιονικού πολυμερούς επιβεβαιώθηκε και με μια σειρά πειραμάτων που έγιναν από τους Y.J.Shao *et al.* (1997), οι οποίοι συνέστησαν προσθήκη στο ανάμεικτο υγρό δόσης ίσης με 0.5mg/l του πολυαργιλικού κατιονικού πολυμερούς Clarifloc LA-2691. Οι συγγραφείς έδειξαν ότι η προσθήκη μικρών ποσοτήτων κατιονικού πολυμερούς στη δεξαμενή αερισμού μπορεί να ελαττώσει σημαντικά τον αφρισμό που προκαλείται από τον *G.amarae*. Παρατήρησαν ότι η μείωση αυτή του αφρού δε συνοδεύτηκε από ανάλογη πτώση του πληθυσμού των *G.amarae* μικροοργανισμών. Οι ερευνητές επιβεβαίωσαν ότι το πολυμερές συσσωματώνει τα ελεύθερα νημάτια των *G. amarae* στις κροκίδες ενεργού ιλύος με αποτέλεσμα να καλύπτεται η ελεύθερη υδρόφοβη επιφάνειά τους μέσω της οποίας θα μπορούσαν να προσκολληθούν στις φυσαλίδες αέρα και άρα να εμποδίζεται ο σχηματισμός νηματοειδούς αφρισμού. Η θέση χορήγησης του πολυμερούς μπορεί να είναι είτε το κανάλι ανακυκλοφορίας της ιλύος είτε στα κανάλια μεταφοράς του ανάμικτου υγρού.

Στην εγκατάσταση San Jose στην Καλιφόρνια η εφαρμογή του κατιονικού πολυμερούς έγινε σε περιόδους τριών έως δέκα ημερών. Κατά την πρώτη περίοδο (Ιούλιος 1996) τα επίπεδα αφρισμού και διόγκωσης της δεξαμενής αερισμού μειώθηκαν αρκετά μετά από μία μέρα διακοπτόμενης χορήγησης δόσης κροκιδωτικού ίσης με 0.5 mg/l. Μετά από δύο με τρεις μέρες συνεχούς τροφοδότησης με την ίδια δόση ο αφρός εξαφανίστηκε. Κατά τη διάρκεια της δεύτερης ερευνητικής περιόδου (Ιανουάριος με Μάρτιος 1997) προσθήκη δόσης πολυμερούς ίσης με 0.2 mg/l οδήγησε σε έλεγχο του προβλήματος του αφρισμού αλλά όχι σε πλήρη εξάλειψή του οπότε η δόση αυξήθηκε σε 0.4 - 0.5 mg/l. Κατά την τρίτη περίοδο (Απρίλιος 1997) τα επιθυμητά αποτελέσματα ήρθαν άμεσα με χορήγηση δόσης 0.35 mg/l (Ekster and Jenkins, 1999).

Τέλος, σε εργασία των Jolis *et al.* (2006), η προσθήκη πολυμερούς αποδείχτηκε αποτελεσματική μόνο όταν σημαντικό ποσοστό των *G. amarae* είχε μεταφερθεί στη φάση του αφρού.

Οξειδωση του πληθυσμού των νηματοειδών μικροοργανισμών

Ο έλεγχος του αφρισμού από την υπερανάπτυξη νηματοειδών μπορεί να πραγματοποιηθεί με την προσθήκη οξειδωτικών ουσιών όπως χλώριο, υπεροξείδιο του υδρογόνου και όζον. Η αποτελεσματικότητα των ουσιών αυτών έχει μελετηθεί σε ΕΕΛ με απομάκρυνση θρεπτικών και τα συμπεράσματα που προέκυψαν ήταν ότι η χλωρίωση είναι η πιο οικονομική μέθοδος, ότι το υπεροξείδιο του υδρογόνου ελέγχει τον αφρισμό μόνο προσωρινά και ότι το όζον είναι αποτελεσματικό και σε χαμηλές δόσεις (Saayman *et al.*, 1998).

Υπάρχουν διάφορες εναλλακτικές θέσεις προσθήκης του χλωρίου. Από αυτές η τεχνική της χλωρίωσης της ιλύος που επιστρέφει στο σύστημα αερισμού δεν είναι ιδιαίτερα επιτυχής γιατί οι νηματοειδείς περιέχονται μέσα στα συσσωματώματα και άρα περιορίζεται η έκθεσή τους στο χλώριο εκτός και αν εφαρμοστεί μεγάλη δόση για να καταστραφούν πρώτα τα συσσωματώματα. Ωστόσο τέτοιες δόσεις δεν προτείνονται γιατί υποβαθμίζουν την ποιότητα της τελικής εκροής.

Ένας πολύ πιο αποτελεσματικός τρόπος χλωρίωσης είναι ο ψεκασμός του στην επιφάνεια της δεξαμενής αερισμού. Η μέθοδος αυτή έχει εφαρμοστεί με επιτυχία σε αρκετές ΕΕΛ στο εξωτερικό. Σε μια περίπτωση τοποθετήθηκαν καλύμματα στο τρίτο πέρασμα μιας δεξαμενής αερισμού με τέσσερα περάσματα. Ο αφρός εισέρχονταν στο κάλυμμα με το ανάμεικτο υγρό και ψεκάζονταν με ρυθμό 10L/min με διάλυμα χλωρίου που περιείχε 2000-3000mgCl₂/L. Χρησιμοποιώντας δόση στην περιοχή 0.5-

1 mgCl₂/L ανάλογα με την ροή των λυμάτων, ο αφρός από τους *G. amarae* εξαλείφθηκε από το σύστημα σε ορισμένες περιπτώσεις μέσα σε 1-2 μέρες χωρίς υποβάθμιση της ποιότητας της τελικής εκροής. Αυτή η τεχνική είναι αποτελεσματική μόνο όταν ο αφρός δεν παγιδύεται στο σύστημα.

Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι σε περιπτώσεις που εφαρμοστεί μεγαλύτερη δόση χλωρίου στο σύστημα τότε παρατηρείται το φαινόμενο της αύξησης της συγκέντρωσης των κατιόντων καλίου στο ανάμεικτο υγρό. Αυτό μάλλον συμβαίνει γιατί το χλώριο που προστίθεται στο σύστημα, οξειδώνει μια θειόλη στην κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών θέτοντας σε εφαρμογή έναν μηχανισμό άμυνας των κυττάρων, με αποτέλεσμα την εκροή καλίου και άρα την αύξηση του λόγου των μονοθενών προς τα δισθενή κατιόντα στα συσσωματώματα. Κατ' αυτόν τον τρόπο εξασθενεί η δομή των συσσωματωμάτων και προκαλείται αύξηση της θολότητας της τελικής εκροής. Προτείνεται λοιπόν η παρακολούθηση της συγκέντρωσης των κατιόντων καλίου σε ένα jar test όπου εφαρμόζεται εύρος δόσεων χλωρίου σε ανάμεικτο υγρό προκειμένου να βρεθεί η δόση που ελαχιστοποιεί την εκροή καλίου (Wimmer και Love, 2004).

Επίσης, δε συνίσταται η χλωρίωση της ενεργού ιλύος που απορρίπτεται από το σύστημα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας της ιλύος και στέλνεται στη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης. Στην περίπτωση ΕΕΛ στο Sacramento της Καλιφόρνια των ΗΠΑ που παρουσίαζε σημαντικά προβλήματα αφρισμού, η απορριπτόμενη λάσπη περιείχε *G. amarae* σε επίπεδα 10⁴ -10⁶ τμήσεων Gram/g VSS με αποτέλεσμα τα επίπεδα των *G. amarae* στους αναερόβιους χωνευτές να είναι 10⁴ -10⁵ διατομών/g VSS. Προκειμένου να ελεγχθεί ο αφρισμός εφαρμόστηκε η χλωρίωση της περίσσειας ιλύος με δόσεις στην περιοχή των 20-60mg Cl₂/L. Αυτή η μέθοδος οδήγησε σε διπλασιασμό του δυναμικού και της σταθερότητας αφρισμού της ιλύος. Στην περίπτωση δόσεων στην περιοχή των 100-200mg Cl₂ ανά L περίσσειας ιλύος το δυναμικό αφρισμού αυξήθηκε κατά 10 φορές και η σταθερότητα αφρισμού κατά 2,5 φορές. Αυτό μπορεί να οφείλεται i) στην καταστροφή των συσσωματωμάτων από το χλώριο που συνεπάγεται τη μεγαλύτερη έκθεση των υδρόφοβων *G. amarae* στην υγρή φάση ή ii) στην απελευθέρωση από τα κύτταρα υλικών που σταθεροποιούν τον αφρό όταν αυτά λύνονται από το Cl₂ (Pagilla *et al.*, 1998).

Πειράματα που διεξήχθησαν από τους T.Tanaka και Y.Hwang και ολοκληρώθηκαν το 1996, έδειξαν ότι η αντοχή του *M. parvicella* ενάντια στο χλώριο ήταν εξαιρετικά μεγάλη. Ο μικροοργανισμός διατήρησε την κυτταρική του μορφή ακόμα και όταν οι βιοκροκίδες στο ανάμεικτο υγρό καταστρέφονταν πλήρως για δόση 100g Cl kg⁻¹

MLSS. Ως προς τη μικροβιακή δραστηριότητα, ο *M. parvicella* έδειξε μεγάλη αντίσταση συγκριτικά με τους άλλους συσσωματωμένους μικροοργανισμούς.

Παρόμοια αποτελέσματα της εφαρμογής κλωρίωσης έχει δείξει και προηγούμενη έρευνα (*Neethling et al., 1985*). Αναφέρεται μάλιστα, ότι χρειάστηκαν δόσεις κλωρίου 10-100 φορές μεγαλύτερες από ότι για άλλα αντιαφριστικά προκειμένου να φανούν κάποια αποτελέσματα. Καθώς το κλώριο είναι ιδιαίτερα τοξικό για τους μικροοργανισμούς, μια φόρτιση του συστήματος με πολύ μεγάλη δόση μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε πλήρη αστοχία της εγκατάστασης. Εντούτοις, ακόμα και σε τέτοιες δόσεις ο *M. parvicella* δεν επηρεάζεται ιδιαίτερα. Ένα άλλο μειονέκτημα της κλωρίωσης είναι η διάσπαση των κροκίδων. Όπως παρατηρήθηκε για δόσεις μεγαλύτερες των 20g Cl kg⁻¹MLSS οι κροκίδες καταστρέφονταν και αυξάνονταν η θολότητα στην εκροή.

Πρόληψη της παγίδευσης του αφρού στο σύστημα ενεργού ιλύος. Ο παγιδευμένος αφρός δίνει στους νηματοειδείς μεγαλύτερο πραγματικό χρόνο παραμονής από αυτόν του συστήματος.

Τα προβλήματα αφρισμού που σχετίζονται με τους νηματοειδείς ενισχύονται όταν ο αφρός παγιδεύεται στην επιφάνεια διαφόρων δεξαμενών και κυρίως όταν ο αφρός αυτός απομακρύνεται και ανακυκλώνεται στο σύστημα. Παγίδευση αφρού πραγματοποιείται κάθε φορά που η ελεύθερη επιφάνεια του υγρού διακόπτεται από μια κατασκευή όπως ένα διαχωριστικό τοιχίο, η οποία αναγκάζει το υγρό να απομακρύνεται από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία μέσω διαδρομής κάτω από την επιφάνεια του υγρού αντί μέσω υπερχειλίσης. Ταυτοχρόνως, οι νηματοειδείς έχουν την τάση να αναπτύσσονται στη μορφή διασκορπισμένων νηματοειδών τεμαχίων ώστε λόγω της υδροφοβικής φύσης να μπορούν να επιπλέουν. Εφόσον οι νηματοειδείς που επιπλέουν ελεύθερα εκθέτουν μεγαλύτερο ποσοστό της υδρόφοβης επιφάνειας τους στην υγρή φάση από αυτά που είναι μέσα στα συσσωματώματα, ενισχύουν περισσότερο τον αφρισμό. Κατά αυτόν τον τρόπο η παγίδευση του αφρού όχι μόνο αυξάνει τα επίπεδα των νηματοειδών στην ενεργό ιλύ αλλά επίσης ενισχύει τα ελεύθερα νημάτια στο υγρό και άρα την τάση για αφρισμό (*Jenkins et al., 1993*).

Επιλεκτική απόρριψη του αφρού επωφελοούμενοι από την τάση των νηματοειδών να συγκεντρώνονται στον αφρό.

Η τάση των νηματοειδών να συγκεντρώνονται στην επιφάνεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε έναν επιλογέα για το χωριστό διαχωρισμό και απομάκρυνση των μικροοργανισμών από το σύστημα. Κατά αυτόν τον τρόπο οι μικροοργανισμοί που

προκαλούν αφρισμό απομακρύνονται πρώτοι από το σύστημα και η γρήγορη απομάκρυνσή τους διατηρεί τον πληθυσμό τους σε χαμηλά επίπεδα στο ανάμικτο υγρό. Βέβαια η εφαρμογή ενός τέτοιου επιλογέα σε ένα σύστημα με έντονα προβλήματα αφρισμού μπορεί αρχικά να οδηγήσει σε απόρριψη μεγαλύτερης ποσότητας στερεών από την επιθυμητή. Σε τέτοιες περιπτώσεις προτείνεται η άντληση όσο περισσότερο αφρού είναι δυνατόν πριν την εφαρμογή του επιλογέα.

Η επιλεκτική απομάκρυνση του αφρού έχει εφαρμοστεί με επιτυχία σε περιπτώσεις που εφαρμόστηκε αποτελεσματικό σύστημα απομάκρυνσης του αφρού. Η εφαρμογή των επιλογέων παρουσιάζει κυρίως μηχανικά προβλήματα εξαιτίας της δυσκολίας απομάκρυνσης του ακάθαρτου αφρού από τις δεξαμενές αερισμού. Ο σχεδιασμός του «ξαφρίσματος» και του συστήματος άντλησης πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τρία βασικά σημεία: Α) Το σύστημα πρέπει να μπορεί να απομακρύνει μια περιορισμένη ποσότητα υγρού σχεδόν συνεχώς από την επιφάνεια του καναλιού ή της δεξαμενής αερισμού όπου είναι τοποθετημένο. Β) Όταν είναι παρόντες οι νηματοειδείς συγκεντρώνονται στην επιφάνεια του υγρού και μεγαλύτερη ποσότητα αφρού πρέπει να αντληθεί. Γ) Η αντλία πρέπει να είναι σχεδιασμένη για πλήρη απομάκρυνση του υλικού που «ξαφρίζεται» (Parker *et al.*, 2003)

2.6. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ

2.6.1. Εισαγωγικά στοιχεία

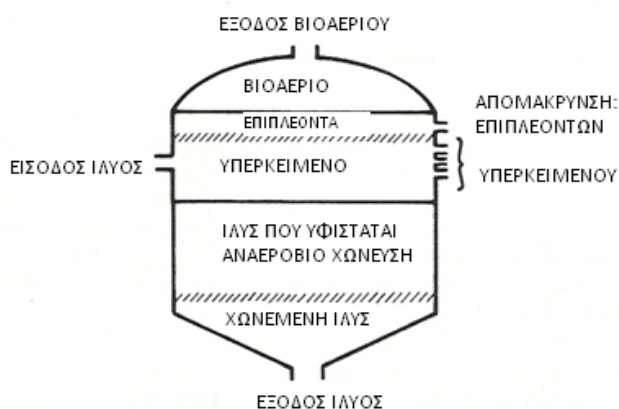
Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη σταθεροποίηση της ιλύος, που παράγεται από την επεξεργασία αστικών και βιομηχανικών λυμάτων, είναι η αναερόβια χώνευση. Η σταθεροποίηση της ιλύος επιτυγχάνεται με τη μείωση της συγκέντρωσης των παθογόνων μικροοργανισμών και της ποσότητας των οργανικών στερεών. Πιο συγκεκριμένα, η αναερόβια χώνευση μπορεί να προσδιοριστεί ως η βιοχημική διεργασία κατά την οποία οργανικό υλικό, απουσία οξυγόνου, μετατρέπεται σε βιοαέριο, αποτελούμενο κυρίως από μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, το οποίο έχει μεγάλη θερμογόνο δύναμη και μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή θερμότητας και ενέργειας. Η δε χωνεμένη ιλύς είναι σταθεροποιημένο προϊόν, το οποίο κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί στη γεωργία.

Η αναερόβια χώνευση είναι διεργασία, η οποία λαμβάνει χώρα κατά κόρον στη φύση. Ιστορικά, η ύπαρξη του βιοαερίου ήταν γνωστή από την αρχαιότητα, ωστόσο η παρατήρηση του Alessandro Volta το 1776 ότι σε ιζήματα από βαλτώδεις περιοχές παράγεται ένα εύφλεκτο αέριο, οδήγησε την επιστημονική κοινότητα στη μελέτη της βιολογικής παραγωγής του μεθανίου. Ένα αιώνα νωρίτερα ο Leeuwenhoek (1680) ήταν ο πρώτος επιστήμονας που παρατήρησε αναερόβιους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, την εποχή εκείνη δεν ήταν ακόμη κατανοητή η ανακάλυψη του αυτή. Έτσι έπρεπε να περάσουν περίπου 200 χρόνια για να πιστοποιηθεί η ύπαρξη αναερόβιων βακτηρίων από τον Louis Pasteur (1862). Το 1913 ο Beijerinck επανέλαβε με ακρίβεια τα πειράματα του Leeuwenhoek και ταυτοποίησε τον αναερόβιο μικροοργανισμό *Clostridium butyricum*.

Η αναερόβια χώνευση, παρόλο που είναι η παλαιότερη μέθοδος για τη σταθεροποίηση της ιλύος, παρουσιάζει ακόμα και σήμερα μεγάλο ενδιαφέρον ως προς το σχεδιασμό των χωνευτών και τη βελτιστοποίηση των λειτουργικών παραμέτρων της, με στόχο τη μεγιστοποίηση της απόδοσής της και πιο συγκεκριμένα, της καταστροφής των πτητικών στερεών και άρα της παραγωγής του μεθανίου. Έτσι, όσον αφορά στο σχεδιασμό των χωνευτών, ο χρόνος παραμονής που απαιτείται για την υδρόλυση και τη σταθεροποίηση της ιλύος είναι αντίστροφος ανάλογος του κόστους κατασκευής τους. Κρίσιμες παράμετροι

σχεδιασμού των χωνευτών είναι ο χρόνος παραμονής των στερεών, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, καθώς και η θερμοκρασία λειτουργίας τους. (USEPA, 1976; Gerardi, 2003)

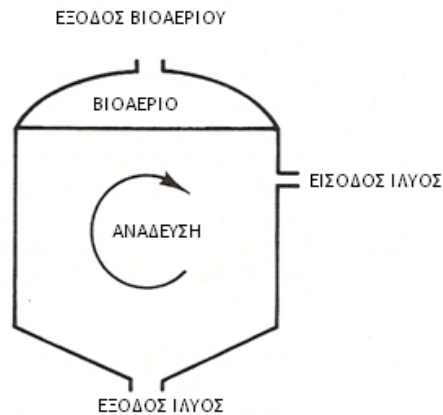
Η πρώτη μορφή αναερόβιας χώνευσης που εφαρμόστηκε ήταν η χώνευση χαμηλής φόρτισης. Αρχικά, δεν υπήρχε ανάμιξη, εκτός από αυτή που δημιουργεί η κίνηση των φυσαλίδων του αερίου που παράγεται, ενώ συχνά δεν υπήρχε θέρμανση για την επιτάχυνση της διαδικασίας. Ο χωνευτής ουσιαστικά ήταν ένας χώρος αποθήκευσης της ιλύος. Εξαιτίας της απουσίας ανάμιξης, δημιουργούταν στρωμάτωση, με αποτέλεσμα τη μείωση του ωφέλιμου όγκου περίπου στο 50% του συνολικού (σχήμα 2.7). Στο στρώμα ιλύος, στο ανώτερο τμήμα του, η διαδικασία της χώνευσης ήταν έντονη και μειωνόταν προχωρώντας προς το κάτω μέρος του χωνευτή. Η σταθεροποιημένη ιλύς συγκεντρωνόταν στη βάση του χωνευτή. Το υπερκείμενο υγρό συνήθως επέστρεφε στην είσοδο της εγκατάστασης επεξεργασίας, αν και αυτή η πρακτική μπορούσε να προκαλέσει σημαντικά προβλήματα και να επηρεάσει την απόδοσή της. Η λειτουργία αυτού του χωνευτή μπορούσε να είναι συνεχής ή μη-συνεχής και οι συνηθισμένοι χρόνοι παραμονής ήταν 30 με 60 ημέρες. Το είδος αυτό χρησιμοποιείται σπάνια πλέον, λόγω των διαφόρων μειονεκτημάτων του και κυρίως εξαιτίας της μη αξιοποίησης του συνολικού όγκου του χωνευτή.



Σχήμα 2.7: Πρώτη μορφή αναερόβιου χωνευτή χαμηλής φόρτισης: Χωρίς ανάδευση και θέρμανση (Gerardi 2003).

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν οι χωνευτές υψηλής φόρτισης για να περιοριστούν τα μειονεκτήματα που αντιμετωπίζονταν στους χωνευτές χαμηλής φόρτισης. Κύρια χαρακτηριστικά αυτών των συστημάτων ήταν η πλήρης ανάμιξη, η θέρμανση, η ομοιόμορφη τροφοδοσία ιλύος και η συνεχής λειτουργία, με αποτέλεσμα την αποδοτικότερη λειτουργία των χωνευτών (σχήμα 2.8). Οι συνηθισμένοι χρόνοι

παραμονής για αυτό το είδος των χωνευτών είναι 10 με 20 ημέρες, αλλά μπορεί να φτάσει και στις 25 αν απαιτείται πρόσθετη σταθερότητα στη λειτουργία. Ανάλογα με τη θερμοκρασία, η διεργασία της χώνευσης διακρίνεται σε μεσόφιλη (30-38°C) και σε θερμόφιλη (50-60°C). Πρόκειται για το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα χώνευσης, λόγω των πλεονεκτημάτων του που σχετίζονται με την ανάμιξη, το βελτιωμένο έλεγχο της διαδικασίας καθώς και την έλλειψη προβλημάτων καθαρισιμότητας (USEPA, 1976).



Σχήμα 2.8: Αναερόβιος χωνευτής πλήρους μίξης (Gerardi 2003)

2.6.2. Μικροβιολογία αναερόβιας χώνευσης

Η αναερόβια βιοαποδόμηση του σύνθετου οργανικού υλικού περιγράφεται ως μια διαδικασία πολλαπλών σταδίων με οριζόντιες και παράλληλες αντιδράσεις. Τρία στάδια συχνά χρησιμοποιούνται για να δείξουν την αλληλουχία της μικροβιολογικής δραστηριότητας που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της χώνευσης. Αυτά τα στάδια είναι η υδρόλυση, η οξεογένεση και η μεθανογένεση. Σε κάθε στάδιο της διεργασίας εξειδικεύονται διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών, οι οποίες δρουν κυρίως συνεργιστικά και τα προϊόντα της μιας ομάδας χρησιμεύουν ως υπόστρωμα για την επόμενη ομάδα. Οι κύριες ομάδες βακτηρίων που παίρνουν μέρος στις παραπάνω αντιδράσεις χωρίζονται στις ακόλουθες κατηγορίες: (1) βακτήρια ζύμωσης, (2) οξεογόνα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο, (3) οξεογόνα βακτήρια που καταναλώνουν υδρογόνο, (4) μεθανογόνα βακτήρια που ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα, (5) ακετοκλαστικά μεθανογόνα βακτήρια.

Συνοπτικά, η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης ξεκινά με την υδρόλυση σύνθετων αδιάλυτων πολυμερών ενώσεων. Οι ενώσεις αυτές είναι κυρίως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λιπίδια, οι οποίες υδρολύονται από εξωκυτταρικά ένζυμα σε διαλυτά προϊόντα μικρότερου μεγέθους και μπορούν να εισχωρήσουν διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης στο εσωτερικό του κυττάρου.

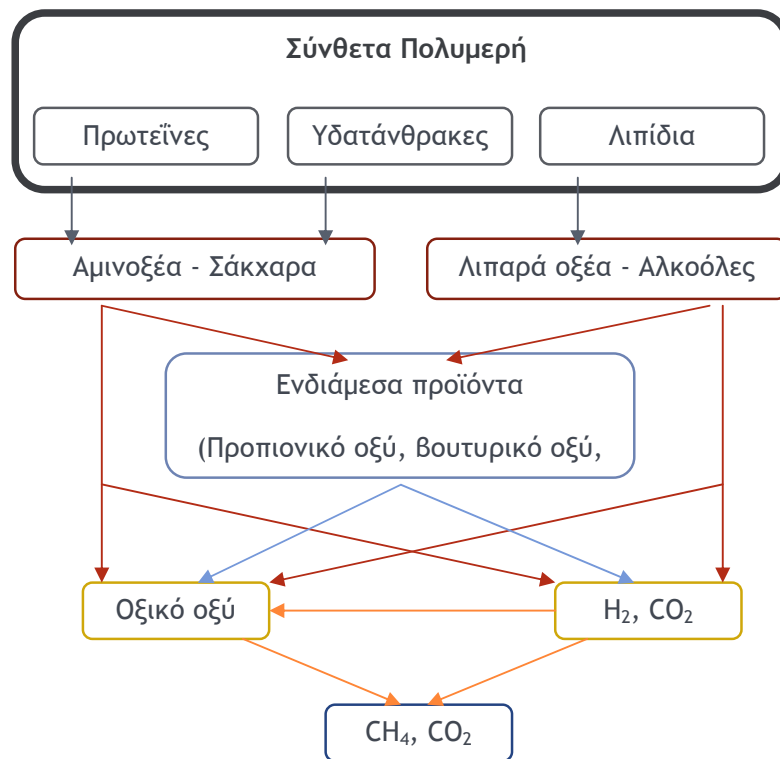
Στο δεύτερο στάδιο της οξεογένεσης, αυτές οι σχετικά απλές διαλυτές ενώσεις ζυμώνονται ή οξειδώνονται αναερόβια σε πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες, διοξείδιο του άνθρακα, αέριο υδρογόνο και άλλες οργανικές ενώσεις. Το οξικό οξύ αποτελεί το τελικό προϊόν της μετατροπής των μεγαλύτερου μοριακού βάρους πτητικών οξέων και χρησιμοποιείται ως βασικό υπόστρωμα στο τρίτο στάδιο. Μερικά από τα οργανικά οξέα, τις αλκοόλες και τις λοιπές οργανικές ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα ως υπόστρωμα στο τρίτο στάδιο και άλλα έμμεσα εάν μετατραπούν σε οξικό οξύ (πίνακας 2.4). Η μετατροπή των ενδιάμεσων προϊόντων σε οξικό οξύ ονομάζεται οξικογένεση (McCarthy, 1964, Gerardi, 2003).

Πίνακας 2.4. Οξέα και αλκοόλες που χρησιμοποιούνται άμεσα και έμμεσα ως υπόστρωμα για το στάδιο της οξικογένεσης (McCarthy, 1964, Gerardi, 2003).

Υπόστρωμα (Άμεσα)	Τύπος	Υπόστρωμα (Έμμεσα)	Τύπος
Οξικό οξύ	CH ₃ COOH	Αιθανόλη	CH ₃ CH ₂ OH
Μυρμηκικό οξύ	HCOOH	Βουτυρικό οξύ	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH
Μεθανόλη	CH ₃ OH	Προπιονικό οξύ	CH ₃ CH ₂ COOH
Μεθυλαμινοομάδα	CH ₃ NH ₂		

Τέλος, στο τρίτο στάδιο της μεθανογένεσης παράγεται μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, είτε από την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα από το υδρογόνο ($\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) είτε από το οξικό οξύ ($\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$), από δύο ομάδες μεθανογόνων μικροοργανισμών.

Συνεπώς, όλα τα ενδιάμεσα προϊόντα της αναερόβιας χώνευσης πρέπει να μετατραπούν σε ουσίες που μπορούν άμεσα ή έμμεσα να χρησιμοποιηθούν από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. Στο παρακάτω σχήμα 2.9 παρουσιάζονται τα τρία στάδια που λαμβάνουν χώρα κατά τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης μέσω των τελικών προϊόντων των αντιδράσεων:



Σχήμα 2.9: Διάγραμμα ροής (βάσει των προϊόντων που σχηματίζονται) της αναερόβιας χώνευσης (Gerardi, 2003).

Απαραίτητη προϋπόθεση για την ομαλή λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης είναι η ύπαρξη δυναμικής ισορροπίας μεταξύ των φάσεων και κυρίως της παραγωγής και κατανάλωσης των ενδιάμεσων οξέων. Έτσι, αν το στάδιο της υδρόλυσης αναχαιτιστεί, τότε το υπόστρωμα για τα επόμενα στάδια θα περιοριστεί και η παραγωγή του μεθανίου θα μειωθεί. Εάν το στάδιο της μεθανογένεσης αναχαιτιστεί, τότε τα οξέα που παράγονται στο δεύτερο στάδιο θα συσσωρευτούν. Η συσσώρευση ή μια απότομη αύξηση των οξέων μπορεί να έχει ως συνέπεια την απώλεια της αλκαλικότητας στο κωνευτή και τη μείωση του pH και επομένως να οδηγήσει τελικώς σε αστοχία τον κωνευτή.

Η αναερόβια χώνευση ουσιαστικά ελέγχεται από τα μεθανογόνα βακτήρια. Οι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται στο στάδιο της οξεογένεσης έχουν γενικά υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης και μπορούν να προσαρμόζονται σε ένα ευρύ φάσμα εξωτερικών συνθηκών. Αντίθετα, τα μεθανογόνα αναπτύσσονται με αργούς ρυθμούς και είναι ευαίσθητα στις αλλαγές των εξωτερικών συνθηκών, όπως του pH, της θερμοκρασίας και της παρουσίας τοξικών ουσιών. Επομένως, η ομαλή λειτουργία και άρα και ο σχεδιασμός της διεργασίας της αναερόβιας χώνευσης

προσαρμόζονται στις βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης των μεθανογόνων βακτηρίων (Ανδρεαδάκης, 1986, Gerardi, 2003).

2.6.3. Λειτουργικά χαρακτηριστικά συστημάτων αναερόβιας χώνευσης

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο η διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης αποτελεί μια δυναμική ισορροπία που μπορεί να αναχαιτιστεί κυρίως κατά τη μετατροπή των πτητικών λιπαρών οξέων σε μεθάνιο. Τα μεθανογόνα βακτήρια είναι αυστηρά αναερόβιοι μικροοργανισμοί και πολύ ευαίσθητοι σε αλλαγές στην αλκαλικότητα, στο pH και στη θερμοκρασία. Επομένως, οι λειτουργικές συνθήκες στο χωνευτή θα πρέπει να ελέγχονται συστηματικά, ωστόσο η παρακολούθηση αυτή δεν είναι τόσο απλή καθώς οι περισσότερες παράμετροι είναι αλληλοσχετιζόμενες και αλλαγές σε μία παράμετρο μπορεί άμεσα ή έμμεσα να επηρεάσει τις υπόλοιπες.

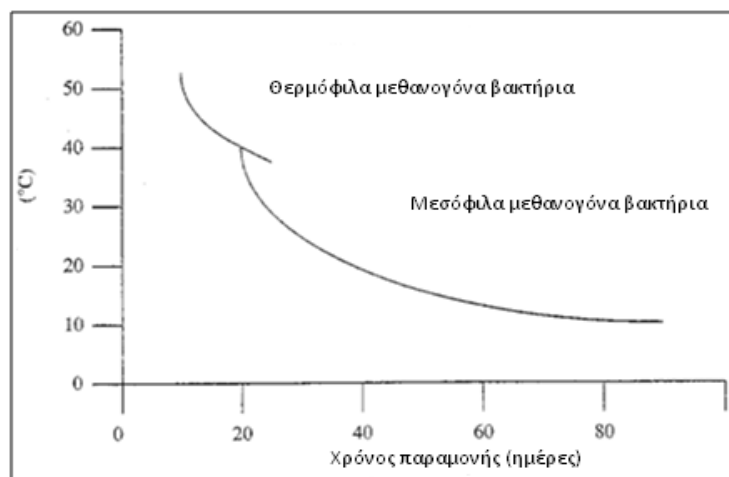
Επίσης, οι σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις στερεών και οι μικροί χρόνοι παραμονής που διατηρούνται σε πλήρους μίξης χωνευτές καθιστούν τη διαδικασία ευαίσθητη σε τοξικές διαταραχές και μεγάλες φορτίσεις. Ταυτοχρόνως, η ύπαρξη διαφορετικών βακτηριακών ομάδων, που αναπτύσσονται σε διαφορετικές βέλτιστες περιοχές τιμών των λειτουργικών παραμέτρων της αναερόβιας χώνευσης, καθιστά ακόμη περισσότερο σύνθετη και δύσκολη τη λειτουργία τους. Στις επόμενες παραγράφους περιγράφονται οι σημαντικότερες παράμετροι παρακολούθησης και ρύθμισης των διαφόρων συστημάτων αναερόβιας χώνευσης.

2.6.3.1. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών της αναερόβιας χώνευσης και επηρεάζει σημαντικά την παραγωγή μεθανίου. Μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν βρεθεί σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιακών περιοχών από 2 °C σε θαλάσσια ιζήματα μέχρι πάνω από 100 °C σε γεωθερμικές περιοχές.

Τυπικά, η ανάπτυξη και η δραστικότητα των μικροοργανισμών αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι τους 60°C. Για παράδειγμα, ο χρόνος διπλασιασμού της παραγόμενης ποσότητας υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα στους 37°C για τον *Methanococcus voltae* είναι περίπου 2 ώρες, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος για τον *Methanococcus thermolithotrophicus* στους 65°C είναι 1 ώρα. Η γρηγορότερη ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε υψηλότερες θερμοκρασίες επιτρέπει τη λειτουργία σε μικρότερους χρόνους παραμονής, εφόσον διατηρείται επαρκής πληθυσμός μικροοργανισμών στο κωνευτή για σταθερή λειτουργία.

Αν και έχει αναφερθεί αναερόβια επεξεργασία ιλύος σε κωνευτές που λειτουργούσαν ακόμη και στους 15°C (ψυχρόφιλοι κωνευτές) για τις συνήθεις θερμοκρασίες της λάσπης (15°C ή και σημαντικά μικρότερες το χειμώνα), ωστόσο στις θερμοκρασίες αυτές ο βαθμός σταθεροποίησης είναι ανεπαρκής, ακόμη και για πολύ μεγάλους χρόνους παραμονής, λόγω της ελλιπούς ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Γι' αυτό το λόγο οι κωνευτές θερμαίνονται. Έχει παρατηρηθεί ότι οι βέλτιστες θερμοκρασίες για τα μεθανογόνα βακτήρια είναι κοντά στους 35°C (μεσόφιλη χώνευση) και στους 55°C (θερμόφιλη χώνευση), όπου σε κάθε περίπτωση ενεργοποιείται διαφορετική ομάδα μικροοργανισμών. Όταν η θερμοκρασία φτάσει κάτω από τους 32°C, η παραγωγή πτητικών οξέων συνεχίζεται, ενώ η μεθανογένεση γίνεται πιο αργή. Η παραγωγή των οξέων μπορεί να συνεχιστεί ακόμη και σε θερμοκρασίες κοντά στους 21°C, όπου η μεθανογένεση είναι σχεδόν ανύπαρκτη. Ανάμεσα στις θερμοκρασιακές βέλτιστες τιμές υπάρχει μια μείωση του ρυθμού ανάπτυξης, που οφείλεται στην έλλειψη προσαρμογής των μεθανογόνων μικροοργανισμών (γράφημα 2.3).



Γράφημα 2.3: Παραγωγή μεθανίου συναρτήσει της θερμοκρασίας (Gerardi, 2003)

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι ενώ οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί αντέχουν σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, απότομες μεταβολές τις θερμοκρασίας μπορούν να αποβούν μοιραίες για τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης. Πιο συγκεκριμένα, αν η θερμοκρασία αυξομειώνεται, τότε δε μπορεί να αναπτυχθεί ικανοποιητικός και σταθερός πληθυσμός μικροοργανισμών από καμία ομάδα μεθανοβακτηρίων. Μια μεταβολή της τάξης των 2 με 3 βαθμών C, ακόμα και για μικρό χρονικό διάστημα, είναι ικανή να διαταράξει τη δυναμική ισορροπία μεταξύ των οξέων που παράγονται και αυτών που μετατρέπονται σε μεθάνιο. Μια τέτοια διαταραχή μπορεί να απορρυθμίσει τη διαδικασία, εφόσον τα βακτήρια που παράγουν οξέα αντιδρούν πιο γρήγορα στις αλλαγές της θερμοκρασίας σε σχέση με τα βακτήρια που παράγουν μεθάνιο. Επιπλέον, η χώνευση σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες είναι αναλογικά πιο ευαίσθητη σε διακυμάνσεις της θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία δε επηρεάζει μόνο τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς, αλλά και τα βακτήρια που σχηματίζουν οξέα. Συνεπώς, διακυμάνσεις στη θερμοκρασία μπορεί να δίνουν πλεονέκτημα σε κάποια ομάδα μικροοργανισμών και μειονέκτημα σε κάποιες άλλες. Αλλαγές στη δραστηριότητα των διαφορετικών ομάδων των οξεοβακτηρίων προκαλούν αλλαγές στις ποσότητες των οργανικών οξέων και αλκοολών που παράγονται κατά τη ζύμωση. Το στάδιο της υδρόλυσης δεν επηρεάζεται σχεδόν καθόλου από τη θερμοκρασία, αφού τα υδρολυτικά βακτήρια δεν είναι τόσο ευαίσθητα όσο τα οξεοβακτήρια και οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί.

Έτσι, ο συνεχής έλεγχος είναι αναγκαίος για τη λειτουργία του χωνευτή, ενώ η αποτελεσματική ανάμιξη βοηθά στην αποτροπή σχηματισμού τοπικών περιοχών με διαφορετικές θερμοκρασίες (Buhr *et al.*, 1977; Gerardi, 2003).

2.6.3.2. Χρόνος παραμονής στερεών (SRT) & Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)

Ο χρόνος παραμονής στην αναερόβια χώνευση διακρίνεται στο χρόνο παραμονής των στερεών (Solids Retention Time, SRT) και στον υδραυλικό χρόνο παραμονής (Hydraulic Retention Time, HRT), οι οποίοι είναι ίσοι εφόσον δεν υπάρχει ανακυκλοφορία στο σύστημα.

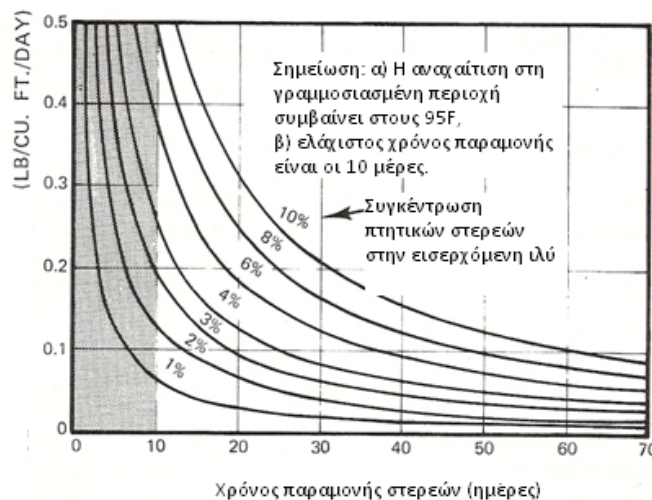
Οι χρόνοι παραμονής στερεών έχουν μεγάλο εύρος τιμών ανάλογα με το είδος της χώνευσης. Οι τυπικοί χρόνοι παραμονής στους μεσόφιλους αναερόβιους χωνευτές

είναι μεγαλύτεροι από 12 μέρες, λόγω του μικρού ρυθμού ανάπτυξης των μεθανογόνων βακτηρίων. Χρόνοι παραμονής μικρότεροι των 10 ημερών δεν συνίστανται, γιατί σε αυτούς τους χρόνους σε μεσόφιλες θερμοκρασίες, οι μικροοργανισμοί που σχηματίζουν μεθάνιο δε μπορούν να αναπτυχθούν αρκετά γρήγορα, με αποτέλεσμα ο πληθυσμός τους να μην είναι αρκετός για τη σταθεροποίηση της εισερχόμενης ιλύος (πίνακας 2.5).

Πίνακας 2.5: Χρόνοι διπλασιασμού σημαντικών βακτηρίων που δραστηριοποιούνται στην αναερόβια χώνευση (Gerardi, 2003).

Ομάδα βακτηρίων	Λειτουργία	Χρόνος διπλασιασμού
Αερόβιοι ετερότροφοι	Συσσωμάτωση και αποδόμηση των διαλυτών οργανικών	15-30 min
Προαιρετικά αναερόβιοι ετερότροφοι	Συσσωμάτωση και αποδόμηση των διαλυτών οργανικών	15-30 min
Νιτροποιητικοί	Οξειδωση των νιτρικών και νιτρωδών	2-3 days
Μεθανογόνοι	Παραγωγή βιοαερίου	3-30 days

Η αύξηση του χρόνου παραμονής επιδρά θετικά στην απόδοση της αναερόβιας χώνευσης, όπως συμβαίνει και με την αύξηση της θερμοκρασίας. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο παραμονής των στερεών (SRT) είναι η συγκέντρωση των ολικών στερεών στην εισερχόμενη ιλύ, η οργανική φόρτιση του κωνευτή καθώς και το ποσοστό των οργανικών πτητικών στερεών ως προς τα ολικά στερεά. Στο γράφημα 2.4 που ακολουθεί φαίνεται η συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω παραμέτρων.



Γράφημα 2.4: Συσχέτιση χρόνου παραμονής, οργανικής φόρτισης και οργανικών πτητικών στερεών στην τροφοδοσία (Gerardi, 2003).

Οι υψηλότεροι χρόνοι παραμονής στερεών αυξάνουν την απόδοση και σταθεροποιούν τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης στις μεταβολές της υδραυλικής και οργανικής φόρτισης. Επίσης, βοηθούν στον εγκλιματισμό των μικροοργανισμών σε τοξικές ουσίες. Ο υψηλός χρόνος παραμονής μπορεί να επιτευχθεί είτε με την αύξηση του όγκου του χωνευτή είτε με την αύξηση της συγκέντρωσης των βακτηρίων. Ωστόσο, η επίδραση του χρόνου παραμονής είναι σημαντική μέχρι μία ορισμένη τιμή, πέρα από την οποία παρατηρείται μικρή πρόσθετη σταθεροποίηση της ιλύος.

Η επιλογή του χρόνου παραμονής πρέπει να εξετάζεται συναρτήσει της τελικής διάθεσης της ιλύος και της ενεργειακής αξιοποίησης του παραγόμενου βιοαερίου. Επομένως, πρέπει να επιλέγεται μεγαλύτερος χρόνος, εάν η χωνεμένη ιλύς πρόκειται να επαναχρησιμοποιηθεί στη γεωργία, ή μικρότερος, εάν πρόκειται να οδηγηθεί στην καύση. Τέλος, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής είναι ο σημαντικότερος παράγοντας ως προς το ρυθμό και το βαθμό παραγωγής μεθανίου (USEPA, 1976; Gerardi, 2003).

2.6.3.3. Φόρτιση οργανικών στερεών

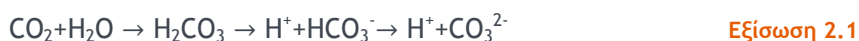
Η φόρτιση οργανικών στερεών στον αναερόβιο χωνευτή εξαρτάται από τις ανάντη διεργασίες της γραμμής επεξεργασίας ιλύος και καθορίζει τη μάζα του οργανικού φορτίου που οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί καλούνται να αποδομήσουν. Στις περισσότερες περιπτώσεις η αναερόβια χώνευση τροφοδοτείται από μίγμα πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας ιλύος ενώ η καταστροφή των πτητικών στερεών είναι ανάλογη με το ποσοστό της πρωτοβάθμιας ιλύος.

Η οργανική φόρτιση πρέπει να ρυθμίζεται με βάση τη συγκέντρωση των πτητικών στερεών (VS) στην εισερχόμενη ιλύ και το χρόνο παραμονής. Οι τυπικές τιμές οργανικής φόρτισης των χωνευτών κυμαίνονται μεταξύ 1 και 3 kg VS/ m³-day. Οι χαμηλές οργανικές φορτίσεις επηρεάζουν την απόδοση του χωνευτή, μειώνοντας το ρυθμό καταστροφής των πτητικών στερεών και την παραγωγή μεθανίου (USEPA, 1976; Gerardi, 2003; Mahmoud *et al.*, 2004).

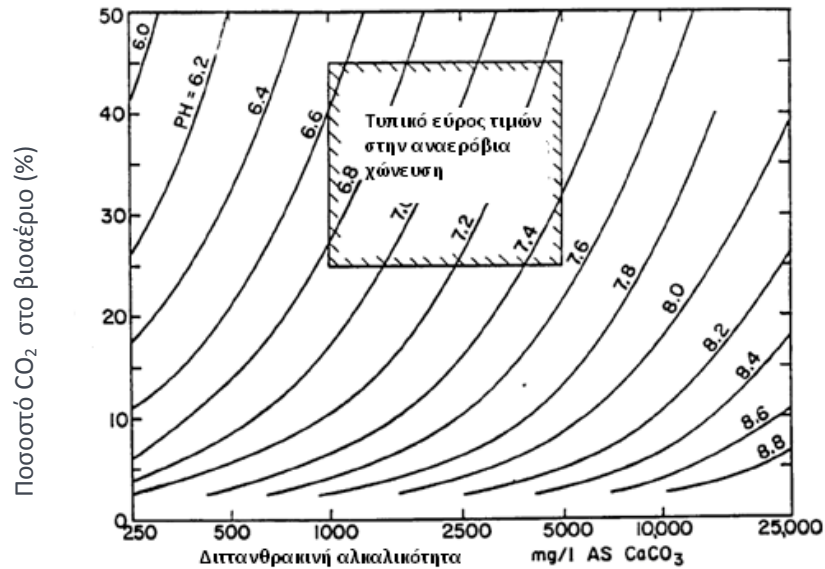
2.6.3.4. Αλκαλικότητα και pH

Όσον αφορά στη βέλτιση περιοχή τιμών του pH για τα συστήματα αναερόβιας χώνευσης, αυτή εξαρτάται από το σχεδιασμό τους, εφόσον τυπικές τιμές λειτουργίας του pH για τα μεθανογόνα βακτήρια είναι μεταξύ 6,8 και 7,2, ενώ τα οξεοβακτήρια λειτουργούν σε $\text{pH} \geq 5$. Καθοριστικό ρόλο στη σταθερότητα ενός κωνευτή παίζει η συγκέντρωση της αλκαλικότητας καθώς κατά τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης παράγονται ενδιάμεσα αλλά και τελικά προϊόντα, όπως διοξείδιο του άνθρακα κατά τη διάσπαση των οργανικών ουσιών και αμμωνίας κατά τη διάσπαση των αμινοξέων και των πρωτεϊνών, τα οποία τείνουν να μεταβάλλουν το pH. Παρόλα αυτά, το pH διατηρείται σε ουδέτερο επίπεδο λόγω της αλκαλικότητας της ιλύος που δρα ρυθμιστικά.

Η σύνθεση και η συγκέντρωση της εισερχόμενης ιλύος επηρεάζουν άμεσα την αλκαλικότητα. Έτσι, μεγαλύτερα ποσοστά δευτεροβάθμιας ιλύος στην εισερχόμενη ιλύ αυξάνουν την αλκαλικότητά της. Επίσης, η διεργασία της πάχυνσης ανάντη της χώνευσης επηρεάζει την αλκαλικότητα της εισερχομένης ιλύος καθώς οι παχυμένες ιλύες έχουν υψηλότερη αλκαλικότητα, λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης των οργανικών ουσιών. Κατά την αναερόβια χώνευση της ιλύος παράγεται αλκαλικότητα από την υδρόλυση αμινοομάδων και την παραγωγή αμμωνίας, αλλά κυρίως από την παραγωγή διττανθρακικών ριζών που βρίσκονται σε ισορροπία με το διοξείδιο του άνθρακα στην αέρια φάση. Η ισορροπία αυτή αναπαρίσταται από τις παρακάτω εξισώσεις 2.1 - 2.3:



Σε τιμές pH από 6,6 μέχρι 7,4 και τυπική συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα στην αέρια φάση 30 με 40%, η διττανθρακική αλκαλικότητα κυμαίνεται από 1.000 mg/L μέχρι 5.000 mg/L CaCO_3 (γράφημα 2.5). Όταν η συγκέντρωση των πτητικών οξέων είναι μικρή σε ένα αναερόβιο αντιδραστήρα, η ολική αλκαλικότητα είναι σχεδόν ίση με την διττανθρακική αλκαλικότητα.



Γράφημα 2.5: Σχέση pH και διττανθρακικής αλκαλικότητας στους 35 °C (Gerardi, 2003)

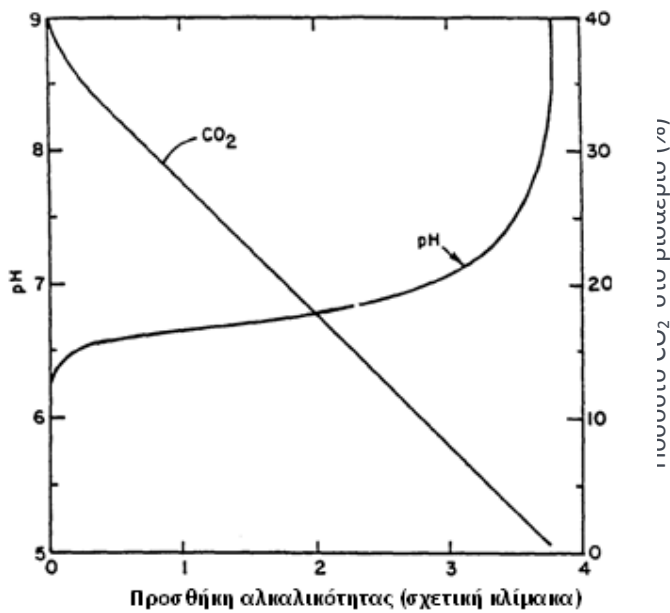
Διακυμάνσεις από την τυπική περιοχή τιμών του pH (6,8-7,2) μπορεί να παρατηρηθούν εξαιτίας της συσσώρευσης όξινων ή βασικών μεταβολικών προϊόντων, όπως είναι τα λιπαρά οξέα ή η αμμωνία, αντίστοιχα. Τα πτητικά οξέα και η αμμωνία που παράγονται είναι τοξικά για τα μεθανογόνα βακτήρια και η τοξικότητά τους εξαρτάται από το pH. Έτσι τα πτητικά οξέα είναι πιο τοξικά για χαμηλό pH (<6) και η αμμωνία γίνεται πιο τοξική σε υψηλό pH (>8).

Η δυναμική φύση της κατανάλωσης και του σχηματισμού της αλκαλικότητας περιγράφεται από τις παρακάτω αντιδράσεις 2.4 - 2.5, για απλούς υδρογονάνθρακες, όπως η γλυκόζη.



Η αντίδραση 2.4 δείχνει την αποσύνθεση της γλυκόζης σε οξικό οξύ από βακτήρια που παράγουν οξέα. Το οξύ στη συνέχεια μετατρέπεται σε εστέρα, όπως φαίνεται στην εξίσωση 2.5, λόγω της αλκαλικότητας. Αν δεν υπάρχει αρκετή αλκαλικότητα, το pH θα πέσει, και η μετατροπή του οξικού οξέος σε μεθάνιο, όπως φαίνεται στην αντίδραση 2.6, θα αναχαιτιστεί. Η αλκαλικότητα που καταναλώνεται όπως φαίνεται στην αντίδραση 2.5, παράγεται εκ νέου όπως φαίνεται στην αντίδραση 2.6. Σε ένα χωνευτή που λειτουργεί ομαλά, διατηρείται δυναμική ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της κατανάλωσης της αλκαλικότητας. Ωστόσο, αν συμβεί κάποια

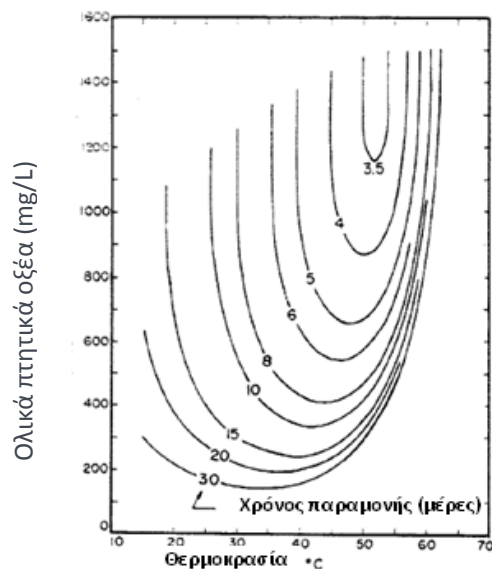
διαταραχή, τα μεθανογόνα βακτήρια θα επηρεαστούν περισσότερο σε σχέση με τα οξεογόνα. Επομένως, σε οποιαδήποτε διαταραχή της ισορροπίας, καταναλώνεται αλκαλικότητα και η διεργασία μπορεί να αστοχήσει εξαιτίας της μείωσης του pH. Αν συμβεί κάτι τέτοιο, πρέπει να προστεθεί εξωτερική πηγή αλκαλικότητας προκειμένου να διατηρηθεί το pH στα επιθυμητά επίπεδα (γράφημα 2.6).



Γράφημα 2.6: Το αποτέλεσμα της προσθήκης εξωτερικής πηγής αλκαλικότητας στο pH και στο ποσοστό του διοξειδίου του άνθρακα στο βιοαέριο (Gerardi, 2003).

Αντιθέτως, προκειμένου να παρεμποδιστεί η τοξική δράση αυξημένης αλκαλικότητας στις βιολογικές διεργασίες, γίνεται προσθήκη στο χωνευτή σιδηρούχου χλωρίου και κιτρικού άλατος.

Η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων εξαρτάται από τις συνθήκες χώνευσης (θερμοκρασία, χρόνος παραμονής) και από τα χαρακτηριστικά της τροφοδοτούμενης ιλύος και είναι μεγαλύτερη σε θερμοφιλες συνθήκες σε σχέση με τη χώνευση σε μεσόφιλες συνθήκες. Επιπλέον, η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων αυξάνεται με τη μείωση του χρόνου παραμονής, λόγω της περιορισμένης ανάπτυξης των μεθανογόνων βακτηρίων που τα καταναλώνουν. Στο παρακάτω γράφημα 2.7 φαίνεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των πτητικών οξέων με δεδομένη τη θερμοκρασία σε διάφορους χρόνους παραμονής.



Γράφημα 2.7: Συγκέντρωση πτητικών οξέων σε σχέση με τη θερμοκρασία και το χρόνο παραμονής (Gerardi, 2003)

Όπως προαναφέρθηκε η αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων (VFA) δίχως την αύξηση της αλκαλικότητας αποτελεί ένδειξη προβληματικής λειτουργίας του κωνευτή. Επομένως, βασική παράμετρος για την παρακολούθηση της λειτουργίας της αναερόβιας χώνευσης είναι ο λόγος των πτητικών λιπαρών οξέων προς την αλκαλικότητα, ο οποίος πρέπει να κυμαίνεται στην περιοχή 0,1 - 0,2, ενώ εάν υπερβεί την τιμή 0,5, είναι υπαρκτός ο κίνδυνος αστοχίας του κωνευτή. Διακύμανση του λόγου των VFA προς την αλκαλικότητα μπορεί να οφείλεται σε αυξημένη οργανική φόρτιση του κωνευτή ή αυξημένη ογκομετρική παροχή της τροφοδοτούμενης ιλύος. Η μείωση της φόρτισης των κωνευτών βοηθά στην επαναφορά του λόγου σε λογικά επίπεδα, εάν όμως αυτό είναι αδύνατο, τότε πρέπει να γίνει προσθήκη χημικής αλκαλικότητας.

Η περιοχή τιμών της συγκέντρωσης των πτητικών οξέων που συνεπάγεται τη βέλτιστη λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης έχει γίνει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων εξαρτάται τόσο από τη θερμοκρασία όσο και από το χρόνο παραμονής σε ένα σύστημα αναερόβιας χώνευσης. Οι Gray *et al.* (2006) αναφέρουν μέσες τιμές ίσες με 3.000 και 3.250 mg/L για το στάδιο της οξεογένεσης σε θερμοφιλικές και μεσόφιλες συνθήκες αντίστοιχα με 2 ημέρες χρόνο παραμονής και 500-1.500 mg/L για μονοβάθμιο θερμοφιλο κωνευτή με 15 ημέρες χρόνο παραμονής.

Οι Reusser and Zelinka (2004) αναφέρουν μέσες τιμές ίσες με 4.075 - 4.892 mg/L για το στάδιο της οξεογένεσης σε μεσόφιλες συνθήκες με 1,5 ημέρες χρόνο παραμονής και 85, 1.708 και 2.341 mg/L για το δεύτερο στάδιο της μεθανογένεσης με χρόνους παραμονής 18,5, 6,75 και 7,5 ημέρες αντίστοιχα. Στο δεύτερο στάδιο θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος οι συγγραφείς αναφέρουν συγκεντρώσεις των VFA 86 και 748 mg/L για χρόνους παραμονής 5/15 και 7,5/3,5 ημερών αντίστοιχα. Όσον αφορά σε μονοβάθμιους χωνευτές, οι συγγραφείς αναφέρουν τιμές ίσες με 1.734, 2.034 και 2.177 mg/L για θερμόφιλες συνθήκες και χρόνους παραμονής 7,5, 10 και 15 ημέρες αντίστοιχα και 38, 90 mg/L για μεσόφιλες συνθήκες και χρόνους παραμονής 15 και 20 ημέρες αντίστοιχα.

Γενικά, στους μεσόφιλους χωνευτές και στο δεύτερο στάδιο του θερμόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά, η συγκέντρωση των πτητικών οξέων είναι μικρή (0-600 mg/L), αλλά στους θερμόφιλους μπορεί να ξεπεράσει 2.000 mg/L. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη μεγάλη συγκέντρωση του προπιονικού οξέος που παρατηρείται στις θερμόφιλες συνθήκες. Ωστόσο, στους θερμόφιλους χωνευτές είναι αυξημένη και η αλκαλικότητα, κυρίως λόγω του υψηλού ρυθμού βιοαποδόμησης του οργανικού αζώτου.

Η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του διαλυτού οργανικού φορτίου (διαλυτό COD). Έτσι, σε θερμόφιλες συνθήκες παρατηρείται μεγάλη συγκέντρωση διαλυτού COD, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων. Οι Song *et al.* (2004) αναφέρουν τιμές πτητικών οξέων ίσες με 579 ± 97 mg/L και 1.587 ± 302 mg/L και διαλυτού COD ίσες με 2.555 ± 493 mg/L και 5.240 ± 1.404 mg/L αντίστοιχα για μονοβάθμιο μεσόφιλο και θερμόφιλο σύστημα με υδραυλικούς χρόνους παραμονής 20 και 10 ημερών.

2.6.3.5. Θρεπτικές ουσίες

Τα κυριότερα θρεπτικά που είναι απαραίτητα για την αναερόβια χώνευση είναι ο φωσφόρος και το άζωτο, καθώς είναι αναγκαία για την ανάπτυξη των κυττάρων όλων των μικροοργανισμών που συμμετέχουν στη σταθεροποίηση της ιλύος. Η απαιτούμενη ποσότητα κάθε θρεπτικού είναι ευθέως ανάλογη του αριθμού των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται και υπολογίζεται από το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (COD) της εισερχόμενης ιλύος. Στην αναερόβια χώνευση ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι σχετικά μικρός, με αποτέλεσμα να είναι

μικρές και οι απαιτήσεις σε θρεπτικά, ενώ όσο αυξάνεται η φόρτιση του χωνευτή αυξάνονται και οι απαιτήσεις. Γενικά, τα επίπεδα στην τροφοδοσία των βασικών θρεπτικών άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου, συνήθως εκφράζονται με το λόγο COD:N:P που κυμαίνεται από 350:7:1 έως 1000:7:1. Αυτή η αναλογία έχει μια τιμή C/N τουλάχιστον 25:1, που προτείνεται για τη βέλτιστη δράση των μεθανογόνων. Σε κάθε περίπτωση το άζωτο και ο φωσφόρος πρέπει να είναι κατ' ελάχιστον περίπου 12% και 2% του ξηρού βάρους των βακτηριακών κυττάρων, αντίστοιχα. Τα παραπάνω έχουν υπολογιστεί με βάση τον κοινό εμπειρικό τύπο $C_2H_7O_2N$ (Gerardi, 2003).

Όσον αφορά στα απαιτούμενα ιχνοστοιχεία για την αποτελεσματική δράση των βακτηρίων κατά τη μεθανογένεση στην αναερόβια χώνευση, αυτά είναι κυρίως ο σίδηρος, το νικέλιο, το κοβάλτιο και το θείο. Τα στοιχεία αυτά εμπλέκονται στο ενζυμικό σύστημα των μεθανογόνων και οξεογόνων βακτηρίων. Αν και τα μεθανογόνα βακτήρια έχουν σχετικά μεγάλη απαίτηση σιδήρου, και ο σίδηρος συνήθως βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο περιβάλλον, είναι δύσκολο να τον αφομοιώσουν, γιατί πρέπει να είναι σε διαλυμένη μορφή. Στην ερευνητική τους εργασία οι Takashima and Shimada (2004) αναφέρουν ότι τα μεθανογόνα βακτήρια απαιτούν 10 φορές μεγαλύτερες συγκεντρώσεις θρεπτικών στους θερμοφίλους χωνευτές από ότι στους μεσόφιλους. Οι Zitomer *et al.* (2008) εξέτασαν την προσθήκη σιδήρου για τη βελτίωση της απόδοσης των αναερόβιων χωνευτών με θετικά αποτελέσματα. Στην εν λόγω εργασία υπήρξε βελτίωση και των χαρακτηριστικών της χωνεμένης ιλύος.

Το νικέλιο αποτελεί ιδιαίζουσα περίπτωση, γιατί δεν είναι εν γένει απαραίτητο ιχνοστοιχείο για την ανάπτυξη των περισσότερων μεθανογόνων βακτηρίων. Η προσθήκη νικελίου αυξάνει, όμως, το ρυθμό χρήσης του οξικού οξέος ενώ η έλλειψή του στον αναερόβιο χωνευτή προκαλεί σημαντική μείωση στο ρυθμό παραγωγής μεθανίου. Επίσης, το κοβάλτιο απαιτείται ως ενεργοποιητής των ενζυμικών συστημάτων. Η ενσωμάτωση του στα ενζυμικά συστήματα βελτιώνει τη μετατροπή του οξικού οξέος σε μεθάνιο.

Όσον αφορά στην πηγή θείου για τα μεθανοβακτήρια, αυτή κυρίως αποτελείται από τα σουλφίδια, τα οποία προκειμένου να εισχωρήσουν στα κύτταρα πρέπει να έχουν τη μορφή μη-ιονισμένου υδρόθειου (H_2S). Αυτή η μορφή σουλφιδίων υπάρχει σε υψηλές συγκεντρώσεις όταν το pH κυμαίνεται από 6,8 έως 6,9. Αν και τα σουλφίδια θεωρούνται ιχνοστοιχεία για τα μεθανοβακτήρια, το ποσοστό τους σε αυτούς τους μικροοργανισμούς είναι σχετικά μεγάλο, περίπου το 2,5% του ξηρού τους βάρους.

Ωστόσο, υψηλές τιμές συγκέντρωσης των σουλφιδίων μπορεί να προκαλέσει δυο σημαντικά προβλήματα στη λειτουργία του χωνευτή, α) το σχηματισμό ιζημάτων και β) τοξικότητα για τα βακτήρια. Οι απαιτήσεις για θρεπτικά στην αναερόβια χώνευση συνοψίζονται στον πίνακα 2.5.

Πίνακας 2.5: Απαιτήσεις θρεπτικών μεθανογόνων βακτηρίων στην αναερόβια χώνευση (Gerardi, 2003).

Θρεπτικά	Ελάχιστη απαιτούμενη ποσότητα (%COD)
Άζωτο	3-4
Φώσφορος	0,5-1
Θείο	0,2
Νικέλιο	0,001
Σίδηρος	0,2
Κοβάλτιο	0,01

Στις περισσότερες περιπτώσεις, η πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια ιλύς από την επεξεργασία αστικών λυμάτων, περιέχει επαρκείς ποσότητες φωσφόρου, αζώτου και των λοιπών θρεπτικών που είναι απαραίτητα στην αναερόβια χώνευση, προσφέροντας έτσι ιδανικό περιβάλλον για ανάπτυξη. Επομένως, λειτουργικά προβλήματα στην αναερόβια χώνευση που σχετίζονται με τα θρεπτικά παρατηρούνται συνήθως σε περιπτώσεις βιομηχανικών ιλύων. Στις περιπτώσεις αυτές, η προσθήκη θρεπτικών στο χωνευτή συνεπάγεται αύξηση της καταστροφής των πτητικών λιπαρών οξέων και κατά συνέπεια και του ρυθμού παραγωγής του βιοαερίου (Gerardi, 2003).

2.6.3.6. Ανάδευση

Η αποτελεσματική ανάδευση αποτελεί κρίσιμη παράμετρο για την αποδοτική λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης εξασφαλίζοντας ομοιόμορφες συνθήκες θερμοκρασίας στο χωνευτή. Το κριτήριο για την αποτελεσματική ανάδευση είναι να διατηρούνται όλα τα οργανικά υλικά σε αιώρηση, ώστε να εξασφαλίζεται η πρόσβαση σε αυτά των διαφορετικών ομάδων των αναερόβιων μικροοργανισμών. Πιο αναλυτικά οι βασικοί στόχοι της αποτελεσματικής ανάδευσης είναι:

- Μείωση της στρωμάτωσης που προκαλείται από τον αφρισμό.
- Διατήρηση ομοιόμορφης θερμοκρασίας.

- Διατήρηση της χημικής και φυσικής ομοιομορφίας.
- Πρόσβαση των μικροοργανισμών στο οργανικό υπόστρωμα.
- Γρήγορη διάχυση των μεταβολικών προϊόντων.
- Αποφυγή τοπικής συσσώρευσης ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων που είναι ανασταλτικά για τη βιολογική δραστηριότητα.
- Αποφυγή ανόργανων καθιζήσεων.

Ο βέλτιστος ρυθμός ανάμιξης ορίζεται από την εξασφάλιση ομοιογενών συνθηκών εντός του χωνευτή. Σε ένα χωνευτή, ο οποίος αναδεύεται χρησιμοποιείται όλος ο όγκος του για την αποσύνθεση του οργανικού υλικού. Αντίθετα, αν υπάρχουν ζώνες που δεν αναδεύονται, τότε σε αυτές δεν πραγματοποιείται σταθεροποίηση της ιλύος, επομένως μειώνεται ο ενεργός όγκος του χωνευτή. Σε ιδανικές συνθήκες ο χωνευτής πρέπει να αναδεύεται πλήρως και να μην υπάρχουν «νεκρές» ζώνες. Επιπλέον, η ανάδευση αποτρέπει εν μέρει τη δημιουργία στρώματος υλικών που επιπλέουν στην επιφάνεια, το οποίο επίσης μειώνει τον ενεργό όγκο του χωνευτή και δυσκολεύει την απελευθέρωση του βιοαερίου από την υγρή φάση. Αν η ανάμιξη δεν είναι αποτελεσματική, τότε δημιουργούνται εντός του χωνευτή «κελιά», τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικά στάδια χώνευσης, διαφορετικό pH και διαφορετική θερμοκρασία, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται ο συνολικός ρυθμός της χώνευσης.

Η ενέργεια που απαιτείται για την ανάμιξη ενός χωνευτή είναι συνάρτηση του όγκου του, της συγκέντρωσης στερεών, του είδους της εισερχομένης ιλύος και του εξοπλισμού ανάδευσης. Συνήθως, η ανάδευση επιτυγχάνεται με την ανακυκλοφορία του παραγόμενου βιοαερίου ή της ιλύος ή με άλλα μηχανικά μέσα. Το είδος της ανάδευσης που χρησιμοποιείται δεν επηρεάζει τη χώνευση, εφόσον είναι αποτελεσματική. Ωστόσο, στην περίπτωση αφρισμού λόγω υψηλής συγκέντρωσης νηματοειδών μικροοργανισμών ή τασιενεργών ουσιών στην εισερχόμενη ιλύ, η ανάδευση με ανακυκλοφορία του παραγόμενου βιοαερίου μπορεί να επιδεινώσει το φαινόμενο.

Σε κάθε περίπτωση, η ανάδευση μπορεί να γίνεται με χρονοπρόγραμμα εφόσον δεν είναι αναγκαίο να είναι συνεχής για την επίτευξη ικανοποιητικής καταστροφής πτητικών στερεών (Stafford, 1982; WEF, 1996; Gerardi, 2003).

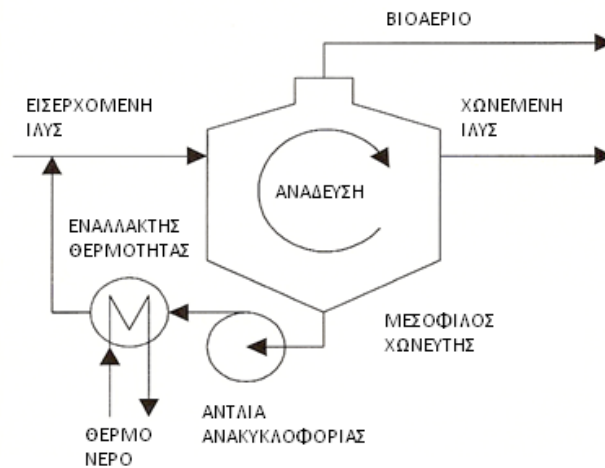
2.6.4. Σχεδιασμός συστημάτων αναερόβιας χώνευσης

2.6.4.1. Μεσόφιλη χώνευση

Σήμερα, τα περισσότερα συστήματα αναερόβιας χώνευσης των ΕΕΛ είναι μονοβάθμια, μεσόφιλα, υψηλού ρυθμού φόρτισης. Τα σημεία στα οποία πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή κατά το σχεδιασμό και τη λειτουργία αυτών των συστημάτων είναι τα παρακάτω (σχήμα 2.10):

- Ομοιόμορφη τροφοδοσία.
- Αυτόματη απομάκρυνση αφρού και υλικών που επιπλέουν.
- Πλήρης μίξη.
- Σταθερή θέρμανση.
- Βελτιωμένη πάχυνση πριν την τροφοδοσία.

Προάγοντας τα σημεία αυτά, βελτιστοποιείται η συμβατική μεσόφιλη χώνευση.



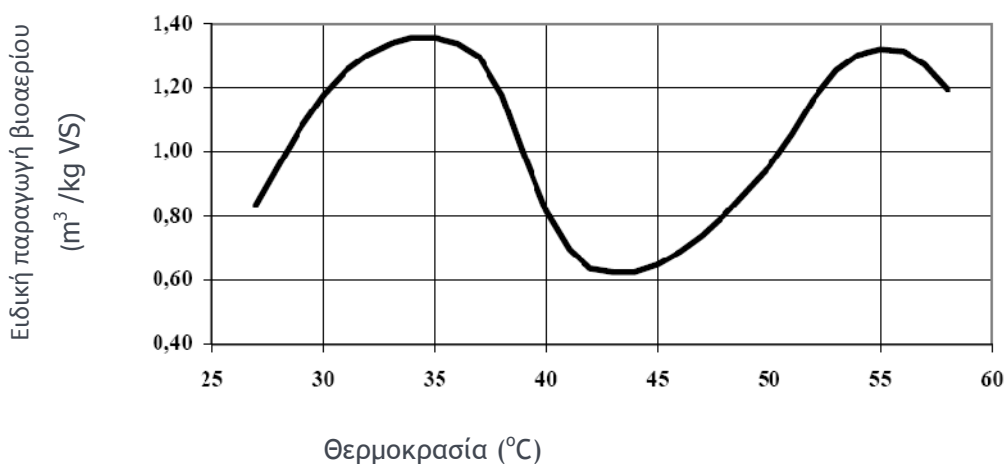
Σχήμα 2.10: Σχηματική απεικόνιση χωνευτή συνεχούς ροής πλήρους μίξης.

Το μεγάλο πλεονέκτημα της μεσόφιλης χώνευσης είναι ότι έχει μελετηθεί και εφαρμοσθεί ευρέως, με αποτέλεσμα να είναι προσιτή τεχνολογία για τους λειτουργούς των ΕΕΛ. Συνεπώς, είναι καλά προσδιορισμένα τα επιθυμητά λειτουργικά χαρακτηριστικά, όπως: ο ρυθμός οργανικής φόρτισης, ο χρόνος παραμονής στερεών και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση πτητικών οξέων, η αλκαλικότητα και το pH. Τέλος, οι ενεργειακές

απαιτήσεις της μεσόφιλης χώνευσης είναι περιορισμένες και άρα το κόστος λειτουργίας είναι συγκριτικά μικρότερο από ότι στους θερμόφιλους χωνευτές.

Ένα σημαντικό μειονέκτημα της μεσόφιλης χώνευσης είναι ότι οι ρυθμοί αντίδρασης είναι μικρότεροι σε σχέση με τη θερμόφιλη και επομένως απαιτείται μεγαλύτερος όγκος χωνευτών για τον ίδιο βαθμό σταθεροποίησης της ιλύος. Επίσης, η καταστροφή των πτητικών αιωρούμενων στερεών, η παραγωγή βιοαερίου και η υγειονομοποίηση της αφυδατωμένης ιλύος υστερούν από τη θερμόφιλη χώνευση. Έτσι καταρχήν, όσον αφορά στην καταστροφή των πτητικών στερεών, αυτή είναι μεγαλύτερη σε θερμόφιλες συνθήκες συγκριτικά με τις μεσόφιλες, σε ίσους χρόνους παραμονής. Ωστόσο, σε μεγάλους χρόνους παραμονής η διαφορά αυτή μπορεί να μην είναι σημαντική. Για παράδειγμα, οι Carballa *et al.* (2007) αναφέρουν ποσοστά της τάξης του 67,4% για θερμόφιλη χώνευση και 64,3% για μεσόφιλη, σε χρόνο παραμονής 20 ημερών, ενώ για χρόνο παραμονής 10 ημερών αναφέρουν ποσοστά καταστροφής της τάξης του 51,2% για τη μεσόφιλη και 60,8 % για τη θερμόφιλη χώνευση.

Ανάλογη με την καταστροφή των πτητικών στερεών είναι η παραγωγή του βιοαερίου, ίση με 0,75-1 m³ ανά 1 kg πτητικών στερεών που καταστρέφονται στο χωνευτή (Gerardi, 2003). Στο παρακάτω γράφημα 2.8 φαίνεται η ειδική παραγωγή βιοαερίου προς την καταστροφή των πτητικών στερεών συναρτήσει της θερμοκρασίας.



Γράφημα 2.8: Ειδική παραγωγή βιοαερίου προς την καταστροφή των πτητικών στερεών συναρτήσει της θερμοκρασίας (Ros and Zurancic, 2003)

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται τιμές της τάξης 0,059, 0,400 και 0,565 m³ βιοαερίου/kg VS για χρόνους παραμονής 1, 3 και 10 ημερών αντίστοιχα για

θερμόφιλες συνθήκες (Ros and Zupancic, 2003). Οι Reusser and Zelinka (2004) αναφέρουν τιμές της τάξης 0,9-1,3 m³ βιοαερίου/kg VS που καταστρέφονται για μεσόφιλη χώνευση με χρόνο παραμονής 20 και 15 ημέρες, 1,0-1,3 m³ βιοαερίου/kg VS για τη θερμόφιλη χώνευση με χρόνο παραμονής 7,5-15 ημέρες και 1,0-2,1 m³ βιοαερίου/kg VS για συστήματα θερμόφιλης/μεσόφιλης χώνευσης σε σειρά με χρόνο παραμονής 10-20 μέρες. Οι Aitken *et al.* (2005) αναφέρουν τιμές της τάξης των 0,8 - 1,3 m³ βιοαερίου/kg VS για θερμόφιλους χωνευτές με χρόνους παραμονής 4-6 ημέρες.

Προκειμένου να αυξηθεί η απόδοση των μεσόφιλων χωνευτών, μπορεί η λειτουργία τους να γίνεται σε σειρά ώστε να αυξηθεί η παραγωγή βιοαερίου, η καταστροφή των πτητικών στερεών και να μειωθεί η συγκέντρωση των παθογόνων μικροοργανισμών.

2.6.4.2. Θερμόφιλη χώνευση

Στη θερμόφιλη χώνευση, η διεργασία σταθεροποίησης της ιλύος και παραγωγής μεθανίου είναι παρόμοια με τη μεσόφιλη χώνευση, με τη διαφορά ότι γίνεται σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες (50-57°C). Όπως αναφέρθηκε και στην προηγούμενη παράγραφο, η υψηλότερη θερμοκρασία λειτουργίας της θερμόφιλης χώνευσης συνεπάγεται αύξηση του ρυθμού των διεργασιών και άρα της καταστροφής των πτητικών αιωρούμενων στερεών και παραγωγής μεθανίου, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Η ταχύτερη και μεγαλύτερη παραγωγή βιοαερίου βελτιώνει το ενεργειακό ισοζύγιο της διεργασίας, το οποίο αρχικά είναι δυσμενέστερο από αυτό της μεσόφιλης χώνευσης λόγω της θερμικής ενέργειας που απαιτείται για τη θέρμανση του χωνευτή στην υψηλότερη θερμοκρασία της θερμόφιλης χώνευσης.

Επίσης, καθώς η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών επιταχύνεται με το χρόνο και τη θερμοκρασία, οι υψηλότερες θερμοκρασίες της θερμόφιλης χώνευσης συνεπάγονται είτε βελτιωμένα χαρακτηριστικά τελικού προϊόντος σε σχέση με τη μεσόφιλη χώνευση είτε για την παραγωγή προϊόντος με παρόμοια χαρακτηριστικά μείωση του απαιτούμενου όγκου του χωνευτή, μειώνοντας έτσι το κόστος κατασκευής του. Σχετικά με το κόστος της θερμόφιλης χώνευσης, εξαρτάται από διάφορους παράγοντες που σχετίζονται με τις τοπικές συνθήκες κάθε εγκατάστασης σε ότι αφορά την ενεργειακή πολιτική, τη μεταφορά και τη χρήση της

επεξεργασμένης ιλύος, την ανάκτηση θερμότητας από το βιοαέριο και άλλα. Τελικά, μπορεί να είναι μεγαλύτερο ή και όχι σε σχέση με τη μεσόφιλη χώνευση. Έτσι το αυξημένο λειτουργικό κόστος μπορεί να εξισορροπηθεί από την ενεργειακή αξιοποίηση του παραγόμενου βιοαερίου, την ευκολότερη διάθεση του τελικού σταθεροποιημένου προϊόντος ή/και από τη μείωση του κόστους κεφαλαίου, εφόσον οι απαιτήσεις σε όγκο χωνευτών είναι μικρότερες.

Στα μειονεκτήματα της θερμόφιλης χώνευσης μπορεί να προσμετρηθεί η σχετική ευαισθησία της λειτουργίας των χωνευτών σε μεταβολές των λειτουργικών τους συνθηκών. Αυτό οφείλεται στο μικρότερο αριθμό των ειδών των μεθανογόνων βακτηρίων που απαντώνται στις θερμόφιλες θερμοκρασίες. Αλλά μειονεκτήματα της θερμόφιλης χώνευσης είναι το αυξημένο πρόβλημα οσμών εξαιτίας της αυξημένης συγκέντρωσης πτητικών λιπαρών οξέων (Volatile Fatty Acids, VFAs) στη χωνεμένη ιλύ, η μεγαλύτερη θερμική πίεση στα τοιχώματα των χωνευτών, εξαιτίας των μεγαλύτερων θερμοκρασιών και τα μηχανικά προβλήματα, όπως οι εμφράξεις στις συνδέσεις των εναλλακτών θερμότητας, από συσσωματώματα.

Οι Iranpour *et al.* (2006) χρησιμοποίησαν θερμόφιλους χωνευτές συνεχούς ροής/ασυνεχούς ροής σε σειρά, που λειτούργησαν σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (περίπου 57,5 °C, 52,5 °C και 53,5 °C), με στόχο τη μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών κάτω από το όριο που ορίζεται από την κείμενη νομοθεσία. Παρατήρησαν ότι, και στις τρεις θερμοκρασίες ήταν επιτεύξιμη η παραγωγή ιλύος προηγμένης επεξεργασίας. Όμως, στην υψηλότερη θερμοκρασία ήταν έντονη η μυρωδιά, από την αυξημένη παραγωγή μεθυλ-μερκαπτανών και από την αυξημένη συγκέντρωση πτητικών οξέων, αυξάνοντας ταυτόχρονα και τον λόγο πτητικών οξέων/ αλκαλικότητας. Για αυτό, πρότειναν την λειτουργία των χωνευτών στα όρια του θερμοφιλικού εύρους, δηλαδή στους 52 °C, μειώνοντας ταυτόχρονα το λειτουργικό κόστος της εγκατάστασης.

Οι Gavala *et al.* (2003) μελέτησαν τις διαφορές μεταξύ μεσόφιλης και θερμόφιλης αναερόβιας χώνευσης της ιλύος, τόσο όσον αφορά στην απόδοση των συστημάτων όσο και στις διαφορές στη μικροβιολογική τους δραστηριότητα σχετικά με την κατανάλωση διαφορετικού υποστρώματος. Το αποτέλεσμα ήταν ότι τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των μεσόφιλων και των θερμόφιλων χωνευτών ήταν παρόμοια, υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα, η θερμόφιλη χώνευση πέτυχε υψηλότερη καταστροφή πτητικών στερεών ωστόσο, τα δύο συστήματα είχαν παρόμοια παραγωγή μεθανίου.

Το γεγονός αυτό οφειλόταν στην υψηλότερη συγκέντρωση πτητικών λιπαρών οξέων στο θερμοφιλο χωνευτή σε σχέση με το μεσόφιλο, πιθανότατα εξαιτίας του ταχύτερου ρυθμού παραγωγής οξέων στην υψηλότερη θερμοκρασία από τα οξεοξόνα βακτήρια. Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων αποδείχτηκαν περιοριστικές για τα μεθανογόνα βακτήρια με αποτέλεσμα τη συσσώρευσή τους και όχι τη μετατροπή τους σε μεθάνιο. Ο μέγιστος ρυθμός κατανάλωσης του οξικού και προπιονικού οξέος, όπως και ο ρυθμός παραγωγής μεθανίου από το υδρογόνο και το φορμικό οξύ ήταν μεγαλύτερα στους θερμοφίλους μικροοργανισμούς. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι η θερμοφιλή αναερόβια χώνευση είναι πιο αποτελεσματική από ότι η συμβατική μεσόφιλη, ωστόσο τα πλεονεκτήματά της είναι πιο εμφανή όταν χρησιμοποιούνται μικρότεροι χρόνοι παραμονής από τις 20 μέρες.

Οι Carballa *et al.* (2007), επίσης σύγκριναν τη μονοβάθμια μεσόφιλη με τη θερμοφιλή χώνευση. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι ο θερμοφίλος χωνευτής ήταν σταθερός στη λειτουργία σε χαμηλότερους χρόνους παραμονής απ' ότι ο μεσόφιλος σε συνδυασμό με την επίτευξη μεγάλης καταστροφής πτητικών στερεών. Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η υψηλή απόδοση και η σταθερότητα των χωνευτών οφειλόταν εν μέρει στο μεγάλο ποσοστό εισερχόμενης πρωτοβάθμιας ιλύος. Σε κάθε περίπτωση στην εν λόγω εργασία παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμοφίλες συνθήκες και κυρίως συσσώρευση του προπιονικού οξέος έναντι του οξικού.

Οι Benabdallah El-Hadj *et al.* (2007) σύγκριναν τη μεσόφιλη και τη θερμοφιλή χώνευση και κατέληξαν στην υψηλότερη απόδοση της θερμοφιλής χώνευσης, όπως αποδεικνύεται από την υψηλότερη καταστροφή πτητικών στερεών και παραγωγής βιοαερίου. Ωστόσο, και στην περίπτωση αυτή το μίγμα της τροφοδοτούμενης ιλύος ήταν σε μεγαλύτερο ποσοστό (75%) πρωτοβάθμια ιλύς.

Όσον αφορά στα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της ιλύος, εν γένει αυτή επηρεάζεται αρνητικά από την αναερόβια χώνευση ωστόσο διαφορετικά συστήματα χώνευσης έχουν διαφορετική επίδραση. Έτσι η αύξηση της θερμοκρασίας στις θερμοφίλες συνθήκες μειώνει το ιξώδες του νερού και πιθανώς βελτιώνει την κροκίδωση της ιλύος, όμως με περισσότερες απαιτήσεις σε πολυηλεκτρολύτη. Ωστόσο, κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ποιότητα των στραγγιδίων της αφυδάτωσης είναι επιδεινωμένη, εφόσον περιέχουν υψηλές ποσότητες διαλυτών στερεών και αυξημένα επίπεδα αμμωνίας. Έτσι, με την ανακυκλοφορία των

στραγγισμάτων της αφυδάτωσης μπορεί να δημιουργηθεί πρόβλημα σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με απομάκρυνση θρεπτικών.

Σύμφωνα με τον Garber (1982) η χωνεμένη ιλύς σε θερμοφιλικές συνθήκες μπορεί να αφυδατωθεί σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στερεών σε σχέση με τη χωνεμένη σε μεσόφιλες συνθήκες, αλλά απαιτεί περίπου 2,5 φορές μεγαλύτερη δόση πολυηλεκτρολύτη. Τον ισχυρισμό αυτό επιβεβαιώνουν και οι Kugelman & Guida (1989). Επίσης, οι μελέτες των Novak και Binins (2000) αναφέρουν ότι απαιτείται μεγαλύτερη δόση πολυηλεκτρολύτη σε ιλύ που χωνεύεται σε σύστημα θερμοφιλικού/μεσόφιλου σε σειρά σε σχέση με τη συμβατική μεσόφιλη χώνευση. Καταλήγουν επομένως, ότι το δεύτερο μεσόφιλο στάδιο, που ακολουθεί το θερμοφιλικό, δε βελτιώνει την αφυδατωσιμότητα. Με την αύξηση του χρόνου παραμονής στο δεύτερο στάδιο μειώνεται η απαίτηση του πολυμερούς, ενώ ο χρόνος παραμονής του πρώτου σταδίου δεν παίζει σημαντικό ρόλο.

Μία ακόμα παράμετρος που επιδρά στην αφυδατωσιμότητα της ιλύος είναι η προέλευσή της. Έτσι, η πρωτοβάθμια ιλύς αφυδατώνεται πιο εύκολα, ακόμα και αν χωνευθεί σε θερμοφιλικές συνθήκες σε σχέση με την ενεργό ιλύ ή/και μίγμα πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας ιλύος (Lin *et al.*, 2001; Reusser *et al.*, 2004; Lasler *et al.*, 1986).

2.6.4.3. Πολυβάθμια συστήματα αναερόβιας χώνευσης

Τα συστήματα αναερόβιας χώνευσης πρέπει να βελτιστοποιούν την υψηλή καταστροφή των πτητικών στερεών και την υψηλή παραγωγή βιοαερίου, σε σχέση με το μικρό μέγεθος του χωνευτή, έχοντας ταυτόχρονα σταθερή απόδοση. Η χρήση δύο χωνευτών σε σειρά είναι ένας τρόπος για την επιτυχία αυτής της βελτιστοποίησης. Έτσι, η συμβατική μεσόφιλη χώνευση και η θερμοφιλική χώνευση, όπως περιγράφηκαν παραπάνω, μπορούν να χρησιμοποιηθούν συνδυαστικά. Υπάρχουν, δηλαδή, συστήματα μεσόφιλων χωνευτών σε σειρά ή συνδυασμός θερμοφίλων/μεσόφιλων σε σειρά. Τέτοια συστήματα μπορούν να λειτουργούν στις ίδιους ή/και σε διαφορετικούς χρόνους παραμονής και να δεχτούν ιλύ με υψηλό οργανικό φορτίο. Ιδιαίτερα σημαντικός είναι ο ρόλος του δεύτερου σταδίου, το οποίο προσφέρει επιπλέον σταθερότητα στη διεργασία.

Ένα σύστημα θερμοφιλου/μεσόφιλου χωνευτή σε σειρά, εκμεταλλεύεται τα πλεονεκτήματα και των δύο μορφών χώνευσης, περιορίζοντας τα λειτουργικά προβλήματα που συνήθως σχετίζονται με τις θερμοφιλες συνθήκες. Στο εν λόγω σύστημα, στο θερμοφιλο χωνευτή συντελείται το μεγαλύτερο ποσοστό καταστροφής των πτητικών στερεών και των παθογόνων μικροοργανισμών, καθώς και της παραγωγής του βιοαερίου, ενώ στο μεσόφιλο χωνευτή μειώνονται οι δυσάρεστες μυρωδιές και σταθεροποιείται η παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων.

Η μεταφορά της ιλύος από θερμοφιλες σε μεσόφιλες συνθήκες μοιράζει τα θρεπτικά και ενδιάμεσα συστατικά στους αναερόβιους μικροοργανισμούς, οι οποίοι επιλέγουν το υπόστρωμα που τους έλκει περισσότερο. Οι Vandenburg *et al.* (2002), μελέτησαν τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών από το θερμοφιλο στάδιο σε μεσόφιλες συνθήκες. Τα συμπεράσματά τους δείχνουν ότι οι μικροοργανισμοί, που αναπτύσσονται σε θερμοφιλες συνθήκες, παραμένουν ενεργοί σε μεσόφιλες, αν και η δραστηριότητά τους μειώνεται. Επομένως, στο μεσόφιλο στάδιο ενός τέτοιου συστήματος συνυπάρχουν και δρουν ταυτόχρονα και θερμοφιλα και μεσόφιλα βακτήρια, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η απόδοσή του.

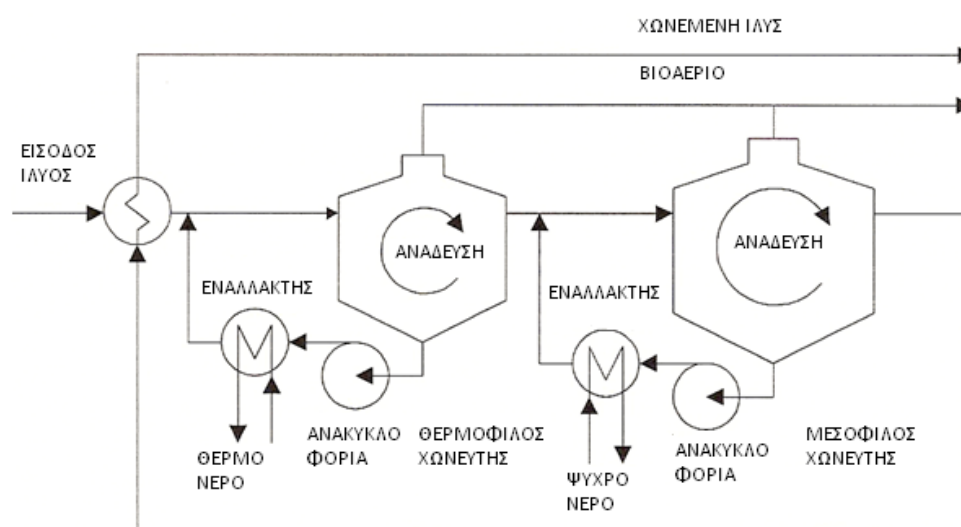
Η απόδοση του μεσόφιλου χωνευτή, ο οποίος ακολουθεί ένα θερμοφιλο χωνευτή εξαρτάται από δύο παράγοντες. Πρώτον, από την καταστροφή των πτητικών στερεών στο θερμοφιλο χωνευτή και δεύτερον, από το χρόνο παραμονής του μεσόφιλου. Όσο πιο μεγάλη είναι η βιοαποδόμηση του διαθέσιμου υποστρώματος στο θερμοφιλο χωνευτή, τόσο μικρότερη θα είναι η απόδοση του μεσόφιλου. Αν και το σύστημα ανταπεξέρχεται στις εναλλαγές οργανικού φορτίου, ο θερμοφιλος χωνευτής παραμένει ευαίσθητος σε εναλλαγές περιβαλλοντικών συνθηκών, επηρεάζοντας όλη την απόδοση του συστήματος. (Reusser and Zelinka, 2004; Song *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 1998; Roberts *et al.*, 1999).

Συγκριτικά με τα μονοβάθμια συστήματα, τα πολυβάθμια παρουσιάζουν υψηλότερη απόδοση σε σχέση με τα μονοβάθμια μεσόφιλα ή θερμοφιλα συστήματα, ως προς την καταστροφή των πτητικών στερεών. Πιο συγκεκριμένα, οι Reusser και Zelinka (2004) αναφέρουν ποσοστά της τάξης του 57,6% για μονοβάθμιο σύστημα μεσόφιλης χώνευσης και 64% για διβάθμιο σύστημα θερμοφιλης/μεσόφιλης χώνευσης, για χρόνο παραμονής 20 ημερών. Επίσης, οι Han *et al.* (1998) αναφέρουν ότι διβάθμιο σύστημα θερμοφιλης/μεσόφιλης χώνευσης επιτυγχάνει 18% μεγαλύτερη καταστροφή πτητικών στερεών σε σχέση με μονοβάθμιο σύστημα μεσόφιλης χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 - 15 ημερών.

Επίσης, αυξημένη είναι η παραγωγή βιοαερίου στα πολυβάθμια συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Στα συστήματα αυτά η μεγαλύτερη παραγωγή βιοαερίου συντελείται κυρίως στο δεύτερο στάδιο, όπου το βιοαέριο δεν προέρχεται μόνο από την καταστροφή των πτητικών στερεών, αλλά και από τα πτητικά οξέα που προκύπτουν στο πρώτο στάδιο.

2.6.4.4. Διαμερισματοποίηση αναερόβιας χώνευσης σε οξεογένεση και μεθανογένεση

Μια εξελιγμένη μορφή της πολυβάθμιας αναερόβιας χώνευσης βασίζεται στη διαμερισματοποίηση της αναερόβιας επεξεργασίας (σχήμα 2.11). Σε αυτή την περίπτωση η χώνευση γίνεται σε δύο στάδια, στα οποία διαχωρίζεται η φάση παραγωγής οξέων από την πιο απαιτητική φάση παραγωγής μεθανίου και τα δύο στάδια πραγματοποιούνται σε διαφορετικούς χωνευτές. Η ανάγκη να διαχωριστούν οι δύο αυτές φάσεις προέκυψε από τα διαφορετικά χαρακτηριστικά του μεταβολισμού και τους διαφορετικούς ρυθμούς ανάπτυξης των οξεογόνων και των μεθανογόνων βακτηρίων. Κάθε στάδιο (χωνευτής) λειτουργεί στις βέλτιστες συνθήκες θερμοκρασίας - χρόνου παραμονής για την ανάπτυξη των βακτηρίων που παράγουν οξέα και αυτών που παράγουν μεθάνιο, αντίστοιχα.



Σχήμα 2.11: Σχηματική απεικόνιση διαμερισματοποιημένης χώνευσης (Θερμόφιλη/Μεσόφιλη) (Gerardi, 2003).

Πιο συγκεκριμένα, σε ένα σύστημα διαμερισματοποίησης της αναερόβιας χώνευσης, στο πρώτο στάδιο πραγματοποιείται η υδρόλυση των σύνθετων οργανικών ενώσεων και η παραγωγή οξέων από τα αντίστοιχα βακτήρια, τα οποία μετατρέπουν το οργανικό υλικό της εισερχόμενης ιλύος σε διαλυτές ουσίες και πτητικά λιπαρά οξέα. Βέβαια, στο στάδιο αυτό αναπτύσσεται κάποιος πληθυσμός μεθανογόνων βακτηρίων, ο οποίος όμως δεν είναι αρκετός για την πλήρη μετατροπή των πτητικών οξέων σε μεθάνιο. Σχετικά με το βιοαέριο, σε αυτό το στάδιο παράγεται πολύ μικρή ποσότητα, της τάξης του 6% της συνολικής και είναι χαμηλότερης ποιότητας σε σχέση με το βιοαέριο από το δεύτερο κωνευτή (λιγότερο από 40% μεθάνιο).

Στο δεύτερο στάδιο εισέρχεται η εκροή του πρώτου σταδίου, στην οποία πραγματοποιείται η περαιτέρω μετατροπή του οργανικού υλικού σε οξικό οξύ και η παραγωγή μεθανίου από τα μεθανογόνα βακτήρια, τα οποία μετατρέπουν τα διαλυτά υλικά σε βιοαέριο. Οι Zhang *et al.* (1991) συγκρίνοντας τη χώνευση σε ένα στάδιο και τη χώνευση σε δύο στάδια αναφέρουν ότι η μετατροπή του οξικού οξέος στο δεύτερο στάδιο από τα μεθανοβακτήρια είναι 2 με 10 φορές μεγαλύτερη, σε σχέση με τη χώνευση σε ένα στάδιο και αυτό γιατί στο δεύτερο στάδιο εισέρχεται ήδη κάποιος πληθυσμός μεθανοβακτηρίων από το πρώτο.

Ο διαχωρισμός των δύο φάσεων μπορεί να γίνει είτε με φυσικό διαχωρισμό, για παράδειγμα με τη χρήση μεμβρανών, είτε προκαλώντας τοξικότητα σε μία από τις ομάδες των μικροοργανισμών ή με κινητικό έλεγχο. Ο κινητικός έλεγχος μπορεί να επιτευχθεί ελέγχοντας το χρόνο παραμονής των στερεών στην πρώτη και τη δεύτερη φάση. Ανάλογα με τις απαιτήσεις σε ποιότητα της επεξεργασμένης ιλύος, το κάθε στάδιο μπορεί να λειτουργεί σε θερμοφιλικές ή μεσόφιλικές συνθήκες. Πάντως, προκειμένου η επεξεργασία να θεωρείται προηγμένη, πρέπει ένα από τα δύο στάδια να λειτουργεί στις συνθήκες προηγμένης επεξεργασίας όπως ορίζεται από την κείμενη νομοθεσία.

Όσον αφορά στο βέλτιστο χρόνο παραμονής της οξεογένεσης και της μεθανογένεσης, οι Roberts *et al.* (1998) μελέτησαν το χρόνο παραμονής στο πρώτο στάδιο ενός διαμερισματοποιημένου συστήματος, χρησιμοποιώντας οχτώ διαφορετικούς χρόνους, 8, 10, 12, 14, 18, 24, 36 και 48 ώρες. Παρατήρησαν ότι, η παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων ήταν πολύ μικρή όταν ο χρόνος ήταν μεγαλύτερος από 18 ώρες, θεωρώντας έτσι το χρόνο αυτό ως την έναρξη της μεθανογένεσης. Μεγάλη παραγωγή βιοαερίου σημειώνονταν όταν ο χρόνος παραμονής αυξανόταν πάνω από 24 ώρες, ενώ όσο αυξανόταν ο χρόνος

παραμονής αυξανόταν και η καταστροφή των πτητικών στερεών. Έτσι κατέληξαν ότι ένας θερμόφιλος χωνευτής θα λειτουργούσε πολύ αποδοτικά σαν το πρώτο στάδιο οξεογένεσης ενός διβάθμιου διαμερισματοποιημένου συστήματος και πρότειναν ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του να είναι μικρότερος από 18 ή καλύτερα 14 ώρες.

Οι Roberts *et al.* (1999), μελέτησαν, στη συνέχεια τρεις περιπτώσεις θερμόφιλου/μεσόφιλου χωνευτή σε σειρά, με διαφορετικούς χρόνους παραμονής στο στάδιο της οξεογένεσης, και σύγκριναν τα αποτελέσματά τους με ένα συμβατικό μεσόφιλο χωνευτή. Οι διαφορετικοί χρόνοι παραμονής στο θερμόφιλο χωνευτή επηρέασαν πολύ λίγο τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ιλύος που τροφοδοτούνταν στο μεσόφιλο χωνευτή, εκτός του χωνευτή που λειτουργούσε στις 4 ώρες, ο οποίος χρειάστηκε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για να σταθεροποιηθεί.

Οι Lafitte-Trouque *et al.* (1999) μελέτησαν την απόδοση και προσδιόρισαν το βέλτιστο χρόνο παραμονής για τη διεργασία της μεθανογένεσης σε ένα σύστημα οξεογένεσης/ μεθανογένεσης που δεχόταν υψηλή οργανική φόρτιση. Το στάδιο της οξεογένεσης λειτουργούσε σε θερμόφιλες συνθήκες σε 4 ώρες χρόνο παραμονής ενώ το σε σειρά στάδιο της μεθανογένεσης λειτουργούσε σε μεσόφιλες συνθήκες σε χρόνους παραμονής 8, 12 και 15 ημερών. Ο χρόνος παραμονής των 8 ημερών του δεύτερου σταδίου δεν ήταν ικανός να αφομοιώσει την υψηλή συγκέντρωση των πτητικών οξέων και του χαμηλού pH που προερχόταν από το πρώτο στάδιο. Αυτό οφειλόταν στο γεγονός ότι δεν ήταν αρκετός ώστε να διατηρηθεί ο πληθυσμός των μεθανογόνων βακτηρίων. Ο καταλληλότερος χρόνος παραμονής για τη μεθανογένεση ήταν οι 12 μέρες, χρόνος στον οποίον σημειώθηκαν η βέλτιστη απόδοση καταστροφής πτητικών στερεών και παραγωγής του μεθανίου.

Κατά το σχεδιασμό ενός διαμερισματοποιημένου συστήματος, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στη συγκέντρωση των στερεών στην τροφοδοσία, διότι αυτά τα συστήματα είναι ευαίσθητα στις διακυμάνσεις. Το ποσοστό των οργανικών στερεών στην είσοδο πρέπει να είναι τουλάχιστον 50% και να μην εισέρχονται ουσίες σε τοξικά επίπεδα που μπορεί να εμποδίσουν τη βιολογική διαδικασία.

