



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗΣ
ΟΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΕΞΑΣΘΕΝΟΥΣ ΧΡΩΜΙΟΥ ΑΠΟ ΤΑ ΥΠΟΓΕΙΑ ΎΔΑΤΑ»**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΠΑΝΟΥΣΗ Γ. ΕΛΕΝΗ

ΑΘΗΝΑ, 2018

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<i>Ευχαριστίες</i>	15
<i>Περίληψη</i>	18
<i>Abstract</i>	23
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	28
1.1 Πρόλογος	28
Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	31
2.1 Εισαγωγή	31
2.2 Χρήσεις Χρωμίου στη βιομηχανία	33
2.3 Χρώμο στο Περιβάλλον (Μηχανισμοί εξάπλωσης-Επιπτώσεις)	36
2.3.1 Μηχανισμοί Εξάπλωσης του Χρωμίου στο Περιβάλλον	36
2.3.2 Το Χρώμο στο Υδάτινο Περιβάλλον	38
2.3.3 Το Χρώμο στο Έδαφος	40
2.3.4 Το Χρώμο στους Ζώντες Οργανισμούς και Φυτά	42
2.3.5 Το Χρώμο και η Επίδραση του στον Άνθρωπο	43
2.4 Νομοθετικό Πλαίσιο	49
2.5 Χημεία Χρωμίου στο Υδατικό Περιβάλλον	53
2.5.1 Τρισθενές Χρώμο Cr(III)	56
2.5.1.1 Οξείδωση Τρισθενούς Χρωμίου σε Όξινο ή Βασικό Περιβάλλον	58
2.5.1.2 Κινητική Οξείδωσης του Τρισθενούς Χρωμίου	61
2.5.1.3 Οξείδωση Τρισθενούς Χρωμίου παρουσία Οξειδίων Μαγγανίου	62
2.5.1.4 Διαλυτότητα Τρισθενούς Χρωμίου στα Υπόγεια Ύδατα	66
2.5.2 Εξασθενές Χρώμο Cr(VI)	70
2.5.2.1 Κινητική Αναγωγής Εξασθενούς Χρωμίου	71
2.5.2.2 Αναγωγή Εξασθενούς Χρωμίου σε Όξινο ή Βασικό Περιβάλλον	72
2.5.2.3 Αναγωγή Εξασθενούς Χρωμίου παρουσία Δισθενούς Σιδήρου	74
2.5.2.4 Αναγωγή του Εξασθενούς Χρωμίου παρουσία Σουλφιδίων	76
2.5.3 Χημική Ισορροπία Ιοντικών Μορφών Χρωμίου	77
2.6 Βιοχημεία Αναγωγής Χρωμίου	81
2.6.1 Ενδοκυτταρικοί Μηχανισμοί Αναγωγής Cr(VI)	89
2.6.1.1 Μηχανισμός Αναγωγής Cr(VI) σε Αερόβιο Περιβάλλον	90
2.6.1.2 Μηχανισμός Αναγωγής Cr(VI) σε Ανοξικό Περιβάλλον	93
2.6.1.3 Μηχανισμός Αναγωγής Cr(VI) σε Αναερόβιο Περιβάλλον	96

2.6.1.4	Μη Ενζυμική Αναγωγή Cr(VI)	99
2.6.2	Εξωκυτταρικοί Μηχανισμοί Αναγωγής Cr(VI)	100
2.6.3	Παράγοντες που επηρεάζουν τη Μικροβιακή Αναγωγή Cr(VI)	101
2.6.3.1	Πυκνότητα Βιομάζας	101
2.6.3.2	Αρχική Συγκέντρωση Εξασθενούς Χρωμίου	105
2.6.3.3	Πηγές Άνθρακα-Δότες Ηλεκτρονίων	109
2.6.3.4	Περιβαλλοντικές Συνθήκες (pH, Θερμοκρασία και Διαλυμένο Οξυγόνο)	113
2.6.3.5	Οξειδοαναγωγικό δυναμικό (ORP)	120
2.6.3.6	Άλλοι Δέκτες Ηλεκτρονίων	122
2.6.3.7	Κατιόντα μετάλλων	123
2.7	Μικροβιολογία Αναγωγής Χρωμίου	124
2.7.1	Μικροοργανισμοί που ανάγουν το Εξασθενές Χρώμιο	125
2.7.2	Αναχαίτιση μικροοργανισμών	131
2.7.3	Κινητικές Παράμετροι Τοξικότητας Cr(VI)	132
2.7.4	Κινητικές Παράμετροι Ανάπτυξης Βιομάζας	135
2.7.5	Μέθοδοι Προσδιορισμού μm	139
2.7.6	Παράγοντες που Επηρεάζουν τον Προσδιορισμό του μm	140
2.7.6.1	Χρόνος Επαφής	141
2.7.6.2	Συγκέντρωση βιομάζας	143
2.7.6.3	Συγκέντρωση Cr(VI)	144
2.7.6.4	Αναλογία αρχικού υποστρώματος S_0 προς αρχική βιομάζα X_0	146
2.8	Μέθοδοι και Μηχανισμοί Αναγωγής Χρωμίου στο Υδατικό Περιβάλλον	148
2.8.1	Φυσικοχημικές/χημικές Μέθοδοι Επεξεργασίας	150
2.8.1.1	Ρόφηση	150
2.8.1.2	Χημική Αναγωγή και Κατακρήμνιση	152
2.8.1.2.1	Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Χημικής Αναγωγής και Κατακρήμνισης	154
2.8.1.3	Ιοντοανταλλαγή	156
2.8.1.3.1	Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Ιοντοανταλλαγής	156
2.8.1.4	Μεμβράνες Διύλισης-Ηλεκτροδιάλυσης	157
2.8.1.4.1	Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Διύλισης-Ηλεκτροδιάλυσης	158
2.8.2	Βιολογικές Μέθοδοι Επεξεργασίας	160
2.8.2.1	Βιοχημική Αναγωγή	161
2.8.2.1.1	Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Βιοχημικής Αναγωγής	162
2.8.2.2	Βιοπροσρόφηση	168
2.8.2.2.1	Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Βιοπροσρόφησης	169
2.9	Στόχοι Διδακτορικής Διατριβής	171

Κεφάλαιο 3: Περιγραφή Εργαστηριακών Διατάξεων-Πειραματικό Πρωτόκολλο	175
3.1 Εισαγωγή	175
3.2 Περιγραφή Εργαστηριακών Διατάξεων	176
3.2.1 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου-Συνεχούς Λειτουργίας (SBR)	176
3.2.2 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου- Ασυνεχούς Λειτουργίας (Batch reactors)	180
3.3 Περιγραφή Λειτουργίας και Παρακολούθησης Εργαστηριακών Διατάξεων	184
3.3.1 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου-Συνεχούς Τροφοδοσίας (SBR)	184
3.3.2 Περιγραφή Λειτουργίας	185
3.3.2.1 Πειράματα Ενός Κύκλου Λειτουργίας	185
3.3.2.2 Πειράματα Ενός Κύκλου Λειτουργίας με προσθήκη Αμμοδιυλιστηρίου	187
3.3.2.3 Πειράματα Πολλαπλών Κύκλων Λειτουργίας	190
3.3.2.4 Περιγραφή Παρακολούθησης	192
3.3.3 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου- Ασυνεχούς Λειτουργίας (Batch Reactors)	193
3.3.4 Περιγραφή Λειτουργίας	194
3.3.4.1 Πειράματα Κινητικής για την Αναγωγή Cr(VI)	194
3.3.4.2 Πειράματα Προσδιορισμού Μέγιστου Ρυθμού Ανάπτυξης μ_{max}	195
3.3.4.3 Πειράματα Προσδιορισμού Ετεροτροφικού Συντελεστή Βιομάζας Y	197
3.3.4.4 Πειράματα Προσδιορισμού Ισοζυγίου Ηλεκτρονίων	198
3.3.4.5 Περιγραφή Παρακολούθησης	200
3.3.5 Ποιοτικά Χαρακτηριστικά Τροφοδοσίας Αντιδραστήρων	201
3.3.5.1 Υπόγειο Νερό	202
3.3.5.2 Εξασθενές Χρώμιο	203
3.3.5.3 Υπόστρωμα (COD)	204
3.3.5.3.1 Ζάχαρη	204
3.3.5.3.2 Γάλα	205
3.3.5.3.3 Τυρόγαλο	207
3.3.5.4 Νιτρικά (NO ₃ -N)	207
3.3.5.5 Θρεπτικά (NH ₄ ⁺ και PO ₄ ⁻³)	208
3.3.5.6 Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών	208
3.4 Πειραματικές Μέθοδοι Ανάλυσης	209
3.4.1 Προσδιορισμός αιωρούμενων στερεών	209
3.4.2 Προσδιορισμός Χημικών Μορφών Χρωμίου	209
3.4.2.1 Διαλυτό Εξασθενές Χρώμιο Cr(VI)	209
3.4.2.2 Ολικό Χρώμιο TCr	211
3.4.3 Προσδιορισμός Χημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD)	211
3.4.4 Προσδιορισμός Νιτρικού Αζώτου (NO ₃ -N)	213
3.4.5 Προσδιορισμός Νιτρωδών (NO ₂ -N)	214

3.4.6	Προσδιορισμός Αμμωνιακού Αζώτου (NH ₄ -N)	214
3.4.7	Προσδιορισμός Θεικών Ιόντων (SO ₄ ²⁻)	215
3.4.8	Προσδιορισμός Σουλφιδίων (S ²⁻)	215
3.4.9	Προσδιορισμός Μεθανίου (CH ₄)	215
3.4.10	Προσδιορισμός Θερμοκρασίας (T), pH, Δυναμικού Οξειδοαναγωγής (Redox) και Διαλυμένου Οξυγόνου (DO)	216
3.4.11	Μικροσκοπική Παρατήρηση με τη Μέθοδο FISH	217
Κεφάλαιο 4: Παρουσίαση αποτελεσμάτων		222
4.1	Εισαγωγή	222
4.2	Επίδραση του Αποδέκτη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγική Ικανότητα Cr(VI) των Μικροοργανισμών	224
4.2.1	Εισαγωγή	224
4.2.2	Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση του Αποδέκτη Ηλεκτρονίων	228
4.2.3	Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)	230
4.2.4	Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο	232
4.2.5	Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)	235
4.2.6	Συμπεράσματα Επίδρασης Αποδέκτη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγή Cr(VI)	238
4.3	Επίδραση του Είδους και της Δόσης Δότη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγική Ικανότητα του Cr(VI) των Μικροοργανισμών	241
4.3.1	Εισαγωγή	241
4.3.2	Επίδραση του Είδους Υποστρώματος στην Αναγωγική Ικανότητα των μικροοργανισμών	242
4.3.2.1	Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση του Είδους Υποστρώματος	243
4.3.2.2	Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)	245
4.3.2.3	Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο	246
4.3.2.4	Ρυθμός αναγωγής Cr(VI)	248
4.3.3	Επίδραση της Συγκέντρωσης Υποστρώματος στην Αναγωγική Ικανότητα των μικροοργανισμών	249
4.3.3.1	Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση της Συγκέντρωσης Υποστρώματος	250
4.3.3.2	Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)	252
4.3.3.3	Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο	253
4.3.3.4	Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)	256
4.3.4	Συμπεράσματα Επίδρασης της Συγκέντρωσης και του Είδους Δότη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγή Cr(VI)	257
4.3.5	Αποτελέσματα Μέτρησης Πτητικών Λιπαρών Οξέων (VFAs)	258
4.3.6	Αποτελέσματα Προσδιορισμού Ποσοστιαίου Υπολογισμού Ισοδύναμων Ηλεκτρονίων	260
4.4	Επίδραση της Συγκέντρωσης Cr(VI) στην Αναγωγική Ικανότητα των Μικροοργανισμών	263

4.4.1	Εισαγωγή	263
4.4.2	Εκτίμηση τοξικότητας του Cr(VI) στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών	263
4.4.2.1	Αποτελέσματα Αναερόβιου και Ανοξικού-αναερόβιου Αντιδραστήρα	264
4.4.2.2	Αποτελέσματα Προσδιορισμού Μέγιστου Ρυθμού Ανάπτυξης μικροοργανισμών	271
4.4.3	Αποτελέσματα Εφαρμογής της Μοριακής Τεχνικής Καταμέτρησης Μικροοργανισμών FISH	276
4.4.4	Αποτελέσματα Προσδιορισμού Έτεροτροφικού Συντελεστής Μετατροπής Βιομάζας Υ	280
4.4.5	Συμπεράσματα Επίδρασης Συγκέντρωσης Cr(VI) στην Αναγωγική Ικανότητα των Μικροοργανισμών	283
4.5	Επίδραση της Θερμοκρασίας στην Αναγωγική Ικανότητα Cr(VI) των Μικροοργανισμών	285
4.5.1	Εισαγωγή	285
4.5.2	Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση της Θερμοκρασίας	286
4.5.2.1	Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)	287
4.5.2.2	Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο	288
4.5.2.3	Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)	291
4.5.2.4	Συμπεράσματα Επίδρασης Θερμοκρασίας στην Αναγωγή Cr(VI)	292
4.6	Βελτιστοποίηση της Απόδοσης Βιοαντιδραστήρων ως προς την Αύξηση της Απομάκρυνσης Εξασθενούς και Ολικού Χρωμίου	294
4.6.1	Εισαγωγή	294
4.6.2	Βιοαντιδραστήρες με πολλαπλούς κύκλους λειτουργίας- Λειτουργικές Παράμετροι	294
4.6.2.1	Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς τη Χρήση Πολλαπλών Κύκλων Λειτουργίας	295
4.6.2.2	Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο	298
4.6.2.3	Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)	300
4.6.2.4	Συμπεράσματα Χρήσης Πολλαπλών Κύκλων Τροφοδοσίας στην Αναγωγή Cr(VI)	301
4.6.3	Χρήση Αμμοδιυλιστηρίου Κατάντι της Εκροής Βιοαντιδραστήρα	302
4.6.3.1	Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς τη Χρήση Αμμοδιυλιστηρίου	304
4.6.3.2	Συμπεράσματα Χρήσης Αμμοδιυλιστηρίου Κατάντι Εκροής Βιοαντιδραστήρα	308
4.7	Αξιολόγηση του κόστους επεξεργασίας των υπογείων υδάτων χρησιμοποιώντας συστήματα SBR υπό αναερόβιες συνθήκες	309
Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα Διατριβής		313
5.1	Εισαγωγή	313
5.2	Συμπεράσματα	314
5.3	Προτάσεις για Περαιτέρω Έρευνα	317
Παράρτημα: Αναλυτικά Πειραματικά Αποτελέσματα		319
Βιβλιογραφία		350

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1: Νομοθετικό πλαίσιο για το χρώμιο	50
Πίνακας 2.2: Χημικές εξισώσεις αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου	81
Πίνακας 2.3: Χημικές εξισώσεις οξειδωσης του τρισθενούς χρωμίου	83
Πίνακας 3.1: Συγκέντρωση συστατικών τροφοδοσίας στην είσοδο του συστήματος	189
Πίνακας 3.2: Πρόγραμμα εβδομαδιαίων αναλύσεων για τους SBR αντιδραστήρες	190
Πίνακας 3.3: Συστατικά/ποσότητες τροφοδοσίας που προστίθεντο στους batch αντιδραστήρες	197
Πίνακας 3.4: Παράμετροι που παρακολουθούνταν σε κάθε batch πείραμα	198
Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα φυσικοχημικών παραμέτρων για το νερό βρύσης του Ε.Υ.Τ	200
Πίνακας 3.6: Τα διαφορετικά στοιχεία της ζάχαρης	202
Πίνακας 3.7: Τα συστατικά του αγελαδινού γάλακτος	203
Πίνακας 3.8: Διάλυμα Υβριδοποίησης	216
Πίνακας 3.9: Διάλυμα Έκπλυσης	217
Πίνακας 4.1: Παραγωγή ενέργειας από διάφορες οδούς για μεταβολισμό γλυκόζης	221
Πίνακας 4.2: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων συμπεριλαμβανομένης της τυπικής απόκλισης (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Α1)	225
Πίνακας 4.3: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Α2)	225
Πίνακας 4.4: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Β1)	238
Πίνακας 4.5: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Β2)	239
Πίνακας 4.6: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Γ1)	246
Πίνακας 4.7: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Γ2)	247
Πίνακας 4.8: Οι συγκεντρώσεις των VFAs και για τα δύο συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης	253
Πίνακας 4.9: Λειτουργικά χαρακτηριστικά αντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη ισοζυγίου των ηλεκτρονίων	257
Πίνακας 4.10: Ισοζύγιο ηλεκτρονίων των υπό εξέταση αντιδραστήρων 1, 2, 3, 4	258
Πίνακας 4.11: Πειραματικά αποτελέσματα και λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Δ1)	261

Πίνακας 4.12: Πειραματικά αποτελέσματα και λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Δ2)	
	262
Πίνακας 4.13: Μέγιστοι ρυθμοί ανάπτυξης μικροοργανισμών (μ_{max}) στο αναερόβιο και ανοξικό περιβάλλον	
	269
Πίνακας 4.14: Χαρακτηριστικά βιοαντιδραστήρων στους οποίους εφαρμόστηκε η μέθοδος FISH	272
Πίνακας 4.15: Αποτελέσματα ετεροτροφικού συνετελεστή Υ για τις μητρικές καλλιέργειες SBR	278
Πίνακας 4.16: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ε1)	281
Πίνακας 4.17: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ε2)	282
Πίνακας 4.18: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ζ1)	291
Πίνακας 4.19: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ζ2)	292
Πίνακας 4.20: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Η1)	299
Πίνακας 4.21: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων κατά τη λειτουργία τους πριν και μετά το αμμοδουλίστήριο (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Η2)	300
Πίνακας 4.22: Κόστος βιολογικής επεξεργασίας υπογείου νερού σε ευρώ (€)	307

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 4.1: Το ποσοστό (%) αναγωγής Cr(VI) και οξειδωσης του οργανικού άνθρακα (COD) _{sol} στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L)	227
Διάγραμμα 4.2: Συγκέντρωση Cr(VI) στην έξοδο του κάθε αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L	227
Διάγραμμα 4.3: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L)	230

Διάγραμμα 4.4: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην έξοδο για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)	232
Διάγραμμα 4.5: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον ανοξικό-αερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L	233
Διάγραμμα 4.6: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον αναερόβιο-αερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L	235
Διάγραμμα 4.7: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον ανοξικό-αναερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L	235
Διάγραμμα 4.8: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον αναερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L	235
Διάγραμμα 4.9: Η (%) αναγωγή Cr(VI) και οξειδωση του οργανικού άνθρακα (COD) _{sol} στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)	243
Διάγραμμα 4.10: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)	244
Διάγραμμα 4.11: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην εκροή για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)	244
Διάγραμμα 4.12: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για κάθε αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L	246
Διάγραμμα 4.13: Η (%) αναγωγή Cr(VI) και οξειδωση του οργανικού άνθρακα (COD) _{sol} στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)	249
Διάγραμμα 4.14: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)	252
Διάγραμμα 4.15: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην εκροή για κάθε σύστημα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L	252
Διάγραμμα 4.16: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για κάθε αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L	254
Διάγραμμα 4.17: Μέση απομάκρυνση (%) Cr(VI), στον αναερόβιο και ανοξικό-αναερόβιο αντιδραστήρα	263
Διάγραμμα 4.18: Ποσοτικοποίηση μορφών ολικού διαλυτού χρωμίου στην έξοδο του αναερόβιου αντιδραστήρα	264
Διάγραμμα 4.19: Ποσοτικοποίηση μορφών ολικού διαλυτού χρωμίου στην έξοδο του ανοξικού-αναερόβιου αντιδραστήρα	266

- Διάγραμμα 4.20:** Γραφική απεικόνιση της συσσώρευσης τρισθενούς χρωμίου στη βιομάζα ως προς το εξασθενές χρώμιο εισόδου στα δύο υπό εξέταση περιβάλλοντα 267
- Διάγραμμα 4.21:** Ποσοστό αναχαίτισης του Cr(VI) στα αναερόβια και ανοξικά-αναερόβια συστήματα χρησιμοποιώντας τους άξονες σφάλματος (error bars) 271
- Διάγραμμα 4.22:** Γραφική απεικόνιση του μοντέλου Levenspiel που προσεγγίζει τη μη ανταγωνιστική αναχαίτιση (noncompetitive inhibition) λόγω εξασθενούς χρωμίου σε ανοξικές συνθήκες με βάση τις μετρήσεις του Πίνακα 4.13 272
- Διάγραμμα 4.23:** Γραφική απεικόνιση του μοντέλου Levenspiel που προσεγγίζει τη μη ανταγωνιστική αναχαίτιση (noncompetitive inhibition) λόγω εξασθενούς χρωμίου σε αναερόβιες συνθήκες με βάση τις μετρήσεις του Πίνακα 4.13 272
- Διάγραμμα 4.24:** Επίδραση της αυξημένης συγκέντρωσης χρωμίου σε καλλιέργεια *Gamma*proteobacteria (βακτήρια απονιτροποίησης) στον ανοξικό-αναερόβιο SBR 4 276
- Διάγραμμα 4.25:** Μέση συγκέντρωση NO₃-N συναρτήσει του Cr(VI) στην εκροή του ανοξικού-αναερόβιου SBR 4 277
- Διάγραμμα 4.26:** Η (%) αναγωγή Cr(VI) και οξειδωση του οργανικού άνθρακα (COD)_{sol} στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ'όλη τη διάρκεια λειτουργίας του, για κάθε θερμοκρασία που εξετάστηκε, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 μg/L 285
- Διάγραμμα 4.27:** Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα 286
- Διάγραμμα 4.28:** Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου έξοδο για κάθε σύστημα 287
- Διάγραμμα 4.29:** Σχέση Arrhenius για τη θερμοκρασία και το ρυθμό αναγωγής Cr(VI) 291
- Διάγραμμα 4.30:** Απόδοση συστημάτων επεξεργασίας για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου συναρτήσει των υδραυλικών φορτίσεων (όλα τα συστήματα τροφοδοτούνταν με υπόγειο νερό συγκέντρωσης Cr(VI): 200 μg/L) 292
- Διάγραμμα 4.31:** Το ποσοστό (%) αναγωγής Cr(VI) και οξειδωσης του οργανικού άνθρακα (COD)_{sol} στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ'όλη τη διάρκεια λειτουργίας του, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200μg/L 295
- Διάγραμμα 4.32:** Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα 296
- Διάγραμμα 4.33:** Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου έξοδο για κάθε σύστημα 296
- Διάγραμμα 4.34:** Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για κάθε αντιδραστήρα με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200μg/L 298
- Διάγραμμα 4.35:** Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην έξοδο του κάθε συστήματος με διαφορετική θερμοκρασία, πριν την είσοδο στο αμμόφιλτρο 302

Διάγραμμα 4.36: Χρονική διακύμανση του ολικού χρωμίου πριν και μετά την έξοδο του αμμοδιυλιστηρίου για κάθε βιοαντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 µg/L 304

Διάγραμμα 4.37: Χρονική διακύμανση του διαλυτού ολικού χρωμίου πριν και μετά την έξοδο του αμμοδιυλιστηρίου για κάθε βιοαντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 µg/L 304

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 2.1: Κατακόρυφη τομή του εδάφους	33
Σχήμα 2.2: Ο κύκλος ζωής του χρωμίου στο περιβάλλον	39
Σχήμα 2.3: Διάγραμμα ολικού χρωμίου σε σχέση με το ύψος για εδάφη που περιέχουν χρώμιο από ανθρωπογενείς γεωλογικές πηγές	42
Σχήμα 2.4.: Τα e- ανά επίπεδο ενέργειας του χρωμίου	55
Σχήμα 2.5: Τυπικά παραδείγματα ενώσεων εξαθενούς και τρισθενούς χρωμίου -από αριστερά προς δεξιά: χρωμικό κάλιο (K_2CrO_4), διχρωμικό κάλιο ($K_2Cr_2O_7$), τριοξείδιο του χρωμίου (CrO_3), τριχλωριούχο χρώμιο ($CrCl_3$)	56
Σχήμα 2.6: Συμπύκνωση του $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$ μέσω του σχηματισμού των υδροξο-γεφυρών	57
Σχήμα 2.7: Κατανομή των ανόργανων ειδών Cr(III) συναρτήσει του pH	60
Σχήμα 2.8: Απλοποιημένο διάγραμμα Pourbaix για τα κυρίαρχα είδη χρωμίου σε αντιδράσεις υδρόλυσης απουσία παραγόντων συμπλοκοποίησης, εκτός από H_2O ή OH . Οι άξονες περιγράφουν το δυναμικό E βάσει του πρότυπου ηλεκτροδίου υδρογόνου (SHE) και το pH κάτω από συνθήκες 25 °C και 1 bar πίεσης σε σύστημα χρωμίου-οξυγόνου-υδρογόνου	61
Σχήμα 2.9: Οι άξονες περιγράφουν το δυναμικό E (V) και το pH κάτω από συνθήκες 25 °C και 1 bar πίεσης για σύστημα χρωμίου-οξυγόνου-νερού	62
Σχήμα 2.10: Οξειδωση τρισθενούς χρωμίου με μαγγάνιο στο περιβάλλον	65
Σχήμα 2.11. : Διάγραμμα Eh-pH για σύστημα μαγγανίου-οξυγόνου-υδρογόνου	66
Σχήμα 2.12: re-pH σχέσεις για το διαλυμένο υδατικό χρώμιο παρουσία του $Cr(OH)_3(s)$. Η διαγραμματισμένη ζώνη αντιπροσωπεύει τον τομέα της σταθερότητας του $Cr(OH)_3(s)$ για 10^{-6} M, η οποία μπορεί να επεκταθεί στις διακεκομμένες γραμμές για 10^{-5} M. Όλα τα είδη χρωμίου είναι σε διαλυτή μορφή	68
Σχήμα 2.13: Στερεές φάσεις που ελέγχουν τη διαλυτότητα του Cr(III). Η συνεχής γραμμή αντιστοιχεί στο $Cr(OH)_3$ ενώ η διακεκομμένη στο μικτό υδροξείδιο $(Cr,Fe)(OH)_3$ για διαφορετικές τιμές του γραμμομοριακού κλάσματος του χρωμίου (x)	70
Σχήμα 2.14: Κροκοίτης ($PbCrO_4$) και λοπεζίτης ($K_2Cr_2O_7$)	71

Σχήμα 2.15: Από αριστερά προς τα δεξιά: χρωμικό CrO_4^{2-} , διχρωμικό $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, υδροχρωμικό HCrO_4^-	71
Σχήμα 2.16: Υπολογιζόμενη κατανομή των ανόργανων ειδών Cr(VI) , ως συνάρτηση του pH για συγκέντρωση 10^{-6} mol/L	75
Σχήμα 2.17: Κατανομή μορφών Fe(III) και Fe(II) αντίστοιχα σε διάλυμα συναρτήσει του pH	76
Σχήμα 2.18: αριστερά-Συσχέτιση μεταξύ του ρυθμού αναγωγής του Cr(VI) και του ρυθμού παραγωγής HS^- , δεξιά-παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό απομάκρυνσης Cr(VI)	78
Σχήμα 2.19: Γεωχημική ισορροπία του χρωμίου	79
Σχήμα 2.20: Διάγραμμα Frost για είδη Cr σε όξινο διάλυμα	80
Σχήμα 2.21: Μηχανισμοί χρωμικής αντίστασης σε βακτηριακά κύτταρα. (A) Μετάλλαξη σε κωδικοποιημένα χρωμοσώματα-πρόσληψης/μεταφοράς θειικών (B) Εξωκυτταρική αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) (C) Ενδοκυτταρική αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) με χρωμικές αναγωγάσες (D) Λειτουργία του συστήματος επιδιόρθωσης SOS στη μείωση του οξειδωτικού στρες (E) Εκροή του χρωμικού από το κυτταρόπλασμα (F) Η δράση του ενζύμου εντοπισμού των ROS για τη μείωση του οξειδωτικού στρες	83
Σχήμα 2.22: Δομική ομοιότητα των χρωμικών και θειικών ιόντων	84
Σχήμα 2.23: Επεξηγηματικό σχηματικό διάγραμμα της εισχώρησης του Cr(VI) στο κύτταρο. Τα ενδοκυτταρικά Cr(VI) συχνά υποχρεούνται να δώσουν ένα ηλεκτρόνιο παράγοντας το Cr(V) και ένα μεγάλο ποσοστό των ROS που προκαλούν τα προβλήματα στο κύτταρο	86
Σχήμα 2.24: Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και η σχέση τους με το E_0'	90
Σχήμα 2.25: Πιθανοί μηχανισμοί ενζυμικής αναγωγής Cr(VI) υπό αερόβιες συνθήκες. Κάτω από αερόβιες συνθήκες, το ChrR του <i>Ps. putida</i> MK1 καταλύει ένα συνδυασμό μεταφοράς ενός και δύο ηλεκτρονίων για τον παροδικό σχηματισμό Cr(V) , το YieF του <i>E. coli</i> προκαλεί την άμεση αναγωγή του Cr(VI) προς Cr(III) με τη μεταφορά τεσσάρων ηλεκτρονίων. Τα SR και MR αντιπροσωπεύουν διαλυτές και δεσμευμένες σε μεμβράνη αναγωγάσες αντίστοιχα	93
Σχήμα 2.26: αριστερά-Ταυτόχρονη αναγωγή NO_3^- και Cr(VI) , με $\text{Cr(VI)}_0=2,5$ mg/L, δεξιά- Ταυτόχρονη αναγωγή NO_3^- και Cr(VI) , με $\text{Cr(VI)}_0=11$ mg/L	95
Σχήμα 2.27: Οδοί της αναερόβιας αναγωγής Cr(VI) από τα βακτήρια	97
Σχήμα 2.28: Κάτω από αναερόβιες συνθήκες, οι οργανισμοί μπορούν να απομακρύνουν το Cr(VI) μέσω της μεσολάβησης είτε μίας διαλυτής αναγωγάσας (SR), μίας δεσμευμένης σε μεμβράνη αναγωγάσας (MR), ή με δύο αναγωγάσες (SR + MR) που σχετίζονται με το κυτόχρωμα	99
Σχήμα 2.29: Σχηματικό διάγραμμα προσρόφησης Cr(VI) από τη βιομάζα	101
Σχήμα 2.30: Επίδραση της συγκέντρωσης βιομάζας στο ποσοστό απομάκρυνσης (%) του Cr(VI)	105
Σχήμα 2.31: Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης Cr(VI) στην επί τοις εκατό απομάκρυνση του	108
Σχήμα 2.32: Επίδραση του υποστρώματος στον ειδικό ρυθμό Cr(VI) q_{Cr} (διαγραμματισμένοι ράβδοι) και στο ποσοστό απομάκρυνσης ανά μονάδα καταναλισκόμενου οργανικού υποστρώματος $Y_{\text{Cr/S}}$ (πλήρεις ράβδοι)	110

Σχήμα 2.33: Επίδραση της συγκέντρωσης DO στην απομάκρυνση (%) του Cr(VI) και TCr	118
Σχήμα 2.34: Διάταξη συστημάτων συνεχούς ροής για διερεύνηση επίδρασης του DO	117
Σχήμα 2.35: Αναγωγικά βακτήρια εξασθενούς χρωμίου	126
Σχήμα 2.36: αριστερά- Γράφημα Michaelis-Menten, δεξιά- Γράφημα Lineweaver-Burkle	132
Σχήμα 2.37: Κυριότεροι τύποι ενζυμικής αναχαίτισης: αριστερά-Ανταγωνιστική αναχαίτιση, δεξιά-μη ανταγωνιστική αναχαίτιση	134
Σχήμα 2.38: Η επίδραση των βαρέων μετάλλων στο ρυθμό ανάπτυξης των μ/ο	139
Σχήμα 2.39: Η αναχαίτιση (%) του ρυθμού αναπνοής σε συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 50 mg/L κατά τη διάρκεια 3,5 ωρών	141
Σχήμα 2.40: Επίδραση του εγκλιματισμού της βιομάζας στην ταχύτητα ανάπτυξης μ/ο (πειράματα batch με $S_0/X_0=10$ και ηλικία ιλύος 5 ημέρες)	141
Σχήμα 2.41: Η αναχαίτιση (%) του ρυθμού αναπνοής έχει πτωτική τάση καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των MLSS	142
Σχήμα 2.42: Τεχνολογίες αποκατάστασης των βαρέων μετάλλων στα υπόγεια ύδατα	148
Σχήμα 2.42: Διαλυτότητα υδροξειδίων των μετάλλων και σουλφιδίων συναρτήσει του pH	151
Σχήμα 2.43: Παράδειγμα διαδικασίας χημικής αναγωγής και κατακρήμνισης	153
Σχήμα 2.44: Διάταξη ηλεκτροδιάλυσης (CM: μεμβράνη ανταλλαγής κατιόντων, AM: μεμβράνη ανταλλαγής ανιόντων, D: θάλαμοι αραιώσης, K: θάλαμοι συμπύκνωσης, e1/e2: θάλαμοι ηλεκτροδίων)	157
Σχήμα 2.45: Διαγραμματική παρουσίαση της οργάνωσης και δομής βιοκροκίδας σε σύστημα ενεργού ιλύος	163
Σχήμα 2.46: Διάγραμμα ροής για τη διεργασία αιωρούμενης βιομάζας σε λύματα και υπόγειο νερό	165
Σχήμα 2.47: Προτεινόμενοι μηχανισμοί (I, II) βιορρόφησης Cr(VI) από βιομάζα	169
Σχήμα 2.48: Ροϊκό διάγραμμα συστήματος βιολογικής επεξεργασίας υπόγειων υδάτων για την απομάκρυνση του χρωμίου	170
Σχήμα 3.1: Κυλινδρικοί διαφανείς plexiglass αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας 5 L	175
Σχήμα 3.2: Κωνικοί διαφανείς γυάλινοι αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας 5 L	175
Σχήμα 3.3: Ορθογώνιοι διαφανείς plexiglass αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας 7,5 L	176
Σχήμα 3.4: Οι χρησιμοποιούμενοι SBR αντιδραστήρες καλυμμένοι με φύλλα αλουμίνιου	177
Σχήμα 3.5: Tubes corning των 50 mL με τα οποία γινόταν δειγματοληψία από μητρικές καλλιέργειες	178
Σχήμα 3.6, 3.7: Οι χρησιμοποιούμενοι batch αντιδραστήρες και η φιάλη αζώτου	179
Σχήμα 3.8: Χρησιμοποιούμενος αντιδραστήρας στα batch πειράματα προσδιορισμού του Y και του I.H	180

Σχήμα 3.9: Διάγραμμα ροής της καθημερινής λειτουργίας των συστημάτων	182
Σχήμα 3.10: Το σύστημα ανάδευσης (η βιομάζα σε επαφή με το νερό)	183
Σχήμα 3.11: Απεικόνιση του κύκλος πειράματος στους αντιδραστήρες SBR: γέμισμα, ανάδευση, αφαίρεση λάσπης, καθίζηση, συλλογή εκροής	184
Σχήμα 3.12: Γεωμετρία αμμόφιλτρου και χρησιμοποιούμενη διάταξη	185
Σχήμα 3.13: Κύκλος λειτουργίας SBR-SF: τροφοδοσία, ανάδευση, αφαίρεση ιλύος, καθίζηση, κένωση-συλλογή υπερκείμενου, διύλιση υπερκείμενου-συλλογή διυλισμένου 186	186
Σχήμα 3.14: Βιολογικά συστήματα απομάκρυνσης Cr(VI) με διπλό και τριπλό κύκλο τροφοδοσίας σε 24 h λειτουργίας	185
Σχήμα 3.15: Τοποθέτηση του δείγματος σε πλακίδια με τη χρήση μικροπιπέτας	215
Σχήμα 4.1: Προσδιορισμός μικροοργανισμών <i>Deltaproteobacteria</i> μέσω μεθόδου FISH (μωβ χρωματισμός): (A), B) στον αναερόβιο SBR 2 με συγκέντρωση Cr(VI): 0,2 και 2,5 mg/L, αντίστοιχα (Γ), Δ) στον ανοξικό-αναερόβιο SBR 4 με συγκέντρωση Cr(VI): 7 και 10 mg/L, αντίστοιχα	274
Σχήμα 4.2: Προσδιορισμός μικροοργανισμών <i>Gamma</i> proteobacteria μέσω μεθόδου FISH (μωβ χρωματισμός) στον ανοξικό-αναερόβιο SBR 4 με συγκέντρωση Cr(VI) A) 7 mg/L, B) 10 mg/L, Γ) 15 mg/L	275
Σχήμα 4.3: Σύστημα βιολογικής επεξεργασίας υπόγειου νερού για την απομάκρυνση του χρωμίου	306

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο σύνολο της στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στον Τομέα Υδατικών Πόρων και Περιβάλλοντος (ΥΠΠΕΡ) και συγκεκριμένα στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας, το χρονικό διάστημα μεταξύ Σεπτεμβρίου του 2012 και Σεπτεμβρίου του 2015. Η εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής θα ήταν αδύνατη χωρίς τη συμβολή μιας σειράς ανθρώπων. Κάποιοι από αυτούς συνέδραμαν προσφέροντας μου τις επιστημονικές τους γνώσεις, κάποιοι άλλοι βοηθώντας με στην κατασκευή του απαιτούμενου εργαστηριακού εξοπλισμού, άλλοι δίνοντας μου το δικό τους παράδειγμα πείσματος και θέλησης και άλλοι παρέχοντας μου μια σταθερή, γενναιόδωρη και πολύτιμη υποστήριξη.

Πρώτα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Μαμάη Δανιήλ, τόσο για την ανάθεση της παρούσας εργασίας, όσο και για τη συνεχή παρουσία, καθοδήγηση και προθυμία σε επίλυση οποιασδήποτε απορίας μου κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της. Θερμότατα πρέπει να ευχαριστήσω τον επίκουρο καθηγητή και συν-επιβλέποντα της διατριβής κ. Νουτσόπουλο Κωνσταντίνο, σχετικά με τη διακριτική επίβλεψη του και την προθυμία του να λύσει κάθε πρόβλημα. Ευχαριστώ και τους δύο για την άψογη συνεργασία και τις εποικοδομητικές συμβουλές τόσο κατά το σχεδιασμό των πειραμάτων και τη διεξαγωγή τους όλα αυτά τα χρόνια όσο και για τη βοήθεια που μου προσέφεραν ως προς τη συγγραφή της διατριβής. Γνωρίζοντας πλέον τη σημασία του επιβλέποντα καθηγητή στην εκπόνηση μιας διδακτορικής διατριβής, θεωρώ τον εαυτό μου πολύ τυχερό για αυτές τις συνεργασίες.

Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Ανδρεαδάκη Ανδρέα για τη βοήθεια του ως μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής.

Ιδιαίτερη μνεία πρέπει να κάνω στο Ίδρυμα Μποδοσάκη που μου χορήγησε υποτροφία για την εκπόνηση της διδακτορικής μου διατριβής και μου έδωσε με αυτόν τον τρόπο τη δυνατότητα να συνεχίσω τις σπουδές μου. Τα χρήματα που λάμβανα ήταν ένα πολύ σημαντικό βοήθημα για μένα.

Ευχαριστώ από τα βάθη της καρδιάς μου, τους φοιτητές Μπερτόλη Κορίνα, Καντζάβελου Κωνσταντίνα, Νασιώκα Μαρία, Γκιώνη Αλεξάνδρα και Κουτσογιάννη Κωνσταντίνο για τη συνεργασία που είχαμε κατά την εκπόνηση της διπλωματικής τους εργασίας, τη βοήθεια που μου προσέφεραν στις εργαστηριακές αναλύσεις και κυρίως τον αέρα ανανέωσης που έφεραν στα εργαστήρια. Τους εύχομαι καλή σταδιοδρομία και ελπίζω να διατηρούν για μένα τις ίδιες καλές αναμνήσεις που διατηρώ και εγώ για αυτούς.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω και στην υποψήφια διδάκτορα, Αντωνίου Κορνηλία, της οποίας η βοήθεια υπήρξε πολύτιμη. Την ευχαριστώ επίσης γιατί δεν στάθηκε δίπλα μου μόνο σαν συνάδελφος αλλά και σαν φίλη. Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω όλους τους εργαζόμενους στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας για τη συνεχή βοήθεια τους αλλά πιο συγκεκριμένα τη στήριξη του Κουρή Νικόλαου σχετικά με την εξαγωγή πειραματικών αποτελεσμάτων και τον Μαντζιάρρα Ιωάννη, οι συζητήσεις με τον οποίο με έκαναν καλύτερο άνθρωπο.

Φτάνοντας στο τέλος, από τις ευχαριστίες μου δε θα μπορούσαν να λείπουν τόσο οι φίλοι μου όσο και οι γονείς μου, Γιώργος και Μαρία και ο αδερφός μου Ανδρέας, για τη συνεχή στήριξη που μου παρείχαν. Θέλω όλους να τους ευχαριστήσω για τη διακριτική τους παρουσία στο παρασκήνιο κάθε μου προσπάθειας, η οποία αποτέλεσε καίρια συμβολή στην ολοκλήρωση κάθε βήματος που έχω πραγματοποιήσει στη μέχρι τώρα πορεία μου και κατ' επέκταση στην περαίωση και της εν λόγω διδακτορικής διατριβής. Τέλος, τον σύζυγο μου Γιώργο, στον οποίο και αφιερώνω τη διατριβή, γιατί με την αγάπη του και τη διαρκή υποστήριξη του, εξασφάλιζε όλα όσα ήταν απαραίτητα για την απρόσκοπτη προώθηση μου στο στόχο. Γιώργο, σ' ευχαριστώ.

Στον Γιώργο

Περίληψη

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει ως κύριο αντικείμενο την αντιμετώπιση της ρύπανσης των υπόγειων υδάτων με χρώμιο. Τα υπόγεια ύδατα, τα οποία αποτελούν αξιοποιήσιμους υδατικούς πόρους, συνήθως χαρακτηρίζονται ως καλής ποιότητας ύδατα, λόγω της φυσικής διήθησης τους μέσω της διέλευσης τους από εδαφικά στρώματα. Τις τελευταίες δεκαετίες η αύξηση της χρήσης χημικών και οι παραγόμενοι ρύποι από ανθρωπογενείς δραστηριότητες, αποτελούν μεγάλη απειλή για αυτά. Στους επικίνδυνους ρύπους ανθρωπογενούς αλλά και γεωγενούς προέλευσης κατατάσσονται τα βαρέα μέταλλα και πιο συγκεκριμένα το εξασθενείς χρώμιο Cr(VI), το οποίο από τη στιγμή που θα απελευθερωθεί στο γεω-περιβάλλον, σε ένα μεγάλο ποσοστό θα καταλήξει στα υπόγεια νερά, γιατί είναι συνήθως ευδιάλυτο στο νερό.

Μέχρι σήμερα η έρευνα εστιάζοταν στη βιολογική επεξεργασία υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου που υπερβαίνουν το 1 – 5 mg/L. Σε σχέση με τα υγρά απόβλητα, τα ρυπασμένα με Cr(VI) υπόγεια ύδατα παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές καθώς υπάρχει συνήθως απουσία οργανικής ρύπανσης που θα μπορούσε να υποστηρίξει την ανάπτυξη μικροοργανισμών και οι συγκεντρώσεις Cr(VI) συνήθως δεν υπερβαίνουν τα 200 μg/L. Οι συγκεντρώσεις αυτές του Cr(VI) στα υπόγεια ύδατα παρότι είναι σημαντικά χαμηλότερες των αντίστοιχων τιμών που συναντώνται στα απόβλητα, καθιστούν απαγορευτική την οποιαδήποτε χρήση του υπόγειου νερού.

Από την ανάγκη αυτή για επεξεργασία των υπόγειων υδάτων που περιέχουν Cr(VI) ανέκυψε ο κύριος στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής που είναι η ανάπτυξη, εφαρμογή και βελτιστοποίηση ενός συστήματος βιολογικής επεξεργασίας των υπόγειων υδάτων για την παραγωγή νερού κατάλληλου για βιομηχανική και αγροτική χρήση.

Οι επιμέρους στόχοι της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι:

α) η διερεύνηση των κυριότερων παραγόντων που επιδρούν στην απομάκρυνση εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα, με τη χρήση βιολογικών μεθόδων

άντλησης και επεξεργασίας β) η βελτιστοποίηση της βιολογικής μεθόδου απομάκρυνσης του χρωμίου από τα υπόγεια νερά με στόχο την επίτευξη της μέγιστης δυνατής απομάκρυνσης εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα στο χαμηλότερο δυνατό κόστος και γ) η μελέτη της κινητικής που ακολουθεί η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου και η εκτίμηση της τοξικής επίδρασης του στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Η διερεύνηση των παραγόντων που επιδρούν στην απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα, επιτεύχθηκε με τη σχεδίαση και λειτουργία βιοαντιδραστήρων διαλείποντος έργου (SBR) εργαστηριακής κλίμακας, με μετρήσεις που διεξάγονταν σε καθημερινή βάση για 3 χρόνια. Στο πλαίσιο της διερεύνησης της επίδρασης διαφόρων λειτουργικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στη βιολογική απομάκρυνση του χρωμίου από τα υπόγεια νερά, εξετάστηκαν οι ακόλουθοι παράγοντες:

α) Οι οξειδοαναγωγικές συνθήκες που επικρατούν στον βιοαντιδραστήρα.

Οι συνθήκες που μελετήθηκαν αρχικά ήταν αερόβιες, αναερόβιες και ανοξικές, με κάθε πιθανό συνδυασμό που θα μπορούσε να επιφέρει τη μεγαλύτερη και ταχύτερη βιομετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων βιολογικά συστήματα που περιλαμβάνουν ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες επιτυγχάνουν υψηλή απομάκρυνση Cr(VI) που πλησιάζει το 100%. Αντίθετα η απομάκρυνση Cr(VI) σε αερόβιο αντιδραστήρα δεν ήταν καθόλου ικανοποιητική, μη ξεπερνώντας το 28%.

β) Το είδος και η συγκέντρωση της οργανικής τροφής που απαιτείται να προστίθεται στο υπόγειο νερό για την υποστήριξη της βιολογικής αναγωγής του Cr(VI).

Εξετάστηκαν κάτω από ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες αντιδραστήρες SBRs που λειτουργούσαν με τρεις διαφορετικούς τύπους πηγών άνθρακα: α) γάλα που περιέχει κυρίως δύσκολα βιοδιασπάσιμες ουσίες β) το υγρό τυρογάλακτος, μία χαμηλού κόστους δύσκολα βιοδιασπάσιμη πηγή οργανικού άνθρακα και γ) η γλυκόζη, μια απλή, χαμηλού μοριακού βάρους εύκολα βιοδιασπάσιμη οργανική ένωση.

Η αποδοτικότητα ως προς την απομάκρυνση του Cr(VI) όλων των συστημάτων που μελετήθηκαν, ξεπέρασε το 98%, ωστόσο τα αποτελέσματα αυτών, στα ασυνεχή πειράματα (batch tests) μελέτης του ρυθμού απομάκρυνσης Cr(VI) με γάλα κυμάνθηκαν

περίπου κατά μέσο όρο στα 75 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, με τυρόγαλο στα 150 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, ενώ με τη ζάχαρη κατά μέσο όρο στα 250 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι ο υψηλότερος ρυθμός απομάκρυνσης Cr(VI) επιτεύχθηκε με το πιο εύκολα βιοδιασπώμενο υπόστρωμα δηλαδή τη ζάχαρη. Σχετικά με τη συγκέντρωση του δότη ηλεκτρονίων στα υπό μελέτη συστήματα, κρίθηκε αναγκαίο από τα αποτελέσματα, η συγκέντρωση των υποστρωμάτων να είναι κατ' ελάχιστο 200 mg COD/L, ώστε να μην εμποδίζεται η ταχύτητα αναγωγής του. Σε συνθήκες χαμηλότερης συγκέντρωσης υποστρώματος (όπως 100 και 150 mg/L), η απόδοση και ο ρυθμός αναγωγής του Cr(VI) μειώθηκαν αισθητά, γεγονός που ενισχύει τα παραπάνω ευρήματα για την ελάχιστη συγκέντρωση υποστρώματος.