Έτσι, οι Ponsa *et al.*, (2008) διαχωρίζοντας την εισερχόμενη ιλύ σε χαμηλού και υψηλού οργανικού φορτίου, διερεύνησαν το στάδιο της οξεογένεσης σε θερμόφιλες θερμοκρασίες, παρέχοντας τις βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Από τα αποτελέσματα του πειράματος, πρότειναν ο χρόνος παραμονής να είναι μια μέρα, όταν η εισερχόμενη ιλύς έχει χαμηλό οργανικό

φορτίο, ενώ στην περίπτωση τροφοδοσίας ιλύος με υψηλό οργανικό φορτίο, πρότειναν αύξηση του χρόνου παραμονής σε 4 μέρες.

Τα πλεονεκτήματα ενός διαμερισματοποιημένου συστήματος είναι:

- Μεγαλύτερη καταστροφή στερεών σε μικρότερο όγκο.
- Μείωση των στερεών προς διαχείριση μετά τη χώνευση, λόγω μεγαλύτερης καταστροφής πτητικών στερεών.
- Αυξημένη παραγωγή βιοαερίου, λόγω βελτιστοποίησης των συνθηκών για τα μεθανογόνα βακτήρια και μείωση ρυθμού ενδογενούς αναπνοής.
- Σταθερή λειτουργία, με γρήγορο ρυθμό εκκίνησης της διαδικασίας.
- Τα μειονεκτήματα αυτού του συστήματος, είναι:
- Αυξημένη πολυπλοκότητα, λόγω των ειδικών συνθηκών που πρέπει να τηρούνται σε κάθε στάδιο.
- Απαιτείται διαφορετικός χειρισμός του βιοαερίου, που παράγεται από την πρώτη φάση, επειδή έχει μικρότερη συγκέντρωση μεθανίου και πιθανόν υψηλές συγκεντρώσεις υδροθείου.
- Σημαντικά μεγαλύτερο πρόβλημα οσμών, ειδικά στην πρώτη φάση.
- Παραγωγή υδρογόνου στο πρώτο στάδιο, σε επίπεδο που μπορεί να είναι αναχαιτιστικό ακόμα και για τα οξεογόνα βακτήρια.

2.6.4.5. Διαμερισματοποίηση αναερόβιας χώνευσης σε θερμόφιλο και μεσόφιλο στάδιο

Η διαμερισματοποίηση των αναερόβιων χωνευτών μπορεί να γίνεται και σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας (θερμόφιλες - μεσόφιλες) χωρίς να επιχειρείται κινητική επιλογή σε κάθε στάδιο για την επικράτηση μόνο των οξεογόνων ή των μεθανογόνων βακτηρίων. Με τον τρόπο αυτό τα συστήματα λειτουργούν σε υψηλότερους χρόνους παραμονής, σε πιο σταθερές συνθήκες και με λιγότερα λειτουργικά προβλήματα. Η δε απόδοσή τους είναι γενικά υψηλότερα από τα μονοβάθμια συστήματα.

Οι Song *et al.* (2004) επικέντρωσαν την ερευνητική τους προσπάθεια στη διερεύνηση της απόδοσης ενός διβάθμιου μεσόφιλου και θερμόφιλου χωνευτή με ανακυκλοφορία και με χρόνο παραμονής 21 μέρες. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματά

τους με ένα μονοβάθμιο μεσόφιλο 20 ημερών και έναν θερμόφιλο χωνευτή 10 ημερών εξήγαγαν τα εξής συμπεράσματα:

Καταρχήν, ο μεσόφιλος χωνευτής υπερτερεί του θερμόφιλου όσον αφορά στην παραγωγή μεθανίου, στην ποιότητα εκροής και στη σταθεροποίηση της ιλύος. Όμως, ο θερμόφιλος χωνευτής έχει μεγαλύτερη καταστροφή πτητικών στερεών και παθογόνων μικροοργανισμών. Δεύτερον, η απόδοση του διβάθμιου συστήματος εξαρτιόταν μεν από το ρυθμό επανακυκλοφορίας, αλλά τα λειτουργικά του χαρακτηριστικά υπερτερούσαν από το μονοβάθμιο σύστημα. Η ποιότητα της εκροής, η παραγωγή του μεθανίου και η σταθεροποίηση της ιλύος ήταν βελτιωμένα συγκριτικά με το μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή. Επίσης, η μείωση των πτητικών στερεών ήταν μεγαλύτερη από ότι στο θερμόφιλο, ενώ η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών ήταν περίπου η ίδια. Αυτή η υψηλή απόδοση οφειλόταν στη σταθερή λειτουργία του συστήματος, στην εξειδίκευση των μικροβιακών ομάδων και στην αντίστοιχη κατανομή των θρεπτικών και των ενδιάμεσων προϊόντων. Τέλος, το διβάθμιο σύστημα σημείωσε υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων, οι οποίες ωστόσο δε λειτούργησαν ανασταλτικά στη λειτουργία του χωνευτή.

Επίσης, οι Gray *et al.* (2006) σύγκριναν την απόδοση μονοβάθμιων και πολυβάθμιων συστημάτων και συγκεκριμένα ενός μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή, με ένα μονοβάθμιο θερμόφιλο και τρία συστήματα θερμόφιλου/μεσόφιλου, μεσόφιλου/θερμόφιλου και μεσόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά και τα συμπεράσματα που εξήγαγαν ήταν τα εξής:

- Η διαμερισματοποίηση των χωνευτών βελτίωσε την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Ωστόσο, ο θερμόφιλος χωνευτής πέτυχε μεγαλύτερη καταστροφή από τους διβάθμιους χωνευτές, σε υψηλότερες θερμοκρασίες ή μεγαλύτερους χρόνους παραμονής.
- Όλοι οι χωνευτές, που λειτούργησαν σε θερμόφιλες συνθήκες, παρήγαγαν ιλύ προηγμένης επεξεργασίας. Το σύστημα μεσόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά μείωσε τους παθογόνους μικροοργανισμούς στο όριο της νομοθεσίας, αλλά όχι τόσο αξιόπιστα όσο οι θερμόφιλοι χωνευτές.
- Τη μεγαλύτερη καταστροφή παθογόνων πέτυχε το σύστημα μεσόφιλου/θερμόφιλου, ακολουθούμενο από το μονοβάθμιο θερμόφιλο χωνευτή και κατόπιν από το σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου. Οι συγγραφείς απέδωσαν το γεγονός αυτό στο ότι στο σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου η καταστροφή των παθογόνων οφείλεται στην

υψηλή θερμοκρασία, ενώ στο μονοβάθμιο θερμόφιλο επιδρά σημαντικά και η τοξικότητα της μη-ιονισμένης αμμωνίας. Τέλος, στο σύστημα του μεσόφιλου/θερμόφιλου εκτός από τους δύο παραπάνω παράγοντες, επιδρά τοξικά και η υψηλή συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων.

- Μια αύξηση στην καταστροφή των πτητικών στερεών παρατηρήθηκε, όταν η θερμοκρασία των μεσόφιλων κωνευτών αυξήθηκε από τους 35 °C στους 48 °C. Όταν, όμως, η θερμοκρασία των θερμόφιλων κωνευτών αυξήθηκε από τους 52 °C στους 62 °C, τότε σημειώθηκε μείωση στην καταστροφή των πτητικών στερεών.
- Η υψηλή θερμόφιλη θερμοκρασία, επίσης, φάνηκε ότι επηρεάζει τη μετατροπή των πτητικών λιπαρών οξέων. Όταν η θερμοκρασία ξεπέρασε τους 53 °C, τότε αυξήθηκε η συγκέντρωση του οξικού και προπιονικού οξέος, ενώ στους 35 °C και στους 49 °C, δεν παρατηρήθηκε διαφορά. Η αύξηση των πτητικών οξέων ήταν χαμηλότερη για μικρότερους χρόνους παραμονής (≤ 2 μέρες).

Επίσης, οι Reusser *et al.* (2004) σύγκριναν την απόδοση μονοβάθμιων και πολυβάθμιων συστημάτων και συγκεκριμένα ενός μονοβάθμιου μεσόφιλου, ενός μονοβάθμιου θερμόφιλου, και δύο διβάθμιων συστημάτων ενός θερμόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά και ενός διαμερισματοποιημένου συστήματος οξεογένεσης/μεθανογένεσης. Οι χρόνοι παραμονής των συστημάτων κυμάνθηκαν από 8 ως 20 μέρες, ενώ οι θερμοκρασίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 35-43,3 °C για τους μεσόφιλους κωνευτές και 55-58,9 °C για τους θερμόφιλους. Εκ των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι η καταστροφή των πτητικών στερεών στο θερμόφιλο/μεσόφιλο σε σειρά με χρόνο παραμονής 10 με 12,5 μέρες ήταν μεγαλύτερη από ότι στα άλλα συστήματα, ακόμη και όταν αυτά είχαν μεγαλύτερους χρόνους παραμονής. Επιπροσθέτως, όταν μεγάλωνε ο χρόνος παραμονής του μεσόφιλου κωνευτή στο σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου, αυξανόταν και η καταστροφή των πτητικών στερεών, ενώ όταν αυξανόταν η θερμοκρασία, γινόταν το αντίθετο.

Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι υψηλές θερμοφιλικές θερμοκρασίες αυξάνουν τη συγκέντρωση του προπιονικού οξέος, αλλά δεν προκαλούν προβλήματα στη κώνευση όταν ακολουθεί μεσόφιλος κωνευτής, όπου καταναλώνονται τα πτητικά λιπαρά οξέα και άρα το στάδιο αυτό δρα σταθεροποιητικά στη διεργασία. Όλοι οι θερμόφιλοι κωνευτές είχαν έντονη μυρωδιά, κυρίως εξαιτίας της υψηλής παραγωγής υδρόθειου. Επιπλέον, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι κωνευτές, που διαχωρίζουν τη φάση

παραγωγής οξέων από τη μεθανογένεση, λειτουργούν λίγο καλύτερα από ότι οι μονοβάθμιοι χωνευτές στον ίδιο χρόνο παραμονής σε σχέση με την καταστροφή των πτητικών στερεών. Όσον αφορά στα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας της ιλύος, οι μεσόφιλοι χωνευτές είχαν καλύτερα αποτελέσματα από ότι οι θερμόφιλοι και τα διβάθμια συστήματα, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης κολλοειδών πρωτεϊνών στη χωνεμένη ιλύ των τελευταίων. Όμως, όταν ο χρόνος παραμονής του μεσόφιλου χωνευτή σε ένα σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου αυξάνονταν και η θερμοκρασία παρέμενε στους 35 °C, τότε τα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας της ιλύος ήταν καλύτερα.

Οι Cheunbarn και Pagilla (2000) σύγκριναν ένα διβάθμιο σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου με αυτό ενός μεσόφιλου/θερμόφιλου, καθώς και με έναν μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή, σε χρόνο παραμονής 15 ημερών. Τα δύο διβάθμια συστήματα είχαν περίπου την ίδια καταστροφή πτητικών, η οποία ήταν 12% μεγαλύτερη από την αντίστοιχη του μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή. Η παραγωγή μεθανίου ήταν μεγαλύτερη στο σύστημα του θερμόφιλου/μεσόφιλου αλλά η αφυδατωσιμότητα ήταν καλύτερη στο σύστημα μεσόφιλου/θερμόφιλου. Τέλος, και τα δύο συστήματα μείωσε τους παθογόνους μικροοργανισμούς κάτω από το όριο της νομοθεσίας.

2.6.5. Προβλήματα κατά τη λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης

Υπό σταθερές συνθήκες φόρτισης, επαρκούς ανάμιξης και ομοιογενούς θερμοκρασίας, η λειτουργία των αναερόβιων χωνευτών γίνεται χωρίς δυσκολία. Ωστόσο, παρεκκλίσεις από τη σταθερή λειτουργία μπορεί να προκαλέσουν σημαντικές διαταραχές στη διεργασία της χώνευσης. Οι βασικές παράμετροι, που είναι υπεύθυνες για τη διατάραξη της διεργασίας της αναερόβιας χώνευσης, είναι οι ακόλουθες (Gerardi, 2003; Moen, 2003):

- Υψηλή υδραυλική φόρτιση
- Υψηλή οργανική φόρτιση
- Διακυμάνσεις του pH
- Διακυμάνσεις της θερμοκρασίας
- Είσοδος ή συσσώρευση τοξικής ουσίας
- Νηματοειδής Αφρισμός

Τέλος, είναι πιθανή και η επιμόλυνση της διεργασίας με οξυγόνο από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Παρακάτω παρουσιάζονται τα προβλήματα τοξικότητας και αφρισμού καθώς οι υπόλοιπες παράμετροι έχουν εξεταστεί διεξοδικά σε προηγούμενα κεφάλαια.

2.6.5.1. Τοξικότητα

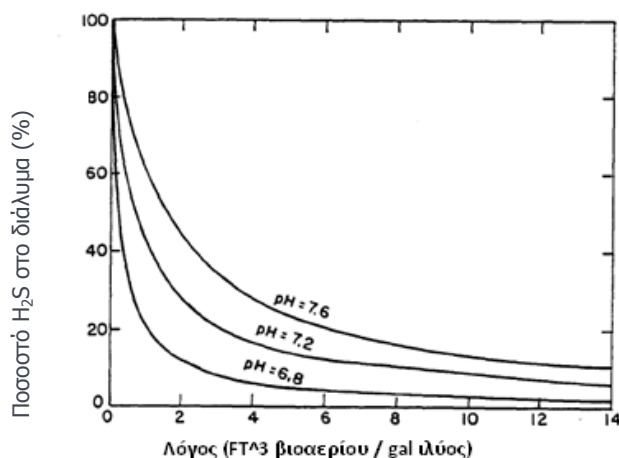
Τοξικότητα σε ένα χωνευτή μπορεί να προκληθεί εξαιτίας αυξημένης συγκέντρωσης οποιασδήποτε ουσίας, ακόμα και αν σε φυσιολογικές τιμές αυτή θα δρούσε ως θρεπτικό. Σημειώνεται, επίσης, ότι υψηλές οργανικές φορτίσεις και χαμηλοί χρόνοι παραμονής των στερεών επιβαρύνουν την τοξικότητα.

Στις περισσότερες περιπτώσεις μειωμένης απόδοσης ή και αστοχίας των αναερόβιων χωνευτών έχουν παρατηρηθεί προβλήματα τοξικότητας λόγω της ισορροπίας της αμμωνίας και των ιόντων αμμωνίου. Η εν λόγω ισορροπία εξαρτάται από το pH του συστήματος και σε pH= 9,3 οι δύο μορφές αμμωνιακού αζώτου (NH_3 ή NH_4^+) είναι σε αναλογία 1:1. Οι χωνευτές σε κανονικές συνθήκες λειτουργίας έχουν pH είναι κοντά στο 7, όπου το ποσοστό της ελεύθερης αμμωνίας αντιστοιχεί στο 0,5% του συνολικού αμμωνιακού αζώτου. Καθώς η ελεύθερη αμμωνία είναι τοξική για τα μεθανογόνα βακτήρια, προβλήματα παρουσιάζονται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 50 mg/L, ενώ σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 1.500 mg/L και υψηλές τιμές του pH οι χωνευτές οδηγούνται σε αστοχία (Gerardi, 2003).

Τα προβλήματα λόγω τοξικότητας της αμμωνίας γίνονται πιο έντονα όταν αυξάνεται η συγκέντρωση των στερεών της εισερχόμενης ιλύος, λόγω της αύξησης του οργανικού αζώτου, η υδρόλυση του οποίου εντός του χωνευτή αυξάνει τις συγκεντρώσεις του αμμωνιακού αζώτου. Το πρόβλημα αυτό είναι μεγαλύτερο στη θερμόφιλη και στη διαμερισματοποιημένη χώνευση, διότι τα συστήματα αυτά έχουν υψηλότερους ρυθμούς υδρόλυσης (Gerardi, 2003).

Όσον αφορά στη συσχέτιση της συγκέντρωσης της αμμωνίας με το χρόνο παραμονής, οι Gray *et al.* (2006) μελέτησαν τη συγκέντρωση της αμμωνίας σε χωνευτές με διαφορετικούς χρόνους παραμονής και θερμοκρασίες. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση της αμμωνίας αυξάνεται με την αύξηση του χρόνου παραμονής και της θερμοκρασίας σε μικρούς χρόνους παραμονής (≤ 2 μέρες).

Επίσης, συνηθισμένη περίπτωση αστοχίας αναερόβιων χωνευτών λόγω τοξικότητας είναι λόγω υψηλών συγκεντρώσεων διαλυμένου H_2S , το οποίο σχηματίζεται εντός των χωνευτών από τη διάσπαση των θειικών ενώσεων και οργανικών ενώσεων όπως αμινοξέων και πρωτεϊνών που περιέχουν θείο. Ο μηχανισμός ανασταλτικής δράσης του υδρόθειου δεν είναι πλήρως κατανοητός ωστόσο η τοξική του δράση παρατηρείται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 200 mg/L στο ουδέτερο pH λειτουργίας των περισσότερων συστημάτων αναερόβιας χώνευσης. Η τοξικότητα του υδρόθειου εξαρτάται από το pH (γράφημα 2.9) που καθορίζει το σημείο ισορροπίας μεταξύ της ελεύθερης και ιονισμένης μορφής του.



Γράφημα 2.9: Η επίδραση της παραγωγής βιοαερίου και του pH στο κλάσμα των διαλυτών σουλφιδίων που παραμένουν στο διάλυμα (Gerardi, 2003).

Το ελεύθερο αέριο υδρόθειο απομακρύνεται από το χωνευτή με το βιοαέριο, επομένως φαινόμενα τοξικότητας εμφανίζεται συνήθως όταν η παραγωγή του βιοαερίου είναι μικρή.

Πρέπει τέλος να σημειωθεί ότι οι μορφές των αδιάλυτων ενώσεων θειούχων μετάλλων όπως θειούχου σιδήρου σχηματίζουν ιζήματα, τα οποία δεν είναι τοξικά. Έτσι, ενώ τα σουλφίδια μπορεί να βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις, η ένωση τους με υπάρχοντα ή και προστιθέμενα μέταλλα, τα μετατρέπει σε αδιάλυτες ενώσεις χωρίς προβλήματα τοξικότητας (Gerardi, 2003).

Σε πολλές περιπτώσεις που παρατηρείται μείωση του pH στην αναερόβια χώνευση (λόγω συσσώρευσης για παράδειγμα πτητικών λιπαρών οξέων) αποτελεί κοινή πρακτική η προσθήκη αλκαλικών ενώσεων για την αναστροφή του φαινομένου. Στις περιπτώσεις αυτές προστίθενται στους χωνευτές και κατιόντα, εκτός των οποίων τα πιο συνηθισμένα είναι το ασβέστιο (Ca^{2+}), το μαγνήσιο (Mg^{2+}), το κάλιο (K^+) και το νάτριο (Na^+). Τα μέταλλα έχουν τόσο ευεργετικές όσο και ανασταλτικές

δράσεις στους χωνευτές. Σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις (100-400 mg/l) η παρουσία τους είναι ευνοϊκή, διότι αποτελούν θρεπτικά στοιχεία για τους μικροοργανισμούς, ενώ σε συγκεντρώσεις >1.500 mg/l γίνονται ανασταλτικοί παράγοντες (πίνακας 2.6).

Πίνακας 2.6: Διεγερτική και ανασταλτική συγκέντρωση κατιόντων μετάλλων (USEPA, 1979).

Κατιόν	Συγκέντρωση, mg/l		
	Διεγερτική	Μέτρια Ανασταλτική	Ισχυρά Ανασταλτική
Ασβέστιο	100 - 200	2500 - 4500	8000
Μαγνήσιο	75 - 150	1000 - 1500	3000
Κάλιο	200 - 400	2500 - 4500	12000
Νάτριο	100 - 200	3500 - 5500	8000

Γενικά, η παρουσία βαρέων μετάλλων σε συγκεντρώσεις ικνοστοιχείων είναι απαραίτητη για την λειτουργία πολλών βακτηρίων. Ωστόσο, όταν οι ουσίες αυτές βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις, επιδρούν αρνητικά στην αναερόβια χώνευση. Είναι δύσκολο να προσδιοριστούν με ακρίβεια τα επίπεδα των συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων που αρχίζουν να είναι τοξικά, αφού εξαρτώνται από τις συνθήκες λειτουργίας του αναερόβιου αντιδραστήρα, ενώ είναι πιθανό, τα βακτήρια να προσαρμόζονται στην παρουσία μετάλλων και να αυξάνει σταδιακά η ανθεκτικότητά τους σε αυτά. Η φθίνουσα σειρά τοξικότητας των μετάλλων είναι Zn>Cr>Cu>Cd>Ni>Pb. Επίσης, τα βαρέα μέταλλα είναι τοξικά όταν βρίσκονται σε διαλυμένη μορφή, διότι διαπερνούν πιο εύκολα το κυτταρικό τοίχωμα και αναχαιτίζουν τη δραστηριότητα τόσο οξειδωτικών όσο και των μεθανογόνων βακτηρίων. Παρά την έντονη τοξικότητα ακόμα και σε μικρότερες συγκεντρώσεις, στις ιλύες που παράγονται από την επεξεργασία αστικών λυμάτων συνήθως δε δημιουργείται πρόβλημα, διότι τα περισσότερα μέταλλα βρίσκονται σε αδιάλυτη μορφή. Σε αυτό συμβάλει και η παρουσία σουλφιδίων, τα οποία αντιδρούν με τα βαρέα μέταλλα δημιουργώντας ιζήματα που δεν είναι τοξικά.

Όσον αφορά στο οξυγόνο, αυτό είναι τοξικό ακόμα και σε ίχνη για τα αυστηρώς αναερόβια μεθανογόνα βακτήρια. Μελέτες, ωστόσο, έδειξαν ότι ενώ οι μεθανογόνοι δεν αναπτύσσονται και δεν παράγουν μεθάνιο, ορισμένοι από αυτούς είναι αρκετά ανθεκτικοί στο οξυγόνο. Για παράδειγμα ο *Methanobrevibacter arboriphilus* και ο *Methanobacterium thermoautotrophicum* μπορούν να συντηρηθούν για μερικές

ώρες μετά την έκθεση τους στο οξυγόνο, ενώ ο *Methanosarcina barkeri* αντέχει για πάνω από 24 ώρες.

Η παρουσία νιτρικών και θειικών ιόντων μπορεί να προκαλέσει την αναχαίτιση των μεθανογόνων βακτηρίων, αφού και τα δύο ιόντα επιδρούν στη δράση των μικροοργανισμών αυξάνοντας το δυναμικό οξειδοαναγωγής. Χαμηλές τιμές του δυναμικού ($< -300\text{mV}$) είναι απαραίτητες για τη σωστή λειτουργία του κωνευτή, γιατί αλλιώς τα θειοβακτήρια επικρατούν των μεθανογόνων βακτηρίων αυξάνοντας, έτσι, την παραγωγή του υδρόθειου και αναχαιτίζοντας τη μεθανογένεση. Σε αυτές τις συνθήκες, οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται σε διοξείδιο του άνθρακα και το θειικό οξύ μετατρέπεται σε υδρόθειο.

Σχετικά με τα λίπη, τα οποία υπάρχουν στην εισερχόμενη ιλύ, αυτά είναι συνήθως με τη μορφή τριγλυκεριδιακών εστέρων και γρήγορα υδρολύονται σε ελεύθερα λιπαρά οξέα μεγάλου μοριακού βάρους (8-18 άνθρακες), όπως το στεατικό, το ελαϊκό, το λινολεϊκό, το παλμιτικό και το μυριστικό οξύ. Τα λιπαρά οξέα μεγάλου μοριακού βάρους γρήγορα υδρολύονται σε πτητικά λιπαρά οξέα (VFAs) μικρότερης αλυσίδας. Η υψηλή συγκέντρωση των μη-ιονισμένων πτητικών οξέων μικρού μοριακού βάρους (1-3 άνθρακες) προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης της αλκαλικότητας και του pH παρεμποδίζοντας, έτσι, την μεθανογένεση.

Τα πτητικά οξέα εμφανίζουν τοξικότητα ακόμα και όταν το pH είναι ουδέτερο, ενώ είναι τοξικά τόσο για τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς, όσο και για τα οξεογόνα βακτήρια. Σε ένα κωνευτή, ο οποίος λειτουργεί κανονικά η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων κυμαίνεται μεταξύ 100 και 5.000 mg/Lt, ανάλογα με την προέλευση των λυμάτων που επεξεργάζονται και τις συνθήκες της χώνευσης. Εάν η συγκέντρωση υπερβεί το ανώτατο όριο των 5.000 mg/Lt, τότε απαιτείται η προσθήκη αλκαλικότητας. Γενικά, τα πτητικά λιπαρά οξέα αναγνωρίζονται ως τα πιο σημαντικά ενδιάμεσα προϊόντα της αναερόβιας διεργασίας και προτείνονται ως οι παράμετροι ελέγχου όλης της διαδικασίας.

Στον πίνακα 2.7, φαίνονται ενδεικτικά οι συγκεντρώσεις στις οποίες κάποιες ανόργανες και οργανικές ουσίες πέρα από αυτές που συζητήθηκαν παραπάνω γίνονται τοξικές για την αναερόβια χώνευση.

Πίνακας 2.7: Συγκεντρώσεις ανόργανων και οργανικών ουσιών που γίνονται τοξικές για την αναερόβια χώνευση (Gerardi, 2003).

Ανόργανα λύματα	Συγκέντρωση (mg/l)	Οργανικά λύματα	Συγκέντρωση (mg/l)
Αμμωνία	1500	Αλλυλική αλκοόλη	100
Αρσενικό	1,6	Οκτυλική αλκοόλη	200
Βόριο	2	Ακρυλονιτρίλιο	5
Κάδμιο	0,02	Βενζιδίνη	5
Εξασθενές χρώμιο	5-50	Χλωροφόρμιο	10-16
Τρισθενές χρώμιο	50-500	Τετραχλωράνθρακας	10-20
Χαλκός	1-10	Μεθυλοχλωρίδιο	100-500
Κυάνιο, Σίδηρος	4, 5	1,1,1-Χλωροαιθάνιο	1
Θείο	50	Τριχλωροφθορικό μεθάνιο	20
Ψευδάργυρος	5-20	Τριχλωροτριφθορικό αιθάνιο	5

Αν και έχουν προσδιοριστεί οι τιμές και το εύρος των συγκεντρώσεων που μια ουσία γίνεται τοξική για τα μεθανογόνα βακτήρια, συχνά μπορεί να γίνει η υπέρβαση των τοξικών συγκεντρώσεων και να μην αναχαιτιστεί η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, κυρίως λόγω της προσαρμογής τους στις εν λόγω συνθήκες. Για τον καθορισμό των τοξικών τιμών συγκεκριμένων ανόργανων και οργανικών λυμάτων των αναερόβιων χωνευτών λαμβάνονται υπόψη πολλοί παράγοντες. Αυτοί οι παράγοντες είναι οι εξής:

- Η ικανότητα των μικροοργανισμών να προσαρμοστούν σε μια συγκεκριμένη σταθερή συγκέντρωση της τοξικής ουσίας.
- Η απουσία ή παρουσία άλλων τοξικών ουσιών.
- Οι αλλαγές στις συνθήκες λειτουργίας.

Οι δείκτες της τοξικότητας μπορεί να παρουσιαστούν γρήγορα ή αργά ανάλογα με τον τύπο της τοξικότητας και τη συγκέντρωση της τοξικής ουσίας. Οι δείκτες της τοξικότητας είναι η απουσία του υδρογόνου, η μείωση του μεθανίου, της αλκαλικότητας και του pH, και η αύξηση των πτητικών λιπαρών οξέων. Αν υπάρχει υποψία τοξικότητας, θα πρέπει να γίνει εκτενής προσδιορισμός όλων των χημικών

ουσιών που περιέχονται στην ιλύ πριν βγουν τα τελικά συμπεράσματα. Πιθανές λύσεις στα προβλήματα τοξικότητας, εκτός από την εξουδετέρωση του χημικού που την προκαλεί από τα λύματα, πρέπει να μελετούνται στο εργαστήριο σε πιλοτικούς χωνευτές (Leighton and Forster, 1997; Lin Chiu-Yue, 1991; Hickey *et al.*, 1989; Cuetos *et al.*, 2006).

2.6.5.2. Αφρισμός

Όπως προαναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, ο αφρός σε ένα υγρό σύστημα εν γένει αποτελείται από μια ασυνεχή φάση όπως μια αέρια διεσπαρμένη σε μια υγρή φάση. Όταν η αέρια φάση εισάγεται κάτω από την επιφάνεια του υγρού τότε το υγρό εκτείνεται ώστε να περικλείσει το αέριο σε έναν υγρό υμένα, δημιουργώντας έτσι αφρό. Στην αναερόβια χώνευση συναντάται αφρός, του οποίου η αέρια φάση αποτελείται από διοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο.

Ο αφρισμός στην αναερόβια χώνευση μπορεί επίσης να δημιουργηθεί ή/ και να ενισχυθεί από τους παρακάτω παράγοντες:

- Συστήματα μίξης:
 - Ο αφρισμός επιδεινώνεται όταν η ανάμιξη γίνεται με ανακυκλοφορία του παραγόμενου βιοαερίου. Οι Pagilla *et al.* (1997) παρακολούθησαν τις συγκεντρώσεις των νηματοειδών βακτηρίων σε δύο αναερόβιους χωνευτές πλήρους κλίμακας για δέκα μήνες. Οι δύο χωνευτές είχαν τα ίδια λειτουργικά χαρακτηριστικά εκτός από τον τρόπο ανάμιξης που γινόταν μηχανικά στον ένα και με το παραγόμενο βιοαέριο στον άλλο. Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης σημειώθηκαν προβλήματα αφρισμού, τα οποία ήταν περισσότερο έντονα στο χωνευτή που η ανάμιξη γινόταν με βιοαέριο. Ο πιθανός μηχανισμός ενίσχυσης του αφρισμού σε συστήματα μίξης με βιοαέριο είναι η παρουσία των φυσαλίδων στην υγρή φάση που ενισχύουν την προσκόλληση υδροφοβικών και τασιενεργών ενώσεων. Επομένως, καθώς οι φυσαλίδες ανέρχονται στην επιφάνεια του χωνευτή οι τασιενεργές ενώσεις τις σταθεροποιούν με αποτέλεσμα να μη διαρρηγνύονται και έτσι να αυξάνεται το δυναμικό και η σταθερότητα του αφρισμού.

- Υπερβολική ανάμιξη, η οποία αυξάνει την ποσότητα των φυσαλίδων στην υγρή φάση που ενισχύουν την προσκόλληση υδροφοβικών και τασιενεργών ενώσεων και αυξάνουν την επιφανειακή του τάση.
- Ανεπαρκής μίξη, η οποία μπορεί να οδηγήσει στο διαχωρισμό υγρής/στερεής φάσης, συσσώρευση των επιφανειακά ενεργών ουσιών λόγω της μείωσης του ρυθμού αποδόμησής τους στη διεπιφάνεια υγρού/ αερίου με αποτέλεσμα την αύξηση της επιφανειακής τάσης και πιθανότατα την έναρξη του αφρισμού (Ganidi *et al.*, 2009).
- Υψηλή συγκέντρωση ουσιών που προκαλούν ή ενισχύουν τον αφρισμό στην εισερχόμενη ιλύ, όπως:
 - λιπών στα στερεά της εισερχόμενης ιλύος,
 - πτητικών λιπαρών οξέων στην εισερχόμενη ιλύ ή ζύμωση των στερεών πριν την εισαγωγή της ιλύος στον χωνευτή,
 - υψηλό ποσοστό ενεργού ιλύος στην εισερχόμενη ιλύ με αυξημένη συγκέντρωση νηματοειδών μικροοργανισμών, συσχέτιση που αποδείχτηκε από τους Hernandez και Jenkins (1994).
- Υπερβολική αλκαλικότητα και μεγάλο ποσοστό CO₂ στο βιοαέριο.
- Παραγωγή επιφανειοδραστικών ουσιών, ως ενδιάμεσα προϊόντα κατά τη βιοαποδόμηση του οργανικού υλικού.
- Συσσώρευση ουσιών κατά τη διεργασία της χώνευσης που δρουν επιφανειοδραστικά. Για παράδειγμα, η συσσώρευση του οξικού οξέος έχει συσχετιστεί στη βιβλιογραφία με προβλήματα αφρισμού στην αναερόβια χώνευση (Pagilla *et al.*, 1997; Westlund *et al.*, 1998; Barjenbruch *et al.*, 2000).

Οι ασταθείς λειτουργικές συνθήκες στους αναερόβιους χωνευτές μπορεί να οδηγήσουν στην πρόκληση προβλημάτων αφρισμού. Ασταθείς λειτουργικές συνθήκες επικρατούν είτε στην έναρξη λειτουργίας του χωνευτή είτε λόγω ανεπαρκούς μίξης. Επιπλέον, υψηλή φόρτιση του χωνευτή μπορεί να αυξήσει το ρυθμό παραγωγής βιοαερίου, πιθανότατα με μεγάλο ποσοστό διοξειδίου του άνθρακα, με αποτέλεσμα το σχηματισμό αφρού. Έρευνες έχουν δείξει ότι επιφανειοδραστικά ενδιάμεσα προϊόντα, όπως φωσφολιπίδια, αμινοοομάδες και λιπαρά οξέα μπορεί να παραχθούν κατά την αναερόβια χώνευση της ενεργού ιλύος και να συσσωρευτούν όταν η λειτουργία του χωνευτή είναι ασταθής. Οι Ross και

Ellis (1992) υπέθεσαν ότι ο αφρισμός σε συστήματα αναερόβιας χώνευσης σχετίζονταν με την οργανική τους υπερφόρτιση και τη συσσώρευση οξικού οξέος. Μερικές λύσεις για την αντιμετώπιση του αφρισμού, εξαιτίας της λειτουργικής αστάθειας, είναι η συνεχής εισροή ιλύος στο χωνευτή, η καλή μίξη, ή η αύξηση της δυναμικότητας (Gerardi, 2003; Moen, 2003).

Επίσης, όπως αναφέρθηκε και στις εισαγωγικές παραγράφους του κεφαλαίου, πολλές φορές τα προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού δεν περιορίζονται στη δευτεροβάθμια διεργασία αλλά εκκινούν προβλήματα αφρισμού και στο σύστημα της αναερόβιας χώνευσης. Πρώτοι, οι van Niekerk *et al.* (1987) κατόπιν έρευνας που διενήργησαν σε Αμερικανικές ΕΕΛ με προβλήματα αφρισμού στην αναερόβια χώνευση, κατέληξαν ότι στις περισσότερες περιπτώσεις υπαίτιος ήταν ο μικροοργανισμός *G. amarae* που τροφοδοτούνταν με την περίσσεια βιολογικής ιλύος στους χωνευτές. Στην ίδια ερευνητική εργασία οι συγγραφείς έδειξαν σε εργαστηριακά πειράματα ότι αναερόβιοι χωνευτές που τροφοδοτούνταν μόνο με πρωτοβάθμια ιλύ δεν παρήγαγαν σταθερό αφρό ενώ όταν στην τροφοδοσία προστίθεντο και βιολογική ιλύς που περιείχε *G. amarae* τότε ο αφρός που δημιουργούνταν ήταν σταθερός.

Σύμφωνα με την έρευνα αυτή, ο αφρισμός στην αναερόβια χώνευση είχε κατά περίπτωση προκαλέσει εμφράξεις στα συστήματα ανάδευσης με βιοαέριο καθώς και στις αντλίες ανακυκλοφορίας ιλύος οδηγώντας σε αδυναμία θέρμανσης των χωνευτών, αναστροφή του προφίλ στερεών, εμφράξεις και στο σύστημα συλλογής του βιοαερίου καθώς και επιδείνωση της ποιότητας του βιοαερίου και άρα προβλήματα και στις μηχανές συμπαραγωγής. Τέλος, σε ορισμένες περιπτώσεις χωνευτών με κινούμενες κεφαλές, ο νηματοειδής αφρισμός έχει οδηγήσει σε αστοχία τους λόγω της διείσδυσης του αφρού μεταξύ των κεφαλών και των τοίχων των χωνευτών, της απότομης εκτόνωσης και κατόπιν κατάρρευσης του όγκου της ιλύος, στα χρονικά διαστήματα που οι χωνευτές αναδεύονταν με την ανακυκλοφορία του βιοαερίου τους.

Οι Hernandez and Jenkins (1994) μελέτησαν την τύχη των *G. amarae* σε εργαστηριακά συστήματα μεσόφιλης αναερόβιας χώνευσης και έδειξαν σε πειράματα διαλείποντος έργου ότι η έναρξη του αφρισμού γινόταν σε συγκεντρώσεις των νηματοειδών μεταξύ 0,05 και 0,1 g ανά g ολικών στερεών. Τα αποτελέσματα αυτά συσχετίστηκαν επιτυχώς και με αποτελέσματα εγκαταστάσεων πλήρους κλίμακας. Επίσης, οι συγγραφείς έδειξαν ότι παρόλο που οι

μικροοργανισμοί *G. amarae* είναι αερόβιοι εντούτοις, επιβιώνουν σε αναερόβιες συνθήκες.

Στη συνέχεια οι Hernandez και Jenkins (1994), χρησιμοποιώντας τη μοριακή μέθοδο των αντισωμάτων, υπολόγισαν την καταστροφή των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* σε τέσσερα μεσόφιλα συστήματα, εκ των οποίων δύο μονοβάθμια με χρόνους παραμονής 14 και 28 ημέρες. Τα άλλα δύο συστήματα ήταν διβάθμια διαμερισματοποιημένα ως προς τη διεργασία της οξεογένεσης, με χρόνους παραμονής 4 ημέρες (οξεογένεση) και 10 ημέρες (μεθανογένεση) και 4 4 ημέρες (οξεογένεση) και 24 ημέρες (μεθανογένεση) αντίστοιχα.

Οι συγγραφείς υπολόγισαν καταρχήν ότι η κινητική της φθοράς των μικροοργανισμών στα μονοβάθμια μεσόφιλα συστήματα είναι πρώτης τάξης και υπολόγισαν το συντελεστή φθοράς ίσο με $0,02d^{-1}$ ενώ με τη μέθοδο INT ο συντελεστής φθοράς υπολογίστηκε ίσος με $0,015d^{-1}$. Επίσης, οι συγγραφείς υπολόγισαν το ποσοστό καταστροφής *G. amarae* ίσο με 37% κατά μέσο όρο στο μονοβάθμιο και διβάθμιο σύστημα στις 14 ημέρες ενώ βρήκαν ότι τα διβάθμια συστήματα παρουσίασαν μεγαλύτερα ποσοστά καταστροφής και συγκεκριμένα κατά 100% και 50% μεγαλύτερα στις 28 και 14 ημέρες αντίστοιχα. Τέλος, οι συγγραφείς υπολόγισαν το δυναμικό του αφρισμού στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης και έδειξαν ότι ήταν αντιστρόφως ανάλογο του χρόνου παραμονής. Στον παρακάτω πίνακα 2.8 φαίνονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των ποσοστών καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* όπως υπολογίστηκαν από τους Hernandez και Jenkins (1994) σε μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης.

Πίνακας 2.8: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* όπως υπολογίστηκαν από τους Hernandez και Jenkins (1994) σε μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης

Χρόνος παραμονής (ημέρες)	Μονοβάθμια συστήματα Βάσει kd			Διβάθμια συστήματα	
	10	14	28	14	28
C/C_0	0,82	0,76	0,57	NA	NA
%Καταστροφή	18,1%	24,4%	42,9%	48,8%	64,3%

Οι Mamais *et al.* (1998) υποστήριξαν τα ευρήματα αυτά αναφέροντας ότι ο μικροοργανισμός *M. parvicella* μπορεί να επιβιώνει σε ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες.

Οι Pagilla *et al.* (1997) επίσης παρακολούθησαν τις συγκεντρώσεις των νηματοειδών βακτηρίων σε δύο αναερόβιους χωνευτές πλήρους κλίμακας για δέκα μήνες. Οι δύο χωνευτές είχαν τα ίδια λειτουργικά χαρακτηριστικά εκτός από τον τρόπο ανάμιξης που γινόταν μηχανικά στον ένα και με το βιοαέριο στον άλλο. Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης σημειώθηκαν προβλήματα αφρισμού όταν η συγκέντρωση του μικροοργανισμού *G. amarae* ήταν 10^7 /g VSS και ήταν περισσότερο έντονα στο χωνευτή που η ανάμιξη γινόταν με βιοαέριο.

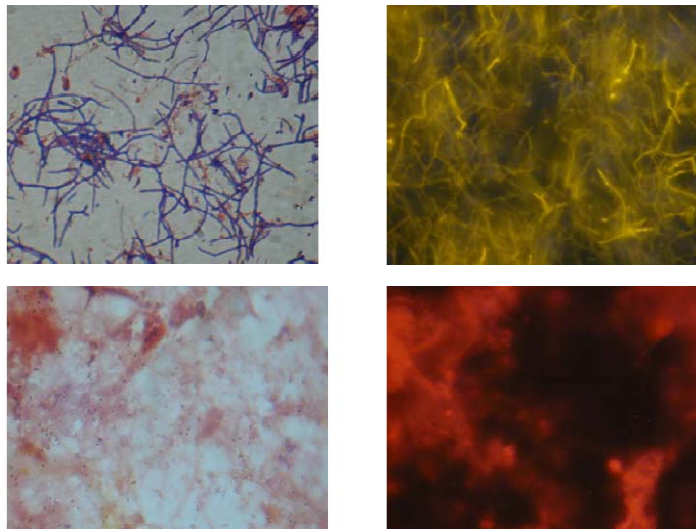
Επίσης, οι Westlund *et al.* (1998) αναφέρουν ότι τρεις μεγάλες μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων στην ευρύτερη περιοχή της Στοκχόλμης παρουσίασαν το φαινόμενο του αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές τους. Μικροσκοπική μελέτη του αφρού αποκάλυψε υπερανάπτυξη του νηματοειδούς βακτηρίου *M. parvicella*.

Μια άλλη περίπτωση αστοχίας αναερόβιων χωνευτών που προκλήθηκε από συσσώρευση του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* αναφέρεται από τους Jones *et al.* (2003). Οι συγγραφείς συσχέτισαν την υπερανάπτυξη του νηματοειδούς μικροοργανισμού στη δευτεροβάθμια επεξεργασία με σημαντικά προβλήματα αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές. Ο αφρός που παρήχθη στους χωνευτές μείωσε τον ενεργό τους όγκο, προκάλεσε μείωση στο βαθμό σταθεροποίησης της ιλύος, οδήγησε στη μείωση της ποσότητας της αφαιρούμενης περίσσειας ιλύος και επομένως κατέστησε ακόμα δυσκολότερο τον έλεγχο των νηματοειδών βακτηρίων. Ο αφρισμός στους χωνευτές οδήγησε και σε ανεξέλεγκτη μεταφορά του περιεχομένου τους στα συστήματα πάχυνσης και αφυδάτωσης προκαλώντας μείωση της απόδοσης των διεργασιών αυτών. Επιπλέον ο αφρισμός προκάλεσε διακοπή της συλλογής του βιοαερίου και επηρέασε τη διεργασία παραγωγής ενέργειας από το βιοαέριο.

Οι υψηλές συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών προκαλούν προβλήματα αφρισμού στην αναερόβια χώνευση αλλά ταυτόχρονα συντηρούν και επιδεινώνουν τα φαινόμενα αφρισμού στην ανάντι δευτεροβάθμια διεργασία. Η παρουσία των νηματοειδών μικροοργανισμών στο ρεύμα των στραγγιδίων στις κατάντι διεργασίες αφυδάτωσης «εμβολιάζει» συνεχώς το σύστημα ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς συντηρώντας τα φαινόμενα αφρισμού ακόμα και όταν εφαρμόζονται θεωρητικά αποτελεσματικές τεχνικές αντιμετώπισής τους (Pitt και Jenkins, 1990; Pagilla *et al.* , 1998).

Για την αντιμετώπιση του φαινομένου του νηματοειδούς αφρισμού η ερευνητική προσπάθεια έχει στραφεί προς τη θερμόφιλη αναερόβια χώνευση. Ο μεγάλος ρυθμός υδρόλυσης, στους θερμόφιλους χωνευτές, προκαλεί τη γρήγορη διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων των νηματοειδών μικροοργανισμών, απενεργοποιώντας τις επιφανειοδραστικές τους ιδιότητες. Την ίδια αποτελεσματικότητα έχει και το σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά, το οποίο χρησιμοποιήσαν με επιτυχία πολλές εγκαταστάσεις, που είχαν πρόβλημα αφρισμού με τους συμβατικούς μεσόφιλους χωνευτές (Moen *et al.*, 2003).

Επίσης, η θερμική υδρόλυση έχει εφαρμοστεί με επιτυχία για την επεξεργασία του βιολογικού αφρού κατόπιν της επιλεκτικής απομάκρυνσής του από τη δευτεροβάθμια και πριν την απόρριψή του στη γραμμή επεξεργασίας των στερεών. Πιο συγκεκριμένα, στην Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Southeast Water Pollution Control Plant στο San Francisco (Καλιφόρνια, ΗΠΑ) ερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα της μεθόδου σε πιλοτική μονάδα θερμικής υδρόλυσης στη χρονική περίοδο 8/2002 - 1/2003. Τα πειράματα έγιναν σε θερμοκρασία 170°C και σε πίεση 9bar για 20 λεπτά και έδειξαν καταστροφή μεγαλύτερη από 7 Log των νηματοειδών οδηγώντας ουσιαστικά σε ένα προϊόν ελεύθερο από νηματοειδείς, χωρίς την τάση για αφρισμό. Στην παρακάτω εικόνα 2.11 φαίνονται μικροσκοπικά πεδία σε μεγέθυνση x1000, δειγμάτων επεξεργασμένων κατά Gram (α και γ) και κατά FISH (β και δ), πριν (α, β) και μετά (γ, δ) τη θερμική υδρόλυση:



Εικόνα 2.11: Μικροσκοπικά πεδία σε μεγέθυνση x1000 δειγμάτων επεξεργασμένων κατά Gram (α, γ) και κατά FISH (β, δ), πριν (α, β) και μετά (γ, δ) τη θερμική υδρόλυση (Marneri *et al.*, 2006)

Έτσι, η προαναφερθείσα επιστημονική εργασία απέδειξε ότι η θερμική υδρόλυση είναι αποτελεσματική μέθοδος επεξεργασίας του αφρού που επιλεκτικά απομακρύνεται από το δευτεροβάθμιο σύστημα ενεργού ιλύος ώστε να μπορεί να απορριφθεί στις κατάντι διεργασίες επεξεργασίας των στερεών χωρίς να υπάρχει ο φόβος του αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές. Επίσης, η εργασία έδειξε ότι η ανακυκλοφορία των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης στη μονάδα προεπεξεργασίας δεν περιείχε σημαντικές συγκεντρώσεις νηματοειδών (Marneri *et al.*, 2006).

2.7. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΤΟΥ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΦΡΙΣΜΟΥ

2.7.1. Μικροσκοπικές μέθοδοι

Η μελέτη του μικροβιακού συστήματος που αναπτύσσεται στα συστήματα ενεργού ιλύος αποτέλεσε αντικείμενο έρευνας από τη δεκαετία του 1970. Η παρατήρηση των μικροοργανισμών και η ταυτοποίησή τους γίνονταν μέσω των μορφολογικών τους χαρακτηριστικών. Μια από τις πρώτες προσεγγίσεις σε αυτό το θέμα, αποτέλεσε η πρωτοποριακή εργασία των Eikelboom (1975) και Eikelboom and van Buijsen (1981). Σύμφωνα με αυτές τις εργασίες, οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία του φαινομένου της διογκωμένης ιλύος και του αφρισμού μπορούν να αναγνωριστούν μικροσκοπικά και να διακριθούν με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά. Έτσι έως σήμερα έχουν αναγνωρισθεί περίπου τριάντα νηματοειδείς μικροοργανισμοί από τους οποίους αυτοί που συνήθως παρουσιάζονται και δημιουργούν προβλήματα στις ΕΕΛ δεν είναι περισσότεροι από δέκα. Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί από αυτούς είναι ο *M. Parvicella* και ο *G. amarae*.

Ωστόσο, λόγω της απλής μορφολογίας των βακτηρίων ήταν εξαιρετικά δύσκολη η ταξινόμησή τους. Επομένως, οι μικροβιολόγοι προσπαθούσαν να απομονώσουν καθαρές καλλιέργειες των βακτηρίων για να μπορέσουν στη συνέχεια να κάνουν πιο εξειδικευμένες δοκιμές. Οι προσπάθειες αυτές ήταν τις περισσότερες φορές αποτυχημένες καθώς η επιλογή του μέσου καθόριζε τους μικροοργανισμούς που

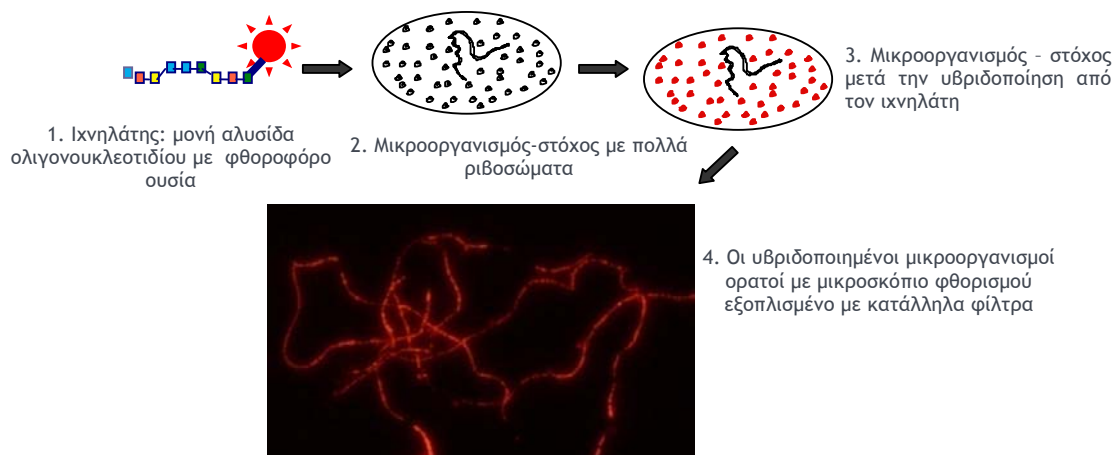
αναπτύσσονταν και σε κάθε περίπτωση ήταν αδύνατη η παρακολούθηση και η καταμέτρησή συγκεκριμένων μικροοργανισμών επί τόπου στο οικοσύστημά τους.

Έτσι καταρχήν εφαρμόστηκαν συμβατικές μικροβιολογικές μέθοδοι χρώσης των δειγμάτων ώστε να διακριθούν σε μικρότερες ομάδες και να είναι στη συνέχεια δυνατή η καταμέτρησή τους βάσει της μορφολογίας τους. Όσον αφορά στην παρακολούθηση και καταμέτρηση των νηματοειδών μικροοργανισμών, η πιο διαδεδομένη μέθοδος που χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα είναι η παραδοσιακή μέθοδος Pitt και Jenkins της Gram χρώσης και της καταμέτρησης τμήσεων των νηματοειδών (Pitt και Jenkins, 1990) και η τροποποίησή της (Mamais *et al.*, 1998). Αναλυτικά, το πρωτόκολλο της μεθόδου αναπτύσσεται στο κεφάλαιο 4. Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί τόσο στα βακτήρια *G. amarae* όσο και στα *M. parvicella* σε δείγματα ενεργού ιλύος εφόσον είναι Gram θετικά και στηρίζεται στη χαρακτηριστική νηματοειδή μορφολογία των μικροοργανισμών για την καταμέτρησή τους.

Ωστόσο, παρόλο που η τεχνική αυτή είναι απλή και σχετικώς γρήγορη, υπόκειται σε αρκετούς περιορισμούς, εφόσον δεν παρέχει πληροφορίες ούτε για την ταυτότητα αλλά ούτε για τη βιωσιμότητα των βακτηρίων. Πιο συγκεκριμένα, δεν έχει τη δυνατότητα να αναγνωρίσει ή να διαχωρίσει μικροοργανισμούς με τα ίδια φυσικά χαρακτηριστικά (π.χ. διαφορετικά είδη της ίδιας οικογένειας) και δεν έχει τη δυνατότητα να διαχωρίσει τους ζωντανούς από τους νεκρούς μικροοργανισμούς εφόσον όλοι οι μικροοργανισμοί χάνουν τη βιωσιμότητά τους κατά την προετοιμασία του δείγματος. Επίσης, η μέθοδος έχει μικρή ευαισθησία με υψηλό όριο ανίχνευσης με αποτέλεσμα να μην επιτρέπει τον προσδιορισμό χαμηλών συγκεντρώσεων νηματοειδών μικροοργανισμών. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι όταν ο μικροοργανισμός *G. amarae* υπόκειται σε συνθήκες ανταγωνισμού σε αναερόβιους ή ανοξικούς βιοεπιλογείς, διατηρεί ελάχιστα τα Gram χαρακτηριστικά του. Αυτά δε, χάνονται εντελώς στις αντίξοες συνθήκες της αναερόβιας χώνευσης που αλλοιώνουν τα χαρακτηριστικά της κυτταρικής του μεμβράνης (Pitt και Jenkins, 1990). Επίσης, όπως αναφέρεται από τους Westlund *et al.* (1998) η μορφολογία του μεγάλου μήκους και λεπτού νήματος του *M. parvicella*, επηρεάζεται από τις συνθήκες της αναερόβιας χώνευσης στην οποία εμφανίζεται ως μικρότερα, μεγαλύτερου πάχους νήματα (Westlund *et al.*, 1998). Κατά συνέπεια, προκειμένου να μελετηθεί ο ρόλος των νηματοειδών βακτηρίων στην αναερόβια χώνευση, χρειάζεται να αναπτυχθούν και να εφαρμοστούν μοριακές μέθοδοι, όπως η Φθορίζουσα Επί Τόπου Υβριδοποίηση (Fluorescent *In Situ* Hybridization - FISH).

Η μέθοδος FISH στηρίζεται σε αναλύσεις του ριβοσωμικού ριβονουκλεϊκού οξέος (16S rRNA) που έγιναν με τη χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών και αποκάλυψαν σύντομες ακολουθίες ολιγονουκλεοτιδίων μοναδικές για ορισμένες ομάδες μικροοργανισμών, για ορισμένα γένη, ή ακόμα και για συγκεκριμένα είδη. Αυτή η ανακάλυψη οδήγησε στην κατασκευή μοριακών εργαλείων και επέτρεψε τη μελέτη των περιβαλλοντικών δειγμάτων βάσει του γενότυπου αντί του φαινότυπού τους. Τα εν λόγω μοριακά εργαλεία στη συνέχεια του κειμένου θα καλούνται ικνηλάτες.

Η αρχή της μεθόδου μπορεί να συνοψιστεί ως εξής: Οι ικνηλάτες που αποτελούνται από μονές αλυσίδες ολιγονουκλεοτιδίων γνωστής ακολουθίας εισέρχονται στα κύτταρα και υβριδοποιούν τις συμπληρωματικές τους ακολουθίες ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA) στα ριβοσώματα. Αν δεν βρεθεί συμπληρωματική ακολουθία RNA, τότε δεν πραγματοποιείται υβριδοποίηση και άρα οι προστιθέμενοι ικνηλάτες απομακρύνονται σε ακόλουθο στάδιο καθαρισμού. Έτσι, μόνο τα κύτταρα που στοχεύονται από τα μοριακά εργαλεία κρατούν τις ακολουθίες των ολιγονουκλεοτιδίων και καθώς αυτές είναι χαρακτηρισμένες με φθοροφόρες ουσίες, τα κύτταρα που έχουν υβριδοποιηθεί μπορούν να παρατηρηθούν με μικροσκόπιο φθορισμού λόγω της φυσικής ενίσχυσης του φθορίζοντος σήματος από το μεγάλο αριθμό των ριβοσωμάτων σε κάθε κύτταρο. Στην παρακάτω εικόνα 2.12 φαίνεται το διάγραμμα ροής της εφαρμογής τα μεθόδου FISH.



Εικόνα 2.12: Διάγραμμα ροής της μεθόδου FISH: 1. Ικνηλάτης αποτελούμενος από μονή αλυσίδα ολιγονουκλεοτιδίου σημασμένος με φθοροφόρο ουσία. 2. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός, στον οποίο φαίνεται ο μεγάλος αριθμός ριβοσωμάτων. 3. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός μετά την υβριδοποίηση. 4. Οι υβριδοποιημένοι μικροοργανισμοί ορατοί με μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με κατάλληλα φίλτρα.

Οι ικνηλάτες μπορούν να είναι σχεδιασμένοι ώστε οι στόχοι τους να είναι γενικοί ή περισσότερο συγκεκριμένοι. Έτσι υπάρχουν οικουμενικοί ικνηλάτες που στοχεύουν ακολουθίες νουκλεοτιδίων που συντηρούνται σε όλους τους μικροοργανισμούς. Ωστόσο είναι δυνατός και ο σχεδιασμός ικνηλατών που υβριδοποιούν μόνο μικροοργανισμούς συγκεκριμένου βασιλείου, οικογένειας, γένους, είδους ή ακόμα και συγκεκριμένου στελέχους. Είναι επίσης δυνατή η χρήση περισσότερων από ενός ικνηλατών με διακριτές φθοροφόρες ουσίες για την ταυτόχρονη παρακολούθηση περισσότερων του ενός μικροοργανισμών.

Έτσι η χρήση των μοριακών αυτών εργαλείων που στοχεύουν το r-RNA παρέχουν γνώση για τη μικροβιακή οικολογία, καθιστώντας ικανή την απεικόνιση ολόκληρων κυττάρων και την *in situ* μελέτη οικοσυστημάτων. Δίνεται με τον τρόπο αυτό η δυνατότητα συσχέτισης της σύνθεσης, των μεταβολικών λειτουργιών και τον τοπικών σχέσεων μιας μικροβιακής κοινότητας. Επίσης με την *in situ* υβριδοποίηση μπορεί να επιβεβαιωθεί ότι οι μικροοργανισμοί που αναγνωρίστηκαν είναι παρόντες σε ένα περιβάλλον αλλά και να καθοριστεί η αφθονία τους. Τέλος, δεν υπάρχει κατώφλι ανίχνευσης των υπό εξέταση μικροοργανισμών εφόσον αρκεί η παρουσία τους για να πραγματοποιηθεί υβριδοποίηση και να είναι δυνατή η παρατήρηση τους.

Παρά τις μεγάλες δυνατότητες της μεθόδου FISH υπάρχουν και περιορισμοί που σχετίζονται με την ενδεχόμενη ανεπαρκή διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης από τον ικνηλάτη και άρα την ευκολία προσέγγισης των ριβοσωμάτων καθώς και με τον φθορισμό του ίδιου του δείγματος. Επίσης, πρέπει να λάβει κανείς υπόψη ότι οι ικνηλάτες στοχεύουν το rRNA στα ριβοσώματα και άρα αν τα κύτταρα είναι μεταβολικώς ανενεργά τότε δε θα προσδεθούν.

Κάνοντας μια ιστορική αναδρομή της ανάπτυξης των μοριακών μεθόδων ειδικά όσον αφορά στους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και *M. parvicella*, πρώτοι οι Hernandez *et al.* (1993) ανέπτυξαν μια φθορίζουσα μέθοδο προκειμένου να καταμετρήσουν τους βιώσιμους μικροοργανισμούς *G. amarae* στην αναερόβια χώνευση βασισμένη στην παραγωγή αντισωμάτων από κουνέλια, στα οποία είχε προηγουμένως εισαχθεί ορός με *G. amarae*. Συνοπτικά η μέθοδος συμπεριελάμβανε την απομόνωση των νηματοειδών βακτηρίων και την εισαγωγή τους σε κουνέλια για την παραγωγή αντισωμάτων, τα οποία εξάγονταν στη συνέχεια σε ορό αίματος. Στη συνέχεια τα δείγματα ιλύος επεξεργάζονταν κατάλληλα για να ελευθερωθούν τα νημάτια από τις βιοκροκίδες και τοποθετούνταν σε ειδικές μεμβράνες, στις οποίες εφαρμόζονταν ο ορός που είχε συζευχθεί με τη φθοροφόρο ουσία FITC. Οι

μεμβράνες τοποθετούνταν σε μικροσκοπικά πλακίδια και το δείγμα παρατηρούνταν με μικροσκόπιο εξοπλισμένο με λάμπα φθορισμού. Ακολουθούσε καταμέτρηση 10 τυχαίων πεδίων από κάθε μεμβράνη (κάθε δείγμα επεξεργαζόταν τριπλά) και υπολογιζόταν το μέσο μήκος (L) ή ο αριθμός νημάτων (#) από την παρακάτω σχέση (Εξίσωση 2.7):

$$\frac{L \text{ (ή \#)}}{\text{Volume}} = \frac{L_{\text{μετρούμενο}} \text{ (ή \#)} \times A_f}{V \times \alpha} \times DF \quad \text{Εξίσωση 2.7}$$

$L_{\text{μετρούμενο}}$ = μέσος όρος του μήκους ή αριθμού νημάτων ανά πεδίο, A_f = ενεργή επιφάνεια μεμβράνης, α = επιφάνεια μικροσκοπικού πεδίου, V = όγκος δείγματος, DF = παράγοντας αραιώσης

Η μάζα των βακτηρίων υπολογιζόταν στη συνέχεια από την εξίσωση 2.8:

$$\frac{\% \text{g Gordona}}{\text{g VSS}} = R_{CE} \times \frac{L \text{ (ή \#)}}{V} \times VSS \times 100\% \quad \text{Εξίσωση 2.8}$$

VSS = πτητικά στερεά, R_{ce} = σταθερά από αραιώσεις καθαρής καλλιέργειας

ενώ για την παραδοσιακή μέθοδο καταμέτρησης από τη σχέση 2.9:

$$\frac{\% \text{g Gordona}}{\text{g VSS}} = R_{cg} \times \frac{\text{διατομές}}{\text{g VSS}} \times 100\% \quad \text{Εξίσωση 2.9}$$

R_{cg} = σταθερά από αραιώσεις καθαρής καλλιέργειας

Όσον αφορά στη σύγκριση των δύο μεθόδων αποδείχτηκε ότι α) με την παραδοσιακή μέθοδο η βιομάζα των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* εκτιμάται σε χαμηλότερα επίπεδα συγκριτικά με τη μοριακή μέθοδο των αντισωμάτων (2-10%VSS και 10-18%VSS αντίστοιχα) και β) η μοριακή μέθοδος μπορεί να μετρά τα βακτήρια στην αναερόβια χώνευση. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η αξιοπιστία της μεθόδου με τα αντισώματα εξαρτιόνταν από το ποσοστό εξειδίκευσης του ορού αντισωμάτων.

Στη συνέχεια, χρησιμοποιώντας τη μοριακή μέθοδο των αντισωμάτων, οι Hernandez και Jenkins (1994), υπολόγισαν την καταστροφή των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* σε μεσόφιλα μονοβάθμια και διβάθμια (διαμερισματοποιημένα ως προς τη διεργασία της οξεογένεσης) συστήματα αναερόβιας χώνευσης με χρόνους

παραμονής 10, 14 και 28 ημέρες. Επιπλέον, υπολόγισαν τη βιωσιμότητα των δειγμάτων με τη μέθοδο INT. Η αναγωγή της ένωσης 2(π-ιωδοφαινύλ)-3-(π-νιτροφαινύλ)-5-φαινύλτετραζόλιο κλωρίδιο (INT) σε κρυστάλλους INT- φορμαζάνης έχει αναπτυχθεί για τη διερεύνηση της ενεργότητας των βακτηρίων καθώς η ένωση INT δρα ως δέκτης ηλεκτρονίων με αποτέλεσμα τα ενεργά βακτήρια (που αναπνέουν) να συσσωρεύουν τους μη υδατοδιαλυτούς κόκκινους κρυστάλλους INT - φορμαζάνης. Οι συγγραφείς υπολογίζοντας τη συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* με τη μοριακή μέθοδο των αντισωμάτων βρήκαν ότι η κινητική της φθοράς των μικροοργανισμών είναι πρώτης τάξης και υπολόγισαν το συντελεστή φθοράς ίσο με $0,02d^{-1}$ ενώ με τη μέθοδο INT ο συντελεστής φθοράς υπολογίστηκε ίσος με $0,015d^{-1}$. Τα ποσοστά καταστροφής *G. amarae* που υπολογίστηκαν με τη μέθοδο των αντισωμάτων ήταν ίσα με 37 και 54% αντίστοιχα στο μονοβάθμιο και διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα σε χρόνο παραμονής 14 και ήταν ανάλογα του χρόνου παραμονής του χωνευτή.

Οι de los Reyes *et al.* (1997) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο της υβριδοποίησης σε μεμβράνες, όπως αυτή είχε αναπτυχθεί από προηγούμενους ερευνητές για την ποσοτικοποίηση του νηματοειδούς βακτηρίου *G. amarae*. Συνοπτικά, η μέθοδος συμπεριελάμβανε την εξαγωγή RNA από το δείγμα και τη μεταφορά του σε ειδικές μεμβράνες. Στη συνέχεια, γινόταν υβριδοποίηση των μεμβρανών με οικουμενικούς καθώς και με ειδικούς ιχνηλάτες και τα επακόλουθα αποτελέσματα υβριδοποίησης χρησιμοποιούνταν για να καθοριστούν οι σχετικές συγκεντρώσεις του rRNA στα δείγματα και άρα της μεταβολικής ενεργότητάς τους.

Το 1998 οι de los Reyes *et al.* προχώρησαν την παραπάνω εργασία τους συνδυάζοντάς την και με αυτή των Hernandez *et al.* (1994) και εξετάζοντας πώς μπορεί η μέθοδος FISH να χρησιμοποιηθεί παράλληλα με τη μέθοδο των αντισωμάτων. Η σύγκριση της μεθόδου των αντισωμάτων και της μεθόδου FISH έδειξε ότι η πρώτη δείχνει μεγαλύτερα ποσοστά *G. amarae* από τη μέθοδο FISH, γεγονός που οι συγγραφείς απέδωσαν στο χαμηλό περιεχόμενο RNA των κυττάρων και άρα στη δυσκολία υβριδοποίησης τους από τους ιχνηλάτες της FISH αλλά ενδεχομένως και στο χαμηλό βαθμό εξειδίκευσης των αντισωμάτων που πιθανώς οδηγούσε στη σήμανση και άλλων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με σχολιασμό των συγγραφέων η μέθοδος FISH παρουσιάζει πλεονεκτήματα έναντι της μεθόδου με τα αντισώματα καθώς μπορεί να ταυτοποιήσει και είδη ή ακόμα και στελέχη ενός μικροοργανισμού αλλά και να δώσει πληροφορίες στο επίπεδο της μεταβολικής τους δραστηριότητας.

Ακολούθησε σύγκριση της FISH με τη μέθοδο των μεμβρανών όπως περιγράφηκε παραπάνω και η οποία προσδιορίζει τα επίπεδα RNA του *G. amarae* και συνεπώς της μεταβολικής δραστηριότητας και ενεργότητας του μικροοργανισμού. Η μέθοδος των μεμβρανών δε δίνει καμιά εικόνα της συγκέντρωσης της βιομάζας εφόσον διαφορετικοί μικροοργανισμοί έχουν διαφορετικά επίπεδα rRNA και εφόσον τα επίπεδα RNA διαφέρουν αναλόγως με την ενεργότητα του κάθε πληθυσμού. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης με τη FISH, η οποία υπενθυμίζεται ότι μπορεί να μετρήσει τα μέλη του στοχευόμενου μικροοργανισμού στα οποία το περιεχόμενο RNA είναι μεγαλύτερο από ένα υπόβαθρο που υποδεικνύει ελάχιστη μεταβολική δραστηριότητα, ήταν αμφιλεγόμενα και οι συγγραφείς κατέληξαν όπως προηγούμενες μελέτες ότι είναι δύσκολη η εξαγωγή συμπερασμάτων για τα επίπεδα της βιομάζας από το RNA περιεχόμενο των κυττάρων.

Το 2001 οι Oerther *et al.* συνέχισαν την παραπάνω εργασία χρησιμοποιώντας τις μοριακές μεθόδους FISH και των αντισωμάτων και τη μέθοδο των μεμβρανών για να συνδέσουν τις αλλαγές στη βιομάζα των *G. amarae* και του RNA τους με τα φαινόμενα αφρισμού σε ΕΕΛ στις ΗΠΑ. Από τα πειράματα που διεξήγαγαν έγινε φανερό ότι κατά την έναρξη του αφρισμού το Gordona rRNA αυξήθηκε από 0,25 σε 1,4% του συνολικού rRNA της βιομάζας (μέθοδος μεμβρανών) και παράλληλα το ποσοστό των *G. amarae* σε σχέση με το σύνολο των μικροοργανισμών των πτητικών αιωρούμενων στερεών του ανάμικτου υγρού αυξήθηκε από 4% σε 32%. Γενικότερα τα φαινόμενα αφρισμού συσχετίστηκαν επιτυχώς και με τις δύο μεθόδους. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι και τα επίπεδα της ενεργότητας και της βιομάζας των *G. amarae* αυξήθηκαν σε σχέση με το σύνολο της βιομάζας κατά την έναρξη του αφρισμού. Επίσης συμπέραναν ότι το νηματοειδές βακτήριο μπορεί να επικρατεί αριθμητικά κατά τα φαινόμενα αφρισμού αλλά αποτελεί μόνο μικρό ποσοστό της μεταβολικής δραστηριότητας της βιομάζας και άρα τα φαινόμενα αυτά μάλλον συνδέονται περισσότερο με τη φυσική παρουσία παρά με τη μεταβολική δραστηριότητα των νηματοειδών μικροοργανισμών.

Το 2001 οι Davenport *et al.* ανέπτυξαν πιο συστηματικά τη μέθοδο FISH ως ποσοτική μέθοδο για να εκτιμήσουν το κατώφλι αφρισμού σε σχέση με τα επίπεδα των νηματοειδών στη διεργασία ενεργού ιλύος. Η μέθοδος συνοπτικά περιλάμβανε την εφαρμογή ειδικών (και γενικών για θετικό έλεγχο) ιχνηλατών σε δείγματα και στη συνέχεια παρατήρηση των πλακιδίων με μικροσκόπιο με λάμπα φθορισμού.

Παράλληλα, με τις παραπάνω ερευνητικές προσπάθειες για το μικροοργανισμό *G. amarae* αναπτύχθηκαν και οι αντίστοιχες για το *M. parvicella*. Έτσι, καταρχήν το

1997 οι Erhart *et al.* ανέπτυξαν φθορίζοντες ικνηλάτες για την ταυτοποίηση του μικροοργανισμού *Microthrix parvicella* με την εφαρμογή της μεθόδου FISH. Στην ίδια εργασία εφάρμοσαν επεξεργασία των δειγμάτων με το ένζυμο mutanolysin ώστε να αυξήσουν τη διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος των προκαρυωτικών Gram θετικών βακτηρίων και άρα να βελτιώσουν την προσπέλαση των ικνηλατών. Επίσης, εκτίμησαν την ενεργότητα του μικροοργανισμού *M. parvicella* μετά από την εφαρμογή FISH και την επεξεργασία του δείγματος με τη χρώση DAPI. Κατέγραψαν σε ορισμένο αριθμό νηματοειδών το ποσοστό των DAPI βακτηρίων που υβριδοποιούνταν και με τον ειδικό ικνηλάτη και έτσι υπολόγισαν το ποσοστό ενεργότητας. Κατ' αυτόν τον τρόπο βέβαια οι συγγραφείς ερμηνεύουν το προσδιοριζόμενο rRNA περιεχόμενο των νηματοειδών ως δείκτη της μεταβολικής ενεργότητας ή τουλάχιστον του μεταβολικού δυναμικού του βακτηρίου. Επίσης, οι Moter *et al.* (2000) εφάρμοσαν τη FISH ώστε να ποσοτικοποιήσουν τους βιώσιμους μικροοργανισμούς.

Το 2002 οι de los Reyes *et al.*, συνέχισαν την εργασία των Davenport *et al.*, προσδιορίζοντας κατώφλι έναρξης καθώς και σταθερότητας αφρισμού με τη μέθοδο FISH (de los Reyes *et al.*, 1998) και τη μέθοδο Alka Seltzer για το νηματοειδές βακτήριο *G. amarae*. Στην εργασία τους οι συγγραφείς κατέληξαν ότι υπάρχουν δύο κατώφλια σχετικά με το νηματοειδή αφρισμό, αυτό της έναρξης και αυτό της σταθεροποίησης. Οι συγγραφείς σε παράλληλη εργασία τους (de los Reyes III *et al.*, 2002) διεύρυναν τη μελέτη τους και σε άλλα νηματοειδή βακτήρια ανάμεσα στα οποία ήταν το *M. parvicella*. Έτσι σε μια ΕΕΛ με προβλήματα αφρισμού βρέθηκε με τη μέθοδο FISH σε υψηλά ποσοστά ο *M. parvicella* και στον αφρό αλλά και στο ανάμικτο υγρό ενώ η μέθοδος των μεμβρανών έδειξε χαμηλά επίπεδα rRNA. Αυτό σημαίνει είτε ότι ο μικροοργανισμός έχει εγγενώς χαμηλό rRNA, γεγονός που συμφωνεί με τους χαμηλούς ρυθμούς ανάπτυξης του, είτε ότι ανενεργά κύτταρα *M. parvicella* (κύτταρα με πολύ χαμηλό rRNA) μπορούν να προκαλέσουν αφρισμό.

2.7.2. Φυσικοχημικές μέθοδοι

Καθώς ο νηματοειδής αφρισμός αποτελεί «εφιάλτη» πολλών λειτουργιών σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, έχει καταβληθεί ιδιαίτερη προσπάθεια για την ανάπτυξη δοκιμών απλών και γρήγορων για την πρόβλεψη του φαινομένου. Στα πλαίσια αυτά έχουν αναπτυχθεί δοκιμές που προσπαθούν να προκαλέσουν

ελεγχόμενα τον αφρισμό στο εργαστήριο και να καταγράψουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του. Στις δοκιμές αυτές ουσιαστικά διοχετεύεται αέρας ή άζωτο ή διοξείδιο του άνθρακα ελεγχόμενα σε ορισμένο όγκο δείγματος και μετράται το δυναμικό αφρισμού μέσω του όγκου του αφρού που παράγεται και η σταθερότητά του μέσω του χρόνου που χρειάζεται ο παραγόμενος αφρός για να καταρρεύσει (Pretorius and Laubscher, 1987, Pitt and Jenkins 1990, Ho and Jenkins, 1991). Παρόλο που δεν έχει αποδειχτεί ότι οι δοκιμές αυτές μπορεί να προβλέψουν το φαινόμενο του αφρισμού, ωστόσο συσχετίζονται ικανοποιητικά με τον αφρισμό όταν εκδηλωθεί και άρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο εργαστήριο.

Η δεύτερη οικογένεια δοκιμών βασίζεται στην παρατήρηση ότι οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί έχουν υδρόφοβη κυτταρική επιφάνεια και άρα μετρά την υδροφοβικότητα του δείγματος. Έτσι υπάρχει η δοκιμή των Rosenberg *et al.* (1980) και οι μετέπειτα παραλλαγές του που μετράει την προσκόλληση των βακτηρίων σε διάφορους υδρογονάνθρακες μετά από σύντομη ανάμιξη. Η δοκιμή αυτή και οι παραλλαγές της μετρούν την υδροφοβικότητα συνολικά του δείγματος και παρόλο που αποτελεί απλή και γρήγορη μέθοδο δεν επιτρέπει τη διερεύνηση συγκεκριμένων μικροοργανισμών επί τόπου. Προκειμένου να ξεπεραστούν οι παραπάνω δυσκολίες αναπτύχθηκε η τεχνική της προσκόλλησης μικροσφαιρών σε κύτταρα (Microsphere Adhesion to Cells - MAC). Με τη δοκιμή MAC προστίθενται φθορίζουσες υδροφοβικές μικροσφαίρες σε δείγματα, μέθοδος που όταν συνδυαστεί με άλλες μοριακές μεθόδους επιτρέπει ακόμα και τη μέτρηση του αριθμού των υδροφοβικών μικροσφαιρών με τη βοήθεια μικροσκοπίου που προσκολλώνται στην κυτταρική επιφάνεια συγκεκριμένων μικροοργανισμών (Zita and Hernansson, 1997).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ & ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΈΡΕΥΝΑΣ

3.1 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας αποτελεί η διερεύνηση του φαινόμενου του αφρισμού λόγω της υπερανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) με απομάκρυνση θρεπτικών. Όπως προέκυψε από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που παρουσιάστηκε στο κεφάλαιο 2, τα προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού σε ΕΕΛ με απομάκρυνση θρεπτικών έχουν μελετηθεί στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων χωρίς όμως να έχουν απαντηθεί σημαντικά ερωτήματα όπως:

- τα αίτια της υπερανάπτυξης των νηματοειδών βακτηρίων που προκαλούν αφρισμό,
- οι τρόποι περιορισμού των νηματοειδών αυτών βακτηρίων,
- τα προβλήματα που προκαλούν τα συγκεκριμένα βακτήρια στη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος και οι τρόποι αντιμετώπισης τους καθώς και
- η επίδραση της ανακυκλοφορίας των στραγγιδίων των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης στη συντήρηση των προβλημάτων νηματοειδούς αφρισμού.

Εμπόδιο στην πληρέστερη διερεύνηση των ανωτέρω θεμάτων αποτελεί η αδυναμία της παραδοσιακής τεχνικής Pitt και Jenkins (1990) να ταυτοποιήσει και να ποσοτικοποιήσει τα νηματοειδή βακτήρια που προκαλούν αφρισμό σε συνθήκες όπου αλλοιώνονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (π.χ. σε αναερόβιους χωνευτές, σε πολύ χαμηλούς χρόνους παραμονής στερεών κ.λπ.), καθώς και να προσδιοριστεί το ποσοστό των ζωντανών βακτηρίων.

Προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι δυσκολίες που προκύπτουν από την εφαρμογή της κλασσικής τεχνικής των Pitt και Jenkins, στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας αναπτύχθηκε μέθοδος καταμέτρησης των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae*, η οποία βασίστηκε στη μοριακή τεχνική της Φθορίζουσας Επί Τόπου Υβριδοποίησης (Fluorescence *In Situ* Hybridization - FISH). Η ανάπτυξη της μεθόδου αυτής επιτρέπει τον προσδιορισμό και την καταμέτρηση των ζωντανών νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* τόσο στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων όσο και στη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος. Η FISH συσχετίστηκε με την κλασσική μέθοδο Pitt και Jenkins με αναμενόμενα αποτελέσματα την καλή συσχέτιση στα δείγματα των αερόβιων διεργασιών εφόσον και οι δύο μέθοδοι

αναμένεται να προσδιορίσουν ικανοποιητικά τις συγκεντρώσεις των *M. parvicella* και *G. amarae*. Με τη μέθοδο FISH υβριδοποιείται το ριβοσωμικό RNA, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία μόνο όταν υπάρχει έντονη μεταβολική δραστηριότητα με αποτέλεσμα οι ικνηλάτες FISH να υβριδοποιούνται στους ζωντανούς μικροοργανισμούς. Ωστόσο ο παρατεταμένος χρόνος ημίσειας ζωής του rRNA μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της βιωσιμότητας ενός κυτταρικού δείγματος. Η FISH συσχετίστηκε με τη μοριακή μέθοδο LIVE/DEAD, η οποία προσδιορίζει τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών και προέκυψε ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους των μετρήσεων των νηματοιδίων μεταξύ των δύο μεθόδων. Επομένως, η FISH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των βιώσιμων μικροοργανισμών.

Η μέθοδος FISH εφαρμόστηκε για την υλοποίηση του βασικού στόχου της διδακτορικής εργασίας δηλαδή τη διερεύνηση του φαινομένου νηματοιδούς αφρισμού σε ΕΕΛ λόγω της υπερανάπτυξης των βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae*. Ειδικότερα οι επιμέρους στόχοι της εργασίας είναι οι ακόλουθοι:

- Ο υπολογισμός του ισοζυγίου μάζας των νηματοιδίων *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας των λυμάτων και της παραγόμενης ιλύος.
- Η διερεύνηση της επίδρασης της ανακυκλοφορίας των στραγγιδίων των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης στη συντήρηση των προβλημάτων νηματοιδούς αφρισμού και διόγκωσης στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων
- Η μελέτη των προβλημάτων που προκαλούν τα νηματοιδή βακτήρια *M. parvicella* και *G. amarae* στην αναερόβια χώνευση και ο καθορισμός μέτρων αντιμετώπισης αυτών

Για την υλοποίηση των ανωτέρω στόχων πραγματοποιήθηκαν πειράματα πλήρους και εργαστηριακής κλίμακας. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την εκτέλεση των πειραμάτων αυτών περιγράφεται στη συνέχεια.

3.2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗΣ

Στην παρούσα εργασία βελτιώθηκε το πρωτόκολλο της μοριακής μεθόδου Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH) για τους μικροοργανισμούς *G. amarae* και *M. parvicella* στην αναερόβια χώνευση. Παράλληλα, αναπτύχθηκε μέθοδος

καταμέτρησης FISH αντίστοιχη της παραδοσιακής μεθόδου Pitt και Jenkins. Η FISH συσχετίστηκε με την κλασική μέθοδο Pitt και Jenkins και με τη μοριακή μέθοδο LIVE/DEAD, η οποία προσδιορίζει τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών και προέκυψε ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους των μετρήσεων των νηματοειδών μεταξύ των δύο μεθόδων. Επομένως, η FISH στα πλαίσια της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των βιώσιμων μικροοργανισμών.

Στη συνέχεια, η μέθοδος FISH, χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια επεξεργασίας των λυμάτων τριών, πλήρους κλίμακας, ΕΕΛ (Χαλκίδας, Βόλου και Ψυττάλειας). Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με βιώσιμους νηματοειδείς. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογική ιλύς σταθεροποιείται σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως είναι δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση. Έτσι λήφθηκαν δείγματα στις επιμέρους διεργασίες των ΕΕΛ για την ταυτοποίηση και καταμέτρηση των μικροοργανισμών.

Η βιωσιμότητα και τα προβλήματα που απορρέουν από την υψηλή συγκέντρωση των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* στην αναερόβια χώνευση, εξετάστηκαν εκτεταμένα σε εργαστηριακής κλίμακας συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Στα πλαίσια των δοκιμών αυτών διερευνήθηκε η συσχέτιση της συγκέντρωσης των νηματοειδών με την απόδοση των χωνευτών και με τα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους. Αξιολογήθηκε επομένως, η λειτουργία διαφορετικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης συνεχούς ροής, μέσω της μελέτης της επίδρασης του χρόνου παραμονής, της θερμοκρασίας και της διαμερισματοποίησης.

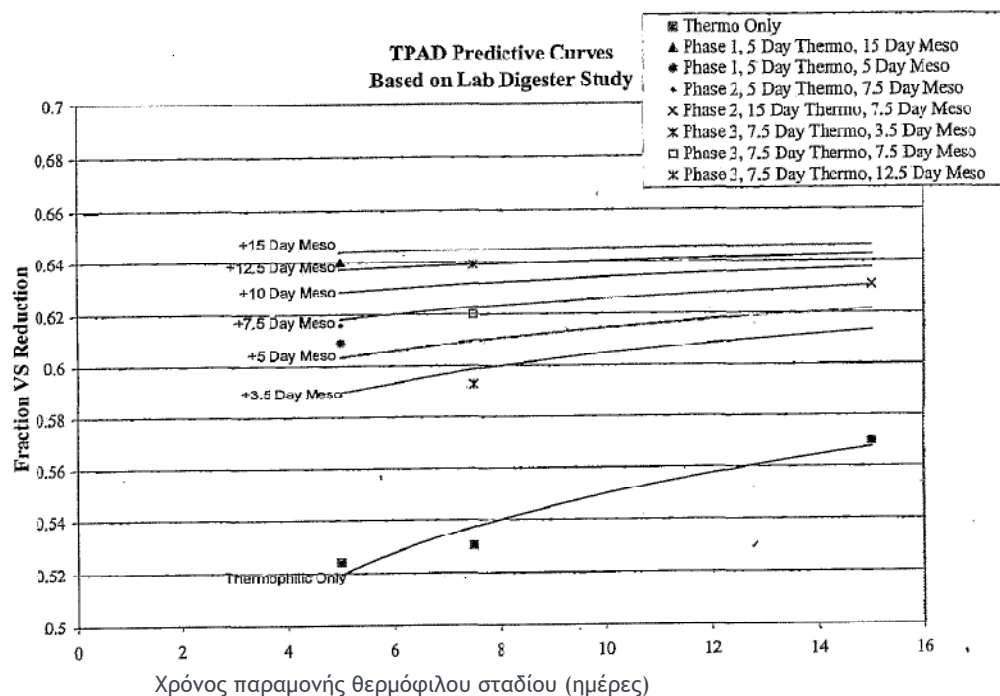
Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκαν τέσσερα συστήματα, ένας μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής, ένας μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής και δύο διβάθμια συστήματα. Το ένα διβάθμιο σύστημα αποτελούταν από ένα πρώτο θερμόφιλο στάδιο με μικρότερο χρόνο παραμονής σε σειρά με δεύτερο μεσόφιλο στάδιο, ενώ το δεύτερο διβάθμιο σύστημα αποτελούταν από δύο μεσόφιλους χωνευτές σε σειρά με ίσους χρόνους παραμονής. Όλα τα συστήματα λειτούργησαν σε 4 διαφορετικούς χρόνους παραμονής, στις 20, 16, 13 και 10 ημέρες.

Η επιλογή των συστημάτων έγινε βάσει της βιβλιογραφικής έρευνας που προηγήθηκε. Επομένως, επιλέχθηκε ένας μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής ως έλεγχος και σημείο αναφοράς των υπολοίπων συστημάτων εφόσον είναι το πιο ευρύτατα διερευνημένο σύστημα στη βιβλιογραφία αλλά και το συνηθέστερα εφαρμοζόμενο σε πλήρη κλίμακα. Στη συνέχεια, επιλέχθηκε ένας θερμόφιλος μονοβάθμιος χωνευτής με στόχο να διερευνηθεί η μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας των νηματοειδών στις υψηλότερες θερμόφιλες θερμοκρασίες. Ωστόσο, όπως διαπιστώθηκε από τη βιβλιογραφία, οι θερμόφιλοι χωνευτές είναι ευαίσθητοι σε διακυμάνσεις στη λειτουργία τους με αποτέλεσμα πολλές φορές τη μειωμένη τελικά απόδοσή τους ή ακόμη και την αστοχία τους. Επίσης, σε πολλές βιβλιογραφικές αναφορές αποδείχτηκε ότι η αστάθεια αυτή μπορεί να ελεγχθεί στην περίπτωση διαμερισματοποίησης της χώνευσης και προσθήκης κατάντη του θερμόφιλου σταδίου και ενός μεσόφιλου χωνευτή που δρα σταθεροποιητικά. Επομένως, το τρίτο σύστημα που διερευνήθηκε ήταν ένα διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα. Τέλος, όσον αφορά στη διερεύνηση της διαμερισματοποιημένης χώνευσης προστέθηκε και ένα διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα ώστε να εξεταστεί η τυχόν υψηλότερη απόδοση του συστήματος από τα μονοβάθμια συστήματα.

Όσον αφορά στην επιλογή των χρόνων παραμονής, εξετάστηκαν καταρχήν οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενοι σε πλήρη κλίμακα χρόνοι των 20 και 16 ημερών, στους οποίους σε πολλές βιβλιογραφικές αναφορές (Garber, 1982, Kugelamn και Guida, 1989, Reusser και Zelinka, 2004) οι μεσόφιλοι χωνευτές έχουν υψηλότερη απόδοση από τους θερμόφιλους. Η διερεύνηση επικεντρώθηκε στη συσχέτιση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών με την απόδοση των χωνευτών. Τα αποτελέσματα αυτά συγκρίθηκαν και με τα αντίστοιχα των ΕΕΛ πλήρους κλίμακας. Εν συνεχεία, οι χρόνοι παραμονής μειώθηκαν στις 13 και 10 ημέρες, χρόνοι παραμονής που σε πολλές περιπτώσεις ισχύουν σε πλήρη κλίμακα λόγω σχηματισμού επικαθίσεων στους χωνευτές ή προβλημάτων αφρισμού ή και αυξημένης φόρτισης, τα οποία συνεπάγονται μείωση του ενεργού όγκου του χωνευτή και άρα και του χρόνου παραμονής του. Στους χρόνους αυτούς αναμένεται η μειωμένη απόδοση των μεσόφιλων χωνευτών έναντι αυτής των θερμόφιλων χωνευτών.

Όσον αφορά στην επιλογή των χρόνων παραμονής των επιμέρους σταδίων των διβάθμιων χωνευτών και ειδικότερα σχετικά με το θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα, έγινε βάσει της ερευνητικής εργασίας των Reusser και Zelinka (2004), οι οποίοι

μελέτησαν εκτενέστατα την εν λόγω διαμερισματοποίηση και κατέληξαν στο παρακάτω γράφημα:



Γράφημα 3.1: Ποσοστό καταστροφής των πηκτικών στερεών συναρτήσει του χρόνου παραμονής του θερμοφίλου σταδίου σε διαμερισματοποιημένα ως προς τη θερμοκρασία συστήματα αναερόβιας χώνευσης (αποτελέσματα εργαστηριακής κλίμακας, πηγή Reusser και Zelinka, 2004)

Σύμφωνα με τους συγγραφείς, η απόδοση των θερόφιλων κωνευτών είναι υψηλή ακόμα και σε χαμηλούς χρόνους παραμονής. Μειώνοντας, επομένως, το χρόνο παραμονής του θερμοφίλου σταδίου η απόδοση του κωνευτή είναι υψηλή αφήνοντας ωστόσο υπόστρωμα και για το επόμενο μεσόφιλο στάδιο. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι παρόλο που θα υπάρξει κάποια συσσώρευση πηκτικών λιπαρών οξέων στο θερμοφιλο στάδιο, αυτή θα μειωθεί στο δεύτερο μεσόφιλο. Το δε μεσόφιλο στάδιο μπορεί να επιλεγεί από μια πληθώρα τιμών, με τις μεγαλύτερες τιμές να μην έχουν ενδεχομένως μεγάλη διαφορά στη μείωση των πηκτικών στερεών ωστόσο να οδηγούν σε καλύτερα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητα της κωνεμένης ιλύος και σε μείωση του κολλοειδούς COD στο διάλυμα. Οι χρόνοι παραμονής που εφαρμόστηκαν σε κάθε στάδιο του διβάθμιου θερμοφίλου/μεσόφιλου συστήματος στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα 3.1:

Πίνακας 3.1: Χρόνοι παραμονής κάθε σταδίου του διβάθμιου θερμοφιλου/ μεσόφιλου συστήματος

Χρόνος παραμονής	Θερμόφιλο στάδιο	Μεσόφιλο στάδιο
20 ημέρες	8 ημέρες	12 ημέρες
16 ημέρες	6 ημέρες	10 ημέρες
13 ημέρες	5 ημέρες	8 ημέρες
10 ημέρες	3 ημέρες	7 ημέρες

Στην παρούσα εργασία ερευνήθηκε και η απόδοση ενός διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος όσον αφορά στην απόδοσή του συγκριτικά με τα μονοβάθμια κυρίως συστήματα. Στο σύστημα αυτό οι χρόνοι παραμονής των δύο σταδίων επιλέχθηκαν να είναι ίσοι ώστε να μπορεί να σταθεροποιηθεί η μεθανογενής φάση και στο πρώτο στάδιο χώνευσης, ιδιαιτέρως στους χαμηλούς χρόνους παραμονής.

Όσον αφορά στην αξιολόγηση της απόδοσης των χωνευτών έγινε βάσει της παραγωγής του βιοαερίου, της καταστροφής των πτητικών στερεών και της καταστροφής του ολικού COD, ενώ η σταθερότητα της λειτουργίας τους παρακολουθήθηκε μέσω της σταθερότητας της θερμοκρασίας και του pH, της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και της συγκέντρωσης της αλκαλικότητας. Επίσης, εξετάστηκε το φαινόμενο του αφρισμού στους χωνευτές μέσω δοκιμών αφρισμού, ενώ διερευνήθηκε η συσχέτισή του με τη συγκέντρωση των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* με την εφαρμογή της μοριακής μεθόδου FISH καθώς και με τη συγκέντρωση του κολλοειδούς COD. Τέλος, εξετάστηκαν τα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της ιλύος από κάθε εργαστηριακό χωνευτή και συγκρίθηκαν τόσο μεταξύ των διαφορετικών εργαστηριακών συστημάτων όσο και με αυτά της χωνεμένης ιλύος από την εγκατάσταση της Ψυττάλειας.

3.3 ΤΡΟΠΟΣ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η έρευνα οργανώθηκε σε τρεις φάσεις. Καταρχήν, αναπτύχθηκε η τεχνική καταμέτρησης των νηματοιδών με τη μέθοδο FISH και αξιολογήθηκε ως προς τη δυνατότητά της να προσδιορίζει τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών. Στη δεύτερη φάση η τεχνική καταμέτρησης χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση των νηματοιδών στις ροές των διαφόρων σταδίων επεξεργασίας των ΕΕΛ Βόλου, Χαλκίδας και Ψυττάλειας. Μεγαλύτερη έμφαση δόθηκε στη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών στη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος και κυρίως στην αναερόβια χώνευση και στα στραγγίδια από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης της ιλύος. Οι δειγματοληψίες στις ΕΕΛ Βόλου και Χαλκίδας προγραμματίστηκαν ώστε να διερευνηθεί και η εποχική περιοδικότητα του φαινομένου του νηματοιδούς αφρισμού. Τέλος, στην τρίτη φάση διερευνήθηκε η βιωσιμότητα των νηματοιδών στην αναερόβια χώνευση σε συστήματα εργαστηριακής κλίμακας σε 4 κύκλους λειτουργίας με χρόνους παραμονής 20, 16, 13 και 10 ημέρες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφεται καταρχήν η μοριακή μέθοδος FISH που εφαρμόστηκε για την ταυτοποίηση των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* καθώς και η μέθοδος ποσοτικοποίησης που αναπτύχθηκε. Ιδιαίτερη μνεία γίνεται για τις δυσκολίες που αντιμετωπίστηκαν για την ανάπτυξη της μεθόδου. Στη συνέχεια, περιγράφονται τα πρωτόκολλα των λοιπών εργαστηριακών μεθόδων παρακολούθησης των νηματοειδών με τις οποίες συσχετίστηκε η μέθοδος FISH. Πιο συγκεκριμένα, η μέθοδος FISH συσχετίστηκε με την παραδοσιακή μέθοδο Pitt και Jenkins της χρώσης κατά Gram καθώς και με τη μοριακή μέθοδο Live/Dead που προσδιορίζει τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών.

Ακολουθεί περιγραφή των προγραμμάτων δειγματοληψιών και μετρήσεων από τις ΕΕΛ Βόλου, Χαλκίδας και Ψυττάλειας.

Τέλος, γίνεται περιγραφή των έξι εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, του τρόπου λειτουργίας τους και του χρονοδιαγράμματος των πιλοτικών πειραμάτων, ενώ επίσης, περιγράφονται αναλυτικά οι εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την παρακολούθηση των αναερόβιων χωνευτών.

4.2. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ FISH

Η ανάπτυξη της μεθόδου και τα βήματα που ακολουθήθηκαν ως προς το πρωτόκολλο της μεθόδου FISH για τον προσδιορισμό των βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 5. Παρακάτω παρουσιάζεται το πρωτόκολλο, όπως εφαρμόστηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας για την εφαρμογή της μεθόδου FISH.

Προετοιμασία των δειγμάτων: 400ml δείγματος αραιωμένα κατάλληλα ώστε η συγκέντρωση των ολικών στερεών να είναι της τάξης των 500mg/L επεξεργάζονται στον ομογενοποιητή (Waring, 2speed, ΗΠΑ) για 2 λεπτά στη χαμηλή ταχύτητα. Η αραιώση που προαναφέρθηκε μπορεί να είναι αρκετά μικρότερη, στην περίπτωση που η συγκέντρωση των υπό παρατήρηση νηματοειδών στο δείγμα είναι χαμηλή.

Σταθεροποίηση των δειγμάτων: Τα δείγματα σταθεροποιούνται με καθαρή αιθανόλη σε αναλογία 1:1 κατά όγκο και αποθηκεύονται στους 0°C για 4 με 16 ώρες. Στη συνέχεια φυγοκεντρώνονται στις 10.000 στροφές για 5 λεπτά και γίνεται έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος (PBS) (VWR Galaxy 7D, VWR International, ΗΠΑ). Τέλος αποθηκεύονται σε διάλυμα 50%/50% καθαρής αιθανόλης /PBS στους -20°C.

Υβριδοποίηση: 3μL δείγματος μεταφέρονται σε μικροσκοπικό πλακίδιο 12 θέσεων με επικάλυψη teflon (Precision Lab Products, LLC, ΗΠΑ) , το οποίο στη συνέχεια τοποθετείται σε φούρνο για 5 λεπτά προκειμένου να στεγνώσει. Στη συνέχεια το πλακίδιο τοποθετείται διαδοχικά σε διαλύματα αιθανόλης συγκεντρώσεων 50, 80 και 99% για τρία λεπτά στο καθένα.

Ακολουθεί προσθήκη 10 μL ενζύμου mutanolysin (Sigma Aldrich, Cat. No. M9909) συγκέντρωσης 5000U σε 0.1M σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος και τα πλακίδια τοποθετούνται στους 4°C για 20 λεπτά. Στη συνέχεια τα πλακίδια εκπλένονται με υπερκάρθρο νερό και αφήνονται να στεγνώσουν. Επαναλαμβάνεται η αφυδάτωση στα διαδοχικά διαλύματα αιθανόλης.

Ακολουθεί προσθήκη 1μL ιχνηλάτη (MPA645 ή G.am205 για την υβριδοποίηση των *M. parvicella* και *G. amarae* αντίστοιχα, Οίκος MWG, Γερμανία) (συγκέντρωση 50 ng/μl) και 9 μL buffer υβριδοποίησης [0.9 M χλωριούχου νατρίου (NaCl), 0,02 M τρι-υδροξυμέθυλο-αμινομεθάνιο με υδροχλώριο (Tris-HCl) και α) για τον *G. amarae* 0.1% sodium dodecyl sulfate, 30%κ.ο. formamide ενώ β) 0.01% δωδεκυλοθειϊκό νάτριο (SDS), 20% κ.ο. φορμαμίδιο για τον *M. parvicella*] σε κάθε θέση. Το πλακίδιο κλείνεται σε υγρούς, με buffer υβριδοποίησης, σωλήνες και τοποθετείται σε φούρνο στους 46°C για 4 ώρες. Στη συνέχεια το πλακίδιο εκπλένεται σε σωλήνα με διάλυμα Tris-HCl 0,02M, 0.1% SDS και NaCl 0,08M για τον *M. parvicella*, ενώ 0,215M για τον *G. amarae* συν 0,5mM αιθυλενο-διάμινο-τέτρα-οξικό οξύ EDTA μέσα σε θερμαινόμενο λουτρό για 15 λεπτά στους 48°C. Ακολουθεί έκπλυση με υπερκάρθρο νερό και το πλακίδιο αφήνεται να στεγνώσει σε σκοτεινό μέρος.

Τέλος, στο πλακίδιο προστίθενται σταγόνες αντι- αποχρωστικής ουσίας Citifluor (Citifluor Ltd, Ηνωμένο Βασίλειο) για την προστασία του σήματος φθορισμού και καλύπτεται με καλυπτρίδα. Το πλακίδιο παρατηρείται με μικροσκόπιο Nikon E50i εξοπλισμένο με φίλτρο φθορισμού για Cy3 (Chroma Technology). Το πλακίδιο μπορεί να αποθηκευτεί στους -20°C για αρκετούς μήνες.

Ο παρακάτω πίνακας δείχνει αναλυτικά τα χαρακτηριστικά των ικνηλατών που επιλέχθηκαν και την ακρίβεια με την οποία διεξήχθη η μέθοδος FISH στην παρούσα εργασία:

Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά των ικνηλατών που επιλέχθηκαν για την εφαρμογή της μεθόδου FISH

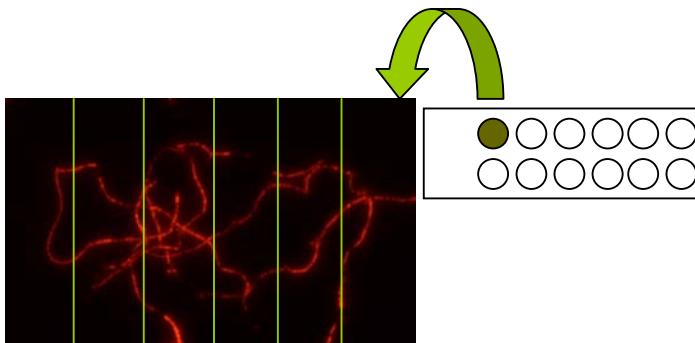
	<i>M. parvicella</i>	<i>G. amarae</i>
Ακολουθία Βάσεων	5'-CCG GAC TCT AGT CAG AGC-3'	5'-CAT CCC TGA CCG CAA AAG C-3'
Κωδικός ολιγονουκλεοτιδίου	9029005	9029006
Ποσότητα	118 µg	170 µg
	19.7 nmol	27.2 nmol
Συγκέντρωση	100 pmol/µl	100 pmol/µl
Όγκος	197 µl	272 µl
Μοριακό Βάρος	5992 g/mol	6234 g/mol
Μήκος ολιγονουκλεοτιδίου (#Βάσεων)	18	19
Ποσοστό Βάσεων GC	61,11%	57,89%
Πλήθος Βάσεων A	4	6
Πλήθος Βάσεων G	5	3
Πλήθος Βάσεων C	6	8
Πλήθος Βάσεων T	3	2
Κατάσταση ολιγονουκλεοτιδίων	Λυοφιλισμένα	
Φθοροφόρος στο 5 άκρο (5')	Cy3	
Συγκέντρωση NaCl	0,9M	0,9M
Συγκέντρωση φορمامιδίου	20%	30%
Ακρίβεια (Strigency)	77,4%	86,5%

Η ακρίβεια της μεθόδου ορίζεται ως το ποσοστό των ορθών και λανθασμένων ζευγών βάσεων που επιτρέπεται να σχηματιστούν μεταξύ των ολιγονουκλεοτιδίων

του ικνηλάτη και του μικροοργανισμού - στόχου, χωρίς να καταρεύσει η υβριδοποιημένη διπλή έλικα. Δηλαδή, 85% ακρίβεια συνεπάγεται ότι σχηματίζεται σταθερό υβρίδιο με περισσότερες από 85% ορθά συνδεδεμένες βάσεις κατά μήκος της συμπληρωματικής ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ικνηλάτη - μικροοργανισμού και λιγότερες από 15% λανθασμένες. Η FISH κατά κανόνα εφαρμόζεται με ακρίβεια 70 - 90%, επομένως οι συνθήκες που επιλέχθηκαν για τη διεξαγωγή των μετρήσεων της παρούσας εργασίας κρίνονται ως ικανοποιητικές.