γ) Η συμπεριφορά συστημάτων επεξεργασίας υπογείου νερού επιβαρυσμένου με υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI), ο προσδιορισμός των μέγιστων ρυθμών ανάπτυξης των μικροοργανισμών και τα όρια τοξικότητας τους.

Στο πλαίσιο αυτό μελετήθηκαν συστήματα σε συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου Cr(VI) ίσες με 0-3000 $\mu\text{g/L}$ για τον αναερόβιο και 0-15000 $\mu\text{g/L}$ για τον ανοξικό-αναερόβιο βιοαντιδραστήρα, με ίδιες λειτουργικές παραμέτρους μεταξύ τους. Για συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου έως 1,2 mg/L, τα υπό μελέτη αναερόβια συστήματα λειτούργησαν χωρίς πρόβλημα, με απόδοση αναγωγής Cr(VI) που κυμαινόταν μεταξύ 80-100% και απομάκρυνση COD_{sol} μεγαλύτερη του 84%. Στις περισσότερες περιπτώσεις πλήρως εγκλιματισμένης βιομάζας οι μικροοργανισμοί ανήγαγαν το εξασθενές χρώμιο στο πέρας του κύκλου λειτουργίας τους σε ποσοστό 100% και η αναχαίτιση που μετρήθηκε δεν ξεπέρασε το 55%. Επίσης, παρατηρήθηκε αυξανόμενη συσσώρευση τρισθενούς χρωμίου στη βιομάζα με την αύξηση του εξασθενούς χρωμίου της εισόδου. Στο αναερόβιο σύστημα των 3 mg/L παρατηρήθηκε φθίνουσα λειτουργία και σχεδόν πλήρης αναχαίτιση της ανάπτυξης της βιομάζας. Η λειτουργία δεν ήταν σταθερή και οι συγκεντρώσεις του εξασθενούς χρωμίου στην έξοδο ήταν ιδιαίτερα υψηλές, με αποτέλεσμα την 100% αναχαίτιση της βιολογικής αναγωγής του Cr(VI).

Τα ανοδικά-αναερόβια συστήματα σε σύγκριση με τα αναερόβια συστήματα παρουσίασαν πολύ μεγαλύτερη αναγωγική ικανότητα και έφθασαν να ανάγουν

συγκεντρώσεις χρωμίου της τάξης των 15000 $\mu\text{g/L}$, να παρουσιάζουν μικρότερη αναχαίτιση στις υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI) στο υπόγειο νερό και κατά συνέπεια να επιτυγχάνουν υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης Cr(VI) και TCr.

Με βάση τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των μέγιστων ρυθμών ανάπτυξης των μικροοργανισμών συναρτήσεως της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου κάτω από αναερόβιες και ανοξικές-αναερόβιες συνθήκες, υπολογίσθηκε ότι η αναχαίτιση που προκαλείται από το εξασθενές χρώμιο περιγράφεται από τη σχέση του Levenspiel η οποία είναι της μορφής: $\mu_{maxi} = \mu_{max} * (1 - \frac{P}{P_m})^\beta$, όπου ο μ_{max} αποτελεί το μέγιστο ρυθμό ειδικής ανάπτυξης Monod που προσδιορίζεται απουσία Cr(VI), μ_{maxi} αποτελεί το μέγιστο ρυθμό ειδικής ανάπτυξης Monod που προσδιορίζεται παρουσία Cr(VI) συγκέντρωσης P, P_m είναι η συγκέντρωση Cr(VI) στην οποία παρουσιάζεται πλήρης αναχαίτιση, β είναι η συγκέντρωση Cr(VI) και β σταθερά που ισούται με 2.

Στο πλαίσιο των ανωτέρω πειραμάτων εφαρμόστηκε η μέθοδος της Φθορίζουσας Επί Τόπου Υβριδοποίησης (Fluorescent In Situ Hybridization- FISH), με στόχο τον ποσοτικό προσδιορισμό των βακτηρίων που αναπτύχθηκαν στο σύστημα βιολογικής επεξεργασίας των υπόγειων υδάτων της διατριβής και βρέθηκε ότι αποτελούνταν κυρίως από απονιτροποιητικά και θειοαναγωγικά βακτήρια.

δ) *Διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στον βαθμό απομάκρυνσης του Cr(VI) και του ολικού Cr.*

Το σύστημα επεξεργασίας θα πρέπει να επιτυγχάνει υψηλό βαθμό απομάκρυνσης χρωμίου σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και να μην απαιτείται θέρμανση, για το λόγο αυτό εξετάστηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στην απόδοση του συστήματος.

Βάσει των αποτελεσμάτων, η απομάκρυνση του Cr(VI) γινόταν εντός λίγων ωρών για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 $\mu\text{g/L}$ σε όλες τις θερμοκρασίες που εξετάστηκαν (12 °C, 17 °C, 33 °C). Οι μέγιστες ειδικές ταχύτητες αναγωγής που μετρήθηκαν μέσω των ειδικών πειραμάτων (batch) βρέθηκε ότι αυξάνονται με τη θερμοκρασία σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius. Μετά από προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην εξίσωση Arrhenius προέκυψε η παρακάτω σχέση: $k = 5 * 10^7 * 6^{0,0656 T}$, όπου T η θερμοκρασία σε

Kelvin και το k μετριέται σε $\text{Cr(VI)}/\text{gVSS}\cdot\text{hr}$ μετασχηματίζοντας την σε μια πιο εύχρηστη μορφή: $k = 125,5 * 1,027^{T-20}$, όπου T η θερμοκρασία σε Κελσίου και το k να μετριέται σε $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}\cdot\text{hr}$.

ε) *Η επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής και η χρήση αμμόφιλτρου κατάντι της εκροής ενός αναερόβιου αντιδραστήρα.*

Από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής ($0,7-1,7 \text{ d}^{-1}$) εξήχθη το συμπέρασμα ότι τα αναερόβια και ανοδικά-αναερόβια συστήματα πολλαπλής τροφοδοσίας βιομετατρέπουν επιτυχώς την εισερχόμενη συγκέντρωση Cr(VI) στο σαφώς πιο ακίνδυνο Cr(III) δίνοντας υψηλά ποσοστά αποδόσεων, επεξεργαζόμενα πολλαπλάσιο όγκο ρυπασμένου νερού.

Σχετικά με τη χρήση αμμόφιλτρου κατάντι ενός αντιδραστήρα, η επεξεργασία νερού, που περιέχει αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) της τάξης των $200 \mu\text{g/L}$, από ένα σύστημα αναερόβιου αντιδραστήρα διαλείποντος έργου-αμμοδιυλιστηρίου, μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη απομάκρυνση όχι μόνο Cr(VI) αλλά και του ολικού χρωμίου. Συγκεκριμένα, επιτυγχάνεται απομάκρυνση εξασθενούς πάνω από 99% και ολικού χρωμίου πάνω από 90% και οι τελικές συγκεντρώσεις εκροής είναι αντίστοιχα $0,5-2,5 \mu\text{g/L}$ και $3-10 \mu\text{g/L}$. Αποτέλεσμα αυτού, η ευκολία εφαρμογής στην επεξεργασία του αντλούμενου νερού που προορίζεται για άρδευση ή βιομηχανική χρήση καθώς βελτιστοποιεί τις συγκεντρώσεις Cr(VI) και TCr της εκροής.

στ) *Εκτίμηση κόστους της βιολογικής επεξεργασίας για την απομάκρυνση ολικού και εξασθενούς χρωμίου.*

Αξιολογήθηκε το κόστος SBR μονάδας επεξεργασίας νερού, βασιζόμενο στην παρούσα διδακτορική διατριβή, τα πειράματα της οποίας πραγματοποιήθηκαν σε πιλοτικό επίπεδο. Για μονάδα SBR πλήρους κλίμακας με δυναμικότητα επεξεργασίας $10 \text{ m}^3/\text{d}$ ρυπασμένου νερού, το συνολικό κόστος κυμαίνεται, ανάλογα με το είδος και το κόστος της προστιθέμενης πηγής οργανικού άνθρακα, μεταξύ $0,68 - 0,86 \text{ €/m}^3$, ενώ το κόστος ενός συστήματος SBR με δυναμικότητα επεξεργασίας $100 \text{ m}^3/\text{d}$ ρυπασμένου νερού κυμαίνεται μεταξύ $0,16 - 0,34 \text{ €/m}^3$.

Abstract

This doctoral thesis focuses on microbial groundwater treatment for total and hexavalent chromium (Cr(VI)) removal. In recent decades, modern lifestyles, ie increasing use of chemicals and urban and industrial pollutants, are now a major threat to groundwater. A group of hazardous pollutants of anthropogenic and geogenic origin are heavy metals, in particular hexavalent chromium, which, once released into the geoenvironment, will eventually and massively end up in groundwater because it is usually soluble in water.

Until today, the research has focused on the biological treatment of wastewater containing high concentrations of hexavalent chromium in excess of 1-5 mg/L. With regard to wastewater, Cr(VI) contaminated groundwater differs greatly, as there is usually no organic contamination that could support the growth of micro-organisms, and Cr(VI) concentrations usually do not naturally exceed 200 µg/L. These concentrations of Cr(VI) in groundwater, although significantly lower than the corresponding values found in the wastewater, make any use of groundwater prohibitive.

The main purpose of this PhD thesis is to develop, implement and optimize a groundwater biological treatment system for the production of water suitable for industrial and agricultural use.

The main targets of this PhD dissertation were:

(a) to investigate the main factors influencing the removal of hexavalent and total chromium from groundwater, using biological methods of pumping and treatment; (b) optimizing the biological method of removing chromium from groundwater in order to achieve the maximum possible hexavalent and total chromium removal from the groundwater at the lowest possible cost; and (c) the study of the kinetics followed by the reduction of hexavalent chromium and the estimation of its' toxic effect on microbial growth. Investigation of the factors influencing hexavalent chromium and total chromium removal from groundwater was achieved by the design and operation of

laboratory-scale sequential batch reactors (SBRs), with experiments carried out on a daily basis for 3 years.

In the context of investigating the effect of various functional and environmental factors on biological chromium removal from groundwater, the following factors were studied:

a) *The redox conditions prevailing in the bioreactors.*

The conditions initially studied were aerobic, anaerobic and anoxic, with any possible combination that could lead to the highest and fastest biotransformation of Cr(VI) to Cr(III). In particular, from the systems evaluated (anoxic-aerobic, anaerobic-aerobic, anoxic-anaerobic, anaerobic and aerobic), it was found that with reference to the anoxic-aerobic and anaerobic-aerobic reactors, both achieved satisfactory hexavalent chromium within the 90 – 95% range, for an initial Cr(VI) concentration of 200 µg/L. The performance of anoxic-anaerobic and anaerobic systems was even higher, having reached 100% Cr(VI) removal.

On the other hand, during the three-month operation of the aerobic system, it was not possible to demonstrate significant Cr(VI) removal. This may be due either to the fact that the duration of the experiments was not sufficient to develop an aerobic Cr(VI) reduction culture and/or that the relatively low concentration of Cr(VI) in the water to be treated was not high enough to generate a competitive advantage for aerobic Cr(VI)-reducing bacteria as compared to other non-reducing aerobic heterotrophic microorganisms. The aerobic reactor performance was not satisfactory at all, not exceeding 28%.

(b) *The type and concentration of electron donor required to be added to groundwater to support the biological reduction of Cr(VI).*

Under the anoxic and anaerobic conditions, SBRs were operated using three different types of carbon sources: a) milk, a complex organic carbon source, b) liquid cheese whey, a low cost complex organic carbon source and c) glucose, a simple low molecular weight easily biodegradable substrate.

Although Cr(VI) removal efficiency of all systems studied exceeded 98%, the systems differ in the maximum Cr(VI) removal rates obtained. The maximum Cr(VI) removal rate

obtained in the batch tests with milk was approximately 75 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$, with cheese whey 150 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$ and with sugar on 250 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$. These results demonstrate that the highest Cr(VI) removal rate was achieved with the most easily biodegradable substrate, namely sugar. Concerning the concentration of the electron donor in the systems studied, it was considered necessary from the results that the substrate concentration should be at least 200 mg COD/L so as to support a satisfactory Cr(VI) removal rate. Under conditions of lower substrate concentration (such as 100 and 150 mg/L), the performance and rate of Cr(VI) reduction decreased considerably.

c) Evaluation of Cr(VI) toxicity on microbial Cr(VI) removal at high Cr(VI) concentrations.

In this context, the study focused on systems with hexavalent chromium Cr(VI) concentrations of 0-3000 $\mu\text{g}/\text{L}$ for the anaerobic and 0-15000 $\mu\text{g}/\text{L}$ for the anoxic bioreactor with identical functional parameters. For hexavalent chromium concentrations up to 1.2 mg/L, the anaerobic systems functioned without any problem, with a Cr(VI) reduction rate ranging between 80-100% and CODsol removal more than 84%. In most cases of fully acclimated biomass the microorganisms reduced the hexavalent chromium at the end of their operating cycle to 100% and the inhibition measured did not exceed 55%. Also, there was an increasing accumulation of trivalent chromium in the biomass by increasing the hexavalent chromium of the inlet. In the anaerobic system of 3 mg/L, almost complete inhibition of biomass growth was observed. The operation was not stable and the hexavalent chromium concentrations at the effluent were particularly high, resulting in a 100% inhibition of the biological reduction of Cr(VI).

The anoxic-anaerobic systems in comparison with anaerobic systems showed much higher reduction capacity and reduced chromium concentrations of up to 15000 $\mu\text{g}/\text{L}$, exhibiting less inhibition at Cr(VI) high concentrations in groundwater and thus achieving higher Cr(VI) and TCr removal rates.

Based on the results of the determination of the maximum growth rates of microorganisms as a function of hexavalent chromium concentration under anaerobic and anoxic-anaerobic conditions, it was estimated that the inhibition induced by hexavalent

chromium is described by Levenspiel's model which is in the form: $\mu_{maxi} = \mu_{max} * (1 - \frac{P}{P_m})^\beta$, where μ_{max} is the maximum specific growth rate determined in the absence of Cr(VI) according to Monod's function, μ_{max} is the maximum specific growth rate determined in the presence of a Cr(VI) concentration of approximately P, P_m is minimum Cr(VI) concentration that causes 100% microbial inhibition and $\beta=2$.

In the context of the above experiments, Fluorescent In situ Hybridization (FISH) method was used to identify and quantify microbial biocenosis in the biological groundwater biological treatment systems. It was found that during anoxic and anaerobic conditions the prevailing microbial groups were denitrifying and sulfate-reducing bacteria, respectively.

(d) Temperature effects on microbial Cr removal.

Biological treatment systems should achieve a high degree of chromium removal at ambient temperatures with no heating required, therefore the effects of temperature on Cr(VI) removal was studied.

Based on the results, Cr(VI) removal was completed within a few hours for an initial concentration of 200 $\mu\text{g/L}$ at all temperatures tested (12 °C, 17 °C, 33 °C). The maximum Cr(VI) reduction rates measured by the batch experiments were found to increase with temperature according to Arrhenius equation. After adjusting the experimental data to the Arrhenius equation, the following equation was obtained: $k = 5 * 10^7 * 6^{0,0656 T}$, where T is the temperature in degrees Kelvin and k in Cr (VI)/gVSS * hr, transforming it in a more usable form: $k = 125,5 * 1,027^{T-20}$ where T is in Celsius and k is in $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS * hr}$.

e) The effect of hydraulic residence time and the use of a sand-filter following an anaerobic SBR.

From the experiments performed with different hydraulic residence time, it was concluded that anaerobic and anoxic-anaerobic with HRT between 0,7-1,7 d⁻¹, successfully biotransformed the initial Cr(VI) to the clearly less hazardous Cr(III) supporting high removal rates, and providing treatment to multiple volumes of contaminated water.

According to the findings of this thesis, an integrated treatment system comprising of an anaerobic SBR followed by a sand filtration unit provides almost complete total and hexavalent chromium removal. Biological and physical treatment of groundwater with an initial Cr(VI) concentration of 200 µg/L resulted in effluent total and dissolved chromium concentrations that were in the 3-10 µg/L and 0.5-2.5 µg/L range, respectively.

f) *Treatment cost evaluation.*

A cost evaluation of an SBR water treatment unit, was carried out at a full scale level. For a full scale SBR unit with a treatment capacity of 10 m³/d, the total cost varies between 0.68 - 0.86 €/m³, depending on the type of substrate used. Respectively the cost of an SBR system with a treatment capacity of 100 m³/d varies between 0.16 - 0.34 €/m³.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει ως κύριο αντικείμενο την αντιμετώπιση της ρύπανσης των υπόγειων υδάτων με χρώμιο. Τα υπόγεια ύδατα, τα οποία αποτελούν αξιοποιήσιμους υδατικούς πόρους, συνήθως χαρακτηρίζονται ως καλής ποιότητας νερά, λόγω της φυσικής διήθησης τους μέσω της διέλευσης τους από εδαφικά στρώματα. Τις τελευταίες δεκαετίες η αύξηση της χρήσης χημικών και οι παραγόμενοι αστικοί και βιομηχανικοί ρύποι, αποτελούν μεγάλη απειλή για αυτά. Επικίνδυνοι ρύποι ανθρωπογενούς προέλευσης είναι τα βαρέα μέταλλα και πιο συγκεκριμένα το εξασθενές χρώμιο Cr(VI), το οποίο από τη στιγμή που θα απελευθερωθεί στο περιβάλλον, σε ένα μεγάλο ποσοστό θα καταλήξει στα υπόγεια νερά, γιατί είναι συνήθως ευδιάλυτο στο νερό. Η αύξηση των επιπέδων ρύπανσης των υπόγειων νερών έχει εισάγει μια εξαιρετικά σοβαρή απειλή για την ισορροπία των οικοσυστημάτων, τη βιοποικιλότητα αλλά και την ανθρώπινη υγεία. Το εξασθενές χρώμιο στο φυσικό νερό οφείλεται σε ανθρωπογενή ρύπανση ή/και σε φυσικά αίτια όπως διάλυση πετρωμάτων που περιέχουν χρώμιο στο υπόγειο νερό.

Το εξασθενές χρώμιο είναι τοξικό για την υδρόβια ζωή, ενώ έχουν καθιερωθεί συγκεκριμένα πρότυπα για την ποιότητα του νερού με κεντρικό στόχο την προστασία των υδρόβιων ειδών. Το pH του νερού έχει σημαντική επίδραση στον καθορισμό της βιοδιαθεσιμότητας του μετάλλου στα ψάρια και στις συναφείς τοξικές επιδράσεις του. Η τοξικολογική παθολογία στα ψάρια επηρεάζεται από παράγοντες όπως τα είδη, την ηλικία, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, το χρόνο και τη συγκέντρωση έκθεσης (Velma and Tchounpou, 2010). Το να απορρίπτονται μεγάλες συγκεντρώσεις χρωμίου στα διάφορα οικοσυστήματα έχει πολλές και καταστροφικές επιπτώσεις στην πανίδα και χλωρίδα και κατ'επέκταση στον άνθρωπο. Η ρύπανση του εδάφους και των νερών με χρώμιο, εξαιτίας ανθρωπογενών δραστηριοτήτων προκαλεί επίσης σειρά προβλημάτων, τόσο στη γεωργία όσο και στην κτηνοτροφία (Ένωση Ελλήνων Χημικών, 2007). Το χρώμιο που προέρχεται από τη φύση συνδέεται με την έλλειψη γονιμότητας του εδάφους μόνο σε μερικές

περιοχές, και αυτό λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων του Cr(VI) αυτές. Η υψηλή διαλυτότητα του εξασθενούς χρωμίου στο νερό προκαλεί στη συνέχεια την απορρόφηση του από τα φυτά από το ριζικό σύστημα (Zayed, 2003).

Το ερευνητικό αντικείμενο της παρούσας εργασίας αφορά τη διερεύνηση βιολογικών μεθόδων απομάκρυνσης του εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα. Ο απώτερος σκοπός ήταν να διασαφηνιστούν κατόπιν πειραμάτων οι βέλτιστες λειτουργικές συνθήκες ενός βιοαντιδραστήρα που θα έχει ως στόχο τη βιομετατροπή του Cr(VI) του υπογείου νερού σε Cr(III) , από αναγωγικά βακτήρια, με τη μεγαλύτερη δυνατή απόδοση και το χαμηλότερο κόστος.

Στο Κεφάλαιο 2 της παρούσας διατριβής παρουσιάζεται το θεωρητικό υπόβαθρο και γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με το θέμα της εργασίας. Αρχικά γίνεται αναφορά για τη χρήση του εξασθενούς χρωμίου στην καθημερινότητα των ανθρώπων, η οποία αν καταστεί αλόγιστη δημιουργεί πολλά περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Περιγράφεται η τοξικότητα των διάφορων μορφών του χρωμίου στη φύση και στους ζώντες οργανισμούς και παρατίθενται τα νομοθετικά όρια των επιτρεπόμενων συγκεντρώσεων τους για ύδρευση και άρδευση. Περιγράφεται εν συνεχεία η παρουσία του χρωμίου στο υδατικό περιβάλλον, αναλύονται οι μορφές του και εξετάζονται οι φυσικές και χημικές ιδιότητες. Ακολουθώντας, η βιβλιογραφική ανασκόπηση εστιάζει στη μελέτη των βιοχημικών μεταβολών που συντελούνται από τους μικροοργανισμούς προκειμένου να απομακρύνουν εξασθενές χρώμιο, με σκοπό την κατανόηση της λειτουργίας τους. Αναπόσπαστο κομμάτι της βιβλιογραφικής αυτής ανασκόπησης είναι η αναφορά των πιο ευρέως μελετημένων αναγωγικών βακτηρίων, τα οποία σε συγκεκριμένες αναγωγικές συνθήκες και με το κατάλληλο υπόστρωμα επιτυγχάνουν τη βιομετατροπή του εξασθενούς χρωμίου σε τρισθενές. Στη συνέχεια αναλύονται οι βασικές διεργασίες μέσω των οποίων μεταβάλλεται η χημική κατάσταση του χρωμίου. Με γνώμονα αυτό, παρατίθενται οι φυσικοχημικές τεχνολογίες απομάκρυνσης του από το νερό, αλλά και η βιοτεχνολογική προσέγγιση απορρύπανσης, όπως αυτή της βιοχημικής αναγωγής. Με αφορμή όλη την παραπάνω βιβλιογραφική έρευνα, αναδεικνύεται αναγκαία η διερεύνηση βιολογικών μεθόδων απομάκρυνσης του εξασθενούς και ολικού χρωμίου στην επεξεργασία υπογείων υδάτων, με βιολογικά συστήματα, που αποτελεί και το στόχο της παρούσας διατριβής.

Στο Κεφάλαιο 3 περιγράφονται οι διατάξεις των αντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν, το πειραματικό πρωτόκολλο, καθώς και οι μέθοδοι προσδιορισμού των λειτουργικών παραμέτρων τους.

Το Κεφάλαιο 4 περιλαμβάνει το πειραματικό μέρος της διδακτορικής διατριβής που στόχευσε στη διερεύνηση της επίδρασης των ακόλουθων παραμέτρων στην βιολογική επεξεργασία των υπόγειων υδάτων για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου. Οι παράμετροι που διερευνήθηκαν ήταν οι εξής παρακάτω:

- Επίδραση του αποδέκτη ηλεκτρονίων στην αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών
- Επίδραση του δότη ηλεκτρονίων και της συγκέντρωσης αυτού στην αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών
- Επίδραση της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου στην αναχαίτιση της βιολογικής αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου
- Επίδραση της θερμοκρασίας στην απόδοση αναγωγής εξασθενούς χρωμίου από αναγωγικά βακτήρια

Επιπλέον των ανωτέρω διερευνήσεων, μελετήθηκε η βελτιστοποίηση της απόδοσης της βιολογικής επεξεργασίας υπογείων υδάτων για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου, μέσω της χρήσης αμμόφιλτρου και πολλαπλών κύκλων επεξεργασίας, δηλαδή μελετώντας τον υδραυλικό χρόνο παραμονής HRT.

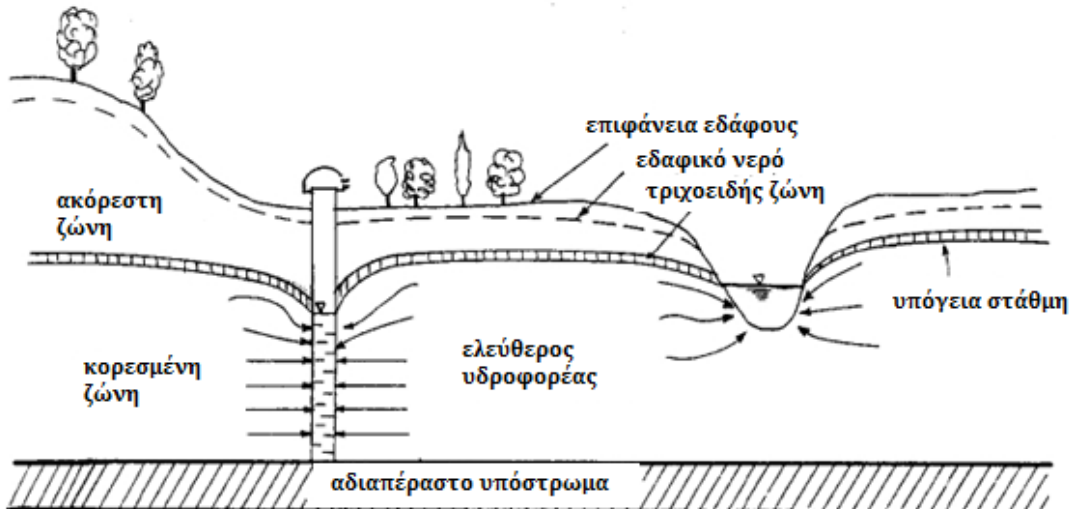
Το Κεφάλαιο 5 περιλαμβάνει τα συμπεράσματα της διδακτορικής διατριβής και προτάσεις για περαιτέρω έρευνα.

Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

2.1 Εισαγωγή

Το νερό παίζει κρίσιμο ρόλο στην πρωτογενή παραγωγή (γεωργία και κτηνοτροφία), όπου παρατηρείται ότι αυξάνεται διαρκώς το ποσοστό χρήσης των υπόγειων νερών σε βάρος των επιφανειακών. Με την επίταση των φαινομένων της λειψυδρίας σε παγκόσμιο επίπεδο, όλο και συχνότερα οι άνθρωποι καταφεύγουν στην εύκολη λύση, δηλαδή στην εκμετάλλευση των «έτοιμων» υπόγειων αποθεμάτων (Dermatas et al., 2008a).

Το υπόγειο νερό αποτελεί το μέρος του νερού που περιλαμβάνεται στους εδαφικούς και γεωλογικούς σχηματισμούς και βρίσκεται κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Το νερό στους σχηματισμούς αυτούς μπορεί να καταλαμβάνει και να γεμίζει τους πόρους του εδάφους, περίπτωση που χαρακτηρίζεται ως κορεσμένη, ή να καταλαμβάνει μέρος του πορώδους, περίπτωση που είναι γνωστή ως ακόρεστη (Αντωνόπουλος, 1999). Σε μια κατακόρυφη τομή του εδάφους διακρίνονται δύο ζώνες, η ακόρεστη από την επιφάνεια του εδάφους μέχρι την υπόγεια στάθμη και η κορεσμένη ζώνη κάτω από την υπόγεια στάθμη μέχρι το αδιαπέραστο υπόστρωμα (Σχήμα 2.1). Στην ακόρεστη ζώνη το νερό συγκρατείται με μεγάλες δυνάμεις από τα στερεά συστατικά του εδάφους. Η κίνηση του νερού στη ζώνη αυτή επηρεάζεται από τις τριχοειδείς και τις δυνάμεις βαρύτητας. Στην κορεσμένη ζώνη του εδάφους, οι πόροι είναι γεμάτοι με νερό που βρίσκεται υπό πίεση μεγαλύτερη της ατμοσφαιρικής. Οι γεωλογικοί σχηματισμοί που περιέχουν νερό που μπορεί εύκολα να μετακινηθεί και να χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο λέγονται υδροφόρα στρώματα ή υδροφορείς (Τερζίδης και Καραμούζης, 1985). Καθώς το νερό είναι η βασικότερη προϋπόθεση για την ύπαρξη ζωής, οι υπόγειοι υδροφορείς επηρεάζουν καθοριστικά τα οικοσυστήματα και τις δραστηριότητες του ανθρώπου σε όλα τα μήκη και τα πλάτη της γης. Υπόγειοι υδροφορείς βρίσκονται θεωρητικά παντού σε όλο τον πλανήτη και μαζί με το έδαφος συνιστούν το αποκαλούμενο γεω-περιβάλλον.



Σχήμα 2.1: Κατακόρυφη τομή του εδάφους (Αντωνόπουλος, 1999)

Το νερό, είτε προέρχεται από τις βροχοπτώσεις είτε από τα υγρά απόβλητα που εφαρμόζονται στο έδαφος είναι ο κύριος παράγοντας μεταφοράς των ρύπων μέσα στο έδαφος. Το επιφανειακό νερό διηθείται στο έδαφος και διαμέσου της ακόρεστης ζώνης κινείται προς τους υπόγειους υδροφορείς, όπου διακλαδίζεται προς διάφορες διευθύνσεις ανάλογα με τις συνθήκες ροής που επικρατούν στον υδροφορέα. Το ρυπασμένο νερό ακολουθεί τις καθορισμένες διαδικασίες κίνησης του υπόγειου νερού. Κατά την κίνηση του μέσα σε έναν υδροφορέα έχει τη μορφή βολβού (bulb) ή πλουμίου (plume) που επεκτείνεται κατά μήκος των γραμμών ροής από τη θέση της πηγής. Με την παρέλευση του χρόνου, το ρυπασμένο νερό είτε μειώνεται μέσα στον υδροφορέα ή οδηγείται προς ένα φρεάτιο ή ευκαιριακά εξέρχεται στα επιφανειακά υδάτινα συστήματα (Τερζίδης και Καραμούζης, 1985). Τα υπόγεια νερά είναι ένας φυσικός πόρος που απαιτεί πάνω από όλα προστασία από πιθανή ρύπανση, μακροχρόνιο σχεδιασμό χρήσης και εν γένει ορθολογική διαχείριση-αυτό που στη θεωρία αποτελεί τους βασικούς πυλώνες της υδατικής πολιτικής- αλλά που δυστυχώς μόνο σε λίγες περιπτώσεις εφαρμόζεται.

Η ρύπανση των υπόγειων υδροφορέων αποτελεί μία από τις μεγαλύτερες απειλές στον πλανήτη σήμερα καθώς μάλιστα τα αποθέματα γλυκού νερού περιορίζονται δραστικά, από τις ολοένα και μεγαλύτερες πιέσεις που προέρχονται από την κλιματική αλλαγή και την αύξηση του πληθυσμού. Τις τελευταίες δεκαετίες οι σύγχρονοι τρόποι ζωής, δηλαδή η

αύξηση χρήσης χημικών και οι αστικοί και βιομηχανικοί ρύποι, αποτελούν σήμερα μεγάλη απειλή για τα υπόγεια ύδατα. Η αύξηση των επιπέδων ρύπανσης των υπόγειων νερών έχει εισάγει ένα σοβαρό πρόβλημα για την ισορροπία των οικοσυστημάτων, τη βιοποικιλότητα αλλά και για την ανθρώπινη υγεία (Dermatas et al., 2008a).

Στις μέρες μας, η παρουσία του χρωμίου στο υπόγειο νερό οφείλεται είτε σε υγρά και στερεά βιομηχανικά απόβλητα είτε σε στην αποσάθρωση πετρωμάτων (γεωγενής προέλευση), ενώ η αντιμετώπιση του έχει προκαλέσει διεθνώς το ερευνητικό ενδιαφέρον. Στη χώρα μας χαρακτηριστικό παράδειγμα ρύπανσης αποτελούν τα υπόγεια ύδατα της ευρύτερης περιοχής της υδατικής λεκάνης του Ασωπού ποταμού, στα οποία οι συγκεντρώσεις του χρωμίου μετρήθηκαν πολλαπλάσιες του ανώτερου επιτρεπτού ορίου για τα πόσιμα ύδατα. Πιο συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια του ερευνητικού προγράμματος Life-Charm σχετικά με τη ρύπανση της ευρύτερης περιοχής της Βοιωτίας από Cr(VI), προέκυψε μια έντονα ρυπασμένη περιοχή στα Οινόφυτα με συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου στο υπόγειο νερό μέχρι και 10,000 $\mu\text{g/L}$ (δηλαδή 200 φορές πάνω από το όριο), ενώ λόγω γεωγενούς προέλευσης στην ευρύτερη περιοχή της ΛΑΠ Ασωπού το εξασθενές χρώμιο στο υπόγειο νερό δεν ξεπέρασε τα 100 - 150 $\mu\text{g/L}$.

Κατά συνέπεια, η οριοθέτηση, αξιολόγηση και αποκατάσταση ρυπασμένων με χρώμιο υπογείων υδάτων είναι ένα εξαιρετικά σύνθετο πρόβλημα με οικονομικές και κοινωνικές διαστάσεις.

2.2 Χρήσεις Χρωμίου στη βιομηχανία

Το χρώμιο και οι ενώσεις του, όπως προαναφέρθηκε, βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία. Πιο αναλυτικά, η χρήση τους κατανέμεται ως εξής:

- **Μεταλλουργία:** Οι μεταλλοβιομηχανίες χρησιμοποιούν πολλές ενώσεις του Cr(VI) ως επιστρώσεις προστασίας μεταλλικών επιφανειών από τη διάβρωση (anti-corrosion and conversion coatings) (Xia and McCreerya, 1998). Στη συγκεκριμένη διεργασία, τμήμα της μεταλλικής επιφάνειας μετατρέπεται με χημικό ή ηλεκτροχημικό τρόπο σε

αδρανή επίστρωση. Η διεργασία επίστρωσης με χρωμικά (chromate conversion coating, CCC) εφαρμόζεται για την παθητικοποίηση (passivation) μεταλλικών επιφανειών αλουμινίου, ψευδαργύρου, καδμίου, χαλκού, αργύρου, μαγνησίου, κασσιτέρου και κραμάτων τους. Τα κυριότερα άλατα που χρησιμοποιούνται σε αυτή τη διεργασία είναι το χρωμικό ασβέστιο (CaCrO_4), το χρωμικό στρόντιο (SrCrO_4) και ο χρωμικός ψευδάργυρος (ZnCrO_4). Για την ίδια διεργασία χρησιμοποιείται και το τριοξείδιο του χρωμίου (Cr_2O_3). Τα παραπάνω χρωμικά άλατα έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν μια εξαιρετικά λεπτή επικάλυψη, απροσπέλαστη από το νερό και τον αέρα. Η σχετικά υψηλή σκληρότητα και η αντοχή στη διάβρωση σε συνδυασμό με την απaráμιλλη αντοχή, είναι αποτέλεσμα της μεταλλικής επίστρωσης με χρώμιο (Dennis and Such, 1993).

- Η μεγαλύτερη ποσότητα χρωμίου χρησιμοποιείται στη μεταλλουργία για την παραγωγή ανοξειδώτου χάλυβα και διαφόρων κραμάτων όπως Fe-Ni/ Cu-Cr. Με την προσθήκη χρωμίου σε ποσοστό 11% ως ελάχιστο ποσοστό το οποίο μπορεί και να φτάσει 30%, οι χρωμιοχάλυβες εμφανίζουν μεγαλύτερη αντοχή σε σχέση με τον κοινό χάλυβα στη διάβρωση και στην οξείδωση σε φυσικό και αστικό περιβάλλον. Οι χάλυβες εργαλείων μεγάλης ταχύτητας περιέχουν ποσοστό μεταξύ 3 και 5% σε χρώμιο. Δεν μπορεί να παραληφθεί το γεγονός ότι υποκατάστατο χρωμίου για την παραγωγή ανοξειδώτου χάλυβα δεν υπάρχει. Το χρώμιο δημιουργεί ένα μικροσκοπικό στρώμα (10–100 nm) τριοξειδίου του χρωμίου (Cr_2O_3), το οποίο προστατεύει το μεταλλικό υπόστρωμα από την οξείδωση και τη διάβρωση, αλλά ταυτόχρονα εξαιρετικά λεπτό ώστε το κράμα να μη χάνει τη λάμψη του (Stainless Steel Information Center, 2007).
- Συντηρητικό ξύλου: Το 1996, το 52% της παραγωγής των ενώσεων Cr στις ΗΠΑ χρησιμοποιούνταν στην παρασκευή ενός συντηρητικού ξύλου, του χρωμιωμένου αρσενικού χαλκού (chromated copper arsenate, CCA). Το CCA είναι μίγμα χρωμικών αλάτων, οξειδίου του χαλκού και οξειδίου του αρσενικού (As_2O_5). Τα χρωμικά δρουν ως χημικά στερεωτικά μέσα (chemical fixing) του χαλκού και αρσενικού, τα οποία δρουν ως μυκητοκτόνα/βακτηριοκτόνα και ως εντομοκτόνα, αντίστοιχα (Hingston et al., 2001).

- Πυρίμαχο υλικό: Το χρώμιο έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή πυρίμαχων υλικών, όπως για παράδειγμα για την παραγωγή πυρίμαχων τούβλων με μαγνήσιο και άμμων χυτηρίων σε ποσοστά 11-18% (Ashby and Jones, 1998; Saha et al., 2011). Στα πυρίμαχα τούβλα ωστόσο δε χρησιμοποιείται ευρέως πλέον αφού παρουσιάζει υψηλό σημείο τήξης, μικρή θερμική διαστολή και κρυσταλλική σταθερότητα στη δομή του.
- Χρωματουργία: Το ορυκτό κροκοΐτης (χρωμικός μόλυβδος $PbCrO_4$), γνωστός ως κίτρινο του χρωμίου είναι μια εξαιρετικής ποιότητας κίτρινη χρωστική, χρησιμοποιείται στο χρωματισμό του βινυλίου, του ελαστικού (rubber) και του χαρτιού, αλλά λόγω της μεγάλης τοξικότητας του η χρήση του αποθαρρύνθηκε. Στο χρωμικό μόλυβδο οφείλονται και άλλες χρωστικές όπως το λαμπερό κόκκινο ($PbCrO_4 \cdot Pb(OH)_2$), οι οποίες λόγω περιβαλλοντικής ασφάλειας αντικαταστάθηκαν από οργανικές χρωστικές, απαλλαγμένες από την παρουσία μόλυβδου. Επίσης, το οξειδίο του τρισθενούς χρωμίου (Cr_2O_3) χρησιμοποιείται ως πράσινο χρώμα στην υαλοποιία, στα πλαστικά αλλά και στην κεραμική (Anger et al., 2000).
- Υφαντουργία: Στην υφαντουργία το χρώμιο συναντάται στο φινίρισμα, στις βαφές των ρούχων, στον καθαρισμό, στην απολίπανση κ.ά.
- Βυρσοδεψία: Εκτεταμένη χρήση των αλάτων του $Cr(VI)$ (κυρίως του χρωμικού νατρίου και αμμωνίου) γίνεται στη βυρσοδεψία για την κατεργασία δερμάτων (δέψη, leather tanning). Η δέψη με χρωμικά είναι ταχύτερη από τη δέψη με φυτικές ταννίνες και τα δέρματα που παράγονται με αυτόν τον τρόπο έχουν μεγαλύτερη αντοχή στην τάση και είναι ιδανικά για δερμάτινες τσάντες και ρούχα (Ashby and Jones, 1998; Saha et al., 2011).
- Καταλύτης: Αρκετές ενώσεις χρωμίου χρησιμοποιούνται ως καταλύτες στην παραγωγή υδρογονανθράκων. Για παράδειγμα, οι καταλύτες Phillips για την παρασκευή πολυαιθυλενίου είναι μείγματα από χρώμιο και διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2) ή μείγματα χρωμίου, τιτανίου και οξειδίου του αλουμινίου (Al_2O_3) (Weckhuysen et al., 1999). Επιπλέον, οξείδια σιδήρου και χρωμίου έχουν χρησιμοποιηθεί σε υψηλές θερμοκρασίες ως καταλύτες της αντίδρασης αερίου

μονοξειδίου του άνθρακα με ατμούς νερού (Twigg, 1989): $CO(g) + H_2O(v) \rightarrow CO_2(g) + H_2(g)$

Επίσης ο χρωμικός χαλκός ($Cu_2Cr_2O_5$) είναι ένας χρήσιμος καταλύτης στην αντίδραση υδρογόνωσης.

- Τέλος, χρησιμοποιείται στα οδοντοτεχνικά (CoCr και NiCr), ενώ το διχρωμικό κάλιο ($K_2Cr_2O_7$) χρησιμοποιείται ως οξειδωτικό μέσο για ποσοτικές αναλύσεις.

Ως συνέπεια της ευρείας βιομηχανικής χρήσης του χρωμίου, το στοιχείο αυτό έχει εξελιχθεί σε σοβαρό ρύπο των φυσικών οικοσυστημάτων, καθώς το χρώμιο διαφεύγει σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα βιομηχανικά απόβλητα. Η ρύπανση των φυσικών οικοσυστημάτων με χρώμιο αποτελεί σοβαρό κίνδυνο τόσο για την περιβαλλοντική ισορροπία όσο και για τον άνθρωπο.

Για παράδειγμα στις ΗΠΑ οι βιομηχανίες χρησιμοποιούν ως πρώτη ύλη ετησίως περίπου 50.000 τόνους χρωμίου εκ των οποίων περίπου 2.000 τόνοι ετησίως καταλήγουν στο περιβάλλον (EPA, 1978, 1990).

2.3 Χρώμιο στο Περιβάλλον (Μηχανισμοί εξάπλωσης-Επιπτώσεις)

2.3.1 Μηχανισμοί Εξάπλωσης του Χρωμίου στο Περιβάλλον

Η μεταφορά και η συμπεριφορά του χρωμίου αλλά και γενικά διαφόρων ρύπων στο περιβάλλον καθορίζεται από μια σειρά πολύπλοκων διεργασιών και διαδικασιών. Κάποιες τέτοιες διεργασίες είναι η συναγωγή, η μοριακή διάχυση, η μηχανική διασπορά, η ρόφηση καθώς και οι χημικές και βιολογικές αντιδράσεις. Οι ορισμοί των παραπάνω φαινομένων αναλύθηκαν εκτενώς το 2004 από τους Stanin και Pirnie.

Συναγωγή είναι η μεταφορά μάζας και οφείλεται αποκλειστικά στη ροή του υπόγειου νερού, εάν σε μια ιδανική περίπτωση δε συνέβαιναν αντιδράσεις του στοιχείου με νερό και έδαφος. Η μεταφορά της μάζας αυτής μπορεί να γίνει προς όλες τις κατευθύνσεις ή

προς συγκεκριμένες κατευθύνσεις αναλόγως του γεωλογικού υλικού και γενικά της ετερογένειας που τείνει να επικρατεί στη φύση.

Η μοριακή διάχυση έχει να κάνει με το φαινόμενο μεταφοράς μάζας που προκαλείται και έχει ως σημείο εκκίνησης την κινητική ενέργεια των μορίων, την ευρέως γνωστή κίνηση Brown. Είναι κατανοητό ότι δε χρειάζεται να υπάρχει υδραυλική κλίση αφού δεν έχει να κάνει με την υψηλή και χαμηλή συγκέντρωση αλλά με την ενέργεια που έχουν τα ίδια τα μόρια.

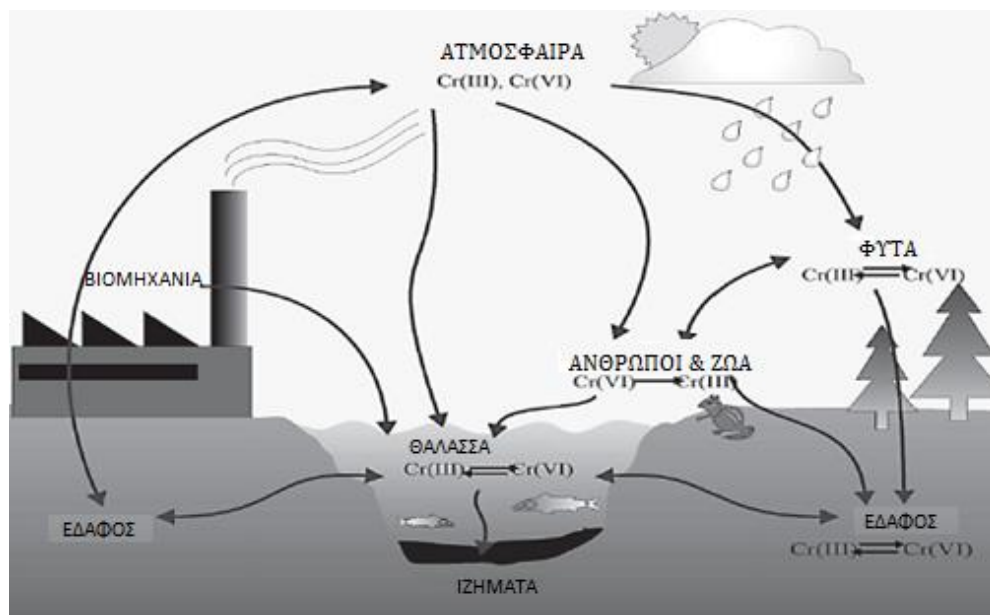
Η μηχανική διασπορά αποτελεί μία διεργασία αναμίξεως που οφείλεται σε 3 μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί αφορούν τη διαφορά στην ταχύτητα του ρευστού στη διατομή των πόρων. Δηλαδή, η ταχύτητα στη μέση του πόρου είναι μεγαλύτερη από αυτή που είναι κοντά στα τοιχώματα. Τέλος, μερικοί πόροι έχουν μεγαλύτερη διάμετρο από άλλους και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να αναπτύσσονται μεγαλύτερες ταχύτητες στους μεγαλύτερους πόρους. Η εγκάρσια διασπορά είναι η ανάμιξη και η εξάπλωση μιας μάζας στη διεύθυνση της ροής.

Ο συνδυασμός της μοριακής διάχυσης και μηχανικής διασποράς λέγεται υδροδυναμική διασπορά. Αποτέλεσμα αυτής είναι κάποια μόρια είτε νερού είτε της μάζας μιας χημικής ένωσης να κινούνται με μεγαλύτερη ή μικρότερη ταχύτητα από τη μέση ταχύτητα του ρευστού στο οποίο βρίσκονται. Άρα υπάρχει εξάπλωση των ρύπων.

Προσρόφηση είναι η προσκόλληση ατόμων, ιόντων ή μορίων ενός αερίου, υγρού, ή διαλυμένου στερεού σε μία επιφάνεια. Η διεργασία αυτή δημιουργεί έναν υμένα του προσροφημένου υλικού στην επιφάνεια του μέσου που προσροφά. Η διεργασία αυτή διαφέρει από την απορρόφηση, στην οποία ένα υγρό διαπερνά ένα υγρό ή ένα στερεό ή διαλύεται σε αυτό. Ο όρος ρόφηση περιλαμβάνει και τις δύο διεργασίες.