Η καταμέτρηση των νηματοειδών μικροοργανισμών που ταυτοποιούνται με τη μέθοδο FISH είναι παρόμοια με τη τεχνική ποσοτικοποίησης των Pitt και Jenkins της χρώσης των μικροοργανισμών κατά Gram και της μέτρησης των τμήσεων σε κάθετη γραμμή:

1. Μετρώνται οι τμήσεις των φθορίζοντων νηματοειδών μικροοργανισμών κατά μήκος της διαμέτρου της κυκλικής θέσης του πλακιδίου στο οποίο έχει μεταφερθεί το δείγμα υπό εξέταση και έχει εφαρμοστεί η μέθοδος FISH (εικόνα 4.1).
2. Η μέτρηση επαναλαμβάνεται κατά μήκος δύο γραμμών αριστερά και δύο δεξιά της διαμέτρου.



Εικόνα 4.1: Μέτρηση τμήσεων φθορίζοντων μικροοργανισμών κατά μήκος 5 γραμμών.

3. Τα βήματα 1 και 2 επαναλαμβάνονται για δύο ακόμα θέσεις του πλακιδίου στις οποίες έχει μεταφερθεί το ίδιο δείγμα.
4. Υπολογίζεται ο μέσος όρος των μετρήσεων. Στην περίπτωση που η μέτρηση δώσει συντελεστή απόκλισης ($100 \times$ τυπική απόκλιση/ μέσο όρο) μεγαλύτερο από 30%, τότε η διασπορά των νηματοειδών θεωρείται μη ομοιογενής και το αποτέλεσμα δε λαμβάνεται υπόψη.

5. Στη συνέχεια εξάγεται ο μέσος όρος και η συγκέντρωση των FISH νηματοειδών υπολογίζεται από τους παρακάτω τύπους σε τμήσεις ανά g VSS ή σε τμήσεις ανά L δείγματος:

$$C_m = \frac{S}{V_{\text{δείγματος}} \mu\text{L}} \times \frac{10^6 \mu\text{L}}{L} \times \frac{1}{MLVSS \left(\frac{g}{L}\right)} \times DF \quad \text{Εξίσωση 4.1}$$

$$C_v = \frac{S}{V_{\text{δείγματος}} \mu\text{L}} \times \frac{10^6 \mu\text{L}}{L} \times DF \quad \text{Εξίσωση 4.2}$$

όπου : C = συγκέντρωση νηματοειδούς (# τομών/L)

S = μέσος όρος διατμήσεων

DF = Αραίωση δειγμάτων

Με βάση την εξίσωση 4.2 το όριο ανίχνευσης της μεθόδου ανέρχεται σε περίπου 10^6 τμήσεις/L στο ανάμικτο υγρό.

4.3. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ LIVE/DEAD BacLight

Προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα προσδιορισμού της βιωσιμότητας των προσδιοριζόμενων μικροοργανισμών με τη βοήθεια της μεθόδου FISH έγινε σύγκριση της μεθόδου με τη μέθοδο LIVE/DEAD BacLight.

Αρχή της μεθόδου: Ακεραιότητα κυτταρικής μεμβράνης.

Το kit LIVE/DEAD BacLight περιέχει μίγματα της πράσινης χρώσης νουκλεϊκού οξέος SYTO 9 (Αντιδραστήριο A) και της κόκκινης χρώσης νουκλεϊκού οξέος propidium iodide (Αντιδραστήριο B). Οι χρώσεις αυτές διαφέρουν ως προς τα φασματικά χαρακτηριστικά τους και τις ιδιότητές τους να εισέρχονται στα υγιή κύτταρα. Έτσι όταν χρησιμοποιείται μόνη της η SYTO 9 εισέρχεται σε όλα τα κύτταρα ανεξάρτητα από το αν η κυτταρική τους μεμβράνη είναι ανέπαφη ή παρουσιάζει φθορές. Σε

αντίθεση η propidium iodide εισέρχεται μόνο στα βακτήρια με φθορές στην κυτταρική τους μεμβράνη προκαλώντας μείωση της χρώσης SYTO 9. Επομένως, όταν χρησιμοποιείται κατάλληλο μίγμα των δύο χρώσεων τα βακτήρια με ανέπαφη την κυτταρική τους μεμβράνη θα φθορίζουν πράσινα, ενώ τα βακτήρια με φθορές στην κυτταρική τους μεμβράνη θα φθορίζουν κόκκινα. Τα μήκη κύματος διέγερσης και εκπομπής είναι 480/500nm για τη SYTO9 και 490/935nmγια τη propidium iodide. Έτσι οι χρώσεις είναι ορατές υπό το διπλό φίλτρο FITC/Texas Red, ενώ το υπόβαθρο παραμένει μη φθορίζον.

Το πρωτόκολλο της μεθόδου δίνεται παρακάτω:

1. Προετοιμασία διαλύματος stock 2X του LIVE/DEAD BacLight από το Kit L-13152 (Invitrogen, ΗΠΑ) διαλύοντας το περιεχόμενο της πιπέτας του Αντιδραστηρίου A με τα περιεχόμενα της πιπέτας του Αντιδραστηρίου B σε 5 mL υπερκάθαρου νερού.
2. Μεταφέρεται όγκος V (ενδεικτικά 15μL) του παραπάνω διαλύματος σε Eppendorf tube με ίσο όγκο δείγματος λυμάτων ή ιλύος, το οποίο έχει υποστεί προετοιμασία (αραίωση και ομογενοποίηση όπως περιγράφεται στη μέθοδο FISH). Η τελική συγκέντρωση κάθε χρώσης θα είναι 6 μM SYTO 9 stain και 30 μM propidium iodide.
3. Το δείγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό μέρος για τουλάχιστον 15 λεπτά.
4. 3μL από το μίγμα μεταφέρονται σε θέση μικροσκοπικού πλακιδίου.
5. Το δείγμα παρατηρείται στο μικροσκόπιο υπό φθορισμό με το φίλτρο FITC/TEXAS RED.
6. Η ποσοτικοποίηση γίνεται με τη μέτρηση τμήσεων κατά μήκος της διαμέτρου και διπλανών γραμμών της μικροσκοπικής θέσης όπως ακριβώς και στην ποσοτικοποίηση της μεθόδου FISH, ώστε οι δύο μετρήσεις να είναι συγκρίσιμες.

4.4. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΡΙΤΤ ΚΑΙ JENKINS ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΗΣ ΑΠΟ ΜΑΜΑΙΣ *ET AL.* (1998)

Η παραδοσιακή μέθοδος ταυτοποίησης των νηματοειδών κατά Gram και η τεχνική καταμέτρησής περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα:

- i. Ανάμιξη σε ομογενοποιητή σε χαμηλή ταχύτητα, 400 ml αραιωμένου ανάμικτου υγρού γνωστής συγκέντρωσης πτητικών στερεών (MLVSS), για περίπου τρία λεπτά.
- ii. Τοποθέτηση 80 μ L δείγματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα (slide) και στη συνέχεια ομοιόμορφη κατανομή του δείγματος σε όλη την επιφάνεια του slide. Κατά τη σύγκριση της μεθόδου με τη μέθοδο FISH για λόγους ομοιογένειας των μετρήσεων μεταφέρθηκαν 3 μ L δείγματος σε μία θέση (well) μικροσκοπικού πλακιδίου 12 θέσεων με επικάλυψη teflon.
- iii. Επανάληψη της ανωτέρω διαδικασίας για πέντε συνολικά πλακίδια ή θέσεις του ίδιου πλακιδίου.
- iv. Ξήρανση δειγμάτων χωρίς τη χρήση φλόγας.
- v. Μικροσκοπική εξέταση του δείγματος σε μεγέθυνση 100 \times χρησιμοποιώντας αντίθεση φάσεως για τον έλεγχο της ομοιόμορφης κατανομής των δειγμάτων σε κάθε slide.
- vi. Επιλογή των τριών καταλληλότερων πλακιδίων και στη συνέχεια μικροσκοπική ανάλυση δειγμάτων κατά Gram.
- vii. Μικροσκοπική εξέταση των δειγμάτων σε μεγέθυνση 100 \times χρησιμοποιώντας φωτεινό πεδίο. Με κίνηση του φακού σε μια κάθετη νοητή γραμμή καθ' όλο το πλάτος του slide από πάνω προς τα κάτω, γίνεται η καταμέτρηση του συνόλου των διατμήσεων των νηματοειδών Gram θετικών βακτηριδίων με μήκος μεγαλύτερο των 3 μ m και πλάτος μικρότερο των 1.5 μ m.
- viii. Επανάληψη της ανωτέρω διαδικασίας (βήμα vii) για άλλες δύο νοητές γραμμές στο slide και λήψη του μέσου όρου των τριών μετρήσεων.

- ix. Επανάληψη των βημάτων vii και viii για άλλα δύο slides και υπολογισμός του μέσου όρου των μετρήσεων των διατμήσεων και για τα τρία slides.

Η συγκέντρωση του νηματοειδούς υπολογίζεται από τις εξισώσεις 1 και 2. Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου όπως εφαρμόστηκε για 3 μL δείγματος ανέρχεται σε περίπου 10^6 τμήσεις/L για δείγματα ανάμικτου υγρού

4.5. ΜΕΘΟΔΟΣ ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΩΝ ΜΙΚΡΟΣΦΑΙΡΩΝ

Για την μελέτη των χαρακτηριστικών της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκαν φθορίζουσες μικροσφαίρες από πολυστυρένιο κατάλληλα επεξεργασμένες ώστε η επιφάνειά τους να είναι υδροφοβική (τροποποίηση με ενώσεις θειϊκού οξέος). Η μέθοδος αναπτύχθηκε από τους Zita and Hermansson (1997), οι οποίοι αναφέρουν ότι καθώς οι σφαίρες αναμιγνύονται με το δείγμα προσκολλούνται στις υδροφοβικές επιφάνειες και από την κατανομή τους εξαγονται χρήσιμα συμπεράσματα για την υδροφοβικότητα των μικροοργανισμών. Έτσι, κύτταρα με περισσότερες από 3 μικροσφαίρες θεωρούνται υδροφοβικά. Η ποσοτικοποίηση της υδροφοβικότητας μπορεί να γίνει και με το ποσοστό των κυττάρων με συγκεκριμένο εύρος προσκολλημένων μικροσφαιρών. Το πρωτόκολλο της μεθόδου περιγράφεται παρακάτω:

1. Το προϊόν FluoSpheres® sulfate microspheres, 0.2 μm , yellow-green fluorescent (505/515) (F8848, Invitrogen, ΗΠΑ) συγκέντρωσης 2% σε στερεά αραιώνεται 1/100 ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 0,02% κ.Β.
2. Το διάλυμα ομογενοποιείται με ηχοβόλιση για 50 λεπτά στα 170W σε πάγο, διακόπτοντας κατά διαστήματα τη διαδικασία παρακολουθώντας της θερμοκρασία ώστε να μην ανέβει.
3. Σε Eppendorf tube μεταφέρονται 10 μL του διαλύματος, 10 μL δείγματος και 15 μL υπερκάθαρου νερού, και 85 μL διαλύματος Acridine Orange (A3568, Invitrogen, ΗΠΑ) συγκέντρωσης 0,1g/L ώστε να είναι ορατά τα βακτήρια και το μίγμα αναδεύεται καλά σε Vortex για 2 λεπτά.
4. Το μίγμα αφήνεται σε σκοτεινό μέρος για 10 min.
5. 3 μL από το μίγμα μεταφέρονται σε θέση μικροσκοπικού πλακιδίου και το slide αφήνεται να στεγνώσει σε σκοτεινό μέρος.

6. Το δείγμα παρατηρείται στο μικροσκόπιο προσθέτοντας μια σταγόνα λάδι (Nikon, typeNF) σε μεγέθυνση x1000 υπό φθορισμό με το φίλτρο FITC/TEXAS RED.

Στην παρούσα εργασία η μέθοδος των φθορίζουσών μικροσφαιρών χρησιμοποιήθηκε για την ποιοτική παρατήρηση των δειγμάτων και όχι για την ποσοτικοποίηση της υδροφοβικότητάς τους.

4.6. ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΩΝ ΑΠΟ

ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ

Στην παρούσα διδακτορική εργασία, η μέθοδος FISH χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια επεξεργασίας των λυμάτων τριών, πλήρους κλίμακας, ΕΕΛ και συγκεκριμένα της Χαλκίδας, του Βόλου και της Ψυττάλειας. Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με βιώσιμους νηματοειδείς. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογική ιλύς σταθεροποιείται σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως είναι δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση. Έτσι λήφθηκαν δείγματα από τα επιμέρους στάδια της επεξεργασίας των εγκαταστάσεων για την ταυτοποίηση και καταμέτρηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών. Στις επόμενες παραγράφους γίνεται μια σύντομη περιγραφή του διαγράμματος ροής των ΕΕΛ, των προγραμμάτων δειγματοληψιών καθώς και των μετρήσεων που διεξήχθησαν.

4.6.1. Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Βόλου

4.6.1.1. Συνοπτική περιγραφή της ΕΕΛ

Η εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της μείζονος περιοχής του Βόλου έχει σχεδιασθεί για να δέχεται συνολικά 32.000 m³/d εξυπηρετώντας ισοδύναμο πληθυσμό ίσο με 135.000 κατοίκους. Σήμερα η εγκατάσταση δέχεται 23.000 m³/d αστικά λύματα, 1.000 m³/d βιομηχανικά λύματα και 35 m³/d βοθρολύματα.

Το σχήμα επεξεργασίας των λυμάτων που εφαρμόζεται στην ΕΕΛ Βόλου περιλαμβάνει κοινή συλλογή βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων, προεπεξεργασία με εσχάρωση, εξάμμωση και απολίπανση, φυσικο-χημική επεξεργασία με επίπλευση, χημικά υποβοηθούμενη πρωτοβάθμια επεξεργασία και χημική απομάκρυνση φωσφόρου, και τέλος βιολογική επεξεργασία για την απομάκρυνση οργανικού άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου. Στην συνέχεια τα επεξεργασμένα λύματα οδηγούνται με βαρύτητα σε αντλιοστάσιο τελικής διάθεσης και μέσω καταθλιπτικού αγωγού στα έργα διάθεσης. Η τελική διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται σε βάθος -54 m στο Παγασητικό Κόλπο, στο ακρωτήρι Αγκίστρι μέσω συστήματος υποθαλάσσιου αγωγού και διαχυτήρων μήκους 800 m.

Η περίσσεια βιολογική ιλύς καθώς και η πρωτοβάθμια ιλύς των αστικών και βιομηχανικών λυμάτων υπόκεινται σε αναερόβια χώνευση. Στη συνέχεια η χωνευμένη ιλύς οδηγείται στην μονάδα αφυδάτωσης που αποτελείται από 2 ταινιοφιλτρόπρεσες δυναμικότητας 10 m³/h η κάθε μία. Η επεξεργασμένη λάσπη, με ποσοστό στερεών περίπου 25%, διατίθεται σε ΧΥΤΑ μαζί με τα οικιακά απορρίμματα.

4.6.1.2. Θέσεις και συχνότητα δειγματοληψιών λυμάτων και ιλύος

Τα σημεία δειγματοληψίας λυμάτων και ιλύος από την εγκατάσταση του Βόλου καθορίστηκαν ως ακολούθως:

1. Έξοδος διεργασίας εξάμμωσης
2. Είσοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης
3. Έξοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης

4. Πρωτοβάθμια Ιλύς
5. Έξοδος δεξαμενής αερισμού
6. Έξοδος δεξαμενής τελικής καθίζησης
7. Περίσσεια ιλύος
8. Επιφάνεια δεξαμενής τελικής καθίζησης (μόνον αφρός)
9. Ομογενοποιημένη ιλύς
10. Έξοδος χωνευτών
11. Αφυδατωμένη ιλύς από πρέσες
12. Στραγγίδια στατικού παχυντή
13. Στραγγίδια μηχανικού παχυντή
14. Στραγγίδια από πρέσες αφυδάτωσης της ιλύος

Συνολικά λήφθηκαν τα παραπάνω 14 δείγματα σε 7 συνολικά δειγματοληψίες από το Δεκέμβριο του 2006 έως τον Ιούνιο του 2008.

4.6.1.3. Εργαστηριακές αναλύσεις

Σε όλα δείγματα που συλλέγονταν από τα καθορισμένα σημεία δειγματοληψίας πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω αναλύσεις:

- Ολικά και πτητικά στερεά στα δείγματα ιλύων και ολικά και πτητικά αιωρούμενα στερεά στα δείγματα λυμάτων, ανάμικτου υγρού και στραγγιδίων.
- Χρώση κατά Gram και ποσοτικοποίηση των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* με τη μέθοδο Pitt και Jenkins.
- Επεξεργασία με τη μοριακή μέθοδο FISH και ποσοτικοποίηση με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας.

4.6.2. Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Χαλκίδας

4.6.2.1. Συνοπτική περιγραφή της ΕΕΛ

Η εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων (Ε.Ε.Λ.) του Δήμου Χαλκιδέων επεξεργάζεται βοθρολύματα και αστικά λύματα της ευρύτερης περιοχής της πόλης της Χαλκίδας. Η εν λόγω μονάδα έχει κατασκευασθεί επί της νήσου Πασά, η οποία

Βρίσκεται στο मुखό του νότιου Ευβοϊκού κόλπου σε απόσταση 395 m από την Ευβοϊκή ακτή και 465 m από τη Βοιωτική ακτή.

Αν και το μεγαλύτερο ποσοστό των επιμέρους μονάδων της Ε.Ε.Λ. βρίσκεται στο νησί, ο χώρος εκκένωσης των βυτίων, τα έργα προεπεξεργασίας των βοθρολυμάτων, και τα αντίστοιχα έργα για τα αστικά λύματα είναι τοποθετημένα επί της Ευβοϊκής ακτής. Η προεπεξεργασία των βοθρολυμάτων περιλαμβάνει εσχάρωση, εξάμμωση και απολίπανση. Μετά την εξάμμωση - απολίπανση, τα βοθρολύματα οδηγούνται σε δεξαμενή εξισορρόπησης. Επίσης, τα λύματα από το αντλιοστάσιο του δικτύου αποχέτευσης της πόλης καταλήγουν στο φρεάτιο άφιξης αστικών λυμάτων της εγκατάστασης και θραύσης της πίεσης. Από εκεί διανέμονται σε δύο διώρυγες εσχάρωσης και ακολούθως στην εξάμμωση - απολίπανση. Μετά την εξάμμωση - απολίπανση, τα λύματα οδηγούνται μέσω διώρυγας στην δεξαμενή εξισορρόπησης.

Στη συνέχεια τα λύματα οδηγούνται σε δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης, στις οποίες επιστρέφει και συγκαθιζάνει μαζί με την πρωτοβάθμια και η περίσσεια δευτεροβάθμια ιλύς. Μετά την πρωτοβάθμια καθίζηση τα λύματα διοχετεύονται σε δύο παράλληλους βιολογικούς αντιδραστήρες καθένας από τους οποίους αποτελείται από μια αερόβια, μια ανοξική και μια αναερόβια ζώνη και στη συνέχεια στις δεξαμενές τελικής καθίζησης. Η τελική εκροή κλωριώνεται πριν τη διάθεσή της. Η ιλύς από τις δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης οδηγείται σε παχυντές βαρύτητας, σε χωνευτές και τέλος υφίσταται αφυδάτωση σε πρέσες.

4.6.2.2. Θέσεις και συχνότητα δειγματοληψιών λυμάτων και ιλύος

Τα σημεία δειγματοληψίας ορίστηκαν ως η είσοδος και η έξοδος κάθε επιμέρους διεργασίας και στις δύο γραμμές επεξεργασίας της ΕΕΛ Χαλκίδας. Έτσι, για τη χρονική περίοδο από τον Οκτώβριο του 2006 έως και το Μάιο του 2007 λαμβάνονταν τα εξής 28 δείγματα σε μηνιαία βάση:

1. Έξοδος αστικών λυμάτων και βοθρολυμάτων από την προεπεξεργασία
2. Προεπεξεργασμένα λύματα και στραγγίδια
3. Φρεάτιο φόρτισης δεξαμενής πρωτοβάθμιας (Δ.Π.Κ.) καθίζησης πρώτης γραμμής

4. Φρεάτιο φόρτισης δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης δεύτερης γραμμής
5. Είσοδος Δ.Π.Κ. πρώτης γραμμής
6. Είσοδος Δ.Π.Κ. δεύτερης γραμμής
7. Έξοδος Δ.Π.Κ. πρώτης γραμμής
8. Έξοδος Δ.Π.Κ. δεύτερης γραμμής
9. Δεξαμενή αερισμού πρώτης γραμμής
10. Δεξαμενή αερισμού δεύτερης γραμμής
11. Περίσσια πρώτης γραμμής
12. Περίσσια δεύτερης γραμμής
13. Αφροί που συνορεύονται στη δεξαμενή αερισμού πρώτης γραμμής
14. Αφροί που συνορεύονται στη δεξαμενή αερισμού δεύτερης γραμμής
15. Έξοδος δεξαμενής τελικής καθίζησης πρώτης γραμμής
16. Έξοδος δεξαμενής τελικής καθίζησης δεύτερης γραμμής
17. Πρωτοβάθμια ιλύς πρώτης γραμμής
18. Πρωτοβάθμια ιλύς δεύτερης γραμμής
19. Παχυμένη ιλύς πρώτης γραμμής
20. Παχυμένη ιλύς δεύτερης γραμμής
21. Υπερχειλίση παχυντή πρώτης γραμμής
22. Υπερχειλίση παχυντή δεύτερης γραμμής
23. Χωνεμένη ιλύς πρώτης γραμμής
24. Χωνεμένη ιλύς δεύτερης γραμμής
25. Υπερχειλίση δευτεροβάθμιου χωνευτή
26. Είσοδος στην πρέσα αφυδάτωσης ιλύος
27. Στραγγίδια πρέσας αφυδάτωσης ιλύος
28. Σύνολο στραγγιδίων

4.6.2.3. Εργαστηριακές αναλύσεις

Σε όλα τα δείγματα πραγματοποιούνταν οι παρακάτω αναλύσεις:

- Ολικά και πτητικά στερεά στα δείγματα ιλύων και ολικά και πτητικά αιωρούμενα στερεά στα δείγματα λυμάτων, ανάμικτου υγρού και στραγγιδίων.
- Χρώση κατά Gram και ποσοτικοποίηση των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* με τη μέθοδο Pitt και Jenkins.
- Επεξεργασία με τη μοριακή μέθοδο FISH και ποσοτικοποίηση με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας.
- Στα δείγματα ανάμικτου υγρού περιοδικά γινόταν μέτρηση του δείκτη καθιζησιμότητας της ιλύος.

Επίσης σε μηνιαία βάση λαμβάνονταν τα λειτουργικά δεδομένα της εγκατάστασης, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την κατάστρωση ισοζυγίων στερεών και νηματοειδών καθώς και για τον υπολογισμό παραμέτρων που καθορίζουν την απόδοση των επιμέρους διεργασιών.

4.6.3. Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Ψυττάλειας

4.6.3.1. Συνοπτική περιγραφή της ΕΕΛ

Το Κέντρο Επεξεργασίας Λυμάτων Ψυττάλειας (ΚΕΛΨ) αναπτύσσεται στην περιοχή του Ακροκέραμου στο Κερατσίνι και στη νήσο Ψυττάλεια του Σαρωνικού κόλπου, η οποία βρίσκεται 2 χλμ. Δυτικά από το λιμάνι Πειραιά. Στον Ακροκέραμο, σε έκταση περίπου 63 στρεμμάτων, βρίσκονται οι εγκαταστάσεις προεπεξεργασίας των λυμάτων και στη νήσο Ψυττάλεια, εκτάσεως 563 στρεμμάτων, οι εγκαταστάσεις της κύριας επεξεργασίας των λυμάτων. Η μέση εισερχόμενη παροχή των λυμάτων κατά το έτος 2008 στην εγκατάσταση της Ψυττάλειας ήταν 720,000m³ ημερησίως.

Στο χώρο του Ακροκέραμου λειτουργούν οι παρακάτω μονάδες επεξεργασίας των λυμάτων:

- Απομάκρυνση ογκωδών στερεών
- Αντλιοστάσιο αρχικής ανύψωσης - αντλίες Αρχιμήδη
- Εσχάρωση
- Εξάμμωση

➤ Απόσμιση

Η προεπεξεργασία των λυμάτων στις εγκαταστάσεις του Ακροκέραμου συνίσταται στην απομάκρυνση των ογκωδών στερεών, στην εσχάρωση και στην εξάμμωση. Στη συνέχεια τα λύματα ανυψώνονται με τη βοήθεια αντλιών τύπου Αρχιμήδη και οδηγούνται μέσω ενός υποθαλάσσιου αγωγού στη νήσο Ψυττάλεια, όπου βρίσκονται οι μονάδες για την κύρια επεξεργασία των λυμάτων και συγκεκριμένα οι ακόλουθες:

- Δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης
- Αντλιοστάσιο ενδιάμεσης ανύψωσης
- Βιοαντιδραστήρες - Δεξαμενές νιτροποίησης/ απονιτροποίησης
- Συγκρότημα παροχής αέρα - αεροσυμπιεστές
- Φρεάτιο διανομής παροχής προς δεξαμενές τελικής καθίζησης
- Δεξαμενές τελικής καθίζησης
- Σύστημα απομάκρυνσης αφρών και επιπλεόντων
- Αντλιοστάσια ανακυκλοφορίας ιλύος, εσωτερικής ανακυκλοφορίας και περίσσειας ιλύος
- Κανάλια διάθεσης διαυγών
- Φίλτραση/ απολύμανση

Η παραγόμενη ιλύς επεξεργάζεται στις ακόλουθες μονάδες:

- Αντλιοστάσιο πρωτοβάθμιας ιλύος
- Δεξαμενές προπάχυνσης - παχυντές Βαρύτητας
- Μηχανική πάχυνση
- Αντλιοστάσια παχυμένης ιλύος
- Αντλιοστάσιο τροφοδοσίας χωνευτών
- Αναερόβιοι χωνευτές
- Δεξαμενές μεταπάχυνσης

➔ Αφυδάτωση

4.6.3.2. Θέσεις και συχνότητα δειγματοληψιών στην ΕΕΛ Ψυττάλειας

Στην εγκατάσταση της Ψυττάλειας πραγματοποιήθηκε μία δειγματοληψία στις 4/6/07 στα παρακάτω σημεία της διεργασίας:

1. Είσοδος εγκατάστασης
2. Στραγγίδια αφυδάτωσης
3. Υπερχείλιση πορπαχυντών
4. Είσοδος έπειτα από επιστροφές
5. Είσοδος βιοαντιδραστήρα
6. Στραγγίδια μηχανικής πάχυνσης
7. Πρωτοβάθμια λάσπη
8. Ανάμικτο υγρό
9. Αφρός βιοαντιδραστήρων
10. Περίσσεια
11. Πρωτοβάθμια παχυμένη
12. Δευτεροβάθμια παχυμένη
13. Έξοδος χώνευσης

4.6.3.3. Εργαστηριακές αναλύσεις

Σε όλα τα δείγματα πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω αναλύσεις:

- Ολικά και πτητικά στερεά στα δείγματα ιλύων και ολικά και πτητικά αιωρούμενα στερεά στα δείγματα λυμάτων, ανάμικτου υγρού και στραγγιδίων.
- Χρώση κατά Gram και ποσοτικοποίηση των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* με τη μέθοδο Pitt και Jenkins.
- Επεξεργασία με τη μοριακή μέθοδο FISH και ποσοτικοποίηση με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας.

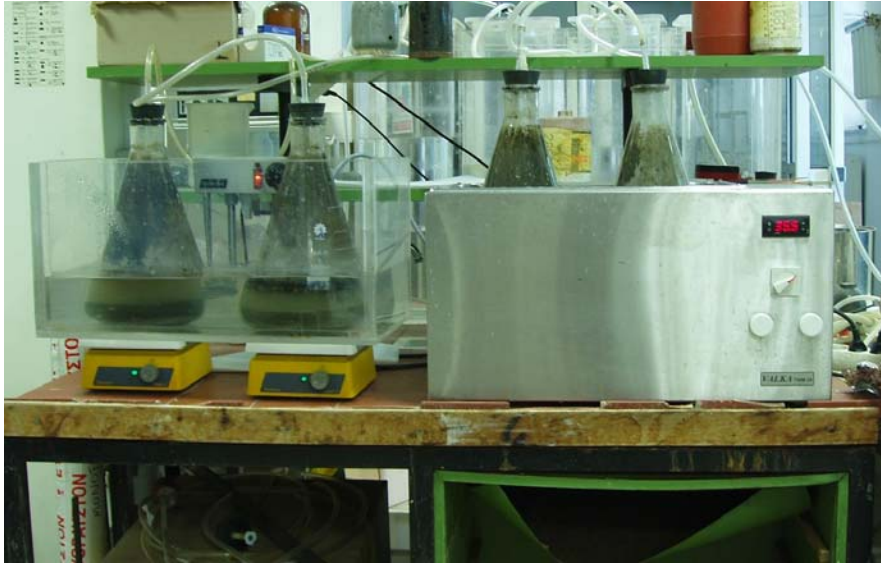
4.7. ΠΙΛΟΤΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

Το εργαστηριακό σύστημα των αναερόβιων χωνευτών λειτούργησε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου από τον Οκτώβρη του 2006 έως τον Ιούλιο του 2008.

4.7.1. Περιγραφή πειραματικής διάταξης

Το εργαστηριακό σύστημα αποτελούταν από συνολικά 6 αναερόβιους χωνευτές, δηλαδή 6 γυάλινες κωνικές φιάλες των 5L, εκ των οποίων οι τέσσερις ήταν τοποθετημένες ανά δύο σε ανοξείδωτο υδατόλουτρο με μαγνητική ανάδευση. Τα δύο ανοξείδωτα υδατόλουτρα (εικόνες 4.2, 4.3) είχαν εσωτερικές διαστάσεις 505mm x 300mm x 200 (μήκος x πλάτος x βάθος) με 2 θέσεις το καθένα για τις κωνικές φιάλες με διάμετρο βάσης 220mm. Η θέρμανση των υδατόλουτρων γινόταν μέσω αντίστασης στο κάτω μέρος της λέκάνης του λουτρού που ενεργοποιούνταν βάσει της θερμοκρασίας και με ανακυκλοφορία νερού μέσω αντλίας με πίεση 120mbar και εκτόνωση 10lt/min (λειτουργικά χαρακτηριστικά: 220V/50HZ, 2000W). Με τον τρόπο αυτό η θερμοκρασία μπορούσε να ρυθμιστεί με εύρος τιμών έως και 70°C με αναγνωσιμότητα 0,1°C με PID control. Επίσης, κάθε υδατόλουτρο διέθετε δύο ενσωματωμένους μαγνητικούς αναδευτήρες με ισχύ εισόδου/εξόδου 12/5W. Ο μέγιστος όγκος (νερού) ανάδευσης για κάθε μαγνητικό αναδευτήρα ήταν 15lt με μέγιστο μήκος/διάμετρο 80mm/10mm.

Οι άλλες δύο κωνικές φιάλες ήταν τοποθετημένες σε υδατόλουτρο από Plexiglas κάτω από το οποίο έχουν τοποθετηθεί δύο μαγνητικοί αναδευτήρες (εικόνα 4.2). Η θέρμανση σε αυτό το υδατόλουτρο γινόταν μέσω ηλεκτρικής αντίστασης που ενεργοποιούνταν αναλόγως της θερμοκρασίας του νερού.



Εικόνα 4.2: Εργαστηριακοί μεσόφιλοι χωνευτές



Εικόνα 4.3: Εργαστηριακοί θερμόφιλοι χωνευτές

Κάθε κωνική φιάλη κλεινόταν αεροστεγώς με πώμα από Tefflon, στο οποίο ήταν προσαρμοσμένο ένα εύκαμπτο σωληνάκι για την έξοδο του βιοαερίου. Το βιοαέριο οδηγούταν σε σύστημα συλλογής από Plexiglass, αποτελούμενο από ανεστραμμένους κυλίνδρους μέσα σε ορθογώνιες διαμερισματοποιημένες δεξαμενές γεμάτες με νερό προκειμένου να μετρηθεί με τη μέθοδο της εκτόπισης του νερού (σχήμα 4.1).

Βιοαέριο

35cm

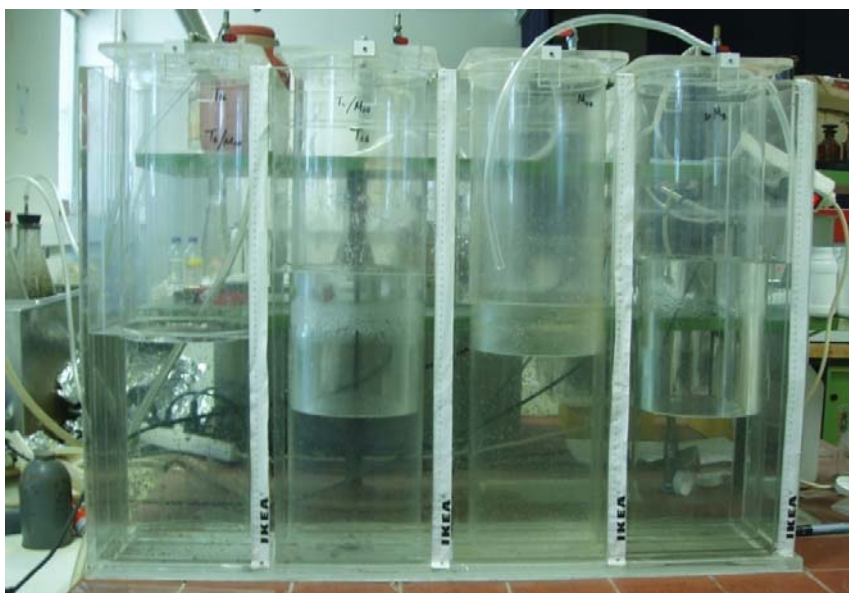
35cm

25cm

25cm

Σχήμα 4.1: Σχηματική απεικόνιση συστήματος συλλογής βιοαερίου

Το παραγόμενο βιοαέριο, συλλέγονταν σε ανεστραμμένους κυλίνδρους χωρητικότητας περίπου 22lt ο καθένας, γεμάτους με οξινισμένο νερό, εκτοπίζοντας ίσο όγκο νερού στο αντίστοιχο διαμέρισμα της δεξαμενής χωρητικότητας περίπου 11lt. Για τη μέτρηση του παραγόμενου βιοαερίου καταγράφονταν κάθε φορά η μετατόπιση της στάθμης του νερού στον κύλινδρο, με τη βοήθεια κλίμακας (εικόνα 4.4).



Εικόνα 4.4: Πειραματική διάταξη συστήματος συλλογής βιοαερίου

Ως γνωστόν, το βιοαέριο αποτελείται από 65-70% CH₄ (v/v), 25-30% CO₂ και ίχνη από H₂S, N₂, H₂, ατμό και άλλα αέρια. Από τα δύο κύρια συστατικά του βιοαερίου, η διαλυτότητα του CH₄ στο νερό είναι πολύ μικρή, ενώ αντίθετα η διαλυτότητα του CO₂ είναι μεγάλη. Επομένως, προκειμένου να αποφευχθεί η διαλυτοποίηση του CO₂ στο νερό του συστήματος συλλογής του, ρυθμίζονταν το pH σε τιμές κάτω από 4 με την προσθήκη HCl, τιμές στις οποίες δε διαλύεται το CO₂ στο νερό.

4.7.2. Λειτουργικά χαρακτηριστικά

4.7.2.1. Τροφοδοσία

Η τροφοδοσία των κωνευτών γίνονταν μία φορά την ημέρα με μίγμα πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας παχυμένης ιλύος σε συγκέντρωση στερεών 4 - 5% από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας σε αναλογία 1:1 κατ' όγκο. Εάν η συγκέντρωση στερεών υπερέβαινε το εύρος αυτό, τότε γινόταν αραίωση, για την διατήρηση της σταθερής οργανικής φόρτισης των κωνευτών.

Ο ενεργός όγκος κάθε 5L κωνευτή ορίστηκε στα 3L, οπότε και η τροφοδοσία υπολογίζονταν βάσει αυτού του όγκου από τη σχέση: $Q = \frac{V}{HRT} = \frac{3L}{HRT}$

Η τροφή των κωνευτών ενισχύονταν με αφρό από το σύστημα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας της Ψυττάλειας σε αναλογία 10% κατά βάρος, προκειμένου να αυξηθεί η συγκέντρωση των νηματοειδών σε αυτούς. Πρόκειται για πρακτική, η οποία εφαρμόζεται σε ορισμένες ΕΕΛ, δηλαδή ο αφρός που συγκεντρώνεται στα φρεάτια να οδηγείται στην αναερόβια χώνευση, με ή χωρίς προπάχυνση. Λόγω του εποχιακού φαινομένου του νηματοειδούς αφρισμού, οι μικροσκοπικές παρατηρήσεις έδειχναν την επικράτηση του *M. parvicella* κυρίως τους χειμερινούς μήνες και του *G. amarae* τους καλοκαιρινούς μήνες. Επίσης, στην τελευταία φάση των πειραμάτων (κατά την εξέταση των συστημάτων σε χρόνο παραμονής 10 ημερών) προστέθηκε αφρός από την ΕΕΛ Βόλου.

Η ιλύς και ο αφρός μεταφέρονταν στο εργαστήριο μία φορά την εβδομάδα από την εγκατάσταση της Ψυττάλειας σε πλαστικά μπουκάλια του 1L και ομογενοποιούνταν σε μεγάλα πλαστικά δοχεία στη σωστή αναλογία ενώ κατόπιν φυλάσσονταν στους 4° C περίπου.

4.7.2.2. Παράμετροι λειτουργίας

Η λειτουργία των χωνευτών χωρίστηκε σε 4 φάσεις με διαφορετικούς χρόνους παραμονής. Σε κάθε φάση λειτουργούσαν 4 χωνευτές σε μεσόφιλες συνθήκες (35°C) και 2 χωνευτές σε θερμόφιλες (55°C) ως εξής:

- Μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής (M)
- Μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής (T)
- Σύστημα σε σειρά με πρώτο στάδιο έναν θερμόφιλο και δεύτερο έναν μεσόφιλο χωνευτή (T/M)
- Σύστημα σε σειρά 2 μεσόφιλων χωνευτών (M/M)

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι χρόνοι παραμονής κάθε χωνευτή στις 4 φάσεις λειτουργίας του συστήματος:

Πίνακας 4.2: Χρόνοι παραμονής κάθε χωνευτή σε κάθε φάση λειτουργίας του εργαστηριακού συστήματος

	Φάση 1	Φάση 2	Φάση 3	Φάση 4
Μονοβάθμιος μεσόφιλος	20 ημέρες	16 ημέρες	13 ημέρες	10 ημέρες
Μονοβάθμιος θερμόφιλος	20 ημέρες	16 ημέρες	13 ημέρες	10 ημέρες
1 ^ο θερμόφιλο στάδιο συστήματος (T/M)	8 ημέρες	6 ημέρες	5 ημέρες	3 ημέρες
2 ^ο μεσόφιλο στάδιο συστήματος (T/M)	12 ημέρες	10 ημέρες	8 ημέρες	7 ημέρες
Κάθε μεσόφιλο στάδιο συστήματος (M/M)	10 ημέρες	8 ημέρες	6,5 ημέρες	5 ημέρες

Ο ρυθμός τροφοδοσίας κάθε χωνευτή σε κάθε φάση λειτουργίας φαίνεται στους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 4.3: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την πρώτη φάση

Χωνευτές	Υδραυλικός χρόνος παραμονής, (days)	Ημερήσιος παροχή ιλύος, Q (L/day)	Εβδομαδιαίος απαιτούμενος όγκος ιλύος, V (L/we)
Μεσόφιλος	20	0,150	1,050
Θερμόφιλος	20	0,150	1,050
Μεσόφιλος	10	0,300	2,100
Μεσόφιλος	10	0,300	2,100
Θερμόφιλος	8	0,375	2,625
Μεσόφιλος	12	0,250	1,750

Σημειώνεται ότι τα δεύτερα στάδια στα δύο συστήματα τροφοδοτούνταν από την ιλύ που απομακρυνόταν από τους ανάντη χωνευτές των συστημάτων.

Πίνακας 4.4: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την δεύτερη φάση

Χωνευτές	Υδραυλικός χρόνος παραμονής, (days)	Ημερήσιος παροχή ιλύος, Q (L/day)	Εβδομαδιαίος απαιτούμενος όγκος ιλύος, V (L/we)
Μεσόφιλος	16	0,186	1,313
Θερμόφιλος	16	0,186	1,313
Μεσόφιλος	8	0,375	2,625
Μεσόφιλος	8	0,375	2,625
Θερμόφιλος	6	0,500	3,500
Μεσόφιλος	10	0,300	2,100

Πίνακας 4.5: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την τρίτη φάση

Χωνευτές	Υδραυλικός χρόνος παραμονής, (days)	Ημερήσιος παροχή ιλύος, (L/day)	Εβδομαδιαίος απαιτούμενος όγκος ιλύος, (L)
Μεσόφιλος	13	0,231	1,615
Θερμόφιλος	13	0,231	1,615
Θερμόφιλος	5	0,600	4,200
Μεσόφιλος	8	0,375	2,625
Μεσόφιλος	6,5	0,462	3,231
Μεσόφιλος	6,5	0,462	3,231

Πίνακας 4.6: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την τέταρτη φάση

Χωνευτές	Υδραυλικός παραμονής, (days)	χρόνος HRT	Ημερήσιος παροχή ιλύος, Q (L/day)	Εβδομαδιαίος απαιτούμενος όγκος ιλύος, V (L/we)
Μεσόφιλος	10		0,300	2,100
Θερμόφιλος	10		0,300	2,100
Θερμόφιλος	3		1,000	7,000
Μεσόφιλος	7		0,429	3,000
Μεσόφιλος	5		0,600	4,200
Μεσόφιλος	5		0,600	4,200

4.7.3. Πρόγραμμα εργαστηριακών αναλύσεων

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο η τροφοδοσία των χωνευτών γίνονταν σε καθημερινή βάση με όγκο μίγματος Q, εφόσον καταρχήν αφαιρούταν από τους χωνευτές όγκος ίσος με Q (βλέπε Πίνακες παραπάνω) και χρησιμοποιούταν για τις εργαστηριακές αναλύσεις. Σε όλες τις περιπτώσεις δινόταν ιδιαίτερη προσοχή στην ομοιογένεια τόσο της ιλύος της τροφοδοσίας όσο και της ιλύος που απομακρύνονταν από τους χωνευτές.

Η ιλύς που αφαιρούταν από τους χωνευτές φυλασσόταν σε πλαστικά μπουκάλια σε συνθήκες περιβάλλοντος και χρησιμοποιούταν για τις καθημερινές αναλύσεις.

Το πρόγραμμα των εργαστηριακών αναλύσεων είχε ως εξής:

Θερμοκρασία και pH: Καθημερινές μετρήσεις επί τόπου σε όλους τους χωνευτές.

Βιοαέριο: Το παραγόμενο βιοαέριο από τα 4 συστήματα μετριόταν καθημερινά στο σύστημα συλλογής, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Ολικά και πτητικά στερεά: Τα ολικά (TS) και πτητικά στερεά (VS) μετρούνταν τουλάχιστον 2 φορές την εβδομάδα σε όλους τους χωνευτές και στην τροφοδοσία για την παρακολούθηση της απόδοσης της χώνευσης αλλά και για τον υπολογισμό του αφρού που πρέπει να εισάγεται στην παχυμένη ιλύ.

Ολικό, Κολλοειδές & Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο (Chemical Oxygen Demand- COD): Το ολικό COD μετριόταν δύο φορές την εβδομάδα, ενώ το κολλοειδές και το διαλυτό COD μία φορά την εβδομάδα, σε όλους τους χωνευτές και

την τροφοδοσία, ως μέτρο καταστροφής του οργανικού φορτίου κατά τη χώνευση. Σημειώνεται ότι οι μετρήσεις του κολλοειδούς COD έγιναν μόνο στην 3^η και 4^η φάση λειτουργίας του συστήματος

Δοκιμή αφρισμού: Η δοκιμή αφρισμού γίνονταν μια φορά την εβδομάδα σε όλους τους χωνευτές, για τη μελέτη της επίδρασης των νηματοειδών μ/ο στη δημιουργία αφρού στους χωνευτές

Ειδική αντίσταση στη διήθηση (SRF): Το SRF μετριόταν μία φορά την εβδομάδα στους μονοβάθμιους και στα δεύτερα στάδια των διβάθμιων συστημάτων για τη σύγκριση των χαρακτηριστικών της αφυδατωσιμότητας της χωνεμένης ιλύος

Πτητικά λιπαρά οξέα (Volatile Fatty Acids - VFAs): Τα πτητικά λιπαρά οξέα μετριόταν μία φορά την εβδομάδα σε όλους τους χωνευτές, για την παρακολούθηση της εύρυθμης λειτουργίας τους

Αλκαλικότητα: Η αλκαλικότητα μετριόταν μία φορά την εβδομάδα σε όλους τους χωνευτές και στην τροφοδοσία, στην 3^η και 4^η φάση πειραμάτων, για τον έλεγχο της σωστής λειτουργίας των χωνευτών.

FISH: με τη μοριακή μέθοδο FISH, γίνονταν καταμέτρηση των νηματοειδών *M. Parvicella* και *G. Amarae*, μία φορά την εβδομάδα.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι αναλύσεις, η συχνότητά τους και ο στόχος τους.

Πίνακας 4.7: Πρόγραμμα εργαστηριακών μετρήσεων

Παράμετρος	Συχνότητα	Στόχος
Θερμοκρασία & pH	Καθημερινά	Έλεγχος διατήρησης επιθυμητών συνθηκών
Βιοαέριο	Καθημερινά	Έλεγχος σωστής λειτουργίας χωνευτή
TS & VS	2 φορές/εβδομάδα	Καταστροφή οργανικών στερεών
Ολικό COD	2 φορές/εβδομάδα	Καταστροφή οργανικού φορτίου
Κολλοειδές & Διαλυτό COD	1 φορά/εβδομάδα	Καταστροφή οργανικού φορτίου & ανάδειξη οργανικών κλασμάτων
Test αφρισμού	1 φορά/εβδομάδα	Επίδραση νηματοειδών μικροοργανισμών
SRF	1 φορά/εβδομάδα	Χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας
Αλκαλικότητα	1 φορά/εβδομάδα	Έλεγχος σωστής λειτουργίας χωνευτή
VFAs	1 φορά/εβδομάδα	Έλεγχος συγκέντρωσης πτητικών λιπαρών οξέων
FISH	1 φορά/εβδομάδα	Καταμέτρηση των νηματοειδών <i>M. Parvicella</i> και <i>G. amarae</i>

4.7.4. Περιγραφή αναλυτικών μεθόδων

4.7.4.1. Μέτρηση θερμοκρασίας και pH

Η θερμοκρασία μετριόταν με απλό θερμόμετρο υδραργύρου, εντός των χωνευτών. Το pH μετριόταν με φορητό pHμετρο στην ιλύ που αφαιρούταν από κάθε χωνευτή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

4.7.4.2. Μέτρηση βιοαερίου

Το παραγόμενο βιοαέριο της προηγούμενης μέρας καταγραφόταν πριν από την τροφοδοσία των χωνευτών καθημερινά και στη συνέχεια απελευθερωνόταν προκειμένου να ανοιχτούν οι φιάλες. Όσον αφορά στη μέτρηση, με τη βοήθεια κλίμακας καταγραφόταν η διαφορά στάθμης του νερού εντός των ανεστραμμένων κυλίνδρων που είχε εκτοπίσει το παραγόμενο βιοαέριο και του εκτοπισμένου νερού στα διαμερίσματα εκτός των κυλίνδρων. Στη συνέχεια υπολογιζόταν η ωριαία παραγωγή βιοαερίου, με την παρακάτω σχέση:

$$\begin{aligned} \text{Παραγόμενο βιοαέριο (cm}^3/\text{h)} & \qquad \qquad \qquad \text{Εξίσωση 4.3} \\ &= \frac{3,14 \times R \times (\text{Στάθμη πριν} - \text{Στάθμη μετά})}{\Delta t} \end{aligned}$$

όπου:

R: η ακτίνα του ανεστραμμένου κυλίνδρου, 10cm

Δt: ο χρόνος που μεσολάβησε μεταξύ 2 διαδοχικών τροφοδοσιών

Τελικώς, ο υπολογισμός της παραγωγής βιοαερίου σε κανονικές συνθήκες γίνεται μέσω της σχέσης:

Standard Παραγωγή βιοαερίου

Εξίσωση 4.4

$$= \frac{\text{παραγόμενο βιοαέριο (}\frac{\text{m}^3}{\text{h}}\text{)} \times \text{βαρομετρική πίεση}}{\text{standard ατμοσφαιρική πίεση}}$$

Όπου:

Παραγόμενο βιοαέριο(m³/hr): όπως υπολογίστηκε παραπάνω

Βαρομετρική πίεση: από τα στοιχεία του METONET

Standard ατμοσφαιρική πίεση: 1013,25hPa

4.7.4.3. Μέτρηση ολικών και πτητικών στερεών

Η μέτρηση των στερεών γίνεται σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1992). Πιο συγκεκριμένα:

Ολικά στερεά (TS)

Ζύγιση προξηραμένης κάψας και καταγραφή του βάρους της. Προσθήκη 30 ml δείγματος και ξήρανση στους 103° C για 24 ώρες, περίπου. Τοποθέτηση της κάψας στο ξηραντήρα έως ότου έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ζύγιση στον αναλυτικό ζυγό και καταγραφή του νέου βάρους της.

Η συγκέντρωση των ολικών στερεών προκύπτει από την παρακάτω σχέση:

$$TS(mg/L) = \frac{(m_{103^{\circ}C} - m_{αρχ})}{V} \quad \text{Εξίσωση 4.5}$$

όπου:

$m_{103^{\circ}C}$ = μάζα της κάψας μετά την ξήρανση στους 103° C (mg)

$m_{αρχ}$ = η αρχική μάζα της προξηραμένης κάψας (mg)

V = ο όγκος του δείγματος (L)

Πτητικά στερεά (VS)

Για τη μέτρηση των πτητικών στερεών, η ξηραμένη στους 103° C κάψα τοποθετείται σε φούρνο 550° C για 30 λεπτά περίπου, για την καύση των οργανικών στερεών. Στη συνέχεια και αφού κρυώσει στον ξηραντήρα, ζυγίζεται και καταγράφεται το νέο βάρος της.

Η συγκέντρωση των πτητικών στερεών υπολογίζεται από τη σχέση:

$$VS(\text{mg}/L) = \frac{(m_{550^{\circ}\text{C}} - m_{103^{\circ}\text{C}})}{V}$$

Εξίσωση 4.61

όπου:

$m_{550^{\circ}\text{C}}$ = η μάζα της κάψας μετά την καύση στους 550° C (mg)

$m_{103^{\circ}\text{C}}$ = μάζα της κάψας μετά την ξήρανση στους 103° C (mg)

V = ο όγκος του δείγματος (L)

4.7.4.4. Μέτρηση ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών

Για τον προσδιορισμό των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS), ζυγίζεται προξηραμένο φίλτρο GF/C ($m_{\text{αρχ}}$) και τοποθετείται στη συσκευή διήθησης. Ακολουθεί διήθηση κατάλληλου όγκου δείγματος (V). Στη συνέχεια, το φίλτρο τοποθετείται στο φούρνο των 103°C για 1 ώρα και τοποθετείται στο ξηραντήρα έως ότου έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί ζύγιση στον αναλυτικό ζυγό και καταγραφή του νέου βάρους του ($m_{103^{\circ}\text{C}}$).

Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία μέτρησης των ολικών αιωρούμενων στερεών, ακολουθεί καύση των οργανικών στερεών (VSS), τοποθετώντας το φίλτρο σε φούρνο των 550°C για 20 min. Στη συνέχεια, το φίλτρο τοποθετείται στον ξηραντήρα για τη σταθεροποίηση του βάρους του σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ζυγίζεται με τη χρήση του αναλυτικού ζυγού ($m_{550^{\circ}\text{C}}$).

Οι συγκεντρώσεις των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών προκύπτουν από τις εξισώσεις 4.5 και 4.6.

4.7.4.5. Μέτρηση ολικού, κολλοειδούς και διαλυτού COD

Η μέτρηση του βιοχημικός απαιτούμενου οξυγόνου (COD) για τον προσδιορισμό του οργανικού φορτίου της ιλύος, γινόταν σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1992). Πιο συγκεκριμένα:

Το COD ορίζεται ως η ποσότητα του διχρωμικού καλίου που καταναλώνεται για την οξείδωση των οργανικών και ανόργανων ενώσεων που περιέχονται στο δείγμα. Η μέτρηση του COD διαρκεί περίπου 2 ώρες και πραγματοποιείται σε ιδιαίτερα όξινο περιβάλλον (50% H₂SO₄), σε θερμοκρασία 150° C και παρουσία Ag₂SO₄, που προστίθεται σαν καταλύτης για την αποτελεσματικότερη οξείδωση ορισμένων οργανικών ενώσεων. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται σε CO₂, H₂O, NH₄⁺, PO₄⁻³, SO₄⁻² και το διχρωμικό ανιόν Cr⁺⁶ (πορτοκαλί) σε χρωμικό Cr⁺³ (πράσινο). Οι μόνες ενώσεις που παρουσιάζουν κάποιο μειωμένο ποσοστό οξείδωσης είναι τα πτητικά οργανικά οξέα που λόγω της πτητικότητάς τους δεν οξειδώνονται τόσο αποτελεσματικά. Για την καλύτερη οξείδωση αυτών των ενώσεων προστίθεται Ag₂SO₄.

Μετά την οξείδωση της οργανικής ύλης με διχρωμικό, απαιτείται η μέτρηση της υπολειπόμενης συγκέντρωσης διχρωμικού καλίου, για τον υπολογισμό της ποσότητας που καταναλώθηκε. Η μέτρηση της περίσσειας του διχρωμικού καλίου γίνεται φασματογραφικά. Χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός τύπου HACH DR 2000 και σύμφωνα με το νόμο Beer - Lambert συσχετίζεται η απορροφητικότητα του δείγματος σε δεδομένο μήκος κύματος (620nm) με τη συγκέντρωση του COD του δείγματος:

$$\log \frac{I_0}{I} = A = a \times W \times \text{συγκέντρωση} \quad \text{Εξίσωση 4.7}$$

όπου:

I : η ένταση μονοχρωματικού φωτός (620nm) που διέρχεται μέσα από το δείγμα

I₀ : η ένταση μονοχρωματικού φωτός (620nm) που διέρχεται μέσα από απεσταγμένο νερό με αντιδραστήρια (blank)

A : απορροφητικότητα δείγματος

W : μήκος δέσμης φωτός που διέρχεται διαμέσου της κυψελίδας που περιέχει το δείγμα (= 1cm για φασματοφωτόμετρο HACH DR2000)

a : σταθερά για δεδομένο διάλυμα και μήκος κύματος

Για τον προσδιορισμό της σταθεράς α, χρησιμοποιήθηκε σειρά από standards γνωστής συγκέντρωσης. Στις πειραματικές φάσεις 1 και 2 χρησιμοποιήθηκε η καμπύλη $y=2.252,9 \cdot x - 3,453$, όπου y η συγκέντρωση COD σε mg/L και x η μετρούμενη απορρόφηση. Στις πειραματικές φάσεις 3 και 4, χρησιμοποιήθηκαν νέα

αντιδραστήρια και επομένως προσδιορίστηκαν εκ νέου οι καμπύλες απορρόφησης ως εξής: $y=15276 \cdot x+78,403$ για συγκεντρώσεις COD από 1000-10000 mg/L και η $y=2277,3 \cdot x+3,4109$ για συγκεντρώσεις COD από 0-1500 mg/L, όπου y η συγκέντρωση COD σε mg/L και x η μετρούμενη απορρόφηση.

Ολικό COD

Για τη μέτρηση του ολικού COD προστίθενται 2,5 ml δείγματος στα φιαλίδια με τα παραπάνω αντιδραστήρια και βιδώνονται καλά. Ετοιμάζεται επίσης ένα δείγμα με απιονισμένο νερό και αντιδραστήρια (blank). Στη συνέχεια τα φιαλίδια, αφού αναμιχθούν τοποθετούνται στη συσκευή χώνευσης, όπου θερμαίνονται στους 150° C για 2 ώρες περίπου. Αφού κρυώσουν, μετράται η απορρόφηση του κάθε δείγματος χρησιμοποιώντας το φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός σε μήκος κύματος 620nm. Πριν τη μέτρηση γίνεται μηδενισμός του οργάνου με το δείγμα blank. Η μετατροπή της απορρόφησης σε συγκέντρωση COD γίνεται με βάση τις καμπύλες βαθμονόμησης που προαναφέρθηκαν.

Κολλοειδές COD

Για τη μέτρηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD το δείγμα αρχικά φυγοκεντρείται για 5 λεπτά. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο υγρό διηθείται σε συσκευή διήθησης με τη βοήθεια αντλίας κενού, μέσα από φίλτρο GF/C (με διάμετρο πόρων 1,2 mm) μέχρι να συλλεχθούν περίπου 10 ml δείγματος. Από αυτόν τον όγκο, εισάγονται 0,3 ml στα φιαλίδια με εύρος 1000-10000 mg/L για την μέτρηση του κολλοειδούς COD μεγάλου μοριακού βάρους. Στη συνέχεια, ο υπόλοιπος όγκος διηθείται μέσα από μεμβράνη (με διάμετρο πόρων 0,45 mm) και εισάγονται 2 ml στα φιαλίδια με εύρος 0-1500 mg/L για την μέτρηση του κολλοειδούς COD μικρού μοριακού βάρους.

Διαλυτό COD

Μετά τη διήθηση μέσα από μεμβράνη, το υπόλοιπο δείγμα εισάγεται σε συσκευή κλασματοποίησης χρησιμοποιώντας μεμβράνη με ονομαστικό σημείο αποκοπής το μοριακό βάρος των 100 kDa, μέχρι να συλλεχθούν περίπου 2 ml δείγματος και να εισαχθούν σε φιαλίδια με εύρος 0-1500 mg/L, για την μέτρηση του διαλυτού COD.

Η συσκευή κλασματοποίησης (Amicon, USA, model 8050 - εικόνα 4.6) αποσυναρμολογείται πλήρως και λειτουργεί με πεπιεσμένο αέριο άζωτο (N) πίεσεως έως 2,5 bar για τη συγκεκριμένη μεμβράνη. Το δείγμα τοποθετείται στο εσωτερικό της συσκευής και κλείνει με καπάκι, που διαθέτει βαλβίδα εκτόνωσης του αερίου. Η συσκευή πρέπει να πλένεται και να στεγνώνεται καλά, μετά το τέλος κάθε διήθησης

για την αποφυγή επιμολύνσεων των δειγμάτων. Ιδιαίτερη προσοχή κατά τη διαδικασία της κλασματοποίησης απαιτεί ο χειρισμός της μεμβράνης, η οποία είναι κατασκευασμένη από polyethersulphone. Πριν από κάθε χρήση της, τοποθετείται σε δοχείο με απιονισμένο νερό για 15 λεπτά περίπου. Εφαρμόζεται στο κάτω μέρος της συσκευής κλασματοποίησης και μετά τη χρήση της, τοποθετείται σε διάλυμα καθαρισμού για τουλάχιστον 30 λεπτά. Το διάλυμα καθαρισμού περιέχει 0,1N NaOH και 100 mg/lit NaOCl. Μετά το τέλος της διαδικασίας, ακολουθεί έκπλυση της μεμβράνης με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια, η μεμβράνη τοποθετείται σε διάλυμα αιθανόλης με αραιώση 1/10 και φυλάσσεται στο ψυγείο στους 4 °C.



Εικόνα 4.6: Συσκευή κλασματοποίησης

4.7.4.6. Μέτρηση αφρισμού

Για τη μελέτη των φαινομένων αφρισμού στους χωνευτές έγιναν δοκιμές αφρισμού της χωνεμένης ιλύος σε σχέση με την εισερχόμενη παχυμένη ιλύ. Δύο είναι τα κρίσιμα μεγέθη στις δοκιμές αφρισμού αφρισμού: το δυναμικό αφρισμού (Foaming Potential, FP, σε ml) και η σταθερότητα του αφρού (Foaming Stability, FS, σε sec).

Αρχικά τα δείγματα αραιώνονται κατάλληλα, ώστε η συγκέντρωση στερεών να είναι περίπου 15.000mg/lit ή 1,5%, σε τελικό όγκο 400ml και θερμαίνονται με παράλληλη ανάδευση στους 37° C. Στη συνέχεια μοιράζονται στους δύο ογκομετρικούς κυλίνδρους (από 200ml), οι οποίοι έχουν προηγουμένως ξεπλυθεί με αιθανόλη για να μην «κολλήσει» ο αφρός στα τοιχώματα.

Στον πρώτο ογκομετρικό κύλινδρο μετράται το δυναμικό αφρισμού σύμφωνα με τη δοκιμή αφρισμού για δείγματα με υψηλή συγκέντρωση στερεών, όπως αναπτύχθηκε από τους Hernandez *et al.* (1994) με την ελεγχόμενη πρόκληση αφρισμού σε ογκομετρικό σωλήνα 1L, διοχετεύοντας αέρα σε 200ml δείγματος με παροχή $1.600\text{cm}^3/\text{min}$ για 90sec. Το μέγιστο ύψος του αφρού θεωρείται ένδειξη της τάσης του δείγματος να αφρίζει, το οποίο και καταγράφεται και αντιστοιχεί στο δυναμικό αφρισμού.

Στο δεύτερο ογκομετρικό κύλινδρο μετράται η σταθερότητα του αφρού με την πρόκληση αφρισμού σε ογκομετρικούς σωλήνες του 1L με την προσθήκη δύο δισκίων Panadol extra αναβράζοντα σε 200ml δείγματος και καταγράφεται ο χρόνος που χρειάζεται για να καταρρεύσει ο αφρός, μέγεθος που αντιστοιχεί στη σταθερότητα του αφρού (εικόνα 4.7).

Η δοκιμή αυτή είναι παραλλαγή της δοκιμής Alka Seltzer που αναπτύχθηκε από τους Ho *et. al.*(1991), αλλά επειδή τα δισκία Alka Seltzer δε διατίθενται στην Ελλάδα, χρησιμοποιήθηκαν στη θέση τους τα Panadol Extra. Ωστόσο, καθώς και τα Alka Seltzer και τα Panadol Extra απελευθερώνουν CO_2 με την ίδια αντίδραση ($\text{NaHCO}_3 + \text{Citric acid} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{Sodium Citrate}$), οι δύο δοκιμές θεωρούνται ισοδύναμες.

Στις πειραματικές φάσεις που εξετάστηκαν, οι χρόνοι παραμονής 13 και 10 ημερών η δοκιμή με δισκία Panadol χρησιμοποιήθηκε και για τον προσδιορισμό του δυναμικού αφρισμού.



Εικόνα 4.7 Δοκιμή αφρισμού

4.7.4.7. Μέτρηση αφυδατωσιμότητας

Για τη μέτρηση της αφυδατωσιμότητας των δειγμάτων κωνεμένης ιλύος επιλέχθηκε η μέθοδος της ειδικής αντίστασης στη διήθηση ή Specific Resistance to Filtration (SRF) ή Buchner Funnel Test. Η μέθοδος αυτή προτείνεται από την USEPA, 1987 και από τους Christensen και Dick (1987). Το test περιλαμβάνει διήθηση 30ml δείγματος υπό κενό, μέσω φίλτρου Whatman Grade No. 41 με άνοιγμα πόρων 20 - 25μm. Κατά τη διήθηση καταγράφεται ο όγκος του διηθήματος σε σχέση με το χρόνο. Με τη διήθηση σχηματίζεται «πίτα» στερεών στο φίλτρο το οποίο κάποτε «σπάει» με επακόλουθη πτώση στην πίεση.

Η δοκιμή σταματάει τη στιγμή που η γραμμική σχέση όγκου - χρόνου γίνει παραβολική. Η μεταβολή του διηθημένου όγκου δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{P_t * A^2}{\mu * \bar{r} * w * V + \mu * R_m * A} \quad \text{Εξίσωση 4.82}$$

όπου:

V : ο όγκος του διηθήματος (m³)

t : χρόνος (sec)

P_T : η πίεση στο διηθητικό μέσο (N/m²)

A : επιφάνεια διήθησης (m²)

μ : το ιξώδες του διηθήματος (N·sec/m²)

r : η ειδική αντίσταση στη διήθηση της πίτας (m/kg)

R_m : η ειδική αντίσταση στη ροή του διηθητικού μέσου (1/m)

Ο όρος w αντιπροσωπεύει την ξηρή μάζα της πίτας ανά όγκο διηθήματος. Έχουν προταθεί διάφοροι τρόποι για τον υπολογισμό του όρου αυτού. Οι σημαντικότεροι είναι οι παρακάτω:

α) διαιρώντας τη μάζα της ξηραμένης πίτας με τον τελικό όγκο του διηθήματος

β) διαιρώντας το γινόμενο της συγκέντρωσης του διαλύματος που παραμένει πάνω από την πίτα που σχηματίζεται (slurry) επί τον όγκο του δείγματος διά τον τελικό όγκο του διηθήματος

γ) μετρώντας τη συγκέντρωση στερεών του διαλύματος που παραμένει πάνω από την πίτα και της πίτας και με βάση την σχέση:

$$w = \frac{C_c * C_s}{100(C_c - C_s)} \quad \text{Εξίσωση 4.9}$$

όπου:

C_c : η συγκέντρωση στερεών στην πίτα (cake) που σχηματίζεται πάνω από το φίλτρο (mg/L)

C_s : η συγκέντρωση στερεών στο διάλυμα που παραμένει πάνω από την πίτα (slurry) (mg/L)

Στη συγκεκριμένη περίπτωση επιλέχθηκε ο τρίτος τρόπος για τον υπολογισμό του όρου w . Επομένως, μετά το τέλος της διήθησης μετρούνται τα ολικά στερεά του διαλύματος που παραμένει πάνω από την πίτα, όπως περιγράφεται παραπάνω και τα ολικά στερεά της πίτας ξηραίνοντας το προζυγισμένο φίλτρο με το cake στους 103°C για 24 ώρες περίπου και ζυγίζοντας το εκ νέου.

Αντιστρέφοντας και ολοκληρώνοντας την εξίσωση (1) προκύπτει:

$$t = \frac{\mu * \bar{r} * w * V^2}{2 * P_t * A^2} + \frac{\mu * R_m * V}{P_t * A} + K \quad \text{Εξίσωση 4.10}$$

Επειδή για $t=0 \rightarrow V=0$, πρέπει και $K=0$, επομένως η (3) γίνεται:

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu * r * w * V}{2 * P_t * A^2} + \frac{\mu * R_m}{P_t * A} \quad \text{Εξίσωση 4.11}$$

Η εξίσωση είναι γραμμική και έχει τη μορφή: $\frac{t}{V} = b * V + \alpha$

Όπου, $b = \frac{2 * r * w * \mu}{A^2 * P_t}$ και $\alpha = \frac{\mu * R_m}{P_t * A}$

Τελικά, η ειδική αντίσταση στη ροή του διηθητικού μέσου είναι:

$$R_m = \frac{\alpha * P_t * A}{\mu}$$

Εξίσωση 4.12

και η ειδική αντίσταση στη διήθηση της πίτας είναι:

$$r = \frac{2 * b * A^2 * P_t}{\mu * W}$$

Εξίσωση 4.13

όπου:

r : η ειδική αντίσταση στη διήθηση, m/kg

P_T : η πίεση κενού, kPa

A : η επιφάνεια του φίλτρου, m²

μ : το ιξώδες του διηθήματος, $N \times sec/m^2$

b : η κλίση $\Delta t / \Delta V = f(V)$, sec/m⁶

w : όπως περιγράφηκε παραπάνω, %

Η αξιοπιστία και η εγκυρότητα της μέτρησης εξαρτάται από την ακρίβεια των παραμέτρων που την επηρεάζουν.

Ο όρος του ιξώδους αναφέρεται στο διήθημα και θεωρείται ίσο με το ιξώδες του νερού. Επειδή, το ιξώδες επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, καταγράφεται η θερμοκρασία του δείγματος πριν την έναρξη της δοκιμής. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι η διαφορά μεταξύ του ιξώδους του νερού και του ιξώδους του διηθήματος μπορεί να είναι μεγάλες ανάλογα με το είδος της λάσπης που μελετάται. Για ακριβή προσδιορισμό της ειδικής αντίστασης στη διήθηση πάντως, το ιξώδες του διηθήματος πρέπει να μετράται.

Σχετικά με την επιφάνεια της διήθησης, τις περισσότερες φορές θεωρείται ίση με την επιφάνεια του χρησιμοποιούμενου φίλτρου. Ωστόσο μπορεί να είναι και διαφορετική ανάλογα με τη συσκευή διήθησης που χρησιμοποιείται.

Θεωρητικά η ειδική αντίσταση στη διήθηση είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση στερεών της ιλύος. Ωστόσο, πειράματα έχουν δείξει ότι υπάρχει μια ελάχιστη συγκέντρωση στερεών κάτω από την οποία η ειδική αντίσταση στη διήθηση επηρεάζεται και μάλιστα αυξάνεται. Αυτό το όριο είναι διαφορετικό για κάθε λάσπη, γι' αυτό και κάθε φορά πρέπει να καθορίζεται.

Η ειδική αντίσταση στη διήθηση επηρεάζεται επίσης από το αρχικό στάδιο της διήθησης. Υπάρχει ένα χρονικό διάστημα στο οποίο η σχέση μεταξύ t/V και V δεν είναι παραβολική. Ο χρόνος αυτός σχετίζεται με το χρόνο που χρειάζεται για να σχηματιστεί η πίτα πάνω στο χρησιμοποιούμενο φίλτρο και εξαρτάται από το άνοιγμα των πόρων του επιλεγμένου φίλτρου, τη συγκέντρωση στερεών της μελετούμενης ιλύος και από το αν η ιλύς αφυδατώνεται εύκολα ή όχι. Υπάρχουν και άλλες παράμετροι που επηρεάζουν τη μέτρηση, όπως η χρονική στιγμή που εφαρμόζεται η πίεση, η εκκίνηση του χρόνου της δοκιμής και η ανάγνωση του διηθούμενου όγκου. Επομένως, πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην ακριβή ανάγνωση του διηθημένου όγκου και το συγχρονισμό των τιμών του χρόνου και του όγκου που καταγράφεται, διαφορετικά αλλοιώνεται η μετρούμενη τιμή της ειδικής αντίστασης στη διήθηση. Η επιρροή από τις παραπάνω παραμέτρους είναι μεγαλύτερη στο αρχικό στάδιο μέχρι το σχηματισμό της πίτας. Ένας τρόπος αντιμετώπισης του παραπάνω προβλήματος είναι η καταγραφή της μεταβολής dt/dV σε σχέση με τον όγκο (V). Στην περίπτωση αυτή η ειδική αντίσταση στη διήθηση δεν επηρεάζεται από το αρχικό στάδιο της διήθησης και δε χρειάζεται να γίνει διόρθωση του όγκου.

Για τον προσδιορισμό της παραμέτρου w , έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Σε όλες όμως τις προτεινόμενες μεθόδους εμπεριέχεται το ίδιο σφάλμα, δηλαδή ο καθορισμός του χρόνου που η πίτα «σπάει» και σταματάει η διαδικασία. Σύμφωνα με τον Zingler η στιγμή αυτή σχετίζεται με το τέλος της παραβολικής σχέσης μεταξύ t/V και V . Επομένως αν ο τελικός όγκος του διηθήματος είναι διαφορετικός από τον όγκο που σταματάει η παραβολική σχέση, οι μετρήσεις πρέπει να γίνονται σύμφωνα με τον τελευταίο. Η διαφορά μεταξύ των δύο αυτών όγκων μπορεί να είναι μεγάλη ή όχι ανάλογα με το είδος της ιλύος που μελετάται.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση, που επιλέχθηκε η απευθείας μέτρηση της συγκέντρωσης στερεών της πίτας και του υπερκείμενου της διαλύματος και η χρήση της σχέσης (4.9) παραπάνω, σφάλματα επίσης προκύπτουν κατά το διαχωρισμό του διαλύματος αυτού από την πίτα για τη μέτρηση των στερεών και κατά τη μεταφορά και των δύο από τη συσκευή διήθησης στα κατάλληλα μέσα για τη μέτρηση των στερεών.

Απ' όλα τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η μέτρηση της ειδικής αντίστασης στη διήθηση είναι πολυπαραμετρική και απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στον προσδιορισμό όλων των κρίσιμων παραμέτρων. Εν προκειμένω, οι μετρούμενες τιμές μελετούνται συγκριτικά και σε κάθε περίπτωση διατηρήθηκαν οι ίδιες

συνθήκες. Για το λόγο αυτό είναι δύσκολη η σύγκριση των αποτελεσμάτων με άλλες μελέτες.

4.7.4.8. Μέτρηση αλκαλικότητας και πτητικών λιπαρών οξέων

Η μέτρηση της αλκαλικότητας έγινε σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1992)

Η αλκαλικότητα της ιλύος εκφράζει το μέτρο της ικανότητάς της να εξουδετερώνει τα οξέα, είναι δηλαδή το μέτρο της ρυθμιστικής της ικανότητας. Πολλές ενώσεις, όπως είναι τα φωσφορικά, πυριτικά και η αμμωνία μπορούν να συνεισφέρουν στην αλκαλικότητα. Οι κύριες, όμως, συνιστώσες της είναι τα διττανθρακικά, ανθρακικά και τα υδροξύλια. Το μέτρο της αλκαλικότητας μπορεί να δοθεί από την μαθηματική έκφραση:

$$Alk = (HCO_3^-) + 2(CO_3^{2-}) + (OH^-) - (H^+), \text{ gr-eq/lit}$$

Συνήθως, όμως, η αλκαλικότητα εκφράζεται με την συγκέντρωση του ανθρακικού ασβεστίου. Γενικά, τα συμπεράσματα που μπορούν να προκύψουν από την ποσότητα της ολικής αλκαλικότητας είναι:

- Αξιόλογες συγκεντρώσεις υδροξυλικής (καυστικής) αλκαλικότητας εμφανίζονται για pH>10.
- Για εύρος pH από 8,3 ως 11,0 συνυπάρχουν αξιόλογες συγκεντρώσεις HCO_3^- και CO_3^{2-} .
- Για διάστημα pH=4,5-8,3, η αλκαλικότητα εμφανίζεται με την μορφή των διττανθρακικών.

Στους χωνευτές η αλκαλικότητα αναμένεται να είναι με την μορφή των διττανθρακικών, αφού το pH κυμαίνεται στο συγκεκριμένο εύρος τιμών.

Η μέτρηση της αλκαλικότητας γίνεται ως εξής: Αρχικά, εισάγονται 50 ml δείγματος στο ποτήρι ζέσεως, το οποίο τιτλοδοτείται με θειικό οξύ 6N, μετρώντας παράλληλα το pH και αναδεύοντάς το. Η τιτλοδότηση σταματά όταν το pH φτάσει τα 4,5. Η αλκαλικότητα υπολογίζεται με βάση την εξής εξίσωση:

$$alk \left(\frac{CaCO_3 mg}{lt} \right) = \frac{(ml H_2SO_4) * (6N H_2SO_4) * (eq. wt. CaCO_3) * (1000mg)}{50 ml δείγματος} \quad \text{Εξίσωση 4.14}$$

Όπου, ml H_2SO_4 : όγκος διαλύματος θειικού οξέος που χρησιμοποιήθηκε κατά την τιτλοδότηση

N H_2SO_4 : ισοδύναμο θειικό οξύ ανά λίτρο διαλύματος τιτλοδότησης

Eq. wt. $CaCO_3$: 50

Η μέτρηση των πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) έγινε με τη μέθοδο της απόσταξης σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1992).

Η τεχνική αυτή ανακτά οξέα που περιέχουν μέχρι και 6 άτομα άνθρακα. Η κλασματική ανάκτηση κάθε οξέος αυξάνεται με την αύξηση του μοριακού βάρους. Η προτεινόμενη μέθοδος εφαρμόζεται συνήθως για λόγους ελέγχου και επειδή είναι εμπειρική πρέπει να εφαρμόζεται ακριβώς όπως προτείνεται.

Επειδή ο σταθερός ρυθμός θέρμανσης, η παρουσία στερεών ιλύος και ο όγκος του αποστάγματος επηρεάζουν την ανάκτηση, πρέπει να υπολογιστεί ο παράγοντας ανάκτησης. Ο παράγοντας αυτός καθορίζεται για τη συγκεκριμένη συσκευή που χρησιμοποιείται. Αρχικά αραιώνεται κατάλληλος όγκος οξικού οξέος σε ογκομετρικό κύλινδρο των 250ml από το standard διάλυμα του οξικού οξέος, έτσι ώστε να προσεγγίζεται η συγκέντρωση των δειγμάτων που πρόκειται να μετρηθούν και στη συνέχεια γίνεται η απόσταξη, όπως περιγράφεται παρακάτω. Ο παράγοντας ανάκτησης υπολογίζεται ως εξής: $f = a/b$

όπου:

a: η συγκέντρωση πτητικών οξέων που ανακτήθηκαν στο απόσταγμα, mg/lt

b: η συγκέντρωση πτητικών οξέων του standard διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε, mg/lt

Αρχικά φυγοκεντρώνονται 200ml δείγματος για 5min και ομογενοποιείται το υπερκείμενο υγρό. Τοποθετούνται 100ml από το υπερκείμενο στη φιάλη απόσταξης των 500ml και προστίθενται 100ml απιονισμένου νερού και 5ml H_2SO_4 και αναμιγνύονται για να μην παραμείνει το οξύ στον πυθμένα της φιάλης. Στη συνέχεια

συνδέεται η φιάλη με τον συμπυκνωτή ώστε να μην υπάρχουν διαρροές και ξεκινάει η απόσταξη με ρυθμό περίπου 5ml/min. Τα πρώτα 15ml του αποστάγματος απορρίπτονται, διότι κατά την απόσταξη απελευθερώνεται H₂S και CO₂, τα οποία αν τιτλοδοτηθούν θα δώσουν ένα θετικό σφάλμα. Η απόσταξη σταματάει όταν συγκεντρωθούν ακριβώς 150ml αποστάγματος σε ογκομετρικό κύλινδρο των 250ml.



Εικόνα 4.8: Συσκευή απόσταξης για τη μέτρηση των VFAs

Τελικά γίνεται τιτλοδότηση στο απόσταγμα χρησιμοποιώντας δείκτη Phenolphthalein, με NaOH 0,1N, η οποία τελειώνει με τον πρώτο χρωματισμό του δείγματος (ροζ). Η συγκέντρωση των πτητικών οξέων ως οξικό οξύ υπολογίζεται από τη σχέση:

$$VFAs \text{ (ως οξικό οξύ)} = \frac{mlNaOH * N * 60000}{ml \text{ δείγματος} * f} \quad \text{Εξίσωση 4.15}$$

όπου:

N: η κανονικότητα του NaOH

f: ο παράγοντας ανάκτησης όπως υπολογίστηκε.

4.7.5. Πιλοτικά πειράματα διαλείποντος έργου

Προκειμένου να προσδιοριστεί η κινητική μείωσης της συγκέντρωσης των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* σε μεσοφιλικές και θερμοφιλικές αναερόβιες συνθήκες διεξήχθησαν δύο κύκλοι πειραμάτων διαλείποντος έργου. Ο

πρώτος κύκλος πειραμάτων διαλείποντος έργου έλαβε χώρα τη χρονική περίοδο του Ιουλίου - Αυγούστου 07 ενώ ο δεύτερος κατά τη διάρκεια του Ιουλίου - Αυγούστου 08.

Τα πειράματα διεξήχθησαν στο μονοβάθμιο μεσόφιλο και το μονοβάθμιο θερμόφιλο χωνευτή, στους οποίους προστέθηκε μίγμα αφρού από την εγκατάσταση της Ψυττάλειας και του Βόλου σε ποσοστό 30% κ.Β. Η προσθήκη του μίγματος αφρού είχε στόχο την αύξηση της συγκέντρωσης των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella*, ώστε να μπορεί στην συνέχεια να παρακολουθηθεί η μείωση της συγκέντρωσής του. Πιο συγκεκριμένα, η μικροσκοπική παρατήρηση του αφρού από την εγκατάσταση της Ψυττάλειας έδειξε την επικράτηση του *G. amarae* (και τα δύο πειράματα έγιναν κατά τους καλοκαιρινούς μήνες). Από την άλλη στον αφρό του Βόλου παρατηρήθηκε μικροσκοπικά η επικράτηση του *M. parvicella*.

Κατά τη διάρκεια των πειραματικών κύκλων μετρούνταν το παραγόμενο βιοαέριο και η συγκέντρωση πτητικών στερεών και η συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων με την τεχνική FISH σε καθημερινή βάση. Από τα αποτελέσματα του πρώτου κύκλου προέκυψε το συμπέρασμα ότι η ημερήσια λήψη δειγμάτων για τον προσδιορισμό της κινητικής μείωσης των βακτηρίων στις θερμόφιλες συνθήκες δεν ήταν επαρκής. Επομένως, επαναλήφθηκε ο κύκλος με λήψη πολλαπλών δειγμάτων ημερησίως στην αρχή του πειράματος και στη συνέχεια ενός δείγματος ημερησίως για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νηματοειδών με FISH.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ FISH

5.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ακρίβεια των μεθόδων ταυτοποίησης και καταμέτρησης των νηματοειδών μικροοργανισμών έχει αποδειχτεί πολλές φορές περιοριστικός παράγοντας όσον αφορά στη διερεύνηση των φαινομένων αφρισμού που προκαλούνται από νηματοειδή βακτήρια. Ένα σωστά σχεδιασμένο πρόγραμμα δειγματοληψίας και παρακολούθησης της ανάπτυξης των νηματοειδών βακτηρίων πρέπει να επιτυγχάνει:

- τη σωστή δειγματοληψία και την κατάλληλη προεπεξεργασία του δείγματος για να είναι ομογενοποιημένο και οι υπό εξέταση μικροοργανισμοί να μπορούν με ευκολία να καταμετρηθούν,
- την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου για την ταυτοποίηση και καταμέτρηση συγκεκριμένων μικροοργανισμών και τέλος
- την ανάπτυξη της κατάλληλης μεθόδου καταμέτρησης και ποσοτικού προσδιορισμού που θα οδηγήσει σε αποτελέσματα
 - πρώτον αντιπροσωπευτικά του πληθυσμού των νηματοειδών βακτηρίων
 - και δεύτερον με καλή αναπαραγωγιμότητα και επαναληψιμότητα.

Κατά τη διάρκεια των εργαστηριακής κλίμακας πειραμάτων, ο τρόπος δειγματοληψίας που επιλέχθηκε θεωρείται αντιπροσωπευτικός για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας των νηματοειδών στην αναερόβια κώνευση γιατί οι μετρήσεις έγιναν σε εργαστηριακό περιβάλλον σε συστήματα πλήρους μίξης, τα οποία βρίσκονταν σε σταθερές συνθήκες λειτουργίας. Όσον αφορά στα αποτελέσματα από τις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας, η δειγματοληψία αποτέλεσε περιοριστικό παράγοντα γιατί τα δείγματα ήταν στιγμιαία και όχι σύνθετα. Ωστόσο, το μεγάλο πλήθος των δειγμάτων περιορίσε το σφάλμα ως προς τη διερεύνηση της επιστροφής των νηματοειδών μέσω των στραγγισμάτων στο σύστημα της ενεργού ιλύος.

Σχετικά με την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου ταυτοποίησης των νηματοειδών στην παρούσα ερευνητική εργασία επιλέχθηκε η μοριακή μέθοδος FISH, για την ταυτοποίηση των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae*. οι μοριακοί ικνηλάτες που επιλέχθηκαν έχουν ευρέως χρησιμοποιηθεί σε παρόμοιες ερευνητικές εργασίες και η καταλληλότητά τους επιβεβαιώθηκε όπως περιγράφεται στις επόμενες παραγράφους. Μετά από πλήθος δοκιμών επιλέχθηκαν τελικά, οι ικνηλάτες MPA645 για την ταυτοποίηση του *M. parvicella* και ο G.am205 για την ταυτοποίηση του *G. amarae*.

Σημαντικές δυσκολίες αντιμετωπίστηκαν κατά την επιλογή της φθοροφόρου ουσίας του ικνηλάτη, καθώς στην αρχή είχε επιλεγεί η πρωτοποριακή (ως προς την ποιότητα του σήματος φθορισμού) φθοροφόρος ουσία Alexa488, η οποία ωστόσο δε διαπερνούσε την κυτταρική μεμβράνη των νηματοειδών (εικόνες 5.5, 5.6). Στη συνέχεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε η φθοροφόρος ουσία Cy3 (εικόνες 5.7, 5.8).

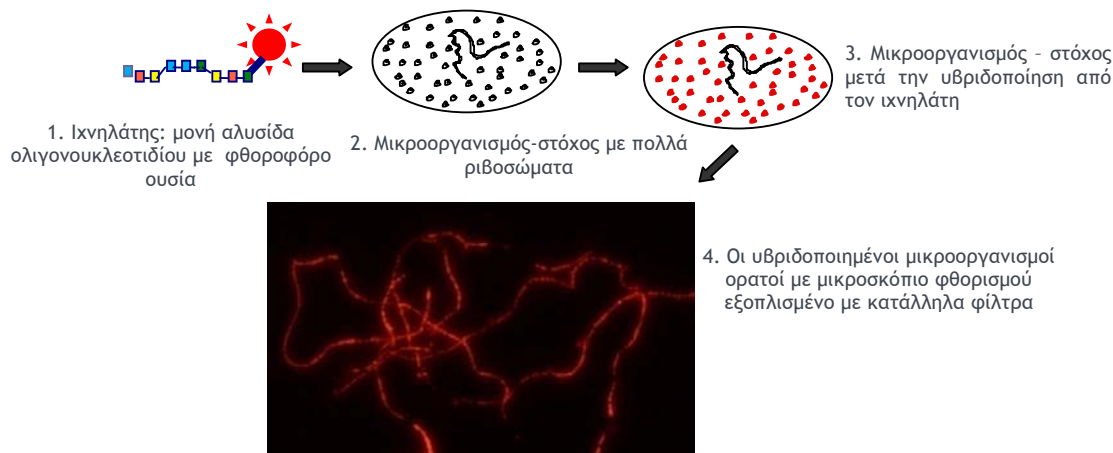
Επίσης, κατά την εφαρμογή της μεθόδου FISH αντιμετωπίστηκαν δυσκολίες στα δείγματα ιλύος σχετικά με α) την ομογενοποίηση των δειγμάτων και τη διάσπαση των βιοκροκίδων, β) τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης από τους ικνηλάτες FISH και γ) την αυξημένη ένταση του σήματος φθορισμού του υποβάθρου. Αίτια των παραπάνω δυσκολιών ήταν καταρχήν το γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί ήταν σε συνθήκες περιβαλλοντικής πίεσης καθώς και ότι λόγω των χαμηλών συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων δεν ήταν δυνατές πολύ μεγάλες αραιώσεις των δειγμάτων με αποτέλεσμα τη σχετικά υψηλή συγκέντρωση στερεών που προκαλούσε προβλήματα ομογενοποίησης και υψηλού φθορισμού υποβάθρου. Για την αντιμετώπιση των δυσκολιών αυτών έγιναν διορθωτικές ενέργειες του πρωτόκολλου FISH που περιγράφονται αναλυτικά στη συνέχεια.

5.2. ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ FISH ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ *M.* *PARVICELLA* ΚΑΙ *G. AMARAE*

Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 2 και απεικονίζεται σχηματικά στην εικόνα 5.1, η αρχή της μεθόδου FISH μπορεί να συνοψιστεί ως εξής:

Οι ικνηλάτες που αποτελούνται από μονές αλυσίδες ολιγονουκλεοτιδίων γνωστής ακολουθίας εισέρχονται στα κύτταρα και υβριδοποιούν τις συμπληρωματικές τους ακολουθίες ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA) στα ριβοσώματα. Αν δεν βρεθεί συμπληρωματική ακολουθία RNA, τότε δεν πραγματοποιείται υβριδοποίηση και άρα οι προστιθέμενοι ικνηλάτες απομακρύνονται σε ακόλουθο στάδιο καθαρισμού. Έτσι, μόνο τα κύτταρα που στοχεύονται από τα μοριακά εργαλεία κρατούν τις ακολουθίες των ολιγονουκλεοτιδίων και καθώς αυτές είναι χαρακτηρισμένες με φθοροφόρες ουσίες, τα κύτταρα που έχουν υβριδοποιηθεί μπορούν να παρατηρηθούν με

μικροσκόπιο φθορισμού λόγω της φυσικής ενίσχυσης του φθορίζοντος σήματος από το μεγάλο αριθμό των ριβοσωμάτων σε κάθε κύτταρο.



Εικόνα 5.1: Διάγραμμα ροής της μεθόδου FISH: 1. Ιχνηλάτης αποτελούμενος από μονή αλυσίδα ολιγονουκλεοτιδίου σημασμένος με φθοροφόρο ουσία. 2. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός, στον οποίο φαίνεται ο μεγάλος αριθμός ριβοσωμάτων. 3. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός μετά την υβριδοποίηση. 4. Οι υβριδοποιημένοι μικροοργανισμοί ορατοί με μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με κατάλληλα φίλτρα.

Έτσι πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή της μεθόδου FISH γίνεται σε 5 διακριτά στάδια:

A. Προετοιμασία και σταθεροποίηση του γενετικού υλικού των δειγμάτων

B. Μεταφορά των δειγμάτων στα μικροσκοπικά πλακίδια

Γ. Υβριδοποίηση των δειγμάτων

Δ. Σταθεροποίηση του φθορισμού των δειγμάτων

E. Παρατήρηση των δειγμάτων κάτω από μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με κατάλληλα φίλτρα

Οι σημαντικότερες διαφορές μεταξύ των πρωτοκόλλων σχετικά με τους υπό εξέταση μικροοργανισμούς σημειώνονται στο πρώτο και στο τρίτο στάδιο. Όσον αφορά στην προετοιμασία των δειγμάτων, αυτή είναι ιδιαίτερως σημαντική για την παρατήρησή τους αλλά κυρίως για την καταμέτρησή τους. Όπως και στην παραδοσιακή μέθοδο Pitt και Jenkins είναι απαραίτητη η διάσπαση των βιοκροκίδων ώστε να μπορούν να καταμετρηθούν με συστηματικό τρόπο οι νηματοειδείς. Στη συνέχεια, είναι σημαντικό βήμα η επιλογή του κατάλληλου ιχνηλάτη και της φθοροφόρου ουσίας που με τη σειρά της καθορίζει και τα φίλτρα με τα οποία πρέπει να είναι εξοπλισμένο το μικροσκόπιο ώστε να είναι ορατοί οι μικροοργανισμοί. Κατά τη διαδικασία υβριδοποίησης η σημαντικότερη διαφορά

έγκειται στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την αύξηση της διαπερατότητας της παχιάς κυτταρικής μεμβράνης των προκαρυωτικών *M. parvicella* και *G. amarae* με τη βοήθεια υπερήχων, ενζύμου ή χημικών ώστε να μπορεί να διεισδύσει ο μοριακός ιχνηλάτης αλλά ταυτόχρονα να μην οδηγηθεί ο μικροοργανισμός σε λύση (Macnaughton *et al.*, 1994, Schuppler *et al.*, 1998, Carr *et al.*, 2005).

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου FISH στην περίπτωση της παρούσας εργασίας και ειδικότερα στην περίπτωση των δειγμάτων της γραμμής επεξεργασίας ιλύος, αντιμετωπίστηκαν δυσκολίες σχετικά με α) την ομογενοποίηση των δειγμάτων και τη διάσπαση των βιοκροκίδων, β) τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης από τους ιχνηλάτες FISH και γ) την αυξημένη ένταση του σήματος φθορισμού του υποβάθρου. Αίτια των παραπάνω δυσκολιών ήταν καταρχήν το γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί ήταν σε συνθήκες stress καθώς και ότι λόγω των χαμηλών συγκεντρώσεων των νηματοειδών δεν ήταν δυνατές πολύ μεγάλες αραιώσεις των δειγμάτων με αποτέλεσμα τη σχετικά υψηλή συγκέντρωση στερεών που προκαλούσε τα προβλήματα τόσο της ομογενοποίησης όσο και του υψηλού φθορισμού υποβάθρου. Για την αντιμετώπιση των δυσκολιών έγιναν οι παρακάτω διορθωτικές ενέργειες του πρωτόκολου FISH. Καθόλη τη διάρκεια της βελτιστοποίησης του πρωτοκόλου FISH καθοριστική ήταν η συμβολή της Δρ. Simona Rossetti, ερευνήτριας στο Ερευνητικό Ινστιτούτο Υδάτων του Ιταλικού Εθνικού Ερευνητικού Κέντρου (Italian National Research Center - Water Research Institute (CNR-IRSA)).

Διάσπαση των βιοκροκίδων: Προκειμένου να διασπαστούν οι βιοκροκίδες και να είναι ευκολότερη η παρατήρηση των νηματοειδών μικροοργανισμών πριν τη σταθεροποίηση των δειγμάτων, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των παρακάτω προεργασιών των δειγμάτων:

α) καμία επεξεργασία,

β) τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν σε αναμίκτη (blender) για 2 λεπτά στη χαμηλή ταχύτητα (Jenkins *et al.*, 1993) και

γ) τα δείγματα υπέστησαν επεξεργασία σε λουτρό υπερήχων για 10 έως 30 λεπτά πριν τη μονιμοποίησή τους (Jorand *et al.*, 1995)

Οι δύο τελευταίες μέθοδοι κρίθηκαν αποτελεσματικές για τη διάσπαση των βιοκροκίδων και την καλύτερη ομογενοποίηση των δειγμάτων που συντέλεσε στην ευκολότερη παρατήρηση των νηματοειδών. Από τη μικροσκοπική παρατήρηση των

δειγμάτων ωστόσο επιλέχθηκε η επεξεργασία του δείγματος με μηχανική ανάμιξη (blending) γιατί η επεξεργασία σε λουτρό υπέρηχων οδήγησε σε μειωμένο φθορισμό των κυττάρων συγκριτικά με την εναλλακτική μέθοδο της έντονης ανάδευσης. Η εφαρμογή των υπέρηχων για τα χρονικά διαστήματα που προαναφέρθηκαν και τα οποία κρίθηκαν μέσω μικροσκοπικής παρατήρησης απαραίτητα για την αποτελεσματική διάσπαση των βιοκροκίδων, οδηγούσε σε μερική καταστροφή των νηματοειδών και άρα μείωση του σήματος φθορισμού.

Αύξηση της διαπερότητας της κυτταρικής μεμβράνης: Οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί είναι προκαρυωτικά Gram θετικά βακτήρια, των οποίων το κυτταρικό τοίχωμα αποτελείται από παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης που δυσχεραίνει την προσπέλαση των ιχνηλατών FISH στο εσωτερικό του κυττάρου. Για την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης δοκιμάστηκαν:

α) η επεξεργασία του δείγματος με ένζυμο mutanolysin, το οποίο υδρολύει το γλυκοσιδικό δεσμό στο στρώμα της πεπτιδογλυκάνης αποδυναμώνοντας έτσι τη συνοχή της μεμβράνης (Schuppler *et al.*, 1998, Carr *et al.*, 2005) και

β) η επεξεργασία του δείγματος με συνδυασμένη εφαρμογή του παραπάνω ενζύμου και ήπιας επεξεργασίας με υδροχλωρικό οξύ (Macnaughton *et al.*, 1994, Carr *et al.*, 2005).

Στη συνέχεια, τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκε η μέθοδος FISH, παρατηρήθηκαν μικροσκοπικά ως είχαν καθώς και μετά την επεξεργασία τους α) με ένζυμο και β) με συνδυασμό ενζύμου και υδροχλωρικού οξέος. Η δοκιμή έγινε σε δύο κατηγορίες δειγμάτων και από τη μικροσκοπική παρατήρηση εξήχθησαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

α) Για τα δείγματα που προέρχονταν από τις αερόβιες διεργασίες, π.χ. ανάμικτο υγρό, τα αποτελέσματα ήταν παραπλήσια.

β) Για τα δείγματα των αναερόβιων διεργασιών, π.χ. κωνεμένη ιλύς, προέκυψε ότι ενώ μεν η εφαρμογή του ενζύμου είναι απαραίτητη για την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης των νηματοειδών, η επιπλέον επεξεργασία με το υδροχλωρικό οξύ οδηγεί σε πολλές περιπτώσεις σε υδρόλυση της μεμβράνης. Χάριν ομοιογένειας της εφαρμογής του πρωτόκολλου της μεθόδου FISH επιλέχθηκε μόνο η εφαρμογή του ενζύμου mutanolysin για την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης.

Υβριδοποίηση. Στο στάδιο της υβριδοποίησης, η πιο κρίσιμη παράμετρος είναι η επιλογή του κατάλληλου ικνηλάτη.

Όσον αφορά στο νηματοιδή *M. parvicella* οι Erhart *et al.* (1997) ανέπτυξαν φθορίζοντες ικνηλάτες για την ταυτοποίηση του μικροοργανισμού με τη μέθοδο FISH. Στον παρακάτω πίνακα 5.1 φαίνονται οι 4 ικνηλάτες (MPA60, MPA223, MPA645, MPA650) που ανέπτυξαν οι συγγραφείς, εκ των οποίων οι 3 πρώτοι παρουσίασαν υψηλό βαθμό εξειδίκευσης για βακτήρια, τα οποία μορφολογικά αναγνωρίστηκαν ως *M. parvicella* ενώ ο τέταρτος χρειάστηκε και δύο ανταγωνιστικούς ικνηλάτες ώστε να μπορέσει να υβριδοποιήσει το βακτήριο με υψηλό βαθμό εξειδίκευσης. Σε κάθε περίπτωση όμως δεν έχει αναπτυχθεί μέχρι σήμερα ένας ικνηλάτης που να επιτρέπει την ταυτόχρονη ταυτοποίηση όλων των γνωστών στελεχών του *M. parvicella*. Στη συνέχεια οι συγγραφείς βελτιστοποίησαν το πειραματικό πρωτόκολλο FISH για τους συγκεκριμένους ικνηλάτες κυρίως ως προς την θερμοκρασία υβριδοποίησης (46°C) και έκπλυσης (48°C) και της συγκέντρωσης του φορμαμιδίου (20%). Αυτές οι παράμετροι υιοθετήθηκαν και στην εργασία αυτή.

Πίνακας 5.1: Οι ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες των ικνηλατών που αναπτύχθηκαν από τους Erhart *et al.* (1997)

Probe	Sequence (5'→3')	Target site (16S rRNA position) ^a
MPA60	GGATGGCCGCGTTCGACT	60–77
MPA223	GCCGCGAGACCCTCCTAG	223–240
MPA645	CCGGACTCTAGTCAGAGC	645–661
MPA650	CCCTACCGGACTCTAGTC	650–666
CompMPA650.1	CCCTACCGGACTCTAGTC#	650–666
CompMPA650.2	CCCTACCGGACTCTAGCC#	650–666

Στον παρακάτω πίνακα 5.2 παρουσιάζονται τα διάφορα στελέχη του βακτηρίου *M. parvicella* που έχουν αναγνωριστεί και οι μοριακοί ικνηλάτες FISH που τα υβριδοποιούν. Στην παρούσα εργασία επιλέχθηκε ο ικνηλάτης MPA645 για τους λόγους που αναφέρονται ακολούθως.

Πίνακας 5.2: Πίνακας επιλογής κατάλληλου ικνηλάτη για την ταυτοποίηση των βακτηρίων *M. parvicella* με τη μέθοδο FISH

Στέλεχος/Ικνηλάτης	MPA60	MPA223	MPA645	MPA650
<i>M. parvicella</i> X89561	√	√		
<i>M. parvicella</i> X89774	√		√	√
<i>M. parvicella</i> X82546	√	√	√	√
<i>M. parvicella</i> X89560		√	√	√
<i>M. parvicella</i> X93044		√	√	√
<i>Elin</i> 6088		√		√
Acidimicrobia				√
Actinomycetales				√
Cellulomonadacea				√
Microbacteriaceae				√
Unclassified				√

Πρέπει καταρχήν να σημειωθεί ότι το στέλεχος *M. parvicella* X93044 έχει απομονωθεί στην Ιταλία με αναμενόμενη την ύπαρξη του και στα δείγματα των ελληνικών ΕΕΛ και άρα αναγκαία συνθήκη για την επιλογή του ικνηλάτη ήταν η ικανότητα υβριδοποίησης αυτού του στελέχους. Έτσι απορρίφθηκε εξ αρχής ο ικνηλάτης MPA60. Επίσης, απορρίφθηκε ο ικνηλάτης MPA650 γιατί όπως φαίνεται από τον πίνακα και όπως αναφέρθηκε παραπάνω, προαπαιτεί τη χρήση ανταγωνιστικών ικνηλατών για να μπορεί να υβριδοποιήσει τον *Microthrix* με υψηλό βαθμό εξειδίκευσης. Οι ικνηλάτες MPA223 και MPA645 χρησιμοποιήθηκαν με παρόμοια αποτελέσματα σημασμένοι με τη φθοροφόρο ουσία Cy3. Πρέπει να σημειωθεί ότι αντιμετωπίστηκαν δυσκολίες ως προς τη φθοροφόρο ουσία του ικνηλάτη, καθώς στην αρχή είχε επιλεγεί η πρωτοποριακή (ως προς την ποιότητα του σήματος φθορισμού) φθοροφόρος ουσία Alexa488, η οποία ωστόσο δε διαπερνούσε την κυτταρική μεμβράνη των νηματοειδών (εικόνες 5.2 - 5.6). Στη συνέχεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ο ικνηλάτης MPA645 σημασμένος με τη φθοροφόρο ουσία Cy3 (εικόνες 5.7, 5.8).

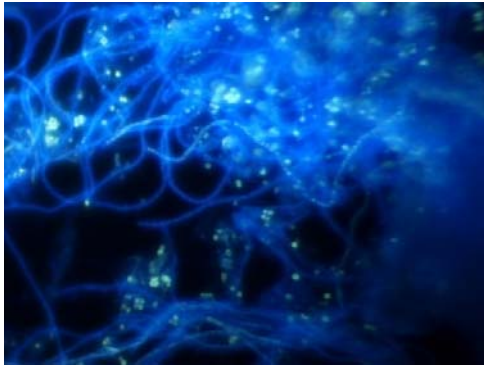
Όσον αφορά στην ταυτοποίηση του *G. amarae* επιλέχθηκε ο ικνηλάτης G.am205 που αναπτύχθηκε από τους De Los Reyes *et al.* το 1998 και έκτοτε χρησιμοποιείται ευρύτατα. Στην ίδια εργασία οι ερευνητές βελτιστοποίησαν το πειραματικό πρωτόκολλο FISH για τον ικνηλάτη κυρίως ως προς την θερμοκρασία υβριδοποίησης (46°C) και έκπλυσης (48°C) και της συγκέντρωσης του φορμαμιδίου (30%). Αυτές οι παράμετροι υιοθετήθηκαν και στην εργασία αυτή.

Στον παρακάτω πίνακα 5.3 φαίνονται αναλυτικά οι ικνηλάτες που έχουν αναπτυχθεί από τους συγγραφείς και οι μικροοργανισμοί τους οποίους στοχεύουν:

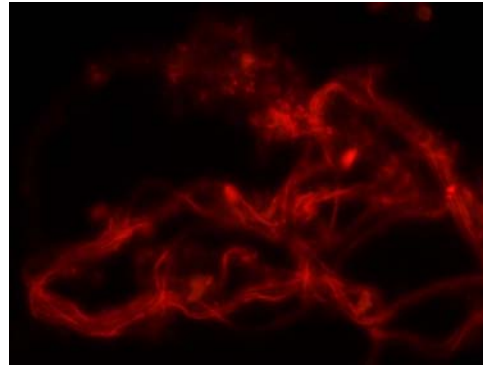
Πίνακας 5.3: Πίνακας επιλογής κατάλληλου ικνηλάτη για την ταυτοποίηση των βακτηρίων *G. amarae* με τη μέθοδο FISH

Ικνηλάτης	Μικροοργανισμός στόχος (Βιβιογραφική αναφορά)
S-G-Gor-0596-a-A-22	Γένος <i>Gordona</i> (De Los Reyes <i>et al.</i> , 1997)
S-S-G.am-0205-a-A-19	<i>G. amarae</i> (De Los Reyes <i>et al.</i> , 1998)
S-*-G.am1-0439-a-A-19	<i>G. amarae</i> στελέχη ομάδας 1 (De Los Reyes <i>et al.</i> , 1998)
S-*-G.am2-0439-a-A-19	<i>G. amarae</i> στελέχη ομάδας 2 (De Los Reyes <i>et al.</i> , 1998)

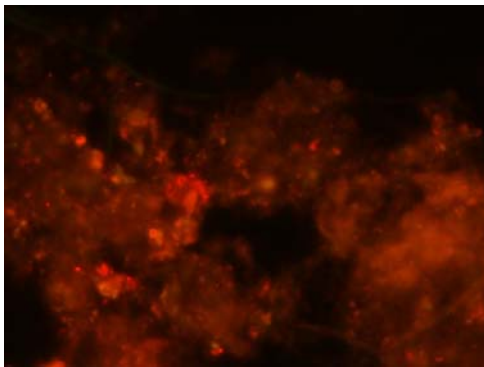
Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι ο χρόνος υβριδοποίησης της μεθόδου αυξήθηκε στις 4 με 6 ώρες από 2 που χρησιμοποιούνται στα περισσότερα πρωτόκολλα, γεγονός που ενίσχυσε το σήμα φθορισμού και μείωσε σημαντικά το πρόβλημα του φθορισμού υποβάθρου. Η αποτελεσματικότητα των διορθωτικών ενεργειών του πρωτόκολλου FISH κρίθηκε με ποιοτική παρατήρηση των δειγμάτων (εικόνες 5.7 - 5.10).



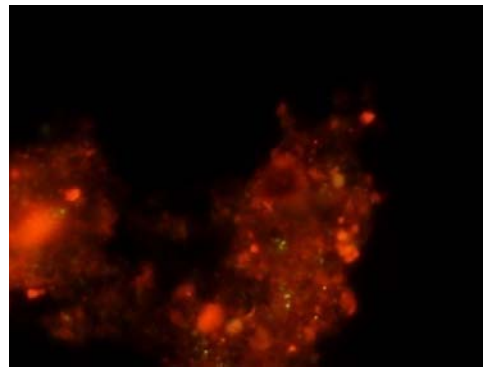
Εικόνα 5.2: Το δείγμα υπό το φίλτρο φθορισμού DAPI. Το δείγμα έχει επεξεργαστεί με DAPI, το οποίο χρησιμοποιείται για τη σήμανση όλων των μικροοργανισμών. Διακρίνονται νηματοειδείς με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του *M. parvicella*.



Εικόνα 5.3: Το ίδιο δείγμα υπό το φίλτρο FITC/Texas Red ενώ έχει υβριδοποιηθεί με τον οικουμενικό ιχνηλάτη Eub338 σημασμένο με Texas Red, ο οποίος υβριδοποιεί όλα τα προκαρυωτικά βακτήρια που είναι βιώσιμα. Διακρίνονται νηματοειδείς με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του *M. parvicella*.



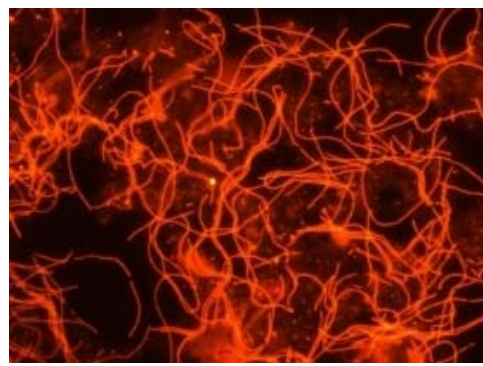
Εικόνα 5.4: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ιχνηλάτη MPA223 και σημασμένο με Alexa488 υπό το συμβατό φίλτρο FITC/Texas Red. Δεν είναι ορατοί οι *M. parvicella*.



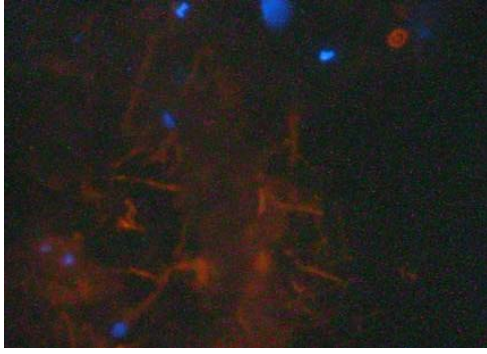
Εικόνα 5.5: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ιχνηλάτη MPA645 και σημασμένο με Alexa488 υπό το συμβατό φίλτρο FITC/Texas Red. Δεν είναι ορατοί οι *M. parvicella*.



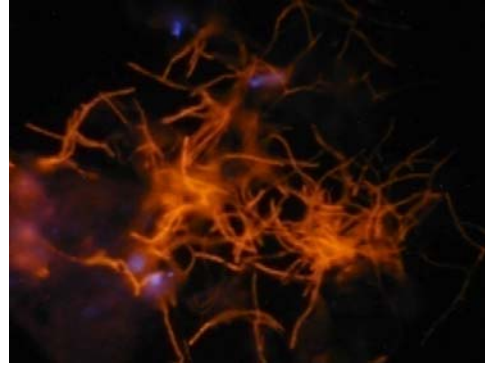
Εικόνα 5.6: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ιχνηλάτη MPA645 και σημασμένο με Cy3 υπό το συμβατό φίλτρο Cy3. Πλέον είναι ορατοί οι *M. parvicella*.



Εικόνα 5.7: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ιχνηλάτη MPA645 και σημασμένο με Cy3 υπό το συμβατό φίλτρο Cy3 μετά τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου.



Εικόνα 5.8: Δείγμα ανάμικτου υγρού υβριδοποιημένο με τον ιχνηλάτη G.am 205 για την υβριδοποίηση του *G. amarae* πριν τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου.



Εικόνα 5.9: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ιχνηλάτη G.am 205 μετά τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου.

Όσον αφορά στη μέθοδο καταμέτρησης των νηματοειδών μικροοργανισμών που ταυτοποιούνταν με τη FISH επιλέχθηκε τεχνική παρόμοια με αυτή των Pitt και Jenkins της χρώσης των μικροοργανισμών κατά Gram και της μέτρησης των τμήσεων, όπως επίσης περιγράφηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου εξασφαλιζόνταν με την απόρριψη των αποτελεσμάτων με μεγαλύτερο από 30% συντελεστή απόκλισης (100 x τυπική απόκλιση/ μέσο όρο). Ο μέσος όρος και η συγκέντρωση των FISH νηματοειδών υπολογίζεται με τη βοήθεια των εξισώσεων 5.1 και 5.2 σε τμήσεις ανά g VSS ή σε τμήσεις ανά L δείγματος:

$$C_m = \frac{S}{V_{\text{δείγματος}} \mu L} \times \frac{10^6 \mu L}{L} \times \frac{1}{MLVSS \left(\frac{g}{L}\right)} \times DF \quad \text{Εξίσωση 5.1}$$

$$C_v = \frac{S}{V_{\text{δείγματος}} \mu L} \times \frac{10^6 \mu L}{L} \times DF \quad \text{Εξίσωση 5.2}$$

όπου : C = συγκέντρωση νηματοειδούς ($C_m = \#$ τομών/gVSS, $C_v = \#$ τομών/ L), S = μέσος όρος διατμήσεων, DF = Αραίωση δειγμάτων

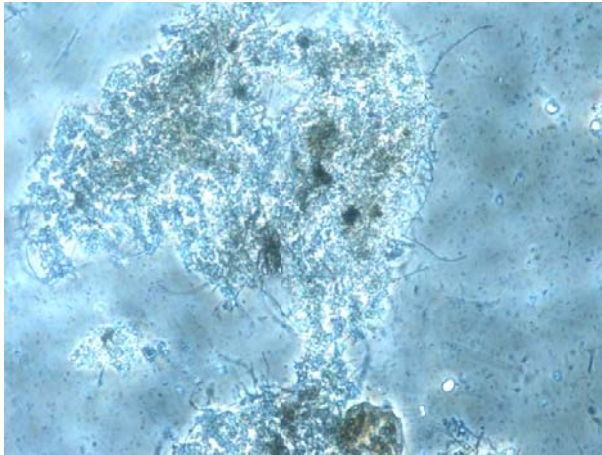
Με βάση την εξίσωση 5.2 το όριο ανίχνευσης της μεθόδου ανέρχεται σε περίπου $10^6 - 3 \cdot 10^6$ τμήσεις/L και $5 \cdot 10^5 - 10^5$ τμήσεις/gVSS στο ανάμικτο υγρό και στη χωνεμένη ιλύ αντίστοιχα.

5.3.ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ FISH ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

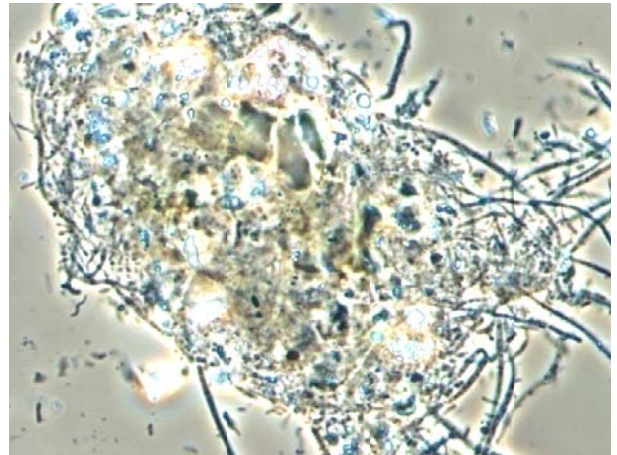
Σύγκριση FISH με την τεχνική Pitt και Jenkins

Η μέθοδος FISH συσχετίστηκε με την κλασική μέθοδο Gram σε δείγματα ανάμικτου υγρού (ΕΕΛ Ψυττάλειας, Βόλου και Χαλκίδας) με υψηλή συγκέντρωση νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella*. Στην περίπτωση δειγμάτων ανάμικτου υγρού που περιέχονται και οι δύο νηματοειδείς μικροοργανισμοί, είναι προφανείς οι δυσκολίες της ποσοτικοποίησης με την τεχνική Pitt&Jenkins βάσει των μορφολογικών χαρακτηριστικών (εικόνα 5.13) έναντι της ποσοτικοποίησης με τη μέθοδο FISH (εικόνα 5.14). Εδώ, πρέπει να σημειωθεί ότι οι δύο μέθοδοι δεν είναι συγκρίσιμες σε δείγματα ιλύος, στα οποία δεν είναι δυνατή η καταμέτρηση με την τεχνική Pitt και Jenkins λόγω της κατάστασης στρες στην οποία βρίσκονται οι μικροοργανισμοί στην αναερόβια χώνευση μεταβάλλοντας τα Gram θετικά και λοιπά μορφολογικά χαρακτηριστικά τους.

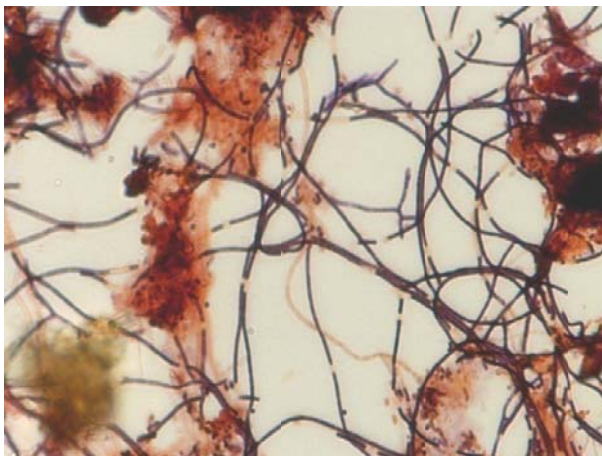
Στις παρακάτω μικροσκοπικές εικόνες φαίνεται δείγμα ανάμικτου υγρού με υψηλή συγκέντρωση νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* καταρχήν υπό μεγέθυνση 200 και 1000 χωρίς περαιτέρω επεξεργασία (εικόνες 5.11 και 5.12). Στη μικροσκοπική φωτογραφία 5.13 φαίνεται το δείγμα κατόπιν της επεξεργασίας του κατά Gram, όπου μπορεί να διακρίνει κανείς και τους δύο Gram θετικούς νηματοειδείς *G. amarae* και *M. parvicella*. Τέλος, στην εικόνα 5.14 φαίνεται μόνο ο μικροοργανισμός *M. Parvicella* σε δείγμα που έχει υποστεί επεξεργασία FISH με τον κατάλληλο ιχνηλάτη υβριδοποίησης.



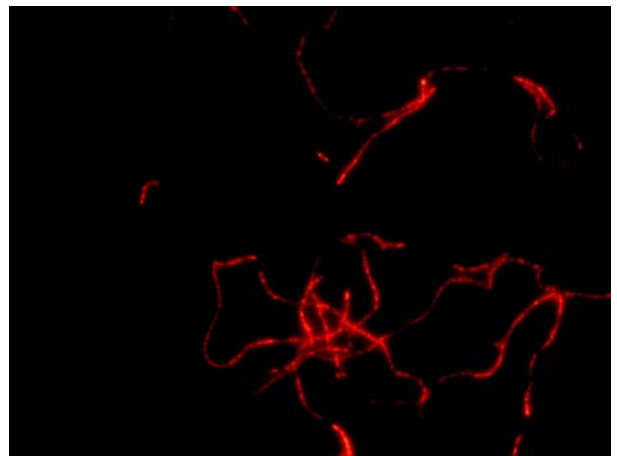
Εικόνα 5.10: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 200. Στην εικόνα φαίνεται η γεφύρωση δύο βιοκροκίδων λόγω αυξημένης συγκέντρωσης νηματοειδών.



Εικόνα 5.11: Δείγμα ανάμικτου υγρού υπό μεγέθυνση 1000. Στην εικόνα φαίνεται βιοκροκίδα από την οποία προεξέχουν νηματοειδείς.



Εικόνα 5.12: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φωτεινό πεδίο) κατά Gram. Στην εικόνα φαίνονται οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί *G. amarae* και *M. parvicella*.



Εικόνα 5.13: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φθορισμός, φίλτρο Cy3) επεξεργασμένα με τον ικηηλάτη MPA645 σημασμένο με Cy3. Στην εικόνα φαίνεται ο νηματοειδής μικροοργανισμός *M. parvicella*.

Για τον προσδιορισμό της συσχέτισης των δύο μεθόδων ποσοτικού προσδιορισμού των νηματοειδών μικροοργανισμών, έγινε έλεγχος student για την ισότητα των μέσων όρων των μετρήσεων και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης των δύο μεθόδων. Καθώς το δείγμα ανάμικτου υγρού που εξετάστηκε περιείχε και τους δύο νηματοειδείς μικροοργανισμούς στον παρακάτω πίνακα 5.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου για κάθε νηματοειδή χωριστά καθώς και για το άθροισμά τους.

Πίνακας 5.4: Έλεγχος για την ισότητα των μέσων όρων της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* κατά Gram και κατά FISH

Παράμετρος	Άθροισμα		<i>G. amarae</i>		<i>M. parvicella</i>	
	FISH	GRAM	FISH	GRAM	FISH	GRAM
Μέσος όρος (m) (τμήσεις/gVSS)	1,75E+07	2,78E+07	6,69E+0 6	1,30E+07	1,09E+0 7	1,48E+07
Διακύμανση (S ²)	3,43E+13	1,17E+14	1,12E+1 3	5,87E+13	8,14E+1 2	1,22E+13
Τυπική απόκλιση (S)	5,86E+06	1,08E+07	3,35E+0 6	7,66E+06	2,85E+0 6	3,49E+06
Μέγεθος δείγματος (n)	7	7	7	7	7	7
Σύγκριση διακύμανσης (F)	3,43	Fcrit=4,2 8	5,24	Fcrit=4,2 8	1,49	Fcrit=4,2 8
Εφόσον η τιμή του F που υπολογίστηκε είναι μικρότερη από την κρίσιμη του F για n-1 = 6 βαθμούς ελευθερίας μπορεί να εφαρμοστεί ο έλεγχος t						
Τυπικό σφάλμα (SE=S/√(n))	2,21E+0 6	4,10E+06	1,26E+0 6	2,89E+06	1,08E+0 6	1,32E+06
Τυπικό σφάλμα διαφοράς SE _Δ (√(SE ₁ +SE ₂))	4,66E+06		3,16E+06		1,70E+06	
Υποτιθέμενη διαφορά μέσων	0,00E+00		0,00E+00		0,00E+00	
Βαθμοί ελευθερίας	12			8	12	
Τιμή t ((m ₁ -m ₂)/ SE _Δ)	2,201		2,000		2,307	
t κρίσιμο, α=0,05	2,180		2,180		2,180	
t κρίσιμο, α=0,1	1,780		1,780		1,780	
Συμπέρασμα: t>t _{crit} άρα υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων όρων των δύο μεθόδων στο επίπεδο του 5%						
95% όρια αξιοπιστίας (m1- m2)±t√(SE ₁ ² +SE ₂ ²)	9,75E +04	2,04E +07	- 5,70E+05	1,32E+07	2,17E+0 5	7,64E+06

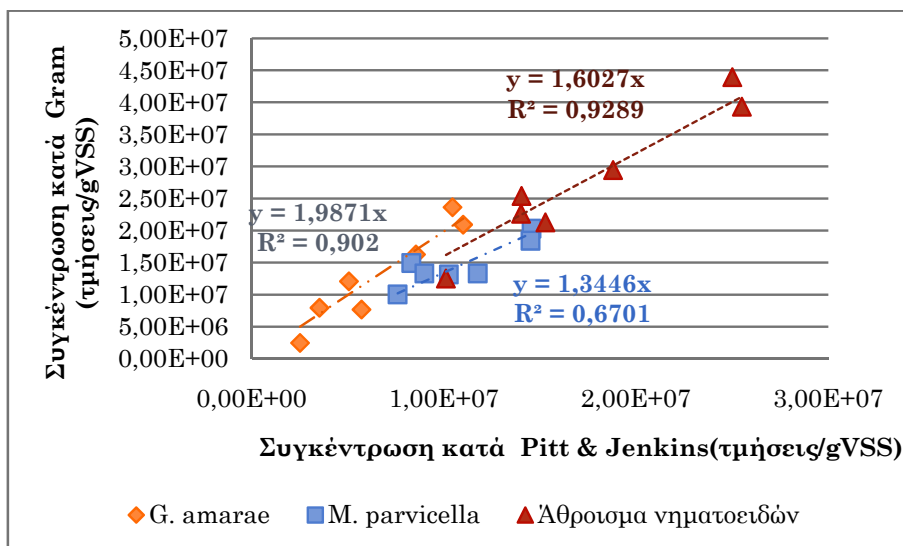
Από τον παραπάνω πίνακα προκύπτει ότι υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους των συσχετισμένων ζευγών στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5%, γεγονός αναμενόμενο εφόσον η μέθοδος Pitt & Jenkins προσδιορίζει το σύνολο των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* ενώ η FISH μόνο τους βιώσιμους.

Στον επόμενο πίνακα 5.5 παρουσιάζεται η συνδιακύμανση και ο συντελεστής Pearson της μεθόδου FISH με την παραδοσιακή τεχνική Pitt και Jenkins, ώστε να διερευνηθεί η συσχέτιση μεταξύ τους:

Πίνακας 5.5: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* κατά Gram και κατά FISH

Παράμετρος	Άθροισμα	<i>G. amarae</i>	<i>M. parvicella</i>
Συνδιακύμανση (covar)	5,28E+13	2,10E+13	7,31E+12
Συσχέτιση Pearson (R)	0,97	0,95	0,86

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 5.5, η συνδιακύμανση των δύο σειρών δεδομένων είναι σημαντικά υψηλή, γεγονός που φαίνεται και από το συντελεστή Pearson, ο οποίος βρέθηκε κοντά στη μονάδα, τεκμηριώνοντας στατιστικά τη σημαντική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων. Στο επόμενο γράφημα 5.1 παρουσιάζεται η γραμμική συσχέτιση των δύο μεθόδων, η εξίσωση της γραμμής συσχέτισης και ο συντελεστής συσχέτισης. Ο συντελεστής δεν είναι ίσος με το συντελεστή Pearson που δίνεται στον πίνακα 5.5 καθώς στο γράφημα, η ευθεία ορίστηκε να περνάει από το σημείο $(x,y) = (0,0)$ γιατί κάποιο άλλο σημείο τομής δεν έχει φυσική σημασία.



Γράφημα 5.1: Συσχέτιση των μεθόδων FISH και Pitt & Jenkins σε δείγμα ανάμικτου υγρού που περιέχει *G. amarae* και *M. parvicella*.

Από το γράφημα 5.1 μπορεί κανείς να παρατηρήσει ότι ο συντελεστής συσχέτισης είναι πολύ μεγαλύτερος για το άθροισμα των νηματοειδών παρά για κάθε νηματοειδή χωριστά. Αυτό οφείλεται στην αδυναμία της μεθόδου Pitt & Jenkins να ταυτοποιήσει επιλεκτικά τον κάθε νηματοειδή εφόσον πρόκειται για δύο Gram θετικά βακτήρια, των οποίων η καταμέτρηση κατά Pitt & Jenkins γίνεται βάσει της μορφολογίας τους, οδηγώντας έτσι σε αρνητικά ή θετικά σφάλματα στην ταυτοποίηση. Ωστόσο, στο σύνολο των νηματοειδών ο συντελεστής συσχέτισης είναι 0,92 που σημαίνει ότι οι δύο μέθοδοι συσχετίζονται πολύ καλά, γεγονός που επιβεβαιώνει και την ορθότητα της μεθόδου FISH που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας.

Σύγκριση μεθόδου FISH με μέθοδο LIVE/DEAD

Όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 4 με τη μέθοδο FISH υβριδοποιείται το ριβοσωμικό RNA των υπό εξέταση μικροοργανισμών, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία μόνο όταν υπάρχει μεταβολική δραστηριότητα. Ωστόσο ο παρατεταμένος χρόνος ημίσειας ζωής του μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της βιωσιμότητας ενός κυτταρικού δείγματος για το λόγο αυτό η FISH συσχετίστηκε και με άλλες μοριακές μεθόδους, οι οποίες προσδιορίζουν τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών και συγκεκριμένα, με τις μεθόδους INT και CTC, ομώνυμες των χρωστικών που προστίθενται, οι οποίες όταν απορροφούνται από υγιή κύτταρα κατά την αναπνοή ανάγονται στο εσωτερικό τους σε αδιάλυτους κρυστάλλους (formazan). Εκ των μεθόδων που δοκιμάστηκαν η μέθοδος καταμέτρησης που αναπτύχθηκε για τη FISH

συγκρίθηκε με τη μέθοδο LIVE/DEAD BacLight, ώστε τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα καθώς οι μέθοδοι INT και CTC δίνουν επιπλέον πληροφορίες για την ενεργότητα των μικροοργανισμών.

Έτσι στους παρακάτω πίνακες 5.6 και 5.8 φαίνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου t για την ισότητα των μέσων όρων των δύο μεθόδων τόσο για δείγματα ανάμικτου υγρού όσο και για δείγματα κωνεμένης ιλύος (ΕΕΛ Ψυττάλειας).

Πίνακας 5.6: Έλεγχος Student της ισότητας των μέσων όρων της συγκέντρωσης των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* αθροιστικά στο ανάμικτο υγρό της ΕΕΛ Ψυττάλειας όπως εκτιμάται με τη μέθοδο FISH συγκριτικά με τη μέθοδο Live&Dead.

	Συγκέντρωση νηματοειδών FISH	Συγκέντρωση βιώσιμων κατά L&D	Συγκέντρωση νεκρών
Μέσος όρος (m) (τμήσεις/gVSS)	9,19E+06	8,77E+06	2,60E+06
Διακύμανση (S^2)	1,39E+13	2,70E+13	1,40E+12
Τυπική απόκλιση (S)	3,73E+06	5,20E+06	1,18E+06
Μέγεθος δείγματος (n)	10	10	10
	Συγκέντρωση νηματοειδών FISH	Συγκέντρωση βιώσιμων κατά L&D	Συγκέντρωση νεκρών
Τυπικό σφάλμα ($SE=S/\sqrt{n}$)	1,18E+06	1,64E+06	3,74E+05
Τυπικό σφάλμα διαφοράς		2,02E+06	1,24E+06
Διαφορά μέσων		0	
Βαθμοί ελευθερίας		18	18
Τιμή t ($(m_1-m_2)/SE_{\Delta}$)		0,210	5,322
t κρίσιμο, 0,05			2,100
t κρίσιμο, 0,1			1,730
95% όρια αξιοπιστίας (m_1-m_2) $\pm t/(SE_1^2+SE_2^2)$		-3,83E+06	3,99E+06
		4,67E+06	9,19E+06

Από τον παραπάνω πίνακα εφόσον η τιμή του ελέγχου t που υπολογίστηκε είναι μικρότερη της κρίσιμης τιμής για 18 βαθμούς ελευθερίας προκύπτει ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους της FISH και της LIVE/DEAD στο συμβατικά αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5% για τους βιώσιμους μικροοργανισμούς για τα δείγματα ανάμικτου υγρού. Αντιθέτως, από τον έλεγχο t προκύπτει ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο επίπεδο 5% ανάμεσα στο μέσο όρο της συγκέντρωσης των νηματοειδών κατά FISH και της συγκέντρωσης των νεκρών

όπως προσδιορίζονται με τη μέθοδο Live&Dead. Επομένως η FISH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* σε δείγματα ανάμικτου υγρού.

Στον επόμενο πίνακα 5.7 παρουσιάζεται η συνδιακύμανση και ο συντελεστής Pearson της μεθόδου FISH με την παραδοσιακή τεχνική Pitt και Jenkins, ώστε να διερευνηθεί η συσχέτιση μεταξύ τους:

Πίνακας 5.7: Συσχέτιση της συγκέντρωσης αθροιστικά των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* κατά Gram και κατά FISH σε δείγματα ανάμικτου υγρού από την ΕΕΛ Ψυττάλειας.

Παράμετρος	FISH με βιώσιμους κατά L&D	FISH με νεκρούς κατά L&D
Συνδιακύμανση (covar)	1,59E+13	1,82E+12
Συσχέτιση Pearson (R)	0,91	0,46

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 5.7, η συνδιακύμανση των δύο σειρών δεδομένων είναι σημαντικά υψηλή για τους βιώσιμους μικροοργανισμούς, γεγονός που φαίνεται και από το συντελεστή Pearson, ο οποίος βρέθηκε κοντά στη μονάδα, τεκμηριώνοντας στατιστικά τη σημαντική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων.

Στον πίνακα 5.8 που ακολουθεί φαίνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου t για την ισότητα των μέσων όρων των δύο μεθόδων στα δείγματα κωνεμένης ιλύος (ΕΕΛ Ψυττάλειας) και τα οποία είναι παρόμοια με εκείνα που προέκυψαν για το ανάμικτο υγρό (πίνακας 5.6). Πιο συγκεκριμένα, εφόσον η τιμή του ελέγχου t που υπολογίστηκε είναι μικρότερη της κρίσιμης τιμής για 18 βαθμούς ελευθερίας προκύπτει ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στους μέσους όρους της FISH και της LIVE/DEAD στο συμβατικά αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5% για τους βιώσιμους μικροοργανισμούς για τα δείγματα κωνεμένης ιλύος. Αντιθέτως, από τον έλεγχο t προκύπτει ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο επίπεδο 5% ανάμεσα στο μέσο όρο της συγκέντρωσης των νηματοειδών κατά FISH και της συγκέντρωσης των νεκρών όπως προσδιορίζονται με τη μέθοδο Live&Dead. Επομένως η FISH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* σε δείγματα κωνεμένης ιλύος.

Πίνακας 5.8: Έλεγχος Student της ισότητας των μέσων όρων της συγκέντρωσης των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* στη χωνεμένη ιλύ της ΕΕΛ Ψυττάλειας όπως εκτιμάται με τη μέθοδο FISH συγκριτικά με τη μέθοδο Live&Dead.

	Συγκέντρωση νηματοειδών FISH	Συγκέντρωση βιώσιμων κατά L&D	Συγκέντρωση νεκρών
Μέσος όρος (m) (τμήσεις/gVSS)	1,50E+06	7,52E+05	5,21E+05
Διακύμανση (S ²)	9,67E+11	3,01E+11	7,66E+10
Τυπική απόκλιση (S)	9,84E+05	5,48E+05	2,77E+05
Μέγεθος δείγματος (n)	10	10	10
Τυπικό σφάλμα (SE=S/sqrt(n))	3,11E+05	1,73E+05	8,75E+04
Τυπικό σφάλμα διαφοράς		3,56E+05	3,23E+05
Διαφορά μέσων	0		
Βαθμοί ελευθερίας		18	18
Τιμή t ((m ₁ -m ₂)/ SE _Δ)		2,094	3,022
t κρίσιμο, 0,05		2,100	
95% όρια αξιοπιστίας (m1-m2)±t/(SE ₁ ² +SE ₂ ²)		-2,08E+03	2,98E+05
		1,49E+06	1,65E+06

5.4. ΣΥΝΟΨΗ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 5

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάστηκε η μέθοδος καταμέτρησης των νηματοειδών με τη μοριακή μέθοδο FISH όπως αναπτύχθηκε προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι δυσκολίες που προκύπτουν από την εφαρμογή της παραδοσιακής τεχνικής Pitt και Jenkins (1990). Οι μέσοι όροι των νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια των δύο μεθόδων σε δείγματα ανάμικτου υγρού παρουσίασαν στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05, γεγονός αναμενόμενο εφόσον η FISH προσδιορίζει τους βιώσιμους μικροοργανισμούς ενώ η Pitt και Jenkins το σύνολό τους.

Επίσης, η FISH συσχετίστηκε με την κλασική μέθοδο με αναμενόμενα αποτελέσματα την καλή συσχέτιση στα δείγματα των αερόβιων διεργασιών. Καθώς τα δείγματα ανάμικτου υγρού της Ψυττάλειας που χρησιμοποιήθηκαν περιείχαν *M. parvicella* και *G. amarae*, βρέθηκε ότι ο συντελεστής συσχέτισης ήταν πολύ μεγαλύτερος για το άθροισμα των νηματοειδών βακτηρίων παρά για κάθε

μικροοργανισμό χωριστά. Αυτό οφείλεται στην αδυναμία της μεθόδου Pitt και Jenkins να ταυτοποιήσει επιλεκτικά τους μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* εφόσον πρόκειται για δύο Gram θετικά βακτήρια, των οποίων η καταμέτρηση γίνεται βάσει της μορφολογίας τους, οδηγώντας έτσι σε σφάλματα στην καταμέτρηση.

Με τη μέθοδο FISH υβριδοποιείται το ριβοσωμικό RNA, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία μόνο όταν υπάρχει έντονη μεταβολική δραστηριότητα και άρα με τη FISH προσδιορίζονται οι βιώσιμοι μικροοργανισμοί. Ωστόσο ο παρατεταμένος χρόνος ημίσειας ζωής του rRNA μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της βιωσιμότητας δείγματος. Για τον έλεγχο της ακρίβειας της μεθόδου, η FISH συσχετίστηκε και με άλλες φθορίζουσες μοριακές μεθόδους, οι οποίες προσδιορίζουν τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών. Από τον έλεγχο Student που πραγματοποιήθηκε στους μέσους όρους των δειγμάτων που είχαν επεξεργαστεί με FISH και με την τεχνική LIVE/ DEAD που προσδιορίζει τους ζώντες μικροοργανισμούς, προέκυψε ότι η FISH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των βιώσιμων μικροοργανισμών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6:

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων πλήρους κλίμακας και συγκεκριμένα της Ψυττάλειας, της Χαλκίδας και του Βόλου. Πιο συγκεκριμένα, υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις και ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στα διάφορα στάδια της διεργασίας των εγκαταστάσεων και υπολογίζονται τα ποσοστά εμβολιασμού του συστήματος της δευτεροβάθμιας διεργασίας με τους νηματοειδείς. Επίσης, υπολογίζονται τα ποσοστά καταστροφής τους στην αναερόβια χώνευση.

Στη δεύτερη ενότητα των αποτελεσμάτων, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη λειτουργία των τεσσάρων εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, όσον αφορά στη βιωσιμότητα των νηματοειδών βακτηρίων που προκαλούν αφρισμό, στον προσδιορισμό της τάσης αφρισμού στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης καθώς και στην απόδοσή τους και στα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους. Πιο συγκεκριμένα, προσδιορίζονται η παραγωγή βιοαερίου και η καταστροφή πτητικών στερεών, η καταστροφή και η κλασματοποίηση του COD, η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων, η αλκαλικότητα και τα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας της χωνεμένης ιλύος. Επίσης, υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* και τα ποσοστά καταστροφής τους στα διάφορα συστήματα καθώς και το δυναμικό και η σταθερότητα αφρισμού σ' αυτά. Τέλος, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα διαλείποντος έργου που πραγματοποιήθηκαν στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και ο προσδιορισμός της κινητικής φθοράς των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* σε αναερόβιες συνθήκες.

6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΩΝ ΑΠΟ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΥΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ

6.2.1. Εισαγωγή

Η μέθοδος FISH χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια επεξεργασίας των λυμάτων τριών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, της Ψυττάλειας, του Βόλου και της Χαλκίδας. Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν λόγω της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με τους εν λόγω νηματοειδείς μέσω των στραγγιδίων από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογικής ιλύος σταθεροποιείται σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως είναι δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση.

Στόχος των δειγματοληψιών ήταν: α) ο υπολογισμός του ισοζυγίου μάζας των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας λυμάτων και ιλύος και ο προσδιορισμός πιθανών επιδράσεων του κάθε σταδίου στην ανάπτυξη των ανωτέρων βακτηρίων, β) ο προσδιορισμός της συμβολής των ανωτέρω νηματοειδών βακτηρίων στη δημιουργία αφρού στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων, γ) η διερεύνηση της επιστροφής βιώσιμων βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* μέσω των στραγγιδίων από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος και επανατροφοδότησης της γραμμής επεξεργασίας των λυμάτων και δ) ο υπολογισμός της καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων στην αναερόβια χώνευση.

Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 4, πραγματοποιήθηκαν: α) 1 δειγματοληψία από την ΕΕΛ Ψυττάλειας 13 δειγμάτων συνολικά, β) 7 δειγματοληψίες 14 δειγμάτων η καθεμία από την ΕΕΛ Βόλου (98 δείγματα συνολικά) και γ) 9 δειγματοληψίες 28 δειγμάτων η καθεμία (252 δείγματα συνολικά) από την ΕΕΛ Χαλκίδας. Στα παραπάνω δείγματα έγιναν μετρήσεις στερεών και καταμέτρηση των νηματοειδών βακτηρίων με τις τεχνικές Pitt και Jenkins και FISH.

6.2.2. Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Ψυττάλειας

6.2.2.1. Συνοπτική περιγραφή

Το Κέντρο Επεξεργασίας Λυμάτων Ψυττάλειας βρίσκεται στην περιοχή του Ακροκέραμου στο Κερατσίνι και στη νήσο Ψυττάλεια του Σαρωνικού κόλπου, η οποία βρίσκεται 2 χλμ. δυτικά από το λιμάνι Πειραιά. Στον Ακροκέραμο, σε έκταση περίπου 63 στρεμμάτων, βρίσκονται οι εγκαταστάσεις προεπεξεργασίας των λυμάτων και στη νήσο Ψυττάλεια, εκτάσεως 563 στρεμμάτων, οι εγκαταστάσεις της κύριας επεξεργασίας των λυμάτων. Η μέση εισερχόμενη παροχή των λυμάτων κατά το έτος 2008 στην εγκατάσταση της Ψυττάλειας ήταν 720,000 m³ ημερησίως.

Στο χώρο του Ακροκέραμου λειτουργούν οι παρακάτω μονάδες επεξεργασίας των λυμάτων:

- ☞ Απομάκρυνση ογκωδών στερεών
- ☞ Αντλιοστάσιο αρχικής ανύψωσης - αντλίες Αρχιμήδη
- ☞ Εσχάρωση
- ☞ Εξάμμωση
- ☞ Απόσμηση

Η προεπεξεργασία των λυμάτων στις εγκαταστάσεις του Ακροκέραμου συνίσταται στην απομάκρυνση των ογκωδών στερεών, στην εσχάρωση και στην εξάμμωση. Στη συνέχεια τα λύματα ανυψώνονται με τη βοήθεια αντλιών τύπου Αρχιμήδη και οδηγούνται μέσω ενός υποθαλάσσιου αγωγού στη νήσο Ψυττάλεια, όπου βρίσκονται οι μονάδες για την κύρια επεξεργασία των λυμάτων. Πιο συγκεκριμένα η γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων αποτελείται από:

- ☞ Δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης
- ☞ Αντλιοστάσιο ενδιάμεσης ανύψωσης
- ☞ Βιοαντιδραστήρες - Δεξαμενές νιτροποίησης/ απονιτροποίησης, όγκου 300.000 m³ με χρόνο παραμονής στερεών περίπου 7 ημέρες
- ☞ Φρεάτιο διανομής παροχής προς δεξαμενές τελικής καθίζησης
- ☞ Δεξαμενές τελικής καθίζησης

- Σύστημα απομάκρυνσης αφρών και επιπλεόντων
- Αντλιοστάσια ανακυκλοφορίας ιλύος, εσωτερικής ανακυκλοφορίας και περίσσειας ιλύος
- Κανάλια διάθεσης διαυγών
- Φίλτραυση/ απολύμανση

Η παραγόμενη ιλύς υπόκειται σε επεξεργασία στις ακόλουθες μονάδες:

- Δεξαμενές προπάχυνσης - παχυντές βαρύτητας
- Μηχανική πάχυνση
- Αναερόβιοι χωνευτές
- Δεξαμενές μεταπάχυνσης
- Αφυδάτωση

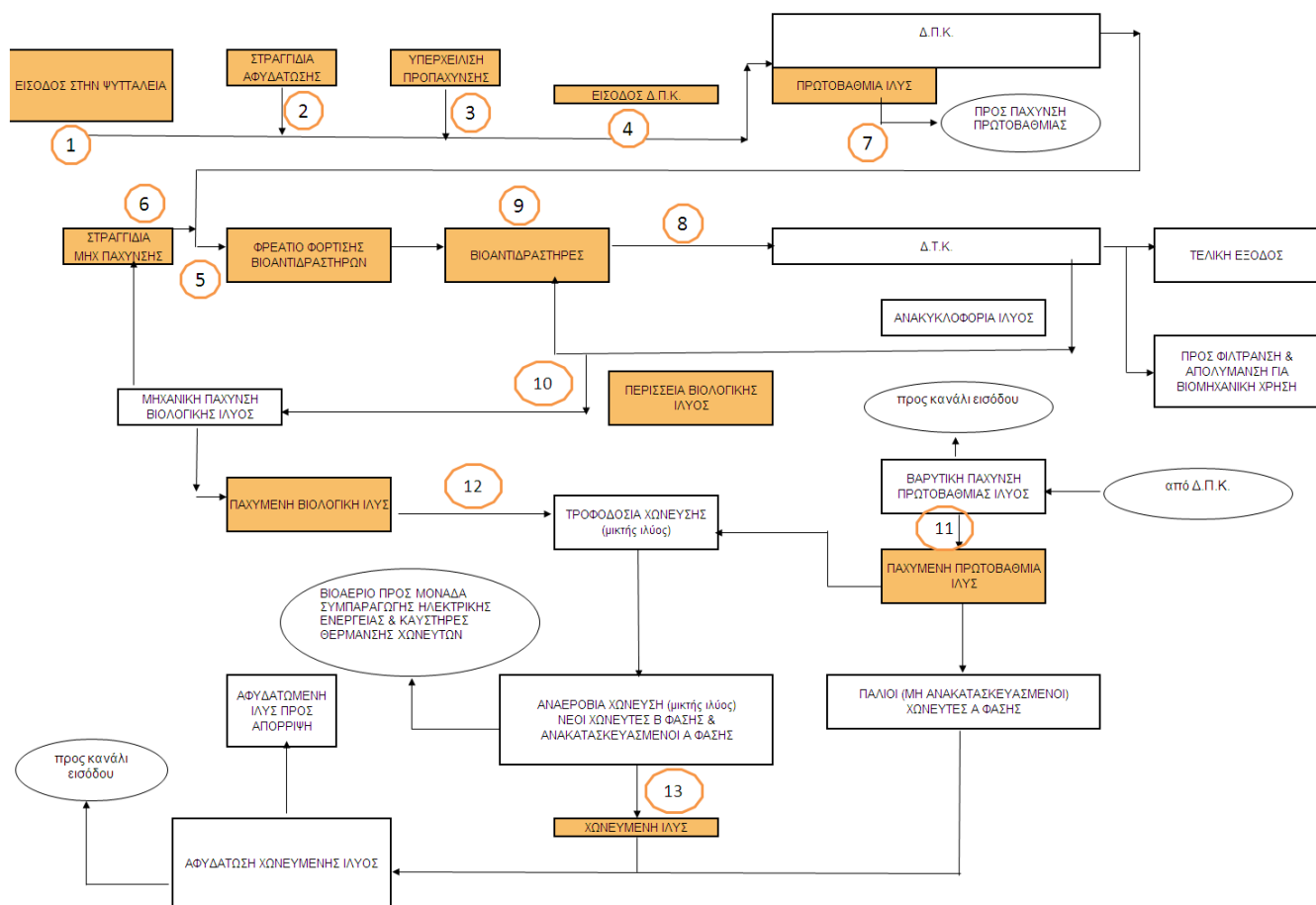
6.2.2.2. Ροές μάζας νηματοειδών ανά θέση δειγματοληψίας

Στην εγκατάσταση της Ψυττάλειας πραγματοποιήθηκε μία δειγματοληψία στις 4/6/07 στα παρακάτω σημεία της εγκατάστασης:

14. Είσοδος εγκατάστασης
15. Στραγγίδια αφυδάτωσης
16. Υπερχείλιση προπαχυντών
17. Είσοδος έπειτα από επιστροφές
18. Είσοδος βιοαντιδραστήρα
19. Στραγγίδια μηχανικής πάχυνσης
20. Πρωτοβάθμια λάσπη
21. Ανάμικτο υγρό
22. Αφρός βιοαντιδραστήρων
23. Περίσσεια
24. Πρωτοβάθμια παχυμένη

25. Δευτεροβάθμια παχυμένη
26. Έξοδος κώνευσης

Στην εικόνα 6.1 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της ΕΕΛ Ψυττάλειας για καλύτερη εποπτεία των σημείων δειγματοληψίας:



Εικόνα 6.1: Διάγραμμα ροής της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων Ψυττάλειας.

Στον επόμενο πίνακα 6.1 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* στα διάφορα στάδια του διαγράμματος ροής της ΕΕΛ Ψυττάλειας. Πρέπει να σημειωθεί ότι στη δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε στην ΕΕΛ της Ψυττάλειας το πρόβλημα του αφρισμού δεν ήταν ιδιαίτερως έντονο καθώς και ότι οι συγκεντρώσεις του νηματοειδούς *M. parvicella* ήταν στο όριο ανίχνευσης της μεθόδου και γι' αυτό το λόγο δεν παρουσιάζονται. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι παροχές που έχουν χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό των ροών μάζας δεν αντιστοιχούν στη συγκεκριμένη

δειγματοληψία αλλά έχουν προκύψει από τον ετήσιο μέσο όρο του 2008 και τα ισοζύγια ολικών στερεών στις επιμέρους διεργασίες.

Πίνακας 6.1: Συγκεντρώσεις και ροές μάζας των νηματοειδών στα διάφορα στάδια του διαγράμματος ροής της ΕΕΛ Ψυττάλειας

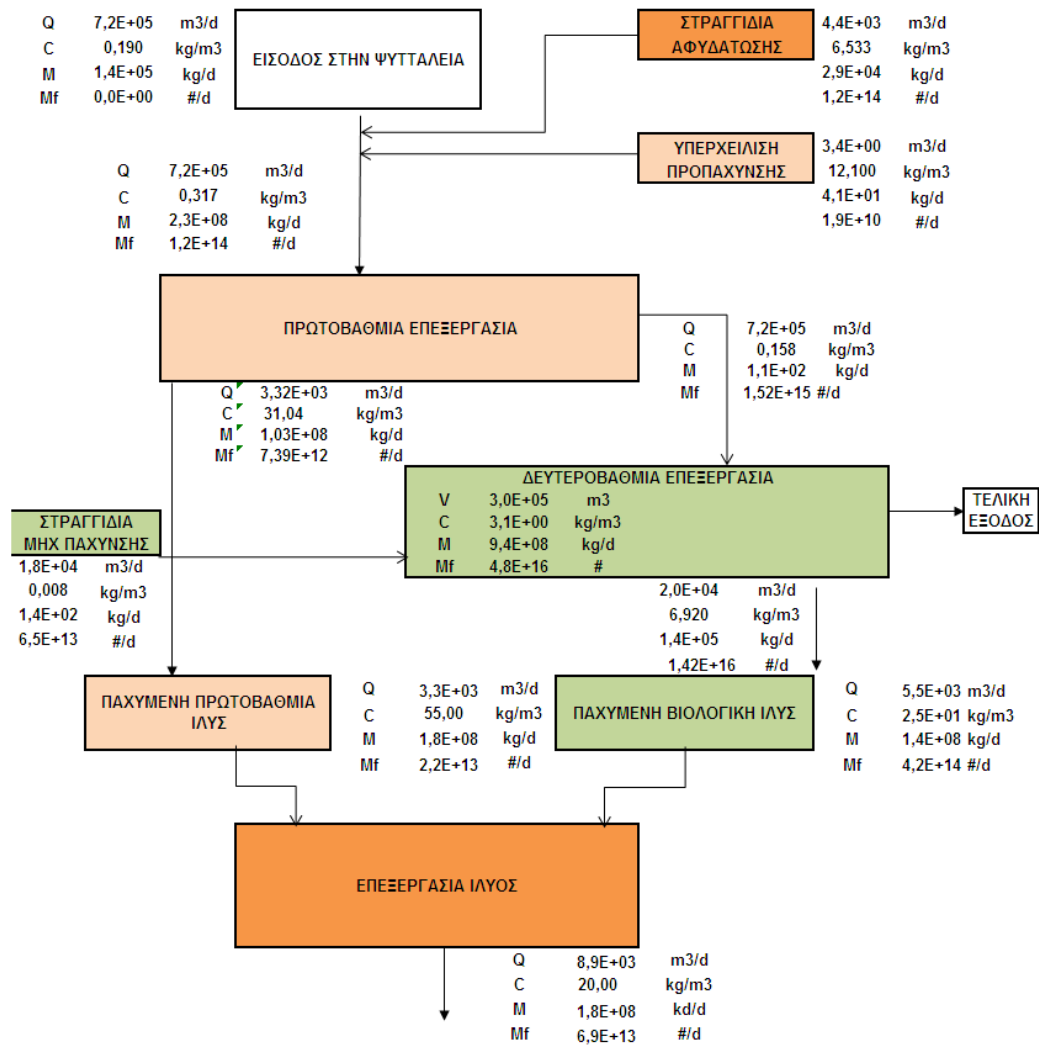
Περιγραφή	Συγκέντρωση πτητικών στερεών (VSS) (mg/L)	Συγκέντρωση <i>G. amarae</i> κατά FISH (τμήσεις/gVSS)	Συγκέντρωση <i>G. amarae</i> κατά FISH (τμήσεις/L)	Παροχή (m ³ /d) ή Όγκος (m ³)	Ροή μάζας <i>G. amarae</i> κατά FISH (τμήσεις/d) ή τμήσεις
Είσοδος εγκατάστασης	190	0,00E+00	0,00E+00	720.000	0,00E+00
Στραγγίδια αφυδάτωσης	6.533	4,25E+06	2,78E+07	4.400	1,22E+14
Υπερχείλιση προπαχυτών	12.100	4,59E+05	5,56E+06	3,43	1,90E+10
Είσοδος με επιστροφές	620	3,98E+06	2,47E+06	724.403	1,79E+15
Είσοδος βιοαντιδραστήρα	87	2,37E+07	2,06E+06	738.578	1,52E+15
Στραγγίδια μηχανικής πάχυνσης	8	4,63E+08	3,70E+06	17.500	6,48E+13
Πρωτοβάθμια λάσπη	23.840	9,32E+04	2,22E+06	3.325	7,39E+12
Ανάμικτο υγρό	2.660	6,02E+07	1,60E+08	300.000	4,80E+16
Περίσσεια	5.960	1,19E+08	7,11E+08	20.000	1,42E+16
Πρωτοβάθμια παχυμένη	28.000	2,38E+05	6,67E+06	3.322	2,21E+13
Δευτεροβάθμια παχυμένη	34.000	2,22E+06	7,56E+07	5.536	4,18E+14
Έξοδος χώνευσης	18.000	4,32E+05	7,78E+06	8.858	6,89E+13
Αφρός βιοαντιδραστήρων	20.000	8,56E+07	1,71E+09		

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρεί κανείς ότι σημειώνονται σημαντικές ροές μάζας νηματοειδών στην πρωτοβάθμια εκροή και ιλύ. Επιλύοντας το ισοζύγιο μάζας στην πρωτοβάθμια επεξεργασία προκύπτει ότι οι επιστροφές των νηματοειδών που επιστρέφουν με τα στραγγίδια στην πρωτοβάθμια καθίζηση ισούνται με 1,2E+14 τμήσεις ανά ημέρα ενώ το άθροισμα των νηματοειδών που εκρέουν από τη διεργασία ισούται με 1,53E+15 τμήσεις ανά

ημέρα. Από τα αποτελέσματα φαίνεται είτε ότι υπάρχει ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών στην πρωτοβάθμια επεξεργασία λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων λιπών, οι οποίες έχουν αναφερθεί να ευνοούν την ανάπτυξη των νηματοειδών (Frigon, 2006) είτε ότι τα εισερχόμενα λύματα στην ΕΕΛ περιέχουν σημαντικές συγκεντρώσεις νηματοειδών. Στην παρούσα εργασία παρόλο που έγινε δειγματοληψία των εισερχομένων λυμάτων, ωστόσο δεν εφαρμόστηκε μέθοδος συμπύκνωσης αυτών για την καταμέτρηση των νηματοειδών (π.χ. FISH σε μεμβράνη) και επομένως, δε μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα η συγκέντρωση των νηματοειδών να ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης.

Επίσης, από τον πίνακα φαίνεται ότι σημειώνεται επιστροφή των νηματοειδών βακτηρίων στη δευτεροβάθμια επεξεργασία με τις ροές των στραγγιδίων. Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό επανατροφοδότησης, ως η ημερήσια ροή μάζας του μικροοργανισμού *G. amarae* στα στραγγίδια (τμήσεις FISH ημερησίως) προς τη μάζα του νηματοειδούς βακτηρίου στη δεξαμενή αερισμού (τμήσεις FISH ανά όγκο δείγματος επί τον όγκο του αερισμού), υπολογίστηκε ίσο με 0,4%. Με βάση το χρόνο παραμονής των στερεών, ο οποίος κατά την περίοδο δειγματοληψίας ανερχόταν σε περίπου 8 ημέρες, η επιστροφή των νηματοειδών βακτηρίων με τις ροές των στραγγιδίων από τα στάδια της μηχανικής πάχυνσης και μηχανικής αφυδάτωσης της ιλύος αντιστοιχούσε κατά την περίοδο της δειγματοληψίας στο περίπου 1,3% της καθημερινά απομακρυνόμενης μάζας των νηματοειδών βακτηρίων με την περίσσεια. Ταυτόχρονα, η ροή μάζας των νηματοειδών που απομακρυνόταν με την περίσσεια ιλύ προς τη συνολική μάζα τους στη δεξαμενή αερισμού ανέρχονταν στο 30% περίπου. Σημειώνεται ότι η ημερήσια ροή μάζας του μικροοργανισμού *G. amarae* στη βιολογική βαθμίδα αυξάνεται σημαντικά αν συνυπολογιστεί και η συμβολή των λυμάτων. Με βάση τις μετρήσεις της συγκέντρωσης του μικροοργανισμού *G. amarae* στα πρωτοβάθμια επεξεργασμένα λύματα η ημερήσια εισερχόμενη μάζα του μικροοργανισμού *G. amarae* στην είσοδο του βιοαντιδραστήρα ανέρχεται στο περίπου 10,7% της καθημερινά απομακρυνόμενης μάζας των νηματοειδών βακτηρίων με την περίσσεια. Στην παρακάτω εικόνα 6.2 απεικονίζονται διαγραμματικά οι ροές μάζας των στερεών και του νηματοειδούς βακτηρίου *G. amarae* όπως υπολογίστηκαν με τη μέθοδο FISH.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΚΕΝΤΡΟΥ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΨΥΤΤΑΛΕΙΑΣ



Εικόνα 6.2: Ισοζύγιο μάζας στερεών και ρών μάζας νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στην Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων της Ψυττάλειας, Q=παροχή, C= συγκέντρωση ολικών στερεών, M=ροή μάζας στερεών και Mf = ροή μάζας νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν κατά FISH.

6.2.3. Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Βόλου

6.2.3.1. Συνοπτική περιγραφή

Η εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της μείζονος περιοχής του Βόλου έχει σχεδιασθεί για να δέχεται συνολική παροχή λυμάτων 32.000 m³/d εξυπηρετώντας ισοδύναμο πληθυσμό ίσο με 135.000 κατοίκους. Σήμερα η εγκατάσταση δέχεται περίπου 30.000 m³/d αστικά λύματα, 1.000 m³/d βιομηχανικά λύματα και 35 m³/d βοθρολύματα.

Το σχήμα επεξεργασίας των λυμάτων που εφαρμόζεται στην ΕΕΛ Βόλου περιλαμβάνει κοινή συλλογή βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων, προεπεξεργασία με εσχάρωση, εξάμμωση και απολίπανση, φυσικο-χημική επεξεργασία με επίπλευση, χημικά υποβοηθούμενη πρωτοβάθμια επεξεργασία και χημική απομάκρυνση φωσφόρου, και τέλος βιολογική επεξεργασία για την απομάκρυνση οργανικού άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου. Μετά την επεξεργασία η τελική εκροή οδηγείται με βαρύτητα σε αντλιοστάσιο τελικής διάθεσης και μέσω καταθλιπτικού αγωγού στα έργα διάθεσης. Η τελική διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται σε βάθος -54 m στο Παγασητικό Κόλπο, στο ακρωτήριο Αγκίστρι μέσω συστήματος υποθαλάσσιου αγωγού διαχυτήρων μήκους 800 m.

Η περίσσεια βιολογική ιλύς καθώς και η πρωτοβάθμια ιλύς των αστικών και βιομηχανικών λυμάτων υπόκεινται σε αναερόβια χώνευση. Στη συνέχεια η χωνευμένη ιλύς οδηγείται στη μονάδα αφυδάτωσης που κατά την περίοδο των δειγματοληψιών αποτελούταν από 1 ταινιοφιλτρόπρεσσα δυναμικότητας 30 m³/h. Η επεξεργασμένη λάσπη, διατίθεται σε ΧΥΤΑ μαζί με τα οικιακά απορρίμματα.

6.2.3.2. Ροές μάζας νηματοειδών ανά θέση δειγματοληψίας

Τα σημεία δειγματοληψίας λυμάτων και ιλύος από την εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων του Βόλου καθορίστηκαν ως ακολούθως:

1. Έξοδος διεργασίας εξάμμωσης
2. Είσοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης

Στους επόμενους πίνακες (6.2 - 6.5) φαίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών ως οι συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών και του όγκου. Από τους πίνακες 6.2-6.5 φαίνεται ότι είναι σημαντική η συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων *G.amarae* και *M. parvicella* στα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης.

Πίνακας 6.2: Συγκέντρωση ανηγμένη στη μάζα πηκτικών στερεών των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / g VSS).

Συγκέντρωση <i>G. amarae</i> (τμήσεις/gVSS)	15/12/06	31/1/07	27/4/07	9/5/07	28/6/07	26/3/08	9/6/08	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΕΞΟΔΟΣ ΑΜΜΟΚΡΑΤΗ	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	1,49E+07	4,76E+06	2,02E+06	0,00E+00	0,00E+00	3,62E+06	5,85E+06	0,00E+00
ΕΞΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	2,02E+06	8,00E+06	5,56E+06	0,00E+00	0,00E+00	2,60E+06	3,42E+06	0,00E+00
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΛΑΣΠΗ	1,76E+06	5,84E+06	4,85E+06	4,95E+06	2,78E+05	4,01E+06	3,61E+06	2,14E+06	1,76E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΜΗΧ. ΠΑΧΥΝΣΗΣ	1,03E+06	7,36E+06	8,89E+05	1,23E+07	6,12E+05	2,25E+07	7,45E+06	8,74E+06	1,03E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΟΠΑΧΥΝΣΗΣ	4,50E+06	6,02E+05	5,50E+06		0,00E+00		2,65E+06	2,76E+06	4,50E+06
ΛΑΣΠΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ	1,33E+07	8,66E+06	3,19E+06	1,55E+07	2,41E+06	6,89E+06	8,32E+06	5,28E+06	1,33E+07
ΕΞΟΔΟΣ ΧΩΝΕΥΤΩΝ	1,52E+07	1,76E+06	3,45E+06	3,62E+06	9,64E+05	4,14E+06	4,86E+06	5,23E+06	1,52E+07
ΛΑΣΠΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ	1,89E+07	6,33E+06	1,71E+06	3,69E+05	1,53E+06	3,36E+06	5,37E+06	6,94E+06	1,89E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΑΠΟ ΠΡΕΣΣΕΣ	2,80E+07	1,15E+08	6,54E+06	3,23E+06	6,56E+06	1,71E+07	2,94E+07	4,28E+07	2,80E+07
ΕΚΡΟΗ Δ.Τ.Κ.	0,00E+00	3,78E+08	0,00E+00	1,25E+07	0,00E+00	0,00E+00	6,50E+07	1,53E+08	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Τ.Κ.	2,22E+07	7,15E+06	7,23E+06	1,08E+07	1,50E+06		9,78E+06	7,69E+06	2,22E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	2,09E+07	9,32E+06	2,19E+06	9,64E+06	7,12E+05	9,57E+06	8,72E+06	7,17E+06	2,09E+07
ΑΦΡΟΣ	4,27E+07	0,00E+00	1,57E+07	1,45E+07	2,86E+06	1,17E+07	1,46E+07	1,51E+07	4,27E+07

Πίνακας 6.3: Συγκέντρωση ανηγμένη στη μάζα πηκτικών στερεών των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / g VSS).

Συγκέντρωση <i>parvicella</i> (τμήσεις/gVSS)	Μ.	15/12/06	31/1/07	27/4/07	9/5/07	26/3/08	9/6/08	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΕΞΟΔΟΣ ΑΜΜΟΚΡΑΤΗ		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.		0,00E+00	1,67E+07	2,70E+07	9,70E+06	1,59E+06	1,09E+06	9,34E+06	1,08E+07
ΕΞΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.		0,00E+00	6,06E+06	2,80E+07	1,00E+07	0,00E+00	0,00E+00	7,34E+06	1,09E+07
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΛΑΣΠΗ		3,52E+06	2,22E+07	1,45E+07	5,30E+06	8,33E+05	1,04E+07	9,46E+06	7,94E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΑΧΥΝΣΗΣ	ΜΗΧ.	1,03E+06	5,25E+06	8,00E+06	2,13E+07	3,47E+06	9,01E+06	8,01E+06	7,15E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΟΠΑΧΥΝΣΗΣ		2,03E+07	4,01E+05	4,03E+07		2,53E+06		1,59E+07	1,86E+07
ΛΑΣΠΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠ.		7,17E+06	1,17E+07	2,38E+07	2,32E+07	2,21E+07	5,61E+06	1,56E+07	8,40E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΧΩΝΕΥΤΩΝ		4,13E+06	2,76E+06	1,47E+07	2,78E+06	9,12E+06	1,43E+07	7,96E+06	5,57E+06
ΛΑΣΠΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ		6,58E+06	1,75E+07	5,50E+06	1,77E+06	2,12E+07	4,97E+06	9,59E+06	7,82E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΣΩΝ		5,31E+06	4,15E+08	6,54E+07	2,90E+07	1,75E+07	2,93E+07	9,36E+07	1,59E+08
ΕΚΡΟΗ Δ.Τ.Κ.		0,00E+00	4,67E+08	1,08E+08	0,00E+00	2,96E+07	3,17E+07	1,06E+08	1,81E+08
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Τ.Κ.		1,57E+07	4,77E+06	6,11E+07	1,36E+08	5,26E+06		4,37E+07	5,70E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ		1,33E+07	1,61E+07	4,13E+07	8,08E+07	1,23E+07	1,04E+07	2,90E+07	2,78E+07
ΑΦΡΟΣ		9,18E+06	0,00E+00	1,87E+08	2,73E+07	5,60E+07		5,59E+07	7,63E+07

Πίνακας 6.4: Συγκέντρωση ανηγμένη στον όγκο του δείγματος των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / L).

Συγκέντρωση <i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	15/12/06	31/1/07	27/4/07	9/5/07	26/3/08	9/6/08	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΕΞΟΔΟΣ ΑΜΜΟΚΡΑΤΗ	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	7,56E+06	1,50E+06	6,67E+05	0,00E+00	0,00E+00	1,62E+06	3,47E+06
ΕΞΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	2,22E+05	1,00E+06	6,67E+05	0,00E+00	0,00E+00	3,15E+05	4,48E+05
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΛΑΣΠΗ	1,82E+07	1,28E+08	5,33E+07	2,80E+07	8,89E+05	5,24E+07	4,68E+07	4,96E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΜΗΧ. ΠΑΧΥΝΣΗΣ	1,33E+05	5,24E+07	4,00E+06	4,80E+07	2,67E+06	6,67E+06	1,90E+07	2,79E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΟΠΑΧΥΝΣΗΣ	1,33E+06	1,01E+07	4,00E+07		0,00E+00		1,29E+07	2,03E+07
ΛΑΣΠΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠ.	3,25E+08	1,59E+08	7,33E+07	1,55E+08	2,67E+07	2,14E+08	1,59E+08	1,06E+08
ΕΞΟΔΟΣ ΧΩΝΕΥΤΩΝ	1,91E+08	2,15E+07	2,00E+07	4,16E+07	9,78E+06	6,67E+07	5,84E+07	8,23E+07
ΛΑΣΠΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ	2,17E+09	7,41E+08	2,21E+08	5,20E+07	1,20E+08	3,82E+08	6,15E+08	9,63E+08
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΣΩΝ	1,93E+07	6,89E+06	3,33E+06	2,00E+06	1,33E+06	6,22E+06	6,52E+06	7,90E+06
ΕΚΡΟΗ Δ.Τ.Κ.	0,00E+00	7,56E+06	0,00E+00	8,00E+05	0,00E+00	0,00E+00	1,39E+06	3,66E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Τ.Κ.	5,41E+07	2,35E+07	2,25E+07	2,40E+07	4,44E+06		2,57E+07	1,54E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	1,92E+08	8,00E+07	1,50E+07	5,12E+07	6,22E+06	1,02E+08	7,44E+07	7,63E+07
ΑΦΡΟΣ	1,02E+09	4,27E+08	3,60E+08	3,20E+08	5,33E+07	4,44E+08	4,38E+08	3,30E+08

Πίνακας 6.5: Συγκέντρωση ανηγγμένη στον όγκο του δείγματος των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΑ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / L).

Συγκέντρωση <i>parvicella</i> (τμήσεις/L)	Μ.	15/12/06	31/1/07	27/4/07	9/5/07	26/3/08	9/6/08	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΕΞΟΔΟΣ ΑΜΜΟΚΡΑΤΗ		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.		0,00E+00	8,44E+06	8,50E+06	3,20E+06	4,44E+05	2,22E+05	3,47E+06	4,05E+06
ΕΞΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.		0,00E+00	6,67E+05	3,50E+06	1,20E+06	0,00E+00	0,00E+00	8,94E+05	1,37E+06
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΛΑΣΠΗ		3,64E+07	4,86E+08	1,60E+08	3,00E+07	2,67E+06	1,36E+08	1,42E+08	1,80E+08
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΑΧΥΝΣΗΣ	ΜΗΧ.	1,33E+05	3,74E+07	3,60E+07	8,32E+07	1,51E+07	2,67E+06	2,91E+07	3,09E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΟΠΑΧΥΝΣΗΣ		6,00E+06	6,74E+06	2,93E+08	0,00E+00	8,89E+05		6,14E+07	1,30E+08
ΛΑΣΠΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠ.		1,76E+08	2,15E+08	5,47E+08	2,32E+08	2,45E+08	1,74E+08	2,65E+08	1,41E+08
ΕΞΟΔΟΣ ΧΩΝΕΥΤΩΝ		5,18E+07	3,37E+07	8,50E+07	3,20E+07	9,24E+07	2,31E+08	8,77E+07	7,47E+07
ΛΑΣΠΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ		7,57E+08	2,04E+09	7,11E+08	2,50E+08	1,66E+09	5,64E+08	9,98E+08	6,96E+08
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΣΩΝ		3,67E+06	2,49E+07	3,33E+07	1,80E+07	3,56E+06	1,07E+07	1,57E+07	1,20E+07
ΕΚΡΟΗ Δ.Τ.Κ.		0,00E+00	9,33E+06	2,80E+06	0,00E+00	4,44E+05	2,22E+05	2,13E+06	3,68E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Τ.Κ.		3,83E+07	1,57E+07	1,90E+08	3,02E+08	1,56E+07		1,09E+08	1,32E+08
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ		1,22E+08	1,38E+08	2,83E+08	4,29E+08	1,08E+08	1,11E+08	1,98E+08	1,31E+08
ΑΦΡΟΣ		2,20E+08	2,50E+08	4,30E+09	6,00E+08	1,04E+09		1,28E+09	1,72E+09

Στους πίνακες 6.2-6.5 μπορεί κανείς να παρατηρήσει τις υψηλές συγκεντρώσεις νηματοειδών στην είσοδο της πρωτοβάθμιας καθίζησης, η οποία οφείλεται στις υψηλές συγκεντρώσεις των νηματοειδών που επιστρέφουν με τα στραγγίδια από τη γραμμή ιλύος. Οι υψηλές αυτές συγκεντρώσεις μετρώνται και στην εκροή λυμάτων της μονάδας αλλά κυρίως στην πρωτοβάθμια ιλύ, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στη δοσομέτρηση κροκιδωτικού στην εκροή του αμμοκράτη που ενισχύει την κροκίδωση των νηματοειδών.

Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν οι ροές μάζας των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις τους με τη μέθοδο FISH ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου και παρουσιάζονται στους επόμενους πίνακες 6.6- 6.7. Καθώς δεν υπάρχουν μετρήσεις παροχών από την ΕΕΛ Βόλου, παρά μόνο της συνολικής παροχής εισερχόμενων λυμάτων, οι υπόλοιπες παροχές υπολογίστηκαν από τα ισοζύγια μάζας των στερεών βάσει των μέσων όρων των συγκεντρώσεων των ολικών αιωρούμενων στερεών που μετρήθηκαν στην παρούσα εργασία. Οι συγκεντρώσεις της παχυμένης ιλύος από το στατικό και το μηχανικό παχυντή καθώς και της αφυδατωμένης ιλύος μετρήθηκαν στο εργαστήριο της ΕΕΛ Βόλου.

Πίνακας 6.6: Ροές μάζας σε τμήσεις ανά ημέρα των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου.

	Δεκ-06	Ιαν-07	Απρ-07	Μαϊ-07	Μαρ-08	Ιουν-08	Μέσος όρος
ΕΞΟΔΟΣ ΑΜΜΟΚΡΑΤΗ	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	2,33E+14	4,64E+13	2,10E+13	0,00E+00	0,00E+00	5,01E+13
ΕΞΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	6,74E+12	3,04E+13	2,03E+13	0,00E+00	0,00E+00	9,57E+12
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΛΑΣΠΗ	2,30E+12	6,72E+13	3,00E+13	2,75E+13	1,49E+12	7,84E+12	2,27E+13
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΜΗΧ. ΠΑΧΥΝΣΗΣ	4,07E+10	2,22E+13	2,04E+12	2,34E+13	8,47E+11	1,46E+12	8,33E+12
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΟΠΑΧΥΝΣΗΣ	1,65E+11	2,43E+12	1,68E+13				6,46E+12
ΛΑΣΠΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠ.	2,45E+12	4,90E+13	1,20E+13	1,52E+14	6,60E+12	3,61E+13	4,31E+13
ΕΞΟΔΟΣ ΧΩΝΕΥΤΩΝ	1,44E+12	6,61E+12	3,27E+12	4,08E+13	2,42E+12	1,12E+13	1,10E+13

Πίνακας 6.6: Ροές μάζας σε τμήσεις ανά ημέρα των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου.

ΛΑΣΠΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ	1,64E+12	2,22E+13	1,45E+12	4,80E+12	3,78E+12	8,94E+12	7,13E+12
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΣΩΝ	1,31E+11	1,92E+12	5,24E+11	1,78E+12	2,88E+11	9,01E+11	9,23E+11
ΕΚΡΟΗ Δ.Τ.Κ.	0,00E+00	2,26E+14	0,00E+00	2,40E+13	0,00E+00	0,00E+00	4,16E+13
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Τ.Κ.	1,64E+15	7,13E+14	6,83E+14	7,31E+14	1,25E+14	0,00E+00	6,48E+14
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	5,95E+13	3,58E+13	7,96E+12	2,50E+13	2,46E+12	3,24E+13	2,72E+13

Πίνακας 6.7: Ροές μάζας σε τμήσεις ανά ημέρα των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου.

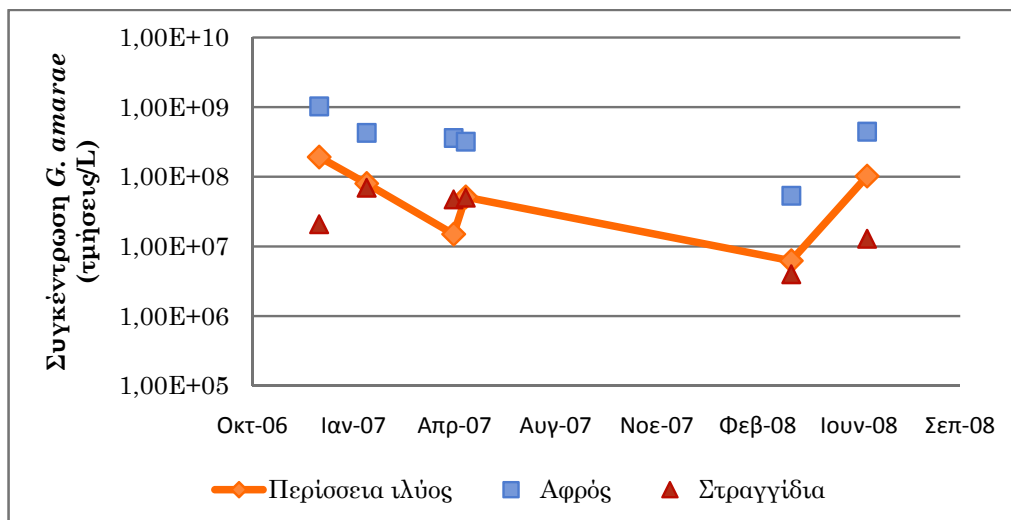
	Δεκ-06	Ιαν-07	Απρ-07	Μαΐ-07	Μαρ-08	Ιουν-08	Μέσος όρος
ΕΞΟΔΟΣ ΑΜΜΟΚΡΑΤΗ	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	2,60E+14	2,63E+14	1,01E+14	1,33E+13	6,64E+12	1,07E+14
ΕΞΟΔΟΣ Δ.Π.Κ.	0,00E+00	2,02E+13	1,06E+14	3,65E+13	0,00E+00	0,00E+00	2,72E+13
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΛΑΣΠΗ	4,60E+12	2,55E+14	9,01E+13	2,94E+13	4,48E+12	2,03E+13	6,74E+13
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΜΗΧ. ΠΑΧΥΝΣΗΣ	4,07E+10	1,59E+13	1,84E+13	4,05E+13	4,80E+12	5,83E+11	1,34E+13
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΟΠΑΧΥΝΣΗΣ	7,43E+11	1,62E+12	1,23E+14	0,00E+00	1,34E+12	0,00E+00	2,11E+13
ΛΑΣΠΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ	1,33E+12	6,63E+13	8,94E+13	2,28E+14	6,07E+13	2,93E+13	7,91E+13
ΕΞΟΔΟΣ ΧΩΝΕΥΤΩΝ	3,91E+11	1,04E+13	1,39E+13	3,14E+13	2,29E+13	3,89E+13	1,96E+13
ΛΑΣΠΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ	5,71E+11	6,12E+13	4,65E+12	2,31E+13	5,23E+13	1,32E+13	2,58E+13
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΑΠΟ ΠΡΕΣΣΕΣ	2,49E+10	6,92E+12	5,24E+12	1,60E+13	7,68E+11	1,54E+12	5,08E+12
ΕΚΡΟΗ Δ.Τ.Κ.	0,00E+00	2,79E+14	8,35E+13	0,00E+00	1,24E+13	6,54E+12	6,35E+13
ΕΙΣΟΔΟΣ Δ.Τ.Κ.	1,16E+15	4,76E+14	5,77E+15	9,20E+15	4,39E+14	0,00E+00	2,76E+15
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	3,77E+13	6,16E+13	1,50E+14	2,09E+14	4,25E+13	3,52E+13	8,93E+13

Από τα δεδομένα των πινάκων 6.6 - 6.7 προκύπτει ότι η ροή μάζας των νηματοειδών που επιστρέφουν με τα στραγγίδια στην πρωτοβάθμια καθίζηση ισούται με 3,2E+13 τμήσεις ανά ημέρα ενώ το άθροισμα των νηματοειδών που

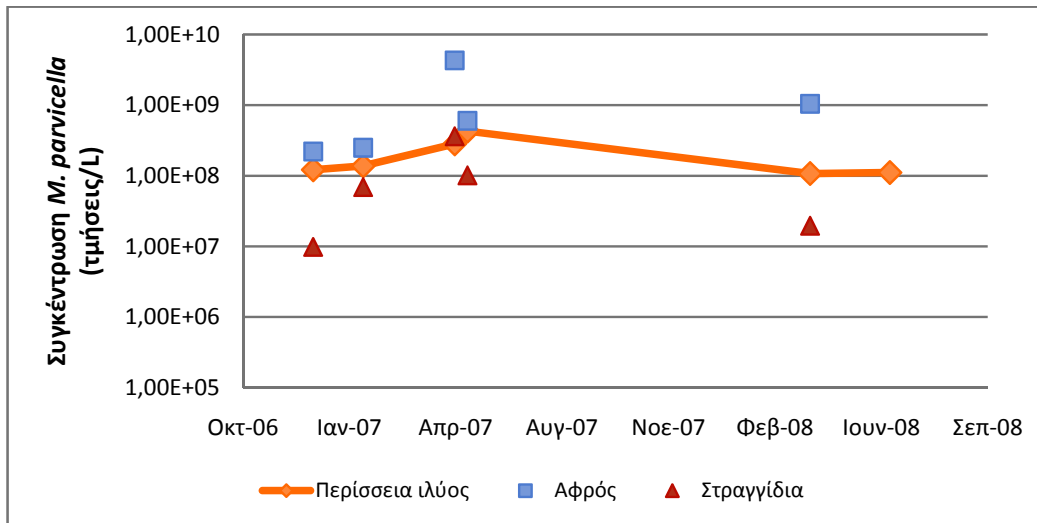
εκρέουν από τη μονάδα ισούται με $1,3E+14$ τμήσεις ανά ημέρα. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ή ότι υπάρχει ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών στην πρωτοβάθμια επεξεργασία λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων λιπών που έχουν αναφερθεί να ευνοούν την ανάπτυξη των νηματοειδών (Frison, 2006) ή ότι οι υπό εξέταση νηματοειδείς μικροοργανισμοί εισέρχονται με τα λύματα στην ΕΕΛ. Οι παραπάνω υποθέσεις δε διερευνήθηκαν περαιτέρω στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Εποχιακή διακύμανση

Από τους πίνακες 6.2 - 6.5 που παρουσιάστηκαν παραπάνω παρατηρείται διακύμανση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών σε εποχιακή βάση, η οποία απεικονίζεται στο παρακάτω γράφημα 6.1. Πιο συγκεκριμένα, στο γράφημα 6.1 παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του μικροοργανισμού *G. amarae* στην περίσσεια ιλύος από το Δεκέμβριο μέχρι τον Απρίλιο 2007 ενώ παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσής του τον Μάιο 2007 καθώς επίσης και από τον Μάρτιο μέχρι τον Ιούνιο 2008. Φαίνεται συνεπώς, ότι η συγκέντρωση του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* αυξάνει κατά τους θερινούς μήνες. Από την άλλη και όπως φαίνεται στο επόμενο γράφημα 6.2 η συγκέντρωση του νηματοειδούς *M. parvicella* αυξάνεται από το Δεκέμβριο 2007 μέχρι το Μάιο 2007 ενώ μειώνεται από το Μάρτιο έως τον Ιούνιο του 2008 και άρα φαίνεται ότι η συγκέντρωσή του αυξάνεται κατά τους χειμερινούς μήνες.



Γράφημα 6.1: Συσχέτιση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* στην περίσσεια ιλύος, στα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης που ανακυκλοφορούν ανάντι της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας καθώς και στον αφρό που σχηματίζεται στην επιφάνεια των δεξαμενών βιολογικής επεξεργασίας.

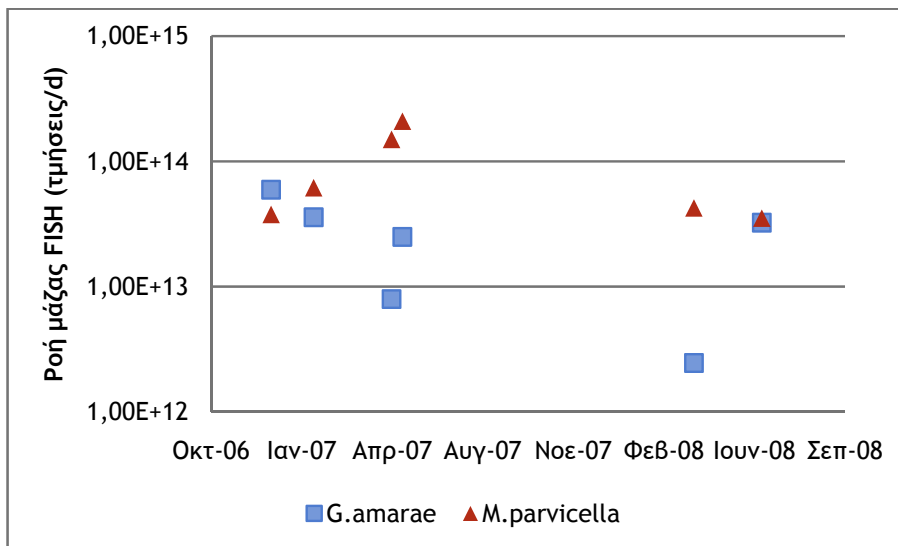


Γράφημα 6.2: Συσχέτιση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* στην περίσσεια ιλύος, στα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης που επανακυκλοφορούν στην ΕΕΛ Βόλου καθώς και στον αφρό που σχηματίζεται στην επιφάνεια των δεξαμενών.

Στο επόμενο γράφημα 6.3, απεικονίζονται συγκριτικά οι ροές μάζας των δύο νηματοειδών που παρουσιάστηκαν αναλυτικά στους πίνακες 6.6 και 6.7. Στο γράφημα φαίνεται ότι υπάρχει μια ανταγωνιστική τάση ως προς την ανάπτυξη των δύο νηματοειδών, η οποία μπορεί να οφείλεται στην εποχιακή διακύμανσή τους. Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης ο μικροοργανισμός *G. amarae* αναπτύσσεται σε θερμοκρασιακό εύρος 23°-37°C, με βέλτιστη θερμοκρασία τους 28°C ενώ η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξής του είναι 10 - 15°C (Soddell and Seviour, 1990). Από την άλλη ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 22°C ενώ παρουσιάζει σημαντική ανάπτυξη μέχρι και τους 7°C. Η προτίμηση του βακτηρίου *G. amarae* για υψηλότερες θερμοκρασίες εξηγεί πιθανόν την επικράτησή του στις θερμότερες αμερικανικές πολιτείες κυρίως τη θερινή περίοδο (Pitt και Jenkins, 1990, στην California - Jones *et al.*, 2003, Jolis *et al.*, 2007, στο Illinois - Oerther *et al.*, 2000, De los Reyes III και Raskin, 2002, Frigon *et al.*, 2006) σε αντίθεση με το *M. parvicella* που επικρατεί στις ψυχρότερες ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως τη χειμερινή περίοδο (Westlund *et al.*, 1998, Andreadakis *et al.*, 1999, Andreasen and Nielsen, 2000).

Επιπλέον, παρόλο που και οι δύο μικροοργανισμοί έχουν αναφερθεί να ευνοούνται από την αυξημένη συγκέντρωση των λιπών λόγω της υδροφοβικής τους επιφάνειας και της πλεονεκτικής προσβασιμότητας που έχουν έναντι των συσσωματούμενων

Βακτηρίων (Andreasen και Nielsen, 2000, Frigon *et al.*, 2006), ωστόσο παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς την κινητική τους. Έτσι, ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει υψηλότερες τιμές K_s και άρα μεγαλύτερη ικανότητα λήψης του υποστρώματος, γεγονός που, σε συνδυασμό με τις μικρότερες θερμοκρασίες ανάπτυξής του, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα στις χαμηλές θερμοκρασίες λόγω και της μικρότερης διαλυτότητας των λιπών στις θερμοκρασίες αυτές. Από την άλλη, ο μικροοργανισμός *G. amarae* παρουσιάζει μεγαλύτερες ταχύτητες ανάπτυξης, γεγονός που σε συνδυασμό με τις υψηλότερες βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξής του και του υψηλότερου ρυθμού υδρόλυσης των λιπών σ' αυτές τις υψηλότερες θερμοκρασίες, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα έναντι του *M. parvicella*.



Γράφημα 6.3: Συσχέτιση των ροών μάζας στην περίσσεια ιλύος των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* συναρτήσει του χρόνου.

Ποσοστά ανακυκλοφορίας και απομάκρυνσης νηματοειδών

Από τα γραφήματα 6.1 και 6.2 που παρουσιάστηκαν παραπάνω μπορεί κανείς να διαπιστώσει τη συνδιακύμανση της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων στην περίσσεια και επομένως και στο ανάμικτο υγρό με την αντίστοιχη συγκέντρωσή τους στον αφρό που συγκεντρώνεται στην επιφάνεια των δεξαμενών δευτεροβάθμιας επεξεργασίας. Οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί βρίσκονται σε ισορροπία στον αφρό και στο ανάμικτο υγρό και επομένως το σύστημα

επανατροφοδοτείται συνεχώς με τους μικροοργανισμούς που έχουν συγκεντρωθεί στον αφρό, ο οποίος παγιδεύεται στη δευτεροβάθμια διεργασία.

Επίσης, από τα γραφήματα 6.1 και 6.2 φαίνεται και η επανατροφοδότηση του συστήματος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G.amarae* και *M. parvicella* μέσω των ροών των στραγγιδίων. Στον παρακάτω πίνακα 6.8 υπολογίζεται ο συντελεστής Pearson για τον προσδιορισμό της συσχέτισης της συγκέντρωσης των νηματοειδών στην περίσσεια και στα ρεύματα των στραγγιδίων.

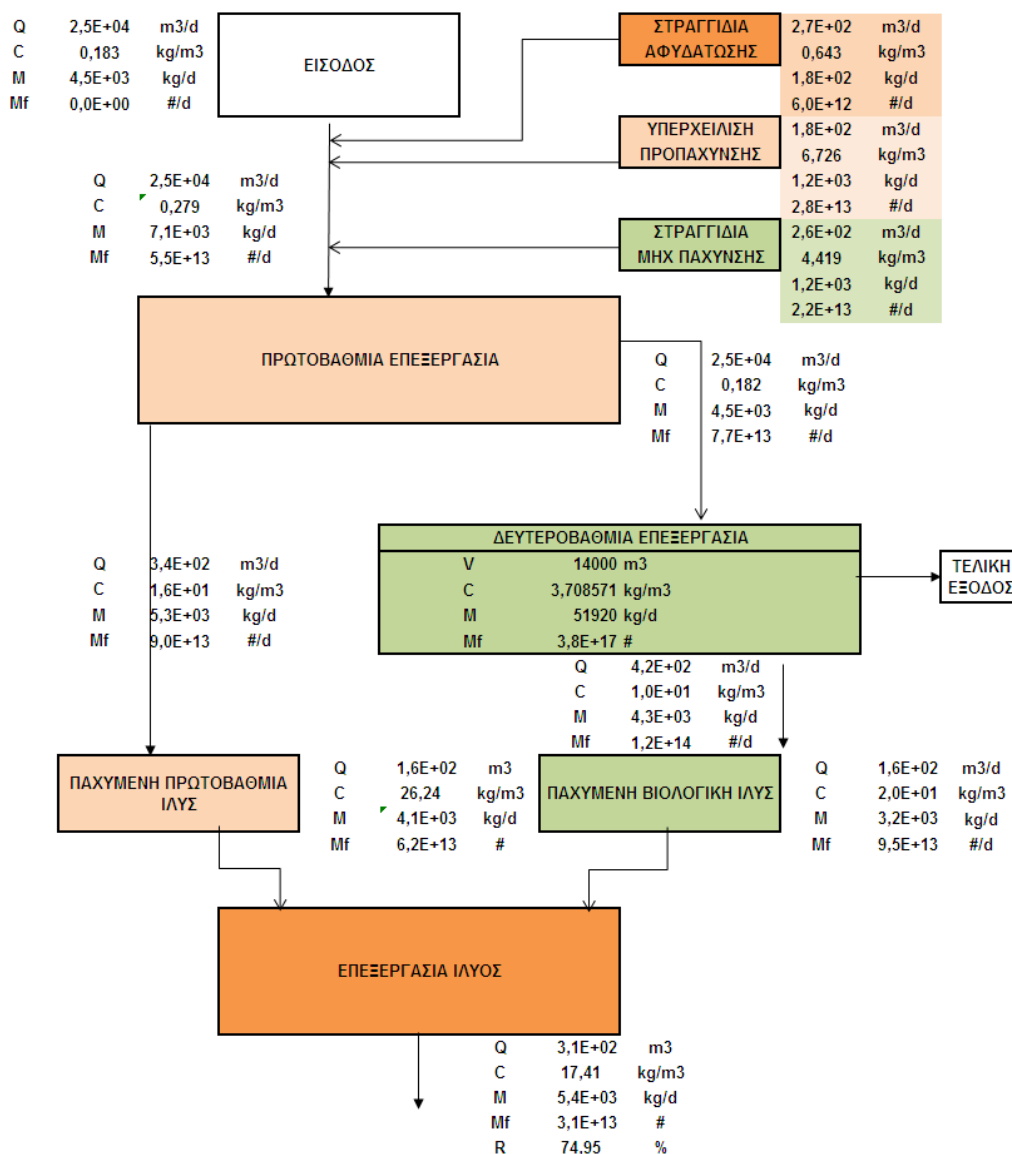
Πίνακας 6.8: Υπολογισμός συντελεστή συσχέτισης της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* στην περίσσεια δευτεροβάθμιας ιλύος και στα στραγγίδια από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης

Συντελεστής Pearson συγκέντρωσης νηματοειδών στην περίσσεια	<i>M. Parvicella</i>	<i>G. amarae</i>
με το σύνολο των στραγγιδίων	0,02	0,47
με τα στραγγίσματα προπάχυνσης	0,25	-0,94
με τα στραγγίσματα μηχανικής πάχυνσης	0,95	0,08
με τα στραγγίσματα αφυδάτωσης	0,93	0,90

Από τον πίνακα διαπιστώνει κανείς τον υψηλό βαθμό συσχέτισης των συγκεντρώσεων των νηματοειδών στην περίσσεια με τα στραγγίσματα της αφυδάτωσης και για τους δύο νηματοειδείς μικροοργανισμούς ενώ για τον *M. parvicella*, ο οποίος βρισκόταν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών, παρατηρείται έντονη συσχέτιση και με τα στραγγίδια της μηχανικής πάχυνσης της βιολογικής ιλύος.

Η εν λόγω επανατροφοδότηση φαίνεται και στην εικόνα 6.4 που ακολουθεί στην οποία απεικονίζονται οι μέσοι όροι των ροών μάζας στερεών καθώς και των ροών μάζας των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* όπως προσδιορίστηκαν ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου με βάση τις μετρήσεις των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων και των παροχών.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΒΟΛΟΥ



Εικόνα 6.4: Σχηματική απεικόνιση των ροών μάζας στερεών και του αθροίσματος των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας λυμάτων στην ΕΕΑ Βόλου (Q=παροχή, C= συγκέντρωση ολικών στερεών, M=ροή μάζας στερεών και Mf = ροή μάζας νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν κατά FISH).

Στη συνέχεια υπολογίστηκαν τα ποσοστά επανατροφοδότησης των νηματοειδών βακτηρίων που επιστρέφουν με τις ροές των στραγγιδίων στη δευτεροβάθμια επεξεργασία, τα οποία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα 6.9. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζονται οι επιστροφές των νηματοειδών βακτηρίων με τις ροές των στραγγιδίων ως η ημερήσια ροή μάζας του κάθε νηματοειδούς βακτηρίου στα στραγγίδια (τμήσεις FISH ημερησίως) προς το άθροισμα της μάζας τους στη

δεξαμενή αερισμού (τμήσεις FISH ανά όγκο δείγματος επί τον όγκο του αερισμού). Επίσης, υπολογίζεται η ημερήσια απομάκρυνση των νηματοειδών βακτηρίων με την περίσσεια ιλύ προς τη συνολική μάζα και των δύο νηματοειδών βακτηρίων στη δεξαμενή αερισμού.

Πίνακας 6.9: Ποσοστά επανατροφοδότησης δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* στην ΕΕΛ Βόλου.

	Δεκ-06	Ιαν-07	Απρ-07	Μαϊ-07	Μαρ-08
% επιστροφής <i>G. amarae</i> με τα στραγγίδια στη ΙΙβαθμια διεργασία	0,0%	8,1%	6,1%	7,5%	1,8%
% απομάκρυνσης <i>G. amarae</i> με την περίσσεια	7,8%	10,9%	2,5%	7,4%	4,0%
% επιστροφής <i>M. parvicella</i> με τα στραγγίδια στη ΙΙβαθμια διεργασία	0,2%	11,1%	5,5%	1,3%	3,2%
% απομάκρυνσης <i>M. parvicella</i> με την περίσσεια	7,0%	28,1%	5,6%	4,9%	19,5%

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι το ποσοστό επανατροφοδότησης της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με νηματοειδείς κυμαίνεται μεταξύ 0,0 και 8,1% για το βακτήριο *G. amarae* και μεταξύ 0,2 και 11,1% για το βακτήριο *M. parvicella* ενώ αντίστοιχα οι ρυθμοί απομάκρυνσής τους με την περίσσεια είναι 2,5 - 10,0% και 4,9 - 28,1%. Με βάση τους ανωτέρω υπολογισμούς η επιστροφή του *G. amarae* και *M. parvicella* με το σύνολο των στραγγιδίων από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος ανέρχεται κατά μέσο όρο στο 58% και στο 44%, αντίστοιχα της καθημερινά απομακρυνόμενης μάζας των νηματοειδών βακτηρίων με την περίσσεια. Τα ποσοστά επανατροφοδότησης της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με νηματοειδείς είναι μεγαλύτερα από το αντίστοιχο ποσοστό που υπολογίστηκε για την ΕΕΛ της Ψυττάλειας (0,4%) για το μικροοργανισμό *G. amarae*. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το μικρότερα ποσοστά απομάκρυνσης των νηματοειδών μέσω της περίσσειας ιλύος σε σχέση με της Ψυττάλειας (30%), φαίνεται να συμφωνεί με τα μεγαλύτερα προβλήματα αφρισμού που περιστασιακά αντιμετώπιζε η ΕΕΛ Βόλου κατά τη χρονική περίοδο των δειγματοληψιών (Δεκέμβριος 2006 - Μάρτιος 2008).

6.2.4. Εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων Χαλκίδας

6.2.4.1. Συνοπτική περιγραφή της ΕΕΛ

Η εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων του Δήμου Χαλκιδέων επεξεργάζεται βοθρολύματα και αστικά λύματα της ευρύτερης περιοχής της πόλης της Χαλκίδας. Η εν λόγω μονάδα έχει κατασκευασθεί επί της νήσου Πασά, η οποία βρίσκεται στο μυχό του νότιου Ευβοϊκού κόλπου και σε απόσταση 395 m από την Ευβοϊκή ακτή και 465 m από τη Βοιωτική ακτή.

Αν και το μεγαλύτερο ποσοστό των επιμέρους μονάδων της ΕΕΛ βρίσκεται στο νησί, ωστόσο ο χώρος εκκένωσης των βυτίων, τα έργα προεπεξεργασίας των βοθρολυμάτων και τα αντίστοιχα έργα για τα αστικά λύματα είναι τοποθετημένα επί της Ευβοϊκής ακτής. Η προεπεξεργασία των βοθρολυμάτων περιλαμβάνει εσχάρωση, εξάμμωση και απολίπανση. Μετά την εξάμμωση - απολίπανση, τα βοθρολύματα οδηγούνται σε δεξαμενή εξισορρόπησης. Επίσης, τα λύματα από το αντλιοστάσιο του δικτύου αποχέτευσης της πόλης καταλήγουν στο φρεάτιο άφιξης αστικών λυμάτων της εγκατάστασης και θραύσης της πίεσης. Από εκεί διανέμονται σε δύο διώρυγες εσχάρωσης και ακολούθως στην εξάμμωση - απολίπανση.

Η πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια επεξεργασία των λυμάτων γίνεται σε δύο πλήρως ανεξερτητοποιημένες γραμμές επεξεργασίας. Πιο συγκεκριμένα, τα λύματα οδηγούνται σε δύο δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης, μία ανά γραμμή επεξεργασίας, στις οποίες επιστρέφει και συγκαθιζάνει μαζί με την πρωτοβάθμια και η περίσσεια δευτεροβάθμια ιλύς. Μετά την πρωτοβάθμια καθίζηση τα λύματα διοχετεύονται σε δύο παράλληλους βιολογικούς αντιδραστήρες καθένας από τους οποίους αποτελείται από μια αερόβια, μια ανοξική και μια αναερόβια ζώνη και στη συνέχεια στις δεξαμενές τελικής καθίζησης.

Ανάντι της πρωτοβάθμιας επεξεργασίας, επανακυκλοφορούν τα στραγγίδια από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος, τα οποία μοιράζονται στις δύο γραμμές επεξεργασίας των λυμάτων. Λόγω ανισοκατανομής των φορτίων στερεών μεταξύ των δύο γραμμών επεξεργασίας, η πρωτοβάθμια δεξαμενή καθίζησης της γραμμής Α, επιτυγχάνει χαμηλότερη απομάρυνση στερεών με αποτέλεσμα ένα σημαντικό μέρος της περίσσειας ιλύος να επιστρέφει στη δευτεροβάθμια επεξεργασία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η γραμμή Α να λειτουργεί με σημαντικά υψηλότερο χρόνο

παραμονής στερεών από τη γραμμή Β. Λόγω αυτής της διαφοράς λειτουργίας μεταξύ των δύο γραμμών αποφασίσθηκε η λήψη διαφορετικών δειγμάτων από την κάθε γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων ώστε να είναι δυνατή η διερεύνηση της επίδρασης του διαφορετικού χρόνου παραμονής των στερεών στα φαινόμενα νηματοειδούς αφρισμού.

Η τελική εκροή κλωριώνεται πριν τη διάθεσή της. Η ιλύς από τις δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης οδηγείται σε παχυντές βαρύτητας, σε κωνευτές και τέλος υφίσταται αφυδάτωση σε πρέσες.