Το τρισθενές χρώμιο Cr(III) και το εξασθενές χρώμιο Cr(VI), είναι οι δύο κυριότερες μορφές χρωμίου, αλλά ταυτόχρονα και οι δύο σταθερότερες καταστάσεις οξειδωσης του. Διαφέρουν δραστικά ως προς τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, ως προς τις αντιδράσεις που σχηματίζουν με τα υπόλοιπα στοιχεία καθώς και ως προς την επικινδυνότητα τους.

Δίνεται στη συνέχεια η σχηματική απεικόνιση (Σχήμα 2.2) του κύκλου ζωής του χρωμίου, στις μορφές τρισθενούς και εξασθενούς χρωμίου, και των τρόπων μεταφοράς του μέσω αέρα, νερού και εδάφους. Διαπιστώνεται ότι τα σωματίδια χρωμίου παρασύρονται και μεταφέρονται στην ατμόσφαιρα μέσω της ταχύτητας του ανέμου και έτσι αλληλοεπιδρά με πολλά οικοσυστήματα.



Σχήμα 2.2: Ο κύκλος ζωής του χρωμίου στο περιβάλλον (Καλογήρου et al., 2013)

2.3.2 Το Χρώμιο στο Υδάτινο Περιβάλλον

Το χρώμιο εμφανίζεται και στην υγρή του μορφή διαλυμένο και στην σταθερή του μορφή ως ίζημα στον πυθμένα ποταμών, λιμνών και θάλασσας, στα άγια του βυθού και το πλαγκτόν. Σε καθαρά ύδατα οι συγκεντρώσεις του χρωμίου είναι συνήθως χαμηλές (της τάξης των 5 $\mu\text{g/L}$) χωρίς να εξαιρούνται οι περιπτώσεις υδάτων σε επαφή με φυσικά πετρώματα με υψηλές συγκεντρώσεις χρωμίου (π.χ. ηφαιστειογενή υπερβασικά πετρώματα). Σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν και η απόρριψη αποβλήτων από βιομηχανίες (βαφεία, μεταλλουργίες, βυρσοδεψία), τα ατυχήματα, η απόπλυση από χωματερές από πύργους ψύξης αλλά και από χώρους υγειονομικής ταφής (ΧΥΤΑ) (Nriagu

and Niebbore, 1988). Αναλόγως της ρύπανσης, η διάρκεια παραμονής του ολικού χρωμίου σε λίμνες και ποταμούς κυμαίνεται από 5 έως 18 χρόνια από τη στιγμή της παύσης αυτής και το μεγαλύτερο μέρος του εξασθενούς επικάθεται τελικώς στα άλγη και τους οργανισμούς του πυθμένα.

Οι σταθερές καταστάσεις οξειδωσης του χρωμίου είναι το τρισθενές και το εξασθενές χρώμιο. Η ποσότητα και το είδος των ενώσεων χρωμίου στο νερό εξαρτάται από διάφορες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα. Μεταξύ άλλων είναι κυρίως η χημική και φωτοχημική οξειδοαναγωγική μετατροπή, οι αντιδράσεις καταβύθισης-διαλυτοποίησης και οι αντιδράσεις προσρόφησης-εκρόφησης (Stanin and Pirnie, 2004).

Το τρισθενές χρώμιο τείνει να καταβυθίζεται ή να προσροφάται. Συνεπώς θεωρείται σχετικά αδρανές, μη βιοδιαθέσιμο και μειωμένης τοξικότητας ως προς τους υδρόβιους οργανισμούς. Το εξασθενές χρώμιο είναι μια ισχυρά τοξική ουσία και έχει χαμηλές τιμές τοξικότητας LC50 (η συγκέντρωση που θανατώνει το 50% του πληθυσμού του εξεταζόμενου είδους). Θεωρείται ευκίνητο στο υδάτινο περιβάλλον, ενώ παραμένει στη διαλυτή φάση και θεωρείται επίσης βιοδιαθέσιμο (Stanin and Pirnie, 2004). Η συμπεριφορά του χρωμίου σε οξειδοαναγωγικούς όρους στο υδάτινο περιβάλλον είναι μια ιδιαίτερα πολύπλοκη αντίδραση και είναι εξαρτώμενη από τη συνεργιστική δράση και άλλων ρυπαντών βιομηχανικής ή γεωργικής προέλευσης.

Γενικότερα η ρύπανση των υπόγειων υδάτων μπορεί να είναι εκτενής σε διαπερατούς υδροφόρους όπως άμμο και χαλίκια, επειδή η ταχύτητα του νερού σε αυτές τις περιπτώσεις είναι αρκετά μεγάλη (ενδεικτικά 0,1 και 5 m το χρόνο αντίστοιχα). Αντίθετα σε μη διαπερατούς υδροφόρους συμβαίνει το αντίθετο, δηλαδή δεν υπάρχει διάχυση του ρύπου αφού οι ταχύτητες είναι πολύ μικρές, μερικά εκατοστά ή και λιγότερο το χρόνο. Συνεπώς το χρώμιο στην προκειμένη περίπτωση δεν μπορεί να βρεθεί μακριά από την πηγή του. Σε μικρής υδραυλικής αγωγιμότητας υδροφορείς, φορτία χρωμίου παρατηρούνται να μεταναστεύουν αργά εν αντιθέσει με τους υδροφόρους ορίζοντες που έχουν υψηλή υδραυλική αγωγιμότητα (Stanin and Pirnie, 2004).

Οι επιπτώσεις της χημείας του νερού στην παρουσία και κίνηση του χρωμίου μελετήθηκαν εκτενώς στο πεδίο (Kent et al., 1989). Αυτά τα πειράματα περιλάμβαναν

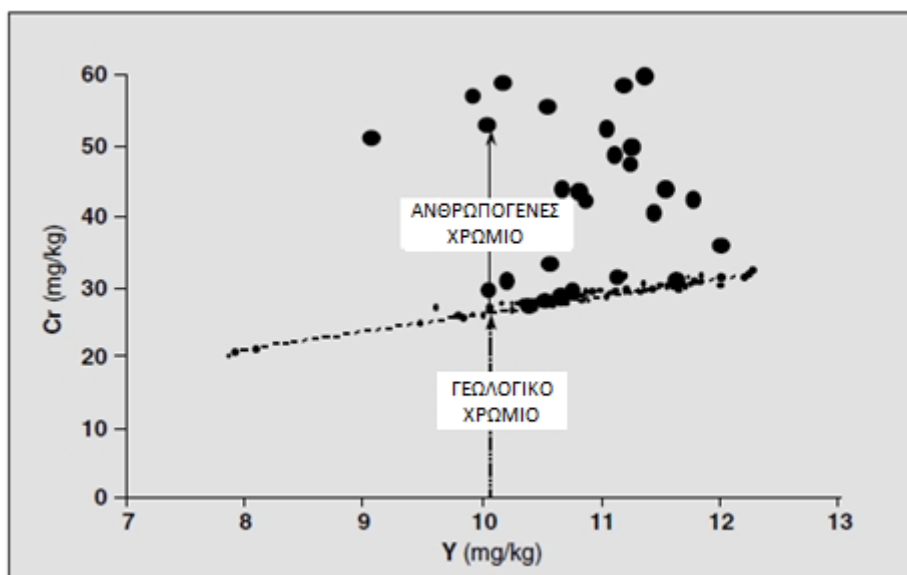
εγγύσεις 100 $\mu\text{mol/L}$ εξασθενούς χρωμίου σε διάφορες ζώνες υδροφόρου ορίζοντα. Κάποιες ποσότητες χρωμίου εξαφανίστηκαν από την υγρή φάση σε αναερόβια τμήματα του υδροφόρου λόγω της αναγωγής του σε τρισθενές που είναι δυσδιάλυτο σε αυτές τις συνθήκες. Το εξασθενές χρώμιο γενικώς μετανάστευσε με τον ίδιο ρυθμό περίπου με τη ροή του υπόγειου νερού εκτός περιοχών με χαμηλό pH και χαμηλές συγκεντρώσεις ανιόντων, αφού υπήρξε ανταγωνισμός μεταξύ αυτών των μορφών.

Το εξασθενές χρώμιο είναι τοξικό για την υδρόβια ζωή, ενώ έχουν καθιερωθεί συγκεκριμένα πρότυπα για την ποιότητα του νερού με κεντρικό στόχο την προστασία των υδρόβιων ειδών. Το pH του νερού έχει, όπως ειπώθηκε πριν, μια τεράστια επίδραση στον καθορισμό της βιοδιαθεσιμότητας του μετάλλου προς τα ψάρια και τις συναφείς τοξικές επιδράσεις του. Η τοξικολογική παθολογία στα ψάρια επηρεάζεται από παράγοντες όπως τα είδη, την ηλικία, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, το χρόνο έκθεσης και τη συγκέντρωση έκθεσης (Velma et al., 2010). Ορισμένα είδη ψαριών, ωστόσο, φαίνεται να δείχνουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην τοξικότητα του χρωμίου από άλλα.

2.3.3 Το Χρώμιο στο Έδαφος

Οι συγκεντρώσεις του χρωμίου στο έδαφος (υπό φυσικές συνθήκες) βρίσκονται μεταξύ των τιμών από 5 έως 3000 ppm. Η μεγάλη αυτή διακύμανση στη συγκέντρωση του χρωμίου στα υπάρχοντα πετρώματα, οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στη γεωλογική σύσταση αλλά και στην προέλευση των πετρωμάτων. Το χρώμιο είναι δυνατόν να εμφανιστεί στο έδαφος από διάβρωση των ιδίων μητρικών εδαφών, χωρίς δηλαδή την ανθρώπινη παρέμβαση. Αυτή είναι και η κύρια πηγή του στα φυσικά εδάφη. Το χρώμιο ως δυσδιάλυτο, προσκολλάται στους εδαφικούς κόκκους. Ένα μέρος προσλαμβάνεται από τα φυτά και ένα άλλο μέρος κατεισδύει προς τον υπόγειο υδροφόρο (Bartlett and Kimble, 1976; Handa, 1988). Σε κάποιες περιοχές, οι αυξημένες τιμές του χρωμίου στα εδάφη οφείλονται στις δραστηριότητες του ανθρώπου, δηλαδή στα απορρίμματα (ιλύς) ή και διαρροές (απόβλητα) από βιομηχανίες, αλλά και στην απόθεση και έκπλυση ατμοσφαιρικών σωματιδίων (από τις βιομηχανίες) (Richard and Bourg, 1991).

Πολύ λίγες γεωχημικές έρευνες που αφορούν το Cr(VI) από ρυπασμένες περιοχές αναφέρονται στην πρόσφατη βιβλιογραφία. Αυτό συμβαίνει κυρίως επειδή η επιστημονική έρευνα σε αυτόν τον τομέα είναι μάλλον νέα. Σχετικά πρόσφατες πειραματικές εργασίες στο έδαφος (Prokisch et al., 2000) έδειξαν ότι το ανθρωπογενές χρώμιο μπορούσε να διακριθεί από το γεωλογικό χρώμιο με την ανάλυση του ύττριου (Y) και του ολικού χρωμίου, τα αποτελέσματα των οποίων απεικονίζονται σε διάγραμμα Y-Cr του παρακάτω σχήματος (Σχήμα 2.3). Από πειραματικά δεδομένα, διαπιστώθηκε ότι σχετικά με το έδαφος που συλλέχθηκε από μη ρυπασμένες περιοχές, υπήρχε μία είχε πολύ στενή γραμμική συσχέτιση Cr-Y. Ωστόσο, για τις περιοχές που είχαν ρυπανθεί από ανθρωπογενείς χρώμιο, οι τιμές Cr-Y διασκορπίστηκαν.



Σχήμα 2.3: Διάγραμμα ολικού χρωμίου σε σχέση με το ύτριο για εδάφη που περιέχουν χρώμιο από ανθρωπογενείς γεωλογικές πηγές (Prokisch, 2000)

Πιο πρόσφατες πειραματικές εργασίες έδειξαν ότι μέση συγκέντρωση του ολικού χρωμίου στο φλοιό της γης υπολογίζεται ότι φτάνει στην τιμή 90 mg/kg. Στα εδάφη της Ευρώπης και των ΗΠΑ και συγκεκριμένα στα εδαφικά δείγματα που συλλέχθηκαν από τους Salminen et al. το 2005, παρουσιάζεται μια μέση τιμή στα 37 mg/kg και 60 mg/kg, αντιστοίχως.

Η σύγκριση των μετρήσεων σε Ελλάδα (222 mg/kg) και Ευρώπη φανερώνει ότι στην Ελλάδα υπάρχουν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου έναντι των υπόλοιπων ευρωπαϊκών χωρών. Αυτό εξηγήθηκε εν τέλει με την πρόταση ότι η γεωμορφολογία της Ελλάδας προκαλεί αυτή τη διαφορά αφού εντοπίζονται πολλά υπερβασικά πετρώματα, τα οποία και χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις χρωμίου (Salminen, 2005). Ο ανθρώπινος παράγοντας ωστόσο δεν μπορεί να αγνοηθεί.

2.3.4 Το Χρώμιο στους Ζώντες Οργανισμούς και Φυτά

Το χρώμιο λαμβάνεται από τους ζώντες οργανισμούς μέσω του αέρα, του νερού και του εδάφους (Kotas and Stasicka, 2000; Kimbrough et al., 1999). Είναι γνωστό ότι το εξασθενές χρώμιο είναι πιο διαθέσιμο για τους οργανισμούς σε σχέση με το τρισθενές. Η πρόσληψη του πρώτου από τους ζώντες μικροοργανισμούς είναι ένας κύριος λόγος της αφαίρεσης του εξασθενούς χρωμίου από τα υδατικά και τα εδαφικά συστήματα. Οι μικροοργανισμοί (όπως βακτήρια) συσσωρεύουν το χρώμιο και ανάγουν το εξασθενές σε τρισθενές (Campos et al., 1995; DeLeo and Ehrlich, 1994), διαδικασία που θα αναλυθεί εκτενώς σε επόμενες παραγράφους. Σε μεγάλες συγκεντρώσεις το εξασθενές χρώμιο είναι τοξικό για τους μικροοργανισμούς (Bartlett, 1991). Δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία για τη βιοσυσσώρευση του εξασθενούς χρωμίου στα βακτήρια, διότι όπου υπάρχουν αναφορές είναι σε όρους ολικού χρωμίου. Η βιβλιογραφία για τη βιοσυσσώρευση του χρωμίου σε υδρόβια ζώα (π.χ. ψάρια) δείχνει ότι το Cr(VI) δεν αναμένεται να συσσωρευθεί και να αυξηθεί στην υδάτινη τροφική αλυσίδα. Επίσης δεν υπάρχει καμία ένδειξη της βιολογικής μεγέθυνσης των χρωμίου εντός της χερσαίας τροφικής αλυσίδας των ζώων (Clay, 1992).

Υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις για την πρόσληψη και μετατόπιση του εξασθενούς χρωμίου στα φυτά όπως και για το αν το χρώμιο είναι μια αναγκαία ουσία ή όχι στα φυτά. Το τρισθενές χρώμιο θεωρείται ως σημαντικό στοιχείο για το μεταβολισμό των φυτών. Η χλωρίδα και η πανίδα δεν εμφανίζονται να επηρεάζουν ιδιαίτερα τον κύκλο ζωής του χρωμίου στο έδαφος ή τα υπόγεια νερά, αφού η συγκέντρωση του χρωμίου σε αυτά είναι πάρα πολύ μικρή (Καλογήρου et al., 2013). Εξάλλου το χρώμιο παρουσιάζει μικρή κινητικότητα στα φυτά σε σχέση με τη μεταφορά μέσω των χυμών από τη ρίζα στον

κορμό και στα φύλλα. Η ρίζα και ο βολβός έχουν ισοδύναμες ποσότητες χρωμίου με αυτές που υπάρχουν στο γύρω χώμα. Η εξασθενής ανιονική μορφή είναι βέβαια παραπάνω διαθέσιμη στους ζώντες οργανισμούς από ότι φυσικά το τρισθενές χρώμιο. Αυτό παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση του από το σύστημα νερού-εδάφους (Kotas and Stasicka, 2000).

2.3.5 Το Χρώμιο και η Επίδραση του στον Άνθρωπο

Το βαρύ μέταλλο χρώμιο φαίνεται να είναι βιολογικά αδρανές και γι' αυτό δεν έχει αναφερθεί καμία επίπτωση. Το τρισθενές χρώμιο είναι απαραίτητο για την υγεία των ανθρώπων, ενώ όλες οι τυπικές εκθέσεις θεωρούνται ότι είναι ασφαλείς. Οι ενώσεις του εξασθενούς χρωμίου είναι αυτές που ευθύνονται για την πλειονότητα των επιπτώσεων του χρωμίου, διότι είναι ουσιαστικά ισχυρά τοξικές, μεταλλαξιογόνες, καρκινογόνες και επικίνδυνες για το περιβάλλον. Η Αμερικανική Υπηρεσία Περιβαλλοντικής Προστασίας (EPA) το 1984 κατατάσσει το εξασθενές χρώμιο στην πρώτη από τις τέσσερις κατηγορίες στη σειρά κατάταξης των ουσιών με βάση την καρκινογόνο τους ισχύ και το τοποθετεί στην ομάδα Α. Αυτό σημαίνει ότι ουσιαστικά έχει μεγάλη καρκινογόνο ισχύ. Η έκθεση σε εξασθενές χρώμιο είναι ικανή να επιφέρει πολλά και διάφορα κλινικά προβλήματα. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι επιδράσεις που μπορεί να έχει το χρώμιο στους ανθρώπινους οργανισμούς. Οι συνήθεις τρόποι πρόσληψης της ουσίας είναι μέσω κατάποσης (τροφή ή πόση), επαφής με το δέρμα και εισπνοής. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιείται μέσω της εισπνοής, με το πόσιμο νερό, μέσω κατάποσης ή ακόμη και μέσω δερματικής επαφής με προϊόντα που περιέχουν ενώσεις εξασθενούς χρωμίου. Οι επιπτώσεις κατατάσσονται ως καρκινογενείς και μη καρκινογενείς. Έχει σημασία η διάρκεια έκθεσης (Health Protection Agency, 2007).

Οι επιπτώσεις στην υγεία για τον άνθρωπο που είναι δυνατόν να εμφανιστούν από μακρόχρονη έκθεση του σε χρώμιο έχουν να κάνουν με διάφορους παράγοντες όπως την ποσότητα του χρωμίου τη χημική μορφή του, το διάστημα έκθεσης του ατόμου, τον τρόπο απορρόφησης από τον οργανισμό, την ηλικία του ατόμου, το φύλο, το βάρος και φυσικά

τη γενική εικόνα υγείας του (ATSDR, 2008). Οι δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία ως προς τη χρονική διάρκεια μπορούν να ταξινομηθούν σε:

1. οξεία (14 ημέρες ή και λιγότερο)
2. ενδιάμεση (15 έως 364 ημέρες)
3. χρόνια (365 ημέρες ή περισσότερο)

Το χρώμιο στον οργανισμό του ανθρώπου μπορεί εύκολα να μετρηθεί στα ερυθρά αιμοσφαίρια του αίματος, στα ούρα και στις τρίχες από τα μαλλιά. Το τρισθενές χρώμιο χορηγείται και σαν θεραπεία, σε μικρές συγκεντρώσεις εντοπίζεται στους ιστούς και στα ούρα. Οι αναλύσεις του χρωμίου στον ανθρώπινο οργανισμό δείχνουν ουσιαστικά την έκθεση του στις ενώσεις χρωμίου. Οι πρωταρχικές επιδράσεις από έκθεση είτε σε εξασθενές χρώμιο είτε σε ενώσεις του είναι στην αναπνευστική οδό και στο γαστρεντερικό σύστημα.

Το χρώμιο στον αέρα παρουσιάζεται σαν αιωρούμενα σωματίδια ή διαλυμένο στη βροχή. Αυτά όμως δεν υπάρχουν σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Αντίθετα, η εισπνοή του εξασθενούς χρωμίου γίνεται κυρίως από σύμπλοκα που υπάρχουν σε μεγάλες συγκεντρώσεις όπως σκόνη, αναθυμιάσεις. Εδώ τα αποτελέσματα είναι σοβαρά. Το μεγαλύτερο τμήμα του εξασθενούς χρωμίου που εισέρχεται στο σώμα μέσω της εισπνοής καταλήγει τελικώς στους πνεύμονες. Ορισμένες μορφές του χρωμίου έχουν την ικανότητα να παραμείνουν στους πνεύμονες σε χρονική κλίμακα μήνα, χρόνου ή ακόμα και δεκαετίας. Για παράδειγμα η εισπνοή του τριοξειδίου του χρωμίου προκαλεί ρινικούς ερεθισμούς. Επίσης λόγω του ότι είναι διαλυτό απορροφάται πολύ εύκολα από τους πνεύμονες. Σχετική έρευνα που έγινε σε αυτά δείχνει ότι το εξασθενές χρώμιο που μεταφέρεται στο αίμα σαν σωματίδια που προέρχονται από τους πνεύμονες είναι τουλάχιστον 3 φορές περισσότερο από το αντίστοιχο τρισθενές χρώμιο (Suzuki et al., 1984). Παρόλο που ένα ποσοστό της τάξεως του 53 με 85% του εξασθενούς χρωμίου καθαρίζεται από τους πνεύμονες με προσρόφηση στο αίμα ή με φλέγματα στο φάρυγγα, παραμένει ένα ποσοστό της τάξεως του 15 με 47% το οποίο παραμένει στους πνεύμονες. Έκθεση των εργαζομένων σε εξασθενές χρώμιο από σειρά βιομηχανιών έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο καρκίνων του αναπνευστικού συστήματος (ATSDR, 2000). Τα περιστατικά που έχουν καταγραφεί σε εργαζομένους στις βιομηχανίες χημικών χρωμίου στις ΗΠΑ, την Ιαπωνία, την πρώην

Δυτική Γερμανία και τη Μεγάλη Βρετανία, αποδεικνύουν ότι υπάρχει σαφής σύνδεση μεταξύ της έκθεσης σε χρώμιο και του καρκίνου των πνευμόνων. Οι μελέτες που προαναφέρθηκαν επιβεβαιώθηκαν με εργαστηριακά πειράματα πάνω σε ζώα όμως, όπου και προέκυψε ότι οι ενώσεις εξασθενούς χρωμίου επηρεάζουν ή και καταστρέφουν το DNA και προκαλούν μεταλλάξεις.

Η πρώτη άμυνα κατά του εξασθενούς χρωμίου, μετά την είσοδο από τη στοματική κοιλότητα είναι ουσιαστικά η αντίδραση της αναγωγής του προς τρισθενές χρώμιο στο γαστρικό περιβάλλον (Da Flora et al., 1990). Η IARC (International Agency for Research on Cancer) το 1990 σε σχετική της έκθεση αναφέρει ότι, όταν το εξασθενές χρώμιο προσλαμβάνεται από το νερό μετατρέπεται σε ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό σε τρισθενές στο όξινο περιβάλλον του στομάχου, γεγονός που δεν επιτρέπει την περαιτέρω απορρόφηση του χρωμίου από τον οργανισμό. Η αναγωγή αυτή είναι 100% ολοκληρωμένη και έτσι δεν ανιχνεύεται στο γαστρικό σωλήνα ούτε στο αίμα. Το εξασθενές χρώμιο μπορεί επίσης να αναχθεί σε τρισθενές χρώμιο στο υγρό επιθηλιακής επιστρώσεως των πνευμόνων. Από το συνολικό χρώμιο που προσλαμβάνεται με την κατάποση, μόνο το 2%-3% προσροφάται από το έντερο και φαίνεται από την ποσότητα που απελευθερώνεται στα ούρα. Λήψη μεγάλων ποσοτήτων της ουσίας μπορεί να προκαλέσει έλκος στομάχου και σοβαρό γαστρεντερικό ερεθισμό, καταστροφή των νεφρών και του ήπατος. Δεν φαίνεται να παρουσιάζονται καρκινογενέσεις με την κατάποση και αυτό αποδεικνύεται από 3 διαφορετικές έρευνες. Η πρώτη αναφέρεται σε 2 πληθυσμούς στην Κίνα ο ένας εκ των οποίων ζούσε σε περιοχή ρυπασμένη. Στους δυο πληθυσμούς δεν παρουσιάστηκαν διαφορετικά επίπεδα θνητότητας (Zhang and Li, 1997). Η δεύτερη αναφέρεται σε 3 γενιές ποντικών (880 μέρες) όπου τους δινόταν καθημερινά δόση εξασθενούς χρωμίου 9 mg/Kg μάζας σώματος μέσω του νερού. Το αποτέλεσμα ήταν αρνητικό ως προς την ανάπτυξη καρκίνου (ATSDR, 2000). Τέλος, πειράματα με πληθυσμό αρουραίων έδειξαν πάλι αρνητικά αποτελέσματα. Για 2 χρόνια τους έδιναν δόση τρισθενούς χρωμίου αυτή τη φορά 2040 mg/Kg μάζας καθημερινά και 5 μέρες την εβδομάδα (Ivankovic and Preussmann, 1975).