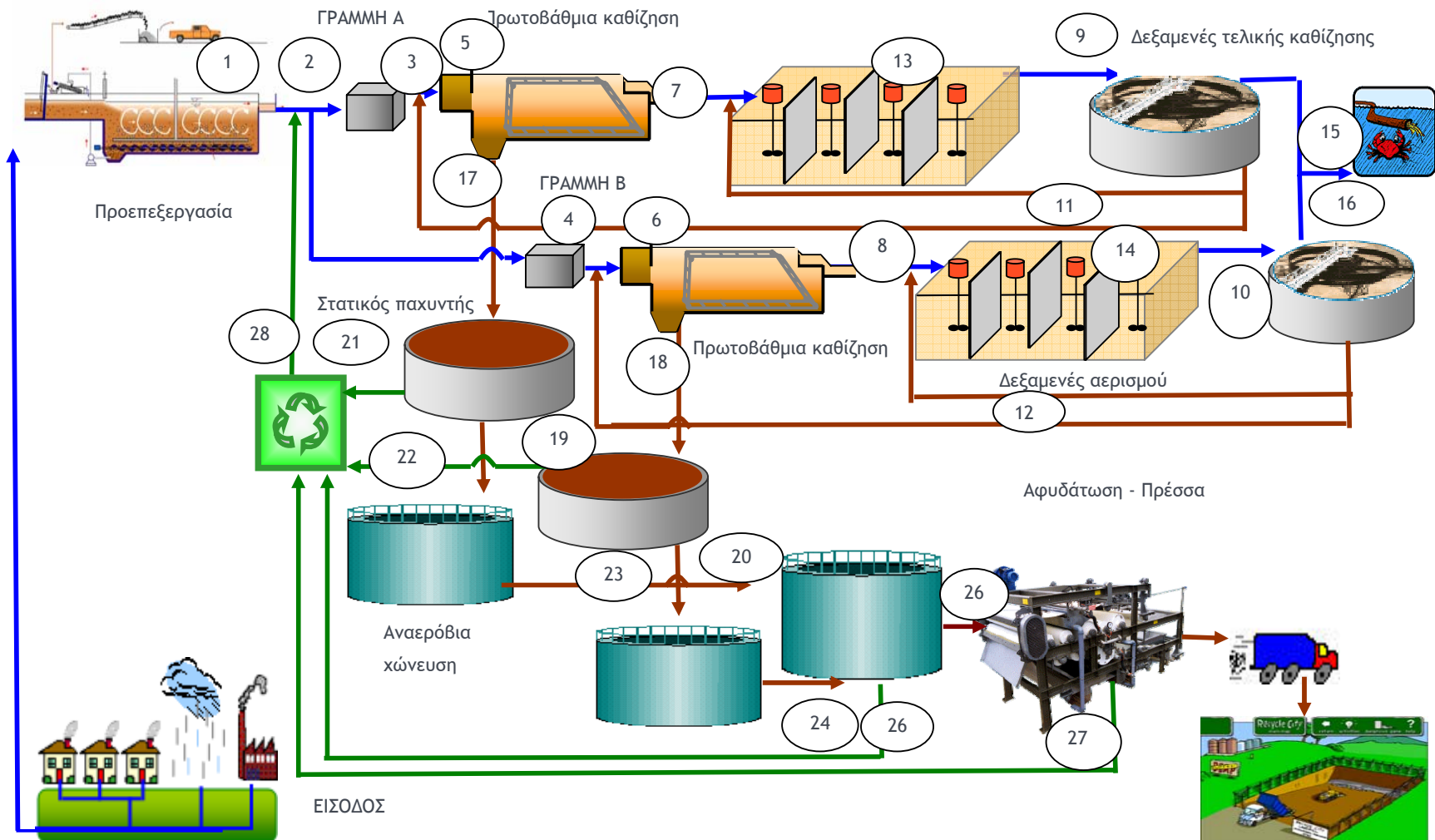
6.2.4.2. Ροές μάζας νηματοειδών ανά θέση δειγματοληψίας

Τα σημεία δειγματοληψίας ορίστηκαν ως η είσοδος και η έξοδος κάθε επιμέρους διεργασίας και στις δύο γραμμές επεξεργασίας της ΕΕΛ Χαλκίδας. Έτσι συνολικά λαμβάνονταν τα εξής 28 δείγματα σε μηνιαία βάση από τον Οκτώβριο του 2006 έως και το Μάιο του 2007:

29. Έξοδος αστικών λυμάτων και βοθρολυμάτων από την προεπεξεργασία
30. Προεπεξεργασμένα λύματα και στραγγίδια
31. Φρεάτιο φόρτισης δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης πρώτης γραμμής
32. Φρεάτιο φόρτισης δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης δεύτερης γραμμής
33. Είσοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης πρώτης γραμμής
34. Είσοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης δεύτερης γραμμής
35. Έξοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης πρώτης γραμμής
36. Έξοδος δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης δεύτερης γραμμής
37. Δεξαμενή αερισμού πρώτης γραμμής
38. Δεξαμενή αερισμού δεύτερης γραμμής
39. Περίσσεια πρώτης γραμμής
40. Περίσσεια δεύτερης γραμμής
41. Νηματοειδής αφρός από τη δεξαμενή αερισμού πρώτης γραμμής
42. Νηματοειδής αφρός από τη δεξαμενή αερισμού δεύτερης γραμμής
43. Έξοδος δεξαμενής τελικής καθίζησης πρώτης γραμμής

44. Έξοδος δεξαμενής τελικής καθίζησης δεύτερης γραμμής
45. Πρωτοβάθμια ιλύς πρώτης γραμμής
46. Πρωτοβάθμια ιλύς δεύτερης γραμμής
47. Παχυμένη ιλύς πρώτης γραμμής
48. Παχυμένη ιλύς δεύτερης γραμμής
49. Υπερχείλιση παχυντή πρώτης γραμμής
50. Υπερχείλιση παχυντή δεύτερης γραμμής
51. Χωνεμένη ιλύς πρώτης γραμμής
52. Χωνεμένη ιλύς δεύτερης γραμμής
53. Υπερχείλιση δευτεροβάθμιου χωνευτή
54. Είσοδος στην πρέσα αφυδάτωσης ιλύος
55. Στραγγίδια πρέσας αφυδάτωσης ιλύος
56. Σύνολο στραγγιδίων

Στην παρακάτω εικόνα 6.5 απεικονίζεται το διάγραμμα ροής της ΕΕΛ Χαλκίδας και σημειώνονται τα σημεία δειγματοληψίας.



Εικόνα 6.5: Διάγραμμα ροής της ΕΕΑ Χαλκίδας στο οποίο φαίνονται τα σημεία δειγματοληψίας από τις δύο γραμμές της εγκατάστασης.

Στους παρακάτω πίνακες 6.10 - 6.17 φαίνονται οι τιμές των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH για τις γραμμές 1 και 2 της εγκατάστασης. Στη συνέχεια υπολογίζονται οι ροές μάζας των νηματοειδών βάσει των συγκεντρώσεων που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH επί τις αντίστοιχες παροχές και παρουσιάζονται στους πίνακες 6.18 - 6.21.

Πίνακας 6.10: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* ανηγμένες στη μάζα των πηκτικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ		1,74E+06	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	–	0,00E+00	3,48E+05	7,79E+05
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,10E+06	1,07E+07		5,12E+06	3,09E+06	–	2,44E+06	5,09E+06	3,29E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,77E+07	7,83E+06	3,26E+06	4,85E+06	5,02E+06	–	3,66E+06	7,05E+06	5,45E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	7,64E+05	4,73E+06		3,42E+06	3,48E+06	–	2,33E+06	2,94E+06	1,49E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	4,74E+06	3,27E+06	6,45E+06	7,20E+06	2,19E+06	–	3,64E+06	4,58E+06	1,93E+06
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	3,98E+06	4,21E+06	5,66E+06	4,92E+06	3,21E+06	4,44E+06	4,03E+06	4,35E+06	7,75E+05
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	–	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	1,29E+06	2,74E+06	2,35E+06	4,44E+06	1,67E+06	–	6,03E+06	3,09E+06	1,81E+06
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	5,13E+05	6,15E+06	5,27E+06	6,01E+06	3,26E+06	–		4,24E+06	2,38E+06
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	2,50E+06	3,46E+06	5,55E+06	1,66E+06	7,05E+05	–		2,77E+06	1,86E+06
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	1,21E+06	2,30E+06	2,75E+06		5,70E+06	–		2,99E+06	1,92E+06
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	5,92E+05	4,17E+06	2,16E+06	7,49E+05	5,94E+06	–		2,72E+06	2,30E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	9,18E+05	9,58E+06	1,87E+06	1,65E+06	4,06E+06	4,92E+06	1,74E+06	3,53E+06	3,03E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ		1,33E+07	2,81E+06	1,87E+06	2,56E+06	–		5,14E+06	5,47E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,20E+07	6,11E+07	1,29E+07	5,29E+05	–		2,16E+07	2,69E+07
ΑΦΡΟΣ	2,26E+07	2,76E+07	6,67E+07	2,22E+07		1,49E+07		3,08E+07	2,06E+07

Πίνακας 6.11: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* ανηγμένες στη μάζα των πηκτικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	1,01E+06	1,39E+06	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	–	0,00E+00	4,00E+05	6,31E+05
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,10E+06	1,07E+07		5,12E+06	3,09E+06	–	2,44E+06	5,09E+06	3,29E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,11E+07	3,59E+06	3,95E+06	3,81E+06	3,11E+06	–	2,91E+06	4,74E+06	3,13E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	6,01E+07	4,17E+06	5,68E+06	3,17E+06	6,99E+05	–	7,02E+06	1,35E+07	2,29E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	6,12E+06		4,41E+05	1,69E+06	1,43E+06	–	2,31E+06	2,40E+06	2,19E+06
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	2,76E+06	9,18E+06	2,37E+06	2,67E+06	1,82E+06	2,34E+06	3,77E+06	3,56E+06	2,55E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	1,07E+07	6,59E+06	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	–	0,00E+00	2,88E+06	4,64E+06
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	9,95E+05	4,07E+06	4,33E+06	1,72E+06	2,42E+06	–	5,13E+06	3,11E+06	1,63E+06
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	1,48E+06	5,76E+06	2,62E+06	3,17E+06	2,34E+06	–		3,08E+06	1,62E+06
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	2,37E+06	3,40E+06	2,82E+06	2,77E+06	1,72E+06	–		2,62E+06	6,22E+05
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	6,35E+05	8,77E+05	2,29E+06	6,42E+06	3,94E+06	–		2,83E+06	2,40E+06
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	6,57E+05	4,17E+06	2,16E+06	1,50E+06	1,55E+06	–		2,01E+06	1,32E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	9,18E+05	9,58E+06	1,87E+06	1,10E+06	4,44E+06	4,92E+06	1,74E+06	3,51E+06	3,11E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	2,51E+05	1,33E+07	2,81E+06	1,40E+06	4,49E+06	–		4,46E+06	5,21E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,20E+07	6,11E+07	1,81E+07	5,08E+07	–		3,55E+07	2,41E+07
ΑΦΡΟΣ	2,09E+07	1,23E+07	2,44E+07	1,27E+07		6,82E+06		1,54E+07	7,11E+06

Πίνακας 6.12: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	0,00E+00		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,10E+06	2,14E+07		3,72E+07	4,25E+07		1,54E+07	2,41E+07	1,57E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	6,44E+06	1,83E+07	7,04E+06	2,46E+07	3,04E+07		1,56E+07	1,71E+07	9,52E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ		8,67E+06		2,22E+07	2,92E+07		1,11E+07	1,78E+07	9,61E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	5,56E+06	1,68E+07	2,77E+07	5,33E+07	1,59E+07		2,36E+07	2,38E+07	1,63E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	7,37E+05	5,96E+06	2,36E+07	2,76E+07	1,32E+07	1,95E+07	2,16E+07	1,61E+07	9,82E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	7,58E+05	7,31E+06	1,51E+07	2,11E+07	1,31E+07		1,14E+07	1,15E+07	6,93E+06
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	4,49E+05	1,44E+07	1,16E+07	7,84E+06	2,16E+07			1,12E+07	7,81E+06
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	9,20E+05	6,17E+06	1,05E+07	1,85E+07	3,52E+07			1,43E+07	1,34E+07
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	6,75E+05	9,20E+05	7,10E+06	5,43E+06	2,60E+07			8,02E+06	1,04E+07
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	9,64E+05	8,75E+06	8,35E+06	1,01E+07	1,55E+07			8,74E+06	5,20E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,59E+05	1,17E+07	6,01E+06	3,56E+07	2,16E+07	3,13E+07	1,78E+07	1,78E+07	1,28E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	5,02E+05	1,07E+07	1,15E+07	1,96E+07	3,25E+07			1,50E+07	1,19E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,31E+07	4,44E+07	4,08E+07	4,23E+06			2,57E+07	2,00E+07
ΑΦΡΟΣ		4,04E+07	7,61E+07	1,89E+08				1,02E+08	7,75E+07

Πίνακας 6.13: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	0,00E+00		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,10E+06	2,14E+07		3,72E+07	4,25E+07		1,54E+07	2,41E+07	1,57E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	3,07E+06	1,01E+07	8,64E+06	3,99E+07			7,34E+06	1,38E+07	1,48E+07
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,39E+07	2,08E+06	8,84E+06	9,52E+06	5,50E+07		2,34E+07	1,88E+07	1,91E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	1,03E+07	1,52E+07		4,78E+07	5,66E+07		1,09E+07	2,82E+07	2,23E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	2,21E+06	2,12E+07	2,00E+07	5,21E+07	2,64E+07	2,39E+07	2,41E+07	2,43E+07	1,47E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	6,44E+06		0,00E+00	1,07E+06	2,63E+06
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	5,59E+05	9,04E+06	5,97E+06	2,09E+07	3,43E+07		1,23E+07	1,38E+07	1,21E+07
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	4,64E+05	8,56E+06	1,15E+07	1,78E+07	2,70E+07			1,31E+07	9,98E+06
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	1,13E+06	3,69E+06	2,15E+07	2,15E+07	6,81E+07			2,32E+07	2,69E+07
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	5,60E+05	2,11E+06	7,33E+06	1,23E+07	4,03E+07			1,25E+07	1,62E+07
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	9,64E+05	8,75E+06	8,35E+06	2,62E+07	3,93E+07			1,67E+07	1,57E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,59E+05	1,17E+07	6,01E+06	1,49E+07	1,16E+07	3,13E+07	1,78E+07	1,34E+07	9,76E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	5,02E+05	1,07E+07	1,15E+07	3,02E+07	2,39E+07			1,54E+07	1,17E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,31E+07	4,44E+07	1,90E+08	6,43E+08			2,23E+08	2,91E+08
ΑΦΡΟΣ	7,91E+06	1,83E+07		6,56E+07		7,47E+06		2,48E+07	2,76E+07

Πίνακας 6.14: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ		1,67E+05	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	–	0,00E+00	3,33E+04	7,45E+04
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	3,56E+06	7,60E+06		4,22E+06	2,44E+06	–	4,00E+06	4,36E+06	1,93E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,96E+07	3,60E+06	4,17E+06	2,67E+06	2,89E+06	–	5,17E+06	6,34E+06	6,54E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	8,89E+05	4,80E+06		4,44E+05	4,00E+06	–	2,33E+06	2,49E+06	1,90E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	2,56E+07	1,63E+07	2,89E+07	1,78E+07	8,89E+06	–	1,56E+07	1,88E+07	7,26E+06
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	3,00E+07	2,40E+07	3,91E+07	2,31E+07	1,42E+07	2,27E+07	2,27E+07	2,51E+07	7,70E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	–	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	1,93E+07	4,00E+07	2,89E+07	7,11E+07	2,67E+07	–	8,44E+07	4,51E+07	2,65E+07
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	8,00E+06	8,00E+07	6,89E+07	1,02E+08	4,89E+07	–		6,16E+07	3,56E+07
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	8,44E+06	3,73E+07	6,22E+07	1,33E+07	8,89E+06	–		2,60E+07	2,35E+07
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	1,20E+07	2,67E+07	2,67E+07	7,56E+07	5,78E+07	–		3,97E+07	2,61E+07
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	6,00E+06	2,67E+07	1,42E+07	8,89E+06	5,11E+07	–		2,14E+07	1,84E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	8,89E+06	3,07E+07	1,60E+07	1,33E+07	4,67E+07	2,61E+07	1,56E+07	2,25E+07	1,31E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ		1,33E+08	3,33E+07	1,78E+07	2,67E+07	–		5,28E+07	5,41E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		2,93E+06	3,67E+06	1,27E+07	2,78E+05	–		4,89E+06	5,39E+06
ΑΦΡΟΣ	2,93E+08	3,87E+08	1,07E+09	2,67E+08		5,22E+08		5,07E+08	3,28E+08

Πίνακας 6.15: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	1,33E+05	1,33E+05	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	4,44E+04	6,89E+04
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	3,56E+06	7,60E+06		4,22E+06	2,44E+06		4,00E+06	4,36E+06	1,93E+06
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,60E+07	2,13E+06	5,33E+06	3,33E+06	1,56E+06		4,17E+06	5,42E+06	5,36E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	5,78E+06	3,33E+05	1,00E+06	2,22E+05	7,41E+04		2,00E+06	1,57E+06	2,18E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	2,47E+07		1,44E+07	3,33E+06	2,22E+06		8,67E+06	1,07E+07	9,21E+06
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	1,67E+07	4,50E+07	1,33E+07	1,07E+07	7,11E+06	8,89E+06	2,27E+07	1,78E+07	1,31E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	2,22E+05	1,67E+05	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	6,48E+04	1,02E+05
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	1,42E+07	4,80E+07	6,44E+07	2,67E+07	2,67E+07		6,67E+07	4,11E+07	2,18E+07
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	2,27E+07	9,33E+07	4,22E+07	4,44E+07	4,44E+07			4,94E+07	2,62E+07
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	1,96E+07	3,20E+07	2,31E+07	2,89E+07	2,22E+07			2,52E+07	5,12E+06
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	7,56E+06	6,67E+06	2,22E+07	5,78E+07	4,00E+07			2,68E+07	2,20E+07
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	6,67E+06	2,67E+07	1,42E+07	1,78E+07	1,33E+07			1,57E+07	7,31E+06
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	8,89E+06	3,07E+07	1,60E+07	8,89E+06	5,11E+07	2,61E+07	1,56E+07	2,25E+07	1,51E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	4,00E+06	1,33E+08	3,33E+07	1,33E+07	4,67E+07			4,61E+07	5,15E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		2,93E+06	3,67E+06	1,78E+07	2,67E+07			1,28E+07	1,15E+07
ΑΦΡΟΣ	3,27E+08	1,97E+08	4,00E+08	1,33E+08		2,33E+08		2,58E+08	1,06E+08

Πίνακας 6.16: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	3,56E+06	1,52E+07		3,07E+07	3,36E+07		2,53E+07	1,11E+05	2,72E+05
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	7,11E+06	8,40E+06	9,00E+06	1,36E+07	1,75E+07		2,20E+07	2,17E+07	1,23E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	8,89E+05	8,80E+06		2,89E+06	3,36E+07		1,11E+07	1,29E+07	5,89E+06
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	3,00E+07	8,40E+07	1,24E+08	1,32E+08	6,44E+07		1,01E+08	1,14E+07	1,30E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	5,56E+06	3,40E+07	1,64E+08	1,30E+08	5,87E+07	9,96E+07	1,22E+08	8,92E+07	3,82E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	8,75E+07	5,67E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	1,13E+07	1,07E+08	1,85E+08	3,38E+08	2,09E+08		1,60E+08	0,00E+00	0,00E+00
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	7,00E+06	1,87E+08	1,51E+08	1,33E+08	3,23E+08			1,68E+08	1,09E+08
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	3,11E+06	6,67E+07	1,17E+08	1,49E+08	4,43E+08			1,60E+08	1,14E+08
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	6,67E+06	1,07E+07	6,89E+07	4,89E+07	2,63E+08			1,56E+08	1,70E+08
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	9,78E+06	5,60E+07	5,51E+07	1,20E+08	1,33E+08			7,97E+07	1,06E+08
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	4,44E+06	3,73E+07	5,16E+07	2,87E+08	2,49E+08	1,66E+08	1,60E+08	7,48E+07	5,11E+07
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ		1,07E+08	1,37E+08	1,87E+08	3,38E+08			1,36E+08	1,09E+08
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ		3,20E+06	2,67E+06	4,00E+07	2,22E+06			1,92E+08	1,03E+08
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		5,65E+08	1,22E+09	2,27E+09				1,20E+07	1,87E+07
ΑΦΡΟΣ	3,56E+06	1,52E+07		3,07E+07	3,36E+07		2,53E+07	1,35E+09	8,58E+08

Πίνακας 6.17: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	0,00E+00	6,67E+05	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	1,11E+05	2,72E+05
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	3,56E+06	1,52E+07		3,07E+07	3,36E+07		2,53E+07	2,17E+07	1,23E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	4,44E+06	6,00E+06	1,17E+07	3,49E+07			1,05E+07	1,35E+07	1,23E+07
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,33E+06	1,67E+05	1,56E+06	6,67E+05	5,83E+06		6,67E+06	2,70E+06	2,80E+06
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	4,17E+07	5,47E+07	6,00E+07	9,44E+07	8,78E+07		4,08E+07	6,32E+07	2,29E+07
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	1,33E+07	1,04E+08	1,12E+08	2,08E+08	1,03E+08	9,07E+07	1,45E+08	1,11E+08	5,87E+07
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	1,48E+05		0,00E+00	2,47E+04	6,05E+04
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	8,00E+06	1,07E+08	8,89E+07	3,23E+08	3,78E+08		1,60E+08	1,77E+08	1,44E+08
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	7,11E+06	1,39E+08	1,84E+08	2,49E+08	5,13E+08			2,18E+08	1,87E+08
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	9,33E+06	3,47E+07	1,76E+08	2,24E+08	8,80E+08			2,65E+08	3,56E+08
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	6,67E+06	1,60E+07	7,11E+07	1,11E+08	4,09E+08			1,23E+08	1,65E+08
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	9,78E+06	5,60E+07	5,51E+07	3,11E+08	3,38E+08			1,54E+08	1,57E+08
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,44E+06	3,73E+07	5,16E+07	1,20E+08	1,33E+08	1,66E+08	1,60E+08	9,61E+07	6,42E+07
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	8,00E+06	1,07E+08	1,37E+08	2,87E+08	2,49E+08			1,57E+08	1,12E+08
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		3,20E+06	2,67E+06	1,87E+08	3,38E+08			1,33E+08	1,62E+08
ΑΦΡΟΣ	1,23E+08	2,93E+08		6,89E+08		2,56E+08		3,40E+08	2,44E+08

Πίνακας 6.18: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	2,73E+12	1,43E+12	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	6,93E+11	1,15E+12
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	1,61E+13	3,55E+13		1,76E+13	1,58E+13		1,91E+13	2,08E+13	8,33E+12
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	9,02E+13	1,71E+13	2,02E+13	1,13E+13	1,89E+13		2,50E+13	3,04E+13	2,96E+13
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	3,81E+12	2,12E+13		1,77E+12	2,50E+13		1,06E+13	1,25E+13	1,03E+13
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	1,25E+14	8,18E+13	1,48E+14	8,13E+13	6,10E+13		7,99E+13	9,62E+13	3,31E+13
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	2,33E+12	1,74E+12	2,93E+12	1,73E+12	1,10E+12	1,70E+12	1,69E+12	1,89E+12	5,81E+11
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	9,36E+11	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	1,56E+11	3,82E+11
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	6,28E+12	1,34E+13	9,24E+12	1,90E+13	7,40E+12		2,55E+13	1,35E+13	7,52E+12
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	5,63E+11	5,50E+12	4,75E+12	6,71E+12	3,13E+12			4,13E+12	2,38E+12
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	2,15E+12	9,94E+12	1,56E+13	2,69E+12	1,90E+12			6,46E+12	6,11E+12
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	8,45E+11	1,83E+12	1,84E+12	4,96E+12	3,70E+12			2,63E+12	1,66E+12
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	1,15E+11	1,19E+12	6,60E+11	2,13E+11	1,80E+12			7,96E+11	7,05E+11
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,31E+12	1,76E+13	9,00E+12	6,97E+12	2,32E+13	1,35E+13	8,36E+12	1,19E+13	6,66E+12
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	1,04E+12	1,88E+13	3,25E+12	1,99E+12	2,60E+12			5,53E+12	7,45E+12
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,38E+11	1,98E+11	8,80E+11	1,32E+10			3,07E+11	3,90E+11

Πίνακας 6.19: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. atarae* όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).

	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	1,09E+12	1,14E+12	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	3,72E+11	5,77E+11
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	2,27E+13	3,42E+13		2,97E+13	1,24E+13		2,95E+13	2,57E+13	8,50E+12
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	1,04E+14	9,85E+12	3,58E+13	2,38E+13	8,06E+12		3,12E+13	3,54E+13	3,53E+13
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	3,58E+13	1,11E+12	6,41E+12	1,52E+12			1,44E+13	1,18E+13	1,44E+13
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	1,68E+14	0,00E+00	1,01E+14	2,48E+13	1,23E+13		6,74E+13	6,22E+13	6,40E+13
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	2,00E+12	5,40E+12	1,60E+12	1,28E+12	8,71E+11	1,07E+12	2,66E+12	2,13E+12	1,57E+12
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	1,35E+12	7,02E+11	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	3,42E+11	5,68E+11
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	4,16E+12	1,38E+13	1,90E+13	7,93E+12	7,20E+12		2,02E+13	1,20E+13	6,64E+12
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	1,60E+12	6,57E+12	3,17E+12	3,13E+12	3,06E+12			3,50E+12	1,84E+12
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	4,34E+12	6,95E+12	5,08E+12	6,56E+12	4,47E+12			5,48E+12	1,20E+12
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	5,32E+11	4,69E+11	1,53E+12	4,07E+12	2,56E+12			1,83E+12	1,51E+12
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	1,28E+11	1,19E+12	6,60E+11	4,27E+11	4,69E+11			5,76E+11	3,95E+11
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	4,31E+12	1,76E+13	9,00E+12	4,64E+12	2,54E+13	1,35E+13	8,36E+12	1,18E+13	7,63E+12
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	4,86E+11	1,88E+13	3,25E+12	1,49E+12	4,55E+12			5,71E+12	7,47E+12
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ	0,00E+00	1,38E+11	1,65E+11	1,99E+12	1,27E+12			7,13E+11	8,78E+11

Πίνακας 6.20: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).

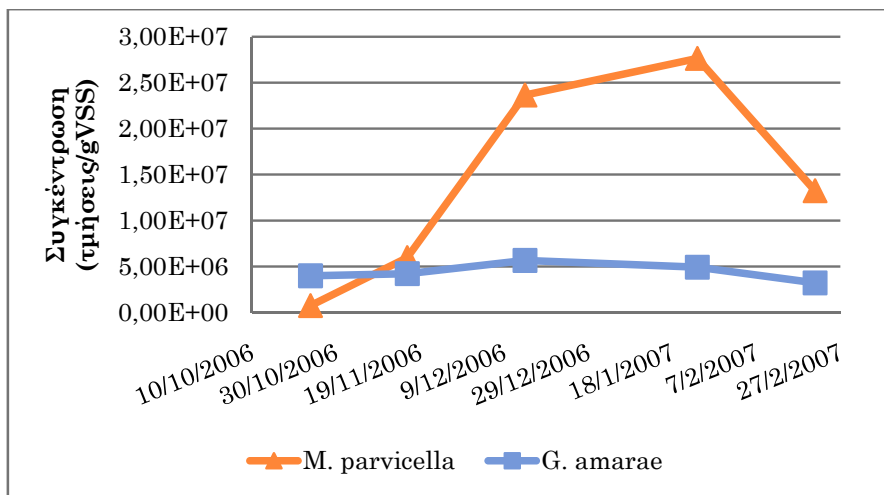
	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	0,00E+00	5,70E+12	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	9,50E+11	2,33E+12
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	1,61E+13	7,11E+13		1,28E+14	2,17E+14		1,21E+14	1,10E+14	7,44E+13
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	3,28E+13	3,99E+13	4,37E+13	5,75E+13	1,14E+14		1,06E+14	6,58E+13	3,56E+13
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	3,81E+12	3,88E+13		1,15E+13	2,10E+14		5,04E+13	6,29E+13	8,44E+13
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	1,47E+14	4,21E+14	6,37E+14	6,02E+14	4,42E+14		5,18E+14	4,61E+14	1,76E+14
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	4,31E+11	2,47E+12	1,23E+13	9,73E+12	4,55E+12	7,47E+12	9,05E+12	6,57E+12	4,24E+12
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	3,68E+12	3,57E+13	5,92E+13	9,04E+13	5,80E+13		4,84E+13	4,92E+13	2,87E+13
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	4,93E+11	1,28E+13	1,04E+13	8,75E+12	2,07E+13			1,06E+13	7,29E+12
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	7,92E+11	1,77E+13	2,95E+13	3,01E+13	9,47E+13			3,45E+13	3,56E+13
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	4,69E+11	7,34E+11	4,75E+12	3,21E+12	1,69E+13			5,20E+12	6,75E+12
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	1,88E+11	2,51E+12	2,56E+12	2,88E+12	4,69E+12			2,57E+12	1,60E+12
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	2,16E+12	2,15E+13	2,90E+13	1,50E+14	1,24E+14	8,58E+13	8,60E+13	7,11E+13	5,54E+13
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	9,73E+11	1,50E+13	1,33E+13	2,09E+13	3,30E+13			1,66E+13	1,17E+13
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,50E+11	1,44E+11	2,78E+12	1,06E+11			7,95E+11	1,32E+12

Πίνακας 6.21: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).

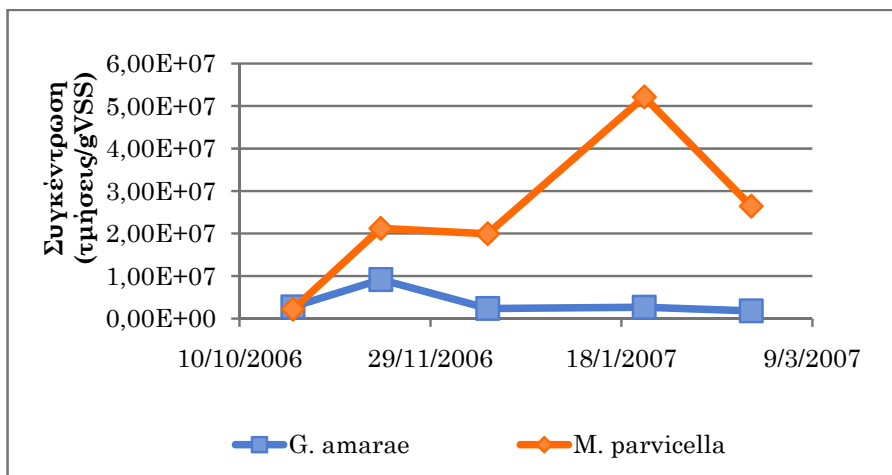
	24/10/2006	16/11/2006	14/12/2006	24/1/2007	21/2/2007	13/3/2007	19/4/2007	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
ΑΣΤΙΚΑ ΒΟΘΡΟΛΥΜΑΤΑ	0,00E+00	5,70E+12	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00		0,00E+00	9,50E+11	2,33E+12
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	2,27E+13	6,84E+13		2,16E+14	1,70E+14		1,87E+14	1,33E+14	8,27E+13
ΕΙΣΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	2,89E+13	2,77E+13	7,82E+13	2,49E+14	0,00E+00		7,85E+13	7,71E+13	8,99E+13
ΕΞΟΔΟΣ ΔΕΞΑΜΕΝΗΣ 1ας ΚΑΘΙΖΗΣΗΣ	8,27E+12	5,55E+11	9,97E+12	4,57E+12	2,87E+13			1,04E+13	1,08E+13
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΑΕΡΙΣΜΟΥ	2,83E+14	2,69E+14	4,21E+14	7,04E+14	4,84E+14		3,18E+14	4,13E+14	1,65E+14
ΠΕΡΙΣΣΕΙΑ	1,60E+12	1,25E+13	1,35E+13	2,50E+13	1,26E+13	1,09E+13	1,71E+13	1,33E+13	7,00E+12
ΔΕΞΑΜΕΝΗ ΤΕΛ. ΚΑΘ.	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	7,10E+11		0,00E+00	1,18E+11	2,90E+11
ΠΡΩΤΟΒΑΘΜΙΑ ΙΛΥΣ	2,34E+12	3,07E+13	2,62E+13	9,62E+13	1,02E+14		4,84E+13	5,10E+13	4,01E+13
ΠΑΧΥΝΤΗΣ	5,01E+11	9,76E+12	1,38E+13	1,75E+13	3,53E+13			1,54E+13	1,28E+13
ΥΠΕΡΧΕΙΛΙΣΗ ΠΑΧΥΝΤΗ	2,07E+12	7,53E+12	3,87E+13	5,10E+13	1,77E+14			5,53E+13	7,11E+13
ΧΩΝΕΥΤΗΣ	4,69E+11	1,13E+12	4,91E+12	7,82E+12	2,62E+13			8,10E+12	1,05E+13
ΥΠΕΡΧ. ΔΕΥΤΕΡ. ΧΩΝΕΥΤΗ	1,88E+11	2,51E+12	2,56E+12	7,47E+12	1,19E+13			4,92E+12	4,71E+12
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ	2,16E+12	2,15E+13	2,90E+13	6,27E+13	6,63E+13	8,58E+13	8,60E+13	5,05E+13	3,30E+13
ΕΙΣΟΔΟΣ ΠΡΕΣΑΣ	9,73E+11	1,50E+13	1,33E+13	3,21E+13	2,43E+13			1,71E+13	1,18E+13
ΣΤΡΑΓΓΙΔΙΑ ΠΡΕΣΑΣ		1,50E+11	1,20E+11	2,09E+13	1,61E+13			9,31E+12	1,08E+13

Εποχιακή διακύμανση νηματοειδών

Από τους πίνακες που παρουσιάστηκαν παραπάνω παρατηρεί κανείς ότι υπάρχει διακύμανση των συγκεντρώσεων σε εποχιακή βάση, σε συμφωνία με το κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης όπου αναφέρθηκε ότι έχει παρατηρηθεί εποχιακή διακύμανση της έντασης των φαινομένων νηματοειδούς αφρισμού, ειδικά σε εγκαταστάσεις που παρουσιάζουν ιδανικές συνθήκες για την (υπερ)ανάπτυξη τους. Πιο συγκεκριμένα, ο *M. parvicella* αναπτύσσεται κυρίως τους χειμερινούς μήνες ενώ ο *G. amarae* σε υψηλότερες γενικά θερμοκρασίες. Οι συγκεντρώσεις των νηματοειδών συναρτήσει του χρόνου απεικονίζονται στα παρακάτω γραφήματα 6.4-6.5:



Γράφημα 6.4: Εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* καταμετρημένα κατά FISH στη γραμμή 1.

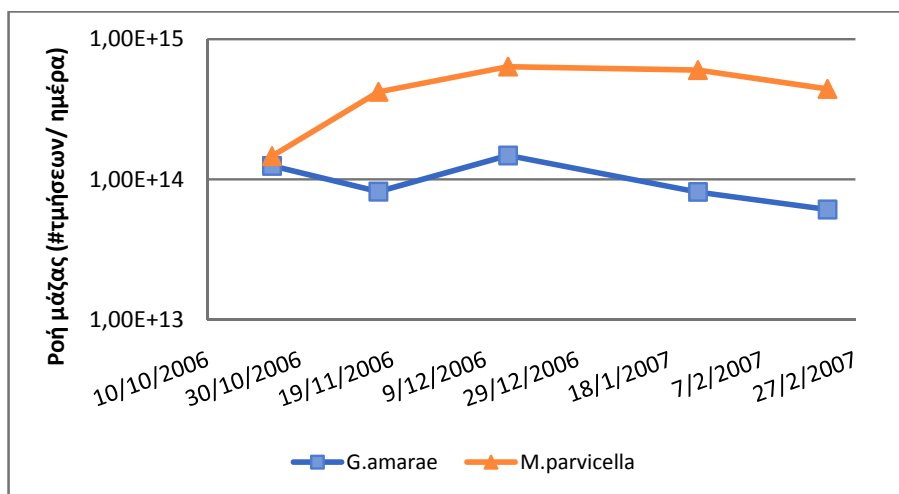


Γράφημα 6.5: Εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* καταμετρημένα κατά FISH στη γραμμή 2.

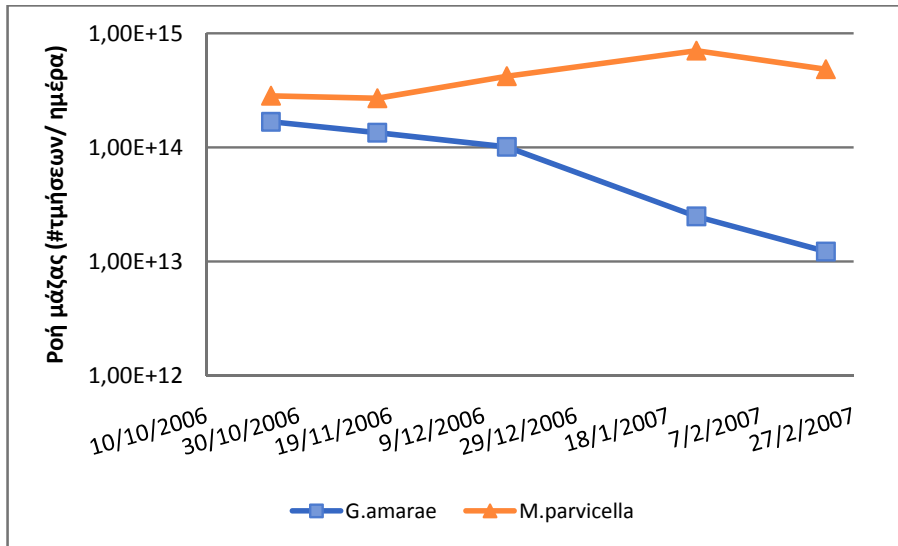
Από τα παραπάνω γραφήματα επιβεβαιώνεται η αύξηση της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* στους χειμερινούς μήνες ακόμα και σε μια εγκατάσταση όπως της Χαλκίδας.

Στα επόμενα γραφήματα 6.6-6.7, απεικονίζονται συγκριτικά οι ροές μάζας των δύο νηματοειδών από όπου φαίνεται ότι υπάρχει μια ανταγωνιστική τάση ως προς την ανάπτυξή τους κυρίως στη γραμμή 2, η οποία μπορεί να οφείλεται στην εποχιακή διακύμανση των μικροοργανισμών. Όπως σχολιάστηκε και στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων για την ΕΕΛ Βόλου, ο μικροοργανισμός *G. amarae* αναπτύσσεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες (Soddell and Seviour, 1990) από τον *M. parvicella* (Rossetti *et al.*, 2002) και το χαρακτηριστικό αυτό πιθανόν να εμμενεί την επικράτησή του σε θερμότερα κλίματα (Pitt και Jenkins, 1990, Jones *et al.*, 2003, Jolis *et al.*, 2007, Oerther *et al.*, 2000, De los Reyes III και Raskin, 2002, Frigon *et al.*, 2006) σε αντίθεση με το *M. parvicella* (Westlund *et al.*, 1998, Andreadakis *et al.*, 1999, Andreasen and Nielsen, 2000).

Επιπλέον, ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει υψηλότερες τιμές K_s και άρα μεγαλύτερη ικανότητα λήψης του υποστρώματος, γεγονός που, σε συνδυασμό με τις μικρότερες θερμοκρασίες ανάπτυξής του, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα στις χαμηλές θερμοκρασίες λόγω και της μικρότερης διαλυτότητας των λιπών στις θερμοκρασίες αυτές. Από την άλλη, ο μικροοργανισμός *G. amarae* παρουσιάζει μεγαλύτερες ταχύτητες ανάπτυξης, γεγονός που σε συνδυασμό με τις υψηλότερες βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξής του και του υψηλότερου ρυθμού υδρόλυσης των λιπών σ' αυτές, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα έναντι του *M. parvicella*.



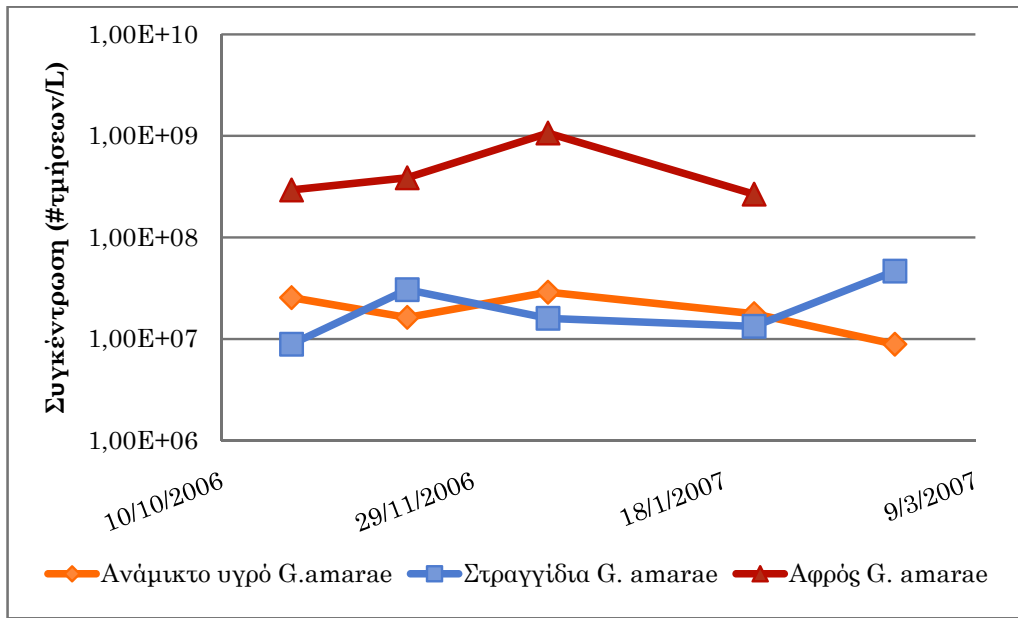
Γράφημα 6.6: Συσχέτιση των ροών μάζας στη δεξαμενή αερισμού ιλύος των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* συναρτήσεως του χρόνου.



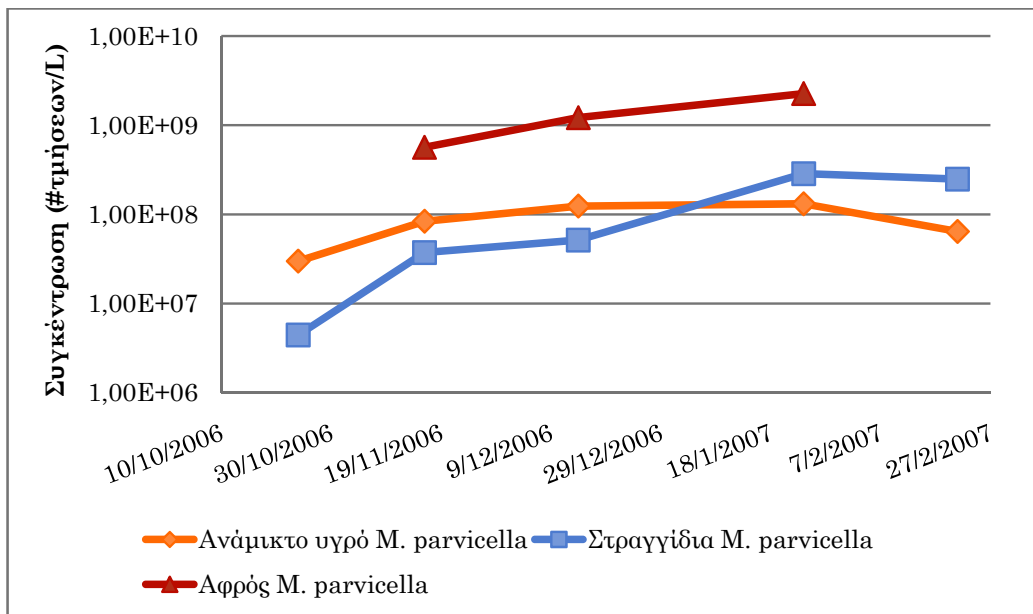
Γράφημα 6.7: Συσχέτιση των ρών μάζας στη δεξαμενή αερισμού των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* συναρτήσει του χρόνου.

Ποσοστά ανακυκλοφορίας και απομάκρυνσης νηματοειδών

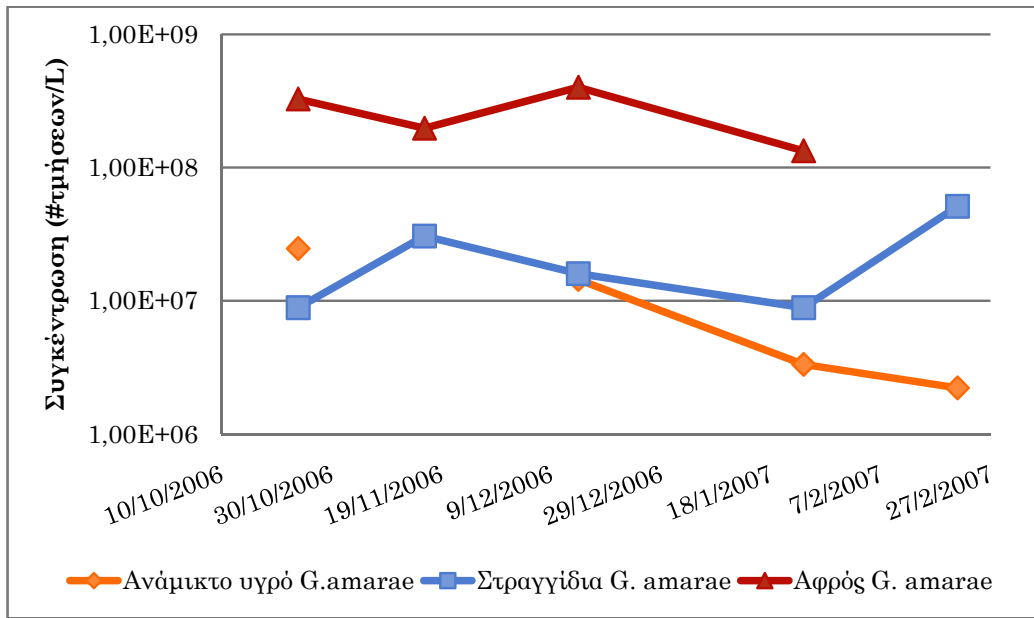
Όσον αφορά στη μεταβολή των συγκεντρώσεων των δύο μικροοργανισμών στο ανάμικτο υγρό συγκριτικά με την επανατροφοδότηση της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας από τον αφρό που συγκεντρώνεται στην επιφάνεια των δεξαμενών καθώς και από την επιστροφή των στραγγιδίων, αυτή φαίνεται στα παρακάτω γραφήματα 6.8 - 6.11:



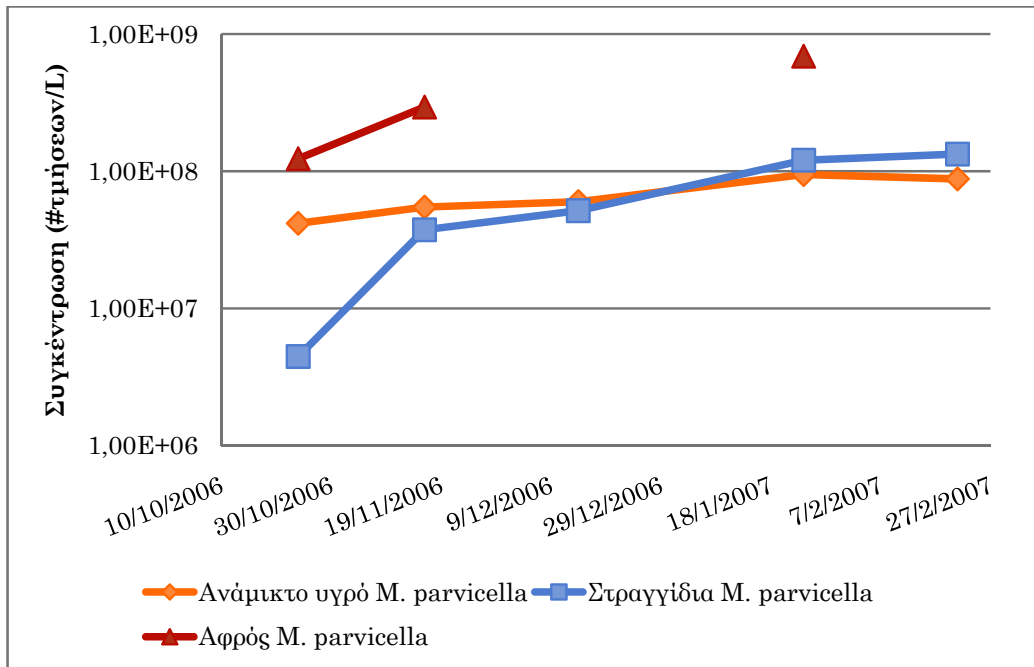
Γράφημα 6.8: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας.



Γράφημα 6.9: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού *M. parvicella* στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας.



Γράφημα 6.10: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού *G. amarae* στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας.



Γράφημα 6.11: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού *M. parvicella* στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας.

Από τα διαγράμματα διαπιστώνεται η αναλογική σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων και των δύο νηματοειδών βακτηρίων στο ανάμικτο υγρό και στον αφρό, γεγονός

που υποδηλώνει τη δυναμική ισορροπία των μικροοργανισμών μεταξύ του αφρού και του ανάμικτου υγρού στις δεξαμενές δευτεροβάθμιας διεργασίας. Επίσης, από τα γραφήματα φαίνεται και η συνδιακύμανση των συγκεντρώσεων του *M. parvicella* στο ανάμικτο υγρό και στα στραγγίδια, γεγονός που υποδηλώνει την επανατροφοδότηση του συστήματος μέσω των στραγγιδίων και που εξετάζεται διεξοδικότερα στη συνέχεια.

Στον παρακάτω πίνακα 6.22 δίνεται η τιμή του συντελεστή Pearson που υπολογίστηκε προκειμένου να διερευνηθεί η γραμμική συσχέτιση των ροών μάζας των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* στα στραγγίσματα των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης με τις αντίστοιχες ποσότητες τους στο ανάμικτο υγρό. Από τον πίνακα είναι φανερή η στατιστικά σημαντική γραμμική συσχέτιση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών *M. parvicella* του ανάμικτου υγρού με τις αντίστοιχες ροές στο σύνολο των στραγγισμάτων καθώς με των στραγγιδίων της πρέσας για τη γραμμή 2.

Πίνακας 6.22: Υπολογισμός του συντελεστή Pearson μεταξύ των ροών μάζας των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* του ανάμικτου υγρού με τις αντίστοιχες ροές στα στραγγίσματα, στην υπερχειλίση του παχυντή, του δευτεροβάθμιου χωνευτή και στα στραγγίδια της πρέσας.

	Γραμμή 1	Γραμμή 2
Συντελεστής Pearson ανάμικτου υγρού και ολικών στραγγιδίων	0,40	0,98
Συντελεστής Pearson ανάμικτου υγρού και υπερχειλίση παχυντή	0,38	0,54
Συντελεστής Pearson ανάμικτου υγρού και υπερχειλίσης δευτεροβάθμιου χωνευτή	0,03	0,67
Συντελεστής Pearson ανάμικτου υγρού και στραγγιδίων πρέσας	0,43	0,97

Προκειμένου να διερευνηθεί η υπόθεση του εμβολιασμού της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και *M. parvicella* που επιστρέφουν με τις ροές των στραγγιδίων υπολογίστηκαν τα ποσοστά επανατροφοδότησης του συστήματος με νηματοειδείς καθώς και απομάκρυνσης ως ακολούθως:

- ημερήσια ροή μάζας του νηματοειδούς βακτηρίου στα στραγγίδια (τμήσεις FISH ημερησίως) προς τη συνολική μάζα του στη δεξαμενή αερισμού (τμήσεις FISH),
- ημερήσια ροή μάζας του νηματοειδούς βακτηρίου που απομακρύνεται με την πρωτοβάθμια ιλύ (τμήσεις FISH ημερησίως) προς τη συνολική μάζα του στη δεξαμενή αερισμού (τμήσεις FISH).

Όπως φαίνεται από τον παρακάτω πίνακα 6.23 τα ποσοστά ημερήσιας επανατροφοδότησης με τα στραγγίδια είναι ιδιαίτερος αυξημένα και κυμαίνονται μεταξύ 0,6 και 5,1% και 0,5 - 24,6% ως προς τη συνολική ποσότητα των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στη δευτεροβάθμια διεργασία ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά των νηματοειδών που απομακρύνονται από το σύστημα με την πρωτοβάθμια ιλύ κυμαίνονται μεταξύ 0,9 - 5,2% και 0,2 και 20,6%.

Πίνακας 6.23: Ποσοστά επανατροφοδότησης του συστήματος ενεργού ιλύος με νηματοειδείς από τα στραγγίδια και από την επιστροφή της περίσσειας ιλύος στην πρωτοβάθμια καθίζηση.

ΓΡΑΜΜΗ 1	24/10/06	16/11/06	14/12/06	24/1/07	19/4/07	Μέσος όρος
Επιστροφή <i>G. amarae</i> με τα στραγγίδια ημερησίως	3,5%	21,5%	6,1%	8,6%	10,5%	10,0%
Απομάκρυνση <i>G. amarae</i> ημερησίως	5,0%	16,4%	6,2%	23,4%	32,0%	16,6%
Επιστροφή <i>G. amarae</i> προς απομάκρυνση ημερησίως	68,6%	131,6%	97,4%	36,6%	32,7%	73,4%
Επιστροφή <i>M. parvicella</i> με τα στραγγίδια ημερησίως	1,5%	5,1%	4,6%	24,9%	16,6%	10,5%
Απομάκρυνση <i>M. parvicella</i> ημερησίως	2,5%	8,5%	9,3%	15,0%	9,3%	8,9%
Επιστροφή <i>M. parvicella</i> προς απομάκρυνση ημερησίως	58,5%	60,1%	49,0%	165,8%	177,7%	102,2%

Πίνακας 6.23: Ποσοστά επανατροφοδότησης του συστήματος ενεργού ιλύος με νηματοειδείς από τα στραγγίδια και από την επιστροφή της περίσσειας ιλύος στην πρωτοβάθμια καθίζηση.

ΓΡΑΜΜΗ 2						
Επιστροφή <i>G. amarae</i> με τα στραγγίδια ημερησίως	2,6%	13,1%	8,9%	18,7%	12,4%	11,1%
Απομάκρυνση <i>G. amarae</i> ημερησίως	2,5%	10,3%	18,8%	31,9%	29,9%	18,7%
Επιστροφή <i>G. amarae</i> προς απομάκρυνση ημερησίως	103,6%	127,8%	47,3%	58,5%	41,5%	75,8%
Επιστροφή <i>M. parvicella</i> με τα στραγγίδια ημερησίως	0,8%	8,0%	6,9%	8,9%	27,1%	10,3%
Απομάκρυνση <i>M. parvicella</i> ημερησίως	0,8%	11,4%	6,2%	13,7%	15,2%	9,5%
Επιστροφή <i>M. parvicella</i> προς απομάκρυνση ημερησίως	92,1%	70,0%	110,6%	65,2%	177,7%	103,1%

Η ΕΕΛ της Χαλκίδας παρουσίαζε κατά τη διάρκεια των μετρήσεων τα σημαντικότερα προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού από όλες τις εγκαταστάσεις που εξετάστηκαν, γεγονός που συμφωνεί και με τα μεγαλύτερα ποσοστά επανατροφοδότησης της δευτεροβάθμιας διεργασίας με τα νηματοειδή βακτήρια μέσω των ρών στραγγιδίων. Επίσης, από τον πίνακα φαίνεται ότι το ποσοστό απομάκρυνσης των νηματοειδών είναι πρακτικά ίσο με το ποσοστό ανακυκλοφορίας με τα στραγγίδια από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος, γεγονός που συνεπάγεται συντήρηση των φαινομένων αφρισμού.

6.2.5. ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΩΝ ΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΕΕΛ ΧΑΛΚΙΔΑΣ ΚΑΙ ΒΟΛΟΥ

Στην παράγραφο αυτή παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* στα συστήματα μεσόφιλης αναερόβιας χώνευσης των υπό εξέταση ΕΕΛ όπως υπολογίζονται από τις ροές μάζας των

νηματοειδών βακτηρίων που εισέρχονται στους αναερόβιους χωνευτές ως προς τις εξερχόμενες ροές τους όπως μετρήθηκαν με τη μέθοδο FISH. Όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα 6.24 τα ποσοστά καταστροφής κυμαίνονται μεταξύ 36% και 68% και μεταξύ 47% και 78% για τους μικροοργανισμούς *G. amarae* και *M. parvicella* αντίστοιχα για χρόνους παραμονής των αναερόβιων χωνευτών 12 με 17 ημέρες.

Πίνακας 6.24: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών στην αναερόβια χώνευση των ΕΕΛ Χαλκίδας και Βόλου.

	Χρόνος παραμονής	% Καταστροφή πτητικών	% Καταστροφή <i>G.amarae</i>	% Καταστροφή <i>M. Parvicella</i>
ΓΡΑΜΜΗ 1 Χαλκίδας	13,0	37,8	36,2	51,1
ΓΡΑΜΜΗ 2 Χαλκίδας	11,9	34,1	47,7	47,4
ΕΕΛ Βόλου	17,0*	37,7	67,6	77,6

* Πρόκειται για την τιμή σχεδιασμού εφόσον ο πραγματικός χρόνος παραμονής δε μπορεί να υπολογιστεί λόγω έλλειψης δεδομένων παροχής τροφοδοτούμενης ιλύος.

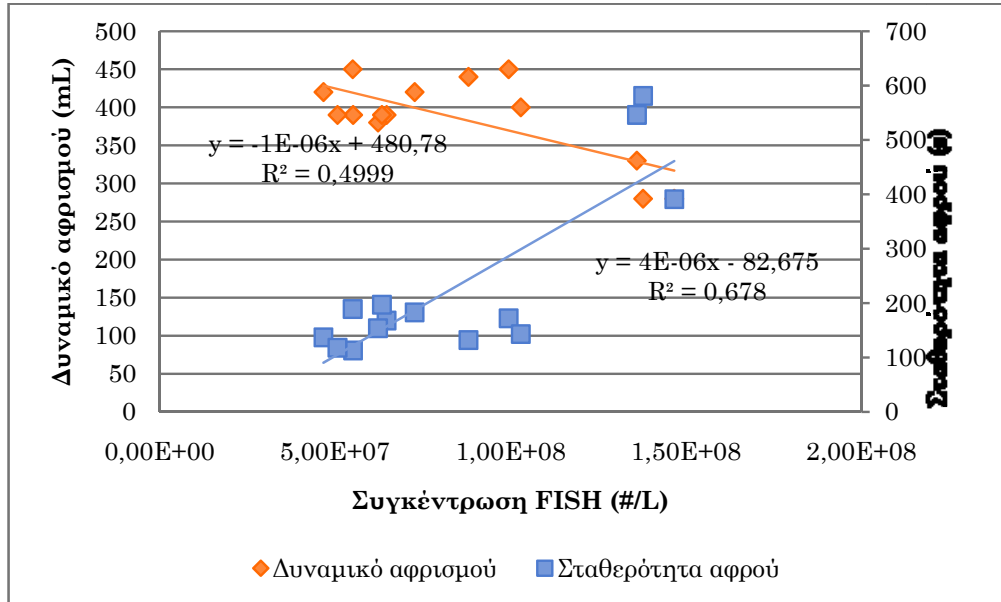
Από τα παραπάνω δεδομένα πλήρους κλίμακας, φαίνεται ότι ο χρόνος παραμονής των αναερόβιων χωνευτών επηρεάζει την καταστροφή των νηματοειδών μικροοργανισμών αναλογικά. Στα πλαίσια των δοκιμών αυτών διερευνήθηκε επίσης, όπως περιγράφεται στην επόμενη παράγραφο, η συσχέτιση της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων με την απόδοση των χωνευτών και με πιθανά λειτουργικά προβλήματα.

6.2.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΦΑΙΝΟΜΕΝΩΝ ΑΦΡΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΕΙΣ *M.PARVICELLA* ΚΑΙ *G.AMARAE*

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στο φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού στην αναερόβια χώνευση μετρήθηκαν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις καθώς και το δυναμικό αφρισμού και η σταθερότητα του αφρισμού στην παχυμένη ιλύ που τροφοδοτείται στους αναερόβιους χωνευτές της ΕΕΛ Ψυττάλειας. Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 4 το δυναμικό αφρισμού εκφράζεται ως το μέγιστο ύψος του αφρού που σχηματίζεται και αποτελεί ένδειξη της τάσης της ιλύος να

αφρίζει. Από την άλλη η σταθερότητα του αφρισμού, η οποία εκφράζεται ως ο χρόνος που απαιτείται μέχρι να καταρρεύσει ο αφρός που σχηματίζεται, αποτελεί ένδειξη της «επιμονής» των φαινομένων του αφρισμού στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης.

Στο παρακάτω γράφημα 6.12 φαίνεται η μεταβολή του αθροίσματος των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* συναρτήσει της σταθερότητας και του δυναμικού του αφρισμού καθώς και η γραμμική συσχέτισή τους. Από το γράφημα διαπιστώνεται ότι υπάρχει μια αναλογική σχέση μεταξύ της σταθερότητας του αφρισμού και της συγκέντρωσης του αθροίσματος των νηματοειδών βακτηρίων ενώ η σχέση του δυναμικού αφρισμού με τις συγκεντρώσεις τους είναι πρακτικά σταθερή. Επομένως, φαίνεται ότι η σταθερότητα του αφρού που σχηματίζεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στην τροφοδοτούμενη ιλύ ενώ η συγκέντρωση του νηματοειδούς *M. parvicella* φαίνεται να επιδρά περισσότερο από τη συγκέντρωση του *G. amarae* στη σταθεροποίηση του αφρού.



Γράφημα 6.12: Μεταβολή του αθροίσματος των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* σε σχέση με το δυναμικό και τη σταθερότητα του αφρισμού.

Συνοψίζοντας, από το παραπάνω γράφημα φαίνεται ότι η συγκέντρωση των νηματοειδών στην τροφοδοτούμενη ιλύ στους αναερόβιους χωνευτές είναι ανάλογη της σταθερότητας του αφρού που σχηματίζεται ενώ δεν επηρεάζει σημαντικά την τάση της ιλύος για αφρισμό. Το δυναμικό και η σταθερότητα του αφρισμού επηρεάζονται τόσο από τη συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων όσο και από τη συγκέντρωση άλλων οργανικών ενώσεων της χωνεμένης ιλύος που δρουν σταθεροποιητικά στον αφρισμό (Kugelman and Guida, 1989, Rimkus *et al.*, 1982, Reusser and Zelinka, 2004). Επίσης, η καταστροφή των νηματοειδών που επιτυγχάνεται στην αναερόβια χώνευση οδηγεί πιθανόν σε αύξηση των κολλοειδών υδροφοβικών ενώσεων, όπως το μυκολικό οξύ, ενισχύοντας κατά τον τρόπο αυτό το δυναμικό αφρισμού. Όπως αναφέρουν οι Pagilla *et al.* (1998) χλωρίωση της περίσσειας ιλύος σε αμερικανική ΕΕΛ οδήγησε σε αύξηση του δυναμικού και της σταθερότητας αφρισμού της ιλύος, γεγονός που οι συγγραφείς απέδωσαν είτε στην καταστροφή των συσσωματωμάτων από το χλώριο που συνεπάγεται τη μεγαλύτερη έκθεση των υδρόφοβων *G. amarae* στην υγρή φάση, είτε στην απελευθέρωση από τα κύτταρα υλικών που σταθεροποιούν τον αφρό όταν αυτά λύνονται από το Cl₂.

6.2.7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο 6.2, διερευνήθηκε η υπερανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* καταρχήν στα διάφορα στάδια τριών ΕΕΛ (Χαλκίδας, Βόλου και Ψυττάλειας). Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με τους εν λόγω νηματοειδείς. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογικής ιλύος σταθεροποιείται σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως ήταν δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση.

Στόχος των δειγματοληψιών ήταν ο υπολογισμός του ισοζυγίου μάζας των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας των λυμάτων και της παραγόμενης ιλύος, η διερεύνηση της επίδρασης της ανακυκλοφορίας των στραγγιδίων στη συντήρηση των προβλημάτων νηματοειδούς αφρισμού και διόγκωσης στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων καθώς και η

μελέτη των προβλημάτων που προκαλούν τα νηματοειδή βακτήρια *M. parvicella* και *G. amarae* στην αναερόβια χώνευση.

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι ροές μάζας των υπό εξέταση νηματοειδών είναι σημαντικές στην πρωτοβάθμια εκροή καθώς και στην πρωτοβάθμια ιλύ. Επιλύοντας το ισοζύγιο μάζας στην πρωτοβάθμια επεξεργασία των ΕΕΛ Ψυττάλειας και Βόλου προέκυψε ότι η ροή μάζας των νηματοειδών που επιστρέφουν με τα στραγγίδια στην πρωτοβάθμια καθίζηση είναι κατά μία τάξη μεγέθους μικρότερη από το άθροισμα των νηματοειδών που εκρέουν από τη διεργασία. Επομένως, φαίνεται ότι υπάρχει ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών στην πρωτοβάθμια επεξεργασία λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων λιπών, οι οποίες έχουν αναφερθεί να ευνοούν την ανάπτυξή τους (Frigon, 2006). Σε κάθε περίπτωση, δε μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα εισαγωγής των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών με τα εισερχόμενα λύματα στις ΕΕΛ, υπόθεση ωστόσο που δε διερευνήθηκε περαιτέρω στην παρούσα εργασία.

Επίσης, από τα αποτελέσματα φαίνεται να επιβεβαιώνεται η εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών και συγκεκριμένα η ευνοϊκότερη ανάπτυξη των *M. parvicella* κατά τους χειμερινούς μήνες σε σχέση με τους μικροοργανισμούς *G. amarae*, οι οποίοι φαίνεται να αποκτούν συγκριτικό πλεονέκτημα κατά τους θερινούς μήνες. Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία ο μικροοργανισμός *G. amarae* αναπτύσσεται σε θερμοκρασιακό εύρος 23°-37°C, με βέλτιστη θερμοκρασία τους 28°C ενώ η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξής του είναι 10 - 15°C (Soddell and Seviour, 1990). Από την άλλη ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 22°C ενώ παρουσιάζει σημαντική ανάπτυξη μέχρι και τους 7 °C. Η προτίμηση του βακτηρίου *G. amarae* για υψηλότερες θερμοκρασίες εξηγεί πιθανόν την επικράτησή του στις θερμότερες αμερικανικές πολιτείες κυρίως τη θερινή περίοδο (Pitt και Jenkins, 1990, Jones *et al.*, 2003, Jolis *et al.*, 2007, Oerther *et al.*, 2000, De los Reyes III και Raskin, 2002, Frigon *et al.*, 2006) σε αντίθεση με το *M. parvicella* που επικρατεί στις ψυχρότερες ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως τη χειμερινή περίοδο (Westlund *et al.*, 1998, Andreadakis *et al.*, 1999, Andreasen and Nielsen, 2000).

Επιπλέον, παρόλο που και οι δύο μικροοργανισμοί έχουν αναφερθεί να ευνοούνται από την αυξημένη συγκέντρωση των λιπών λόγω της υδροφοβικής τους επιφάνειας και της πλεονεκτικής προσβασιμότητας που έχουν έναντι των συσσωματούμενων βακτηρίων (Andreasen και Nielsen, 2000, Frigon *et al.*, 2006), ωστόσο παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς την κινητική τους. Έτσι, ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει υψηλότερες τιμές K_s και άρα μεγαλύτερη

ικανότητα λήψης του υποστρώματος, γεγονός που, σε συνδυασμό με τις μικρότερες θερμοκρασίες ανάπτυξής του, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα στις χαμηλές θερμοκρασίες λόγω και της μικρότερης διαλυτότητας των λιπών στις θερμοκρασίες αυτές. Από την άλλη, ο μικροοργανισμός *G. amarae* παρουσιάζει μεγαλύτερες ταχύτητες ανάπτυξης, γεγονός που σε συνδυασμό με τις υψηλότερες βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξής του και του υψηλότερου ρυθμού υδρόλυσης των λιπών σ' αυτές, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα έναντι του *M. parvicella*.

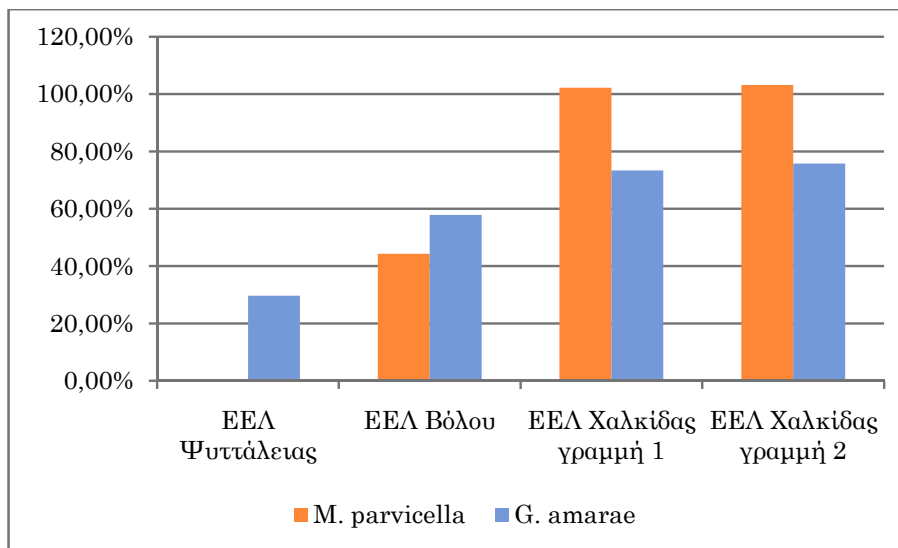
Επίσης, από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε η συνδιακύμανση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων στο ανάμικτο υγρό και στον αφρό στις ΕΕΛ του Βόλου και της Χαλκίδας που αντιμετώπιζαν προβλήματα αφρισμού υποδεικνύοντας την ύπαρξη δυναμικής ισορροπίας μεταξύ των δύο φάσεων. Επομένως, είναι πιθανός ο συνεχής εμβολιασμός του ανάμικτου υγρού της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με νηματοειδείς από τον αφρό που συσσωρεύεται στην επιφάνειά τους και παγιδύεται εκεί καθώς καμία εκ των δύο ΕΕΛ δεν εφαρμόζει σύστημα επιλεκτικής απομάκρυνσης του αφρού.

Όσον αφορά στον εμβολιασμό των συστημάτων δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με βιώσιμους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* μέσω της ανακυκλοφορίας των ροών των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης, φαίνεται ότι η έκταση των προβλημάτων αφρισμού είναι ανάλογη των ποσοστών επανατροφοδότησης. Έτσι στην εγκατάσταση της Ψυτάλλειας που δεν αντιμετώπιζε σημαντικά προβλήματα αφρισμού τη χρονική περίοδο της δειγματοληψίας, το ποσοστό επανατροφοδότησης, ως η ημερήσια ροή μάζας του μικροοργανισμού *G. amarae* στα στραγγίδια (τμήσεις FISH ημερησίως) προς τη μάζα του νηματοειδούς βακτηρίου στη δεξαμενή αερισμού (τμήσεις FISH ανά όγκο δείγματος επί τον όγκο του αερισμού), υπολογίστηκε ίσο με 0,4%. Ταυτόχρονα, η απομάκρυνση των νηματοειδών βακτηρίων με την περίσσεια ιλύος αντιστοιχεί περίπου στο 30% προς τη μάζα του νηματοειδούς βακτηρίου στη δεξαμενή αερισμού. Τα αντίστοιχα ποσοστά επανατροφοδότησης της δευτεροβάθμιας διεργασίας με στραγγίδια για την ΕΕΛ Βόλου κυμαίνονται μεταξύ 0,0 και 8,1% για το βακτήριο *G. amarae* και μεταξύ 0,2 και 11,1% για το βακτήριο *M. parvicella* ενώ αντίστοιχα οι ρυθμοί απομάκρυνσής τους με την περίσσεια είναι 2,5 - 10,0% και 4,9 - 28,1%.

Η εγκατάσταση της Χαλκίδας παρουσίαζε τα σημαντικότερα προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού από τις άλλες δύο ΕΕΛ σε όλη τη διάρκεια των μετρήσεων της παρούσας εργασίας. Έτσι, τα ποσοστά επανατροφοδότησης με τα στραγγίδια

που υπολογίστηκαν ήταν αυξημένα και κυμαίνονταν μεταξύ 2,6% και 21,5% και 0,8%-27,1% ως προς τη συνολική ποσότητα των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στη δευτεροβάθμια διεργασία ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά των νηματοειδών που απομακρύνονταν από το σύστημα με την πρωτοβάθμια ιλύ κυμαίνονταν μεταξύ 2,5%- 32,0% και 0,8% και 15,2%.

Στο παρακάτω γράφημα 6.13 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των ποσοστών της επιστροφής των νηματοειδών μέσω των ροών των στραγγιδίων των διεργασιών επεξεργασίας της ιλύος προς την απομάκρυνσή τους με την περίσσεια ιλύος, όπως υπολογίστηκαν με τη βοήθεια της μεθόδου FISH στις τρεις ΕΕΛ. Από το γράφημα φαίνεται ότι στην ΕΕΛ Ψυττάλειας, που κατά τη χρονική περίοδο των δειγματοληψιών παρουσίαζε τα μικρότερα προβλήματα αφρισμού, το εν λόγω ποσοστό ανέρχεται σε 30% ενώ για την ΕΕΛ Βόλου τα ποσοστά ήταν 58% και 44% για τους νηματοειδείς *G. amarae* και *M. parvicella* αντίστοιχα. Τέλος, για την ΕΕΛ Χαλκίδας που παρουσίαζε τα μεγαλύτερα προβλήματα αφρισμού κατά τη χρονική περίοδο της δειγματοληψίας τα ποσοστά ήταν περίπου 75% και 102% για τους νηματοειδείς *G. amarae* και *M. parvicella*. Επομένως, στην ΕΕΛ της Χαλκίδας οι νηματοειδείς *M. parvicella* δεν απομακρύνονταν από την εγκατάσταση εφόσον η ροή μάζας τους στην ιλύ ισούσαν με τις επιστροφές των νηματοειδών με τα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης της ιλύος.



Γράφημα 6.13: Ποσοστό επιστροφής των νηματοειδών με τα στραγγίδια από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος προς την απομάκρυνσή τους με την περίσσεια ιλύος

Η υπόθεση του εμβολιασμού του συστήματος ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* μέσω των επιστροφών στραγγιδίων

από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης διερευνήθηκε περαιτέρω για τις δύο ΕΕΛ του Βόλου και της Χαλκίδας. Πιο συγκεκριμένα, υπολογίστηκαν οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης των ροών μάζας των νηματοειδών βακτηρίων στα στραγγίσματα από τις διάφορες μονάδες πάχυνσης και αφυδάτωσης από τις οποίες παράγονται στραγγίδια με τις αντίστοιχες τιμές στο ανάμικτο υγρό. Οι μεγαλύτεροι συντελεστές Pearson βρέθηκαν και στις δύο περιπτώσεις μεταξύ των στραγγισμάτων της αφυδάτωσης, υποδεικνύοντας ότι η εκτροπή και χωριστή επεξεργασία των εν λόγω στραγγιδίων θα περιόριζαν τον εμβολιασμό του συστήματος ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς και άρα θα μπορούσαν να έχουν θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση των φαινομένων αφρισμού.

Όσον αφορά στα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης των ΕΕΛ πλήρους κλίμακας, αυτά ήταν αναλογικά με το χρόνο παραμονής και συγκεκριμένα κυμαίνονταν μεταξύ 34 και 48% για την ΕΕΛ Χαλκίδας με χρόνο παραμονής 12-13 ημέρες και 38- 78% για την ΕΕΛ Βόλου με χρόνο παραμονής 17 ημέρες.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στο φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού στην αναερόβια χώνευση μετρήθηκαν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις καθώς και το δυναμικό αφρισμού και η σταθερότητα του αφρισμού στην εισερχόμενη ιλύ. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μια αναλογική σχέση μεταξύ της σταθερότητας του αφρισμού και της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων, η οποία είναι μεγαλύτερη για τους μικροοργανισμούς *M. parvicella*. Όσον αφορά στη συσχέτιση του δυναμικού αφρισμού με τις συγκεντρώσεις των νηματοειδών αυτή ήταν πρακτικά σταθερή. Επομένως, φαίνεται ότι η σταθερότητα του αφρού που σχηματίζεται είναι ανάλογη της συνολικής συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* στην τροφοδοτούμενη ιλύ.

6.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΤΡΟΦΟΔΟΣΙΑΣ

Όπως περιγράφηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο 3 εξετάστηκαν τέσσερα συστήματα αναερόβιας χώνευσης εργαστηριακής κλίμακας: ένας μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής, ένας μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής και δύο διβάθμια συστήματα. Το ένα διβάθμιο σύστημα αποτελούνταν από ένα πρώτο θερμόφιλο στάδιο με μικρότερο χρόνο παραμονής σε σειρά με δεύτερο μεσόφιλο στάδιο ενώ το δεύτερο διβάθμιο σύστημα αποτελούνταν από δύο μεσόφιλους χωνευτές σε σειρά με ίσους χρόνους παραμονής. Όλα τα συστήματα λειτούργησαν σε 4 διαφορετικούς χρόνους παραμονής, στις 20, 16, 13 και 10 ημέρες. Στις επόμενες παραγράφους παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα της λειτουργίας των χωνευτών καταρχήν για κάθε χρόνο παραμονής χωριστά (6.4.1-6.4.4) και στη συνέχεια δίνεται ο σχολιασμός του συνόλου των αποτελεσμάτων συγκριτικά για όλους τους χρόνους παραμονής.

6.3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ ΣΕ ΧΡΟΝΟ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ 20 ΗΜΕΡΩΝ

Η πρώτη φάση λειτουργίας των εργαστηριακών χωνευτών ξεκίνησε στις 5/12/2006 και διήρκησε μέχρι τις 23/3/2007, δηλαδή 109 ημέρες. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας των χωνευτών αυτής της φάσης είναι τα εξής:

- Μεσόφιλος με χρόνο παραμονής 20 ημέρες - **M20**
- Σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνους παραμονής 8 και 12 ημέρες αντίστοιχα (συνολικά 20 ημέρες) - **T8/M12**
- Θερμόφιλος με χρόνο παραμονής 20 ημέρες - **T20**
- Σύστημα μεσόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 10 ημέρες ο καθένας (συνολικά 20 ημέρες) - **M10/M10**.

Η συλλογή των αποτελεσμάτων που δίνονται στη συνέχεια ξεκίνησε αφού όλοι οι χωνευτές προσαρμόστηκαν στις παραπάνω συνθήκες λειτουργίας, δηλαδή μετά την πάροδο χρόνου ίσου με 2 φορές τον χρόνο παραμονής (τουλάχιστον 40 ημέρες).

Τα χαρακτηριστικά της εισερχόμενης ιλύος φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 6.25:

Πίνακας 6.25: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας των εργατηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Ιλύς τροφοδοσίας	Τιμές
Ολικά στερεά (mg/L)	36.622 ± 1.459
Πτητικά στερεά (mg/L)	26.844 ± 1.190
Ολικό COD (mg/L)	45.586 ± 4.156
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	5,4*10 ⁵
Δυναμικό αφρισμού (ml)	428 ± 14
Σταθερότητα αφρισμού (sec)	161 ± 38
<i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	3,7*10 ⁷ ± 9,2*10 ⁶
<i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L)	4,4*10 ⁷ ± 8,2*10 ⁶

Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά όλων των κωνευτών, καθώς και η απόδοσή τους και η στατιστική επεξεργασία των παραμέτρων που παρακολούθηθηκαν, σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης φαίνονται στο συγκεντρωτικό πίνακα 6.26 που ακολουθεί.

Πίνακας 6.26: Λειτουργικά χαρακτηριστικά και απόδοση κωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Χωνεμένη ιλύς/ Παράμετροι	Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	Μεσόφιλο στάδιο (M12) διβάθμιος θερμόφιλου συστήματος	Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο (M10b) διβάθμιος μεσόφιλου συστήματος
Θερμοκρασία (° C)	34,9 ± 0,9	54,4 ± 0,4 (T8)/ 35,0 ± 0,9 (M12)	54,0 ± 0,3	36,0 ± 0,9/ 36,0 ± 0,8
pH	7,42 ± 0,01	6,74 ± 0,20/ (T8) 7,41 ± 0,02 (M12)	7,20 ± 0,05	7,37 ± 0,03/ 7,49 ± 0,03
Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)	1,342 ± 0,127	3,355 ± 0,249 (T8) 1,662 ± 0,192 (M12)	1,342 ± 0,127	2,684 ± 0,208
Παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/h/Lιλύος)	23,5 ± 1,4	25,4 ± 1,8	6,5 ± 2,7	17,5 ± 2,6
m ³ βιοαερίου/kg VSR	0,95 ± 0,12	0,92 ± 0,16	0,42 ± 0,22	0,61 ± 0,12
Πτητικά στερεά VS (mg/L)	16.976 ± 1.050	19.939 ±1.570/ (T8) 16.850 ± 1.763 (M12)	20.989 ± 1.698	14.462 ± 1.295
% καταστροφή VS	41,7 ± 2,7	44 ± 5,1	25,3 ± 6,1	45,6 ± 3,3
% καταστροφή ολικού COD	35 ± 7,2	44,1 ± 4,3	20,7 ± 5,8	46,7 ± 4,8
Διαλυτό COD (mg/L) (SCOD _{FEED} =3.129mg/L)	2.748 ± 367	4.072 ± 546/ (T8) 591 ± 144 (M12)	3.980 ± 882	449 ± 185
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	1,1*10 ⁶ ±2,7* 10 ⁵	1,4*10 ⁶ ±1,8*10 ⁵	3,2*10 ⁶ ±8,4*1 0 ⁵	1,6*10 ⁶ ±3,2*10 ⁵
Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)	860 ± 123	2.854 ± 374/ (T8) 508 ± 80 (M12)	2.518 ± 403	473 ± 72

Στη συνέχεια γίνεται η αναλυτική παρουσίαση και η σύγκριση της απόδοσης των 4 συστημάτων ως προς τις παραμέτρους που παρακολουθούνταν στο χρόνο παραμονής των 20 ημερών.

6.3.1.1. Θερμοκρασία - pH

Οι μέσοι όροι της θερμοκρασίας και του pH λειτουργίας των χωνευτών καθώς και οι διακυμάνσεις τους σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης φαίνονται στον επόμενο πίνακα 6.27.

Πίνακας 6.27: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Χωνεμένη Ιλύς	Μέση θερμοκρασία (°C)	Μέσο pH
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	34,9 ± 0,9	7,42 ± 0,01
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	54,4 ± 0,4	6,74 ± 0,20
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	35,0 ± 0,9	7,41 ± 0,02
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	54,0 ± 0,3	7,20 ± 0,05
Πρώτο στάδιο M10a του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	36,0 ± 0,9	7,37 ± 0,03
Δεύτερο στάδιο M10b του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	36,0 ± 0,8	7,49 ± 0,03

Στον πίνακα 6.27 φαίνεται ότι η θερμοκρασία διατηρούνταν στους 35±1°C για τους μεσόφιλους χωνευτές και 55±1°C για τους θερμόφιλους. Το pH σε όλους τους χωνευτές κυμαινόταν μεταξύ των τιμών 6,74 και 7,49, εντός δηλαδή της επιθυμητής περιοχής 6 - 8 για την ανάπτυξη των μεθανοβακτηρίων.

Το χαμηλότερο pH μετρήθηκε στο θερμόφιλο χωνευτή των 8 ημερών, δηλαδή στο πρώτο στάδιο του διβάθμιου θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος. Το χαμηλό pH ήταν αποτέλεσμα της συσσώρευσης πηκτικών οξέων, που παράγονταν κατά την οξεογενή φάση της χώνευσης, η οποία ευνοούνταν εξαιτίας του μικρού χρόνου παραμονής και της υψηλής θερμοκρασίας. Ωστόσο, στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο

του συστήματος αυτού το pH ήταν αυξημένο, εφόσον καταναλώνονταν τα πτητικά λιπαρά οξέα της πρώτης φάσης λόγω των ευνοϊκότερων συνθηκών για την ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηριών. Το γεγονός αυτό υποστηρίζεται και από τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων διαλυτού COD και πτητικών λιπαρών οξέων που παρουσιάζονται σε επόμενη παράγραφο.

6.3.1.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών

Στον παρακάτω πίνακα 6.28 παρουσιάζονται οι οργανικές φορτίσεις όλων των χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών. Η οργανική φόρτιση του δεύτερου σταδίου του διβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή δε μπορεί να υπολογιστεί καθώς δε λαμβάνονταν δείγμα από τον πρώτο χωνευτή ωστόσο θα είναι προφανώς μικρότερη από την αντίστοιχη του πρώτου σταδίου λόγω του μεγαλύτερου χρόνου παραμονής.

Πίνακας 6.28: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Εργαστηριακό σύστημα	Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	1,342 ± 0,127
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	3,355 ± 0,249
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	1,662 ± 0,192
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	1,342 ± 0,127
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	1,342 ± 0,208

Από τον πίνακα φαίνεται ότι οι οργανικές φορτίσεις όλων των χωνευτών κυμαίνονταν μεταξύ 1,34 και 3,36 kg VS/m³ ημερησίως, τιμές εντός της κλίμακας τιμών που εφαρμόζονται συνήθως στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης (1 - 3 kg VS/ m³-day) (Gerardi, 2003).

6.3.1.3. Παραγωγή Βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών

Η ωριαία παραγωγή βιοαερίου στη μονάδα του όγκου της χωνεμένης ιλύος καθώς και η παραγωγή βιοαερίου ανηγμένη στη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται φαίνονται στον επόμενο πίνακα 6.29.

Πίνακας 6.29: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Χωνεμένη ιλύς	Ωριαία παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/hr/L ιλύος)	% καταστροφή VS	Παραγωγή βιοαερίου (m ³ βιοαερίου/kg VSR)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	23,5 ± 1,4	41,7 ± 2,7	0,95 ± 0,12
Διβάθμιο θερμόφιλο σύστημα	25,4 ± 1,8	44,0 ± 5,1	0,92 ± 0,16
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	6,5 ± 2,7	25,3 ± 6,1	0,42 ± 0,22
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	17,5 ± 2,6	45,6 ± 3,3	0,61 ± 0,12

Από τον πίνακα διαπιστώνεται, ότι την υψηλότερη απόδοση είχαν ο μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής καθώς και το διβάθμιο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα με ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου στη μάζα καταστροφής των πτητικών στερεών από 0,92 έως και 0,95 m³ /kg VSR. Η απόδοση των δύο αυτών συστημάτων ήταν εντός των τυπικών ορίων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία 0,8 - 1,0 m³ /kg VSR (Gerardi, 2003). Εκ των τεσσάρων συστημάτων ο μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής παρουσίασε τη χαμηλότερη απόδοση, με ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου ίση με 0,42 m³ /kg VSR, γεγονός μη αναμενόμενο. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται τιμές της τάξης 0,9-1,3 m³ βιοαερίου/kg VS που καταστρέφονται για μεσόφιλη χώνευση με χρόνο παραμονής 20 και 15 ημέρες, 1,0-1,3 m³ βιοαερίου/kg VS για τη θερμόφιλη χώνευση με χρόνο παραμονής 7,5-15 ημέρες και 1,0-2,1 m³ βιοαερίου/kg VS για συστήματα θερμόφιλης/μεσόφιλης χώνευσης σε σειρά με χρόνο παραμονής 10-20 μέρες (Reusser and Zelinka, 2004).

Οι Gavala *et al.* (2003) αναφέρουν ότι η θερμόφιλη αναερόβια χώνευση είναι πιο αποτελεσματική από ότι η συμβατική μεσόφιλη, ωστόσο τα πλεονεκτήματά της είναι πιο εμφανή όταν χρησιμοποιούνται μικρότεροι χρόνοι παραμονής από τις 20 μέρες. Οι Carballa *et al.* (2007) αναφέρουν σε εργασία τους ότι ο θερμόφιλος χωνευτής ήταν σταθερός στη λειτουργία σε χαμηλότερους χρόνους παραμονής απ' ότι ο μεσόφιλος σε συνδυασμό με την επίτευξη μεγάλης καταστροφής πτητικών στερεών. Επίσης, αναφέρουν την αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμόφιλες συνθήκες και κυρίως τη συσσώρευση του προπιονικού οξέος έναντι του οξικού. Και στην παρούσα εργασία η χαμηλή απόδοση του θερμόφιλου χωνευτή ως προς την παραγωγή του βιοαερίου και την καταστροφή των πτητικών στερεών επιβεβαιώνεται και από τις υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων και διαλυτού COD που μετρήθηκαν και παρουσιάζονται σε επόμενη παράγραφο.

Το διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα παρουσιάζει χαμηλή παραγωγή βιοαερίου παρόλη τη σχετικά υψηλή καταστροφή των πτητικών στερεών. Το γεγονός αυτό οφείλονταν στα προβλήματα αφρισμού εντός των χωνευτών που συνεπάγονταν εγκλωβισμό του βιοαερίου και υποεκτίμηση της παραγωγής του. Αυτό ήταν εμφανές και σε περιόδους που διακοπτόταν η ανάδευση με αποτέλεσμα τη στρωμάτωση εντός του χωνευτή, οπότε στην επιφάνεια αναπτυσσόταν ένα παχύ στρώμα αφρού. Το στρώμα αυτό αποδείχθηκε ότι εγκλωβίζει το παραγόμενο βιοαέριο εντός του χωνευτή καθώς με την ανάδευση και διάσπασή του καταγραφόταν παραγωγή βιοαερίου.

6.3.1.4. Πτητικά λιπαρά οξέα

Τα πτητικά λιπαρά οξέα (VFA) αποτελούν το ενδιάμεσο προϊόν μεταξύ οξεογένεσης και μεθανογένεσης, κατά την αναερόβια χώνευση. Η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από τις συνθήκες χώνευσης (θερμοκρασία, χρόνος παραμονής) και από τα χαρακτηριστικά της τροφοδοτούμενης ιλύος και είναι μεγαλύτερη σε θερμόφιλες συνθήκες σε σχέση με τη χώνευση σε μεσόφιλες συνθήκες. Κατά τη μεσόφιλη χώνευση το κυριότερο συστατικό των πτητικών λιπαρών οξέων είναι το οξικό οξύ, ενώ στη θερμόφιλη χώνευση είναι το προπιονικό οξύ. Στον επόμενο πίνακα 6.30 φαίνονται οι τιμές των πτητικών λιπαρών οξέων των τεσσάρων εργαστηριακών χωνευτών της παρούσας εργασίας και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Πίνακας 6.30: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ) εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Είδος ιλύος	Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	860 ± 123
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	2.854 ± 374
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	508 ± 80
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	2.518 ± 403
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	473 ± 72

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω αποτελέσματα η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμόφιλες συνθήκες είναι σημαντικά μεγαλύτερη (2.518 - 2.854mg/L) σε σχέση με τις μεσόφιλες (473 - 860mg/L). Επίσης, μπορεί να διαπιστώσει κανείς τη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων.

Η περιοχή τιμών της συγκέντρωσης των πτητικών οξέων που συνεπάγεται τη βέλτιστη λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης έχει γίνει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Όσον αφορά στη συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος έχει βρεθεί ότι πρέπει να είναι μικρότερη από 15 mg/L, ενώ του οξικού οξέος δεν πρέπει να ξεπερνά τα 800 mg/L. Επίσης, ο λόγος του προπιονικού οξέος προς το οξικό οξύ πρέπει να είναι μικρότερος από 1,4. Οι τιμές αυτές συνήθως μετρώνται σε μονοβάθμια συστήματα και στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων χωνευτών. Η αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών οξέων δίχως την αύξηση της αλκαλικότητας αποτελεί ένδειξη προβληματικής λειτουργίας του χωνευτή, καθώς στη φάση της οξεογένεσης τα οξέα μετατρέπονται με τη βοήθεια ανθρακικών αλάτων (δέσμευση αλκαλικότητας) σε εστέρες, οι οποίοι στη συνέχεια διασπώνται και παράγεται μεθάνιο με ταυτόχρονη απελευθέρωση αλκαλικότητας. Έτσι, αν δεν υπάρχει αρκετή αλκαλικότητα, το pH θα πέσει, και η μετατροπή του οξικού οξέος σε μεθάνιο θα αναχαιτιστεί. Σε ένα χωνευτή που λειτουργεί ομαλά, διατηρείται δυναμική ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της κατανάλωσης της αλκαλικότητας. Ωστόσο, αν συμβεί κάποια διαταραχή, τα μεθανογόνα βακτήρια θα επηρεαστούν

περισσότερο σε σχέση με τα οξεογόνα. Έτσι, σε οποιαδήποτε διαταραχή της ισορροπίας, καταναλώνεται αλκαλικότητα και η διεργασία μπορεί να αστοχήσει εξαιτίας της μείωσης του pH. Επομένως, πρέπει να ελέγχεται ο λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς την αλκαλικότητα, ο οποίος πρέπει να κυμαίνεται στην περιοχή 0,1 - 0,2, ενώ εάν ο λόγος υπερβεί την τιμή 0,5, είναι υπαρκτός ο κίνδυνος αστοχίας του χωνευτή (Gerardi, 2003).

Η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων εξαρτάται τόσο από τη θερμοκρασία όσο και από το χρόνο παραμονής σε ένα σύστημα αναερόβιας χώνευσης. Οι Song *et al.* (2004) αναφέρουν τιμές πτητικών στερεών ίσες με 579 ± 97 mg/L και 1.587 ± 302 mg/L για μονοβάθμιο μεσόφιλο και θερμόφιλο σύστημα με υδραυλικούς χρόνους παραμονής 20 και 10 ημερών. Οι Reusser and Zelinka (2004) σε διβάθμιο σύστημα θερμόφιλο μεσόφιλο αναφέρουν τιμές 86 και 748 mg/L για χρόνους παραμονής 5/15 και 7,5/3,5 ημερών αντίστοιχα. Όσον αφορά σε μονοβάθμιους χωνευτές, οι συγγραφείς αναφέρουν τιμές ίσες με 1.734, 2.034 και 2.177 mg/L για θερμόφιλες συνθήκες και χρόνους παραμονής 7,5, 10 και 15 ημέρες αντίστοιχα και 38- 90 mg/L για μεσόφιλες συνθήκες και χρόνους παραμονής 15 και 20 ημέρες αντίστοιχα.

6.3.1.5. Συγκέντρωση ολικού και διαλυτού COD

Στον παρακάτω πίνακα 6.31 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης του διαλυτού COD στα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 20 ημερών, τα οποία είναι ανάλογα με τα αντίστοιχα των συγκεντρώσεων των πτητικών λιπαρών οξέων.

Πίνακας 6.31: Διαλυτό COD εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Είδος ιλύος	% Καταστροφή ολικού COD	Διαλυτό COD (mg/L)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20		3.129 ± 235
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$35,0 \pm 7,2$	3.354 ± 288
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος		4.072 ± 546
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	$44,1 \pm 4,3$	591 ± 144
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	$20,7 \pm 5,8$	4.628 ± 391
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	$43,8 \pm 4,8$	627 ± 196

Στον παραπάνω πίνακα 6.31 φαίνεται ότι στους θερμοφίλους χωνευτές το διαλυτό COD είναι αυξημένο (4.072 - 4.628 mg/L), όπως και στη μονοβάθμια μεσόφιλη χώνευση (3.129 ± 235), ενώ στα δεύτερα μεσόφιλα στάδια των διβάθμιων συστημάτων μειώνεται σημαντικά (591 - 627mg/L). Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο εφόσον η συγκέντρωση του διαλυτού οργανικού φορτίου (διαλυτό COD), είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων. Έτσι, σε θερμοφιλες συνθήκες παρατηρείται μεγάλη συγκέντρωση διαλυτού COD, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων. Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο οι Song *et al.* (2004) αναφέρουν τιμές πτητικών λιπαρών οξέων ίσες με 579 ± 97 mg/L και 1.587 ± 302 mg/L για μονοβάθμιο μεσόφιλο και θερμοφιλο σύστημα με υδραυλικούς χρόνους παραμονής 20 και 10 ημερών. Οι αντίστοιχες τιμές διαλυτού COD ήταν ίσες με 2.555 ± 493 mg/L και 5.240 ± 1.404 mg/L αντίστοιχα.

6.3.1.6. Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση

Οι διάφορες μέθοδοι αναερόβιας χώνευσης επηρεάζουν σε διαφορετικό βαθμό τα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της χωνεμένης ιλύος. Η μέτρηση της ειδικής αντίστασης στη διήθηση (SRF) είναι ένας τρόπος να ποσοτικοποιηθεί η αφυδατωσιμότητα της ιλύος. Σημειώνεται ωστόσο ότι τα αποτελέσματα προσδιορισμού της αφυδατωσιμότητας αντιστοιχούν σε δείγματα ιλύων, στα οποία δεν είχε προστεθεί πολυηλεκτρολύτης. Κατά συνέπεια δεν αποδίδουν πλήρως τις δυνατότητες αφυδάτωσης των παραγόμενων ιλύων στην περίπτωση βελτίωσης των χαρακτηριστικών τους με προσθήκη πολυηλεκτρολύτη.

Επίσης, καθώς η μέτρηση της ειδικής αντίστασης στη διήθηση είναι πολυπαραμετρική, απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στον προσδιορισμό όλων των κρίσιμων παραμέτρων. Προς αποφυγή λανθασμένων συμπερασμάτων, στην παρούσα εργασία οι μετρούμενες τιμές μελετώνται συγκριτικά και σε κάθε περίπτωση διατηρήθηκαν οι ίδιες συνθήκες. Επομένως, η σύγκριση των χαρακτηριστικών της αφυδατωσιμότητας της χωνεμένης ιλύος από τα εργαστηριακά συστήματα έγινε με την παχυμένη και τη χωνεμένη λάσπη από την Ψυττάλεια. Στον επόμενο πίνακα 6.32 φαίνονται οι τιμές της ειδικής αντίστασης στη διήθηση και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Πίνακας 6.32: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της κωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών κωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της κωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Είδος ιλύος	Ειδική αντίσταση στη διήθηση SRF (Tm/kg)
Παχυμένης ιλύος	$5,4 \cdot 10^5$
Έξοδος μονοβάθμιου μεσόφιλου M20	$1,10 \cdot 10^6 \pm 2,73 \cdot 10^5$
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$1,44 \cdot 10^6 \pm 1,78 \cdot 10^5$
Έξοδος μονοβάθμιου θερμόφιλου T20	$3,22 \cdot 10^6 \pm 8,39 \cdot 10^5$
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M10b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	$1,63 \cdot 10^6 \pm 3,16 \cdot 10^5$
Χωνεμένη Ψυττάλειας	$1,29 \cdot 10^6$

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα, η κώνευση σε μεσόφιλες συνθήκες πετυχαίνει τα καλύτερα αποτελέσματα ως προς την αφυδατωσιμότητα, ενώ ακολουθούν χωρίς μεγάλες διαφορές και τα δύο διβάθμια συστήματα. Πάντως και στις τρεις αυτές περιπτώσεις τα αποτελέσματα είναι συγκρίσιμα με την κωνεμένη λάσπη από την εγκατάσταση της Ψυττάλειας. Ο θερμόφιλος κωνευτής είναι αυτός που παρουσιάζει τα χειρότερα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας. Η επιδείνωση αυτή των χαρακτηριστικών της αφυδατωσιμότητας σε θερμόφιλες συνθήκες επιβεβαιώνεται και από άλλους ερευνητές (Kugelman and Guida, 1989, Reusser and Zelinka, 2004). Ειδικά οι Novak & Bivins (2000) αναφέρουν ότι η αυξημένη κολλοειδής πρωτεΐνη και οι διαλυμένοι πολυσακχαρίτες που παράγονται κατά τη θερμόφιλη κώνευση είναι αυτοί που επιδεινώνουν τα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της κωνεμένης ιλύος, γεγονός που συμφωνεί με την αυξημένη συγκέντρωση διαλυτού COD που αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο.

6.3.1.7. Νηματοειδείς μικροοργανισμοί & Αφρισμός

A. Συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH.

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους, όπως προσδιορίστηκαν με

τη μέθοδο FISH, φαίνονται στον πίνακα 6.33. Τα ποσοστά καταστροφής υπολογίστηκαν ως η συνολική ποσότητα του κάθε νηματοειδούς βακτηρίου που εισέρχεται στο σύστημα με την τροφοδοσία ως προς τη συνολική ποσότητά του στη κωνεμένη ιλύ που απομακρύνεται από το σύστημα. Από τον πίνακα φαίνεται ότι το ποσοστό καταστροφής είναι σχετικά υψηλό σε όλα τα συστήματα και κυμαίνεται μεταξύ 80% και 97% για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και μεταξύ 75% και 97% για τους μικροοργανισμούς *M. parvicella*.

Πίνακας 6.33: Συγκέντρωση των μικροοργανισμών *G.amarae* και *M. parvicella* (τμήσεις/L) στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 20 ημερών

Είδος ιλύος	Συγκέντρωση των <i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	Συγκέντρωση των <i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L)	Καταστροφή <i>G. amarae</i> %	Καταστροφή <i>M. parvicella</i> %
Είσοδος, παχυμένη ιλύς	(3,7 ± 0,9)E+07	(4,4 ± 1,5)E+07		
Έξοδος μονοβάθμιου μεσόφιλου M20	(7,3 ± 1,5)E+06	(1,1 ± 0,3)E+06	80,6± 7,5	75,6± 5,4
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	(0,8 ± 1,0)E+06	(1,3 ± 0,7)E+06	93,9± 1,5	94,7±2,8
Έξοδος μονοβάθμιου θερμόφιλου T20	(2,5 ± 0,7)E+06	(2,4 ± 1,4)E+06	97,4±2,2	97,2± 1,9
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M10b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	(7,2 ± 2,2)E+06	(1,0 ± 0,4)E+07	81,1±3,9	77,9± 8,8

Από τον πίνακα προκύπτει το συμπέρασμα ότι οι θερμόφιλες συνθήκες οδηγούν σε μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* (93%-98%) από ότι οι μεσόφιλες (76% - 80%).

B. Δοκιμές αφρισμού

Στις δοκιμές αφρισμού δύο είναι οι κρίσιμες παράμετροι αξιολόγησης, το δυναμικό αφρισμού (FP σε ml/%TS) που μετράται μέσω του όγκου του αφρού που παράγεται και η σταθερότητα του αφρού που μετράται μέσω του χρόνου που χρειάζεται ο παραγόμενος αφρός για να καταρρεύσει (FS σε sec/%TS). Έτσι, η πρώτη

παράμετρος (FP) εκφράζει τον αναμενόμενο όγκο του παραγόμενου αφρού στους αναερόβιους χωνευτές και η δεύτερη (FS) τη συνεκτικότητα και άρα τη σταθερότητα του παραγόμενου αφρού. Κατά συνέπεια, ιλύες που δεν προκαλούν προβλήματα αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές αναμένεται να χαρακτηρίζονται από χαμηλό δυναμικό αφρισμού και χαμηλή σταθερότητα.

Τα αποτελέσματα καθώς και η αντίστοιχη μείωση των παραπάνω μεγεθών στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης δίνονται στον πίνακα 6.34.

Πίνακας 6.34: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 20 ημερών.

Είδος ιλύος	Δυναμικό αφρισμού (mL/TS)	Σταθερότητα αφρισμού (s/TS)	%Μείωση δυναμικού	%Μείωση σταθερότητας
Είσοδος, παχυμένη ιλύς	428±14	161±38		
Έξοδος μονοβάθμιου μεσόφιλου M20	399±27	128±30	6,8%±0,7%	20,5%±3,0%
Έξοδος 1 ^{ου} θερμόφιλου σταδίου T8 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	378±12	137±28	11,7%±0,4%	14,9%±2,9%
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	150±18	49±26	64,9%±0,9%	69,6%±3,3%
Έξοδος μονοβάθμιου θερμόφιλου T20	353±18	124±12	17,4%±0,5%	22,9%±2,5%
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M10b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	300±47	123±66	29,9%±1,1%	23,7%±4,8%

Όπως φαίνεται στον πίνακα 6.34 το διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα έχει την υψηλότερη απόδοση ως προς τη μείωση του αφρισμού. Τα υπόλοιπα συστήματα παρουσιάζουν πρακτικά την ίδια απόδοση. Επομένως, ξεκάθαρο συμπέρασμα σχετικά με την επίδραση της θερμοκρασίας στα χαρακτηριστικά αφρισμού της χωνεμένης ιλύος δε μπορεί να εξαχθεί. Το δυναμικό και η σταθερότητα του αφρισμού επηρεάζονται τόσο από τη συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων όσο και από τη συγκέντρωση άλλων οργανικών ενώσεων της χωνεμένης ιλύος που δρουν σταθεροποιητικά στον αφρισμό. Από τη μία πλευρά, η συγκέντρωση των νηματοειδών είναι υψηλότερη στους μεσόφιλους χωνευτές, ενώ από την άλλη, η

συγκέντρωση των ενώσεων που σταθεροποιούν τον αφρισμό είναι υψηλότερη στους θερμοφίλους χωνευτές όπως μετρήθηκε μέσω του κολλοειδούς COD, λόγω του μεγαλύτερου βαθμού υδρόλυσης της οργανικής ύλης (Kugelman and Guida, 1989, Rimkus *et al.*, 1982, Reusser and Zelinka, 2004). Επίσης, ο μεγαλύτερος βαθμός καταστροφής των νηματοειδών που επιτεύχθηκε στους θερμοφίλους χωνευτές μπορεί να οδήγησε σε αύξηση των κολλοειδών υδροφοβικών ενώσεων, όπως το μυκολικό οξύ, ενισχύοντας κατά τον τρόπο αυτό το δυναμικό αφρισμού. Όπως αναφέρουν οι Pagilla *et al.* (1998) χλωρίωση της περίσσειας ιλύος σε αμερικανική ΕΕΛ οδήγησε σε αύξηση του δυναμικού και της σταθερότητας αφρισμού της ιλύος, γεγονός που οι συγγραφείς απέδωσαν είτε στην καταστροφή των συσσωματωμάτων από το χλώριο που συνεπάγεται τη μεγαλύτερη έκθεση των υδρόφοβων *G. amarae* στην υγρή φάση, είτε στην απελευθέρωση από τα κύτταρα υλικών που σταθεροποιούν τον αφρό όταν αυτά λύνονται από το Cl₂.

6.3.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ ΣΕ ΧΡΟΝΟ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ 16 ΗΜΕΡΩΝ

Η λειτουργία των χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών ξεκίνησε στις 26/3/2007 και διήρκησε μέχρι τις 7/7/2007, δηλαδή 105 ημέρες. Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά αυτής της φάσης φαίνονται παρακάτω.

- Μεσόφιλος με χρόνο παραμονής 16 ημέρες - **M16**
- Σύστημα θερμοφίλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 6 και 10 ημέρες αντίστοιχα (συνολικά 16 ημέρες) - **T6/M10**
- Θερμόφιλος με χρόνο παραμονής 16 ημέρες - **T16**
- Σύστημα μεσόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 8 ημέρες έκαστος (συνολικά 16 ημέρες) - **M8/M8**.

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων ξεκίνησε αφού τα συστήματα είχαν προσαρμοστεί στις νέες συνθήκες λειτουργίας, δηλαδή μετά την πάροδο χρόνου ίσο με 2 φορές το χρόνο παραμονής (τουλάχιστον 32 ημέρες). Τα χαρακτηριστικά της εισερχόμενης ιλύος φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 6.35:

Πίνακας 6.35: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Ιλύς τροφοδοσίας	Τιμές
Ολικά στερεά (mg/L)	41.024 ± 3.427
Πτητικά στερεά (mg/L)	27.083 ± 2.504
Ολικό COD (mg/L)	50.030 ± 5.725
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	5,4*10 ⁵
Δυναμικό αφρισμού (ml)	397±13
Σταθερότητα αφρισμού (sec)	150 ± 13
<i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	3,8*10 ⁷ ± 0,5*10 ⁷
<i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L)	2,6*10 ⁷ ± 0,8*10 ⁶

Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά η απόδοση των συστημάτων και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης σε αυτή τη φάση φαίνονται στον πίνακα 6.36.

Πίνακας 6.36: Λειτουργικά χαρακτηριστικά εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Χωνεμένη ιλύς /Παράμετροι	Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	Μεσόφιλο στάδιο (M10) διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	Μονοβάθμιος θερμόφιλος T16	Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο (M8b) διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος
Θερμοκρασία (° C)	36,4 ± 0,2	54,5 ± 0,2/ 36,0 ± 0,2	54,9 ± 0,2	37,2 ± 0,4/ 36,7 ± 0,4
pH	7,28 ± 0,03	6,63 ± 0,07/ 7,40 ± 0,02	7,25 ± 0,05	7,14 ± 0,06/ 7,42 ± 0,02
Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)	1,693 ± 0,230	1,857 ± 0,271	1,693 ± 0,230	1,693 ± 0,193
Παραγωγή Βιοαερίου (cm ³ Βιοαερίου/h/L ιλύος)	26,8 ± 1,0	30,0 ± 1,6	14,0 ± 2,3	27,6 ± 2,8
m ³ Βιοαερίου/kg VSR	1,06 ± 0,18	1,08 ± 0,26	0,73 ± 0,25	0,96 ± 0,19

	M16	M10	T16	M8b
Πτητικά στερεά VS (mg/L)	18.795 ± 1.742	25.528 ± 3.132/ 18.571 ± 2.090	22.028 ± 2.070	16.667 ± 1.848
% καταστροφή VS	34,5 ± 2,8	41,6 ± 5,3	26,5 ± 5,4	42,3 ± 3,5
% καταστροφή ολικού COD	30,8 ± 3,5	42,4 ± 5,1	23,1 ± 5,9	46,5 ± 5,2
Διαλυτό COD (mg/L) (SCOD _{FEED} =3.129mg/L)	1.495 ± 89	3.187 ± 664/ 301 ± 86	2.121 ± 558	252 ± 38
Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)	1095 ± 114	3.287 ± 321/ 534 ± 88	2.029 ± 161	615 ± 83
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	1,35*10 ⁶ ± 5.3*10 ⁵	1,10*10 ⁶ ± 4,4*10 ⁵	1,30*10 ⁶ ± 6,5*10 ⁵	1,39*10 ⁶ ± 5,1*10 ⁵

Στις επόμενες παραγράφους γίνεται σύγκριση της απόδοσης των 4 εργαστηριακών συστημάτων ως προς τις παραμέτρους που παρακολουθούνταν στο χρόνο παραμονής των 16 ημερών.

6.3.2.1. Θερμοκρασία - pH

Οι μέσοι όροι της θερμοκρασίας και του pH λειτουργίας των διαφορετικών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών καθώς και οι διακυμάνσεις τους σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης φαίνονται στον πίνακα 6.37.

Πίνακας 6.37: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Χωνεμένη Ιλύς	Μέση θερμοκρασία (° C)	Μέσο pH
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	36,4 ± 0,2	7,28 ± 0,03
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T6 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	54,5 ± 0,2	6,63 ± 0,07
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	36,0 ± 0,2	7,40 ± 0,02
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T16	54,9 ± 0,2	7,25 ± 0,05
Πρώτο στάδιο M8a του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	37,2 ± 0,4	7,14 ± 0,06
Δεύτερο στάδιο M8b του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	36,7 ± 0,4	7,42 ± 0,02

Στον πίνακα 6.37 φαίνεται ότι η θερμοκρασία των μεσόφιλων χωνευτών κυμάνθηκε μεταξύ 36,0 και 36,7 °C ενώ των θερμοφίλων μεταξύ 54,5 και 54,9 °C. Το pH σε όλους τους χωνευτές κυμαινόταν μεταξύ των τιμών 6,63 και 7,42, εντός δηλαδή της επιθυμητής περιοχής 6 - 8 για την ανάπτυξη των μεθανοβακτηρίων και σε ελαφρώς χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με το χρόνο παραμονής των 20 ημερών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι στις 22/5/2007 παρατηρήθηκε πτώση στο pH στο μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή M16 (από 7,42 σε 6,92) και στο πρώτο στάδιο του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος M8a (από 7,21 σε 6,95). Η πτώση αυτή αντιμετωπίστηκε άμεσα με προσθήκη αλκαλικότητας. Παρατηρήθηκε ότι ο M16 αντέδρασε γρήγορα στην προσθήκη του αλκαλικού μέσου (μία μέρα), ενώ ο M8a καθυστέρησε (μία εβδομάδα). Παρ' όλα αυτά το pH του δεύτερου μεσόφιλου συστήματος δεν επηρεάστηκε σε αυτό το διάστημα, επιβεβαιώνοντας το «ρυθμιστικό» ρόλο του πρώτου σταδίου. Η πτώση αυτή δεν επηρέασε, τελικά, τις μέσες τιμές των συστημάτων, όπως φαίνεται παραπάνω.

6.3.2.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών

Στον παρακάτω πίνακα 6.38 παρουσιάζονται οι οργανικές φορτίσεις όλων των χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών.

Πίνακας 6.38: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Εργαστηριακό σύστημα	Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	1,693 ± 0,230
Πρώτο θερμοφίλο στάδιο T6 διβάθμιου θερμοφίλου συστήματος	4,514 ± 0,538
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 διβάθμιου θερμοφίλου συστήματος	1,857 ± 0,271
Μονοβάθμιος θερμοφίλος T16	1,693 ± 0,230
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	1,693 ± 0,193

Από τον πίνακα φαίνεται ότι οι οργανικές φορτίσεις όλων των χωνευτών κυμαίνονταν μεταξύ 1,69 και 4,51kg VS/m³ ημερησίως, τιμές ελαφρώς μεγαλύτερες από ότι στο χρόνο παραμονής των 20 ημερών. Σημειώνεται ότι οι τυπικές τιμές στην πράξη είναι μικρότερες και κυμαίνονται από 1 έως 3 kg VS/ m³-day αν και μεγαλύτερες τιμές έως και 7,2 έχουν εφαρμοστεί σε ορισμένες περιπτώσεις.

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι ο θερμοφίλος χωνευτής δέχτηκε φορτίσεις μεγαλύτερες από 4.5 kg VS /m³/d¹ γεγονός που σύμφωνα με τον Brown (2002) προκαλεί προβλήματα αφρισμού.

6.3.2.3. Παραγωγή Βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών

Η ωριαία παραγωγή βιοαερίου στη μονάδα του όγκου της χωνεμένης ιλύος καθώς και η παραγωγή βιοαερίου ανηγμένη στη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται (VSR) φαίνονται στον πίνακα 6.39.

Πίνακας 6.39: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Χωνεμένη ιλύς	Ωριαία παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/hr/L ιλύος)	% καταστροφή VS	Παραγωγή βιοαερίου (m ³ βιοαερίου/kg VSR)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	26,8 ± 1,0	34,5 ± 2,8	1,06 ± 0,18
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 διβάθμιου θερμοφίλου συστήματος	29,9 ± 1,6	41,6 ± 5,3	1,08 ± 0,26
Μονοβάθμιος θερμοφίλος T16	11,5 ± 2,3	26,5 ± 5,4	0,73 ± 0,25
Δεύτερο στάδιο M8b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	27,6 ± 2,8	42,3 ± 3,5	0,96 ± 0,19

Από τον πίνακα μπορεί να διαπιστώσει κανείς ότι όλα τα συστήματα εκτός από το μονοβάθμιο θερμόφιλο χωνευτή είχαν παρόμοια απόδοση με ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου στη μάζα καταστροφής των πτητικών στερεών από 1,18 έως και 1,33 m³ /kg VSR. Ο μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής παρουσίασε τη μικρότερη απόδοση, με ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου ίση με 0,77 m³ /kg VSR. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται υψηλότερες τιμές της τάξης 1,0-1,3 m³ βιοαερίου/kg VS για τη θερμόφιλη χώνευση με χρόνο παραμονής 7,5-15 ημέρες (Reusser and Zelinka, 2004). Τα υπόλοιπα συστήματα ήταν εντός των τιμών που αναφέρονται στη βιβλιογραφία της τάξης 0,9-1,3 m³ βιοαερίου/kg VS που καταστρέφονται για μεσόφιλη χώνευση με χρόνο παραμονής 20 και 15 ημέρες και 1,0-2,1 m³ βιοαερίου/kg VS για συστήματα θερμόφιλης/μεσόφιλης χώνευσης σε σειρά με χρόνο παραμονής 10-20 μέρες (Reusser and Zelinka, 2004).

Οι Carballa *et al.* (2007) αναφέρουν την αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμόφιλες συνθήκες και κυρίως τη συσσώρευση του προπιονικού οξέος έναντι του οξικού. Και στην παρούσα εργασία η χαμηλή απόδοση του θερμόφιλου χωνευτή ως προς την παραγωγή του βιοαερίου και την καταστροφή των πτητικών στερεών επιβεβαιώνεται και από τις υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων και διαλυτού COD που μετρήθηκαν και που παρουσιάζονται σε επόμενη παράγραφο.

6.3.2.4. Πτητικά λιπαρά οξέα

Τα πτητικά λιπαρά οξέα (VFAs) αποτελούν το ενδιάμεσο προϊόν μεταξύ οξεογένεσης και μεθανογένεσης, κατά την αναερόβια χώνευση. Προκειμένου η αναερόβια χώνευση να διεξάγεται χωρίς προβλήματα και με υψηλή απόδοση πρέπει να υπάρχει ισορροπία μεταξύ παραγωγής και κατανάλωσης των πτητικών λιπαρών οξέων. Στον πίνακα 6.40 φαίνονται οι τιμές των πτητικών λιπαρών οξέων και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Πίνακας 6.40: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ) εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Είδος ιλύος	Πτητικά λιπαρά οξέα VFAs (mg/L ως οξικό οξύ)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	1.095 ± 114
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T6 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	3.287 ± 321
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	534 ± 88
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T16	2.029 ± 161
Δεύτερο στάδιο M8B του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	615 ± 83

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω αποτελέσματα η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμόφιλες συνθήκες είναι σημαντικά μεγαλύτερη (2.029 - 3.287mg/L) σε σχέση με τις μεσόφιλες (615 - 1.095mg/L). Επίσης, μπορεί να διαπιστώσει κανείς τη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων.

Οι Cheunbarn και Pagilla (2000) αναφέρουν τιμές συγκέντρωσης πτητικών λιπαρών οξέων της τάξης των 260 - 480 mg/L για μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή και το μεσόφιλο στάδιο διβάθμιου θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος σε 15 ημέρες χρόνο παραμονής.

Οι Reusser and Zelinka (2004) σε διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα με χρόνους παραμονής 5/15 ημερών αναφέρουν συγκέντρωση πτητικών λιπαρών οξέων χωνεμένης ιλύος του μεσόφιλου σταδίου ίση με 86 mg/L. Όσον αφορά σε μονοβάθμιους χωνευτές, οι συγγραφείς αναφέρουν τιμές ίσες με 2.177 mg/L για θερμόφιλες συνθήκες σε χρόνο παραμονής 15 ημερών και 38mg/L για μεσόφιλες συνθήκες σε ίσο χρόνο παραμονής. Οι Gray *et al.* (2006) αναφέρουν μικρότερες τιμές για μονοβάθμιο θερμόφιλο χωνευτή με χρόνο παραμονής 15 ημερών της τάξης των 500 - 1.500 mg/L.

6.3.2.5. Συγκέντρωση ολικού και διαλυτού COD

Στον πίνακα 6.41 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του διαλυτού COD στα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών.

Πίνακας 6.41: Διαλυτό COD εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Είδος ιλύος	% Καταστροφή ολικού COD	Διαλυτό COD (mg/L)
Είσοδος, παχυμένη ιλύς		2.192 ± 302
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	30,8 ± 3,5	1.495 ± 89
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T6 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος		3.187 ± 664
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	42,4 ± 5,1	301 ± 86
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T16	23,1 ± 5,6	2.121 ± 558
Δεύτερο στάδιο M8B του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	46,5 ± 5,2	252 ± 38

Στον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι στους θερμόφιλους χωνευτές το διαλυτό COD είναι αυξημένο (2.121 -3.187 mg/L), όπως και στη μονοβάθμια μεσόφιλη χώνευση (1.495 ± 89), ενώ στα δεύτερα μεσόφιλα στάδια των διβάθμιων συστημάτων μειώνεται σημαντικά (252 - 301mg/L). Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο εφόσον η συγκέντρωση του διαλυτού οργανικού φορτίου (διαλυτό COD), είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων. Έτσι, σε θερμόφιλες συνθήκες παρατηρείται μεγάλη συγκέντρωση διαλυτού COD, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων.

6.3.2.6. Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση

Η μέτρηση της ειδικής αντίστασης στη διήθηση (SRF) είναι ένας τρόπος να ποσοτικοποιηθεί η αφυδατωσιμότητα της ιλύος. Στον πίνακα 6.42 φαίνονται οι τιμές της ειδικής αντίστασης στη διήθηση της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Πίνακας 6.42: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Είδος ιλύος	Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)
Είσοδος, παχυμένη ιλύς	$5,4 \cdot 10^5$
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	$1,35 \cdot 10^6 \pm 5,25 \cdot 10^5$
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$1,1 \cdot 10^6 \pm 4,41 \cdot 10^5$
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T16	$1,31 \cdot 10^6 \pm 6,49 \cdot 10^5$
Δεύτερο στάδιο M8b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	$1,39 \cdot 10^6 \pm 5,1 \cdot 10^5$
Χωνεμένη Ψυττάλειας	$1,29 \cdot 10^6$

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η χωνεμένη ιλύς από όλα τα εργαστηριακά συστήματα έχει παρόμοια χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας με τιμές της ειδικής αντίστασης στη διήθηση που κυμαίνονται μεταξύ $1,1 \cdot 10^6$ - $1,39 \cdot 10^6$.

6.3.2.7. Νηματοειδείς μικροοργανισμοί & Αφρισμός

A. Συγκέντρωση νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH.

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH, φαίνονται στον πίνακα 6.43. Όπως προαναφέρθηκε τα ποσοστά υπολογίστηκαν ως η συνολική ποσότητα του κάθε νηματοειδούς βακτηρίου που εισέρχεται στο σύστημα με την τροφοδοσία ως προς τη συνολική ποσότητά του στη

κωνεμένη ιλύ που απομακρύνεται από το σύστημα. Από τον πίνακα φαίνεται ότι το ποσοστό καταστροφής είναι σχετικά υψηλό σε όλα τα συστήματα και κυμαίνεται μεταξύ 67% και 97% για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και μεταξύ 70% και 97% για τους μικροοργανισμούς *M. parvicella*.

Πίνακας 6.43: Συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων *G.amarae* και *M. parvicella* και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 16 ημερών

Χωμνευτές	Συγκέντρωση των <i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	Συγκέντρωση των <i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L)	Καταστροφή <i>G. amarae</i> %	Καταστροφή <i>M. parvicella</i> %
Είσοδος, παχυμένη ιλύς	(3,8 ± 0,5)E+07	(2,6 ± 0,8)E+07		
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M20	(1,3 ± 0,3)E+07	(7,8 ± 2,1)E+06	66,5±3, 5	70,4±3,2
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M12 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	(1,1 ± 0,3)E+06	(8,9 ± 3,4)E+05	93,4±0,8	93,2±3,9
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T20	(2,7 ± 0,9)E+06	(1,5 ± 0,8)E+06	97,0±0,9	97,3±1,7
Δεύτερο στάδιο M10b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	(1,2 ± 0,3)E+07	(7,3 ± 1,6)E+06	68,1±3,8	74,9±8,5

Από τον πίνακα προκύπτει το συμπέρασμα ότι η μείωση της βιωσιμότητας των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* ήταν μεγαλύτερη στις θερμόφιλες συνθήκες (93%-97%) από την αντίστοιχη στις μεσόφιλες (67% - 72%).

B. Δοκιμές αφρισμού

Όπως προαναφέρθηκε στις δοκιμές αφρισμού δύο είναι οι κρίσιμες παράμετροι αξιολόγησης, το δυναμικό αφρισμού (FP σε ml/%TS) που μετράται μέσω του όγκου του αφρού που παράγεται και η σταθερότητα του αφρού που μετράται μέσω του χρόνου που χρειάζεται ο παραγόμενος αφρός για να καταρρεύσει (FS σε sec/%TS). Τα αποτελέσματα του δυναμικού και της σταθερότητας του αφρισμού καθώς και οι

αντίστοιχη μείωση των παραπάνω μεγεθών στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών φαίνονται στον πίνακα 6.44.

Πίνακας 6.44: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών.

Είδος ιλύος	Δυναμικό αφρισμού (mL/T5)	Σταθερότητα αφρισμού (s/T5)	%Μείωση δυναμικού	%Μείωση σταθερότητας
Είσοδος, παχυμένη ιλύος	397±13	150±23		
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M16	367±9	134±15	7,4%±0,4%	10,9%±1,8%
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T6 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	349±44	124±13	12,0%±1,1%	17,7%±1,8%
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M10 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	203±9	96±9	48,7%±0,7%	36,5%±1,7%
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T16	344±9	127±19	13,3%±0,4%	15,9%±2,0%
Δεύτερο στάδιο M8b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	349±35	112±13	12,1%±0,9%	25,4%±1,8%

Όπως φαίνεται στον πίνακα 6.44 το διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα έχει την υψηλότερη απόδοση ως προς τον έλεγχο του αφρισμού με ποσοστά μείωσης του δυναμικού και της σταθερότητας αφρισμού ίσα με 36,5% και 48,7%. Τα υπόλοιπα συστήματα παρουσίασαν πρακτικά την ίδια απόδοση ως προς τη μείωση του αφρισμού με το μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή να παρουσιάζει τα μεγαλύτερα προβλήματα αφρισμού.

Κατά συνέπεια, όπως αναφέρθηκε και στην αντίστοιχη παράγραφο του χρόνου παραμονής των 20 ημερών, ο βαθμός μείωσης του αφρισμού δε συσχετίζεται απόλυτα με τη συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων. Φαίνεται ότι ουσίες που εκλύονται κατά τη λύση των βακτηρίων καθώς και άλλες οργανικές ενώσεις της χωνεμένης ιλύος συντηρούν το φαινόμενο του αφρισμού ακόμα και μετά τη λύση των βακτηρίων.

6.3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ ΣΕ ΧΡΟΝΟ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ 13 ΗΜΕΡΩΝ

Η λειτουργία των κωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημέρες ξεκίνησε στις 8/1/2008 και διήρκησε μέχρι τις 25/4/2008, δηλαδή 109 ημέρες. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας των κωνευτών είναι τα εξής:

- Μεσόφιλος με χρόνο παραμονής 13 ημέρες - **M13**
- Θερμόφιλος με χρόνο παραμονής 13 ημέρες - **T13**
- Σύστημα θερμόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 5 και 8 ημέρες αντίστοιχα (συνολικά 13 ημέρες) - **T5/M8**
- Σύστημα μεσόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 6,5 ημέρες έκαστος (συνολικά 13 ημέρες) - **M6,5a/M6,5b**.

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων ξεκίνησε αφού τα συστήματα είχαν προσαρμοστεί στις νέες συνθήκες λειτουργίας, και συγκεκριμένα, μετά την πάροδο 39 ημερών. Τα χαρακτηριστικά της εισερχόμενης ιλύος φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 6.45:

Πίνακας 6.45: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Ιλύς τροφοδοσίας	Τιμές
Ολικά στερεά (mg/L)	44.626 ± 2.000
Πτητικά στερεά (mg/L)	31.228 ± 1.256
Ολικό COD (mg/L)	54.760 ± 4.304
Αλκαλικότητα (mg/L)	5.143 ± 1.220
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	2,4*10 ⁵
Δυναμικό αφρισμού (ml)	351,7 ± 45,1
Σταθερότητα αφρισμού (sec)	335,3 ± 112,7
Συγκέντρωση <i>G. amarae</i> (counts/L)	8,2*10 ⁷ ± 1,6*10 ⁷
Συγκέντρωση <i>M. parvicella</i> (counts/L)	7,8*10 ⁷ ± 5,8*10 ⁶

Ο μέσος όρος καθώς και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης των λειτουργικών παραμέτρων όλων των εργαστηριακών κωνευτών για χρόνο παραμονής 13 ημερών φαίνονται στον πίνακα 6.46.

Πίνακας 6.46: Λειτουργικά χαρακτηριστικά εργαστηριακών συστημάτων χώνευσης για χρόνο παραμονής 13 ημερών

Χωνεμένη ιλύς /Παράμετροι	Μονοβάθμιος μεσόφιλος	Μονοβάθμιος θερμόφιλος	Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο θερμόφιλου συστήματος	Δεύτερο στάδιο μεσόφιλου συστήματος
Θερμοκρασία (° C)	35,1± 0,6	54,6±0,2	54,6 ± 0,2 34,9 ± 0,2	35,1 ± 0,4 34,9 ± 0,4
pH	7,32 ± 0,03	7,43±0,07	6,94 ± 0,04 7,44 ± 0,02	7,24 ± 0,02 7,41 ± 0,02
Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)	2,402 ± 0,246	2,402±0,246	6,246 ± 0,556 3,020 ± 0,257	2,402 ± 0,200
Παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/h/L ιλύος)	28,4 ± 4,2	26,5 ± 2,8	41,7 ± 1,1	33,0 ± 1,6
% καταστροφή VS	36,0 ± 5,0	36,2±4,0	42,4 ± 1,86	43,6 ± 4,2
m ³ βιοαερίου/kg VSR	0,74 ± 0,16	0,71±0,13	1,10 ± 0,1	0,81 ± 0,09
Ολικό COD	34.902 ± 4.304	34.902±2.621	49.849±4.486 33.197±2.149	32.477±1.699
Ολικό κολλοειδές & διαλυτό COD (mg/L)	1.164 ± 413	7.205±895	9.381±872 1.755±481	1.448±216
Κολλοειδές μικρού MB & διαλυτό COD (mg/L)	803 ± 140	5.654±1.003	7.680±907 868±145	534±76
Διαλυτό COD (mg/L) (SCOD _{FEED} =3.129mg/L)	594 ± 123	3.875±369	5.713±668 608±102	444±78
Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)	558 ± 114	2.231 ± 185	3.399 ± 470 502 ± 95	498 ± 117
Αλκαλικότητα (mg/L)	8.288 ± 578	8.175 ± 507	7.950 ± 918 9.038 ± 644	8.175 ± 485
Πτητικά λιπαρά οξέα /αλκαλικότητα	0,11 ± 0,06	0,27 ± 0,02	0,44 ± 0,08 0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	(2,18±0,95)*10 ⁵	(2,32±0,92)*10 ⁶	(1,32±0,44)*10 ⁶ (1,61±0,15)*10 ⁵	(2,29±0,66)*10 ⁵

Στη συνέχεια γίνεται σύγκριση της απόδοσης των 4 εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης ως προς τις παραμέτρους που παρακολουθούνταν στο χρόνο παραμονής των 13 ημερών.

6.3.3.1. Θερμοκρασία - pH

Οι μέσοι όροι της θερμοκρασίας και του pH λειτουργίας των χωνευτών καθώς και οι διακυμάνσεις τους σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης φαίνονται στον πίνακα 6.47.

Πίνακας 6.47: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Χωνεμένη Ιλύς	Θερμοκρασία (° C)	pH
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	35,1 ± 0,2	7,32 ± 0,03
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	54,6 ± 0,2	7,43 ± 0,02
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T5 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	54,6 ± 0,2	6,94 ± 0,04
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	34,9 ± 0,2	7,44 ± 0,02
Πρώτο στάδιο M6,5a του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	35,1 ± 0,4	7,24 ± 0,02
Δεύτερο στάδιο M6,5b του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	34,9 ± 0,4	7,41 ± 0,02

Στον πίνακα 6.47 φαίνεται ότι η θερμοκρασία των μεσόφιλων χωνευτών κυμάνθηκε μεταξύ 34,9 και 35,1 °C ενώ των θερμόφιλων ήταν 54,6 ± 0,2. Το pH σε όλους τους χωνευτές κυμαινόταν μεταξύ των τιμών 6,94 και 7,44, εντός δηλαδή της επιθυμητής περιοχής 6 - 8 για την ανάπτυξη των μεθανοβακτηρίων.

6.3.3.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών

Στον παρακάτω πίνακα 6.48 παρουσιάζονται οι οργανικές φορτίσεις των διαφορετικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών.

Πίνακας 6.48: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Εργαστηριακό σύστημα	Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	2,402 ± 0,246
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T5 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	6,246 ± 0,556
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	3,020 ± 0,257
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	2,402 ± 0,200
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	2,402 ± 0,200

Από τον πίνακα φαίνεται ότι οι οργανικές φορτίσεις όλων των χωνευτών κυμαίνονταν μεταξύ 2,402 και 6,246 kg VS/m³ ημερησίως. Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενες παραγράφους οι τυπικές τιμές στην πράξη είναι μικρότερες και κυμαίνονται από 1 έως 3 kg VS/ m³-day αν και σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί και υψηλότερες τιμές από 3,2 έως και 7,2.

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι το πρώτο στάδιο του διβάθμιου θερμοφιλου/ μεσόφιλου δέχτηκε φορτίσεις μεγαλύτερες από 4.5 kg VS /m³/d γεγονός σύμφωνα με τον Brown (2002) προκαλεί προβλήματα αφρισμού.

6.3.3.3. Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών

Η ωριαία παραγωγή βιοαερίου στη μονάδα του όγκου της χωνεμένης ιλύος καθώς και η παραγωγή βιοαερίου ανηγμένη στη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται (VSR) φαίνονται στον πίνακα 6.49.

Πίνακας 6.49: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Χωνεμένη ιλύς	Ωριαία παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/hr/L ιλύος)	% καταστροφή VS	Παραγωγή βιοαερίου (m ³ βιοαερίου/kg VSR)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	28,4 ± 4,2	36,0 ± 5,0	0,74 ± 0,16
Μονοβάθμιος θερμοφιλος T13	26,5 ± 2,8	36,2 ± 4,0	0,71 ± 0,13
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμοφιλου συστήματος	41,7 ± 1,1	42,4 ± 1,86	1,01 ± 0,10
Δεύτερο στάδιο M6,5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	33,0 ± 1,6	43,6 ± 4,2	0,81 ± 0,08

Στον πίνακα 6.50 μπορεί να διαπιστώσει κανείς ότι σε χρόνο παραμονής 13 ημερών το διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα παρουσίασε την υψηλότερη απόδοση όσον αφορά στην παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών. Οι δύο μονοβάθμιοι χωνευτές είχαν παρόμοια απόδοση ενώ αξίζει να σημειωθεί η λειτουργική τους αστάθεια, η οποία μπορεί να διαπιστωθεί από το ευρύτερο διάστημα εμπιστοσύνης του μέσου όρου των μετρήσεων. Τέλος, ο διβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής είχε υψηλή καταστροφή πτητικών στερεών τιμή που δε φαίνεται να συμφωνεί με την παραγωγή βιοαερίου. Το γεγονός αυτό οφειλόταν στα προβλήματα αφρισμού εντός των χωνευτών που συνεπάγονταν εγκλωβισμό του βιοαερίου και υποεκτίμηση της παραγωγής του. Αυτό ήταν εμφανές και σε περιόδους που διακοπτόταν η ανάδευση με αποτέλεσμα τη στρωμάτωση εντός του χωνευτή, οπότε στην επιφάνεια αναπτυσσόταν ένα παχύ στρώμα αφρού. Το στρώμα αυτό αποδείχθηκε ότι εγκλωβίζει το παραγόμενο βιοαέριο εντός του χωνευτή καθώς με την ανάδευση και διάσπασή του καταγραφόταν παραγωγή βιοαερίου.

6.3.3.4. Κλασματοποίηση COD

Στο σχολιασμό των αποτελεσμάτων της απόδοσης και των λειτουργικών χαρακτηριστικών των εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης στους χρόνους παραμονής των 20 και 16 ημερών, έγινε η υπόθεση ότι η υψηλή συγκέντρωση κολλοειδών και μικροκολλοειδών ενώσεων συντηρούν τον αφρισμό στους χωνευτές. Προκειμένου να εξεταστεί η υπόθεση αυτή στο χρόνο παραμονής των 13 ημερών έγινε κλασματοποίηση του COD σε ολικό, κολλοειδές υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους καθώς και διαλυτό.

Τα διάφορα κλάσματα των οργανικών ουσιών διαφοροποιούνται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της αναερόβιας χώνευσης, η οποία μπορεί να συνδεθεί με την ενζυματική δραστηριότητα των βακτηρίων. Έτσι, η κλασματοποίηση βοηθά περαιτέρω στην παρακολούθηση και έλεγχο της μικροβιολογικής δραστηριότητας. Στην παρούσα εργασία, οι κολλοειδείς ενώσεις διαχωρίζονται σε μεγάλου μοριακού βάρους, δηλαδή <1,2 μm, και σε μικρού, δηλαδή <0,45 μm (Marani *et al.*, 2003, Vogelaar *et al.*, 2001, Vaillant *et al.*, 1999, Rodriguez Andara *et al.*, 2000).

Επίσης, διεξήχθησαν πειράματα για την κλασματοποίηση των μικροκολλοειδών και των διαλυτών ουσιών σε 100 και 10 kDa. Όσον αφορά στον προσδιορισμό των διαλυτών οργανικών ενώσεων το μέγεθος τους θεωρείται μικρότερο/ίσο από $2 \cdot 10^{-4}$

μm (=1 kDa). Τα αποτελέσματα όμως, σε αυτά τα τρία κλάσματα (100, 10 και 1kDa) ήταν παρόμοια, υποδεικνύοντας ότι οι μικροκολλοειδείς ουσίες είχαν αμελητέα συγκέντρωση. Έτσι, ο διαχωρισμός αυτός δεν συνεχίστηκε στην πορεία των πειραμάτων και θεωρήθηκε ότι οι ουσίες με μέγεθος μικρότερο των 100 kDa (=0,02 μm) είναι όλες διαλυτές.

Στον πίνακα 6.50 φαίνονται οι τιμές των επιμέρους κλασμάτων του COD, καθώς και η στατιστική τους επεξεργασία σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 6.50: Συγκέντρωση διαφορετικών κλασμάτων COD στα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Χωνεμένη ιλύς	Ολικό κολλοειδές και διαλυτό COD (mg/L) (<1,2μm)	Κολλοειδές COD χαμηλού MB και διαλυτό COD (mg/L) (<0,45μm)	Διαλυτό COD (mg/L) (<0,02μm)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	1.164 ± 413	803 ± 141	594 ± 129
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	7.205 ± 895	5.654 ± 1003	3.875 ± 369
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος T5	9.381 ± 872	7.680 ± 907	5.713 ± 668
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	1.755 ± 481	868 ± 145	608 ± 102
Δεύτερο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	1.448 ± 216	534 ± 76	444 ± 78

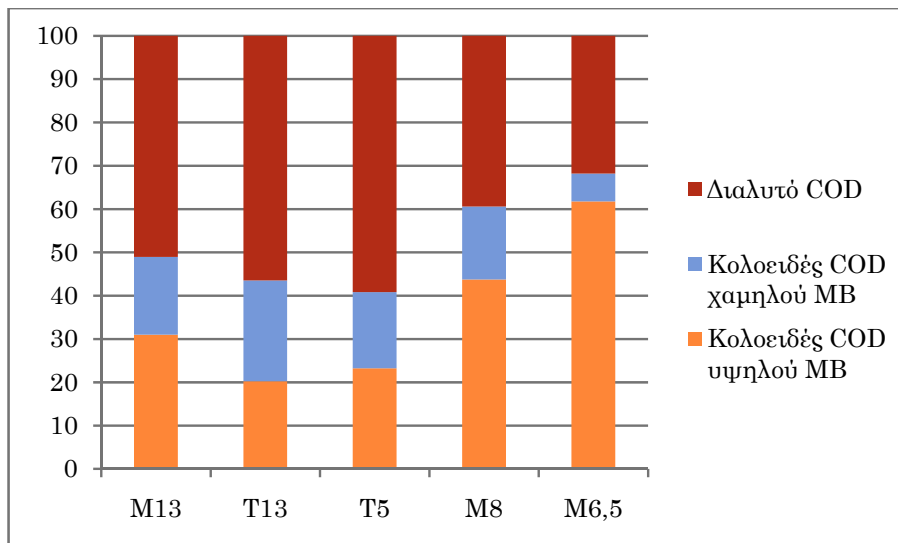
Στον πίνακα 6.50 φαίνεται ότι οι θερμόφιλοι χωνευτές παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερες συγκεντρώσεις κολλοειδούς COD σε αντίθεση με τους μεσόφιλους χωνευτές που είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις κολλοειδούς COD.

Επίσης, το διαλυτό COD έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις στους θερμόφιλους χωνευτές, ενώ στα δεύτερα μεσόφιλα στάδια των διβάθμιων συστημάτων μειώνεται

σημαντικά, όπως και στη μονοβάθμια μεσόφιλη χώνευση. Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων της συγκέντρωσης του ολικού και του διαλυτού COD στους αναερόβιους χωνευτές υπολογίστηκε το σωματιδιακό COD στα τέσσερα συστήματα μεταξύ των τιμών 30.100 και 33.700 mg/L.

Η αυξημένη συγκέντρωση του διαλυτού COD σε συνδυασμό με τη χαμηλή συγκέντρωση σωματιδιακού COD στους θερμόφιλους χωνευτές υποδηλώνει ότι το στάδιο της υδρόλυσης των σύνθετων οργανικών ενώσεων σε διαλυτές και το στάδιο της παραγωγής οξέων πραγματοποιούνται με γρηγορότερο ρυθμό από το στάδιο της μεθανογένεσης με αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων και την ανακαίτιση της μεθανογένεσης. Έτσι, σε θερμόφιλες συνθήκες φαίνεται ότι ασκείται μεγαλύτερη πίεση στα μεθανογόνα βακτήρια με αποτέλεσμα τη μη ικανοποιητική ανάπτυξή τους και τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Η αυξημένη τιμή του διαλυτού COD, εξάλλου, συσχετίζεται και με τη χαμηλότερη παραγωγή βιοαερίου προς τη καταστροφή πτητικών στερεών που γενικά παρατηρήθηκε στα θερμόφιλα συστήματα.

Στο παρακάτω γράφημα 6.14, έγινε η κλασματοποίηση των οργανικών ουσιών (διαλυτό και κολλοειδές COD) των χωνευτών σε κολλοειδείς ουσίες με υψηλό μοριακό βάρος (1,2-0,45 μm), σε κολλοειδείς ουσίες με χαμηλό μοριακό βάρος (0,45-0,02 μm) και σε διαλυτές ουσίες (<0,02 μm).



Γράφημα 6.14: Κλασματοποίηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Από το γράφημα της κλασματοποίησης του COD παρατηρούμε καταρχήν ότι υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των μονοβάθμιων και των διβάθμιων συστημάτων. Πιο συγκεκριμένα, στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων (M8 και M6,5) το ποσοστό κολλοειδούς COD υψηλού μοριακού βάρους σε σχέση με το διαλυτό COD είναι υψηλότερο, καταδεικνύοντας ισορροπία μεταξύ της διαλυτοποίησης του COD και της κατανάλωσης του τελικά από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την άποψη ότι η διαμερισματοποίηση των χωνευτών ευνοεί την ανάπτυξη διαφορετικών ομάδων μικροοργανισμών.

Εξάλλου, από το γράφημα φαίνεται ότι οι δύο θερμοφιλοι χωνευτές έχουν το μικρότερο ποσοστό κολλοειδών ουσιών υψηλού μοριακού βάρους, ενώ έχουν το μεγαλύτερο ποσοστό διαλυτού COD, υποδεικνύοντας έτσι τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανότατα στην αναχαίτιση της μεθανογόνου δράσης στις θερμοφιλες συνθήκες που φαίνεται ότι προκαλείται από την αυξημένη δράση των οξεοπαραγωγών σε σχέση με τα μεθανογόνα βακτήρια. Όπως περιγράφεται και στην επόμενη παράγραφο αυτή η ανισορροπία μεταξύ των δύο ομάδων βακτηρίων είχε ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών οξέων στα θερμοφιλα συστήματα.

6.3.3.5. Πτητικά λιπαρά οξέα και αλκαλικότητα

Τα πτητικά λιπαρά οξέα αποτελούν το ενδιάμεσο προϊόν μεταξύ οξεογένεσης και μεθανογένεσης, κατά την αναερόβια χώνευση και η συγκέντρωσή τους είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του διαλυτού COD. Ωστόσο η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων πρέπει να εξετάζεται σε σχέση με την αλκαλικότητα του χωνευτή.

Σε ένα χωνευτή που λειτουργεί ομαλά, διατηρείται δυναμική ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της κατανάλωσης της αλκαλικότητας στη φάση της οξεογένεσης. Ωστόσο, αν συμβεί κάποια διαταραχή, τα μεθανογόνα βακτήρια θα επηρεαστούν περισσότερο σε σχέση με τα οξεογόνα. Επομένως, σε οποιαδήποτε διαταραχή της ισορροπίας, καταναλώνεται αλκαλικότητα και η διεργασία μπορεί να αστοχήσει εξαιτίας της μείωσης του pH. Επομένως, πρέπει να ελέγχεται ο λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς την αλκαλικότητα, ο οποίος πρέπει να κυμαίνεται στην περιοχή 0,1 - 0,2, ενώ εάν ο λόγος υπερβεί την τιμή 0,5, είναι υπαρκτός ο κίνδυνος αστοχίας του χωνευτή.

Στον πίνακα 6.51 φαίνονται οι τιμές των πτητικών λιπαρών οξέων των εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, η συγκέντρωση της αλκαλικότητας και ο λόγος των πτητικών λιπαρών οξέων προς την αλκαλικότητα καθώς και η στατιστική επεξεργασία των μεγεθών αυτών σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Πίνακας 6.51: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ), συγκέντρωση της αλκαλικότητας καθώς και λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς αλκαλικότητα εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Χωνευτές	Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)	Αλκαλικότητα (mg/L)	Λόγος πτητικών οξέων προς αλκαλικότητα
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	558 ± 114	8.288 ± 578	0,11 ± 0,06
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	2.231 ± 185	8.175 ± 507	0,27 ± 0,02
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T5 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	3.399 ± 470	7.950 ± 918	0,44 ± 0,08
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	502 ± 95	9.038 ± 644	0,06 ± 0,01
Δεύτερο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	498 ± 117	8.175 ± 485	0,06 ± 0,01

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω αποτελέσματα, η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων είναι πολύ υψηλότερη στις θερμόφιλες συγκριτικά με τις μεσόφιλες συνθήκες. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του COD και ενισχύουν την υπόθεση της αναχαίτισης της μεθανογόνου δράσης στους θερμόφιλους χωνευτές και άρα τη συσσώρευση των πτητικών λιπαρών οξέων. Τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων παρουσιάζει το πρώτο στάδιο του συστήματος θερμόφιλου/μεσόφιλου, στο οποίο η ανάπτυξη των μεθανογόνων μικροοργανισμών περιορίζεται περισσότερο εξαιτίας του μικρού χρόνου παραμονής. Η συσσώρευση αυτή, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είχε σαν αποτέλεσμα την πτώση του pH. Ωστόσο, στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο του συστήματος η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων μειώνεται σημαντικά υποδεικνύοντας ισορροπία παραγωγής και κατανάλωσης των VFAs και άρα ικανοποιητική ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με άλλες

Βιβλιογραφικές αναφορές όπως των Reusser και Zelinka (2004) και Grey *et al.* (2006), οι οποίοι αναφέρουν ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατήρησαν αύξηση των συγκεντρώσεων οξικού και κυρίως προπιονικού οξέος.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τιμές του λόγου των VFAs προς την αλκαλικότητα μεγαλύτερες από 0,5 προκαλούν την αναχαίτιση των μεθανογόνων μικροοργανισμών. Υπέρβαση του ορίου αυτού παρατηρήθηκε μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις στο πρώτο στάδιο του θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος, το οποίο δεν επηρέασε την απόδοση της διεργασίας, εφόσον η μεθανογένεση πραγματοποιούνταν κυρίως στο δεύτερο στάδιο του συστήματος. Τα υπόλοιπα συστήματα είχαν φυσιολογικές τιμές, ενώ μάλιστα τα δεύτερα στάδια των διβάθμιων συστημάτων είχαν βέλτιστες τιμές.

6.3.3.6. Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση

Τα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της κωνεμένης ιλύος που παράγονταν στα διάφορα συστήματα αναερόβιας χώνευσης ποσοτικοποιήθηκε με τη μέτρηση της ειδικής αντίστασης στη διήθηση (SRF). Στον πίνακα 6.52 φαίνονται οι τιμές της ειδικής αντίστασης στη διήθηση της κωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών κωνευτών και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της κωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Πίνακας 6.52: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της κωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών κωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της κωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Χωνευτές	Μέση τιμή SRF (Tm/kg)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	$2,18 \cdot 10^5 \pm 7,00 \cdot 10^4$
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	$2,32 \cdot 10^6 \pm 6,84 \cdot 10^5$
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T5 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$1,32 \cdot 10^6 \pm 4,43 \cdot 10^5$
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$1,61 \cdot 10^5 \pm 1,28 \cdot 10^4$
Δεύτερο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$2,29 \cdot 10^5 \pm 6,62 \cdot 10^4$
Παχυμένη ιλύς	$2,40 \cdot 10^5$
Χωνεμένη ιλύς ΕΕΛ Ψυττάλειας	$8,03 \cdot 10^5$

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η χωνεμένη ιλύς από όλα τα εργαστηριακά συστήματα έχει παρόμοια χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας εκτός από τη χωνεμένη ιλύ του διβάθμιου θερμοφίλου/ μεσόφιλου συστήματος, η οποία παρουσιάζει βελτιωμένα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας.

Στις θερμοφίλες συνθήκες παρατηρείται επιδείνωση των χαρακτηριστικών αφυδατωσιμότητας. Η επιδείνωση αυτή των χαρακτηριστικών της αφυδατωσιμότητας σε θερμοφίλες συνθήκες επιβεβαιώνεται και από άλλους ερευνητές. Βιβλιογραφικές πηγές αναφέρουν ότι η αυξημένη κολλοειδής πρωτεΐνη και οι διαλυμένοι πολυσακχαρίτες που παράγονται κατά τη θερμοφιλή χώνευση είναι αυτοί που δυσκολεύουν την αφυδατωσιμότητα (Novak και Bivins, 2000, Reusser *et al.*, 2004). Αν θεωρήσουμε ότι οι προαναφερθείσες ενώσεις μετρούνται στο κολλοειδές COD υψηλού μοριακού βάρους, τότε η παρούσα εργασία συμφωνεί με την προαναφερθείσα βιβλιογραφία, εφόσον οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων του κολλοειδούς COD υψηλού μοριακού βάρους στους θερμοφίλους χωνευτές ισούσαν με περίπου 1.500mg/L COD και ήταν σημαντικά υψηλότερες των τιμών στους μεσόφιλους χωνευτές.

6.3.3.7. Νηματοειδείς μικροοργανισμοί & Αφρισμός

A. Συγκέντρωση νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH.

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους που υπολογίστηκαν ως η συνολική ποσότητα του κάθε νηματοειδούς βακτηρίου που εισέρχεται στο σύστημα με την τροφοδοσία ως προς τη συνολική ποσότητά του στη χωνεμένη ιλύ που απομακρύνεται από το σύστημα φαίνονται στον πίνακα 6.53. Από τον πίνακα φαίνεται ότι το ποσοστό καταστροφής κυμαίνεται μεταξύ 59% και 97% για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και μεταξύ 58% και 97% για τους μικροοργανισμούς *M. parvicella*.

Πίνακας 6.53: Συγκέντρωση νηματοειδών βακτηρίων *G.amarae* και *M. parvicella* και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 13 ημερών

Είδος ιλύος	Συγκέντρωση των <i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	Συγκέντρωση των <i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L)	Καταστροφή <i>G. amarae</i> %	Καταστροφή <i>M. parvicella</i> %
Παχυμένη ιλύς - τροφοδοσία	(8,2 ± 0,2)E+07	(7,8 ± 0,6)E+07		
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	(3,3 ± 0,4)E+07	(3,2 ± 0,3)E+07	58,9±5,0	58,3±2,2
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	(2,2 ± 0,7)E+06	(2,1 ± 0,5)E+06	97,1±0,9	97,3±0,7
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	(1,3 ± 0,4)E+07	(7,3 ± 0,4)E+06	87,9±3,3	89,6±4,3
Δεύτερο στάδιο M6,5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	(3,2 ± 0,4)E+07	(2,9 ± 0,3)E+07	62,3±5,3	63,6±3,1

Από τον πίνακα προκύπτει το συμπέρασμα ότι, όπως και στους μεγαλύτερους χρόνους παραμονής, οι θερμόφιλες συνθήκες οδηγούν σε μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* (86%-97%) από τις μεσόφιλες (60% -62%). Οι Hernandez *et al.* (1994) υπολόγισαν την καταστροφή των νηματοειδών *G. amarae* με τη μέθοδο των αντισωμάτων σε μονοβάθμιο μεσόφιλο κωνευτή αναερόβιας χώνευσης με χρόνο παραμονής 14 ημερών ίση με 37%. Στην ίδια εργασία, η καταστροφή των νηματοειδών *G. amarae* σε διβάθμιο σύστημα διαμερισματοποιημένο ως προς την οξειγένεση και μεθανογένεση που λειτουργούσε σε ίσο χρόνο παραμονής βρέθηκε μεγαλύτερη και ίση με 54%.

Τα ποσοστά καταστροφής που υπολογίζονται εδώ είναι σημαντικά μεγαλύτερα από τα αντίστοιχα των Hernandez και Jenkins (1994). Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae*. Πιο συγκεκριμένα, οι de los Reyes *et al.* (1998) εξέτασαν συγκριτικά τις δύο μεθόδους, των αντισωμάτων και της FISH και έδειξαν ότι με την πρώτη υπολογίζονται μεγαλύτερα ποσοστά *G.amarae* από ότι με τη μέθοδο FISH. Οι συγγραφείς απέδωσαν το γεγονός αυτό στο χαμηλό περιεχόμενο RNA των κυττάρων και άρα στη δυσκολία υβριδοποίησης

τους από τους ικνηλάτες της FISH, γεγονός που αντιμετωπίστηκε σε επόμενες εργασίες, αλλά ενδεχομένως και στο χαμηλό βαθμό εξειδίκευσης των αντισωμάτων που πιθανώς οδηγούσε στη σήμανση και άλλων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με σχολιασμό των συγγραφέων, η μέθοδος FISH παρουσιάζει πλεονεκτήματα έναντι της μεθόδου με τα αντισώματα, καθώς μπορεί να ταυτοποιήσει και είδη ή ακόμα και στελέχη ενός μικροοργανισμού αλλά και να δώσει πληροφορίες στο επίπεδο της μεταβολικής τους δραστηριότητας.

Επομένως, τα μικρότερα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν από τις δύο εργασίες μπορεί να οφείλονται στην υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G.amarae* από τους Hernandez και Jenkins (1994) όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο των αντισωμάτων.

Β. Δοκιμές αφρισμού

Όπως προαναφέρθηκε στις δοκιμές αφρισμού δύο είναι οι κρίσιμες παράμετροι αξιολόγησης, το δυναμικό αφρισμού (FP σε ml/%TS) που μετράται μέσω του όγκου του αφρού που παράγεται και η σταθερότητα του αφρού που μετράται μέσω του χρόνου που χρειάζεται ο παραγόμενος αφρός για να καταρρεύσει (FS σε sec/%TS). Τα αποτελέσματα του δυναμικού και της σταθερότητας του αφρισμού καθώς και οι αντίστοιχη μείωση των παραπάνω μεγεθών στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών φαίνονται στον πίνακα 6.54.

Πίνακας 6.54: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών.

Είδος ιλύος	Δυναμικό αφρισμού (mL/TS)	Σταθερότητα αφρισμού (s/TS)	%Μείωση δυναμικού*	%Μείωση σταθερότητα ζ*
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	291±30	205±47	17,3%±1,6%	38,9%±3,9%
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	272±14	257±22	22,6%±1,4%	23,5%±3,5%
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T5 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	326±36	257±35	7,2%±1,4%	23,3%±3,6%
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M8 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	294±36	201±49	16,5%±1,7%	39,9%±3,9%
Δεύτερο στάδιο M6,5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	333±22	246±23	5,4%±1,4%	26,7%±3,5%

*σε σχέση με την παχυμένη ιλύ

Όπως φαίνεται στον πίνακα 6.54 η μεγαλύτερη μείωση του δυναμικού αφρισμού παρατηρήθηκε στο μονοβάθμιο θερμοφιλο κωνευτή ενώ η μικρότερη τιμή παρατηρήθηκε στο σύστημα των δύο μεσόφιλων κωνευτών σε σειρά. Σε όλα τα συστήματα όμως η μείωση του δυναμικού αφρισμού δεν ήταν ιδιαίτερος υψηλή εφόσον δεν υπερέβαινε το 23%. Αξίζει να σημειωθεί ότι ακόμη και στα θερμοφιλα συστήματα στα οποία το ποσοστό καταστροφής των υπεύθυνων για τον αφρισμό νηματοειδών βακτηρίων ήταν υψηλό, η μείωση των φαινομένων αφρισμού δεν αναμένεται να είναι σημαντική. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη συγκέντρωση των προϊόντων υδρόλυσης των βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae*, τα οποία έχουν επιφανειοδραστικές ιδιότητες (Gerardi, 2003, Moen, 2003).

6.3.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ ΣΕ ΧΡΟΝΟ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ 10 ΗΜΕΡΩΝ

Η τελευταία φάση των πειραμάτων ξεκίνησε στις 26/4/2008 και διήρκησε μέχρι τις 18/7/2008, δηλαδή 84 ημέρες. Οι τύποι των κωνευτών αυτής της φάσης περιγράφονται ως εξής:

- Μεσόφιλος με χρόνο παραμονής 10 ημέρες - **M10**
- Θερμόφιλος με χρόνο παραμονής 10 ημέρες - **T10**
- Σύστημα θερμοφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 3 και 7 ημέρες αντίστοιχα (συνολικά 10 ημέρες) - **T3/M7**
- Σύστημα μεσόφιλου/μεσόφιλου σε σειρά με χρόνο παραμονής 5 ημέρες έκαστος (συνολικά 10 ημέρες) - **M5a/M5b**.

Η συλλογή των αποτελεσμάτων ξεκίνησε μετά την προσαρμογή στις παραπάνω συνθήκες λειτουργίας, δηλαδή μετά την πάροδο των 30 ημερών.

Τα χαρακτηριστικά της εισερχόμενης ιλύος φαίνονται στον πίνακα 6.55:

Πίνακας 6.55: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας σε χρόνο παραμονής 10 ημερών

Ιλύς τροφοδοσίας	Τιμές
Ολικά στερεά (mg/L)	41305 ± 3035
Πτητικά στερεά (mg/L)	27984 ± 1892
Ολικό COD (mg/L)	54507 ± 5996
Αλκαλικότητα (mg/L)	5167 ± 1164
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	2,40*10 ⁵
Δυναμικό αφρισμού (ml)	420,8 ± 19,7
Σταθερότητα αφρισμού (sec)	200,7 ± 46,4
<i>G. amarae</i> (counts/L)	7,4*10 ⁷ ± 1,8*10 ⁷
<i>M. parvicella</i> (counts/L)	2,7*10 ⁷ ± 1,1*10 ⁶

Ο μέσος όρος καθώς και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης των λειτουργικών παραμέτρων όλων των εργαστηριακών χωνευτών για χρόνο παραμονής 10 ημερών φαίνονται στον πίνακα 6.56.

Πίνακας 6.56: Λειτουργικά χαρακτηριστικά εργαστηριακών συστημάτων χώνευσης για χρόνο παραμονής 10 ημερών

Χωνεμένη ιλύς /Παράμετροι	Μονοβάθμιος μεσόφιλος	Μονοβάθμιος θερμόφιλος	Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο θερμόφιλου συστήματος	Δεύτερο στάδιο μεσόφιλου συστήματος
Θερμοκρασία (° C)	35,2 ± 0,2	54,7 ± 0,2	54,8 ± 0,2 35,3 ± 0,3	35,3 ± 0,3 35,1 ± 0,2
pH	7,24 ± 0,05	7,17 ± 0,04	6,12 ± 0,07 7,04 ± 0,19	7,05 ± 0,02 7,32 ± 0,01
Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)	2,798 ± 0,282	2,798 ± 0,282	9,328 ± 0,556 3,020 ± 0,257	2,798 ± 0,236
Παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/h/L ιλύος)	37,7 ± 16,4	21,6 ± 9,1	46,3 ± 5,0	27,5 ± 10,1
% καταστροφή VS	37,4 ± 4,8	27,2 ± 5,4	42,2 ± 3,0	39,41 ± 4,8
m ³ βιοαερίου/kg VSR	0,90 ± 0,19	0,65 ± 0,18	0,97 ± 0,20	0,59 ± 0,10
Ολικό COD	31.783 ± 2.613	45.946 ± 3166	51.653 ± 3.391 35.902 ± 3.647	33.747 ± 2.966
Ολικό κολλοειδές & διαλυτό COD (mg/L)	1.692 ± 789	8.073 ± 768	9.378 ± 605 1.265 ± 311	1.683 ± 332
Κολλοειδές μικρού MB & διαλυτό COD (mg/L)	793 ± 388	6.115 ± 653	8.210 ± 514 851 ± 294	1.108 ± 198
Διαλυτό COD (mg/L) (SCOD _{FEED} =3.129mg/L)	399 ± 110	3.805 ± 409	6.326 ± 693 625 ± 174	935 ± 162
Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)	1.193 ± 390	2.843 ± 219	4.616 ± 261 1.004 ± 342	1.008 ± 231
Αλκαλικότητα (mg/L)	7.800 ± 376	7.714 ± 910	6.429 ± 555 7.414 ± 648	7.714 ± 440
Πτητικά λιπαρά οξέα /αλκαλικότητα	0,16 ± 0,06	0,37 ± 0,03	0,73 ± 0,06 0,13 ± 0,05	0,13 ± 0,03
Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg)	2,56*10 ⁵ ± 4,92*10 ⁴	1,29*10 ⁶ ± 3,02*10 ⁵	5,29*10 ⁵ ± 1,65*10 ⁵	2,22*10 ⁵ ± 7,14*10 ⁴

Στη συνέχεια γίνεται σύγκριση της απόδοσης των 4 εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης ως προς τις παραμέτρους που παρακολουθούνταν στο χρόνο παραμονής των 10 ημερών.

6.3.4.1. Θερμοκρασία - pH

Οι μέσοι όροι της θερμοκρασίας και του pH λειτουργίας των χωνευτών καθώς και οι διακυμάνσεις τους σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης φαίνονται στον πίνακα 6.57.

Πίνακας 6.57: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.

Χωνευτές	Θερμοκρασία (° C)	pH
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M10	35,2 ± 0,2	7,24 ± 0,05
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T10	54,7 ± 0,2	7,17 ± 0,04
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T3 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	54,8 ± 0,2	6,12 ± 0,07
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 του διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	35,3 ± 0,3	7,04 ± 0,19
Πρώτο στάδιο M5a του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	35,3 ± 0,3	7,05 ± 0,02
Δεύτερο στάδιο M5b του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	35,1 ± 0,2	7,32 ± 0,01

Στον πίνακα 6.57 φαίνεται ότι η θερμοκρασία των μεσόφιλων χωνευτών ήταν 35,1 ± 0,2°C ενώ των θερμόφιλων ήταν 54,7 ± 0,1. Το pH σε όλους τους χωνευτές κυμαινόταν μεταξύ των τιμών 6,94 και 7,44, εντός δηλαδή της επιθυμητής περιοχής 6 - 8 για την ανάπτυξη των μεθανοβακτηρίων.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το pH του μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή και του δεύτερου σταδίου του διβάθμιου θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος σημείωσε σταδιακή πτώση τις δύο τελευταίες εβδομάδες των πειραμάτων, φτάνοντας τις τιμές 6,77, και 6,38 αντίστοιχα. Η πτώση αυτή αντιμετωπίστηκε με προσθήκη αλκαλικού μέσου με γρήγορα αποτελέσματα για το μονοβάθμιο χωνευτή. Όσον αφορά στο pH του δεύτερου σταδίου του διβάθμιου συστήματος, αυτό παρέμεινε χαμηλό, ωστόσο εξαιτίας της τοξικότητας που μπορεί να προκληθεί από την προσθήκη αλκαλικότητας, δεν έγινε καμία περαιτέρω παρέμβαση. Τελικά, το

σύστημα επανήλθε στις φυσιολογικές τιμές και η πτώση του pH δεν επηρέασε την απόδοση του συστήματος, όπως φαίνεται και στις παρακάτω παραγράφους.

6.3.4.2. Οργανική φόρτιση χωνευτών

Στον παρακάτω πίνακα 6.58 παρουσιάζονται οι οργανικές φορτίσεις των διαφορετικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.

Πίνακας 6.58: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών

Εργαστηριακό σύστημα	Οργανική φόρτιση (kg VS/m ³ /day)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M10	2,798 ± 0,282
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T3 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	9,328 ± 0,556
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	3,020 ± 0,257
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T10	2,798 ± 0,236
Διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα	2,798 ± 0,236

Από τον πίνακα φαίνεται ότι οι οργανικές φορτίσεις όλων των χωνευτών κυμαίνονταν μεταξύ 2,798 και 9,328 kg VS/m³ ημερησίως. Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενες παραγράφους οι τυπικές τιμές της οργανικής φόρτισης σε συστήματα αναερόβιας χώνευσης στην πράξη είναι μικρότερες και κυμαίνονται από 1 έως 3 kg VS/ m³-day.

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι ο θερμόφιλος χωνευτής δέχτηκε φορτίσεις μεγαλύτερες από 4.5 kg VS /m³/d¹ γεγονός σύμφωνα με τον Brown (2002) προκαλεί προβλήματα αφρισμού.

6.3.4.3. Παραγωγή Βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών

Η ωριαία παραγωγή βιοαερίου στη μονάδα του όγκου της χωνεμένης ιλύος καθώς και η παραγωγή βιοαερίου ανηγμένη στη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται (VSR) φαίνονται στον πίνακα 6.59.

Πίνακας 6.59: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών

Χωνεμένη ιλύς	Ωριαία παραγωγή βιοαερίου (cm ³ βιοαερίου/hg/L ιλύος)	% καταστροφ ή VS	Παραγωγή βιοαερίου (m ³ βιοαερίου/kg VSR)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M10	37,7 ± 16,4	37,4 ± 4,8	0,90 ± 0,19
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T10	21,6 ± 9,1	27,2 ± 5,4	0,65 ± 0,18
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	46,3 ± 5,0	42,2 ± 3,0	0,97 ± 0,20
Δεύτερο στάδιο M5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	27,5 ± 10,1	39,41 ± 4,8	0,59 ± 0,10

Στον πίνακα 6.59 φαίνεται ότι σε χρόνο παραμονής 10 ημερών το διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα παρουσίασε την υψηλότερη απόδοση όσον αφορά στην παραγωγή βιοαερίου και στην καταστροφή πτητικών στερεών. Τα υπόλοιπα συστήματα είχαν παρόμοια απόδοση ενώ αξίζει να σημειωθεί η λειτουργική τους αστάθεια, η οποία μπορεί να διαπιστωθεί από το ευρύτερο διάστημα εμπιστοσύνης του μέσου όρου των μετρήσεων. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι η τιμή της καταστροφής πτητικών στερεών του διβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή δε φαίνεται να συμφωνεί με την παραγωγή βιοαερίου. Το γεγονός αυτό οφειλόταν στα προβλήματα αφρισμού εντός των χωνευτών που συνεπάγονταν εγκλωβισμό του βιοαερίου και υποεκτίμηση της παραγωγής του. Αυτό ήταν εμφανές και σε περιόδους που διακοπτόταν η ανάδευση με αποτέλεσμα τη στρωμάτωση εντός του χωνευτή, οπότε στην επιφάνεια αναπτυσσόταν ένα παχύ στρώμα αφρού. Το στρώμα αυτό αποδείχθηκε ότι εγκλωβίζει το παραγόμενο βιοαέριο εντός του χωνευτή καθώς με την ανάδευση και διάσπασή του καταγραφόταν παραγωγή βιοαερίου.

6.3.4.4. Κλασματοποίηση COD

Προκειμένου να διερευνηθεί η υπόθεση ότι η υψηλή συγκέντρωση κολλοειδών και μικροκολλοειδών ενώσεων συντηρούν τον αφρισμό στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης έγινε κλασματοποίηση του COD σε ολικό, κολλοειδές υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους καθώς και διαλυτό. Στον πίνακα 6.60 φαίνονται οι τιμές των επιμέρους κλασμάτων του COD, καθώς και η στατιστική τους επεξεργασία σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 6.60: Συγκέντρωση διαφορετικών κλασμάτων COD στα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών

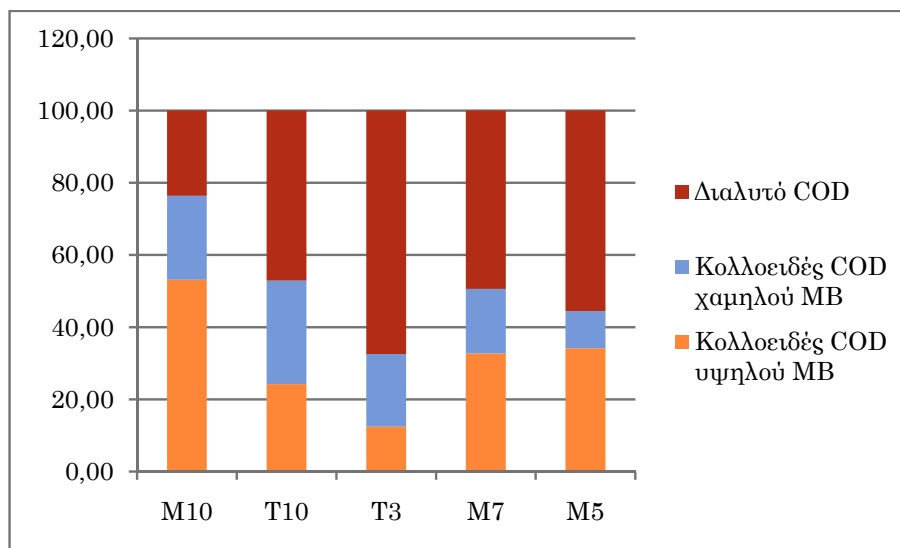
Χωνεμένη ιλύς	Ολικό κολλοειδές και διαλυτό COD (mg/L)	Κολλοειδές COD χαμηλού MB και διαλυτό COD (mg/L)	Διαλυτό COD (mg/L)
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M10	1.692 ± 789	793 ± 388	399 ± 110
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T10	8.073 ± 768	6.115 ± 653	3.805 ± 409
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T3 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	9.378 ± 605	8.210 ± 514	6.326 ± 693
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	1.265 ± 311	851 ± 294	625 ± 174
Δεύτερο στάδιο M5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	1.683 ± 332	1.108 ± 198	935 ± 162

Στον πίνακα 6.60 φαίνεται ότι οι θερμόφιλοι χωνευτές παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερες συγκεντρώσεις κολλοειδούς COD σε αντίθεση με τους μεσόφιλους χωνευτές που είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις κολλοειδούς COD.

Επίσης, το διαλυτό COD έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις στους θερμόφιλους χωνευτές, ενώ στα δεύτερα μεσόφιλα στάδια των διβάθμιων συστημάτων μειώθηκε σημαντικά, όπως και στη μονοβάθμια μεσόφιλη χώνευση. Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων της συγκέντρωσης του ολικού και του διαλυτού COD στους αναερόβιους χωνευτές υπολογίστηκε το σωματιδιακό COD στα τέσσερα συστήματα μεταξύ των τιμών 30.091 και 44.673 mg/L.

Η αυξημένη συγκέντρωση του διαλυτού COD υποδηλώνει ότι το στάδιο της υδρόλυσης των σύνθετων οργανικών ενώσεων σε διαλυτές και το στάδιο της παραγωγής οξέων πραγματοποιούνται με γρηγορότερο ρυθμό από το στάδιο της μεθανογένεσης με αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων και αναχαίτιση της μεθανογένεσης. Έτσι, σε θερμοφιλικές συνθήκες φαίνεται ότι ασκείται μεγαλύτερη πίεση στα μεθανογόνα βακτήρια με αποτέλεσμα τη μη ικανοποιητική ανάπτυξή τους και τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Η αυξημένη τιμή του διαλυτού COD, εξάλλου, συσχετίζεται και με τη χαμηλότερη παραγωγή βιοαερίου προς τη καταστροφή πτητικών στερεών που γενικά παρατηρήθηκε στα θερμοφιλα συστήματα.

Στο γράφημα 6.15 φαίνεται η κλασματοποίηση των οργανικών ουσιών των χωνευτών σε κολλοειδείς ουσίες με υψηλό μοριακό βάρος (1,2-0,45 μm), σε κολλοειδείς ουσίες με χαμηλό μοριακό βάρος (0,45-0,02 μm) και σε διαλυτές ουσίες (<0,02 μm).



Γράφημα 6.15: Κλασματοποίηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης για χρόνο παραμονής 10 ημερών

Από το γράφημα της κλασματοποίησης του COD παρατηρείται ότι οι δύο θερμοφιλοι χωνευτές παρουσιάζουν το μικρότερο ποσοστό κολλοειδών ουσιών με υψηλό μοριακό βάρος, ενώ έχουν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση διαλυτού COD, υποδεικνύοντας ότι πραγματοποιείται η υδρόλυση των ουσιών με μεγάλο μοριακό βάρος σε διαλυτές ουσίες, ενώ δεν ευνοείται η ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Το πρόβλημα αυτό είναι περισσότερο έκδηλο στο πρώτο στάδιο του θερμοφιλου/μεσόφιλου

συστήματος, το οποίο λόγω του μικρού χρόνου παραμονής ασκεί μεγαλύτερη πίεση στους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο καθώς και στους υπόλοιπους μεσόφιλους χωνευτές υπάρχει ισορροπία μεταξύ του διαλυτού και του κολλοειδούς υψηλού MB COD.

6.3.4.5. Πτητικά λιπαρά οξέα και αλκαλικότητα

Όπως αναφέρθηκε και στην προηγούμενη παράγραφο, τα πτητικά λιπαρά οξέα αποτελούν το ενδιάμεσο προϊόν μεταξύ οξεογένεσης και μεθανογένεσης, κατά την αναερόβια χώνευση και η συγκέντρωσή τους είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του διαλυτού COD.

Η αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών οξέων δίχως την αύξηση της αλκαλικότητας αποτελεί ένδειξη προβληματικής λειτουργίας του χωνευτή. Επομένως, πρέπει να ελέγχεται ο λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς την αλκαλικότητα, ο οποίος πρέπει να κυμαίνεται στην περιοχή 0,1 - 0,2, ενώ εάν ο λόγος υπερβεί την τιμή 0,5, είναι υπαρκτός ο κίνδυνος αστοχίας του χωνευτή.

Στον πίνακα 6.61 φαίνονται οι τιμές των πτητικών λιπαρών οξέων των εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, η συγκέντρωση της αλκαλικότητας καθώς και ο λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς αλκαλικότητα και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

Πίνακας 6.61: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ), συγκέντρωση της αλκαλικότητας καθώς και λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς αλκαλικότητα εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών

Χωνευτές	Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ)	Αλκαλικότητα (mg/L)	Λόγος πτητικών οξέων προς αλκαλικότητα
Έξοδος μονοβάθμιου μεσόφιλου M10	1.193 ± 390	7.800 ± 376	0,16 ± 0,06
Έξοδος μονοβάθμιου θερμόφιλου T10	2.843 ± 219	7.714 ± 910	0,37 ± 0,03
Έξοδος 1 ^{ου} θερμόφιλου σταδίου T3 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	4.616 ± 261	6.429 ± 555	0,73 ± 0,06
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	1.004 ± 342	7.414 ± 648	0,13 ± 0,05
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	1.008 ± 231	7.714 ± 440	0,13 ± 0,03

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω αποτελέσματα, η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων είναι πολύ υψηλότερη στις θερμοφιλικές απ'ότι στις μεσόφιλες συνθήκες. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του COD και ενισχύουν την υπόθεση της αναχαίτισης της μεθανογόνου δράσης στους θερμοφίλους χωνευτές και άρα τη συσσώρευση των πτητικών λιπαρών οξέων. Τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων παρουσιάζει το πρώτο στάδιο του συστήματος θερμοφιλικού/μεσόφιλου, στο οποίο η ανάπτυξη των μεθανογόνων μικροοργανισμών περιορίζεται περισσότερο εξαιτίας του μικρού χρόνου παραμονής. Η συσσώρευση αυτή, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είχε σαν αποτέλεσμα την πτώση του pH. Ωστόσο, στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο του συστήματος η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων μειώνεται σημαντικά υποδεικνύοντας ισορροπία παραγωγής και κατανάλωσης των VFAs και άρα ικανοποιητική ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με άλλες βιβλιογραφικές αναφορές όπως των Reusser και Zelinka (2004) και Grey *et al.* (2006), οι οποίοι αναφέρουν ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατήρησαν αύξηση των συγκεντρώσεων οξικού και κυρίως προπιονικού οξέος.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τιμές του λόγου των VFAs προς την αλκαλικότητα μεγαλύτερες από 0,5 προκαλούν την αναχαίτιση των μεθανογόνων μικροοργανισμών. Υπέρβαση του ορίου αυτού παρατηρήθηκε μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις στο πρώτο στάδιο του θερμοφιλικού/μεσόφιλου συστήματος, το οποίο δεν επηρέασε την απόδοση της διεργασίας, εφόσον η μεθανογένεση πραγματοποιούνταν κυρίως στο δεύτερο στάδιο του συστήματος. Τα υπόλοιπα συστήματα είχαν φυσιολογικές τιμές, ενώ μάλιστα τα δεύτερα στάδια των διβάθμιων συστημάτων είχαν βέλτιστες τιμές.

6.3.4.6. Αφυδατωσιμότητα ιλύος μέσω μέτρησης της ειδικής αντίστασης στη διήθηση

Η αφυδατωσιμότητα της ιλύος που παράγονταν από τα διάφορα συστήματα αναερόβιας χώνευσης μετρήθηκε μέσω της ειδικής αντίστασης στη διήθηση (SRF). Στον πίνακα 6.62 που ακολουθεί φαίνονται οι τιμές της ειδικής αντίστασης στη διήθηση της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών και η στατιστική τους επεξεργασία σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Πίνακας 6.62: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της κωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών κωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της κωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Είδος ιλύος	Μέση τιμή SRF (Tm/kg)
Είσοδος παχυμένης ιλύος	$2,40 \cdot 10^5$
Έξοδος μονοβάθμιου μεσόφιλου M10	$2,56 \cdot 10^5 \pm 4,92 \cdot 10^4$
Έξοδος μονοβάθμιου θερμόφιλου T10	$1,29 \cdot 10^6 \pm 3,02 \cdot 10^5$
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	$5,29 \cdot 10^5 \pm 1,65 \cdot 10^5$
Έξοδος 2 ^{ου} μεσόφιλου σταδίου M5b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	$2,22 \cdot 10^5 \pm 7,14 \cdot 10^4$
Χωνεμένη Ψυττάλειας	$8,03 \cdot 10^5$

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι η κωνεμένη ιλύς από όλα τα εργαστηριακά συστήματα έχει παρόμοια χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας.

Στις θερμόφιλες συνθήκες παρατηρείται επιδείνωση των χαρακτηριστικών αφυδατωσιμότητας. Η επιδείνωση αυτή των χαρακτηριστικών της αφυδατωσιμότητας σε θερμόφιλες συνθήκες επιβεβαιώνεται και από άλλους ερευνητές. Βιβλιογραφικές πηγές αναφέρουν ότι η αυξημένη κολλοειδής πρωτεΐνη και οι διαλυμένοι πολυσακχαρίτες που παράγονται κατά τη θερμόφιλη χώνευση είναι αυτοί που δυσκολεύουν την αφυδατωσιμότητα (Novak και Bivins, 2000, Reusser *et al.*, 2004). Αν θεωρήσουμε ότι οι προαναφερθείσες ενώσεις μετρούνται στο κολλοειδές COD υψηλού μοριακού βάρους, τότε η παρούσα εργασία συμφωνεί με την προαναφερθείσα βιβλιογραφία, εφόσον οι συγκεντρώσεις του κολλοειδούς COD υψηλού μοριακού είχαν σημαντικά υψηλότερη τιμή στους θερμόφιλους κωνευτές απ' ότι στους μεσόφιλους.

6.3.4.7. Νηματοιειδείς & Αφρισμός

A. Συγκέντρωση νηματοιειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH.

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους που υπολογίστηκαν ως η

συνολική ποσότητα του κάθε νηματοειδούς βακτηρίου που εισέρχεται στο σύστημα με την τροφοδοσία ως προς τη συνολική ποσότητά του στη κωνεμένη ιλύ που απομακρύνεται από το σύστημα, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH, φαίνονται στον πίνακα 6.63. Από τον πίνακα φαίνεται ότι το ποσοστό καταστροφής κυμαίνεται μεταξύ 57% και 92% για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *G. amarae* και μεταξύ 50% και 89% για τους μικροοργανισμούς *M. parvicella*.

Πίνακας 6.63: Συγκέντρωση νηματοειδών *G.amarae* και *M. parvicella* και ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 10 ημερών

Είδος ιλύος	Συγκέντρωση των <i>G. amarae</i> (τμήσεις/L)	Συγκέντρωση των <i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L)	Καταστροφή <i>G. amarae</i> %	Καταστροφή <i>M. parvicella</i> %
Είσοδος, παχυμένη ιλύς	(7,4 ± 1,9)E+07	(2,7 ± 0,1)E+07		
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	(3,1 ± 0,8)E+07	(1,3 ± 0,3)E+07	56,5±5,9	50,0±5,3
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	(5,2 ± 2,2)E+06	(3,0 ± 1,4)E+06	92,48±2,5	89,6±4,8
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	(1,5 ± 0,5)E+07	(5,9 ± 1,5)E+06	80,9±1,9	77,9±5,5
Δεύτερο στάδιο M8b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	(3,1 ± 1,0)E+07	(1,1 ± 0,2)E+07	58,8±9,2	57,6±6,7

Όπως και στους μεγαλύτερους χρόνους παραμονής οι θερμόφιλοι κωνευτές είχαν μεγαλύτερη καταστροφή νηματοειδών από τους μεσόφιλους.

B. Δοκιμές αφρισμού

Όπως προαναφέρθηκε στις δοκιμές αφρισμού δύο είναι οι κρίσιμες παράμετροι αξιολόγησης, το δυναμικό αφρισμού (FP σε ml/%TS) που μετράται μέσω του όγκου του αφρού που παράγεται και η σταθερότητα του αφρού που μετράται μέσω του χρόνου που χρειάζεται ο παραγόμενος αφρός για να καταρρεύσει (FS σε sec/%TS).

Τα αποτελέσματα του δυναμικού και της σταθερότητας του αφρισμού καθώς και οι αντίστοιχη μείωση των παραπάνω μεγεθών στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών φαίνονται στον πίνακα 6.64.

Πίνακας 6.64: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.

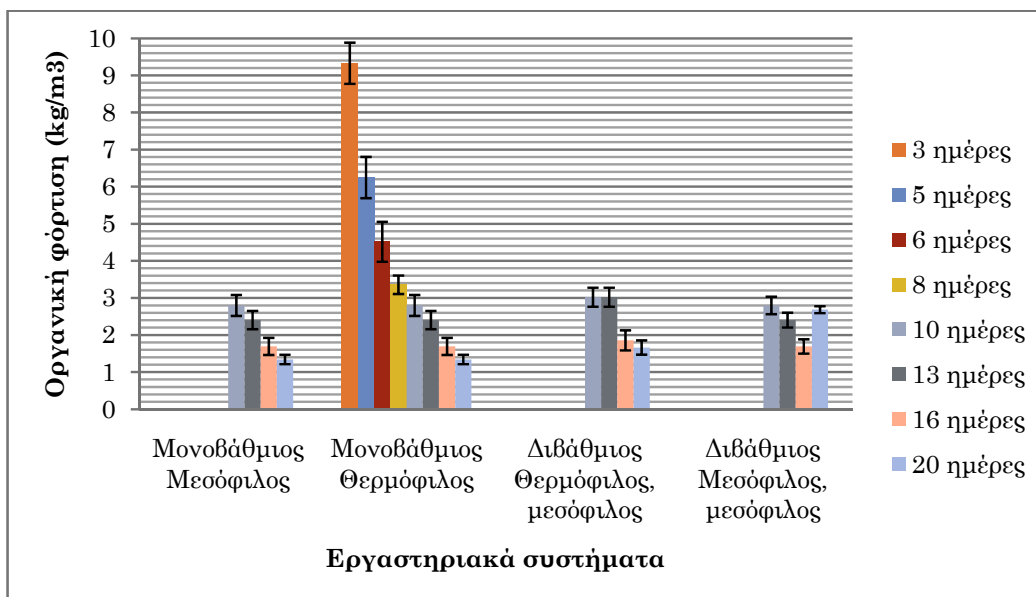
	Δυναμικό αφρισμού (mL/TS)	Σταθερότητα αφρισμού (s/TS)	%Μείωση δυναμικού	%Μείωση σταθερότητας
Είσοδος, παχυμένη ιλύς	421±19	201±46		
Μονοβάθμιος μεσόφιλος M13	343±47	147±32	18,4%±1,2 %	26,8%±2,9%
Μονοβάθμιος θερμόφιλος T13	348±30	191±38	17,4%±0,9 %	5,0%±3,0%
Πρώτο θερμόφιλο στάδιο T3 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	334±33	188±77	20,6%±1,2 %	6,2%±4,5%
Δεύτερο μεσόφιλο στάδιο M7 διβάθμιου θερμόφιλου συστήματος	350±33	140±17	16,8%±0,9 %	30,2%±2,6%
Δεύτερο στάδιο M8b διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος	406±8	210±13	3,6%±0,5%	-4,6%±2,4%

Η μεγαλύτερη μείωση της σταθερότητας αφρισμού επιτεύχθηκε στο δεύτερο στάδιο του διβάθμιου θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος. Πρέπει να σημειωθεί όμως ότι σε όλα τα συστήματα η μείωση του δυναμικού και της σταθερότητας αφρισμού δεν ήταν σημαντική και δεν υπερέβαινε το 21 και 30% αντίστοιχα. Μάλιστα στο σύστημα του διβάθμιου μεσόφιλου συστήματος η σταθερότητα του αφρισμού αυξήθηκε σε σχέση με την εισερχόμενη ιλύ. Η αύξηση αυτή μπορεί είναι αποτέλεσμα της υψηλής συγκέντρωσης των ενδιάμεσων προϊόντων, που έχουν επιφανειοδραστικές ιδιότητες.

6.3.5. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΧΡΟΝΩΝ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ

6.3.5.1. Απόδοση αναερόβιων χωνευτών

Στις προηγούμενες παραγράφους παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα από τη λειτουργία των εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνους παραμονής 20, 16, 13 και 10 ημερών. Στις επόμενες παραγράφους θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα των εργαστηριακών συστημάτων και θα συγκριθεί η απόδοση τους στους διαφορετικούς χρόνους παραμονής. Πιο συγκεκριμένα, καταρχήν θα παρουσιαστεί η οργανική φόρτιση των χωνευτών στους διαφορετικούς χρόνους παραμονής και εν συνεχεία θα παρουσιαστούν συγκριτικά η παραγωγή βιοαερίου, η καταστροφή των πτητικών στερεών και η μείωση του COD. Έτσι στο πρώτο γράφημα 6.16 απεικονίζεται η οργανική φόρτιση των εργαστηριακών χωνευτών στους διάφορους χρόνους παραμονής. Η οργανική φόρτιση του πρώτου σταδίου του θερμοφιλου χωνευτή απεικονίζεται ξεχωριστά ώστε να είναι δυνατή η αξιολόγηση της απόδοσής του. Από το γράφημα φαίνεται ότι όλα τα συστήματα δέχτηκαν φόρτιση μεταξύ 1,342 έως και 3,020 kg/m³, τιμές τυπικές για συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Εξάιρεση αποτέλεσε το πρώτο στάδιο του διβάθμιου θερμοφιλου/ μεσόφιλου συστήματος, το οποίο δέχτηκε οργανική φόρτιση μεταξύ 1,342 και 9,328 kg/m³.



Γράφημα 6.16: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών στους διαφορετικούς χρόνους παραμονής.

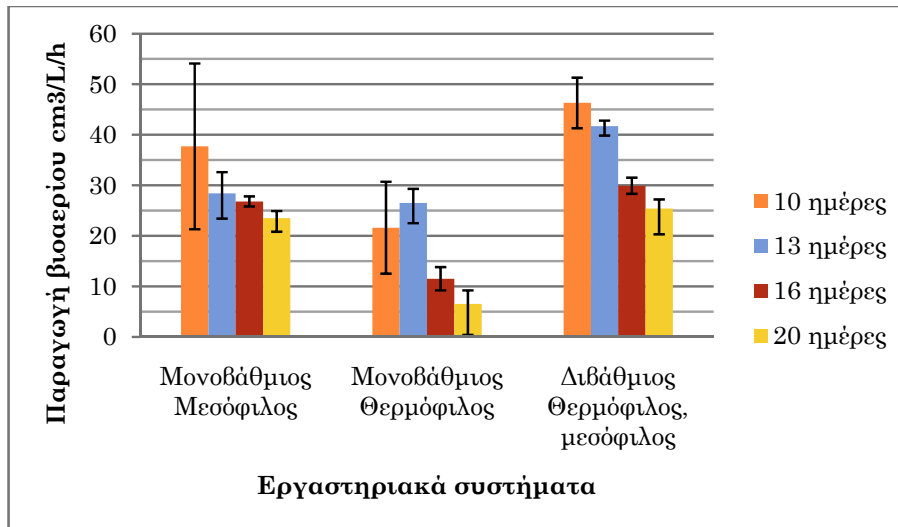
Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενες παραγράφους οι τυπικές τιμές οργανικής φόρτισης κυμαίνονται από 1 έως 3 kg VS/ m³-day. Γενικώς, οι χαμηλές οργανικές φορτίσεις επηρεάζουν την απόδοση του χωνευτή, μειώνοντας το ρυθμό καταστροφής των πτητικών στερεών και την παραγωγή μεθανίου (USEPA, 1976, Gerardi, 2003, Mahmoud *et al.*, 2004). Επίσης, ο Brown (2002) αναφέρει ότι η λειτουργία χωνευτών σε οργανικές φορτίσεις μεγαλύτερες από 4,5 kg VS /m³/d¹ συνήθως οδηγούν σε αφρισμό.

Η διακύμανση της οργανικής φόρτισης των χωνευτών οφείλεται στο γεγονός ότι η τροφοδοσία των συστημάτων ήταν μίγμα παχυμένης ιλύος από τη Ψυττάλεια με δεδομένα χαρακτηριστικά, τα οποία δε μεταβλήθηκαν στη διάρκεια των δύο περίπου ετών που διήρκεσαν τα πειράματα. Επομένως, όπως μπορεί να παρατηρήσει κανείς από το γράφημα 6.17 η οργανική φόρτιση αυξάνονταν καθώς μειώνονταν ο χρόνος παραμονής εφόσον ήταν δεδομένη η ποιότητα της τροφοδοτούμενης ιλύος και της δυναμικότητας των εργαστηριακών χωνευτών. Σημειώνεται ωστόσο, ότι δεν ήταν πρωταρχικός στόχος της παρούσας διατριβής η εξέταση της απόδοσης των εναλλακτικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης επομένως, δεν προτυποποιήθηκε η οργανική φόρτιση των χωνευτών.

Στα επόμενα γραφήματα 6.17 - 6.19 απεικονίζονται η ωριαία παραγωγή βιοαερίου (ανηγμένη στον όγκο της χωνεμένης ιλύος προκειμένου να ληφθεί υπόψη η διαφορετική δυναμικότητα των συστημάτων), η καταστροφή των πτητικών στερεών και η ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου προς τη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται. Όπως φαίνεται από τα γραφήματα την υψηλότερη γενικά απόδοση παρουσίασε το διβάθμιο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα (0,92 - 1,08m³/kg VSR) ενώ τη μικρότερη απόδοση είχε ο μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής (0,42 - 0,73m³/kg VSR), γεγονός μη αναμενόμενο. Εκ των δύο μεσόφιλων συστημάτων το διβάθμιο είχε υψηλότερη απόδοση, όπως αποδεικνύεται από την καταστροφή των πτητικών στερεών (33,16 - 46,5% έναντι 28,99 - 35%).

Ωστόσο, η υψηλότερη απόδοση του διβάθμιου συστήματος δεν αντιστοιχεί και σε μεγαλύτερη παραγωγή του βιοαερίου γιατί όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενες παραγράφους λόγω των προβλημάτων αφρισμού εντός των χωνευτών το βιοαέριο εγκλωβιζόταν και γινόταν υποεκτίμηση της παραγωγής του. Αυτό ήταν εμφανές και σε περιόδους που διακοπτόταν η ανάδευση με αποτέλεσμα τη στρωμάτωση εντός του χωνευτή, οπότε στην επιφάνεια αναπτυσσόταν ένα παχύ στρώμα αφρού. Το στρώμα αυτό αποδείχθηκε ότι εγκλωβίζει το παραγόμενο βιοαέριο εντός του

κωνευτή καθώς με την ανάδευση και διάσπασή του καταγραφόταν παραγωγή βιοαερίου. Επίσης, από το γράφημα 6.17 μπορεί κανείς να διαπιστώσει ότι η απόδοση των συστημάτων ως προς την παραγωγή βιοαερίου γενικά βελτιώθηκε με τη μείωση του χρόνου παραμονής, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην αύξηση της οργανικής φόρτισης που δέχονταν.



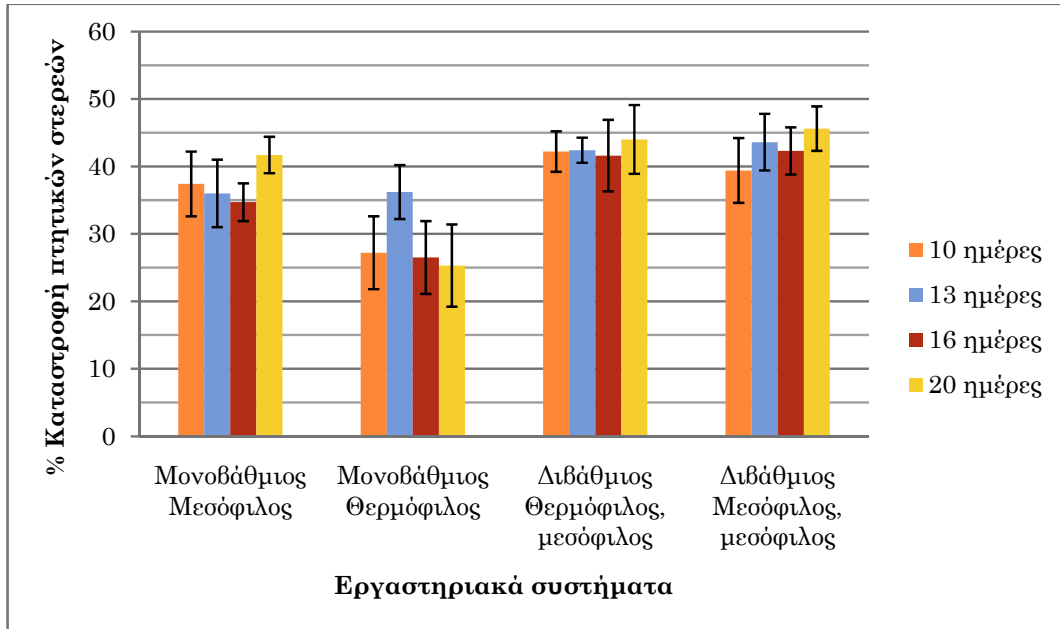
Γράφημα 6.17: Ωριαία παραγωγή βιοαερίου των εργαστηριακών συστημάτων σε όλους τους χρόνους παραμονής.

Ειδικά, για τους θερμόφιλους κωνευτές φαίνεται ότι υπήρχε και περιοριστικός παράγοντας ως προς την απόδοσή τους. Οι Carballa *et al.* (2007) αναφέρουν την αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμόφιλες συνθήκες και κυρίως τη συσσώρευση του προπιονικού οξέος έναντι του οξικού. Και στην παρούσα εργασία η χαμηλή απόδοση του θερμόφιλου κωνευτή ως προς την παραγωγή του βιοαερίου και την καταστροφή των πτητικών στερεών επιβεβαιώνεται και από τις υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων και διαλυτού COD που μετρήθηκαν και που παρουσιάζονται σε επόμενη παράγραφο.

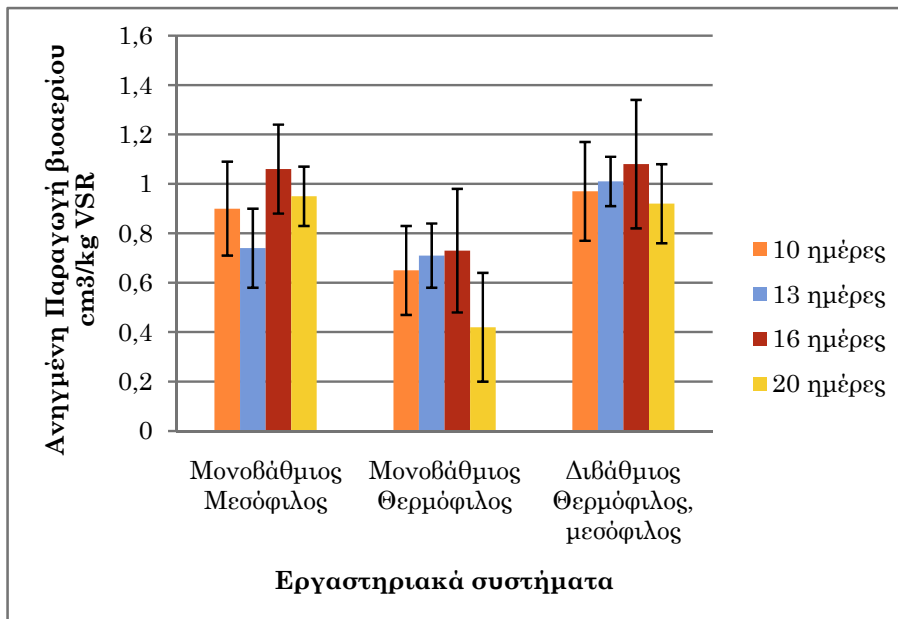
Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει η αύξηση της απόδοσης του μεσόφιλου συστήματος αναερόβιας κώνευσης κατόπιν της διαμερισματοποίησής του σε δύο στάδια. Το γεγονός αυτό συνεπάγεται ότι η απόδοση της αναερόβιας κώνευσης σε υφιστάμενες ΕΕΛ, μπορεί να γίνει με μετατροπή της παράλληλης λειτουργίας των αναερόβιων κωνευτών σε εν σειρά, η οποία μπορεί να υλοποιηθεί με χαμηλό επενδυτικό κόστος και μηδενική αύξηση του λειτουργικού κόστους.

Τέλος, από τα γραφήματα διαπιστώνεται η αύξηση των γραμμών σφάλματος στους χαμηλούς χρόνους παραμονής για όλα τα συστήματα αλλά κυρίως για τα μεσόφιλα,

γεγονός που οφείλεται στη μεγάλη διακύμανση των μετρήσεων και απεικονίζει την αστάθεια στη λειτουργία αυτών των συστημάτων.

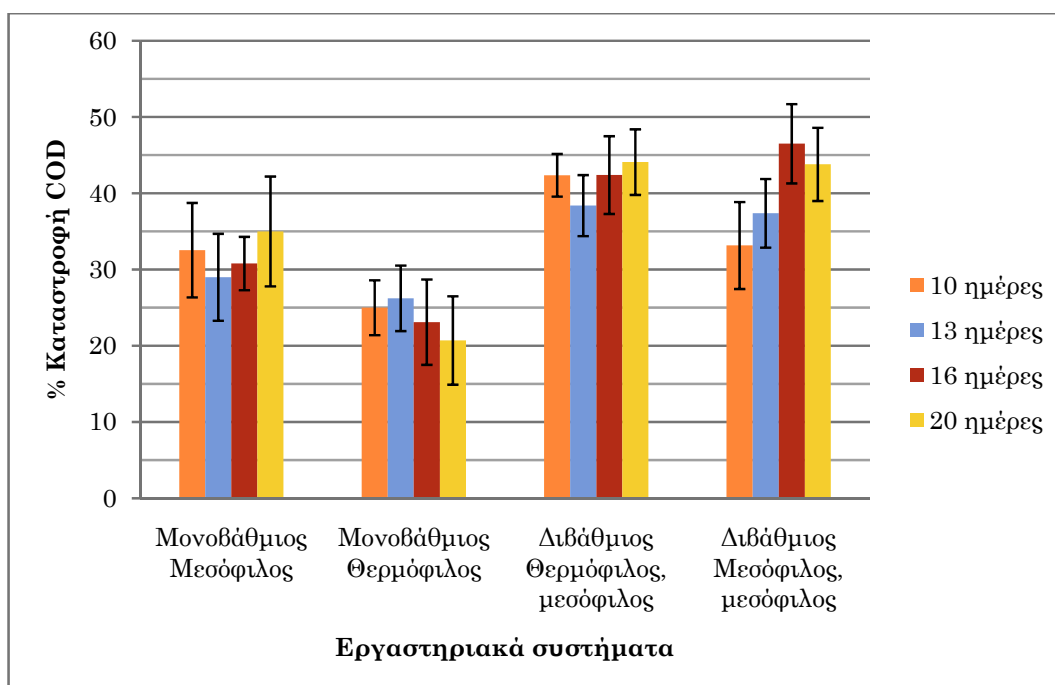


Γράφημα 6.18: Ποσοστό καταστροφής πτητικών στερεών στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε διαφορετικούς χρόνους παραμονής



Γράφημα 6.19: Ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου προς τη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε όλους τους χρόνους παραμονής

Στο γράφημα 6.20 παρουσιάζεται η μείωση του COD, η οποία ήταν υψηλότερη στα διβάθμια συστήματα σε όλους τους χρόνους παραμονής. Πιο συγκεκριμένα, τα μονοβάθμια συστήματα είχαν απόδοση από 20,7 - 35,0% ενώ τα διβάθμια από 33,2 - 46,5%. Από το γράφημα παρατηρεί κανείς την αύξηση της απόδοσης του μεσόφιλου συστήματος σε δύο στάδια σε σχέση με το μονοβάθμιο σύστημα.



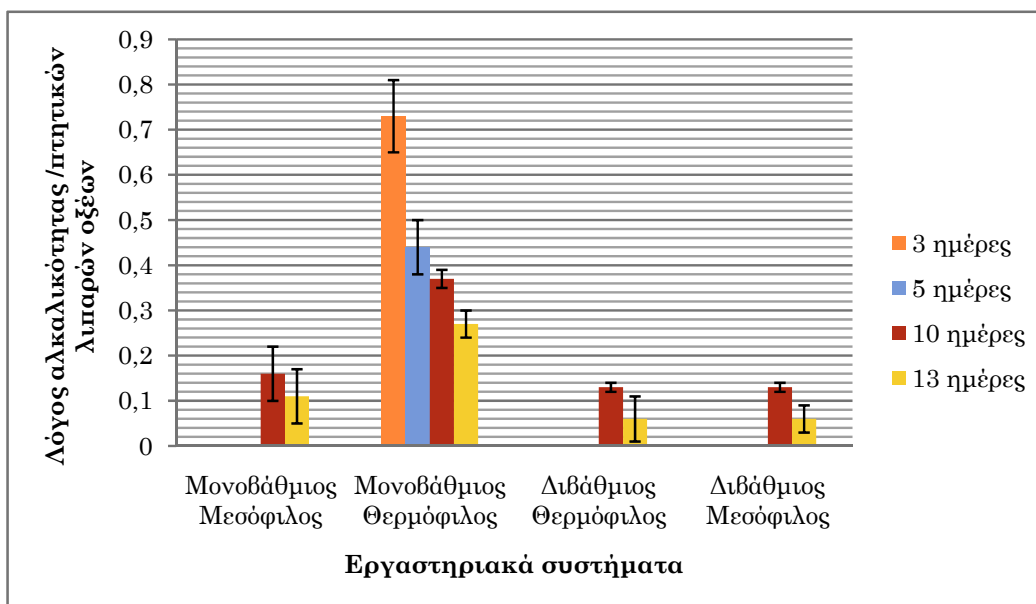
Γράφημα 6.20: Ποσοστό καταστροφής COD των εργαστηριακών συστημάτων στους διαφορετικούς χρόνους παραμονής

6.3.5.2. Λειτουργικά χαρακτηριστικά αναερόβιων χωνευτών

Στα επόμενα γραφήματα 6.21 - 6.25 παρουσιάζονται συγκριτικά τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των εργαστηριακών συστημάτων, όπως εκτιμήθηκαν από τη συγκέντρωση του διαλυτού COD και τη συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων. Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη παράγραφο, κατά την αναερόβια χώνευση τα πτητικά λιπαρά οξέα αποτελούν το ενδιάμεσο προϊόν μεταξύ οξεογένεσης και μεθανογένεσης. Η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από τις συνθήκες χώνευσης (θερμοκρασία, χρόνος παραμονής) και από τα χαρακτηριστικά της τροφοδοτούμενης ιλύος και είναι μεγαλύτερη σε θερμοφιλικές συνθήκες σε σχέση με

τη χώνευση σε μεσόφιλες συνθήκες. Κατά τη μεσόφιλη χώνευση το κυριότερο συστατικό των πτητικών λιπαρών οξέων είναι το οξικό οξύ, ενώ στη θερμόφιλη χώνευση είναι το προπιονικό οξύ.