Η επαφή με το δέρμα είναι ο λιγότερο κοινός τρόπος έκθεσης και μπορεί να γίνει μέσω κολύμβησης, μπάνιου ή με έδαφος που περιέχει χρώμιο. Συγκεκριμένα αυτά τα άτομα που

χρησιμοποιούν νερό στο μπάνιο τους ή το ντους το οποίο έχει υψηλή περιεκτικότητα σε εξασθενές χρώμιο είναι επόμενο πως έρχονται σε επαφή όχι μόνο μέσω του δέρματος αλλά και μέσω των αναθυμιάσεων και των υδρατμών (Finley, 1996). Το πιο κοινό σύμπτωμα είναι η αλλεργική αντίδραση του δέρματος όταν έρθει σε επαφή με προϊόντα που περιέχουν χρώμιο. Τέτοια είναι κυρίως τα ενδύματα ή υποδήματα από δέρμα το οποίο έχει κατεργαστεί με εξασθενές χρώμιο, το τσιμέντο, η μαγιά της μπύρας, τα συντηρητικά του ξύλου, η κόλλα, το αστάρι καθώς και οι χρωστικές ουσίες. Άλλες κύριες επιδράσεις του χρωμίου στο δέρμα είναι η πρωτογενής ερεθιστική δερματίτιδα και η αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής (Polak, 1983). Αλλεργική δερματίτιδα από χρώμιο χαρακτηρίζεται από συμπτώματα ξηρότητας, και οίδημα. Αυτά τα συμπτώματα εύκολα αντιμετωπίζονται κρέμες υδροκορτιζόνης ή με διαλύματα ασκορβικού οξέος (βιταμίνης C) (Health Protection Agency, 2000; WHO, 1997).

Τα σύμπλοκα του εξασθενούς χρωμίου είναι διαλυτά μπορούν να διαπεράσουν το δέρμα 10000 φορές γρηγορότερα από αυτά του τρισθενούς χρωμίου ($5 \cdot 10^{-11} \text{cm/s}$ και $5 \cdot 10^7 \text{cm/s}$ αντίστοιχα) (Corbett et al., 1997). Εάν υπάρχουν πληγές ή βλάβες στο δέρμα τότε ο ρυθμός διείσδυσης τρισθενούς και εξασθενούς χρωμίου είναι ταυτόσημος. Το εξασθενές χρώμιο ανάγεται σε τρισθενές από το αίμα πριν προλάβει να απορροφηθεί. Πρακτικά είναι η ίδια αναγωγή με την περίπτωση της κατάποσης. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα έδειξαν ότι οι ενώσεις του Cr(III) έχουν κακή απορρόφηση από το δέρμα (NIOSH, 2010).

Σχετικά με περαιτέρω επιδράσεις στην υγεία, ο μόνος τρόπος να υπάρξει πρόβλημα στα μάτια και την όραση είναι να υπάρξει απευθείας επαφή με το χρώμιο και τις ενώσεις του, αφού είναι ένα τοξικό βαρύ μέταλλο. Οι αναφορές που υπάρχουν σχετίζονται με εργάτες μεταλλουργικών εργοστασίων που εμφάνισαν επιπεφυκίτιδες, εγκαύματα, πληγές, διάλυση του βολβού του ματιού ίσως και καταστροφή του κερατοειδούς χιτώνα (WHO, 1997).

Επιπροσθέτως, είναι αναμφισβήτητο γεγονός ότι το αιματολογικό σύστημα είναι αρκετά ευπρόσβλητο σε σχέση με άλλα συστήματα στον ανθρώπινο οργανισμό διότι το απορροφημένο από τον οργανισμό χρώμιο, μεταφέρεται ταχύτατα σε όλο το σώμα με τη

ροή του αίματος και φτάνει ακόμα και στους πιο απομακρυσμένους ιστούς. Μαθηματικά, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις έχουν εμφανιστεί στο αίμα, στο συκώτι, στους πνεύμονες, στα νεφρά, στη σπλήνα και φτάνουν και μέχρι την καρδιά (Khitron and Jaeger, 2001). Ο κύριος τρόπος με τον οποίο επηρεάζεται το αίμα είναι με την κατάποση υποθανατηφόρων ή θανατηφόρων συγκεντρώσεων εξασθενούς χρωμίου ή επιπρόσθετα ακόμα και σε υπέρμετρη έκθεση. Ένα ποσοστό χρωμίου απορροφάται μέσω του πνεύμονα και έτσι μοιραία θα καταλήξει στο σύστημα του αίματος. Από όπου και απεκκρίνεται από τα νεφρά και το ήπαρ. Με κύριο κριτήριο το μέγεθος των δόσεων, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον ανθρώπινο οργανισμό από την 4η ως την 300η ημέρα έκθεσης. Ορατά μέγιστα αποτελέσματα έχουμε μετά την 3η εβδομάδα. Οι συνέπειες της έκθεσης αυτής μεταφράζονται στον οργανισμό συνήθως ως μικροκυτταρική και υποχρωμική αναιμία που χαρακτηρίζεται από μείωση του αιματοκρίτη (Hct), της αιμοσφαιρίνης (Hgb), του μέσου όγκου κυττάρου (MCV) και της μέσης μοριακής αιμοσφαιρίνης (MCH) (Khitron and Jaeger, 2001). Μεγάλες δόσεις χρωμίου μέσα στο αίμα δύνανται να οδηγήσουν σε βλάβες ή οξεία νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια (Khitron, 2010). Επιπλέον, σύμφωνα σε αρκετές μελέτες που έγιναν για το εξασθενές χρώμιο στον ανθρώπινο οργανισμό διαπιστώθηκε ότι με την είσοδο του εξασθενούς χρωμίου στο αίμα, αυτό ανάγεται από το πλήθος των αναγωγικών ουσιών και ενζύμων (όπως η γλουταθειόνη) κατά στάδια σε χαμηλότερου επιπέδου σθένους προκαλώντας προβλήματα στο DNA. Εντός του κυττάρου, η αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) μπορεί να προκαλέσει καταστροφή του DNA, θραύση των κλώνων του, σχηματισμό ενώσεων προσθήκης Cr(III)-DNA, διακλωνικές συνδέσεις και συνδέσεις πρωτεϊνών-DNA (Khitron and Jaeger, 2001).

Τέλος, προαναφέρθηκε έμμεσα ότι οι νεφροί και το ήπαρ επηρεάζονται από το εξασθενές χρώμιο. Συγκεκριμένα, είναι όργανα ευαίσθητα όταν βρεθούν κάτω από την ομπρέλα διαφόρων τοξικών ουσιών όπως είναι τα βαρέα μέταλλα και πιο συγκεκριμένα το χρώμιο. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της πλούσιας αιμάτωσης τους, αφού λαμβάνουν το 1/3 της καρδιακής παροχής. Έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία περιστατικά ανθρώπων με πρόβλημα στους νεφρούς τα οποία προκλήθηκαν μετά την εισπνοή ενώσεων Cr(VI) ή μέσω της κατάποσης αυτών. Η νεφρική προσβολή μπορεί να εμφανιστεί είτε οξέος, είτε

χρονίως, ως αποτέλεσμα έκθεσης. Σύμφωνα με τους ερευνητές μόνο η εξασθενής μορφή του χρωμίου μπορεί να επηρεάσει τις νεφρικές λειτουργίες (ATSDR, 2000). Οι ενώσεις του εξασθενούς χρωμίου προκαλούν σοβαρές επιδράσεις και στο συκώτι. Οι αναφερόμενες αυτές επιδράσεις στο ήπαρ περιλαμβάνουν βλάβες όπως η διαταραχή των κυττάρων του, ακόμα και η νέκρωση αυτού. Η έκθεση σε τρισθενές χρώμιο για ακόμα μια φορά, δεν έχει βρεθεί να προκαλεί διαφόρων ειδών επιδράσεις στο ήπαρ σε εργαζόμενους (ATSDR, 2000).

Έγιναν επιτυχείς προσπάθειες για την διαπίστωση της τοξικότητας του εξασθενούς χρωμίου ακόμα και στα έμβρυα. Πραγματοποιήθηκαν 2 εργαστηριακές μελέτες σε αρουραίους και ποντίκια στην περίοδο της εγκυμοσύνης. Το χρώμιο έφτανε στον οργανισμό διαμέσου της πόσης (νερού). Τα αποτελέσματα ήταν η καθυστέρηση της ανάπτυξης του εμβρύου, μείωση στο βάρος του καθώς και υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης θνησιγένειας. Δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι το εξασθενές χρώμιο είναι τοξικό όσον αφορά την ανθρώπινη αναπαραγωγή (ATSDR, 2008). Μετά από μελέτη σε πειραματόζωα που είχαν εκτεθεί σε εξασθενές παρατηρήθηκε σαν αποτέλεσμα η βλάβη του σπέρματος και η καταστροφή του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος (ATSDR, 2000). Για ακόμα μια φορά όμως, υπάρχουν περιορισμένες έως ελάχιστες ενδείξεις ότι οι ενώσεις εξασθενούς χρώμιο μπορεί να είναι τοξικές για το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (Health Protection Agency, 2007).

2.4 Νομοθετικό Πλαίσιο

Η ρύπανση των υπόγειων υδάτων αποτελεί για τις σημερινές κοινωνίες ένα πρόβλημα εκτεταμένο αλλά και δύσκολο στην αντιμετώπιση του. Για τον έλεγχο της ρύπανσης υπάρχουν δυο τρόποι αντιμετώπισης: η πρόληψη και οι μέθοδοι ελέγχου. Η πρόληψη ή ο έλεγχος των αποβλήτων στην πηγή είναι πιο αποδοτικός από την επεξεργασία και αποκατάσταση του νερού. Η νομοθεσία μέχρι πρόσφατα δεν ξεχώριζε το ολικό χρώμιο από το εξασθενές χρώμιο και είχε θεσπίσει κανονισμούς μόνο για το ολικό χρώμιο. Το σύνολο των νόμων, των οδηγιών, των αποφάσεων και των νομοθετημένων ορίων που ισχύουν στις ΗΠΑ (καθώς η πολιτεία της Καλιφόρνια ήταν η πρώτη που θέσπισε νόμο για το εξασθενές χρώμιο), στην Ευρώπη και στην Ελλάδα, για τα βαρέα μέταλλα και πιο συγκεκριμένα για το εξασθενές χρώμιο περιγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 2.1: Νομοθετικό πλαίσιο για το χρώμιο

Οδηγία-Κανονισμός-ΚΥΑ	Περιγραφή
<u>Ισχύουσα νομοθεσία (Η.Π.Α)</u>	
Πολιτεία της Καλιφόρνια (Η.ΠΑ)	Το 1999, μετά την υπόθεση Hinkley, η Καλιφόρνια έθεσε στόχο 2,5 ppb βάσει μελέτης του 1968 που διαπίστωσε όγκους του στομάχου σε ζώα που έπιναν την ουσία. Ωστόσο, η EPA των ΗΠΑ απέρριψε αυτή τη μελέτη και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπήρχε καμία ένδειξη ότι το Cr(VI) ήταν καρκινογόνο στο νερό. Οι επιστημονικοί σύμβουλοι της Καλιφόρνια συμφώνησαν, οπότε το κράτος άλλαξε το στόχο του το 2001 και επανήλθε στο παλιό πρότυπο των 50 ppb, το οποίο βασίστηκε στους κινδύνους ερεθισμού του δέρματος και όχι του καρκίνου. Το 2015 η Πολιτεία της Καλιφόρνια όρισε ανώτατο όριο για το εξασθενές χρώμιο στο πόσιμο νερό τα 10 µg/L.

Environmental Protection Agency
(2001)

- Το ανώτατο όριο έκθεσης ενός εργαζόμενου για αδιάλυτες ενώσεις του Cr(VI) θεσπίζεται στα 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Το ανώτατο όριο έκθεσης ενός εργαζόμενου για τις υδατοδιαλυτές ενώσεις του Cr(VI) είναι τα 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.
- Για τα εισπνεόμενα σωματίδια (chromic acid mists and dissolved Cr(VI) aerosols) δίδεται το όριο (RfC-Reference Concentration) 0,008 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, βασισμένο σε πειράματα που διεξήχθησαν σε ανθρώπους.
- Στο πόσιμο νερό η αναφερόμενη δόση (RfD-Reference Dose) για το Cr(VI) είναι τα 0,003 mg/kg/d.
- Ανώτατο όριο στο πόσιμο και υπόγειο νερό για το TCr τα 100 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Occupational Safety and Health
Administration (2001)

Μειώνει το όριο έκθεσης εργαζομένων για αδιάλυτες ενώσεις Cr(VI) (5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ του αέρα σε ένα 8ωρο).

National Institute for Occupational
Safety and Health (2001)

Συνέστησε το κατώτατο όριο έκθεσης εργαζομένων για το Cr(VI) (1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ του αέρα σε ένα 10ωρο).

Οδηγία-Κανονισμός-ΚΥΑ

Περιγραφή

Ισχύουσα νομοθεσία (Ε.Ε)

Οδηγία 76/464/ΕΚ

Όλα τα κράτη-μέλη υποχρεούνται να μειώσουν τη ρύπανση στα ύδατα.

Οδηγία 96/61/ΕΚ (IPPC)

Αφορά στην πρόληψη και τον έλεγχο της ρύπανσης από βιομηχανικές δραστηριότητες καθώς και αποκατάστασης του περιβάλλοντος από επικίνδυνα χημικά τοξικά προϊόντα.

Οδηγία 98/83/EC

Θέσπιση του ανώτατου επιτρεπτού ορίου για το TCr στα 50 μg/L στο πόσιμο νερό.

Οδηγία 2000/53/EK (ELV)

Καθορίζει το μέγιστο όριο του Cr(VI) για κάθε «ομοιογενές υλικό» σε ένα όχημα εντός της ΕΕ στο 0,1 wt % με σκοπό να εμποδιστεί η χρήση του των επιχρισμάτων του χρωμίου.

Απόφαση 2000/479/EK (EPER)

Προβλέπει:

- τη δημιουργία βάσης ώστε το κοινό να έχει πρόσβαση στην πληροφόρηση σε θέματα ρύπανσης του περιβάλλοντος,
- τη βελτίωση της περιβαλλοντικής επίδοσης των βιομηχανιών
- την αξιολόγηση της προόδου αναφορικά με την τήρηση των περιβαλλοντικών στόχων που έχουν τεθεί μέσω εθνικών και διεθνών συμφωνιών και συμβάσεων

Οδηγία 2000/53/ EK End of Life Vehicles

Η οδηγία αυτή αναφέρεται σε αυτοκίνητα και απαγορεύεται ολοκληρωτικά η χρήση του Cr(VI) σε οχήματα που προορίζονται για πώληση εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η μέγιστη τιμή του Cr(VI) που επιτρέπεται σε κάθε ομοιογενές υλικό είναι 0,1 wt.% και τίθεται σε εφαρμογή με τροποποίηση της οδηγίας.

Οδηγία 2002/95/EK (RoHs)

Περιορίζονται αυστηρά ή και τελείως χημικές ουσίες όπως Cr(VI) στον ηλεκτρικό και ηλεκτρονικό εξοπλισμό.

Κανονισμός αριθ.

1907/2006/EK (Reach)

Βελτίωση της προστασίας της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος μέσα από την καλύτερη και πιο έγκαιρη ταυτοποίηση των εγγενών ιδιοτήτων των χημικών ουσιών

Οδηγία-Κανονισμός-ΚΥΑ

Περιγραφή

ΕΛΛΑΔΑ

ΚΥΑ 80568/4225/91, και
ΚΥΑ 114218/1997
(ΦΕΚ-1016/ Β/17-11-1997)

Ποιοτικά χαρακτηριστικά προϊόντων μηχανικής διαλογής. Οριακές τιμές για τη διάθεση compost στο έδαφος: Cr(VI)<10 mg/kg ξηρού βάρους και Cr(III)< 500 mg/kg ξηρού βάρους.

ΚΥΑ 4859/ 726/2001
(ΦΕΚ 253/09-03-2001)

Ρύθμιση του ορίου των εκπομπών του TCr από απόβλητα βιομηχανιών σε υδάτινους αποδέκτες (0,6 mg/L σε λίμνες, 1 mg/L σε ποτάμια και έως 1,5 mg/L σε παράκτια ύδατα σε μηνιαία βάση).

ΚΥΑ 50388/2704/Ε 103/2003
(ΦΕΚ Β 1866 /12-12-2003)

Θέσπιση ορίων εκπομπών TCr<50 μg/L σε επιφανειακά νερά (μέση συγκέντρωση/έτος).

ΚΥΑ 20488/2010
(ΦΕΚ Β 749 /31-05-2010)

Καθορισμός Ποιοτικών Περιβαλλοντικών Προτύπων στον ποταμό Ασωπό και οριακών τιμών εκπομπών υγρών βιομηχανικών αποβλήτων στη λεκάνη απορροής του Ασωπού (μέση ετήσια συγκέντρωση για Cr(VI)<3 μg/L, μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση για Cr(VI)<11μg/L και μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση για TCr <110 μg/L).

ΚΥΑ 145116/02-02-2011
(ΦΕΚ Β 354/2011)

Μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση 0,1 mg/Lγια TCr με συχνότητα αναλύσεων 12/έτος για ανακτημένα υγρά απόβλητα από εγκαταστάσεις επεξεργασίας με ι.π> 200000 κατοίκους, 4/έτος για ι.π ≤200,000 κατοίκους, 2/έτος για ι.π ≤50000 κατοίκους, 1/έτος για ι.π ≤10000 κατοίκους.

KYA 56366/4351/2014
(ΦΕΚ 3399/12-12-2014)

Μείωση της οριακής τιμής για τη διάθεση compost
στο έδαφος: Cr(III) ≤ 250 mg/kg ξηρού βάρους.

Για να μπορούν να γίνουν κατανοητοί οι τρόποι απορρύπανσης του υπογείου νερού από το χρώμιο, πρέπει πρώτα να γίνει εκτενής αναφορά στη χημεία του χρωμίου, στις βιοχημικές διεργασίες που περιλαμβάνει ο κύκλος του στο οικοσύστημα και στους μηχανισμούς στους οποίους βασίζεται η απομάκρυνση του από το υδατικό περιβάλλον.

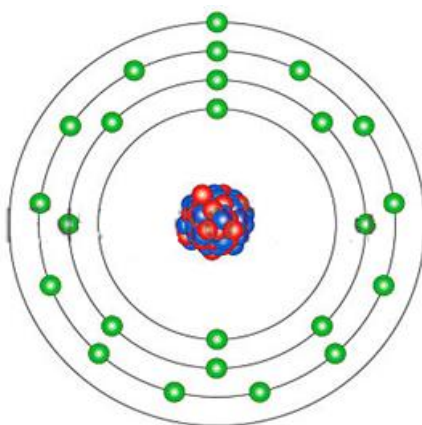
2.5 Χημεία Χρωμίου στο Υδατικό Περιβάλλον

Το χημικό στοιχείο χρώμιο συμβολίζεται με Cr, έχει ατομικό αριθμό 24 και ανήκει στην έκτη ομάδα των στοιχείων μετάπτωσης (ομάδα 6B του περιοδικού πίνακα). Είναι ένα στοιχειακό μέταλλο με υψηλό σημείο τήξης στους 1857 °C και θερμοκρασία βρασμού 2672 °C. Σε κανονικές συνθήκες (20 – 25 °C) είναι άοσμο, λαμπερό, ανθεκτικό στη διάβρωση και σκληρό με ασημί χρώμα που, όταν γυαλίζεται, δίνει μια όμορφη μεταλλική λάμψη. Επίσης, είναι αξιοσημείωτο για τις μαγνητικές του ιδιότητες: είναι το μόνο στερεό στοιχείο που μπορεί, όταν βρίσκεται στη φύση σαν στοιχείο και όχι σε ενώσεις, να μην έλκεται μαγνητικά σε θερμοκρασία δωματίου (ή χαμηλότερη).

Έως σήμερα υπάρχουν 26 γνωστά ισότοπα χρωμίου (σταθερά και ραδιενεργά). Το χρώμιο που προκύπτει φυσιολογικά αποτελείται από τέσσερα ισότοπα: το ^{52}Cr (83%), το ^{50}Cr (4%), το ^{53}Cr (10%) και το ^{54}Cr (3%) με το πρώτο από τα τέσσερα να υπερισχύει σε ποσοστό ισοτοπικής αναλογίας από τα άλλα δύο (Sperling, 2005). Από τα ραδιενεργά, το ^{50}Cr έχει διάρκεια ημιζωής παραπάνω από $1,8 \cdot 10^{17}$ έτη και μπορεί να θεωρηθεί σχεδόν σταθερό και το ^{51}Cr με διάρκεια ημιζωής 27,7 ημέρες. Όλα τα υπόλοιπα ισότοπα έχουν διάρκεια ημιζωής μικρότερη από 24 h και η πλειοψηφία αυτών έχει διάρκεια ημιζωής μικρότερη του ενός λεπτού (Motzer and Engineers, 2004).

Τα ισότοπα του χρωμίου, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται και στην ιατρική. Το ^{50}Cr χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ραδιοϊσοτόπου ^{51}Cr , το οποίο χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο αίμα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης για τη μελέτη ροής του αίματος μέσα και έξω από ένα έμβρυο. Το ^{53}Cr και ^{54}Cr χρησιμοποιούνται για τη μελέτη του μεταβολισμού για πρόβλημα του διαβήτη (Chromium: isotope data).

Έχει ηλεκτρονιακή δομή της μορφής $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^1 3d^5$, λόγω της αρχής ελαχίστης ενέργειας στη διαμόρφωση του high spin (Σχήμα 2.4).



Σχήμα 2.4.: Τα e⁻ ανά επίπεδο ενέργειας του χρωμίου(science photo library)

Το χρώμιο εμφανίζει μια ευρεία ποικιλία πιθανόν καταστάσεων οξείδωσης. Οι πιο κοινές από αυτές είναι +2, +3 και +6, με την +3 να είναι η πλέον σταθερή, δηλαδή με μορφή:

- δισθενούς χρωμίου ή Cr(II), το οποίο είναι ισχυρό αναγωγικό και ασταθές παρουσία οξυγόνου. Απαντάται σπάνια στη φύση και είναι αμφισβητήσιμη η ύπαρξη του.
- τρισθενούς χρωμίου ή Cr(III), οι πλέον σταθερές ενώσεις του χρωμίου.
- εξασθενούς χρωμίου ή Cr(VI), σε χρωμικά και διχρωμικά άλατα, τα οποία είναι σταθερές ενώσεις αλλά και σχετικώς ισχυρά οξειδωτικά.

Ίσως δεν υπάρχει χημικό στοιχείο στο οποίο ταιριάζει τόσο επάξια αυτό το όνομα. Τα χρώματα των ενώσεων του χρωμίου και των διαλυμάτων τους ουσιαστικά καλύπτουν όλο το ορατό φάσμα: από το ιώδες (άλατα του Cr(III)) έως το βαθύ κόκκινο (ορισμένες

ενώσεις του Cr(VI)) (Σχήμα 2.5). Το τρισθενές χρώμιο Cr(III) και το εξασθενές χρώμιο Cr(VI), είναι οι δύο κυριότερες μορφές χρωμίου, αλλά ταυτόχρονα και οι δύο σταθερότερες καταστάσεις οξείδωσης του. Διαφέρουν δραστικά ως προς τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, ως προς τις αντιδράσεις που σχηματίζουν με τα υπόλοιπα στοιχεία καθώς και ως προς την επικινδυνότητά τους.



Σχήμα 2.5: Τυπικά παραδείγματα ενώσεων εξασθενούς και τρισθενούς χρωμίου -από αριστερά προς δεξιά: χρωμικό κάλιο (K_2CrO_4), διχρωμικό κάλιο ($K_2Cr_2O_7$), τριοξείδιο του χρωμίου (CrO_3), τριχλωριούχο χρώμιο ($CrCl_3$) (EEX)

Το στοιχειακό χρώμιο Cr(0), είναι ένα άοσμο, μη πτητικό αργυρότεφρο μέταλλο, με υψηλό σημείο τήξης. Θεωρείται αμφισβητήσιμη η ύπαρξη του από πολλούς επιστήμονες αφού απαντάται σπάνια στη φύση και όπως είναι επόμενο, το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στις άλλες δύο οξειδωτικές καταστάσεις (το τρισθενές και το εξασθενές χρώμιο).

Οι (I), (IV) και (V) καταστάσεις είναι σπάνιες, όπου το Cr(IV) και το Cr(V) είναι ασταθείς μορφές που μεσολαβούν στις αντιδράσεις και στις καταστάσεις οξείδωσης του τρισθενούς χρωμίου Cr(III) (Richard and Bourg, 1991).

Ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες (δυναμικό οξειδοαναγωγής, pH) σε διάφορα περιβάλλοντα και βάσει των διαφορετικών φυσικών και χημικών διεργασιών, (όπως υδρόλυση, συμπλοκοποίηση, προσρόφηση και αντιδράσεις οξειδοαναγωγής), κυριαρχούν διαφορετικές μορφές χρωμίου σε ότι αφορά τους αριθμούς οξείδωσης και άρα τις ενώσεις που σχηματίζονται.

2.5.1 Τρισθενές Χρώμιο Cr(III)

Το τρισθενές χρώμιο, θεωρείται από τις μέχρι τώρα γνωστές ενώσεις του χρωμίου ως η πλέον σταθερή με βάση την οξειδωτική βαθμίδα. Αποτελεί μια από τις δέκα πιο διαδεδομένες ουσίες στο φλοιό της γης. Σχηματίζεται φυσικά και θεωρείται ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για τη ζωή του ανθρώπου. Στη φύση το συναντάμε ως ορυκτό (Jacobs and Testa, 2004). Στο γεωλογικό περιβάλλον αφθονεί σε ηφαιστειακά πετρώματα (βασάλτες) αλλά και σε πυριγενή (γάβροι, δουνίτες κ.α). Συνήθως εντοπίζεται σε υπερβασικά πυριγενή πετρώματα, καθώς και σε διάφορους τύπους σχιστολίθων.

Η παρουσία του Cr(III), η συγκέντρωση και οι μορφές του σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον εξαρτώνται από διάφορες χημικές και φυσικές διεργασίες, όπως η υδρόλυση, οι αντιδράσεις οξειδοαναγωγής και η προσρόφηση.

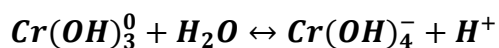
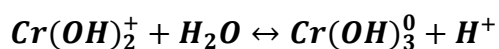
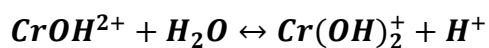
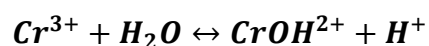
Το τρισθενές χρώμιο Cr(III) θεωρείται σκληρό οξύ κατά Lewis και έχει την τάση να σχηματίζει σύμπλοκα με έξι υποκαταστάτες (αριθμός μοριακής σύντηξης=6) οκταεδρικής δομής, όπως νερό, αμμωνία, ουρία, αιθυλενοδιαμίνη και με φυσικές ή συνθετικές οργανικές ενώσεις. Τα σύμπλοκα που σχηματίζει το Cr(III) με υποκαταστάτες πλην του OH⁻ όταν αυτά είναι σε μορφή διακριτών μορίων ή ιόντων, αυξάνουν τη διαλυτότητα του (Baes and Mesmer, 1976). Πιο συγκεκριμένα σε περίπτωση απουσίας συμπλοκοποιητικών παραγόντων πλην του H₂O ή των OH⁻, το Cr(III) εμφανίζεται ως [Cr(H₂O)₆]³⁺ (εξαυδατοχρώμιο⁽³⁺⁾), το οποίο είναι ένα ελεύθερο οκταεδρικό ιόν, και ως προϊόντα της υδρόλυσης του (Rai et al., 1987). Είναι μετρίως όξινο (pK_a= 4) και η διαδικασία της συμπύκνωσης μέσω του σχηματισμού των υδροξο-γεφυρών είναι γνωστή ως «olation» (Saha and Orvig, 2010), δηλαδή σχηματισμός πολυπυρηνικών συμπλόκων συντονισμού μέσω ομάδων υδροξυλίου όπως γέφυρες (Σχήμα 2.6)



Σχήμα 2.6: Συμπύκνωση του $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ μέσω του σχηματισμού των υδροξο-γεφυρών (Saha and Orvig, 2010)

Οι μορφές του $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, οι οποίες συμβολίζονται χάριν απλότητας ως $\text{CrOH}^{2+}.\text{aq}$, $\text{CrOH}_2^+.\text{aq}$, και $\text{Cr}(\text{OH})_3.\text{aq}$, κυριαρχούν διαδοχικά μεταξύ των τιμών pH 4 έως 10 (Motzer and Engineers, 2004).

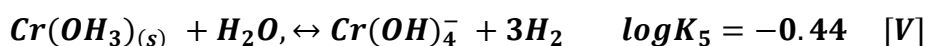
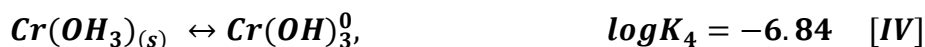
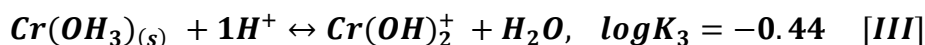
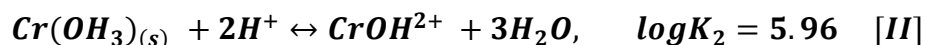
Οι αντιδράσεις υδρόλυσης έχουν παρουσιαστεί ως εξής (Kotas and Stasicka, 2000):



Το $\text{Cr}(\text{OH})_3.\text{aq}$, είναι ελάχιστα διαλυτό στην περιοχή pH από 5,5 ως 12 και η περιοχή αυτή συμπίπτει σε σημαντικό βαθμό με την περιοχή pH των φυσικών υδάτων. Κατά συνέπεια, τα υδροξο-σύμπλοκα $\text{CrOH}^{2+}.\text{aq}$, $\text{CrOH}_2^+.\text{aq}$, αναμένεται να είναι οι κυρίαρχες μορφές του Cr(III) στο περιβάλλον (Rai et al., 1987). Στα πιο πυκνά διαλύματα Cr(III) ($C > 10^{-6}$ M) μπορεί επίσης, να εμφανιστούν και τα πολυπυρηνικά προϊόντα υδρόλυσης: $\text{Cr}_2(\text{OH})_2^{4+}$, $\text{Cr}_3(\text{OH})_4^{+5}$, $\text{Cr}_3(\text{OH})_6^{+6}$, τα οποία δεν είναι ποτέ σημαντικής συγκέντρωσης σε φυσικά συστήματα (Rai et al., 1986).

Πολυπυρηνικά σύμπλοκα του Cr(III), έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία, αλλά τα είδη αυτά είναι άνευ σημασίας σε φυσικά συστήματα, ειδικά σε διαλύματα χαμηλής συνολικής συγκέντρωσης χρωμίου. Σύμφωνα με τη θερμοδυναμική ισορροπία, η κατανομή αυτών των συμπλοκών μπορεί να υπολογίζεται από τα θερμοδυναμικά στοιχεία όπως φαίνεται στις παρακάτω αντιδράσεις [I] - [V]. Το άμορφο $\text{Cr}(\text{OH})_{3(s)}$ παρουσιάζει επαμφοτερίζουσα

συμπεριφορά και σε υψηλότερες τιμές pH μετατρέπεται σε ευδιάλυτο τετρα-υδροξυ-σύμπλοκο $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$ (αντίδραση V) σύμφωνα με τις παρακάτω αντιδράσεις (Sperling, 2005):



Συμπερασματικά, διαλυτά ιόντα τρισθενούς χρωμίου παράγονται από το αδιάλυτο υδροξείδιο του χρωμίου. Παρόλα αυτά, κάτω από τις περισσότερες φυσικές συνθήκες το τρισθενές χρώμιο δεν παρουσιάζεται στις δυσδιάλυτες του μορφές και σπάνια ξεπερνά την τιμή 50 ppb. Κάτω από ελαφρά όξινες έως αλκαλικές συνθήκες (σε υδάτινο περιβάλλον) και με την παρουσία τρισθενούς σιδήρου (Fe^{3+}), το τρισθενές χρώμιο πέφτει σε άμορφες μίξεις υδροξειδίων με τον εξής χημικό τύπο: $\text{Cr}_x\text{Fe}_{1-x}(\text{OH})_3$, όπου x είναι το γραμμομοριακό κλάσμα του χρωμίου (Early and Rai, 1988). Σε διαφορετικές συνθήκες το άμορφο αυτό προϊόν κρυσταλλοποιείται σε $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ή σε Cr_2O_3 . Το οξείδιο του χρωμίου Cr_2O_3 είναι πραγματικά οξείδιο για αυτό και ο ρόλος του οξυγόνου είναι καίριας σημασίας στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις του χρωμίου (Kimbrough et al., 1999). Το τρισθενές χρώμιο πρόθυμα σχηματίζει σύμπλοκα. Μεταξύ των OH^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , CO_3^{2-} , NH_4 , κυανιούχα άλατα, φθοριούχα άλατα και χλωριούχα που βρίσκονται συνήθως σε περιβαλλοντικά δείγματα, μόνο το OH^- βρέθηκε να σχηματίζει σημαντικά σύμπλοκα με το $\text{Cr}(\text{III})$ (Rai et al., 1986).

2.5.1.1 Οξείδωση Τρισθενούς Χρωμίου σε Όξινο ή Βασικό Περιβάλλον

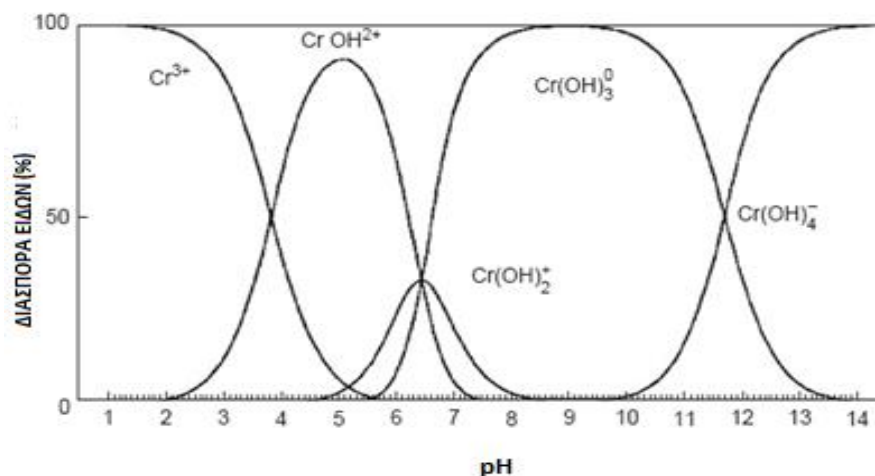
Ενώ το $\text{Cr}(\text{VI})$ είναι τοξικό, το $\text{Cr}(\text{III})$ δεν είναι μόνο πολύ λιγότερο τοξικό αλλά είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο που δρα ως «παράγοντας ανοχής στη γλυκόζη» (Mertz, 1979).

Αλλαγή στην κατάσταση οξείδωσης του τρισθενούς χρωμίου έχει σημαντική επίδραση στην τοξικότητα και βιοδιαθεσιμότητα του.

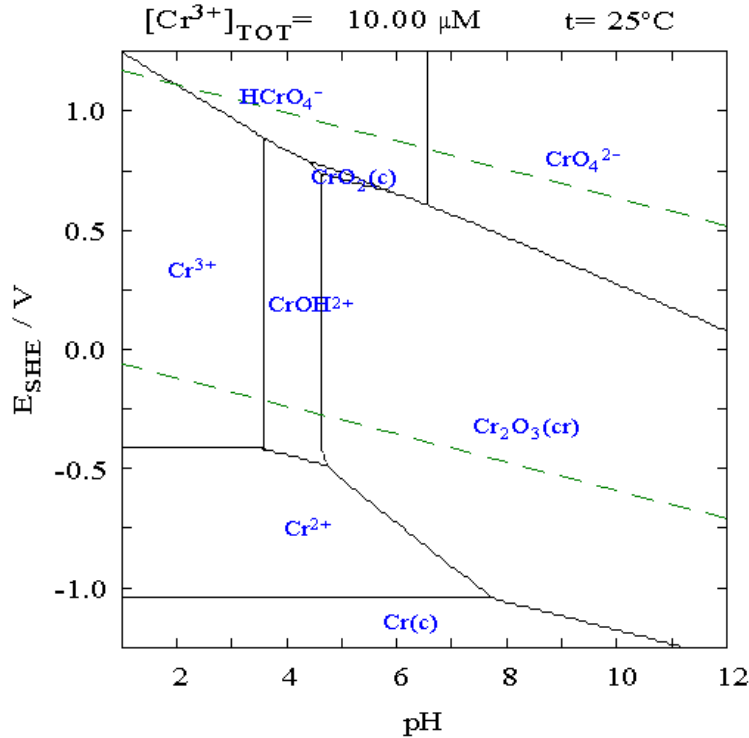
Η οξείδωση του τρισθενούς σε εξασθενές εξαρτάται από τη συγκέντρωση του τρισθενούς, το pH, την αρχική διαθέσιμη επιφάνεια και την ιοντική ισχύ. Κάτω από μη οξειδωτικές ή ελάχιστα οξειδωτικές συνθήκες, το τρισθενές χρώμιο θα έπρεπε να είναι η μόνη οξειδωτική βαθμίδα. Σε οξυγονωμένα υδατικά διαλύματα, το Cr(III) προβλέπεται από θερμοδυναμικούς υπολογισμούς σαν το σταθερό είδος στα $\text{pH} \leq 6$, ενώ σε $\text{pH} \geq 7$ τα ιόντα CrO_4^{2-} θα έπρεπε να είναι κυρίαρχα. Σε ενδιάμεσες τιμές του pH η αναλογία του Cr(III)/Cr(VI) εξαρτάται από τη συγκέντρωση του O_2 (Σχήμα 2.7).

Σε οξυγονωμένα επιφανειακά νερά, εκτός από το O_2 και το pH, σημαντικό ρόλο παίζουν η φύση και η συγκέντρωση των αναγωγικών, οξειδωτικών και συμπλοκοποιητικών μέσων. Το οξείδιο του χρωμίου (Cr_2O_3) «προτιμά» το pH με τιμές 5,0 έως 13,5 και Eh με τιμές +0,8 V έως -0,75 V (Σχήμα 2.8). Για ελάχιστα μικρότερες τιμές του pH από 5,0, το οξείδιο του χρωμίου μετατρέπεται σε κατιόν υδροξειδίου του χρωμίου, CrOH_2^+ .

Σε ένα pH μεγαλύτερο της τιμής 13,5 και με Eh -0,05 V μέχρι -0,8 V το τρισθενές χρώμιο παρουσιάζεται με τη μορφή του CrO_2^- (Bookins, 1987). Σε υδατικό περιβάλλον με χαμηλό Eh τα βασικά «είδη» του τρισθενούς χρωμίου είναι τα κατιόντα του και το CrOH_2^+ (Richard and Bourg, 1991).

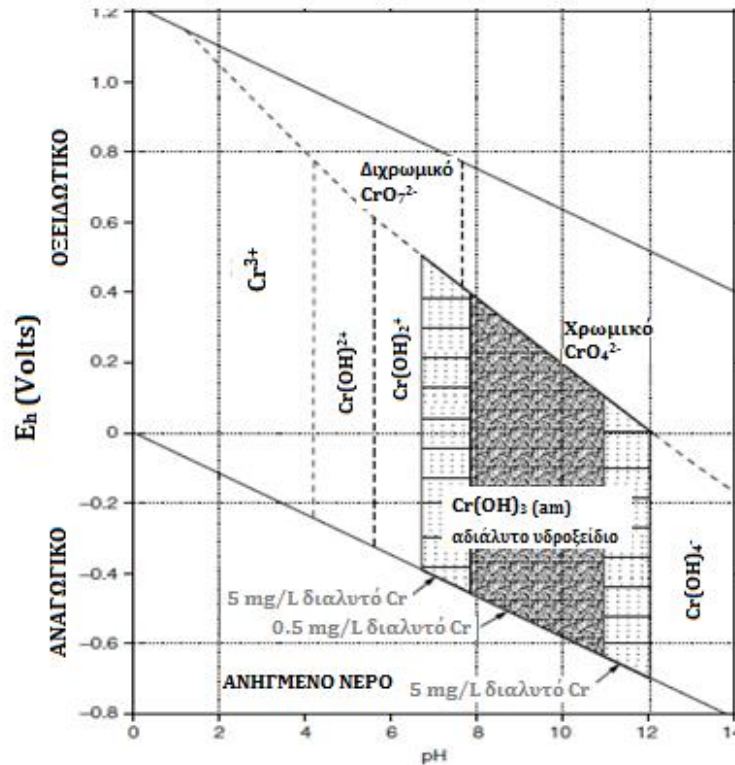


Σχήμα 2.7: Κατανομή των ανόργανων ειδών Cr(III) συναρτήσει του pH (Sperling, 2005)



Σχήμα 2.8: Απλοποιημένο διάγραμμα Pourbaix για τα κυρίαρχα είδη χρωμίου σε αντιδράσεις υδρόλυσης απουσία παραγόντων συμπλοκοποίησης, εκτός από H_2O ή OH . Οι άξονες περιγράφουν το δυναμικό E βάσει του πρότυπου ηλεκτρόδιου υδρογόνου (SHE) και το pH κάτω από συνθήκες $25\text{ }^\circ\text{C}$ και 1 bar πίεσης σε σύστημα χρωμίου-οξυγόνου-υδρογόνου (Ball and Nordstrom, 1998; Nieboer and Jusys, 1988; Rai et al., 1987)

Παρακάτω παρατίθεται ένα σύστημα υδατικό σε περιβάλλον με οξυγόνο και παρουσία τρισθενούς χρωμίου (Σχήμα 2.9). Η ζώνη σταθερότητας του τρισθενούς χρωμίου πάλι όπως και πριν εμφανίζεται σε ένα ευρύ πεδίο τιμών Eh και pH. Το τρισθενές χρώμιο είναι διαλυτό σε περιβάλλον με pH από 0 έως 8 και με Eh από $-0,4\text{ V}$ έως $-1,2\text{ V}$. Σε pH μεγαλύτερο του 4 έως και 7,5 εμφανίζεται με τη μορφή διαλυτών κατιόντων υδροξειδίου: CrOH^{2+} και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ όπως έχει προαναφερθεί. Για τιμή pH 8, το τρισθενές χρώμιο είναι πλέον δυσδιάλυτο και παρουσιάζεται σε μορφή υδροξειδίου του χρωμίου ($\text{Cr}(\text{OH})_3$). Σε μη φυσικές συνθήκες με pH 12 και Eh κάτω από 0, σχηματίζονται τα ανιόντα $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$ (Hem, 1977).



Σχήμα 2.9: Οι άξονες περιγράφουν το δυναμικό E (V) και το pH κάτω από συνθήκες 25 °C και 1 bar πίεσης για σύστημα χρωμίου-οξυγόνου-νερού (Hem, 1989)

2.5.1.2 Κινητική Οξειδωσης του Τρισθενούς Χρωμίου

Όσον αφορά την κινητική της οξειδωσης του τρισθενούς χρωμίου έγιναν εκτεταμένα πειράματα τα οποία έδειξαν ότι είναι σχετικά αργή. Συγκεκριμένα, πείραμα που έγινε σε νερό από λίμνη, ίζημα και έδαφος είχε ως συμπέρασμα ότι ο ρυθμός οξειδωσης του τρισθενούς σε εξασθενές χρώμιο είχε χρόνο ημιζωής σε ένα διάστημα 0,58 έως 37,2 χρόνια (Saleh et al., 1989).

Η οξειδωση του Cr(III) από το διαλυμένο οξυγόνο χωρίς να μεσολαβήσουν άλλες χημικές ενώσεις είναι μηδαμινής πιθανότητας. Κατά ακρίβεια 2-3% από μια συγκέντρωση τρισθενούς χρωμίου $10^{-5.65}$ M σε φυσικά λιμναία νερά μπορούν να οξειδωθούν από το διαλυμένο οξυγόνο έπειτα από 24 μέρες ή ακόμη και μήνες (Kimbrough et al., 1999). Μια τόσο αργή αντίδραση δίνει το προβάδισμα σε άλλες διεργασίες. Έτσι, προηγούνται η ρόφηση αλλά και η κατακρήμνιση, οποίες είναι και αρκετά πιο γρήγορες, με αποτέλεσμα

να μην πραγματοποιείται ουσιαστικά οξείδωση του τρισθενούς χρωμίου κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες.

Συγκρίνοντας τις διεργασίες που προαναφέρθηκαν και σύμφωνα με διάφορες μελέτες που έγιναν σχετικά με την κινητική της οξείδωσης του τρισθενούς χρωμίου, προέκυψε ότι την ταχύτερη κινητική κατέχει το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Συγκέντρωση υπεροξειδίου της τάξης των $26 \cdot 10^{-6}$ mole/L, pH=6 (κανονική τιμή όμβριων υδάτων), σε θερμοκρασία 15 °C δίνει χρόνο ημιζώης του τρισθενούς 4.6 μέρες (Amacher and Baker, 1982). Αντίστοιχα, το τρισθενές χρώμιο σε διάλυμα 1μM H₂O₂, χρειάζεται 45 ημέρες για να οξειδωθεί, ενώ αντίστοιχα σε διάλυμα 1μM MnO₂ χρειάζεται 95 ημέρες για να οξειδωθεί (Pettine et al., 1998).

2.5.1.3 Οξείδωση Τρισθενούς Χρωμίου παρουσία Οξειδίων Μαγγανίου

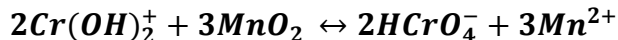
Η ειδο-ταυτοποίηση (speciation) του Cr(III) στα επιφανειακά ύδατα δείχνει ότι τα υδροξοσύμπλοκα είναι κυρίαρχα κάτω από τις συνθήκες που επικρατούν στα φυσικά νερά, παρόλο που το Cr(III) έχει την τάση να σχηματίζει πολλά διαφορετικά σύμπλοκα με φυσικά οργανικά υλικά όπως είναι τα αμινοξέα, τα φουλβικά οξέα, τα χουμικά οξέα κ.α. Η συμπλοκοποίηση αυτή μειώνει τη καταβύθιση του Cr(OH)_{3(s)}, συνηθισμένο είδος στις συνθήκες pH των φυσικών νερών. Στα περισσότερα από τα σύμπλοκα με συστατικά οργανικής ύλης, το Cr(III) είναι ακινητοποιημένο από μακρομοριακές ενώσεις χαμηλής κινητικότητας και έτσι απομακρύνεται από το διάλυμα (Kotas and Stasicka, 2000).