Όπως αναλύθηκε στο κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης η αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών οξέων δίχως την αύξηση της αλκαλικότητας αποτελεί ένδειξη προβληματικής λειτουργίας του κωνευτή. Σε ένα κωνευτή που λειτουργεί ομαλά, διατηρείται δυναμική ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της κατανάλωσης της αλκαλικότητας στη φάση της οξεογένεσης. Ωστόσο, αν συμβεί κάποια διαταραχή, τα μεθανογόνα βακτήρια θα επηρεαστούν περισσότερο σε σχέση με τα οξεογόνα. Επομένως, σε οποιαδήποτε διαταραχή της ισορροπίας, καταναλώνεται αλκαλικότητα και η διεργασία μπορεί να αστοχήσει εξαιτίας της μείωσης του pH. Επομένως, πρέπει να ελέγχεται ο λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς την αλκαλικότητα, ο οποίος πρέπει να κυμαίνεται στην περιοχή 0,1 - 0,2, ενώ εάν ο λόγος υπερβεί την τιμή 0,5, είναι υπαρκτός ο κίνδυνος αστοχίας του κωνευτή. Η αλκαλικότητα των συστημάτων μετρήθηκε σε χρόνους παραμονής 10 και 13 ημερών και οι λόγοι των συγκεντρώσεων αλκαλικότητας προς πτητικών λιπαρών οξέων παρουσιάζονται στο γράφημα 6.21. Όπως φαίνεται από το γράφημα, υπέρβαση του ορίου αυτού παρατηρήθηκε μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις στο πρώτο στάδιο του θερμόφιλου/μεσόφιλου συστήματος, το οποίο δεν επηρέασε την απόδοση της διεργασίας, εφόσον η μεθανογένεση πραγματοποιούνταν κυρίως στο δεύτερο στάδιο του συστήματος. Τα υπόλοιπα συστήματα είχαν φυσιολογικές τιμές, ενώ μάλιστα τα δεύτερα στάδια των διβάθμιων συστημάτων είχαν βέλτιστες τιμές.

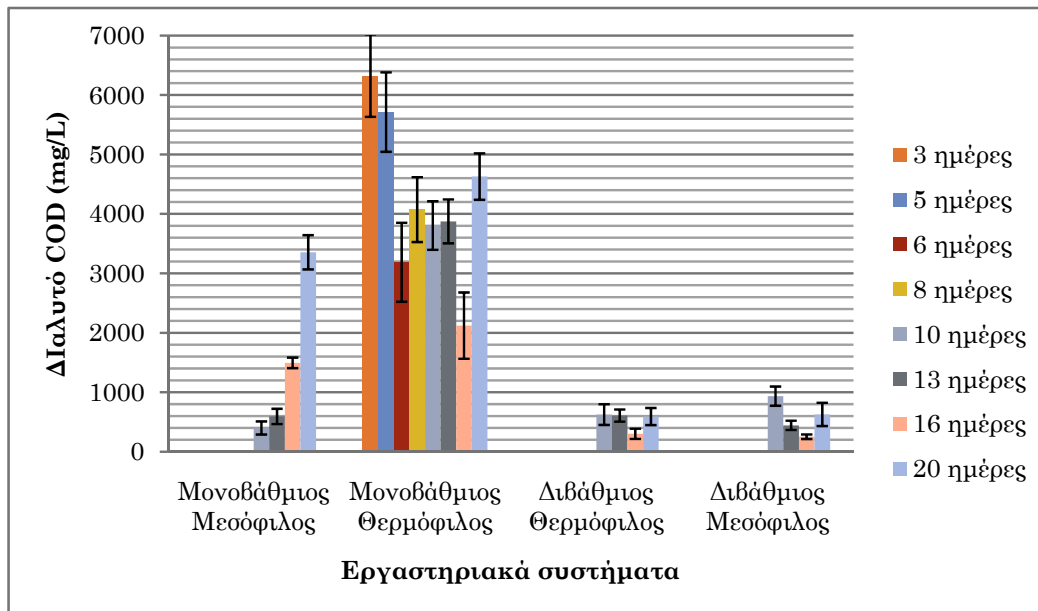


Γράφημα 6.21: Λόγος συγκέντρωσης αλκαλικότητας προς πτητικών λιπαρών οξέων στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε όλους τους χρόνους παραμονής.

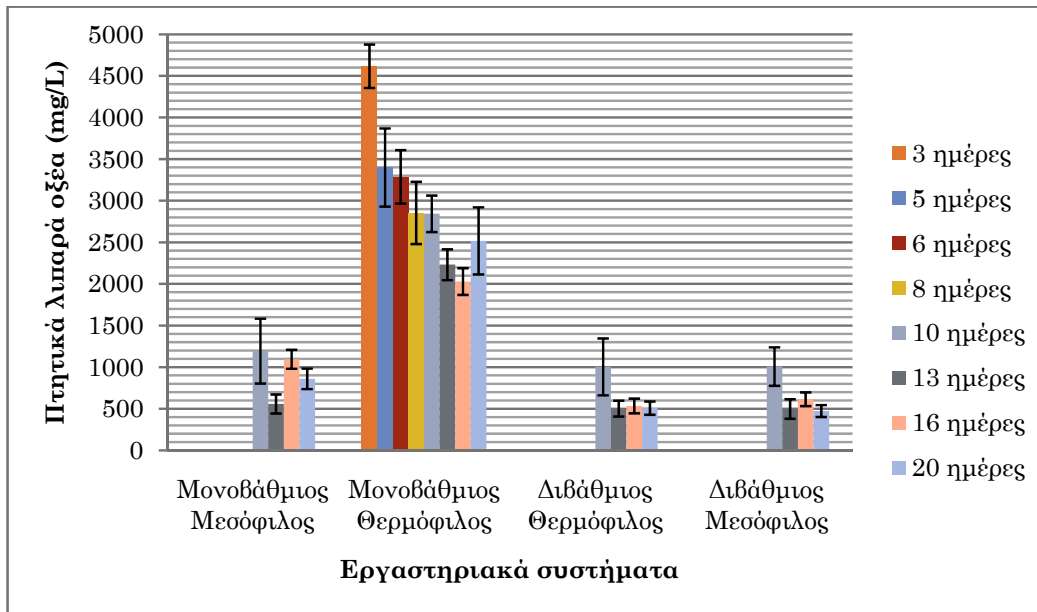
Όπως φαίνεται στα παρακάτω γραφήματα 6.22 και 6.23 η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων και του διαλυτού COD επηρεάζεται σημαντικά από τις συνθήκες της αναερόβιας χώνευσης. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση ήταν σημαντικά υψηλότερη στις θερμόφιλες συνθήκες (2.029 - 4.616mg/L) από ότι στις μεσόφιλες (473 - 1.193 mg/L). Επίσης, διαπιστώνεται η σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του διαλυτού COD και ενισχύουν την υπόθεση της αναχαίτισης της μεθανογόνου δράσης στους θερμόφιλους χωνευτές και άρα τη συσσώρευση των πτητικών λιπαρών οξέων. Τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων παρουσιάζει το πρώτο στάδιο του συστήματος θερμόφιλου/μεσόφιλου, στο οποίο η ανάπτυξη των μεθανογόνων μικροοργανισμών περιορίζεται περισσότερο εξαιτίας του μικρού χρόνου παραμονής. Η συσσώρευση αυτή, στους μικρότερους χρόνους παραμονής είχε σαν αποτέλεσμα την πτώση του pH. Ωστόσο, στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο του συστήματος η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων μειώνεται σημαντικά υποδεικνύοντας ισορροπία παραγωγής και κατανάλωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και άρα ικανοποιητική ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με άλλες βιβλιογραφικές αναφορές που αναφέρουν ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατήρησαν αύξηση των συγκεντρώσεων οξικού και κυρίως προπιονικού οξέος.

Πιο συγκεκριμένα, οι Song *et al.* (2004) αναφέρουν τιμές πτητικών στερεών ίσες με 579 ± 97 mg/L και 1.587 ± 302 mg/L για μονοβάθμιο μεσόφιλο και θερμοφιλο σύστημα με υδραυλικούς χρόνους παραμονής 20 και 10 ημερών. Οι Reusser and Zelinka (2004) σε διβάθμιο σύστημα θερμοφιλο μεσόφιλο αναφέρουν τιμές 86 και 748 mg/L για χρόνους παραμονής 5/15 και 7,5/3,5 ημερών αντίστοιχα. Όσον αφορά σε μονοβάθμιους κωνευτές, οι συγγραφείς αναφέρουν τιμές ίσες με 1.734, 2.034 και 2.177 mg/L για θερμοφιλες συνθήκες και χρόνους παραμονής 7,5, 10 και 15 ημέρες αντίστοιχα και 38- 90 mg/L για μεσόφιλες συνθήκες και χρόνους παραμονής 15 και 20 ημέρες αντίστοιχα.

Οι Reusser and Zelinka (2004) σε διβάθμιο θερμοφιλο/ μεσόφιλο σύστημα με χρόνους παραμονής 5/15 ημερών αναφέρουν συγκέντρωση πτητικών λιπαρών οξέων κωνεμένης ιλύος του μεσόφιλου σταδίου ίση με 86 mg/L. Όσον αφορά σε μονοβάθμιους κωνευτές, οι συγγραφείς αναφέρουν τιμές ίσες με 2.177 mg/L για θερμοφιλες συνθήκες σε χρόνο παραμονής 15 ημερών και 38mg/L για μεσόφιλες συνθήκες σε ίσο χρόνο παραμονής. Οι Gray *et al.* (2006) αναφέρουν μικρότερες τιμές για μονοβάθμιο θερμοφιλο κωνευτή με χρόνο παραμονής 15 ημερών της τάξης των 500 - 1.500 mg/L.

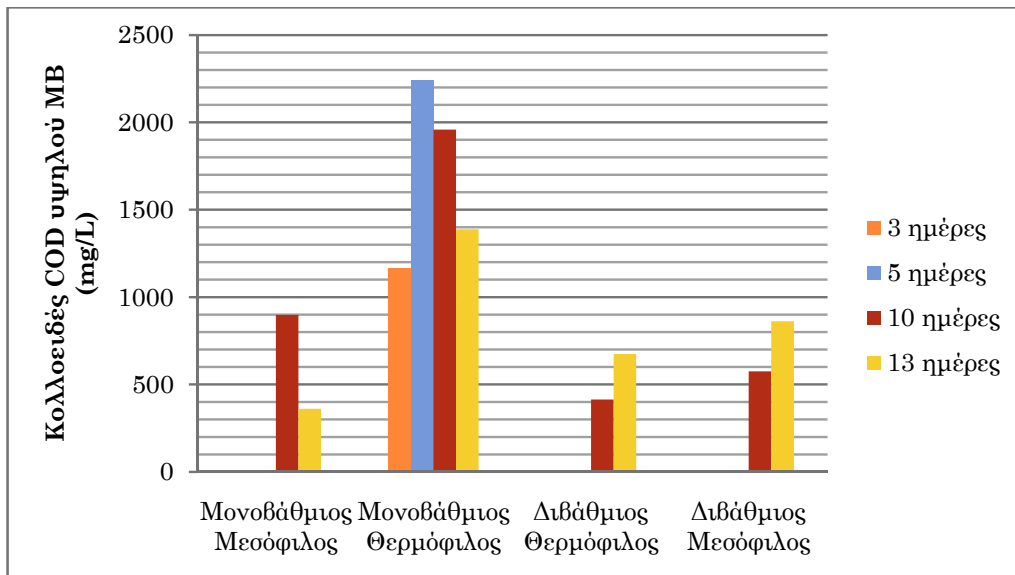


Γράφημα 6.22: Συγκέντρωση διαλυτού COD στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας κώνευσης σε χρόνους παραμονής 10 - 20 ημέρες.

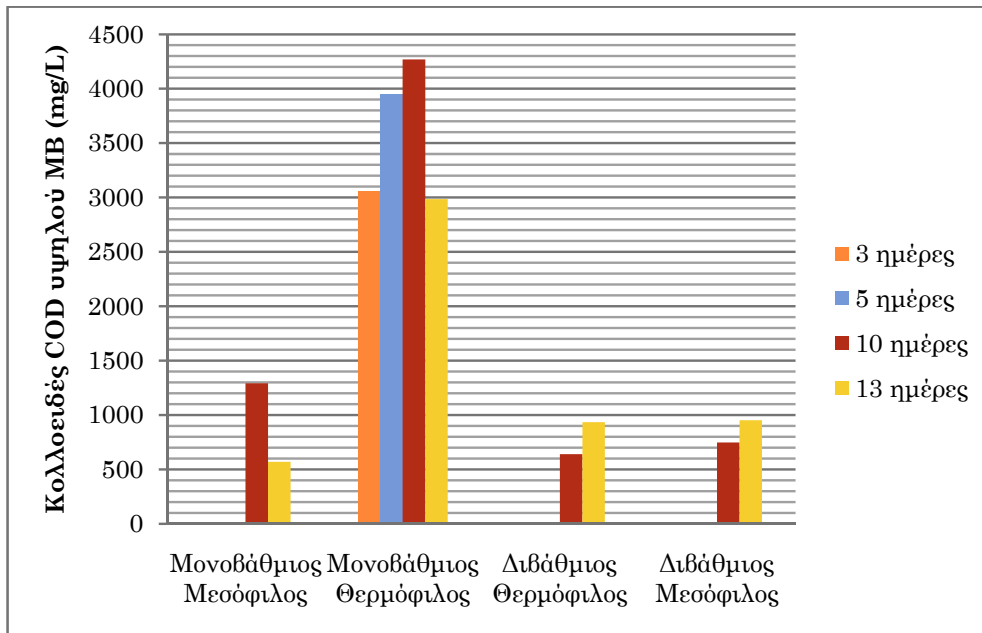


Γράφημα 6.23: Συγκέντρωση πηχτικών λιπαρών οξέων στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνους παραμονής 10 - 20 ημέρες.

Στα επόμενα γραφήματα 6.24 και 6.25 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις του κολλοειδούς COD υψηλού και χαμηλού MB των εργαστηριακών χωνευτών στους χρόνους παραμονής των 10 και 13 ημερών καθώς δεν έγιναν μετρήσεις στους μεγαλύτερους χρόνους παραμονής.



Γράφημα 6.24: Συγκέντρωση κολλοειδούς COD υψηλού MB εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνους παραμονής 10 και 13 ημερών.

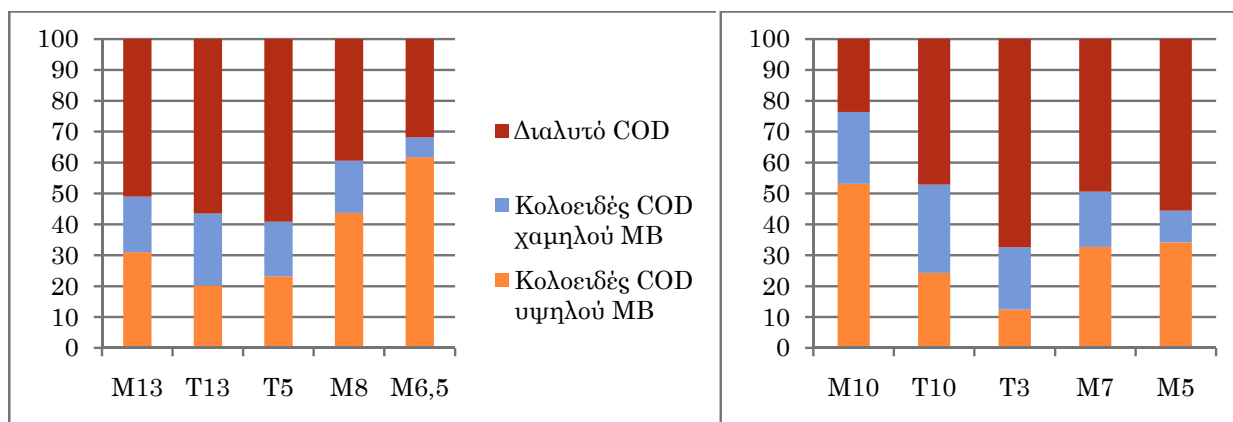


Γράφημα 6.25: Συγκέντρωση κολλοειδούς COD χαμηλού MB εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνους παραμονής 10 και 13 ημερών.

Από τα παραπάνω γραφήματα αποδεικνύεται ότι οι θερμοφιλοι χωνευτές παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερες συγκεντρώσεις κολλοειδούς COD σε αντίθεση με τους μεσόφιλους χωνευτές που είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις κολλοειδούς COD.

Επίσης, το διαλυτό COD έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις στους θερμοφίλους χωνευτές, ενώ στα δεύτερα μεσόφιλα στάδια των διβάθμιων συστημάτων μειώνεται σημαντικά, όπως και στη μονοβάθμια μεσόφιλη χώνευση. Η αυξημένη συγκέντρωση του διαλυτού COD σε συνδυασμό με τη χαμηλή συγκέντρωση σωματιδιακού COD στους θερμοφίλους χωνευτές υποδηλώνει ότι το στάδιο της υδρόλυσης των σύνθετων οργανικών ενώσεων σε διαλυτές και το στάδιο της παραγωγής οξέων πραγματοποιούνται με γρηγορότερο ρυθμό από το στάδιο της μεθανογένεσης με αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων και ανακαίτιση της μεθανογένεσης. Έτσι, σε θερμοφιλες συνθήκες φαίνεται ότι ασκείται μεγαλύτερη πίεση στα μεθανογόνα βακτήρια με αποτέλεσμα τη μη ικανοποιητική ανάπτυξή τους και τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Η αυξημένη τιμή του διαλυτού COD, εξάλλου, συσχετίζεται και με τη χαμηλότερη παραγωγή βιοαερίου προς τη καταστροφή πτητικών στερεών που γενικά παρατηρήθηκε στα θερμοφιλα συστήματα.

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, έγινε η κλασματοποίηση των οργανικών ουσιών που βρίσκονται στους χωνευτές που διακρίνονται σε κολλοειδείς ουσίες με υψηλό μοριακό βάρος (1,2-0,45 μm), οι κολλοειδείς ουσίες με χαμηλό μοριακό βάρος (0,45-0,02 μm) και οι διαλυτές ουσίες (<0,02 μm) (Γράφημα 6.26).



Γράφημα 6.26: Κλασματοποίηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης για χρόνος παραμονής 10 και 13 ημερών

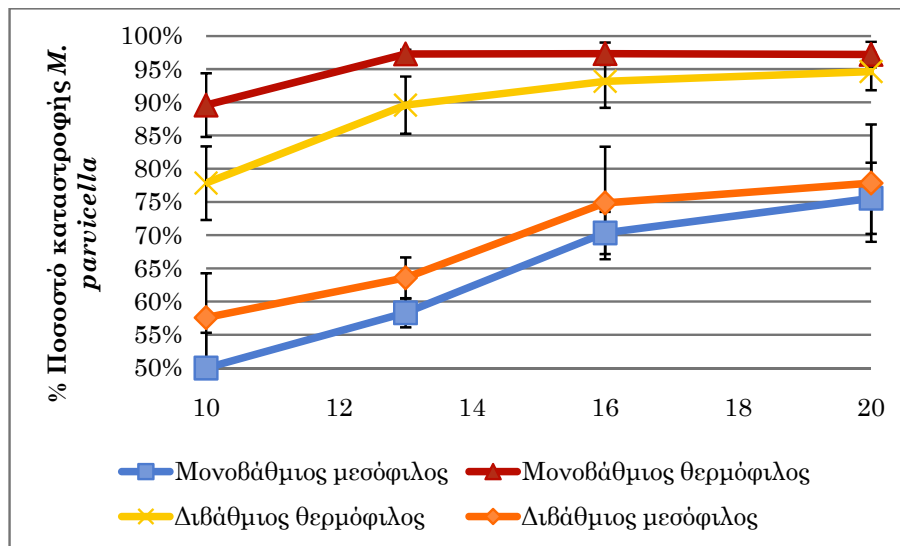
Από το γράφημα της κλασματοποίησης του COD παρατηρούμε καταρχήν ότι υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των μονοβάθμιων και των διβάθμιων συστημάτων. Πιο συγκεκριμένα, στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων (M8 και M6,5) το ποσοστό κολλοειδούς COD υψηλού μοριακού βάρους σε σχέση με το διαλυτό COD είναι υψηλότερο, καταδεικνύοντας ισορροπία μεταξύ της διαλυτοποίησης του COD και της κατανάλωσης του τελικά από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την άποψη ότι η διαμερισματοποίηση των χωνευτών ευνοεί την ανάπτυξη διαφορετικών ομάδων μικροοργανισμών.

Εξάλλου, από το γράφημα φαίνεται ότι οι δύο θερμοφιλοι χωνευτές έχουν το μικρότερο ποσοστό κολλοειδών ουσιών υψηλού μοριακού βάρους, ενώ έχουν το μεγαλύτερο ποσοστό διαλυτού COD, υποδεικνύοντας έτσι τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανότατα στην αναχαίτιση της μεθανογόνου δράσης στις θερμοφιλες συνθήκες που φαίνεται ότι προκαλείται από την αυξημένη δράση των οξεοπαραγωγών σε σχέση με τα μεθανογόνα βακτήρια. Όπως συζητήθηκε και στις προηγούμενες παραγράφους αυτή η ανισορροπία μεταξύ των δύο ομάδων βακτηρίων είχε ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών οξέων στα θερμοφιλα συστήματα.

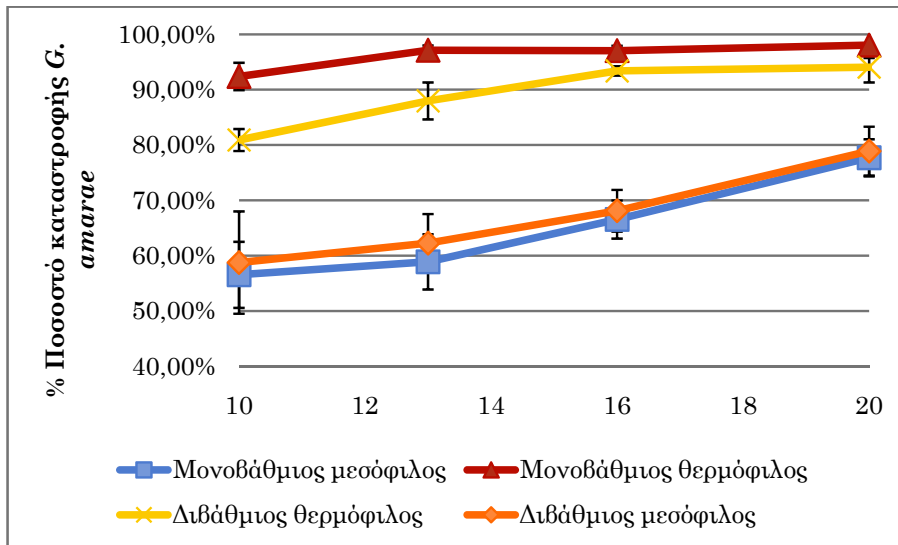
6.3.5.3. Αφρισμός & Νηματοιδείς μικροοργανισμοί

Α. Καταστροφή νηματοιδών

Στα παρακάτω γραφήματα 6.27 και 6.28 απεικονίζεται η καταστροφή των νηματοιδών *M. parvicella* και *G. amarae* όπως υπολογίστηκε βάσει των ρών μάζας των νηματοιδών της τροφοδοσίας και της εκροής με την τεχνική FISH. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι μεσόφιλοι χωνευτές πέτυχαν καταστροφή των νηματοιδών βακτηρίων στην περιοχή τιμών 50,0% - 80,0%. Σημαντικά υψηλότερα ποσοστά καταστροφής παρατηρήθηκαν στους θερμοφίλους χωνευτές που κυμαίνονταν στην περιοχή τιμών 77,9% - 97,3%. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η θερμοφιλή αναερόβια χώνευση ή ο συνδυασμός θερμοφιλης - μεσόφιλης χώνευσης οδηγεί σε μεγαλύτερη καταστροφή των νηματοιδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae*.



Γράφημα 6.27: Καταστροφή των νηματοιδών μικροοργανισμών *M. parvicella* όπως μετρήθηκαν με την τεχνική FISH στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σ' όλους τους χρόνους παραμονής



Γράφημα 6.28: Καταστροφή των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* όπως μετρήθηκαν με την τεχνική FISH στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σ' όλους τους χρόνους παραμονής

Από τα γραφήματα 6.27 και 6.28 φαίνεται η μείωση της καταστροφής των νηματοειδών αναλόγως του χρόνου παραμονής τόσο στις θερμόφιλες όσο και στις μεσόφιλες συνθήκες και για τα δύο νηματοειδή βακτήρια.

Τα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν στην παρούσα εργασία είναι μεγαλύτερα από τα αντίστοιχα των Hernandez και Jenkins (1994), τα οποία αναλύθηκαν στο κεφάλαιο 2 και δίνονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα 6.65. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae*. Πιο συγκεκριμένα, οι de los Reyes *et al.* (1998) εξέτασαν συγκριτικά τις δύο μεθόδους, των αντισωμάτων και της FISH και έδειξαν ότι με την πρώτη υπολογίζονται μεγαλύτερα ποσοστά *G. amarae* από ότι με τη μέθοδο FISH. Οι συγγραφείς απέδωσαν το γεγονός αυτό στο χαμηλό περιεχόμενο RNA των κυττάρων και άρα στη δυσκολία υβριδοποίησης τους από τους ιχνηλάτες της FISH, αλλά ενδεχομένως και στο χαμηλό βαθμό εξειδίκευσης των αντισωμάτων που πιθανώς οδηγούσε στη σήμανση και άλλων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με σχολιασμό των συγγραφέων η μέθοδος FISH παρουσιάζει πλεονεκτήματα έναντι της μεθόδου με τα αντισώματα καθότι μπορεί να ταυτοποιήσει και είδη ή ακόμα και στελέχη ενός μικροοργανισμού αλλά και να δώσει πληροφορίες στο επίπεδο της μεταβολικής τους δραστηριότητας. Συνεπώς, τα μικρότερα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν από τους Hernandez και Jenkins (1994) να οφείλονται στην υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης

των νηματοειδών βακτηρίων *G.amarae* από τους Hernandez και Jenkins (1994) όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο των αντισωμάτων.

Πίνακας 6.65: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* όπως υπολογίστηκαν από τους Hernandez και Jenkins (1994) σε μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης

Χρόνος παραμονής (ημέρες)	Μονοβάθμια συστήματα βάσει kd			Διβάθμια συστήματα	
	10	14	28	14	28
C/C ₀	0,82	0,76	0,57	NA	NA
%Καταστροφή	18,1%	24,4%	42,9%	48,8%	64,3%

Για τον έλεγχο της ισότητας των μέσων όρων της καταστροφής των νηματοειδών *G. amarae* έγιναν έλεγχοι Student. Πιο συγκεκριμένα, έγινε έλεγχος της υπόθεσης ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 και άρα οι μέσοι όροι είναι ίσοι:

- για τα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης
- για τους διαφορετικούς χρόνους παραμονής και
- για τους δύο μικροοργανισμούς.

Τα σημαντικότερα αποτελέσματα των ελέγχων, οι οποίοι αναλυτικά μπορούν να βρεθούν στο παράρτημα των μετρήσεων, μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

- Οι μέσοι όροι της καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5%, μεταξύ των *G. amarae* και *M. parvicella* στο ίδιο εργαστηριακό σύστημα αναερόβιας χώνευσης και για τον ίδιο χρόνο παραμονής. Σε ελάχιστες μόνο περιπτώσεις βρέθηκε στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων όρων της καταστροφής των *G. amarae* και *M. parvicella* στο χρόνο παραμονής των 10 ημερών. Στις περιπτώσεις αυτές τα 95% όρια αξιοπιστίας της διαφοράς των μέσων όρων βρέθηκαν είτε θετικά είτε αρνητικά, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει τάση να είναι μεγαλύτερη η καταστροφή κάποιου εκ των δύο νηματοειδών βακτηρίων.
- Σε όλους τους χρόνους παραμονής οι μέσοι όροι της καταστροφής των θερμόφιλων χωνευτών ήταν στατιστικά μεγαλύτεροι στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5% από αυτούς των μεσόφιλων χωνευτών για τα βακτήρια *G. amarae* και *M. parvicella*. Οι μέσοι όροι της καταστροφής των δύο

μεσόφιλων συστημάτων δεν είχαν στατιστική διαφορά στο επίπεδο σημαντικότητας 5% στους υψηλούς χρόνους παραμονής των 20 και 16 ημερών. Αντιθέτως, στους μικρότερους χρόνους παραμονής το διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα παρουσίασε στατιστικά υψηλότερους μέσους όρους καταστροφής από ότι το μονοβάθμιο. Όσον αφορά στα θερμόφιλα συστήματα, ο μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής πέτυχε στατιστικά υψηλότερους βαθμούς καταστροφής συγκριτικά με το διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα σε όλους τους χρόνους παραμονής.

- Όσον αφορά στους μέσους όρους της καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* που επιτεύχθηκαν στο μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του χρόνου παραμονής των 20 ημερών και των υπολοίπων μικρότερων χρόνων παραμονής. Πιο συγκεκριμένα, οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων στις 20 ημέρες ήταν στατιστικά υψηλότεροι. Παρομοίως, οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων στις 16 ημέρες ήταν στατιστικά υψηλότεροι από τους χρόνους παραμονής των 13 και 10 ημερών. Τέλος, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 95% μεταξύ των μέσων όρων στις 13 και 10 ημέρες.

Αντιθέτως, οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* που επιτεύχθηκαν στο μονοβάθμιο θερμόφιλο χωνευτή, δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά στο επίπεδο σημαντικότητας 95% για τους χρόνους παραμονής 20, 16 και 13 ημερών. Μόνο οι μέσοι όροι καταστροφής που επιτεύχθηκαν σε χρόνο παραμονής 10 ημερών βρέθηκαν στατιστικά μικρότεροι.

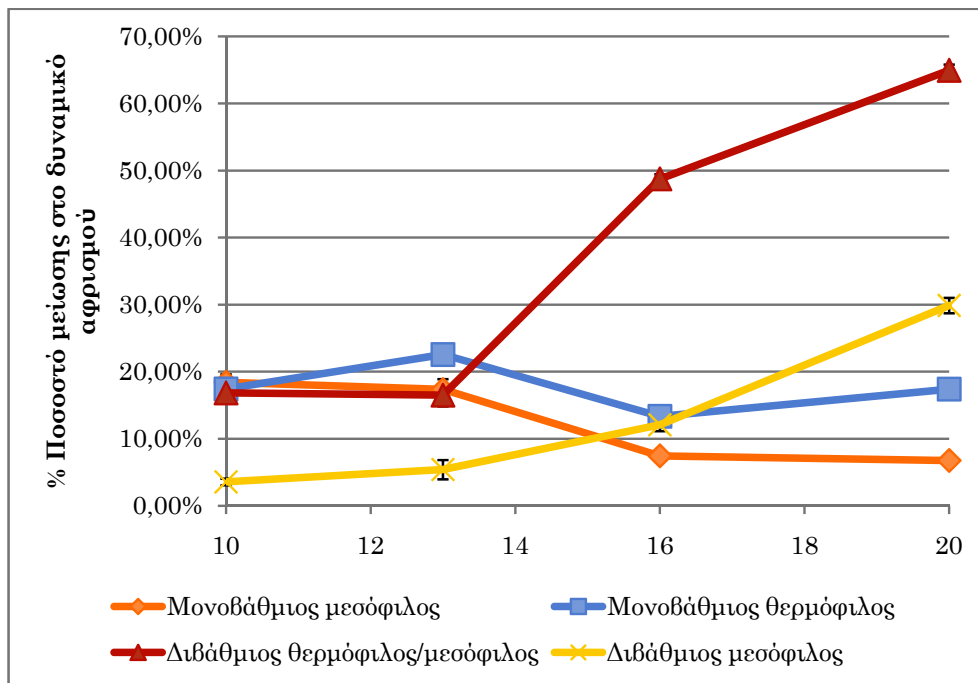
Όσον αφορά στο διβάθμιο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα οι μέσοι όροι καταστροφής των χρόνων παραμονής 20 και 16 ημερών δε βρέθηκαν στατιστικά διαφορετικοί στο επίπεδο σημαντικότητας 95%. Αντιθέτως, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά με τους μικρότερους χρόνους παραμονής, υπέρ των υψηλότερων.

Τέλος, όσον αφορά στο διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* βρέθηκαν στατιστικά μεγαλύτεροι στους υψηλότερους χρόνους παραμονής στο στατιστικά αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 95%.

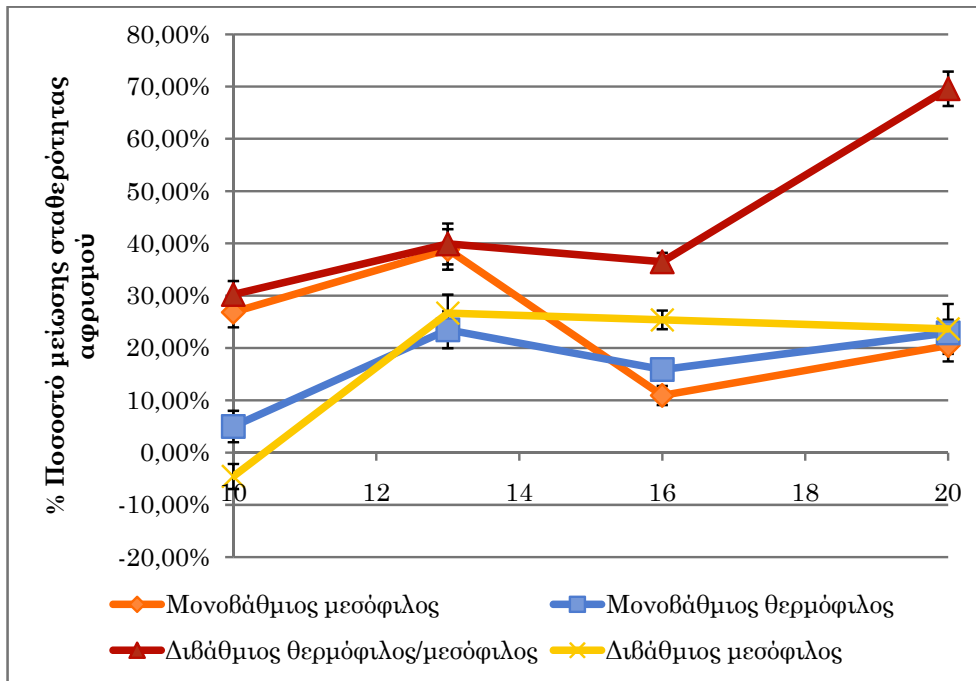
Β. Αφρισμός

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενες παραγράφους, στις δοκιμές αφρισμού δύο είναι οι κρίσιμες παράμετροι αξιολόγησης, το δυναμικό αφρισμού (FP σε ml/%TS) που μετράται μέσω του όγκου του αφρού που παράγεται και η σταθερότητα του αφρού που μετράται μέσω του χρόνου που χρειάζεται ο παραγόμενος αφρός για να καταρρεύσει (FS σε sec/%TS). Έτσι, η πρώτη παράμετρος (FP) εκφράζει τον αναμενόμενο όγκο του παραγόμενου αφρού στους αναερόβιους χωνευτές και η δεύτερη (FS) τη συνεκτικότητα και άρα τη σταθερότητα του παραγόμενου αφρού. Κατά συνέπεια ιλύες που δεν προκαλούν προβλήματα αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές αναμένεται να χαρακτηρίζονται από χαμηλό δυναμικό αφρισμού και χαμηλή σταθερότητα.

Τα ποσοστά μείωσης του δυναμικού αφρισμού και της σταθερότητας, σχετικά με τα αντίστοιχα της εισερχομένης ιλύος παρουσιάζονται στα παρακάτω γραφήματα 6.29 και 6.30.



Γράφημα 6.29: Ποσοστό μείωσης του δυναμικού αφρισμού στα εργαστηριακά συστήματα σε όλους τους χρόνους παραμονής



Γράφημα 6.30: Ποσοστό μείωσης της σταθερότητας αφρισμού στα εργαστηριακά συστήματα σε όλους τους χρόνους παραμονής

Από τα γραφήματα εξάγεται το συμπέρασμα ότι μόνο το διβάθμιο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα μείωσε τη σταθερότητα και το δυναμικό του αφρισμού σημαντικά στους υψηλούς χρόνους παραμονής των 20 και 16 ημερών. Τα υπόλοιπα συστήματα σε όλους τους χρόνους παραμονής δε μείωσαν σημαντικά το δυναμικό και τη σταθερότητα του αφρισμού. Τα δύο διβάθμια συστήματα μείωσαν το δυναμικό αφρισμού τους ανάλογα με το χρόνο παραμονής.

Το δυναμικό και η σταθερότητα του αφρισμού επηρεάζονται τόσο από τη συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων όσο και από τη συγκέντρωση άλλων οργανικών ενώσεων της κωνεμένης ιλύος που δρουν σταθεροποιητικά στον αφρισμό. Από τη μία πλευρά, η συγκέντρωση των νηματοειδών είναι υψηλότερη στους μεσόφιλους κωνευτές, όπως εκτιμήθηκε με τη FISH ενώ από την άλλη, η συγκέντρωση των ενώσεων που σταθεροποιούν τον αφρισμό είναι υψηλότερη στους θερμόφιλους κωνευτές όπως μετρήθηκε μέσω του κολλοειδούς COD, πιθανώς εξαιτίας του μεγαλύτερου βαθμού υδρόλυσης της οργανικής ύλης όπως αναφέρεται σε πολλές μελέτες (Kugelman and Guida, 1989, Rimkus *et al.*, 1982, Reusser and Zelinka, 2004). Επίσης, ο μεγαλύτερος βαθμός καταστροφής των νηματοειδών που επιτεύχθηκε στους θερμόφιλους κωνευτές μπορεί να οδήγησε σε αύξηση των κολλοειδών υδροφοβικών ενώσεων όπως το μυκολικό οξύ ενισχύοντας κατά τον τρόπο αυτό το δυναμικό αφρισμού. Εξάλλου, όπως αναφέρουν οι Pagilla *et*

al.(1998) στην περίπτωση ΕΕΛ στο Sacramento της Καλιφόρνια των ΗΠΑ που παρουσίαζε σημαντικά προβλήματα αφρισμού, εφαρμόστηκε η χλωρίωση της περίσσειας ιλύος. Αυτή η μέθοδος οδήγησε σε αύξηση του δυναμικού και της σταθερότητας αφρισμού της ιλύος, γεγονός που οι συγγραφείς απέδωσαν είτε στην καταστροφή των συσσωματωμάτων από το χλώριο που συνεπάγεται τη μεγαλύτερη έκθεση των υδρόφοβων *G. amarae* στην υγρή φάση είτε στην απελευθέρωση από τα κύτταρα υλικών που σταθεροποιούν τον αφρό όταν αυτά λύνονται από το Cl_2 .

6.4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΩΝ ΧΩΝΕΥΤΩΝ ΔΙΑΛΕΙΠΟΝΤΟΣ ΕΡΓΟΥ

6.4.1. Εισαγωγή

Σε προηγούμενη παράγραφο έγινε σύγκριση των μέσων όρων καταστροφής των νηματοειδών *M. parvicella* και *G.amarae* στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και διαπιστώθηκε ότι η καταστροφή των νηματοειδών ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη στις θερμοφιλικές συνθήκες συγκριτικά με τις μεσόφιλες. Προκειμένου να προσεγγιστεί η κινητική μείωσης της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G.amarae* σε θερμοφιλικές και μεσόφιλες αναερόβιες συνθήκες πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι διαλείποντος έργου στους εργαστηριακούς χωνευτές.

Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο της βιβλιογραφικής ανασκόπησης σχετικά με την κινητική των δύο υπό εξέταση νηματοειδών βακτηρίων είναι αερόβια βακτήρια, τα οποία δεν προσλαμβάνουν τροφή κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Επομένως, η μεταβολή της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* στην αναερόβια χώνευση καθορίζεται μόνο από τη φθορά τους, η οποία μπορεί να θεωρηθεί ότι ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης (εξίσωση 6.1):

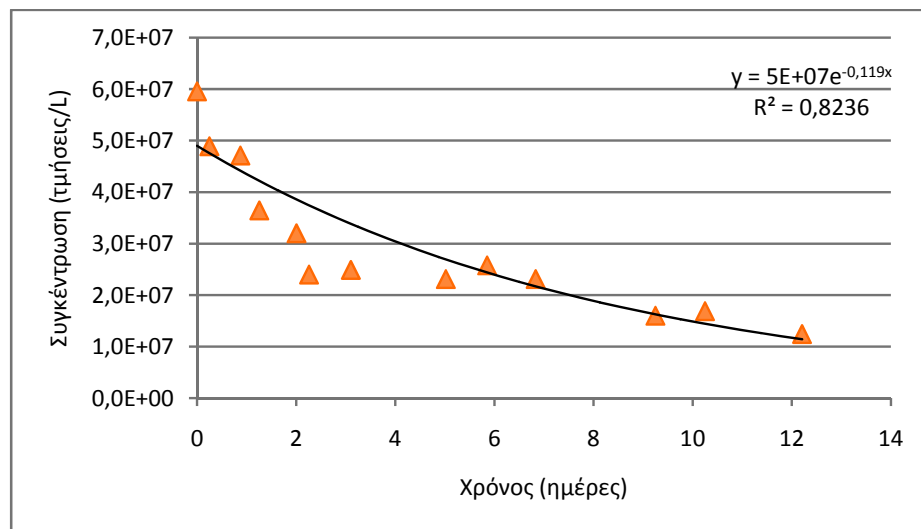
$$r = -\frac{d[C]}{dt} = k_d \times [C] \Rightarrow C = C_0 \times e^{-k_d \times t}, \text{ Εξίσωση 6.1}$$

Όπου C η συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων σε κάποιο χρόνο t , C_0 η αρχική συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων και k_d συντελεστής φθοράς [d^{-1}].

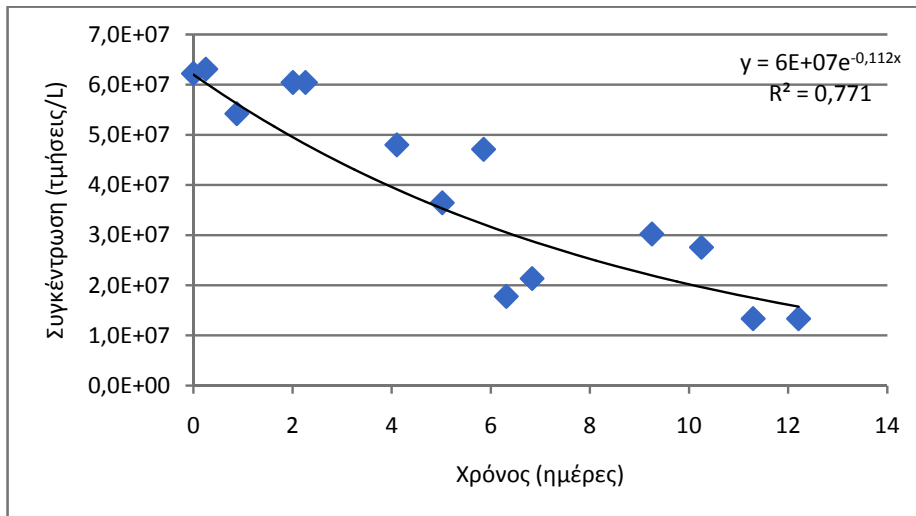
6.4.2. Παρουσίαση αποτελεσμάτων

Στα γραφήματα 6.33 - 6.34 παρουσιάζεται αντιστοίχως η μεταβολή της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella*, συναρτήσει του χρόνου όπως προσδιορίστηκε με την τεχνική FISH στο μεσόφιλο χωνευτή διαλείποντος έργου. Στα γραφήματα 6.35 - 6.36 παρουσιάζεται αντιστοίχως η μεταβολή της συγκέντρωσης των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella*, συναρτήσει του χρόνου όπως προσδιορίστηκε με την τεχνική FISH στο θερμόφιλο χωνευτή διαλείποντος έργου. Αναλυτικά οι πίνακες των αποτελεσμάτων δίνονται στο παράρτημα των μετρήσεων. Σε όλες τις περιπτώσεις τα δεδομένα έχουν συσχετιστεί με εκθετική εξίσωση καθώς θεωρείται ότι η φθορά των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* πραγματοποιείται με κινητική πρώτης τάξης (εξίσωση 6.1).

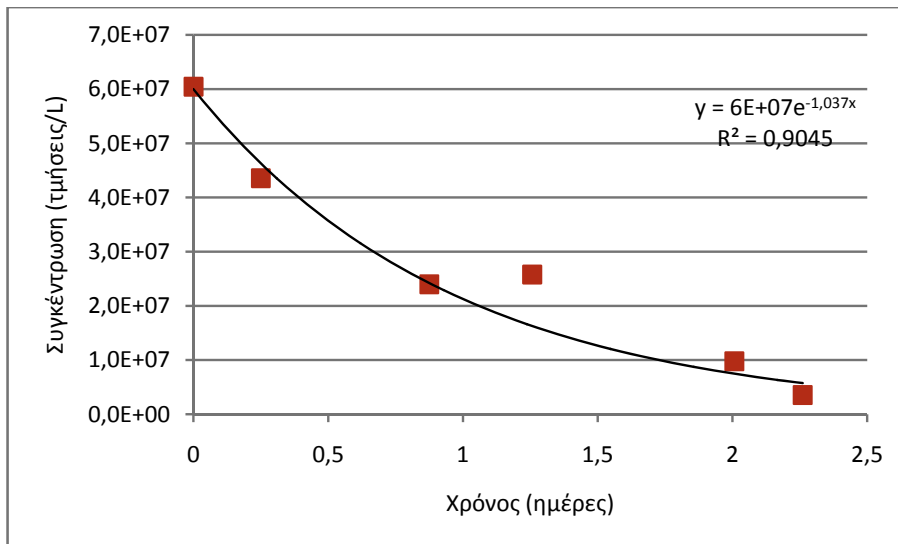
Η εξίσωση και ο συντελεστής συσχέτισης με τα δεδομένα σημειώνεται κάθε φορά στα γραφήματα 6.31 - 6.34.



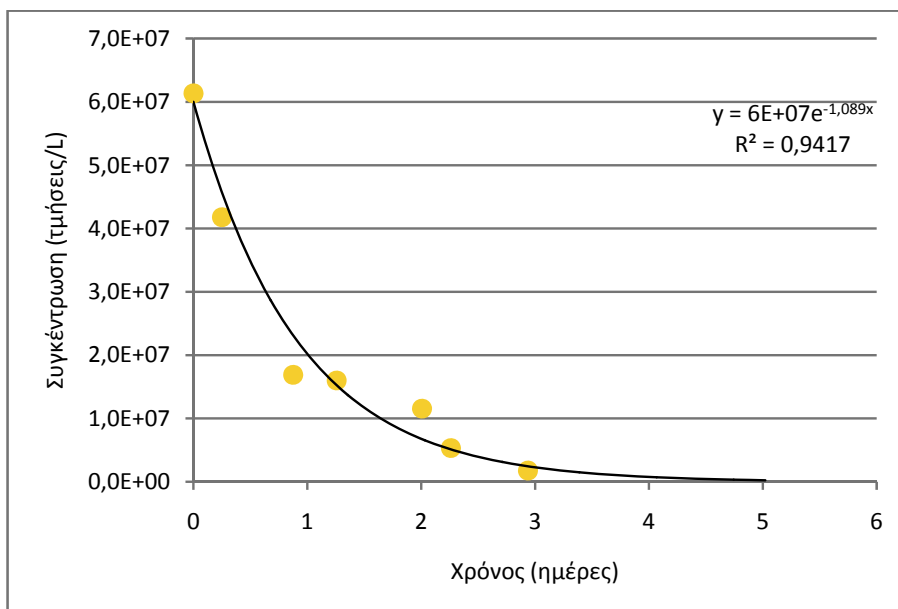
Γράφημα 6.31: Μείωση συγκέντρωσης του βακτηρίου *M. parvicella* συναρτήσει του χρόνου στα πειράματα διαλείποντος έργου σε μεσόφιλες συνθήκες



Γράφημα 6.32: Μείωση συγκέντρωσης του βακτηρίου *G. amarae* συναρτήσει του χρόνου στα πειράματα διαλείποντος έργου σε μεσόφιλες συνθήκες



Γράφημα 6.33: Μείωση συγκέντρωσης του νηματοειδούς βακτηρίου *M. parvicella* συναρτήσει του χρόνου όπως προσδιορίστηκε στα πειράματα διαλείποντος έργου σε θερμοφιλες συνθήκες



Γράφημα 6.34: Μείωση συγκέντρωσης του νηματοειδούς βακτηρίου *G. amarae* συναρτήσει του χρόνου όπως προσδιορίστηκε στα πειράματα διαλείποντος έργου σε θερμόφιλες συνθήκες

Στα γραφήματα της μείωσης της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *M.parvicella* και *G. amarae* συναρτήσει του χρόνου διαπιστώνεται η καλή προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων σε κινητικές εξισώσεις πρώτης τάξης καθώς οι συντελεστές συσχέτισης R^2 προσεγγίζουν τη μονάδα. Πιο αναλυτικά, οι συντελεστές φθοράς καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα 6.66.

Πίνακας 6.66: Συντελεστές φθοράς των νηματοειδών *M.parvicella* και *G. amarae* καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης (Pearson²) όπως υπολογίστηκαν από την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων της συγκέντρωσης των νηματοειδών κατά FISH σε μεσόφιλες και θερμόφιλες συνθήκες αναερόβιας χώνευσης διαλείποντος έργου.

	Μεσόφιλες συνθήκες		Θερμόφιλες συνθήκες	
	Συντελεστής φθοράς (K_d)	Συντελεστής συσχέτισης (R^2)	Συντελεστής φθοράς (K_d)	Συντελεστής συσχέτισης (R^2)
<i>G. amarae</i>	0,11	0,77	1,09	0,94
<i>M.parvicella</i>	0,12	0,82	1,04	0,90

Ο συντελεστής φθοράς που υπολογίστηκε για το μικροοργανισμό *G. amarae* σε μεσόφιλες συνθήκες είναι μεγαλύτερος από την τιμή που υπολογίστηκε σε μονοβάθμια μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης από τους Hernandez και Jenkins (1994) για το μικροοργανισμό *G. amarae*, η οποία βρέθηκε ίση με $0,020 \text{ d}^{-1}$. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* στην εν λόγω εργασία (FISH) και στην εργασία των τους Hernandez και Jenkins (1994), η οποία υπερεκτιμά τις συγκεντρώσεις των νηματοειδών βακτηρίων (de los Reyes *et al.*, 1998).

Εν συνεχεία υπολογίστηκαν οι θερμοκρασιακοί συντελεστές θ , βάσει της εξίσωσης 6.2:

$$k_{d,55} = k_{d,35} \times \theta^{(55-35)}, \text{ Εξίσωση 6.2}$$

Οι συντελεστές θ βρέθηκαν ίσοι με 1,12 και για τους δύο μικροοργανισμούς. Επομένως, οι συντελεστές φθοράς στους 20°C υπολογίζονται ίσοι με $0,022 \text{ d}^{-1}$ και $0,020 \text{ d}^{-1}$ αντίστοιχα για τους μικροοργανισμούς *M.parvicella* και *G. amarae*, τιμές λίγο μικρότερες από αυτές που έχουν υπολογιστεί από τους Noutsopoulos *et al.* (2007) σε αερόβια συστήματα ενεργού ιλύος. Οι συγγραφείς υπολόγισαν τιμές του συντελεστή φθοράς του *M.parvicella* ίσες με $0,0164 \text{ d}^{-1}$ σε πειράματα ενδογενούς αναπνοής και $0,031 \pm 0,006 \text{ d}^{-1}$ σε πειράματα υπολογισμού του k_{\max} .

Σύμφωνα με την ερευνητική εργασία του Heymann, (2010), ο συντελεστής φθοράς των βακτηρίων φαίνεται ότι δεν είναι σταθερός αλλά είναι συνάρτηση (πρώτης τάξης) του ρυθμού θανάτου των ζωντανών βακτηρίων καθώς και του ρυθμού υδρόλυσης των νεκρών. Εξάλλου, ο ρυθμός θανάτου των ζωντανών μικροοργανισμών φαίνεται να είναι μια αυστηρά ρυθμιζόμενη διεργασία από το ενζυμικό σύστημα των μικροοργανισμών (Rice και Bayles, 2008) που συμπεριλαμβάνει και μια διεργασία γήρανσης προγραμματισμένη στη διαδικασία ανάπτυξης του πληθυσμού (Stewart *et al.*, 2005).

Σημειώνεται ότι οι συγγραφείς Noutsopoulos *et al.* (2007) υπολόγισαν το συντελεστή φθοράς κάτω από αερόβιες συνθήκες, σε δείγματα αφρού εμπλουτισμένα με *M.parvicella* με τη χρήση συμβατικών μεθόδων, που βάσει των παραπάνω ερευνών, συμπεριελάμβανε το ρυθμό θανάτου των ζωντανών βακτηρίων σε αερόβιες συνθήκες και το ρυθμό υδρόλυσης των νεκρών βακτηρίων. Στην παρούσα εργασία υπολογίστηκε ο ρυθμός θανάτου των ζωντανών βακτηρίων σε αναερόβιες συνθήκες. Οι Siegrist *et al.* (1999) συγκρίνοντας το ρυθμό φθοράς

ομάδων βακτηρίων της ενεργού ιλύος σε αερόβιες με το ρυθμό φθοράς τους σε ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες αναφέρουν τη μείωσή του κάτω από ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες. Οι συγγραφείς συμπεραίνουν, ότι πιθανόν αυτό να οφείλεται στο γεγονός ότι δε μεταβάλλεται το ενζυμικό τους σύστημα υπό αναερόβιες συνθήκες, όπως συμβαίνει στις αερόβιες συνθήκες μηδενικής συγκέντρωσης υποστρώματος στις οποίες υπολογίζεται ο συντελεστής ενδογενούς αναπνοής, συνθήκες που πιθανότατα επιταχύνουν τη διαδικασία φθοράς τους. Κατά συνέπεια οι ρυθμοί φθοράς που υπολογίστηκαν στα πλαίσια αυτής της εργασίας αναμένεται να είναι χαμηλότεροι από τους αντίστοιχους που αναφέρονται στη βιβλιογραφία και έχουν υπολογισθεί κάτω από αερόβιες συνθήκες γιατί ο ρυθμός φθοράς που μετρήθηκε με τη μέθοδο FISH περιλαμβάνει μόνο το ρυθμό θανάτου των ζωντανών οργανισμών και όχι τον ρυθμό υδρόλυσης των νεκρών βακτηρίων.

6.4.2.1. Σύγκριση πειραματικών αποτελεσμάτων διαλείποντος έργου και συνεχούς ροής

Προκειμένου να συγκριθούν οι κινητικές φθοράς που υπολογίστηκαν για τους νηματοειδείς *M. parvicella* και *G. amarae* από τα πειράματα διαλείποντος έργου με τα αποτελέσματα των πειραμάτων συνεχούς έργου, υπολογίστηκαν τα ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βάσει των συντελεστών φθοράς στους διάφορους χρόνους παραμονής. Αναλυτικότερα, υπολογίστηκε η τελική συγκέντρωση C σε κάθε χρόνο παραμονής (t =χρόνος παραμονής), θεωρώντας ως αρχική συγκέντρωση C_0 , αυτή που προσδιορίστηκε στο χρόνο t_0 των πειραμάτων διαλείποντος έργου, βάσει της εξίσωσης 6.3:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{Q}{V_r} * (C_0 - C) - k * C \xrightarrow{\text{steady state}} C = \frac{C_0}{1 + k_d * DT} \quad \text{Εξίσωση 6.3}$$

Εν συνεχεία, από τη διαφορά των δύο συγκεντρώσεων προς την αρχική συγκέντρωση υπολογίζονταν τα ποσοστά καταστροφής (πίνακες 6.67 και 6.68).

Πίνακας 6.67: Εκτιμώμενα ποσοστά καταστροφής σε μεσόφιλες συνθήκες των νηματοειδών βακτηρίων *M.parvicella* και *G. amarae* σε διάφορους χρόνους παραμονής βάσει των κινητικών φθοράς που υπολογίστηκαν από τα πειράματα διαλείποντος έργου.

Χρόνος παραμονής (ημέρες)	Συγκέντρωση		Ποσοστό καταστροφής	Συγκέντρωση		Ποσοστό καταστροφής
	<i>FISH amarae</i> (τμήσεις/ L)	<i>G.</i>		<i>FISH parvicella</i> (τμήσεις/ L)	<i>M.</i>	
10,0	3,64E+07		54,55%	1,19E+07		52,38%
13,0	1,53E+07		60,94%	3,84E+07		58,85%
16,0	1,98E+06		65,75%	2,90E+06		63,77%
20,0	7,84E+06		70,59%	6,25E+06		68,75%

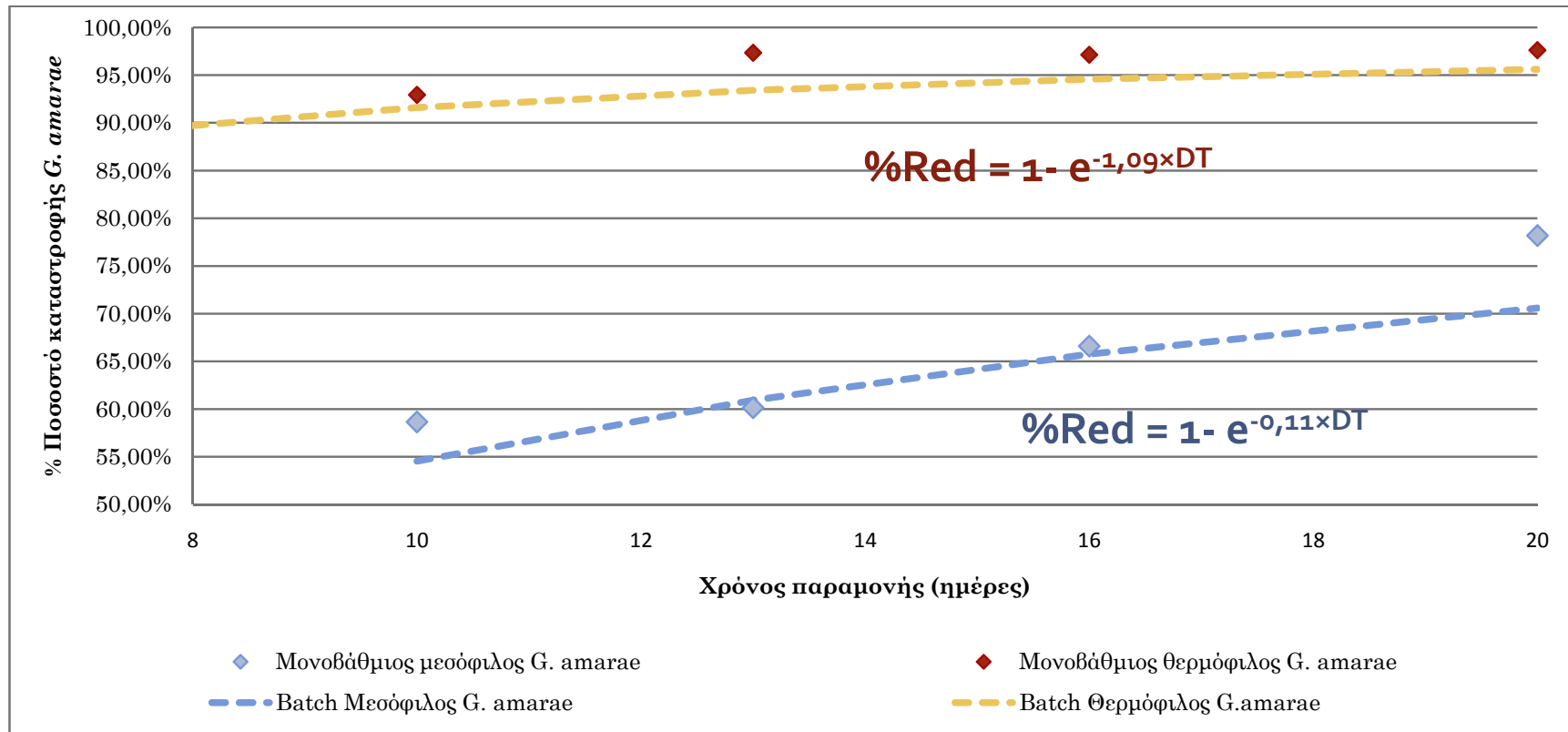
Πίνακας 6.68: Εκτιμώμενα ποσοστά καταστροφής σε θερμόφιλες συνθήκες των νηματοειδών βακτηρίων *M.parvicella* και *G. amarae* σε διάφορους χρόνους παραμονής βάσει των κινητικών φθοράς που υπολογίστηκαν από τα πειράματα διαλείποντος έργου.

Χρόνος παραμονής (ημέρες)	Συγκέντρωση		Ποσοστό καταστροφής	Συγκέντρωση		Ποσοστό καταστροφής
	<i>FISH G. amarae</i> (τμήσεις/ L)	<i>G.</i>		<i>FISH M. parvicella</i> (τμήσεις/ L)	<i>M.</i>	
3	4,79E+06		76,58%	6,26E+06		75,73%
5	1,93E+06		84,50%	4,44E+06		83,87%
6	3,54E+05		86,74%	8,59E+05		86,19%
8	2,40E+06		89,71%	1,07E+06		89,27%
10	1,68E+05		91,60%	9,36E+05		91,23%
13	1,17E+05		93,41%	3,06E+05		93,11%
16	7,23E+04		94,58%	7,56E+04		94,33%
20	1,17E+06		95,61%	9,17E+05		95,41%

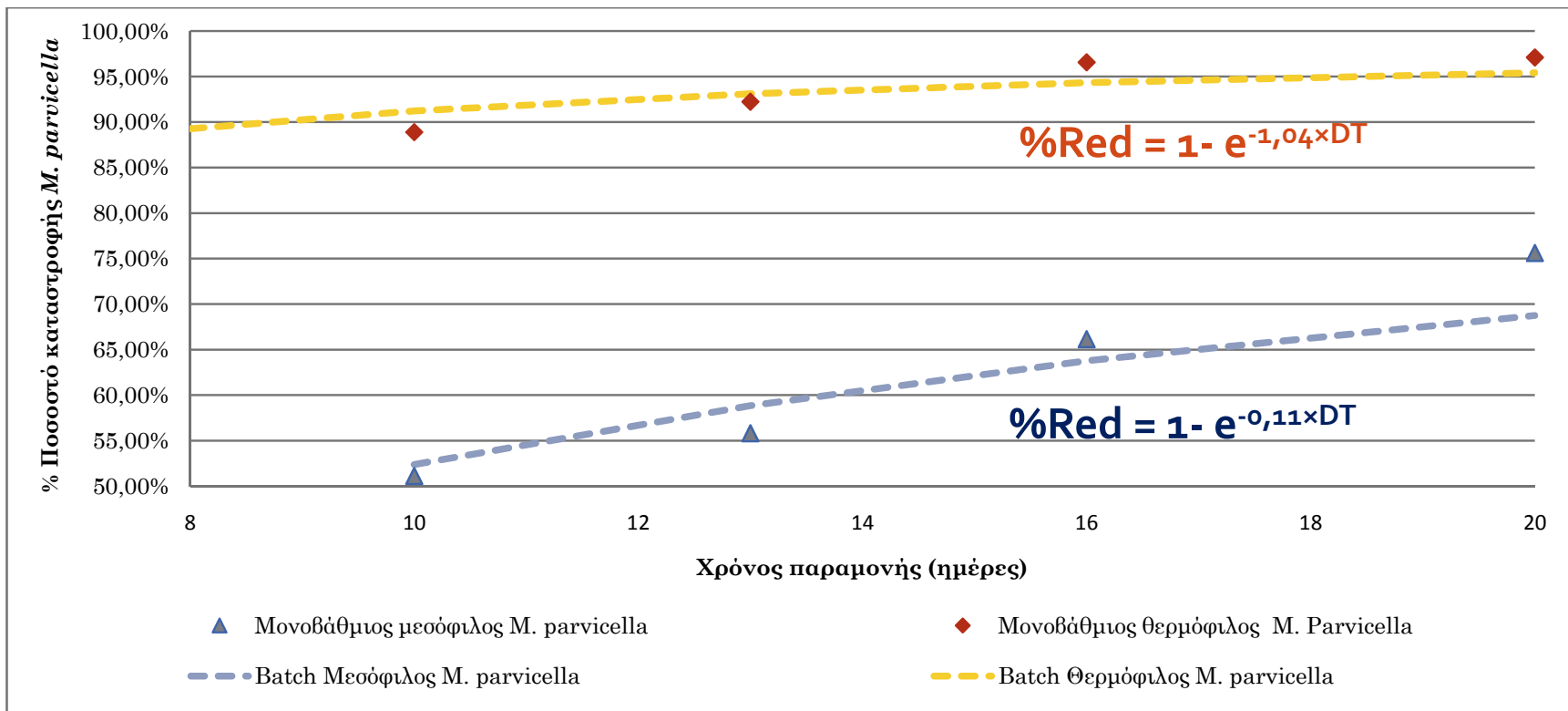
Όπως φαίνεται στους πίνακες 6.67 και 6.68 τα ποσοστά καταστροφής που υπολογίζονται στις θερμόφιλες συνθήκες (91% - 96%) είναι σημαντικά υψηλότερα από αυτά που υπολογίζονται στις μεσόφιλες συνθήκες (53-71%). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής των *G. amarae* και *M. parvicella* που υπολογίστηκαν στα πειράματα συνεχούς έργου σε κάθε χρόνο

παραμονής. Υπενθυμίζεται ότι τα πειράματα συνεχούς έργου τα ποσοστά καταστροφής υπολογίζονταν ως η συνολική ποσότητα του κάθε νηματοειδούς βακτηρίου που εισέρχεται στο σύστημα με την τροφοδοσία ως προς τη συνολική ποσότητά του στην κωνεμένη ιλύ που απομακρύνεται από το σύστημα. Σε όλες τις περιπτώσεις οι συγκεντρώσεις των νηματοειδών προσδιορίζονται με τη μέθοδο FISH.

Στα γραφήματα 6.35 και 6.36 παρουσιάζονται συνολικά τα ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* που προέκυψαν από τα πειράματα διαλείποντος και συνεχούς έργου συναρτήσει του χρόνου καταστροφής. Με γραμμή παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν από τις κινητικές φθοράς των πειραμάτων διαλείποντος έργου και με σημεία παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν σε κάθε χρόνο παραμονής από τα πειράματα συνεχούς έργου. Όπως φαίνεται από τα γραφήματα υπάρχει πολύ καλή συμφωνία μεταξύ των ποσοστών καταστροφής που υπολογίστηκαν με βάση τις κινητικές φθοράς και των πειραματικών συντελεστών που προέκυψαν από τη λειτουργία των εργαστηριακής κλίμακας αναερόβιων κωνευτών συνεχούς έργου.



Γράφημα 6.35: Σύγκριση ποσοστών καταστροφής των νηματοειδών *G. amarae* των πειραμάτων διαλείποντος και συνεχούς έργου συναρτήσει του χρόνου καταστροφής. Με γραμμή παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν από τις κινητικές φθοράς των πειραμάτων διαλείποντος έργου και με σημεία παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν σε κάθε χρόνο παραμονής από τα πειράματα συνεχούς έργου.



Γράφημα 6.36: Σύγκριση ποσοστών καταστροφής των νηματοειδών *M. parvicella* των πειραμάτων διαλείποντος και συνεχούς έργου συναρτήσει του χρόνου καταστροφής. Με γραμμή παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν από τις κινητικές φθοράς των πειραμάτων διαλείποντος έργου και με σημεία παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν σε κάθε χρόνο παραμονής από τα πειράματα συνεχούς έργου

6.4.2.2. Σύγκριση ποσοστών καταστροφής νηματοειδών βακτηρίων από τα εργαστηριακής κλίμακας πειράματα διαλείποντος έργου και από τις εγκαταστάσεις πλήρους κλίμακας

Σε προηγούμενη παράγραφο υπολογίστηκαν τα ποσοστά καταστροφής που επιτυγχάνονται στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης των Εγκαταστάσεων Επεξεργασίας Λυμάτων Χαλκίδας και Βόλου για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* όπως μετρήθηκαν με τη μέθοδο FISH. Τα ποσοστά αυτά μπορούν να συγκριθούν με τα αντίστοιχα που προκύπτουν βάσει των κινητικών φθοράς των μικροοργανισμών που υπολογίστηκαν από τα εργαστηριακή κλίμακας πειράματα διαλείποντος έργου.

Επομένως, στον παρακάτω πίνακα 6.69 παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν στις ΕΕΛ Χαλκίδας και Βόλου πλήρους κλίμακας συγκριτικά με τα ποσοστά καταστροφής που υπολογίζονται βάσει της κινητικής φθοράς που προέκυψε από τα εργαστηριακά πειράματα διαλείποντος έργου σε μεσόφιλες συνθήκες:

Πίνακας 6.69: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* που υπολογίστηκαν στις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας συγκριτικά με τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν από την κινητική φθοράς των εργαστηριακών πειραμάτων διαλείποντος έργου

Χρόνος παραμονής (ημέρες)	13 (Γραμμή 1 ΕΕΛ Χαλκίδας)	17 (ΕΕΛ Βόλου)
% ποσοστό καταστροφής πλήρους κλίμακας για <i>G. amarae</i>	50,4	69,7
% ποσοστό καταστροφής πλήρους κλίμακας <i>M. parvicella</i>	50,3	77,7
Αποτελέσματα μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή συνεχούς έργου για <i>G. amarae</i>	58,9±5,0	66,5±3,5
Αποτελέσματα μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή συνεχούς έργου για <i>M. parvicella</i>	58,3±2,2	70,4±3,2
Αποτελέσματα μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή διαλείποντος έργου για <i>G. amarae</i>	60,94%	65,75%
Αποτελέσματα μονοβάθμιου μεσόφιλου χωνευτή διαλείποντος έργου για <i>M. parvicella</i>	58,85%	63,77%

Στον πίνακα 6.69 φαίνεται ότι οι μέσοι όροι της καταστροφής των νηματοειδών όπως υπολογίστηκαν στην ΕΕΛ του Βόλου είναι σε καλή συμφωνία με τα εργαστηριακά δεδομένα. Στην περίπτωση της ΕΕΛ Χαλκίδας τα ποσοστά που υπολογίστηκαν από τις μετρήσεις πλήρους κλίμακας είναι μικρότερα από τα αντίστοιχα εργαστηριακά. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, σημαντικότεροι εκ των οποίων είναι: α) ο ενεργός όγκος της χώνευσης είναι μικρότερος από αυτόν που θεωρήθηκε λόγω επικαθίσεων στους χωνευτές και β) η θερμοκρασία δε διατηρείται σταθερή στους 35°C αλλά υπάρχουν χρονικές περιόδους που είναι χαμηλότερη και άρα επηρεάζεται αρνητικά η απόδοση των χωνευτών. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι στην περίπτωση που η θερμοκρασία του χωνευτή της ΕΕΛ Χαλκίδας μειωθεί κατά 4 βαθμούς τότε ο συντελεστής φθοράς μειώνεται στην τιμή $0,076d^{-1}$ και άρα το ποσοστό καταστροφής των μικροοργανισμών *G. amarae* μειώνεται από 60,9% σε 49,8% και είναι σε συμφωνία με τα εργαστηριακά δεδομένα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

7.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του φαινομένου του αφρισμού λόγω της υπερανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (ΕΕΛ) με απομάκρυνση θρεπτικών, με έμφαση στον προσδιορισμό της επίδρασης της γραμμής επεξεργασίας της ιλύος στο φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού.

Καταρχήν, παρουσιάστηκε το θεωρητικό υπόβαθρο και η βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με το θέμα. Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκε το φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού, η έκτασή του σε συστήματα ενεργού ιλύος και αναερόβιας χώνευσης, οι λειτουργικές παράμετροι που ευνοούν το σχηματισμό του αφρισμού και τη σταθεροποίησή του καθώς και τα μέτρα ελέγχου και αντιμετώπισής του. Επίσης, παρουσιάστηκαν οι σημαντικότεροι νηματοειδείς μικροοργανισμοί που προκαλούν φαινόμενα αφρισμού ως προς τη μικροβιολογία, τη φυσιολογία και την κινητική τους. Στη συνέχεια, αναλύθηκαν διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και οι σημαντικότερες παράμετροι παρακολούθησης και ρύθμισής τους, η επίδραση των διαφορετικών φυσικών και χημικών παραμέτρων στη διεργασία, η απόδοσή τους και τα λειτουργικά προβλήματα που παρουσιάζουν με έμφαση στο πρόβλημα του νηματοειδούς αφρισμού. Τέλος, εξετάστηκαν οι μέθοδοι ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* τόσο της παραδοσιακής τεχνικής Pitt και Jenkins όσο και μοριακών μεθόδων και κυρίως της FISH.

Στη συνέχεια της εργασίας αναπτύχθηκε η μεθοδολογία και ο τρόπος προσέγγισης του υπό εξέταση θέματος. Επίσης, περιγράφηκαν οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν, τα προγράμματα δειγματοληψιών και μετρήσεων από τις ΕΕΛ Βόλου, Χαλκίδας και Ψυττάλειας καθώς και τα τέσσερα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης.

Στην ενότητα της παρουσίασης αποτελεσμάτων περιγράφηκε καταρχήν η ανάπτυξη της μοριακής μεθόδου FISH για την ταυτοποίηση των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* και των λοιπών τεχνικών παρακολούθησης των νηματοειδών βακτηρίων με τις οποίες συσχετίστηκε η μέθοδος FISH. Στη συνέχεια, παρουσιάστηκαν αναλυτικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων από τις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας, τα ισοζύγια μάζας των νηματοειδών βακτηρίων, τα ποσοστά επανατροφοδότησης τους στο σύστημα μέσω των ροών των στραγγιδίων από τα

στάδια πάχυνσης και αφυδάτωσης της ιλύος και τα ποσοστά καταστροφής τους στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης.

Στην τελευταία ενότητα των αποτελεσμάτων, παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα από τα τέσσερα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Η απόδοση των χωνευτών αξιολογήθηκε με βάση την παραγωγή του βιοαερίου, την καταστροφή των πτητικών στερεών και την καταστροφή του ολικού COD, ενώ η σταθερότητα της λειτουργίας τους παρακολουθήθηκε μέσω της σταθερότητας της θερμοκρασίας και του pH, της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και της συγκέντρωσης της αλκαλικότητας. Επίσης, εξετάστηκε το φαινόμενο του αφρισμού στους χωνευτές μέσω δοκιμών αφρισμού ενώ διερευνήθηκε η συσχέτισή του με τη συγκέντρωση των νηματοειδών *G. amarae* και *M. parvicella* με την εφαρμογή της μοριακής μεθόδου FISH καθώς και με τη συγκέντρωση του κολλοειδούς COD. Τέλος, προκειμένου να προσεγγιστεί η κινητική μείωσης της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* σε θερμόφιλες και μεσόφιλες αναερόβιες συνθήκες πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι διαλείποντος έργου στους εργαστηριακούς χωνευτές.

Τα βασικά συμπεράσματα που προέκυψαν από την παρούσα ερευνητική εργασία συνοψίζονται στις επόμενες παραγράφους.

7.2. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ FISH

Ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του φαινομένου του αφρισμού λόγω της υπερανάπτυξης των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae*. Προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι δυσκολίες που προκύπτουν από την εφαρμογή της παραδοσιακής τεχνικής Pitt και Jenkins (1990), αναπτύχθηκε μέθοδος καταμέτρησης των νηματοειδών με τη μοριακή μέθοδο FISH. Οι μέσοι όροι των νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια των δύο μεθόδων σε δείγματα ανάμικτου υγρού παρουσίασαν στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05, γεγονός αναμενόμενο εφόσον η FISH προσδιορίζει τους βιώσιμους μικροοργανισμούς ενώ η Pitt και Jenkins το σύνολό τους.

Επίσης, η FISH συσχετίστηκε με την κλασική μέθοδο με αναμενόμενα αποτελέσματα την καλή συσχέτιση στα δείγματα των αερόβιων διεργασιών. Καθώς τα δείγματα ανάμικτου υγρού της Ψυττάλειας που χρησιμοποιήθηκαν περιείχαν *M.*

parvicella και *G. amarae*, βρέθηκε ότι ο συντελεστής συσχέτισης ήταν πολύ μεγαλύτερος για το άθροισμα των νηματοειδών βακτηρίων παρά για κάθε μικροοργανισμό χωριστά. Αυτό οφείλεται στην αδυναμία της μεθόδου Pitt και Jenkins να ταυτοποιήσει επιλεκτικά τους μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* εφόσον πρόκειται για δύο Gram θετικά βακτήρια, των οποίων η καταμέτρηση γίνεται βάσει της μορφολογίας τους, οδηγώντας έτσι σε σφάλματα στην καταμέτρηση.

Καθώς με τη μέθοδο FISH υβριδοποιείται το ριβοσωμικό RNA, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία μόνο όταν υπάρχει έντονη μεταβολική δραστηριότητα, οι μοριακοί ιχνηλάτες FISH υβριδοποιούνται με τους βιώσιμους μικροοργανισμούς. Ωστόσο ο παρατεταμένος χρόνος ημίσειας ζωής του rRNA μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της βιωσιμότητας δείγματος. Για τον έλεγχο της ακρίβειας της μεθόδου για τον προσδιορισμό της βιωσιμότητας των βακτηρίων, η FISH συσχέτιστηκε και με άλλες φθορίζουσες μοριακές μεθόδους, οι οποίες προσδιορίζουν τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών. Από τον έλεγχο Student που πραγματοποιήθηκε στους μέσους όρους των δειγμάτων που είχαν επεξεργαστεί με FISH και με την τεχνική LIVE/ DEAD που προσδιορίζει τους ζώντες μικροοργανισμούς, προέκυψε ότι η FISH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των βιώσιμων μικροοργανισμών.

7.3. ΙΣΟΖΥΓΙΑ ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΙΣ ΕΕΛ ΠΛΗΡΟΥΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ

Με τη βοήθεια της μεθόδου FISH, διερευνήθηκε η υπερανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών *M. parvicella* και *G. amarae* καταρχήν στα διάφορα στάδια τριών ΕΕΛ (Χαλκίδας, Βόλου και Ψυττάλειας). Οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει της επίμονης εμφάνισης του φαινομένου του αφρισμού και με ιδιαίτερο στόχο την εξέταση της υπόθεσης της επανατροφοδότησης του συστήματος της ενεργού ιλύος με τους εν λόγω νηματοειδείς. Επίσης, οι ΕΕΛ επιλέχθηκαν βάσει του γεγονότος ότι η περίσσεια βιολογικής ιλύος σταθεροποιείται σε αναερόβιους χωνευτές και επομένως ήταν δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών στην αναερόβια χώνευση.

Στόχος των δειγματοληψιών ήταν ο υπολογισμός του ισοζυγίου μάζας των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας των λυμάτων και της παραγόμενης ιλύος, η διερεύνηση της επίδρασης της ανακυκλοφορίας των στραγγιδίων στη συντήρηση των προβλημάτων νηματοειδούς αφρισμού και διόγκωσης στη γραμμή επεξεργασίας των λυμάτων καθώς και η μελέτη των προβλημάτων που προκαλούν τα νηματοειδή βακτήρια *M. parvicella* και *G. amarae* στην αναερόβια χώνευση και ο καθορισμός μέτρων αντιμετώπισης αυτών.

Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι οι ροές μάζας των υπό εξέταση νηματοειδών είναι σημαντικές στην πρωτοβάθμια εκροή καθώς και στην πρωτοβάθμια ιλύ, ενώ το άθροισμά τους είναι κατά μία τάξη μεγέθους μικρότερο από τη ροή μάζας των νηματοειδών που επιστρέφουν με τα στραγγίδια στην πρωτοβάθμια καθίζηση. Επομένως, φαίνεται ότι υπάρχει ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών στην πρωτοβάθμια επεξεργασία πιθανότατα λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων λιπών, οι οποίες έχουν αναφερθεί να ευνοούν την ανάπτυξή τους (Frigon, 2006). Σε κάθε περίπτωση, δε μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα εισαγωγής των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών με τα εισερχόμενα λύματα στις ΕΕΛ, υπόθεση ωστόσο που δε διερευνήθηκε περαιτέρω στην παρούσα εργασία.

Επίσης, από τα αποτελέσματα φάνηκε να επιβεβαιώνεται η εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών και συγκεκριμένα η ευνοϊκότερη ανάπτυξη των *M. parvicella* κατά τους χειμερινούς μήνες σε σχέση με τους μικροοργανισμούς *G. amarae*, οι οποίοι φαίνεται να αποκτούν συγκριτικό πλεονέκτημα κατά τους θερινούς μήνες. Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία ο μικροοργανισμός *G. amarae* αναπτύσσεται σε θερμοκρασιακό εύρος 23°-37°C, με βέλτιστη θερμοκρασία τους 28°C ενώ η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξής του είναι 10 - 15°C (Soddell and Seviour, 1990). Από την άλλη ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 22°C ενώ παρουσιάζει σημαντική ανάπτυξη μέχρι και τους 7 °C. Η προτίμηση του βακτηρίου *G. amarae* για υψηλότερες θερμοκρασίες εξηγεί πιθανόν την επικράτησή του στις θερμότερες αμερικανικές πολιτείες κυρίως τη θερινή περίοδο (Pitt και Jenkins, 1990, Jones *et al.*, 2003, Jolis *et al.*, 2007, Oerther *et al.*, 2000, De los Reyes III και Raskin, 2002, Frigon *et al.*, 2006) σε αντίθεση με το *M. parvicella* που επικρατεί στις ψυχρότερες ευρωπαϊκές χώρες και κυρίως τη χειμερινή περίοδο (Westlund *et al.*, 1998, Andreadakis *et al.*, 1999, Andreasen and Nielsen, 2000).

Επιπλέον, παρόλο που και οι δύο μικροοργανισμοί έχουν αναφερθεί να ευνοούνται από την αυξημένη συγκέντρωση των λιπών λόγω της υδροφοβικής τους επιφάνειας και της πλεονεκτικής προσβασιμότητας που έχουν έναντι των συσσωματούμενων βακτηρίων (Andreasen και Nielsen, 2000, Frigon *et al.*, 2006), ωστόσο παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς την κινητική τους. Έτσι, ο μικροοργανισμός *M. parvicella* έχει υψηλότερες τιμές K_s και άρα μεγαλύτερη ικανότητα λήψης του υποστρώματος, γεγονός που, σε συνδυασμό με τις μικρότερες θερμοκρασίες ανάπτυξής του, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα στις χαμηλές θερμοκρασίες λόγω και της μικρότερης διαλυτότητας των λιπών στις θερμοκρασίες αυτές. Από την άλλη, ο μικροοργανισμός *G. amarae* παρουσιάζει μεγαλύτερες ταχύτητες ανάπτυξης, γεγονός που σε συνδυασμό με τις υψηλότερες βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξής του και του υψηλότερου ρυθμού υδρόλυσης των λιπών σ' αυτές, του δίνει συγκριτικό πλεονέκτημα έναντι του *M. parvicella*.

Επίσης, από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε η συνδιακύμανση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων στο ανάμικτο υγρό και στον αφρό στις ΕΕΛ του Βόλου και της Χαλκίδας που αντιμετώπιζαν προβλήματα αφρισμού υποδεικνύοντας την ύπαρξη δυναμικής ισορροπίας μεταξύ των δύο φάσεων. Επομένως, είναι πιθανός ο συνεχής εμβολιασμός του ανάμικτου υγρού της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με νηματοειδείς από τον αφρό που συσσωρεύεται στην επιφάνειά τους και παγιδεύεται εκεί καθώς καμία εκ των δύο ΕΕΛ δεν εφαρμόζει σύστημα επιλεκτικής απομάκρυνσης του αφρού.

Όσον αφορά στον εμβολιασμό των συστημάτων δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με βιώσιμους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* μέσω της ανακυκλοφορίας των ροών των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης, φαίνεται ότι η έκταση των προβλημάτων αφρισμού είναι ανάλογη των ποσοστών επανατροφοδότησης. Έτσι στην εγκατάσταση της Ψυτάλλειας που δεν αντιμετώπιζε σημαντικά προβλήματα αφρισμού τη χρονική περίοδο της δειγματοληψίας, το ποσοστό επανατροφοδότησης, ως η ημερήσια ροή μάζας του μικροοργανισμού *G. amarae* στα στραγγίδια (τμήσεις FISH ημερησίως) προς τη μάζα του νηματοειδούς βακτηρίου στη δεξαμενή αερισμού (τμήσεις FISH ανά όγκο δείγματος επί τον όγκο του αερισμού), υπολογίστηκε ίσο με 0,4%. Ταυτόχρονα, η απομάκρυνση των νηματοειδών βακτηρίων με την περίσσεια ιλύος αντιστοιχούσε περίπου στο 30% προς τη μάζα του νηματοειδούς βακτηρίου επιστρέφει με τις ροές των στραγγιδίων στη δεξαμενή αερισμού. Τα αντίστοιχα ποσοστά επανατροφοδότησης της δευτεροβάθμιας διεργασίας με στραγγίδια για την ΕΕΛ

Βόλου κυμαίνονταν μεταξύ 0,0 και 8,1% για το βακτήριο *G. amarae* και μεταξύ 0,2 και 11,1% για το βακτήριο *M. parvicella* ενώ αντίστοιχα οι ρυθμοί απομάκρυνσής τους με την περίσσεια προς τις επιστροφές με τα στραγγίδια ήταν κατά μέσο όρο 58% και 44%.

Η εγκατάσταση της Χαλκίδας παρουσίαζε τα σημαντικότερα προβλήματα νηματοειδούς αφρισμού από τις άλλες δύο ΕΕΛ σε όλη τη διάρκεια των μετρήσεων της παρούσας εργασίας. Έτσι, τα ποσοστά επανατροφοδότησης με τα στραγγίδια που υπολογίστηκαν ήταν αυξημένα και κυμαίνονταν μεταξύ 2,6% και 21,5% και 0,8%-27,1% ως προς τη συνολική ποσότητα των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στη δευτεροβάθμια διεργασία. Τα αντίστοιχα ποσοστά των νηματοειδών που απομακρύνονταν από το σύστημα με την πρωτοβάθμια ιλύ ήταν περίπου 75% και 102% για τους νηματοειδείς *G. amarae* και *M. parvicella*. Επομένως, στην ΕΕΛ της Χαλκίδας οι νηματοειδείς *M. parvicella* ουσιαστικά δεν απομακρύνονταν από την εγκατάσταση εφόσον η ροή μάζας τους στην απομαρκρυνόμενη ιλύ ισούνταν με τις επιστροφές των νηματοειδών με τα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης της ιλύος.

Η υπόθεση του εμβολιασμού του συστήματος ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* μέσω των επιστροφών στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης διερευνήθηκε περαιτέρω για τις δύο ΕΕΛ του Βόλου και της Χαλκίδας. Πιο συγκεκριμένα, υπολογίστηκαν οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης των ροών μάζας των νηματοειδών βακτηρίων στα στραγγίσματα από τις διάφορες μονάδες πάχυνσης και αφυδάτωσης από τις οποίες παράγονται στραγγίδια με τις αντίστοιχες τιμές στο ανάμικτο υγρό. Οι μεγαλύτεροι συντελεστές Pearson βρέθηκαν και στις δύο περιπτώσεις μεταξύ των στραγγισμάτων της αφυδάτωσης, υποδεικνύοντας ότι η εκτροπή και χωριστή επεξεργασία των εν λόγω στραγγιδίων θα περιόριζαν τον εμβολιασμό του συστήματος ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς και άρα θα μπορούσαν να έχουν θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση των φαινομένων αφρισμού.

Όσον αφορά στα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν για τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς *M. parvicella* και *G. amarae* στα συστήματα αναερόβιας χώνευσης των ΕΕΛ πλήρους κλίμακας, αυτά ήταν αναλογικά με το χρόνο παραμονής και συγκεκριμένα κυμαίνονταν μεταξύ 34 και 48% για την ΕΕΛ Χαλκίδας με χρόνο παραμονής 12-13 ημέρες και 38- 78% για την ΕΕΛ Βόλου με χρόνο παραμονής 17 ημέρες.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών *G. amarae* και *M. parvicella* στο φαινόμενο του νηματοειδούς αφρισμού στην αναερόβια χώνευση μετρήθηκαν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις καθώς και το δυναμικό αφρισμού και η σταθερότητα του αφρισμού στην εισερχόμενη ιλύ. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μια αναλογική σχέση μεταξύ της σταθερότητας του αφρισμού και της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων, η οποία είναι μεγαλύτερη για τους μικροοργανισμούς *M. parvicella*. Όσον αφορά στη συσχέτιση του δυναμικού αφρισμού με τις συγκεντρώσεις των νηματοειδών αυτή ήταν πρακτικά σταθερή. Επομένως, φαίνεται ότι η σταθερότητα του αφρού που σχηματίζεται είναι ανάλογη της συνολικής συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* στην τροφοδοτούμενη ιλύ.

Συνοψίζοντας, βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας ερευνητικής εργασίας, η παγίδευση του αφρού στη δευτεροβάθμια επεξεργασία και η ανακυκλοφορία των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης επανατροφοδοτούν τα συστήματα ενεργού ιλύος των ΕΕΛ με νηματοειδείς μικροοργανισμούς. Το αποτέλεσμα του εν λόγω εμβολιασμού είναι η ενίσχυση και σταθεροποίηση των προβλημάτων νηματοειδούς αφρισμού σ' αυτές. Άρα θα μπορούσε να συμπεράνει κανείς ότι η επιλεκτική απομάκρυνση του αφρού και η χωριστή επεξεργασία του με τα στραγγίδια θα περιόριζαν τον εμβολιασμό του συστήματος ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς και άρα θα μπορούσαν να έχουν θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση των φαινομένων αφρισμού.

Η χωριστή επεξεργασία των προαναφερθέντων ρευμάτων θα μπορούσε να γίνει είτε στις διεργασίες διαχείρισης στερεών, όπου ωστόσο αν η ποσότητα των νηματοειδών αυξηθεί επαρκώς, μπορεί να προκαλέσει σοβαρά επεισόδια αφρισμού εκεί. Έτσι, η ερευνητική προσπάθεια έχει στραφεί προς τη θερμόφιλη αναερόβια χώνευση, στην οποία η αυξημένη θερμοκρασία αυξάνει σημαντικά το ρυθμό υδρόλυσης των νηματοειδών μικροοργανισμών. Όπως όμως αποδείχτηκε στην παρούσα ερευνητική εργασία στα πλαίσια των εργαστηριακών πειραμάτων το πρόβλημα του αφρισμού παραμένει στη θερμόφιλη χώνευση παρά το υψηλό ποσοστό καταστροφής των νηματοειδών σ' αυτή, καθώς φαίνεται ότι το δυναμικό και η σταθερότητα του αφρισμού είναι συνδυασμένο αποτέλεσμα τόσο της συγκέντρωσης των νηματοειδών όσο και της συγκέντρωσης οργανικών ενώσεων της χωνεμένης ιλύος που δρουν σταθεροποιητικά στον αφρισμό. Μια πιθανή λύση σε αυτό το πρόβλημα είναι η επεξεργασία του δευτεροβάθμιου ακάθαρτου αφρού και των στραγγιδίων ανάντη

των αναερόβιων χωνευτήρων για την καταστροφή ή απενεργοποίηση των νηματοειδών.

Μία τέτοια μέθοδος που έχει μελετηθεί πιλοτικά είναι η θερμική υδρόλυση των *G. amarae*. Η προαναφερθείσα επιστημονική εργασία απέδειξε ότι η θερμική υδρόλυση είναι αποτελεσματική μέθοδος επεξεργασίας του αφρού που επιλεκτικά απομακρύνεται από το δευτεροβάθμιο σύστημα ενεργού ιλύος ώστε να μπορεί να απορριφθεί στις κατάντι διεργασίες επεξεργασίας των στερεών χωρίς να υπάρχει ο φόβος του αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές. Επίσης, η εργασία των Marneri *et al.* (2006) έδειξε ότι η ανακυκλοφορία των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης στη μονάδα προεπεξεργασίας, κατόπιν της εφαρμογής της μεθόδου της θερμικής υδρόλυσης, δεν περιείχε πια σημαντικές συγκεντρώσεις νηματοειδών, γεγονός που θα συντηρούσε και θα επιδείνωνε τα φαινόμενα αφρισμού (Marneri *et al.*, 2006).

7.4. ΝΗΜΑΤΟΕΙΔΕΙΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΣΕ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

Οι επιπτώσεις της υψηλής συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* στα φαινόμενα αφρισμού στην αναερόβια χώνευση διερευνήθηκαν σε εργαστηριακά συστήματα μεσόφιλης και θερμόφιλης αναερόβιας χώνευσης και συσχετίστηκαν με την απόδοση των χωνευτών και με τα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους. Για το σκοπό αυτό αξιολογήθηκε η λειτουργία διαφορετικών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης, μέσω της μελέτης της επίδρασης του χρόνου παραμονής, της θερμοκρασίας και της διαμερισματοποίησης. Πιο συγκεκριμένα εξετάστηκαν τέσσερα συστήματα, ένας μονοβάθμιος μεσόφιλος χωνευτής, ένας μονοβάθμιος θερμόφιλος χωνευτής και δύο διβάθμια συστήματα.

Το ένα διβάθμιο σύστημα αποτελούνταν από ένα πρώτο θερμόφιλο στάδιο με μικρότερο χρόνο παραμονής σε σειρά με δεύτερο μεσόφιλο στάδιο ενώ το δεύτερο διβάθμιο σύστημα αποτελούνταν από δύο μεσόφιλους χωνευτές σε σειρά με ίσους χρόνους παραμονής. Όλα τα συστήματα λειτούργησαν σε 4 διαφορετικούς χρόνους παραμονής, στις 20, 16, 13 και 10 ημέρες.

Η απόδοση των κωνευτών αξιολογήθηκε με βάση την παραγωγή του βιοαερίου, την καταστροφή των πτητικών στερεών και την καταστροφή του ολικού COD, ενώ η σταθερότητα της λειτουργίας τους παρακολούθηθηκε μέσω της σταθερότητας της θερμοκρασίας και του pH, της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και της αλκαλικότητας. Επίσης, εξετάστηκε το φαινόμενο του αφρισμού στους κωνευτές μέσω του δυναμικού και της σταθερότητάς του, ενώ διερευνήθηκε και η συσχέτισή του με τη συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* καθώς και με τη συγκέντρωση του κολλοειδούς COD. Τέλος, εξετάστηκαν τα χαρακτηριστικά της αφυδατωσιμότητας της ιλύος που παράγονταν από κάθε εργαστηριακό σύστημα αναερόβιας χώνευσης.

Όλα τα συστήματα δέχτηκαν οργανική φόρτιση μεταξύ 1,342 έως και 3,020 kg/m³, τιμές τυπικές για συστήματα αναερόβιας χώνευσης. Εξαίρεση αποτέλεσε το πρώτο στάδιο του διβάθμιου θερμόφιλου/ μεσόφιλου συστήματος, το οποίο δέχτηκε υψηλότερες οργανικές φορτίσεις μεταξύ 1,342 και 9,328 kg/m³. Οι συνιστώμενες τιμές οργανικής φόρτισης κυμαίνονται από 3,2 μέχρι 7,2 kgVS/ m³-day, αν και οι τυπικές τιμές στην πράξη είναι μικρότερες και κυμαίνονται από 1 έως 3 kg VS/ m³-day. Γενικώς, οι χαμηλές οργανικές φορτίσεις επηρεάζουν την απόδοση του κωνευτή, μειώνοντας το ρυθμό καταστροφής των πτητικών στερεών και την παραγωγή μεθανίου (USEPA, 1976, Gerardi, 2003, Mahmoud *et al.*, 2004). Από την άλλη υψηλές τιμές, όπως αναφέρει ο Brown (2002) και συγκεκριμένα πάνω από 4,5 kg VS /m³/d¹, ακόμα και αν είναι στην προτεινόμενη περιοχή τιμών, συνήθως οδηγούν σε αφρισμό. Επομένως, δεν αποκλείεται το ενδεχόμενο οι υψηλότερες τιμές φόρτισης στο πρώτο στάδιο του διβάθμιου θερμόφιλου/μεσόφιλου κωνευτή να επιδείνωσε σ' αυτόν τα φαινόμενα αφρισμού.

Την υψηλότερη γενικά απόδοση παρουσίασε το διβάθμιο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα με ανηγμένη παραγωγή βιοαερίου στην περιοχή τιμών 0,92 - 1,08m³/kg καταστροφής πτητικών στερεών (VSR) ενώ τη μικρότερη απόδοση είχε ο μονοβάθμιος θερμόφιλος κωνευτής με τιμές 0,42 - 0,73m³/kg VSR, γεγονός μη αναμενόμενο. Εκ των δύο μεσόφιλων συστημάτων το διβάθμιο είχε υψηλότερη απόδοση, όπως αποδεικνύεται από την καταστροφή των πτητικών στερεών (33,16 - 46,5% έναντι 28,99 - 35%). Το αποτέλεσμα αυτό δε συμφωνεί με την παραγωγή του βιοαερίου εξαιτίας του εγκλωβισμού του λόγω των προβλημάτων αφρισμού εντός των κωνευτών και άρα υποεκτίμηση της παραγωγής του. Αυτό ήταν εμφανές και σε περιόδους που διακοπτόταν η ανάδευση με αποτέλεσμα τη στρωμάτωση εντός του κωνευτή, οπότε στην επιφάνεια αναπτυσσόταν ένα παχύ στρώμα αφρού. Το

στρώμα αυτό αποδείχθηκε ότι εγκλωβίζει το παραγόμενο βιοαέριο εντός του κωνευτή εφόσον με την ανάδευση και διάσπασή του καταγραφόταν παραγωγή βιοαερίου.

Η απόδοση των συστημάτων γενικά βελτιώθηκε με τη μείωση του χρόνου παραμονής, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην αύξηση της οργανικής φόρτισης που δέχονταν. Επίσης, η απόδοση ήταν μεγαλύτερη στα διβάθμια συστήματα και κυρίως στο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα. Το εύρημα αυτό συμφωνεί και με τους Cheunbarn and Pagilla (2004) καθώς και τους Song *et al.* (2004), οι οποίοι αναφέρουν ότι στα διβάθμια συστήματα αναερόβιας χώνευσης τα ποσοστά καταστροφής είναι μεγαλύτερα σε σημαντικό βαθμό απ' ό,τι στους μονοβάθμιους κωνευτές.

Ειδικά, για τους θερμόφιλους κωνευτές φαίνεται ότι υπήρχε περιοριστικός παράγοντας ως προς την απόδοσή τους. Οι Carballa *et al.* (2007) αναφέρουν την αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στις θερμόφιλες συνθήκες και κυρίως τη συσσώρευση του προπιονικού οξέος έναντι του οξικού. Στην παρούσα εργασία η χαμηλή απόδοση του θερμόφιλου κωνευτή ως προς την παραγωγή του βιοαερίου και την καταστροφή των πτητικών στερεών επιβεβαιώνεται και από τις υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων και διαλυτού COD που μετρήθηκαν.

Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων επηρεάστηκε από τις συνθήκες της αναερόβιας χώνευσης και ήταν σημαντικά υψηλότερη στις θερμόφιλες συνθήκες (2.029 - 4.616mg/L) από ότι στις μεσόφιλες (473 - 1.193 mg/L) ενώ μειώνονταν σημαντικά στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων. Τις υψηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων παρουσίασε το πρώτο στάδιο του συστήματος θερμόφιλου/μεσόφιλου, στο οποίο η ανάπτυξη των μεθανογόνων μικροοργανισμών περιορίστηκε περισσότερο εξαιτίας του μικρού χρόνου παραμονής. Η συσσώρευση αυτή, στους μικρότερους χρόνους παραμονής είχε σαν αποτέλεσμα την πτώση του pH. Ωστόσο, στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο του συστήματος η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων μειώθηκε σημαντικά υποδεικνύοντας ισορροπία παραγωγής και κατανάλωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και άρα ικανοποιητική ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με άλλες βιβλιογραφικές αναφορές που αναφέρουν ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατήρησαν αύξηση των συγκεντρώσεων οξικού και κυρίως προπιονικού οξέος (Reusser *et al.*, 2004, Gray *et al.*, 2006).

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων ήταν σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του διαλυτού COD ενισχύοντας την υπόθεση της αναχαίτισης της μεθανογόνου δράσης στους θερμοφίλους χωνευτές και άρα τη συσσώρευση των πτητικών λιπαρών οξέων. Το διαλυτό COD παρουσίασε υψηλότερες συγκεντρώσεις στους θερμοφίλους χωνευτές, ενώ στα δεύτερα μεσόφιλα στάδια των διβάθμιων συστημάτων μειώθηκε σημαντικά, όπως και στη μονοβάθμια μεσόφιλη χώνευση. Η αυξημένη συγκέντρωση του διαλυτού COD σε συνδυασμό με τη χαμηλή συγκέντρωση σωματιδιακού COD στους θερμοφίλους χωνευτές υποδηλώνει ότι το στάδιο της υδρόλυσης των σύνθετων οργανικών ενώσεων σε διαλυτές και το στάδιο της παραγωγής οξέων πραγματοποιούνται με γρηγορότερο ρυθμό από το στάδιο της μεθανογένεσης με αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων και αναχαίτιση της μεθανογένεσης. Έτσι, σε θερμοφίλες συνθήκες φαίνεται ότι ασκήθηκε μεγαλύτερη πίεση στα μεθανογόνα βακτήρια με αποτέλεσμα τη μη ικανοποιητική ανάπτυξή τους και τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Η αυξημένη τιμή του διαλυτού COD, εξάλλου, συσχετίστηκε και με τη χαμηλότερη παραγωγή βιοαερίου προς τη καταστροφή πτητικών στερεών που γενικά παρατηρήθηκε στα θερμοφιλα συστήματα.

Εξάλλου, οι δύο θερμοφιλοι χωνευτές παρουσίασαν και το μικρότερο ποσοστό κολλοειδών ουσιών υψηλού μοριακού βάρους, ενώ είχαν το μεγαλύτερο ποσοστό διαλυτού COD, υποδεικνύοντας έτσι τη συσσώρευση του διαλυτού COD. Το γεγονός αυτό ενισχύει την υπόθεση της αναχαίτισης της μεθανογόνου δράσης στις θερμοφίλες συνθήκες που φαίνεται ότι προκαλείται από την αυξημένη δράση των οξεοπαραγωγών σε σχέση με τα μεθανογόνα βακτήρια και συμφωνεί με τα αποτελέσματα της συσσώρευσης των πτητικών λιπαρών οξέων στα θερμοφιλα συστήματα.

Επίσης, από την κλασματοποίηση του COD παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των μονοβάθμιων και των διβάθμιων συστημάτων. Πιο συγκεκριμένα, στο δεύτερο στάδιο των διβάθμιων συστημάτων το ποσοστό κολλοειδούς COD υψηλού μοριακού βάρους σε σχέση με το διαλυτό COD ήταν υψηλότερο, καταδεικνύοντας ισορροπία μεταξύ της διαλυτοποίησης του COD και της κατανάλωσης του τελικά από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την άποψη ότι η διαμερισματοποίηση των χωνευτών ευνοεί την ανάπτυξη διαφορετικών ομάδων μικροοργανισμών.

Όσον αφορά στα χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας ήταν παρόμοια για τις παραγόμενες ιλύες από όλα τα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης.

Στις θερμοφιλικές συνθήκες παρατηρήθηκε επιδείνωση των χαρακτηριστικών αφυδατωσιμότητας. Η επιδείνωση αυτή των χαρακτηριστικών της αφυδατωσιμότητας σε θερμοφιλικές συνθήκες επιβεβαιώνεται και από άλλους ερευνητές. Βιβλιογραφικές πηγές αναφέρουν ότι η αυξημένη κολλοειδής πρωτεΐνη και οι διαλυμένοι πολυσακχαρίτες που παράγονται κατά τη θερμοφιλή χώνευση είναι αυτοί που δυσκολεύουν την αφυδατωσιμότητα (Novak και Bivins, 2000, Reusser *et al.*, 2004). Αν θεωρήσουμε ότι οι προαναφερθείσες ενώσεις μετρούνται στο κολλοειδές COD υψηλού μοριακού βάρους, τότε η παρούσα εργασία συμφωνεί με την προαναφερθείσα βιβλιογραφία, εφόσον οι συγκεντρώσεις του κολλοειδούς COD υψηλού μοριακού είχαν σημαντικά υψηλότερη τιμή στους θερμοφίλους χωνευτές απ' ό,τι στους μεσόφιλους. Βεβαίως, σημειώνεται ότι τα αποτελέσματα προσδιορισμού της αφυδατωσιμότητας αντιστοιχούν σε δείγματα ιλύων, στα οποία δεν είχε προστεθεί πολυηλεκτρολύτης και κατά συνέπεια δεν αποδίδουν πλήρως τις δυνατότητες αφυδάτωσης των παραγόμενων ιλύων. Υπάρχει το ενδεχόμενο τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων ιλύων να βελτιώνονται με προσθήκη πολυηλεκτρολύτη.

Γενικώς, οι θερμοφιλοί χωνευτές παρουσίασαν ασταθή απόδοση και προβληματική λειτουργία, γεγονός που έχει αναφερθεί και αλλού στη βιβλιογραφία (Rimkus *et al.*, 1982, Roberts *et al.*, 1999, Roberts *et al.*, 1998, Reusser and Zelinka, 2004). Μία υπόθεση ως προς την αιτία της ασταθούς λειτουργίας και μειωμένης απόδοσης μπορεί να είναι η έλλειψη ιχνοστοιχείων και ειδικότερα σιδήρου, ο οποίος σύμφωνα με τη βιβλιογραφία απαιτείται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στους θερμοφίλους χωνευτές προκειμένου να εκκινήσει η μεθανογένεση. Πιο συγκεκριμένα, οι Takashima and Shimada αναφέρουν ότι οι θερμοφιλοί χωνευτές απαιτούν δεκαπλάσια ποσότητα ιχνοστοιχείων συγκρινόμενοι με τους μεσόφιλους (Takashima and Shimada, 2004). Επίσης, οι Zitomer *et al.* εξέτασαν την προσθήκη σιδήρου στους θερμοφίλους χωνευτές προκειμένου να βελτιώσουν την απόδοσή τους με θετικά αποτελέσματα (Zitomer *et al.*, 2008).

Σε κάθε περίπτωση και παρά τη λειτουργική τους αστάθεια, οι θερμοφιλοί χωνευτές πέτυχαν στατιστικά υψηλότερα ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών (δοκιμή Student σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05), αναλογικά με το χρόνο παραμονής τους. Πιο συγκεκριμένα, οι μέσοι όροι των ποσοστών καταστροφής στις αναερόβιες θερμοφιλικές συνθήκες για τους νηματοειδείς *M. parvicella* και *G. amarae* ήταν αντίστοιχα 77,9% με 97,3%. Αντιστοίχως στις μεσόφιλες αναερόβιες συνθήκες τα ποσοστά καταστροφής ήταν 50,0% - 80,0%.

Για τον έλεγχο της ισότητας των μέσων όρων της καταστροφής των νηματοειδών *G. amarae* έγιναν έλεγχοι Student. Πιο συγκεκριμένα, έγινε έλεγχος της υπόθεσης ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 και άρα οι μέσοι όροι είναι ίσοι:

- για τα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης
- για τους διαφορετικούς χρόνους παραμονής και
- για τους δύο μικροοργανισμούς.

Από τους έλεγχους Student προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Οι μέσοι όροι της καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5%, μεταξύ των *G. amarae* και *M. parvicella* στα ίδια εργαστηριακά σύστημα αναερόβιας χώνευσης και για τους ίδιους χρόνους παραμονής.
- Σε όλους τους χρόνους παραμονής οι μέσοι όροι της καταστροφής των θερμοφίλων χωνευτών ήταν στατιστικά μεγαλύτεροι στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 5% από αυτούς των μεσόφιλων χωνευτών για τα βακτήρια *G. amarae* και *M. parvicella*. Οι μέσοι όροι της καταστροφής των δύο μεσόφιλων συστημάτων δεν είχαν στατιστική διαφορά στο επίπεδο σημαντικότητας 5% στους υψηλούς χρόνους παραμονής των 20 και 16 ημερών. Αντιθέτως, στους μικρότερους χρόνους παραμονής το διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα παρουσίασε υψηλότερους μέσους όρους καταστροφής από ότι το μονοβάθμιο. Όσον αφορά στα θερμοφιλα συστήματα, ο μονοβάθμιος θερμοφίλος χωνευτής επέτυχε στατιστικά υψηλότερους βαθμούς καταστροφής συγκριτικά με το διβάθμιο θερμοφιλο/ μεσόφιλο σύστημα σε όλους τους χρόνους παραμονής.
- Όσον αφορά στους μέσους όρους της καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* που επιτεύχθηκαν στο μονοβάθμιο μεσόφιλο χωνευτή, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του χρόνου παραμονής των 20 ημερών και των υπολοίπων μικρότερων χρόνων παραμονής. Παρομοίως, οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων στις 16 ημέρες ήταν στατιστικά υψηλότεροι από τους χρόνους παραμονής των 13 και 10 ημερών. Τέλος, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας 95% μεταξύ των μέσων όρων στις 13 και 10 ημέρες.

Αντιθέτως, οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* που επιτεύχθηκαν στο μονοβάθμιο θερμόφιλο χωνευτή, δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά στο επίπεδο σημαντικότητας 95% για τους χρόνους παραμονής 20, 16 και 13 ημερών. Μόνο οι μέσοι όροι καταστροφής που επιτεύχθηκαν σε χρόνο παραμονής 10 ημερών βρέθηκαν στατιστικά μικρότεροι.

Όσον αφορά στο διβάθμιο θερμόφιλο/μεσόφιλο σύστημα οι μέσοι όροι καταστροφής των χρόνων παραμονής 20 και 16 ημερών δε βρέθηκαν στατιστικά διαφορετικοί στο επίπεδο σημαντικότητας 95%. Αντιθέτως, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά με τους μικρότερους χρόνους παραμονής, υπέρ των υψηλότερων.

Τέλος, όσον αφορά στο διβάθμιο μεσόφιλο σύστημα οι μέσοι όροι καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* βρέθηκαν στατιστικά μεγαλύτεροι στους υψηλότερους χρόνους παραμονής.

Σύμφωνα λοιπόν με τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η θερμόφιλη αναερόβια χώνευση ή συνδυασμός θερμόφιλης - μεσόφιλης χώνευσης οδηγεί σε μεγαλύτερη καταστροφή των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae*.

Πρέπει ωστόσο να υπογραμμιστεί ότι παρόλο που οι θερμόφιλες αναερόβιες συνθήκες πέτυχαν υψηλότερα ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών, ωστόσο δε βελτίωσαν τα χαρακτηριστικά αφρισμού της χωνεμένης ιλύος σημαντικά. Προφανώς, το δυναμικό και η σταθερότητα του αφρισμού είναι συνδυασμένο αποτέλεσμα τόσο της συγκέντρωσης των νηματοειδών όσο και της συγκέντρωσης οργανικών ενώσεων της χωνεμένης ιλύος που δρουν σταθεροποιητικά στον αφρισμό. Από τη μία πλευρά, η συγκέντρωση των νηματοειδών είναι υψηλότερη στους μεσόφιλους χωνευτές, όπως εκτιμήθηκε με τη FISH ενώ από την άλλη, η συγκέντρωση των ενώσεων που σταθεροποιούν τον αφρισμό είναι υψηλότερη στους θερμόφιλους χωνευτές όπως μελετήθηκε μέσω της συγκέντρωσης του κολλοειδούς COD, πιθανώς εξαιτίας του μεγαλύτερου βαθμού υδρόλυσης της οργανικής ύλης (Kugelman and Guida, 1989, Rimkus *et al.*, 1982, Reusser and Zelinka, 2004). Επίσης, ο μεγαλύτερος βαθμός καταστροφής των νηματοειδών που επιτεύχθηκε στους θερμόφιλους χωνευτές μπορεί να οδήγησε σε αύξηση των κολλοειδών υδροφοβικών ενώσεων όπως το μυκολικό οξύ ενισχύοντας κατά τον τρόπο αυτό το δυναμικό αφρισμού.

Μόνο η εφαρμογή του διβάθμιου θερμόφιλου / μεσόφιλου συστήματος μείωσε σημαντικά το δυναμικό και τη σταθερότητα του αφρισμού ενώ ταυτόχρονα οδήγησε σε μεγάλη καταστροφή των νηματοειδών. Επομένως, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι τα διβάθμια θερμόφιλα/ μεσόφιλα συστήματα μπορούν και να ελαχιστοποιήσουν τα φαινόμενα αφρισμού και να πετύχουν υψηλή καταστροφή νηματοειδών, με άμεση συνέπεια τη μείωση της συγκέντρωσης των νηματοειδών στα στραγγίδια που ανακυκλοφορούνται από τις διεργασίες της πάχυνσης/ αφυδάτωσης στο σύστημα ενεργού ιλύος.

Τέλος, προκειμένου να προσεγγιστεί η κινητική φθοράς των νηματοειδών *M. parvicella* και *G. amarae* πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι διαλείποντος έργου στους εργαστηριακούς χωνευτές σε μεσόφιλες και θερμόφιλες συνθήκες. Βρέθηκε καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων των πειραμάτων διαλείποντος και αυτών της συνεχούς ροής. Η κινητική φθοράς των νηματοειδών αποδείχτηκε ότι ήταν πρώτης τάξης με συντελεστή 0,11 - 0,12 στις μεσόφιλες συνθήκες και 1,09 - 1,04 στις θερμόφιλες συνθήκες για τους *G. amarae* και *M. parvicella* αντίστοιχα.

Ο συντελεστής φθοράς που υπολογίστηκε για το μικροοργανισμό *G. amarae* σε μεσόφιλες συνθήκες είναι μεγαλύτερος από την τιμή που υπολογίστηκε σε μονοβάθμια μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης από τους Hernandez και Jenkins (1994) για το μικροοργανισμό *G. amarae*, η οποία βρέθηκε ίση με $0,020 \text{ d}^{-1}$. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* στην εν λόγω εργασία (FISH) και στην εργασία των Hernandez και Jenkins (1994), η οποία υπερεκτιμά τις συγκεντρώσεις των νηματοειδών βακτηρίων (de los Reyes *et al.*, 1998).

Συνοψίζοντας, το βέλτιστο σύστημα αναερόβιας χώνευσης μεταξύ των δύο μονοβάθμιων και των δύο διβάθμιων συστημάτων που εξετάστηκαν στην παρούσα ερευνητική εργασία αποδείχτηκε το διβάθμιο θερμόφιλο/ μεσόφιλο σύστημα, το οποίο παρουσίασε υψηλή απόδοση, σταθερή λειτουργία και καλά χαρακτηριστικά χωνεμένης ιλύος. Ταυτόχρονα, πέτυχε υψηλή καταστροφή νηματοειδών σε συνδυασμό με μείωση του δυναμικού και της σταθερότητας του αφρισμού στο δεύτερο μεσόφιλο στάδιο.

Έτσι, η εφαρμογή ενός διβάθμιου θερμόφιλου/ μεσόφιλου συστήματος συνεπάγεται καταρχήν αυξημένη παραγωγή βιοαερίου που εν μέρει εξισορροπεί τις αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις του πρώτου θερμόφιλου σταδίου. Επίσης, το πρώτο

θερμόφιλο στάδιο λόγω του μικρότερου χρόνου παραμονής απαιτεί χωνευτή μικρού όγκου. Κατά δεύτερον, συνεπάγεται ομαλή λειτουργία που εξασφαλίζεται κυρίως από το δεύτερο μεσόφιλο στάδιο που δρα ρυθμιστικά στη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης. Επίσης, η χωνεμένη ιλύς είναι επαρκώς σταθεροποιημένη λόγω του υψηλού ποσοστού καταστροφής των πτητικών στερεών αλλά και με καλά χαρακτηριστικά αφυδατωσιμότητας. Τέλος, λόγω της υψηλής καταστροφής νηματοειδών που επιτυγχάνεται στο διβάθμιο σύστημα της χώνευσης, τα στραγγίδια που προκύπτουν στις κατάντι διεργασίες της αφυδάτωσης περιέχουν χαμηλή συγκέντρωση βιώσιμων νηματοειδών ώστε να αποτρέπονται οι συνθήκες συνεχούς επανατροφοδότησης του συστήματος ενεργού ιλύος με νηματοειδείς.

7.5. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ

Στα πλαίσια της παρούσας ερευνητικής εργασίας ανέκυψαν ερωτήματα, τα οποία χρήζουν διεξοδικότερης διερεύνησης. Όσον αφορά στα αποτελέσματα των δειγματοληψιών των ΕΕΛ πλήρους κλίμακας διαπιστώθηκαν σημαντικές ροές μάζας των υπό εξέταση νηματοειδών στην έξοδο της πρωτοβάθμιας καθίζησης, οι οποίες ήταν μεγαλύτερες από τις επιτροφές των στραγγιδίων στην είσοδό της. Αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω, η υπόθεση της ανάπτυξης των νηματοειδών βακτηρίων στην πρωτοβάθμια καθίζηση λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης λιπών σ' αυτή ή/και της εισόδου των νηματοειδών βακτηρίων με τα εισερχόμενα λύματα σε μια ΕΕΛ.

Επίσης, από τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών από τις ΕΕΛ πλήρους κλίμακας, διαπιστώθηκε η ενίσχυση και η σταθεροποίηση των προβλημάτων νηματοειδούς αφρισμού λόγω της παγίδευσης του αφρού στη δευτεροβάθμια επεξεργασία και λόγω της ανακυκλοφορίας των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης που επανατροφοδοτούν τα συστήματα ενεργού ιλύος των ΕΕΛ με νηματοειδείς μικροοργανισμούς. Επομένως, η επιλεκτική απομάκρυνση του αφρού και η χωριστή επεξεργασία του με τα στραγγίδια θα περιόριζε τον εμβολιασμό του συστήματος ενεργού ιλύος με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς. Η αποτελεσματικότητα εναλλακτικών μεθόδων επεξεργασίας θα μπορούσε να αποτελέσει αντικείμενο μελλοντικής έρευνας.

Μία τέτοια μέθοδος που έχει μελετηθεί πιλοτικά είναι η θερμική υδρόλυση των *G. amarae* Marneri *et al.* (2006). Η προαναφερθείσα επιστημονική εργασία απέδειξε ότι η θερμική υδρόλυση είναι αποτελεσματική μέθοδος επεξεργασίας του αφρού που επιλεκτικά απομακρύνεται από το δευτεροβάθμιο σύστημα ενεργού ιλύος ώστε να μπορεί να απορριφθεί στις κατάντι διεργασίες επεξεργασίας των στερεών χωρίς να υπάρχει ο φόβος του αφρισμού στους αναερόβιους χωνευτές. Επίσης, οι συγγραφείς έδειξαν ότι η ανακυκλοφορία των στραγγιδίων από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης στη μονάδα προεπεξεργασίας, κατόπιν της εφαρμογής της μεθόδου της θερμικής υδρόλυσης, δεν περιείχε πια σημαντικές συγκεντρώσεις νηματοειδών. Η εν λόγω μέθοδος ωστόσο παρουσιάζει σημαντικά κόστη επένδυσης και λειτουργίας και δε μπορεί να εφαρμοστεί σε ΕΕΛ μικρής δυναμικότητας. Επομένως, άλλες εναλλακτικές θερμικές μέθοδοι θα μπορούσαν να διερευνηθούν για τη χωριστή επεξεργασία του νηματοειδούς αφρού κατόπιν της επιλεκτικής απομάκρυνσής του από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία.

Όσον αφορά στα εργαστηριακής κλίμακας πειράματα αναερόβιας χώνευσης, οι θερμοφίλοι χωνευτές παρουσίασαν ασταθή απόδοση και προβληματική λειτουργία, γεγονός που έχει αναφερθεί και αλλού στη βιβλιογραφία (Rimkus *et al.*, 1982, Roberts *et al.*, 1999, Roberts *et al.*, 1998, Reusser and Zelinka, 2004). Περαιτέρω διερεύνησης χρήζει η υπόθεση της έλλειψη ιχνοστοιχείων και ειδικότερα σιδήρου, ο οποίος σύμφωνα με τη βιβλιογραφία απαιτείται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στους θερμοφίλους χωνευτές προκειμένου να εκκινήσει η μεθανογένεση (Takashima and Shimada, 2004).

Πρώτα αποτελέσματα από τη διερεύνηση αυτής της υπόθεσης στο ΕΥΤ έδειξαν ότι η χρήση του σιδήρου αύξησε την παραγωγή βιοαερίου καθώς και το ποσοστό καταστροφής των πτητικών στερεών σε θερμοφίλο αναερόβιο χωνευτή με χρόνο παραμονής 15 ημερών. Ομοίως, η καταστροφή του COD ήταν υψηλότερη στο θερμοφίλο χωνευτή, στον οποίο προστέθηκε σίδηρος πιθανότατα χάρη στη μεγαλύτερη ταχύτητα διάσπασης των πτητικών λιπαρών οξέων. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις των διαφόρων κλασμάτων του COD που υπολογίστηκαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων προσθήκης σιδήρου επιβεβαίωσαν την υπόθεση αναχαίτισης της μεθανογένεσης. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση όλων των κλασμάτων του COD και κυρίως του κολλοειδούς COD χαμηλού MB και του διαλυτού COD στα συστήματα που προστέθηκε σίδηρος. Ο σίδηρος, ως βασικό συστατικό αρκετών βακτηριακών ενζύμων, φαίνεται να ευνοεί την υδρόλυση των μεγαλομοριακών οργανικών ενώσεων καθώς και τη μεθανογένεση. Σε συμφωνία με

τα παραπάνω αποτελέσματα, η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων μειώθηκε σημαντικά (26%) στο θερμοφιλο χωνευτή στον οποίο προστέθηκε τριχλωριούχος σίδηρος. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με άλλες βιβλιογραφικές πηγές που αναφέρουν μείωση των πτητικών λιπαρών οξέων σε θερμοφιλικά συστήματα με την προσθήκη θρεπτικών συστατικών (σιδήρου, κοβαλτίου και νικελίου) (Kim et al., 2002, Zitomer et al., 2008). Η έρευνα στο EYT θα μπορούσε να στραφεί στην κατεύθυνση της εύρεσης της βέλτιστης δόσης, της δοκιμής και εναλλακτικών θρεπτικών και τέλος της διερεύνησης των μηχανισμών δράσης των θρεπτικών.

Τέλος, περαιτέρω διερεύνησης χρήζει η κινητική φθοράς των υπό εξέταση νηματοειδών μικροοργανισμών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι συντελεστές φθοράς που υπολογίστηκαν σε αναερόβιες συνθήκες στην παρούσα εργασία είναι παρόμοιοι με αυτούς που υπολογίστηκαν αλλού (Noutsopoulos *et al.*, 2007) σε αερόβιες συνθήκες με συμβατικές μεθόδους. Η επιβίωση των νηματοειδών βακτηρίων *G. amarae* και *M. parvicella* σε σημαντικά ποσοστά σε αναερόβιες συνθήκες έχει διαπιστωθεί και από άλλους ερευνητές (αντίστοιχα Hernandez και Jenkins, 1994 και Andreassen και Nielsen, 2000).

Μελλοντικά θα ήταν σκόπιμο να υπολογισθούν ο ρυθμός θανάτου των ζωντανών βακτηρίων καθώς και ο ρυθμός υδρόλυσης των νεκρών βακτηρίων υπό διαφορετικές συνθήκες με τη χρήση μοριακών μεθόδων όπως η FISH και η DAPI και να συσχετισθούν με το ρυθμό φθοράς που υπολογίζεται μέσω των συμβατικών μεθόδων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ανδρεαδάκης Α.Δ, 1986. Ανδρεαδάκης Α.Δ., *Εγκαταστάσεις επεξεργασίας και διάθεσης αστικών αποβλήτων*. Ε.Μ.Π., σελ. 8-1 έως 8-60, (1986).

Ανδρεαδάκης Α.Δ, 1996. Ανδρεαδάκης Α.Δ., Σύστημα αιωρούμενης βιομάζας. *Σεμινάριο: Σχεδιασμός και λειτουργία εγκαταστάσεων επεξεργασίας και διάθεσης λυμάτων*, 13 και 14 Ιουνίου 1996, Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου, Ε.Μ.Π., Γ.Γ.Ε.Τ., σελ. 71-84, (1996).

Νουτσόπουλος, 2002. *Επίδραση εναλλακτικών σχημάτων επεξεργασίας στα χαρακτηριστικά καθίζησης συστημάτων ενεργού ιλύος με απομάκρυνση θρεπτικών*. Διδακτορική Διατριβή, Ε.Μ.Π., (2002).

Φουντουλάκης, 2005. Φουντουλάκης Μ., «Τύχη και Επίδραση Ξενοβιοτικών Ουσιών στην Αναερόβια Χώνευση Υγρών Αποβλήτων και Ιλύος», *Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών*, (2005).

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ahn *et al.*, 2002. Ahn J. and Forster C., A Comparison of Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Upflow Filters Treating Paper-Pulp-Liquors, *Process Biochemistry*, Vol. 38, pp. 257-262, (2002).

Ahn *et al.*, 2000. Ahn J. and Forster C., Kinetic Analyses of the Operation of Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Filters Treating a Simulated Starch Wastewater, *Process Biochemistry*, Vol. 36, pp. 19-23, (2000).

Ahring, 1994. Ahring B. K., Status on science and application of thermophilic anaerobic digestion, *Water Sci. Technol.* 30, 241-249 (1994).

Aitken *et al.*, 2005. Aitken M., Walters G., Crunk P., Willis J., Farrell J., Schafer P., Arnett G. and Turner B., Laboratory Evaluation of Thermophilic - Anaerobic Digestion to Produce Class A Biosolids. 1. Stabilization Performance of a Continuous

- Flow Reactor at Low Residence Time, *Water Environment Research*, Vol. 77, pp. 3019-3027, (2005).

Albertson, 1987. Albertson O. E., The control of bulking sludge: from the early innovators to current practice. *Journal. WPCF*, Vol. 59, No 4, pp. 172-182, (1987).

Anonymous, 1969. Milwaukee mystery: Unusual operating problems develop. *Water and Sewage Works*, 119, (6), 213.

APHA, 1992. AWWA, WEF, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th edition, Washington, DC (1992).

Andreadakis et al., 1999. Mamais D., Noutsopoulos C. and Gavalaki E.. The problem of bulking sludge in Greek wastewater treatment plants. *Proceedings of the 6th International. Conference on Environmental. Science and Technology*, Samos, pp. 218-225, (1999).

Andreasen et al., 1997. Andreasen k., Nielsen P. H., Application of Microautoradiography to the Study of Substrate Uptake by Filamentous in Activated Sludge, *Applied and Environmental Microbiology* 63(9), 3662-2668, (1997).

Andreasen and Nielsen, 2000. Andreasen K., and Nielsen P. H., Growth on *Microthrix Parvcella* in Nutrient Removal Activated Sludge Plants: Studies on *In Situ* Physiology, *Water Research* 34(5), 1559-1569, (2000).

Benabdallah El-Hadj et al., 2007. Benabdallah El-Hadj T., Dosta J., Marquez-Serrano R. and Mata-Alvarez J., Effect of Ultrasound Pretreatment in Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Digestion with Emphasis on Naphthalene and Pyrene Removal, *Water Research*, Vol. 41, pp. 87-94, (2007).

Bivins and Novak, 2001. Bivins JL and Novak JT, Changes in dewatering properties between the thermophilic and mesophilic stages in temperature-phased anaerobic digestion systems, *Water Environ. Res.* 73, 444-449 (2001).

Blackbeard et al., 1988. Blackbeard J.R., Gabb D.M.D., Ekama G.A. and Marais G.R., Identification of filamentous organisms in nutrient removal activated sludge plants in South Africa. *Water SA*, Vol. 14, No 1, pp. 29-33, (1988).

Blackall et al., 1989. Blackall L. L., Tandoi V., Jenkins D., The physiology of *Nocardia amarae* isolated from foaming activated sludge, Australian Water and Wastewater Association, 13th Federal Convention 461-464, (1989).

Blackall et al., 1994. Blackall L. L., Seviour E. M., Cunningham M. A., Seviour R. J., Hugenholtz P., “*Microthrix parvicella*” is a Novel Deep Branching Member of the Actinomyces Subphylum, *Systematic Applied Microbiology*, 17, 513-518, (1994).

Blackall et al., 1996. Blackall L. L., Stratton H., Bradford D., Del Dot T., Sjörup C., Seviour E. M., Seviour R. J., “*Candidatus Microthrix parvicella*,” a Filamentous Bacterium from Activated Sludge Sewage Treatment Plants, *International Journal of Systematic Bacteriology* 46, 344-346, (1996).

Bjornsson et al., 2000. Bjornsson L., Murto M., Jantsch T. and Mattiasson B., Evaluation of New Methods for the Monitoring of Alkalinity. Dissolved Hydrogen and the Microbial Community in Anaerobic Digestion, *Water Research*, Vol. 35, pp. 2833-2840, (2000).

Buhr et al., 1977. Buhr H. and Andrews J., Review Paper: The Thermophilic Anaerobic Digestion Process, *Water Research*, Vol. 11, pp. 129-143, (1976).

Carballa et al., 2007. Carballa M., Omil F., Ternes T. and Lema J., Fate of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) During Anaerobic Digestion of Sewage Sludge, *Water Research*, Vol. 41, pp. 2139-2150, (2007).

Carr et al., 2005. Carr E. L., Eales K., Soddell J., Seviour R.J., Improved permeabilization protocols for fluorescence in situ hybridization (FISH) of mycolic-acid-containing bacteria found in foams, *Journal of Microbiological Methods* Vol. 61, pp.47-54, (2005).

Casey et al. , 1992. Casey T. G., Ekama A., Wentzel M.C. and Marais G. v. R., Causes and control of filamentous bulking in nutrient removal activated sludge systems. *Two-day Workshop on Prevention and Control of Bulking Activated Sludge*, Perugia, Italy, (1992).

Cech and Chudoba, 1983. Cech J. S. and Chudoba J., Influence of accumulation capacity of activated sludge microorganisms on kinetics of glucose removal. *Wat. Res., No 17*, pp. 659-666, (1983).

Chang et al., 2001. Chang, G. R., J. C. Liu and D. J. Lee, Co-conditioning and dewatering of chemical sludge and waste activated sludge, *Wat. Res.* 35, 786-794 (2001).

Cheunbarn and Pagilla, 2000. Cheunbarn T. and Pagilla K. R., Anaerobic Thermophilic/Mesophilic Dual-Stage Sludge Treatment, *J. Environ. Eng.* 126, 796-801 (2000).

Chudoba et al., 1973. Chudoba J., Ottova V. and Madra V., Control of activated sludge filamentous bulking- I. Effect of the hydraulic regime of degree of mixing in an aeration tank. *Wat. Res.*, Vol. 7, pp. 1163-1182, (1973).

Connery et al., 2004. Studies of *Microthrix parvicella* in situ and in laboratory culture: production and use of specific antibodies, *Water Science and Technology* 46(1-2), 115-118, (2004).

Christensen and Dick, 1985. G. Lee Christensen and Richard I., Dick Specific Resistance Measurements: Nonparabolic Data, *Journal of Environmental Engineering*, Vol. 111, No. 3, pp. 243-257, (1985).

Cuetos et al., 2006. Cuetos M., Gomez X., Otero M. and Moran A., Anaerobic Digestion of Solid Slaughterhouse Waste (SHW) at Laboratory Scale: Influence of co-Digestion with the Organic Fraction of Municipal Solid Waste (OFMSW), *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 40, pp.99-106, (2006).

Davenport et al., 2000. Davenport R. J., Curtis T. P., Goodfellow M., Stainsby F. M., Bingley M., Quantitative Use of Fluorescent In Situ Hybridization To Examine Relationships between Mycolic Acid-Containing Actinomycetes and Foaming in Activated Sludge Plants, *Applied and Environmental Engineering*, Vol. 66, No. 3, pp. 1158-1166, (2000).

De los Reyes et al., 1998. De los Reyes F.L., Oerther D.B., de los Reyes Ma. F., Hernandez M., Raskin L.,. Characterization of Filamentous Foaming in Activated Sludge Systems Using Oligonucleotide Hybridization Probes and Antibody Probes, *Water Sci. Technol.* 37, 485-493 (1998).

De los Reyes et al., 1998. De Los Reyes F. M., De Los Reyes III F. L., Hernandez M. and Raskin L., Quantification of *Gordona amarae* Strains in Foaming Activated Sludge and Anaerobic Digester Systems with Oligonucleotide Hybridization Probes, *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2503-2512 (1998).

De los Reyes et al., 2002. De los Reyes III F.L., Raskin L., Role of Filamentous Microorganisms in Activated Sludge Foaming: Relationship of Mycolata Levels to Foaming Initiation and Stability, *Water Research* 36, 445-459, (2002).

De los Reyes III et al., 2002. De los Reyes III F. L., Rothauszky D., Raskin L., Microbial Community Structure in Foaming and Nonfoaming Full-Scale Wastewater Treatment Plants, *Water Environment Research*, 74(5), 437-449, (2002).

De Los Reyes et al., 1997. Group-Specific Small-Subunit rRNA Hybridization Probes to Characterize Filamentous Foaming in Activated Sludge Systems, *Applied and Environmental Microbiology* 63(3), 1107-1117, (1997).

Dionisi et al., 2001. Dionisi D., Levantesi, V. Renyi, Tandoi V. and Majone M., PHA storage from several substrates by different morphological studies in an anoxic/aerobic SBR. *Proceedings of the 3rd IWA International. Specialized Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes*, June 2001, Rome.

Eikelboom, 2001. Eikelboom D.H., *Process control of activated sludge plants by microscopic investigation*. 1st Edition, IWA Publishing, UK, (2000).

Eikelboom et al., 1998. Eikelboom D.H., Andreadakis A. and Andreasen K., Survey of filamentous populations in nutrient removal plants in four European countries. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 37, No 4-5, pp. 281-289, (1998).

Eikelboom and van Buijsen, 1981. Eikelboom D.H. and van Buijsen H.J.J.. Microscopic sludge investigation manual. *Delft: IMG-TNO, Report A94a*, (1981).

Ekama et al., 1996. Ekama G. A., Wentzel M. C., Casey T. G. and Marais G.v.R.. Filamentous organism bulking in nutrient removal activated sludge systems. Paper 3: Stimulation of the selector effect under anoxic conditions. *Water SA*, Vol. 22, No 2, pp. 119-126, (1996).

Elefsiniotis et al., 1994. Elefsiniotis P. and Oldham W., Influence of pH on the Acid-Phase Anaerobic Digestion of Primary Sludge, *Journal Chemistry Technology Biotechnology*, Vol. 60, pp. 89-96, (1993).

Erhart et al., 1997. Erhart R., Bradford D., Seviour R. J., Amann R. Blackall L. L., Development and Use of Fluorescent *In Situ* Hybridization Probes for the Detection and Identification of "*Microthrix parvicella*" in Activated Sludge, *Syst. Appl. Microbiol.* 20, 310-318 (1997).

European Environment Agency, 1999. European Environment Agency, Sludge treatment and disposal - management approaches and experiences. Environmental issue report, UEPA-2/R/2-7 (1999).

Ferrer *et al.*, 2008. Ferrer I., Ponsa S., Vazquez F. and Font X., Increasing Biogas Production by Thermal (70°) Sludge Pre-Treatment prior to Thermophilic Anaerobic Digestion, *Biochemical Engineering Journal*, (2008).

Forster-Carneiro *et al.*, 2007. Forster-Carneiro T., Perez M. and Romero L., Thermophilic Anaerobic Digestion of Source-Sorted Organic Fraction of Municipal Solid Waste, *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp. 6763-6770, (2007).

Frigon *et al.*, 2006. Frigon D., Guthrie M., Bachman T., Royer J., Bailey B. and Raskin L. Long-term analysis of a full-scale activated sludge wastewater treatment system exhibiting seasonal biological foaming, *Water Research*, Vol. 40 (5), pp. 990-1008, (2006).

Gabb *et al.*, 1991. Gabb D. M. D., Still D.A., Ekama G.A., Jenkins D. and Marais G. v. R.. The selector effect on filamentous bulking in long sludge age activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 23, pp. 867-877, (1991).

Ganidi *et al.*, 2009. Ganidi, N., Tyrrel, S.F., Cartmell, E. Anaerobic Digestion Foaming, Causes and Control: a review. *Bioresource Technology*, Vol. 100 (23), pp. 5546-5555, (2009).

Garber, 1982. Garber W. F.. Operating experience with thermophilic anaerobic digestion. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, Vol. 54, p. 1170, (1982).

Gavalla *et al.*, 2003. Gavala H., Yenal U., Skiadas I., Westermann P. and Ahring B., Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Digestion of Primary and Secondary Sludge. Effect of Pre-Treatment at Elevated Temperature, *Water Research*, Vol. 37, pp.4561-4572, (2002).

Gerardi M., 2003. Gerardi M., “The Microbiology of Anaerobic Digesters”, *Wastewater Microbiology Series*, (2003).

Gray *et al.*, 2006. Gray D., Hake J. and Ghosh S., Influence of Staging, Mean Cell Residence Time, and Thermophilic Temperature on the Thermophilic Anaerobic Digestion Process, *Water Environment Research*, Vol. 78, pp.497-509, (2006).

Goodfellow *et al.*, 1994. Goodfellow M., Chun J., Stubbs S., Tobili A., Transfer Of *Nocardia-Amarae* Lechevalier And Lechevalier 1974 To The Genus *Gordona* As *Gordona-Amarae* Comb-Nov, *Letters In Applied Microbiology* 19 (6): 401-405, (1994).

Gujer και Zehnder, 1983. Gujer W. και Zehnder A.J.B. Conversion processes in anaerobic digestion, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 15, pp. 127-167, (1983).

Hamer *et al.*, 1985. Hamer G. and Bryers J., Aerobic Thermophilic Sludge Treatment. Some Biotechnological Concepts, *Conservation & Recycling*, Vol. 8, pp.267-284, (1985).

Han *et al.*, 1998. Han Y., Sung S. and Dague R. R., Temperature-phased Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges, *Department of Civil and Construction Engineering*, Ames, IA 50011-3232, USA, (1998).

Heller and Kuntamukula, 1987. Heller J.P. and Kuntamukula M.S., Critical Review of the Foam Rheology Literature, *Industrial and Engineering Chemistry Research* 26, p. 318 (1987).

Henze *et al.*, 1987. Henze M., Grady C. P. L., Gujer W., Marais G.v.R. and Matsuo T.. Activated sludge model No. 1. *IAWPRC Scientific and Technical. Report No. 1*, London, UK, (1987).

Hernandez *et al.*, 1993. Hernandez M., Jenkins D. and Beaman B., Mass and Viability Estimations of *Nocardia* in Activated Sludge and Anaerobic Digesters Using Conventional Stains and Immunofluorescent Methods. *First International Specialized Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes*, Παρίσι, Σεπτέμβριος 27-28, (1993).

Hernandez and Jenkins, 1994. Hernandez M. and Jenkins D., The fate of *Nocardia* in anaerobic digestion, *Water Environ. Res.* 66, 828-835 (1994).

Hickey *et al.*, 1989. Hickey R., Vanderwielen J. and Switzenbaum M., The Effect of Heavy Metals on Methane Production and Hydrogen and Carbon Monoxide Levels during Batch Anaerobic Sludge Digestion, *Water Research*, Vol. 23, pp.207-218, (1989).

Ho and Jenkins, 1991. Ho C. F. and Jenkins D., The effect of surfactants on *Nocardia* foaming in activated sludge. *Water Sci. Technol.* 23, 879-887 (1991).

Hwang and Tanaka, 1998. Hwang Y. and Tanaka T. *Control of Microthrix parvicella foaming in activated sludge*, *Water Research*, Vol. 32, No 5, pp. 1678-1686, (1998).

Jenkins, 1992. Jenkins D., Towards a comprehensive model of activated sludge bulking and foaming. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 25, No 6, pp. 215-230, (1992).

Jenkins et al., 1993. Jenkins D., Richard M. G., Daigger G. T., Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming (2nd Edition), Lewis Publishers, 52-55, (1993).

Jenkins et al., 2004. Jenkins D., Richard M.G. and Daigger G.T. *Manual. on the Causes and Control of Activated sludge Bulking, Foaming and other Solids Separation Problems.* Lewis Publishers, Washington DC, pp. 190 (2004).

Jolis et al., 2007, Jolis D., Mitch Azalea A., Marneri M.; Ho Chu-Fei, Effects of anaerobic selector hydraulic retention time on biological foam control and enhanced biological phosphorus removal in a pure-oxygen activated sludge system.

Water environment research, Vol. 79, No, 5, pp. 472-8, (2007).

Jones et al., 2003. Jones B., Jolis D., and Skelley L., Egg-Shaped Digesters - Experience of a Process Upset, *2003 Residuals and Biosolids*, Baltimore (2003).

Jones et al., 2003. Jones B., Jolis D., and Skelley L., Egg-Shaped Digesters - Experience of a Process Upset, *2003 Residuals and Biosolids*, Baltimore.

Jorand et al., 1995. Jorand F., Zartarian F., Thomas F., Block J. C., Bottero I J. Y., Villemin G., Urbain V. and Manem J., Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs, *Water Research*, Vol. 29, No. 7, pp. 1639-1647, (1995).

Iranpour et al., 2006. Iranpour R., Cox H. H. J., Fan S., Abkian V., Minamide T., Kearney R. J. and Haug R. T., Full-Scale Class A Biosolids Production by Two-Stage Continuous-Batch Thermophilic Anaerobic Digestion at the Hyperion Treatment Plant, Los Angeles, California, *Water Environment Research*, Vol. 78, pp. 2244-2252, (2006).

Kappeler et al., 1992. Kappeler J., Purtschert I. and Gujer W., An analysis of practical experience with scum formation in full scale activated sludge systems in Switzerland. *Two- day Workshop on Prevention and Control of Bulking Activated Sludge*, Perugia, Italy, (1992).

Kappeler and Gujer, 1992. Kappeler J. and Gujer W., Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 26, pp. 125-139, (1992).

Kim and Pagilla, 2000. Kim H., Pagilla K. R., Competitive growth of *Nocardia* and *Acinetobacter* under Anaerobic/Aerobic Batch Operation, *Water Research* 34(10), 2667-2674 (2000).

Kim et al., 2001. Kim M., Ahnb H. and Speece R., Comparative Process Stability and Efficiency of Anaerobic Digestion; Mesophilic vs. Thermophilic, *Water Research*, Vol. 36, pp. 4369-4385, (2001).

Klatte et al., 1994. Klatte S., Rainey F. A., Kroppenstedt R. M., Transfer Of *Rhodococcus-Aichiensis* Tsukamura 1982 And *Nocardia-Amarae* Lechevalier And Lechevalier 1974 To The Genus *Gordona* As *Gordona-Aichiensis* Comb-Nov And *Gordona-Amarae* Comb-Nov, *International Journal Of Systematic Bacteriology* ,44 (4): 769-773 (1994).

Knoop and Kunst, 1998. Knoop S. and Kunst S., Influence of temperature and sludge loading on activated sludge settlings, especially on *M. parvicella*. *Wat. Res.*, Vol. 37, No 4-5, pp. 27-37, (1998).

Krinstensen and Horgensen, 1992. Krinstensen G. H., Jorgensen J. C., Batch test procedures as tools in calibration of activated sludge model- a pilot scale demonstration. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 25, No 6, pp. 43-57, (1992).

Krinstensen et al., 1992. Krinstensen G. H., Elberg P., Jorgensen J. C. and Henze M., Characterization of functional microorganism groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 25, No 6, pp. 43-57, (1992).

Krishnamurthy and Viraraghavan , 2005. Krishnamurthy S. and Viraraghavan T., Chemical Conditioning for Dewatering Municipal Wastewater Sludges, *Energy Sources*, Vol. 27, pp.113-122, (2005).

Kugelman and Guida, 1989. Kugelman, I. and V. Guida, Comparative evaluation of mesophilic and thermophilic digestion- Phase II. Steady state studies. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/2-89/001b (1989).

Lafitte-Trouque and Forster, 2000. Lafitte-Trouque S. and Forster C., Dual Anaerobic co-Digestion of Sewage Sludge and Confectionery Waste, *Bioresource Technology*, Vol. 71, pp.77-82, (1998).

Lechevalier and Lechevalier, 1974. Lechevalier M. P., Lechevalier H. A., *Nocardia amarae* sp. nov., ana ctinomycete common in foaming activated sludge, *Internationa Journal of Systematic Bacteriology*, 24, 278-288, (1974).

Leighton and Forster, 1996. Leighton I. and Forster C., The Adsorption of Heavy Metals in an Acidogenic Thermophilic Anaerobic Reactor, *Water Research*, Vol. 31, pp. 2969-297, (1996).

Leja, 1982. Leja J. *Surface Chemistry if Froth Flotation*, Plenum Press, New York (1982).

Levenspiel, 1962. Levenspiel O., *Chemical Reaction Engineering. 2nd Edition*, *John Wiley & Sons Inc.*, USA, (1962).

Lim et al., 2007. Lim S., Jin Kim B., Jeong C., Choi J., Ahn Y. and Chang H., Anaerobic Organic Acid Production of Food Waste in once-a-day Feeding and drawing-off Bioreactor, *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp.7866-7874, (2007).

Lin and Shien, 2001. Lin C. F. and Shien Y., “Sludge Dewatering using Centrifuge with Thermal/Polymer Conditioning”, *Water Science and Technology*, Vol. 44, pp.321-325, (2001).

Lin Chiu-Yue, 1991. Lin Chiu-Yue, Effect of Heavy Metals on Acidogenesis in Anaerobic Digestion, *Water Research*, Vol. 27, pp.147-152, (1991).

Lou, 2006. Lou, In Chio, Analysis of the factors affecting the competition between filaments and floc-formers in activated sludge, PhD thesis under the direction of Dr. Francis L. de losReyes III, North Carolina State University (2006).

Lusk et al., 1991. Lusk P., “Comparative Economic Analysis: Anaerobic Digester Case Study”, *Bioresource Technology*, Vol. 36, pp. 223-228, (1991).

Macnaughton et al.,1994. Macnaughton S.J., OTDonnell, A.G., Embley, T.M., Permeabilisation of mycolic-acid-containing actinomycetes for in situ hybridization with fluorescently labeled oligonucleotide probes, *Microbiology*, Vol. 140, pp. 2859- 2865, (1994).

Mahmoud et al., 2004. Mahmoud N., Zeeman C., Gijzen H. and Lettinga G., Interaction between Digestion Conditions and Sludge Physical Characteristics and Behaviour for Anaerobically Digested Primary Sludge, *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 28, pp. 196-200, (2004).

Majone et al., 1996. Majone M., Massanisso P., Carucci A., Lindrea K.. Influence of storage on kinetic selection to control aerobic filamentous bulking. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 34, No 5-6, pp. 223-232, (1996).

Mamais et al., 1998. Mamais D., Andreadakis A., Noutsopoulos C., Kalergis C., “Causes and Control Strategies of *Microthrix parvicella* Bulking and Foaming in Nutrient Removal Activated Sludge Systems” *Water Science and Technology* , 37 (4/5), 9-17, (1998).

Mamais et al., 2007. Mamais D., Kalaitzi E., Andreadakis A.D. (2007) “Foaming control in activated sludge treatment plants by polyaluminium chloride addition”, *10th Conference on Environmental Science and Technology*, Kos, Greece, (2007).

Marani et al., 2003. Marani D., Renzi V., Ramadori R. and Braguglia C. M., Size Fractionation of COD in Urban Wastewater from a Combined Sewer System, *Nano and Micro Particles in Water and Wastewater Treatment*, Conference Proceedings, Zurich, Switzerland, (2003).

Marneri and Jolis, 2006. Marneri, M. and Jolis, D. Thermal Hydrolysis of Secondary Scum for Control of Biological Foam, *Water Environment Research*, Vol. 78, No. 8, pp. 835-41, (2006).

Marneri et al., 2009. Marneri M., Mamais D., Koutsiouki E., MICROTHRIX PARVICELLA AND GORDONIA AMARAE IN MESOPHILIC AND THERMOPHILIC ANAEROBIC DIGESTION SYSTEMS, *Environmental Technology*, 30 (5), (2009).

Matsuzawa and Mino, 1991. Matsuzawa Y. and Mino T., Role of glycogen as an intracellular carbon reserve of activated sludge in the competitive growth of filamentous growth of filamentous and non- filamentous bacteria. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 23, pp. 899-905, (1991)

McCarthy, 1964

McGee, 1989. McGee J., Selecting chemical Defoamers and Antifoams, *Chemical Engineering* 96, p. 131 (1989).

- Miana et al., 2002.** Miana P., Grando L., Caravello G. and Fabris M. *Microthrix parvicella* at the Fusina WWTP. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 46, No 1-2, pp. 499-502, (2002)
- Moen, 2003.** Moen G., *Anaerobic Digester Foaming: Causes and Solutions*, Bellevue, Wash., Office of HDR Inc. (Omaha, Neb.) , (2003).
- Moter and Gobel, 2000.** Moter A and Gobel UB, Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms, *J. Microbiol. Methods* 41, 85-112 (2000).
- Müller et al., 2005.** Müller E., Lind G., Lemmer H., Wilderer P. A., Population Structure and Chemical EPS Analyses of Activated Sludge and Scum, *Acta Hydrochimica Hydrobiologica* 33(3), 189-196, (2005).
- Nielsen and Lydhohn, 1983.** Nielsen A. and Lydhohn B., Fate of Coxsackievirus B3 during Aerobic and Anaerobic Sludge Stabilization, *Waste Management and Research*, Vol. 1, pp.237-247, (1983).
- Nielsen et al., 2002.** Nielsen P. H., Roslev P., Dueholm T. E., Nielsen J. L., *Microthrix parvicella*, a specialized lipid consumer in anaerobic-aerobic activated sludge plants, *Water Science and Technology*, 46(1), 73-80, (2002).
- Nielsen et al., 2005.** Nielsen P. H., Kragelund C., Nielsen J. L., Tiro S., Lebek M., Rosenwinkel K.-H., Gessesse A., Control of *Microthrix parvicella* in Activated Sludge Plants by Dosage of Polyaluminium Salts: Possible Mechanisms, *Acta hydrochimica hydrobiologica* 33(3), 255-261, (2005).
- Noutsopoulos et al., 2007.** Noutsopoulos C., Mamais D. and Andreadakis A., Effect of solids retention time on *Microthrix parvicella* growth, *Water SA*, 32(3), 315 - 321, (2006).
- Oerther et al., 2001.** Oerther D. B., de los Reyes III F.L., de los Reyes M. F., Raskin L., Quantifying Filamentous Microorganisms in Activated Sludge Before, During and After an Incident of Foaming by Oligonucleotide Probe Hybridizations and Antibody Staining, *Water Research* 35(14), 3325-3336, (2001).
- WEF, 1996.** Operation of Municipal Wastewater Treatment Plants, Manual of Practice, *Water Environment Federation*, Vol. 3, (1996).

Pagilla et al., 1998. Pagilla, K.R., Jenkins, D. and Kido, W., Nocardia effects in waste activated sludge, *Water Sci. Technol.* 38, 49-54 (1998).

Parker et al., 2003. Denny Parker, Steve Geary, Garr Jones, Lori McIntyre, Stuart Oppenheim, Vick Pedregon, Rod Pope, Tyler Richards, Christine Voigt, Gary Volpe, John Willis, Robert Witzgall, Making Classifying Selectors Work for Foam Elimination in the Activated-Sludge Process, *Water Environ. Res.*, 75, 83 (2003).

Pasveer, 1969. Pasveer A., An investigation on development and control of filamentous sludge (Dutch), H2O, Vol. 2, pp. 28–34, (1969).

Pavlostathis και Giraldo-Gomez, 1991. Pavlostathis, S. G. and E. Giraldo-Gomez. Kinetics of Anaerobic Treatment - A Critical Review. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, Vol. 21, pp. 411-490, (1991).

Pitt and Jenkins, 1990. Pitt P. and Jenkins D., Causes and control of Nocardia in activated sludge, *J. Water Pollut. Control Fed.* 62, 143-150 (1990).

Ponsa et al., 2008. Ponsá S., Ferrer I., Vázquez F. and Font X., Optimization of the Hydrolytic-Acidogenic Anaerobic Digestion Stage (55 °C) of Sewage Sludge: Influence of pH and Solid Content, *Water Research*, pp.1-31, (2008).

Pretorius and Laubscher, 1987. Pretorius, W.A. and Laubscher, C.J.P., Control of Biological Scum in Activated Sludge Plants by Means of Selective Flotation, *Wat. Sci. Technol.*, 19(5/6), 1003-1011, (1987).

Raskin et al, 1994. Raskin L. L., Poulsen L. K., Noguera D. R., Riitmann B. E., Stahl D. A. Quantification of Methanogenic Groups in Anaerobic Biological Reactors by Oligonucleotide Probe Hybridization, *Applied and Environmental Microbiology*, 60(4), 1241-1248, (1994).

Rensink et al., 1992. Rensink J. H. and Donker H. J. W., Management of bulking sludge control by the selector. *Two-day Workshop on Prevention and Control of Bulking Activated Sludge, Perugia, Italy*, (1992).

Reusser and Zelinka, 2004. Reusser S. and Zelinka G., Laboratory-Scale Comparison of Anaerobic-Digestion Alternatives, *Water Environ. Res.* 76, 360-379 (2004).

Richard, 1989. Richard, M.G., Activated sludge microbiology, Water Environment Federation (WEF), Alexandria, Virginia, USA, (1989).

Richard et al., 1985. Richard M., Hao O. and Jenkins D. (1985). Growth kinetics of *Sphaerotilus* species and their significance in activated sludge bulking. *Journal. WPCF, Vol. 57, No 1, pp. 68-81, (1985).*

Richard et al., 1985. Richard M. G., Shimizu G. P. and Jenkins D., The growth physiology of the filamentous organism *Type 021N* and its significance to activated sludge bulking. *Journal. WPCF, Vol. 57, No 12, pp. 1152-1162, (1985).*

Rimkus et al., 1982. Rimkus RR, Ryan JM, Cook EJ, Full-Scale Thermophilic Digestion at the West-Southwest Sewage Treatment Works, Chicago, IL , *J. Water Pollut. Control Fed* 54, 1447-1457 (1982).

Roberts et al., 1999. Roberts R., Daniels W. and Forster C., “Two Stage Thermophilic - Mesophilic Anaerobic Digestion of Sewage Sludge” *Trans IChemE, Vol. 77, 93-97, (1999).*

Roberts et al., 1998. Roberts R., Le S. and Forster C., “An Examination of Thermophilic Anaerobic Digestion as the First Stage in Dual Digestion”, *Trans IChemE, Vol. 76, 245-248, (1998).*

Rodriguez Andara et al., 2000. Rodriguez Andara A. and Lomas Esteban J., “Transition of Particle Size Fractions in Anaerobic Digestion of the Solid Fraction of Piggery Manure”, *Biomass and Bioenergy, Vol. 23, pp. 229-235, (2000).*

Ros and Zupancic, 2003. Ros M. and Zupancic G. D., Thermophilic Anaerobic Digestion of Waste Activated Sludge, *Acta Chim. Slovenia, Vol. 50, pp. 359-374, (2002).*

Rosen, 1978. Rosen MJ., *Surfactants and Interfacial Phenomena*, Wiley Press New York, p. 20, (1978).

Rosenberg et al., 1980. M. Rosenberg, D. Gutnick and E. Rosenberg, Adherence Of Bacteria to Hydrocarbons: A Simple Method for Measuring Cell-Surface Hydrophobicity, *Fems Microbiology Letters, Vol. 9, pp. 29-33, (1980).*

Rossetti et al., 1997. Rossetti S., Christensson C., Blackall L. L., Tandoi V., Phenotypic and phylogenetic description of an Italian isolate of “*Microthrix parvicella*”, *Journal of Applied Microbiology, 82, 405-410, (1997).*

Rossetti et al., 2001. Rossetti S., Tomei M.C., Levantesi C., Ramadori R. and Tandoi V. (2001). *Microthrix parvicella*, a new approach for kinetic and

physiological characterization. *Proceedings of the 3rd IWA International specialized Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes*, June 2001, Rome.

Rossetti et al., 2002. Rossetti S., Tomei M.C., Levantesi C., Ramadori R. and Tandoi V., '*Microthrix parvicella*', a new approach for kinetic and physiological characterization. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 46, No 1-2, pp. 65-72, (2002).

Rossetti et al., 2005. Rossetti S., Tomei M. C., Nielsen P. H., Tandoi V., "*Microthrix parvicella*", a filamentous bacterium causing bulking and foaming in activated sludge systems: a review of current knowledge, *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 49-65, (2005).

Ruimy et al., 1994. Ruimy R., Boiron P., Boivin V., Christen R., A Phylogeny Of The Genus *Nocardia* Deduced From The Analysis Of Small-Subunit Ribosomal Dna-Sequences, Including Transfer Of *Nocardia-Amarae* To The Genus *Gordona* As *Gordona-Amarae* Comb-Nov, *Fems Microbiology Letters* 123 (3): 261-267, (1994).

Saayman et al., 1998. Saayman GB, Schutte CF, van Leeuwen J, Chemical control of filamentous sludge bulking in a full-scale biological nutrient removal activated sludge plant, *Ozone Science & Engineering*, Vol. 20, No 1 (1998).

Sahlstrom et al., 2006. Sahlstrom L., Bagge E., Emmoth E., Holmqvist A., Danielsson-Tham M. and Albihn A., A Laboratory Study of Survival of Selected Microorganisms after Heat Treatment of Biowaste used in Biogas Plants, *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp.7859-7865, (2006).

Schade and Lemmer, 2005. Schade M. and Lemmer H., Lipase Activities in Activated Sludge and Scum - Comparison of New and Conventional Techniques, *Acta Hydrochimica Hydrobiologica* 33(3), 210-215, (2005).

Schuppler et al., 1998. Schuppler, M., Wagner, M., Schon, G., Gobel, U., In situ identification of nocardioform actinomycetes in activated sludge using fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probes, *Microbiology*, Vol. 144, pp. 249- 259, (1998).

Shao et al., 1997. Y.J.Shao, Mark Starr, Kosta Kaporis, Hi Sang Kim and David Jenkins, Polymer addition as solution to *Gordona* foaming problems, *Water environment Research* 69 25-7, (1997).

Simpson et al., 1991. Simpson J. R., List E., Dunbar J. M., Bulking sludge: A theory and successful case histories. *J. IWEM*, No 5, pp. 302-311, (1991).

Slijkhuis et al., 1988. Slijkhuis H. and Deinema M.H., Effect of environmental conditions on the occurrence of *Microthrix parvicella* in activated sludge. *Wat. Res.*, pp. 825-828, (1988).

Slijkhuis et al., 1984. Slijkhuis H., van Groenestijn J.W. and Kylstra D.J., *Microthrix parvicella*, a filamentous bacterium isolated from activated sludge: Growth on Tween 80 as carbon and energy source. *J. General. Microbiol.*, Vol. 130, pp. 2035-2042, (1984).

Slijkhuis , 1983. Slijkhuis H., *Microthrix parvicella*, a filamentous bacterium isolated from activated sludge: cultivation in a chemically defined medium. *Appl. Environm. Microbiol.*, Vol. 46, No 4, pp. 832-839, (1983).

Soddell and Seviour, 1990. Soddell J. A., Seviour R. J., A Review: Microbiology of foaming in activated sludge plants, *Journal of Applied Bacteriology* 69, 145-176, (1990).

Song et al., 2004. Song Young-Chae, Kwon Sang-Jo, Woo Jung-Hui, Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge, *Wat. Res.* 38, 1653-1662 (2004).

Sperandio and Etienne, 2000. Sperandio M. and Etienne P., Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various So/Xo ratios. *Wat. Res.*, Vol. 34, No 4, pp. 1233-1246, (2000).

Stafford, 1982. Stafford D. A., The Effects of Mixing and Volatile Fatty Acid Concentrations on Anaerobic Digester Performance, *Biomass* 2, pp. 43-55, (1982).

Takashima and Shimada, 2004. Takashima, M. and Shimada, K, Minimum requirements for trace metals (Fe, Ni, Co and Zn) in thermophilic methane fermentation from glucose, *Proceedings of the 10th World Congress Anaerobic Digestion* (pp. 1590-93). Montreal, Canada, (2004).

Tandoi et al., 1998. Tandoi, V., Rossetti, S., Blackall, L.L. and Majone, M. Some physiological properties of an Italian isolate of “*Microthrix parvicella*”. *Water Science Technology* 37, 1-8, (1998).

Tandoi et al., 1998. Tandoi V., Rossetti S., Tomei M.C., Di Pinto A.C. and Ramadori R. (1998). Bulking and foaming caused by “*Microthrix parvicella*” in

nutrient removal systems. *Proceedings of the AWT98-Advanced Wastewater treatment, recycling and reuse*, Milano, 14-16 September 1998, Italy.

Tchobanoglous G., Burton F.L., Stensel, H.D. and Metcalf & Eddy (2002). *Wastewater Engineering: Treatment Disposal. Reuse*. Fourth ed., McGraw-Hill, pp. 1830.

Tomei M.C., Levantesi C., Rossetti S. and Tandoi V. (1999). Microbiological characterization of pure cultures and its relevance of modeling and control of bulking phenomena. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 39, No 1, pp. 21-29.

Tomlinson and Chambers, 1983. Tomlinson E.J. and Chambers B., Control strategies for bulking sludge. *Proceedings of a Workshop on the Design and Operation of Large Wastewater Treatment Plants*, September 1983, Vienna, Austria, (1983).

USEPA, 1976. U.S. Environmental Protection Agency, Anaerobic Sludge Digestion, EPA-430/9-76-001, Washington D. C.: *Office of Research and Development*, (1976).

USEPA, 1987. U.S. Environmental Protection Agency, Design Manual: Dewatering Municipal Wastewater Sludges, EPA-625/1-79-011, Washington D. C.: *Office of Research and Development*, pp.37-55, (1987).

Vaillant et al., 1999. Vaillant S., Pouet M. F. and Thomas O., Methodology for the Characterisation of Heterogeneous Fractions in Wastewater, *Talanta*, Vol. 50, pp.729-736, (1999).

Vandenburgh et al., 2002. Vandenburgh S. and Ellis T., “Effect of varying solids concentration and organic loading in the performance of temperature phased anaerobic digestion process”, *Water Environment Research*, Vol. 74, (2002).

Van Lier, 1996. Van Lier J., Limitations of Thermophilic Anaerobic Wastewater Treatment and the Consequences for Process Design, *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 69, pp.1-14, (1996).

van Niekerk et al., 1989. van Niekerk A.M., Malea A., Kawahigashi J. and Reichlin D., Foaming in Anaerobic Digesters: A Survey and Laboratory Investigation. Control Federation, 59, p. 249 (1989).

van Veen, 1973. van Veen W. L., Bacteriology of activated sludge, in particular the filamentous bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 39, pp. 189-205, (1973).

Vera-Rodriquez, 1983. Vera-Rodriquez B.A., Quantitative Evaluation of *Nocardia* spp. Presence in Activated Sludge, M.S. Thesis Department of Civil Engineering, University of California, Berkeley, CA.

Vogelaar *et al.*, 2001. Vogelaar J., Bouwhuis E., Klapwijk A., Spanjers H. and Van Lier J., Mesophilic and Thermophilic Activated Sludge Post-Treatment of Paper Mill Process Water, *Water Research*, Vol. 36, pp. 1869-1879, (2001).

Wang *et al.*, 1999. Wang Q., Kuninobub M., Ogawaa H. and Katoa Y., Degradation of Volatile Fatty Acids in Highly Efficient Anaerobic Digestion, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 16, pp. 407-416, (1999).

Wanner and Grau, 1988. Wanner J. and Grau P., Filamentous bulking in nutrient removal activated sludge system. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 20, No 4/5, pp. 1-8, (1988).

Wanner, 1994. Wanner J., Activated sludge bulking and foaming control. *Technomic Publishing Co. Inc., USA*, (1994).

Wanner *et al.*, 1998. Wanner J., Ruzickova I., Jetmarova P., Krhutkova O. and Paraniakova J., A national survey of activated sludge separation problems in the Czech Republic: filaments, floc characteristics and activated sludge metabolic properties. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 37, No 4-5, pp. 271-279, (1998).

WEF, 1996. Operation of Municipal Wastewater Treatment Plants, Manual of Practice, *Water Environment Federation*, Vol. 3, (1996).

Westlund *et al.*, 1998. Westlund A. B., Hagland E., Rothman M., Foaming in Anaerobic Digesters Caused by *Microthrix Parvicella*, *Water Science and Technology*, 37(4-5), 51-55, (1998).

Wheeler and Rule, 1980. Wheeler D.R. και Rule A.M., The Role of *Nocardia* in the Foaming of Activated Sludge: Laboratory Studies, Georgia Water Pollution Control Association Annual Meeting, Savannah GA, USA, (1980).

White, 1997. White E., Anaerobic Digestion for Environmental Processes, *Term Project*, (1997).

Wimmer and Love, 1994. Wimmer, Love, Activated sludge deflocculation in response to chlorine addition: the potassium connection, *Water Environment Research*, Vol. 76, pp. 213, (2004).

Yamatomo-Ikemoto et al., 1998. Yamatomo-Ikemoto R., Matsui S., Komori T. and Bosque-Hamilton E.K., Control of filamentous bulking and interactions among sulfur oxidation-reduction and iron oxidation-reduction in activated sludge using an iron coagulant. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 38, No 8-9, pp. 9-17, (1998).

Zhang and Noike, 1994. Zhang C. and Noike T., Influence of Retention Time on Reactor Performance and Bacterial Trophic Populations in Anaerobic Populations in Anaerobic Digestion Processes, *Wat. Res.* Vol. 28, No. 1, pp. 27-36, (1994).

Zheng et al, 1996. ZHENG D., ALM E. W., STAHL D. A., RASKIN L., Characterization of Universal Small-Subunit rRNA Hybridization Probes for Quantitative Molecular Microbial Ecology Studies, Applied and Environmental Microbiology, 62(12),4504-4513, (1996).

Zita and Hernansson, 1997. Zita A. and Hernansson M., Determination of bacterial cell hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ, *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 152, pp. 299-306, (1997).

Zitomer et al.,2008. Zitomer D., Johnson C. and Speece R., Metal Stimulation and Municipal Digester Thermophilic/Mesophilic Activity, *Journal of environmental Engineering*, Vol. 134, 42-47, (2008).

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

Marneri et al., 2009. Marneri Matina; Mamais Daniel; Koutsiouki Efi, ‘Microthrix parvicella and Gordona amarae in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion systems’, *Environmental technology*, 30(5), pp 437-44, (2009).

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΔΙΕΘΝΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

1. **Marneri et al., 2009.** Marneri M., Mamais D., Antoniou K., *Microthrix Parvicella* in Mesophilic and Thermophilic Digestion Systems at Different Detention Times, *11th International Conference on Environmental Science and Technol*og, Chania, Greece5-8 September 2009.
2. **Marneri et al., 2007.** Marneri M., Mamais D. and Koutsiouki E., “Foaming causing filamentous bacteria in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion systems”, *1st Conference Environmental Management, Engineering Planning and Economics*, Skiathos, Greece.

3. **Marneri, 2007.** Marneri M., ‘Foaming causing filamentous bacteria in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion systems, Young Researchers Session, Kos, Greece 5-7 September 2007.

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

Καραπετάκου, 2007. Καραπετάκου, Ευαγγελία, *Διερεύνηση της επίδρασης λειτουργικών παραμέτρων εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων στα φαινόμενα νηματοειδούς αφρισμού*, Διπλωματική εργασία για το Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΔΠΜΣ) “Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων”, 6/2007.

Κουτσιούκη, 2007. Κουτσιούκη, Ευτυχία, *Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας και του χρόνου παραμονής στην αναερόβια χώνευση λυματολάσπης από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων*, Διπλωματική εργασία για το Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΔΠΜΣ) “Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων, 9/2007.

Αντωνίου, 2008. Αντωνίου Κορνηλία, *Αξιολόγηση λειτουργίας χωνευτών σε μικρούς χρόνους παραμονής*, Διπλωματική εργασία για το Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΔΠΜΣ) “Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων, 9/2008.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ – ΠΙΝΑΚΩΝ

- Εικόνα 2.1: Σύστημα ενεργού ιλύος σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στο Stockport της Αγγλίας στις πρώτες εφαρμογές του κατά τη χρονική περίοδο α) 1924-1927, β) και γ) 1935-1940 23
- Εικόνα 2.2: Διαφορετικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στην Ελλάδα που παρουσιάζουν έντονο πρόβλημα νηματοειδούς αφρισμού. Στις φωτογραφίες φαίνεται ο αφρός που έχει υπερχειλίσει τις δεξαμενές δευτεροβάθμιας επεξεργασίας δημιουργώντας επικίνδυνες εργασιακές συνθήκες. 25
- Εικόνα 2.3: Πρόβλημα νηματοειδούς αφρισμού σε αναερόβιο χωνευτή. Στη φωτογραφία φαίνεται αφρός που έχει υπερχειλίσει από το σύστημα συλλογής βιοαερίου του χωνευτή και έχει καλύψει την εξωτερική επιφάνεια της κεφαλής του. 27
- Εικόνα 2.5: Το σύνορο Plateau σε μικροσκοπική φωτογραφία σάρκωσης ηλεκτρονίων σε δείγμα επεξεργασμένο με κρουγενετική. Πηγή: www.ilw.agrl.ethz.ch/.../naduerra/inde 29
- Εικόνα 2.6: Νηματοειδής αφρισμός με διαφορετικά χαρακτηριστικά σε επιμέρους στάδια της επεξεργασίας ενεργού ιλύος. Οι εικόνες α, β είναι από τις δεξαμενές βιολογικής επεξεργασίας, η α από το ανοξικό διαμέρισμα και η β από το διαμέρισμα αερισμού. 33
- Εικόνα 2.6: Νηματοειδής αφρισμός με διαφορετικά χαρακτηριστικά σε επιμέρους στάδια της επεξεργασίας ενεργού ιλύος. Οι εικόνες α, β είναι από τις δεξαμενές βιολογικής επεξεργασίας, η α από το ανοξικό διαμέρισμα και η β από το διαμέρισμα αερισμού. Η εικόνα γ είναι από τη δεξαμενή καθίζησης και δείχνει το σύστημα συλλογής επιπλεόντων ενώ η εικόνα δ απεικονίζει το φρεάτιο συλλογής τους. 34
- Εικόνα 2.7: Καθαρή καλλιέργεια *M. parvicella* σε μικρογραφία ηλεκτρονικής σάρωσης. Πηγή: Blackall *et al.*, 1994) 38
- Εικόνα 2.8: Δείγμα ανάμικτου υγρού υπό μεγέθυνση 1000. Στην εικόνα φαίνεται βιοκροκίδα από την οποία προεξέχουν οι νηματοειδείς. Πηγή: Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας 38
- Εικόνα 2.8: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φωτεινό πεδίο) κατά Gram. Διακρίνονται μικροοργανισμοί με τη χαρακτηριστική μορφολογία του *M. parvicella*. Πηγή: Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας 38

Εικόνα 2.10: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φθορισμός, φίλτρο Cy3) που έχει επεξεργαστεί με τη μοριακή μέθοδο FISH. Διακρίνονται οι υβριδοποιημένοι μικροοργανισμοί <i>M. parvicella</i> . Πηγή: Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας.....	38
Σχήμα 2.1: Φυλογενετικό δέντρο του <i>M. parvicella</i> και των πιο συγγενών φυλογενετικά ειδών βασισμένο σε συγκριτική ανάλυση 1110 θέσεων του ολιγονουκλεοτιδίου 16S rDNA (Blackall <i>et al.</i> , 1996).....	40
Σχήμα 2.2: Φυλογενετικό δέντρο όπου φαίνεται και το καινούργιο στέλεχος <i>M. parvicella</i> RN1 (Rossetti <i>et al.</i> , 1997).....	41
Σχήμα 2.3: Φυλογενετικό δέντρο όπου φαίνεται όλα τα δημοσιευμένα στελέχη <i>M. parvicella</i> , (Rossetti <i>et al.</i> , 2005).	41
Σχήμα 2.4: Σχηματική απεικόνιση της υπόθεσης των Andreassen και Nielsen περί εξειδικευμένης κατανάλωσης των ΜΑΛΟ από τον <i>M. parvicella</i> (Andreassen και Nielsen, 2000).....	44
<i>M. parvicella</i>	44
<i>Βιοκροκίδα</i>	44
<i>M. parvicella</i>	44
<i>Βιοκροκίδα</i>	44
Πίνακας 2.1: Μέγιστοι ρυθμοί ανάπτυξης του <i>M. parvicella</i> που έχουν προσδιοριστεί σε καθαρές καλλιέργειες και μικτή βιομάζα.	47
Σχήμα 2.5: Φυλογενετικό δέντρο με τους κυριότερους ακτινομύκητες που περιέχουν mycolic acid το οποίο δημιουργήθηκε με σύγκριση ακολουθιών του SSU rRNA. Στο σχήμα επίσης φαίνονται οι ιχνηλάτες FISH που παρασκευάστηκαν στα πλαίσια της ερευνητικής εργασίας των De los Reyes <i>et al.</i> , (1997) και οι μικροοργανισμοί που στοχεύονται (De los Reyes <i>et al.</i> , 1997).	49
Σχήμα 2.6: Συσχέτιση ανάπτυξης νηματοειδών μικροοργανισμών και χρόνου παραμονής στερεών MCRT ή του αντιστρόφως ανάλογου λόγου F/M(Richard, 1989; Jenkins, 1992).....	54
Πίνακας 2.2: Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών. Πηγή: Jenkins <i>et al.</i> , 1993.....	59
Πίνακας 2.2: Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών. Πηγή: Jenkins <i>et al.</i> , 1993.....	60

Γράφημα 2.1: Επίδραση του pH στην ανάπτυξη των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> σε συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας (Cha <i>et al.</i> , 1992).	63
Γράφημα 2.2: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ταχύτητα ανάπτυξης μ των μικροοργανισμών.....	64
Σχήμα 2.7: Πρώτη μορφή αναερόβιου κωνευτή χαμηλής φόρτισης: Χωρίς ανάδευση και θέρμανση (Gerardi 2003).	85
Σχήμα 2.8: Αναερόβιος κωνευτής πλήρους μίξης (Gerardi 2003).....	86
Πίνακας 2.4. Οξέα και αλκοόλες που χρησιμοποιούνται άμεσα και έμμεσα ως υπόστρωμα για το στάδιο της οξικογένεσης (McCarty, 1964, Gerardi, 2003).	87
Σχήμα 2.9: Διάγραμμα ροής (βάσει των προϊόντων που σχηματίζονται) της αναερόβιας κώνευσης (Gerardi, 2003).....	88
Γράφημα 2.3: Παραγωγή μεθανίου συναρτήσει της θερμοκρασίας (Gerardi, 2003)	90
Πίνακας 2.5: Χρόνοι διπλασιασμού σημαντικών βακτηρίων που δραστηριοποιούνται στην αναερόβια κώνευση (Gerardi, 2003).....	92
Γράφημα 2.4: Συσχέτιση χρόνου παραμονής, οργανικής φόρτισης και οργανικών πτητικών στερεών στην τροφοδοσία (Gerardi, 2003).	92
Εξίσωση 2.1	94
Εξίσωση 2.2	94
Εξίσωση 2.3	94
Γράφημα 2.5: Σχέση pH και διττανθρακικής αλκαλικότητας στους 35 °C (Gerardi, 2003)	95
Εξίσωση 2.4	95
Εξίσωση 2.5	95
Εξίσωση 2.6	95
Γράφημα 2.6: Το αποτέλεσμα της προσθήκης εξωτερικής πηγής αλκαλικότητας στο pH και στο ποσοστό του διοξειδίου του άνθρακα στο βιοαέριο (Gerardi, 2003). ...	96
Γράφημα 2.7: Συγκέντρωση πτητικών οξέων σε σχέση με τη θερμοκρασία και το χρόνο παραμονής (Gerardi, 2003).....	97
Πίνακας 2.5: Απαιτήσεις θρεπτικών μεθανογόνων βακτηρίων στην αναερόβια κώνευση (Gerardi, 2003).....	100

Σχήμα 2.10: Σχηματική απεικόνιση χωνευτή συνεχούς ροής πλήρους μίξης.....	102
Γράφημα 2.8: Ειδική παραγωγή βιοαερίου προς την καταστροφή των πτητικών στερεών συναρτήσει της θερμοκρασίας (Ros and Zurancic, 2003).....	103
Σχήμα 2.11: Σχηματική απεικόνιση διαμερισματοποιημένης χώνευσης (Θερμόφιλη/Μεσόφιλη) (Gerardi, 2003).....	109
Γράφημα 2.9: Η επίδραση της παραγωγής βιοαερίου και του pH στο κλάσμα των διαλυτών σουλφιδίων που παραμένουν στο διάλυμα (Gerardi, 2003).....	117
Πίνακας 2.6: Διεγερτική και ανασταλτική συγκέντρωση κατιόντων μετάλλων (USEPA, 1979).....	118
Πίνακας 2.7: Συγκεντρώσεις ανόργανων και οργανικών ουσιών που γίνονται τοξικές για την αναερόβια χώνευση (Gerardi, 2003).....	120
Πίνακας 2.8: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> όπως υπολογίστηκαν από τους Hernandez και Jenkins (1994) σε μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης	124
Εικόνα 2.11: Μικροσκοπικά πεδία σε μεγένθυση x1000 δειγμάτων επεξεργασμένων κατά Gram (α, γ) και κατά FISH (β, δ), πριν (α, β) και μετά (γ, δ) τη θερμική υδρόλυση (Marneri <i>et al.</i> , 2006).....	126
Εικόνα 2.12: Διάγραμμα ροής της μεθόδου FISH: 1. Ιχνηλάτης αποτελούμενος από μονή αλυσίδα ολιγονουκλεοτιδίου σημασμένος με φθοροφόρο ουσία. 2. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός, στον οποίο φαίνεται ο μεγάλος αριθμός ριβοσωμάτων. 3. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός μετά την υβριδοποίηση. 4. Οι υβριδοποιημένοι μικροοργανισμοί ορατοί με μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με κατάλληλα φίλτρα.	129
Εξίσωση 2.7	131
Εξίσωση 2.8	131
Εξίσωση 2.9	131
Γράφημα 3.1: Ποσοστό καταστροφής των πτητικών στερεών συναρτήσει του χρόνου παραμονής του θερμόφιλου σταδίου σε διαμερισματοποιημένα ως προς τη θερμοκρασία συστήματα αναερόβιας χώνευσης (αποτελέσματα εργαστηριακής κλίμακας, πηγή Reusser και Zelinka, 2004).....	141
Πίνακας 3.1: Χρόνοι παραμονής κάθε σταδίου του διβάθμιου θερμόφιλου/ μεσόφιλου συστήματος.....	142

Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά των ιχνηλατών που επιλέχθηκαν για την εφαρμογή της μεθόδου FISH	147
Εικόνα 4.1: Μέτρηση τμήσεων φθορίζοντων μικροοργανισμών κατά μήκος 5 γραμμών.	148
Εξίσωση 4.1	149
Εξίσωση 4.2	149
Εικόνα 4.2: Εργαστηριακοί μεσόφιλοι χωνευτές	162
Εικόνα 4.3: Εργαστηριακοί θερμόφιλοι χωνευτές.....	162
Σχήμα 4.1: Σχηματική απεικόνιση συστήματος συλλογής βιοαερίου	163
Εικόνα 4.4: Πειραματική διάταξη συστήματος συλλογής βιοαερίου.....	163
Πίνακας 4.2: Χρόνοι παραμονής κάθε χωνευτή σε κάθε φάση λειτουργίας του εργαστηριακού συστήματος	165
Πίνακας 4.3: <i>Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την πρώτη φάση</i>	166
Πίνακας 4.4: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την δεύτερη φάση	166
Πίνακας 4.5: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την τρίτη φάση.....	166
Πίνακας 4.6: Ρυθμός τροφοδοσίας των χωνευτών κατά την τέταρτη φάση	167
Πίνακας 4.7: Πρόγραμμα εργαστηριακών μετρήσεων	168
Εξίσωση 4.3	169
Εξίσωση 4.4	169
Εξίσωση 4.5	170
Εξίσωση 4.6	171
Εξίσωση 4.7	172
Εικόνα 4.6: Συσκευή κλασματοποίησης	174
Εικόνα 4.7 Δοκιμή αφρισμού	175
Εξίσωση 4.8	176
Εξίσωση 4.9	177
Εξίσωση 4.10.....	177
Εξίσωση 4.11	177
Εξίσωση 4.12.....	178

Εξίσωση 4.13	178
Εξίσωση 4.14	180
Εικόνα 4.8: Συσκευή απόσταξης για τη μέτρηση των VFAs	182
Εξίσωση 4.15	182
Εικόνα 5.1: Διάγραμμα ροής της μεθόδου FISH: 1. Ικνηλάτης αποτελούμενος από μονή αλυσίδα ολιγονουκλεοτιδίου σημασμένος με φθοροφόρο ουσία. 2. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός, στον οποίο φαίνεται ο μεγάλος αριθμός ριβοσωμάτων. 3. Ο προς ανίχνευση μικροοργανισμός μετά την υβριδοποίηση. 4. Οι υβριδοποιημένοι μικροοργανισμοί ορατοί με μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με κατάλληλα φίλτρα.	187
Πίνακας 5.1: Οι ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες των ικνηλατών που αναπτύχθηκαν από τους Erhart <i>et al.</i> (1997)	190
Πίνακας 5.2: Πίνακας επιλογής κατάλληλου ικνηλάτη για την ταυτοποίηση των βακτηρίων <i>M. parvicella</i> με τη μέθοδο FISH	191
Πίνακας 5.3: Πίνακας επιλογής κατάλληλου ικνηλάτη για την ταυτοποίηση των βακτηρίων <i>G. amarae</i> με τη μέθοδο FISH.....	192
Εικόνα 5.2: Το δείγμα υπό το φίλτρο φθορισμού DAPI. Το δείγμα έχει επεξεργαστεί με DAPI, το οποίο χρησιμοποιείται για τη σήμανση όλων των μικροοργανισμών. Διακρίνονται νηματοειδείς με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του <i>M. parvicella</i>	193
Εικόνα 5.3: Το ίδιο δείγμα υπό το φίλτρο FITC/Texas Red ενώ έχει υβριδοποιηθεί με τον οικουμενικό ικνηλάτη Eub338 σημασμένο με Texas Red, ο οποίος υβριδοποιεί όλα τα προκαρυωτικά βακτήρια που είναι βιώσιμα. Διακρίνονται νηματοειδείς με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του <i>M. parvicella</i>	193
Εικόνα 5.4: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ικνηλάτη MPA223 και σημασμένο με Alexa488 υπό το συμβατό φίλτρο FITC/Texas Red. Δεν είναι ορατοί οι <i>M. parvicella</i>	193
Εικόνα 5.5: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ικνηλάτη MPA645 και σημασμένο με Alexa488 υπό το συμβατό φίλτρο FITC/Texas Red. Δεν είναι ορατοί οι <i>M. parvicella</i>	193
Εικόνα 5.6: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ικνηλάτη MPA645 και σημασμένο με Cy3 υπό το συμβατό φίλτρο Cy3. Πλέον είναι ορατοί οι <i>M. parvicella</i>	193

Εικόνα 5.7: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ικνηλάτη MPA645 και σημασμένο με Cy3 υπό το συμβατό φίλτρο Cy3 μετά τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου. ..	193
Εικόνα 5.8: Δείγμα ανάμικτου υγρού υβριδοποιημένο με τον ικνηλάτη G.am 205 για την υβριδοποίηση του <i>G. amarae</i> πριν τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου.	194
Εικόνα 5.9: Το ίδιο δείγμα υβριδοποιημένο με τον ικνηλάτη G.am 205 μετά τη βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου.	194
Εξίσωση 5.1	194
Εξίσωση 5.2	194
Εικόνα 5.10: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 200. Στην εικόνα φαίνεται η γεφύρωση δύο βιοκροκιδών λόγω αυξημένης συγκέντρωσης νηματοειδών.	196
Εικόνα 5.11: Δείγμα ανάμικτου υγρού υπό μεγέθυνση 1000. Στην εικόνα φαίνεται βιοκροκίδα από την οποία προεξέχουν νηματοειδείς.	196
Εικόνα 5.12: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φωτεινό πεδίο) κατά Gram. Στην εικόνα φαίνονται οι νηματοειδείς μικροοργανισμοί <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i>	196
Εικόνα 5.13: Δείγμα ανάμικτου υγρού με μεγέθυνση 1000 (φθορισμός, φίλτρο Cy3) επεξεργασμένα με τον ικνηλάτη MPA645 σημασμένο με Cy3. Στην εικόνα φαίνεται ο νηματοειδής μικροοργανισμός <i>M. parvicella</i>	196
Πίνακας 5.4: Έλεγχος για την ισότητα των μέσων όρων της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> κατά Gram και κατά FISH..	197
Πίνακας 5.5: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> κατά Gram και κατά FISH.....	198
Γράφημα 5.1: Συσχέτιση των μεθόδων FISH και Pitt & Jenkins σε δείγμα ανάμικτου υγρού που περιέχει <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i>	199
Πίνακας 5.6: Έλεγχος Student της ισότητας των μέσων όρων της συγκέντρωσης των νηματοειδών <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> αθροιστικά στο ανάμικτο υγρό της ΕΕΛ Ψυττάλειας όπως εκτιμάται με τη μέθοδο FISH συγκριτικά με τη μέθοδο Live&Dead.	200
Πίνακας 5.7: Συσχέτιση της συγκέντρωσης αθροιστικά των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> κατά Gram και κατά FISH σε δείγματα ανάμικτου υγρού από την ΕΕΛ Ψυττάλειας.	201

Πίνακας 5.8: Έλεγχος Student της ισότητας των μέσων όρων της συγκέντρωσης των νηματοειδών <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> στη χωνεμένη ιλύ της ΕΕΛ Ψυττάλειας όπως εκτιμάται με τη μέθοδο FISH συγκριτικά με τη μέθοδο Live&Dead.	202
Εικόνα 6.1: Διάγραμμα ροής της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων Ψυττάλειας.	209
Πίνακας 6.1: Συγκεντρώσεις και ροές μάζας των νηματοειδών στα διάφορα στάδια του διαγράμματος ροής της ΕΕΛ Ψυττάλειας	210
Εικόνα 6.2: Ισοζύγιο μάζας στερεών και ροών μάζας νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στην Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων της Ψυττάλειας, Q =παροχή, C = συγκέντρωση ολικών στερεών, M =ροή μάζας στερεών και M_f = ροή μάζας νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν κατά FISH.	212
Εικόνα 6.3: Διάγραμμα ροής της ΕΕΛ Βόλου	214
Πίνακας 6.2: Συγκέντρωση ανηγμένη στη μάζα πτητικών στερεών των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / g VSS).	216
Πίνακας 6.3: Συγκέντρωση ανηγμένη στη μάζα πτητικών στερεών των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / g VSS).	217
Πίνακας 6.4: Συγκέντρωση ανηγμένη στον όγκο του δείγματος των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / L).	218
Πίνακας 6.5: Συγκέντρωση ανηγμένη στον όγκο του δείγματος των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FISH (# τμήσεων / L).	219
Πίνακας 6.6: Ροές μάζας σε τμήσεις ανά ημέρα των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου.	220
Πίνακας 6.6: Ροές μάζας σε τμήσεις ανά ημέρα των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου.	221
Πίνακας 6.7: Ροές μάζας σε τμήσεις ανά ημέρα των νηματοειδών βακτηρίων <i>M. parvicella</i> ανά θέση δειγματοληψίας στην ΕΕΛ Βόλου.	221
Γράφημα 6.1: Συσχέτιση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> στην περίσσεια ιλύος, στα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης που ανακυκλοφορούν ανάντι της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας καθώς	

και στον αφρό που σχηματίζεται στην επιφάνεια των δεξαμενών βιολογικής επεξεργασίας.....	222
Γράφημα 6.2: Συσχέτιση των συγκεντρώσεων των νηματοειδών βακτηρίων <i>M. parvicella</i> στην περίσσεια ιλύος, στα στραγγίδια των διεργασιών πάχυνσης και αφυδάτωσης που επανακυκλοφορούν στην ΕΕΛ Βόλου καθώς και στον αφρό που σχηματίζεται στην επιφάνεια των δεξαμενών.....	223
Γράφημα 6.3: Συσχέτιση των ροών μάζας στην περίσσεια ιλύος των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> συναρτήσεως του χρόνου.	224
Πίνακας 6.8: Υπολογισμός συντελεστή συσχέτισης της συγκέντρωσης των νηματοειδών βακτηρίων <i>M. parvicella</i> και <i>G. amarae</i> στην περίσσεια δευτεροβάθμιας ιλύος και στα στραγγίδια από τις διεργασίες πάχυνσης και αφυδάτωσης	225
Εικόνα 6.4: Σχηματική απεικόνιση των ροών μάζας στερεών και του αθροίσματος των νηματοειδών <i>M. parvicella</i> και <i>G. amarae</i> στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας λυμάτων στην ΕΕΛ Βόλου (Q=παροχή, C= συγκέντρωση ολικών στερεών, M=ροή μάζας στερεών και Mf = ροή μάζας νηματοειδών όπως προσδιορίστηκαν κατά FISH).	226
Πίνακας 6.9: Ποσοστά επανατροφοδότησης δευτεροβάθμιας επεξεργασίας με τους νηματοειδείς μικροοργανισμούς <i>M. parvicella</i> και <i>G. amarae</i> στην ΕΕΛ Βόλου. ...	227
Εικόνα 6.5: Διάγραμμα ροής της ΕΕΛ Χαλκίδας στο οποίο φαίνονται τα σημεία δειγματοληψίας από τις δύο γραμμές της εγκατάστασης.	231
Πίνακας 6.10: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).	233
Πίνακας 6.11: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).	234
Πίνακας 6.12: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).	235
Πίνακας 6.13: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> ανηγμένες στη μάζα των πτητικών στερεών του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/gVSS).	236

Πίνακας 6.14: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).....	237
Πίνακας 6.15: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).....	238
Πίνακας 6.16: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).....	239
Πίνακας 6.17: Συγκεντρώσεις των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> ανηγμένες στη μάζα του όγκου του δείγματος όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/L).....	240
Πίνακας 6.18: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).	241
Πίνακας 6.19: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).	242
Πίνακας 6.20: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).	243
Πίνακας 6.21: Ροές μάζας των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο FISH στη γραμμή 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας (#τμήσεων/ημέρα).	244
Γράφημα 6.4: Εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών βακτηρίων <i>M. parvicella</i> και <i>G. amarae</i> καταμετρημένα κατά FISH στη γραμμή 1.....	245
Γράφημα 6.5: Εποχιακή διακύμανση των νηματοειδών βακτηρίων <i>M. parvicella</i> και <i>G. amarae</i> καταμετρημένα κατά FISH στη γραμμή 2.....	245
Γράφημα 6.6: Συσχέτιση των ροών μάζας στη δεξαμενή αερισμού ιλύος των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> συναρτήσει του χρόνου. ...	246
Γράφημα 6.7: Συσχέτιση των ροών μάζας στη δεξαμενή αερισμού των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> συναρτήσει του χρόνου.	247

Γράφημα 6.8: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού <i>G. amarae</i> στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας.....	248
Γράφημα 6.9: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού <i>M. parvicella</i> στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 1 της ΕΕΛ Χαλκίδας.....	248
Γράφημα 6.10: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού <i>G. amarae</i> στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας.....	249
Γράφημα 6.11: Μεταβολή των συγκεντρώσεων του νηματοειδούς μικροοργανισμού <i>M. parvicella</i> στο ανάμικτο υγρό, στον αφρό και στα στραγγίδια της γραμμής 2 της ΕΕΛ Χαλκίδας.....	249
Πίνακας 6.22: Υπολογισμός του συντελεστή Pearson μεταξύ των ρών μάζας των νηματοειδών βακτηρίων <i>M. parvicella</i> του ανάμικτου υγρού με τις αντίστοιχες ροές στα στραγγίσματα, στην υπερχειλίση του παχυντή, του δευτεροβάθμιου χωνευτή και στα στραγγίδια της πρέσσας.....	250
Πίνακας 6.23: Ποσοστά επανατροφοδότησης του συστήματος ενεργού ιλύος με νηματοειδείς από τα στραγγίδια και από την επιστροφή της περίσσειας ιλύος στην πρωτοβάθμια καθίζηση.....	251
Πίνακας 6.23: Ποσοστά επανατροφοδότησης του συστήματος ενεργού ιλύος με νηματοειδείς από τα στραγγίδια και από την επιστροφή της περίσσειας ιλύος στην πρωτοβάθμια καθίζηση.....	252
Πίνακας 6.24: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών στην αναερόβια χώνευση των ΕΕΛ Χαλκίδας και Βόλου.	253
Γράφημα 6.12: Μεταβολή του αθροίσματος των συγκεντρώσεων των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> και <i>M. parvicella</i> σε σχέση με το δυναμικό και τη σταθερότητα του αφρισμού.....	254
Γράφημα 6.13: Ποσοστό επιστροφής των νηματοειδών με τα στραγγίδια από τη γραμμή επεξεργασίας της ιλύος προς την απομάκρυνσή τους με την περίσσεια ιλύος.....	258
Πίνακας 6.25: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας των εργατηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	261

Πίνακας 6.26: Λειτουργικά χαρακτηριστικά και απόδοση χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	261
Πίνακας 6.27: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	262
Πίνακας 6.28: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	263
Πίνακας 6.29: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	264
Πίνακας 6.30: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ) εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	266
Πίνακας 6.31: Διαλυτό COD εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	267
Πίνακας 6.32: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 20 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.	269
Πίνακας 6.33: Συγκέντρωση των μικροοργανισμών <i>G.amarae</i> και <i>M. parvicella</i> (τμήσεις/L) στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 20 ημερών	270
Πίνακας 6.34: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 20 ημερών.	271
Πίνακας 6.35: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας σε χρόνο παραμονής 16 ημερών	273
Πίνακας 6.36: Λειτουργικά χαρακτηριστικά εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών	273
Πίνακας 6.37: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών	274
Πίνακας 6.38: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών	275
Πίνακας 6.39: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών	276
Πίνακας 6.40: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ) εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών	278

Πίνακας 6.41: Διαλυτό COD εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών.....	279
Πίνακας 6.42: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 16 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.	280
Πίνακας 6.43: Συγκέντρωση των νηματοειδών βακτηρίων <i>G.amarae</i> και <i>M. parvicella</i> και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 16 ημερών.....	281
Πίνακας 6.44: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 16 ημερών.	282
Πίνακας 6.45: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας σε χρόνο παραμονής 13 ημερών	283
Πίνακας 6.46: Λειτουργικά χαρακτηριστικά εργαστηριακών συστημάτων χώνευσης για χρόνο παραμονής 13 ημερών	284
Πίνακας 6.47: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών	285
Πίνακας 6.48: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών.....	285
Πίνακας 6.49: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών	286
Πίνακας 6.50: Συγκέντρωση διαφορετικών κλασμάτων COD στα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών.....	288
Γράφημα 6.14: Κλασματοποίηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών ..	289
Πίνακας 6.51: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ), συγκέντρωση της αλκαλικότητας καθώς και λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς αλκαλικότητα εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών	291
Πίνακας 6.52: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 13 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.	292

Πίνακας 6.53: Συγκέντρωση νηματοειδών Βακτηρίων <i>G.amarae</i> και <i>M. parvicella</i> και τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 13 ημερών	294
Πίνακας 6.54: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 13 ημερών.	295
Πίνακας 6.55: Χαρακτηριστικά ιλύος τροφοδοσίας σε χρόνο παραμονής 10 ημερών	297
Πίνακας 6.56: Λειτουργικά χαρακτηριστικά εργαστηριακών συστημάτων χώνευσης για χρόνο παραμονής 10 ημερών	297
Πίνακας 6.57: Μέση θερμοκρασία και pH εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.	298
Πίνακας 6.58: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.....	299
Πίνακας 6.59: Παραγωγή βιοαερίου και καταστροφή πτητικών στερεών των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών	300
Πίνακας 6.60: Συγκέντρωση διαφορετικών κλασμάτων COD στα διαφορετικά εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών	301
Γράφημα 6.15: Κλασματοποίηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης για χρόνο παραμονής 10 ημερών	302
Πίνακας 6.61: Πτητικά λιπαρά οξέα (mg/L ως οξικό οξύ), συγκέντρωση της αλκαλικότητας καθώς και λόγος πτητικών λιπαρών οξέων προς αλκαλικότητα εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών	303
Πίνακας 6.62: Ειδική αντίσταση στη διήθηση (Tm/kg) της χωνεμένης ιλύος των εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνο παραμονής 10 ημερών συγκριτικά με της εισερχόμενης παχυμένης ιλύος και της χωνεμένης ιλύος από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.	305
Πίνακας 6.63: Συγκέντρωση νηματοειδών <i>G.amarae</i> και <i>M. parvicella</i> και ποσοστά καταστροφής τους σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.....	306
Πίνακας 6.64: Δυναμικό και σταθερότητα αφρισμού εργαστηριακών συστημάτων αναερόβιας χώνευσης σε χρόνο παραμονής 10 ημερών.	307
Γράφημα 6.16: Οργανική φόρτιση εργαστηριακών χωνευτών στους διαφορετικούς χρόνους παραμονής.	308
Γράφημα 6.17: Ωριαία παραγωγή βιοαερίου των εργαστηριακών συστημάτων σε όλους τους χρόνους παραμονής.	310

Γράφημα 6.18: Ποσοστό καταστροφής πτητικών στερεών στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε διαφορετικούς χρόνους παραμονής.....	311
Γράφημα 6.19: Ανηγγμένη παραγωγή βιοαερίου προς τη μάζα των πτητικών στερεών που καταστρέφονται στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε όλους τους χρόνους παραμονής	311
Γράφημα 6.20: Ποσοστό καταστροφής COD των εργαστηριακών συστημάτων στους διαφορετικούς χρόνους παραμονής	312
Γράφημα 6.21: Λόγος συγκέντρωσης αλκαλικότητας προς πτητικών λιπαρών οξέων στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε όλους τους χρόνους παραμονής.....	314
Γράφημα 6.22: Συγκέντρωση διαλυτού COD στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνους παραμονής 10 - 20 ημέρες.	315
Γράφημα 6.23: Συγκέντρωση πτητικών λιπαρών οξέων στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σε χρόνους παραμονής 10 - 20 ημέρες.	316
Γράφημα 6.24: Συγκέντρωση κολλοειδούς COD υψηλού MB εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνους παραμονής 10 και 13 ημερών.....	316
Γράφημα 6.25: Συγκέντρωση κολλοειδούς COD χαμηλού MB εργαστηριακών χωνευτών σε χρόνους παραμονής 10 και 13 ημερών.....	317
Γράφημα 6.26: Κλασματοποίηση του κολλοειδούς και διαλυτού COD στα διαφορετικά συστήματα αναερόβιας χώνευσης για χρόνος παραμονής 10 και 13 ημερών.....	318
Γράφημα 6.27: Καταστροφή των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>M. parvicella</i> όπως μετρήθηκαν με την τεχνική FISH στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σ' όλους τους χρόνους παραμονής	319
Γράφημα 6.28: Καταστροφή των νηματοειδών μικροοργανισμών <i>G. amarae</i> όπως μετρήθηκαν με την τεχνική FISH στα εργαστηριακά συστήματα αναερόβιας χώνευσης σ' όλους τους χρόνους παραμονής	320
Πίνακας 6.65: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων <i>G. amarae</i> όπως υπολογίστηκαν από τους Hernandez και Jenkins (1994) σε μεσόφιλα συστήματα αναερόβιας χώνευσης	321
Γράφημα 6.29: Ποσοστό μείωσης του δυναμικού αφρισμού στα εργαστηριακά συστήματα σε όλους τους χρόνους παραμονής.....	323

Γράφημα 6.30: Ποσοστό μείωσης της σταθερότητας αφρισμού στα εργαστηριακά συστήματα σε όλους τους χρόνους παραμονής.....	324
$r = -d[C]dt = kd \times C \Rightarrow C = C_0 \times e - kd \times t$, Εξίσωση 6.1	325
Γράφημα 6.31: Μείωση συγκέντρωσης του βακτηρίου <i>M. parvicella</i> συναρτήσει του χρόνου στα πειράματα διαλείποντος έργου σε μεσόφιλες συνθήκες.....	326
Γράφημα 6.32: Μείωση συγκέντρωσης του βακτηρίου <i>G. amarae</i> συναρτήσει του χρόνου στα πειράματα διαλείποντος έργου σε μεσόφιλες συνθήκες.....	327
Γράφημα 6.33: Μείωση συγκέντρωσης του νηματοειδούς βακτηρίου <i>M. parvicella</i> συναρτήσει του χρόνου όπως προσδιορίστηκε στα πειράματα διαλείποντος έργου σε θερμόφιλες συνθήκες.....	327
Γράφημα 6.34: Μείωση συγκέντρωσης του νηματοειδούς βακτηρίου <i>G. amarae</i> συναρτήσει του χρόνου όπως προσδιορίστηκε στα πειράματα διαλείποντος έργου σε θερμόφιλες συνθήκες.....	328
Πίνακας 6.66: Συντελεστές φθοράς των νηματοειδών <i>M.parvicella</i> και <i>G. amarae</i> καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης (Pearson ²) όπως υπολογίστηκαν από την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων της συγκέντρωσης των νηματοειδών κατά FISH σε μεσόφιλες και θερμόφιλες συνθήκες αναερόβιας χώνευσης διαλείποντος έργου.	328
$kd, 55 = kd, 35 \times \theta(55 - 35)$, Εξίσωση 6.2	329
Εξίσωση 6.3	330
Πίνακας 6.67: Εκτιμώμενα ποσοστά καταστροφής σε μεσόφιλες συνθήκες των νηματοειδών βακτηρίων <i>M.parvicella</i> και <i>G. amarae</i> σε διάφορους χρόνους παραμονής βάσει των κινητικών φθοράς που υπολογίστηκαν από τα πειράματα διαλείποντος έργου.	331
Πίνακας 6.68: Εκτιμώμενα ποσοστά καταστροφής σε θερμόφιλες συνθήκες των νηματοειδών βακτηρίων <i>M.parvicella</i> και <i>G. amarae</i> σε διάφορους χρόνους παραμονής βάσει των κινητικών φθοράς που υπολογίστηκαν από τα πειράματα διαλείποντος έργου.	331
Γράφημα 6.35: Σύγκριση ποσοστών καταστροφής των νηματοειδών <i>G amarae</i> των πειραμάτων διαλείποντος και συνεχούς έργου συναρτήσει του χρόνου καταστροφής. Με γραμμή παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν από τις κινητικές φθοράς των πειραμάτων διαλείποντος έργου και	

με σημεία παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν σε κάθε χρόνο παραμονής από τα πειράματα συνεχούς έργου. 333

Γράφημα 6.36: Σύγκριση ποσοστών καταστροφής των νηματοειδών *M. parvicella* των πειραμάτων διαλείποντος και συνεχούς έργου συναρτήσεως του χρόνου καταστροφής. Με γραμμή παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν από τις κινητικές φθοράς των πειραμάτων διαλείποντος έργου και με σημεία παρουσιάζονται τα ποσοστά καταστροφής όπως υπολογίστηκαν σε κάθε χρόνο παραμονής από τα πειράματα συνεχούς έργου 334

Πίνακας 6.69: Ποσοστά καταστροφής των νηματοειδών βακτηρίων *M. parvicella* και *G. amarae* που υπολογίστηκαν στις ΕΕΑ πλήρους κλίμακας συγκριτικά με τα αντίστοιχα ποσοστά καταστροφής που υπολογίστηκαν από την κινητική φθοράς των εργαστηριακών πειραμάτων διαλείποντος έργου 335