Επιπλέον, τα υδροξοσύμπλοκα του Cr(III) έχουν μία ισχυρή τάση να απορροφώνται από φυσικά στερεά, όπως οξείδια Fe, Mn, και διάφορα αργιλικά ορυκτά, κάτι που μειώνει περαιτέρω την κινητικότητα του Cr(III) και τη βιοδιαθεσιμότητα του στα νερά. Τα σύμπλοκα του Cr(III) με οργανικούς υποκαταστάτες δεν οξειδώνονται τόσο εύκολα όσο τα υδροξοσύμπλοκα, που σημαίνει ότι η τρισθενής βαθμίδα σταθεροποιείται καλύτερα με υποκαταστάτες διαφορετικούς του OH⁻. Σε αντίθεση με τα σύμπλοκα του Cr(III), τα είδη

του Cr(VI) προσροφώνται ασθενώς από ανόργανες επιφάνειες και είναι από τις πιο κινητικές μορφές του χρωμίου στο περιβάλλον (Bartlett and James, 1979).

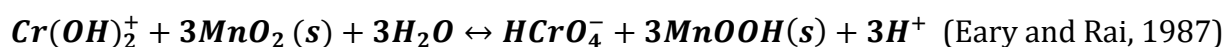
Πιο αναλυτικά, η παρουσία διαφόρων δεκτών ηλεκτρονίων είναι δυνατή να προκαλέσει οξειδωση. Για παράδειγμα, η παρουσία οξειδίων του μαγγανίου MnO₂ (μπιρνεσίτης, κρυπτομέλανας κ.α.) και βακτηρίων είναι δυνατόν να προωθήσουν αποτελεσματικά τέτοιου είδους μηχανισμούς οξειδωσης. Στο περιβάλλον, τα οξείδια αυτά θεωρούνται ότι είναι υπεύθυνα κατά κύριο λόγο στην οξειδωση του Cr(III). Τα οξείδια του μαγγανίου έχουν παρουσία στη φύση και προέρχονται από επιστρώσεις σιτηρών, εναποθέσεις σε ρωγμές ή θραύσεις, ή από σπόρους. Άλλες φορές η παρουσία αυτών είναι αποτέλεσμα δραστηριοτήτων των βακτηρίων (Bartlett and James, 1979).

Αρχικώς, παρατηρήθηκε μια συσχέτιση μεταξύ της ποσότητας τρισθενούς χρωμίου που οξειδώθηκε από εδάφη και της ποσότητας των μειωμένων πλέον διοξειδίων του μαγγανίου (Bartlett and James, 1979). Πειραματικά αποτελέσματα δείχνουν ότι αυτή η αντίδραση είναι η ακόλουθη:



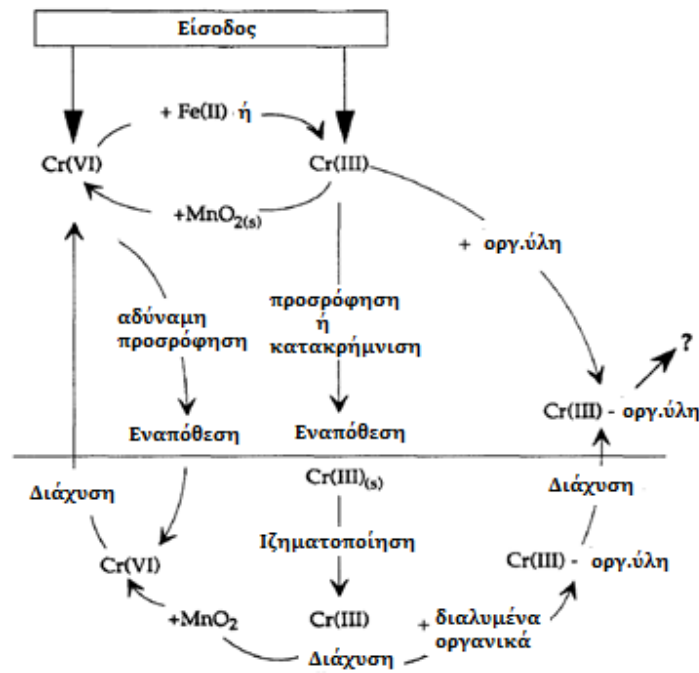
Συγκεκριμένα, το Mn(III) και το Mn(IV) και τα οξείδια του Mn(IV) (π.χ. ορυκτά πυρολουσίτη) είναι ικανά να οξειδώσουν το Cr(III) σε Cr(VI). Ο ρυθμός οξειδωσης παρατηρείται ότι τείνει να αυξάνεται σε μεγαλύτερες τιμές pH (Eary and Rai, 1986), (Hug et al., 1997). Οι κινητικές είναι αρκετά αργές και σε αυτήν την περίπτωση.

Αναλυτικότερα, η οξειδωση πραγματοποιείται σε 3 βήματα (Schröder and Lee, 1975; Bartlett and James, 1979; Amacher and Baker, 1982; Rai et al., 1986): (1) προσρόφηση του Cr(III) επάνω σε επιφάνεια MnO₂ (2) οξειδωση του Cr(III) προς Cr(VI) από την επιφάνεια Mn(IV), (3) εκρόφηση των προϊόντων της αντίδρασης, Cr(VI) και Mn(II) (Σχήμα 2.10). Η θεωρητική στοιχειομετρία είναι η εξής (Richard and Bourg, 1991):



Το στερεό $MnOOH_{(s)}$ θα διασπαστεί μετά σε υδατικό $Mn(II)$. Ο ρυθμός οξειδωσης του $Cr(III)$, που σχετίζεται με την ποσότητα και το εμβαδόν επιφανείας των οξειδίων του Mn (Schröder and Lee, 1975; Eary and Rai, 1987) αρχικά είναι γρήγορος και επιβραδύνει σημαντικά μετά από 20-60 min, συνεπώς η αντίδραση δε φθάνει την ολοκλήρωση (Amacher and Baker, 1982; Rai et al., 1986).

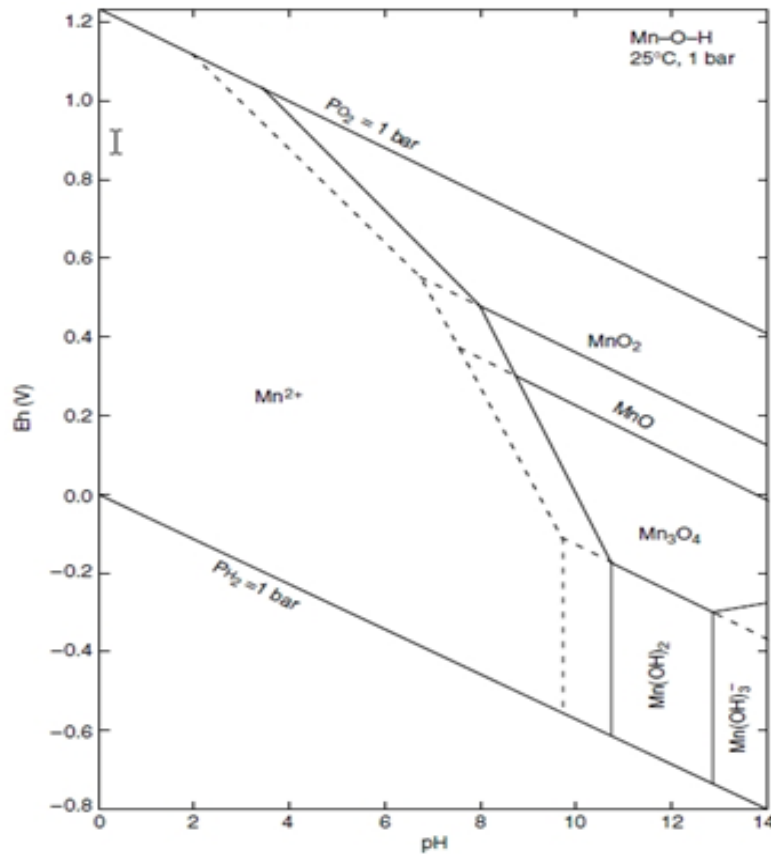
Το ποσοστό οξειδωσης του χρωμίου σε αρχικό pH 5 και 7 είναι μικρότερο σε ανοξικές συνθήκες από ότι σε αερόβιες. Ίσως η ενισχυμένη διάλυση του μαγγανίου όταν το MnO_2 προστίθεται στο νερό, υπό ανοξικές συνθήκες μπορεί να ευθύνεται για το φαινόμενο αυτό (Richard and Bourg, 1991). Οι Ross and Barlett (1981) παρατήρησαν ότι η προσρόφηση του προστιθέμενου $Mn(II)$, σε εδάφη οξειδίων του μαγγανίου μπορεί να μπλοκάρει την οξειδωση του χρωμίου ως ότου το προσροφημένο $Mn(II)$, να μετατραπεί σε MnO_2 . Έτσι είναι πιθανόν η επιφάνεια του να καλυφθεί εν μέρει από προσροφημένα $Mn(II)$, μειώνοντας τον αριθμό των διαθέσιμων θέσεων για προσρόφηση τρισθενούς χρωμίου και ακολούθως σχηματισμό εξασθενούς. Το διαλυμένο μαγγάνιο ανταγωνίζεται το διαλυμένο $Cr(III)$ για την προσρόφηση στη επιφάνεια του MnO_2 και δρα πιο ανταγωνιστικά σε χαμηλότερες τιμές pH (Σχήμα 2.10).



Σχήμα 2.10: Οξειδωση τρισθενούς χρωμίου με μαγγάνιο στο περιβάλλον (Richard et al., 1991)

Επιπλέον, η ειδική επιφάνεια του MnO_2 επηρεάζει σχεδόν αναλογικά την οξείδωση του $Cr(III)$. Δηλαδή μια μικρή ειδική επιφάνεια συνεπάγεται μειωμένη προσροφητική ικανότητα για το $Cr(VI)$.

Στα υπόγεια ύδατα, το οξείδιο του $Mn(IV)$ κυμαίνεται στα ίδια Eh και pH όπως τα χρωμικά και διχρωμικά ανιόντα (Σχήμα 2.11), συνεπώς στη φύση, ο καλύτερος τρόπος για να οξειδωθεί το τρισθενές χρώμιο σε εξασθενές χρώμιο έχει να κάνει με τα οξείδια του τετρασθενούς μαγγανίου $Mn(IV)$. Μια τέτοια οξείδωση βέβαια, πραγματοποιείται σε αργούς ρυθμούς, οι οποίοι κυμαίνονται από 0,58 έως 37,2 χρόνια (Mozter and Engineers, 2004).

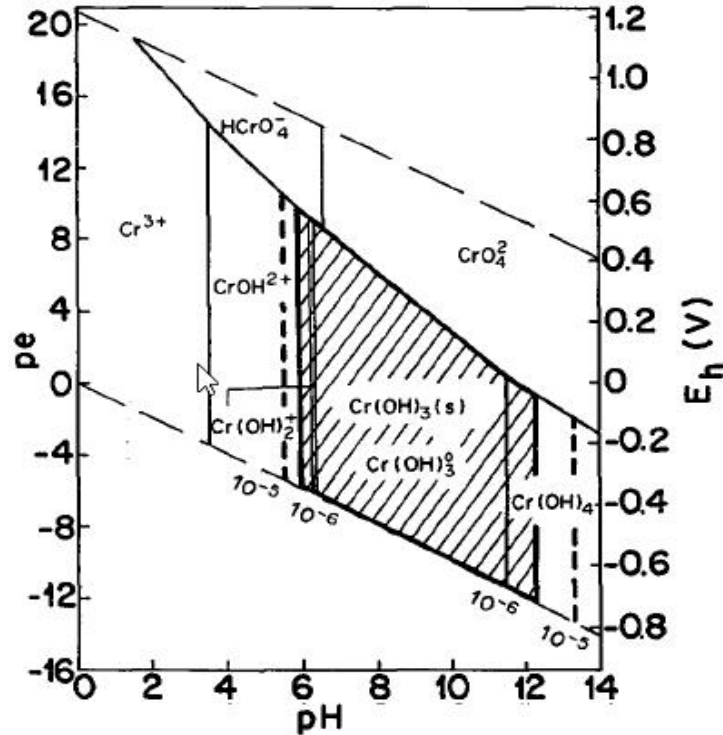


Σχήμα 2.11: Διάγραμμα Eh-pH για σύστημα μαγγανίου-οξυγόνου-υδρογόνου (Brookins, 1987)

2.5.1.4 Διαλυτότητα Τρισθενούς Χρωμίου στα Υπόγεια Ύδατα

Η διαλυτότητα περιορίζει σημαντικά τη συγκέντρωση του τρισθενούς χρωμίου ιδιαίτερα σε υπόγεια νερά με pH μεγαλύτερο από 4-5. Η χαμηλή αυτή διαλυτότητα του στις διάφορες χημικές ενώσεις του είναι ο κύριος λόγος που το ποσοστό του τρισθενούς χρωμίου είναι πολύ χαμηλό στο συνολικό χρώμιο που είναι δυνατόν να βρεθεί σε υπόγεια ύδατα. Στα υγιή εδάφη, η κυρίαρχη μορφή είναι αυτή του τρισθενούς χρωμίου η οποία είναι σταθερή, με πολύ χαμηλή διαλυτότητα (0,5 $\mu\text{g/L}$) και υπάρχει ως υδροξείδιο ή προσροφημένο σε οξείδια ή αργιλικά ορυκτά του εδάφους (Rai et al., 1987).

Σε σχέση με τη δομή και την περιβαλλοντική σταθερότητα του υδροξειδίου του Cr(III) μελέτες έχουν δείξει την ακόλουθη ασυνήθιστη συμπεριφορά: Το αρχικά καταβυθιζόμενο υδροξείδιο έχει κρυσταλλική δομή και περιλαμβάνει στο κρυσταλλικό του πλέγμα έναν αριθμό x κρυσταλλικών νερών, $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ όπου $x=5-2$ ή αλλιώς $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$. Με την πάροδο του χρόνου και όταν το στερεό βρίσκεται σε επαφή με το νερό, αποβάλλει τα κρυσταλλικά νερά και μετατρέπεται σε άμορφο υδροξείδιο που αντιστοιχεί στο μοριακό τύπο $\text{Cr}(\text{OH})_3$ (Rai et al., 1987). Ως προς τη διαλυτότητα των δύο υδροξειδίων υπάρχουν ενδείξεις ότι το ένυδρο κρυσταλλικό οξείδιο έχει υψηλότερη διαλυτότητα σε σύγκριση με το άμορφο, αλλά ενώ για το άμορφο υδροξείδιο υπάρχουν πολλές μελέτες, η συμπεριφορά του κρυσταλλικού δεν έχει μελετηθεί συστηματικά (Σχήμα 2.12).



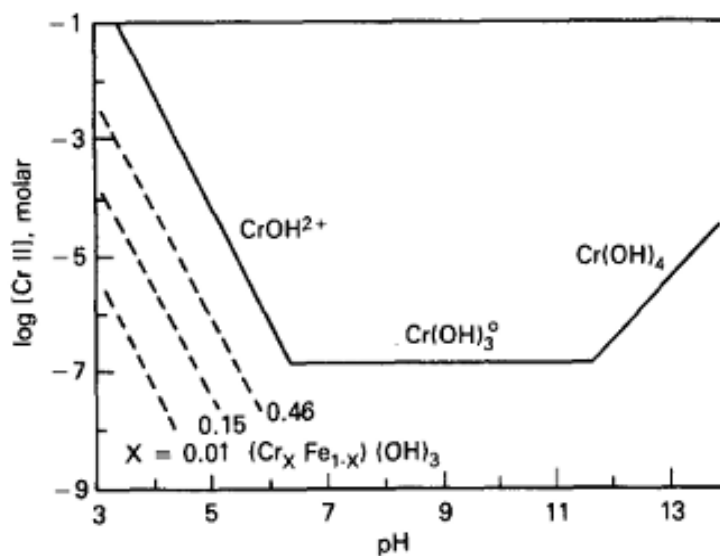
Σχήμα 2.12: pe-pH σχέσεις για το διαλυμένο υδατικό χρώμιο παρουσία του $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$. Η διαγραμμισμένη ζώνη αντιπροσωπεύει τον τομέα της σταθερότητας του $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$ για 10^{-6} M, η οποία μπορεί να επεκταθεί στις διακεκομμένες γραμμές για 10^{-5} M. Όλα τα είδη χρωμίου είναι σε διαλυτή μορφή (Rai et al., 1987)

Οι Rai et al. (1987) πραγματοποίησαν λεπτομερείς δοκιμές καταβύθισης του υδροξειδίου $\text{Cr}(\text{OH})_3$ και έλεγχο της διαλυτότητας του σε ευρεία κλίμακα pH. Για την περιγραφή των αποτελεσμάτων τους επανεξέτασαν το σύνολο των θερμοδυναμικών δεδομένων, ταυτοποίησαν τα σημαντικότερα υδροξοσύμπλοκα του Cr(III) και προσδιόρισαν νέες θερμοδυναμικές σταθερές σχηματισμού τόσο των συμπλόκων όσο και του υδροξειδίου. Σύμφωνα με τη μελέτη τους η διαλυτότητα του $\text{Cr}(\text{OH})_3$ διατηρεί συγκεντρώσεις χρωμίου μικρότερες από τα όρια του πόσιμου νερού, 50 $\mu\text{g}/\text{L}$, μεταξύ του pH 6 και 12.

Τα κύρια συμπεράσματα που προέκυψαν κατά τη μελέτη των Rai et al. (1987) είναι τα ακόλουθα:

- Στην όξινη περιοχή pH 4,0-5,5 το κρυσταλλικό υδροξείδιο $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ παρουσιάζει πολύ υψηλή διαλυτότητα. Από τη θερμοδυναμική επεξεργασία των δεδομένων σε αυτή την περιοχή pH, προκύπτει ότι το συγκεκριμένο κρυσταλλικό υδροξείδιο είναι πολύ ασταθές, με διαλυτότητα που είναι περίπου τρεις τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη σε σύγκριση με το σταθερό άμορφο υδροξείδιο $\text{Cr}(\text{OH})_3$.
- Στην όξινη περιοχή, το διάλυμα που βρίσκεται σε επαφή με το κρυσταλλικό υδροξείδιο $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ παραμένει υπέρκορο ως προς το σταθερό άμορφο υδροξείδιο $\text{Cr}(\text{OH})_3$, τουλάχιστον μέχρι το διάστημα των 30 ημερών που εξετάστηκαν. Φαίνεται ότι απαιτείται μεγάλο χρονικό διάστημα που μπορεί να φθάνει και τις 500 ημέρες, για να μειωθούν οι συγκεντρώσεις στις τιμές της θερμοδυναμικά προβλεπόμενης ισορροπίας.
- Όταν το $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ βρίσκεται σε επαφή με νερά που έχουν pH 5,0 ή 5,5 η συγκέντρωση του χρωμίου στο διάλυμα πέφτει κάτω από το όριο του πόσιμου νερού (50 $\mu\text{g}/\text{L}$) μετά από 24 και 30 ημέρες αντίστοιχα.
- Σε $\text{pH} > 5.5$ και σε όλο το εύρος pH που εξετάστηκε μέχρι και τις αλκαλικές τιμές, οι συγκεντρώσεις του $\text{Cr}(\text{OH})_3$ που μετρήθηκαν στο διάλυμα ήταν πολύ χαμηλές. Αντίθετα απ' ότι συμβαίνει στα όξινα pH, σε $\text{pH} > 5,5$ δεν παρατηρούνται συνθήκες υπερκορεσμού στο διάλυμα, αλλά αποκαθίστανται συνθήκες ισορροπίας ως προς το σταθερό άμορφο υδροξείδιο σε χρόνο μικρότερο των 24 ωρών.
- Όλα τα στερεά, από pH 4,75 και πάνω, που εξετάστηκαν με περιθλασιμετρία ακτίνων X διαπιστώθηκε ότι περιέχουν το αρχικό κρυσταλλικό στερεό. Φαίνεται δηλαδή ότι ο πλήρης μετασηματισμός του ασταθούς $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ στο σταθερότερο άμορφο $\text{Cr}(\text{OH})_3$ απαιτεί χρόνους μεγαλύτερους των 30 ημερών.
- Οι πρακτικές συνέπειες από την καταβύθιση του ασταθούς κρυσταλλικού $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ κατά την επεξεργασία χρωμιούχων υδατικών αποβλήτων ή ρυπασμένων υπόγειων νερών φαίνεται να είναι σημαντικές μόνον εάν το pH των νερών δεν είναι όξινο. Δηλαδή σε περίπτωση επεξεργασίας όξινων νερών πρέπει το τελικό pH καταβύθισης να είναι μεγαλύτερο του 6. Επιπλέον κατά τη διάθεση των προϊόντων καταβύθισης πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα ώστε να αποφεύγεται η επαφή του στερεού με νερά χαμηλού pH.

Σε διάφορες μελέτες για την αποκατάσταση εδαφών και νερών ρυπασμένων με χρώμιο προκαλείται άμεση ή έμμεση αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III,) με στόχο τη δέσμευση του σε δυσδιάλυτες σταθερές ενώσεις του τρισθενούς χρωμίου. Συχνά η αναγωγή αυτή γίνεται παρουσία σιδήρου (ως FeO ή Fe(II)), οπότε προκύπτουν μεικτές ενώσεις με γενικό χημικό τύπο $Fe_{(1-x)}Cr_x(OH)_3$ ενώ όταν χρησιμοποιούνται άλλα αναγωγικά μέσα, π.χ. ενώσεις του θείου, οργανικά αντιδραστήρια, κλπ, τα στερεά που καταβυθίζονται είναι κυρίως υδροξείδια με γενικό χημικό τύπο $Cr(OH)_3 \cdot xH_2O$ (Rai et al., 1989). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 1987, οι Sass και Rai έδειξαν ότι τα οξείδια $(Cr,Fe)(OH)_3$, έχουν ακόμα χαμηλότερη διαλυτότητα από το $Cr(OH)_3$ (Σχήμα 2.13). Επειδή ο σίδηρος παρουσιάζεται στο περιβάλλον σε μεγάλες ποσότητες και τα οξείδια $(Cr,Fe)(OH)_3$ παρουσιάζουν μια ταχεία κινητική διάλυσης/κατακρήμνισης, τα οξείδια αυτά αναμένεται να είναι μια σημαντική ένωση που ελέγχει τη διαλυτότητα του χρωμίου στο γεωλογικό περιβάλλον. Επειδή το $(Cr,Fe)(OH)_3$ είναι ένα στερεό διάλυμα, η διαλυτότητα του εξαρτάται από το γραμμομοριακό κλάσμα του χρωμίου στο $(Cr,Fe)(OH)_3$, δηλαδή, όσο μικρότερο είναι μοριακό κλάσμα, τόσο μικρότερη είναι η διαλυτότητα.



Σχήμα 2.13: Στερεές φάσεις που ελέγχουν τη διαλυτότητα του Cr(III). Η συνεχής γραμμή αντιστοιχεί στο $Cr(OH)_3$ ενώ η διακεκομμένη στο μίκτο υδροξείδιο $(Cr,Fe)(OH)_3$ για διαφορετικές τιμές του γραμμομοριακού κλάσματος του χρωμίου (x) (Rai et al., 1989)

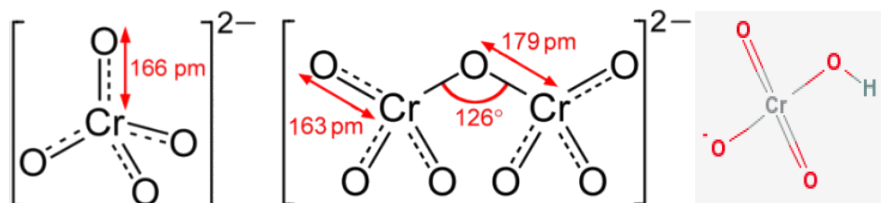
2.5.2 Εξασθενές Χρώμιο Cr(VI)

Το εξασθενές χρώμιο ή Cr(VI), δεν υπάρχει στη φύση ελεύθερο, παρά μόνο σε κάποια σπάνια ορυκτά, όπως ο κροκοίτης (PbCrO_4) και ο λοπεζίτης ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) (Σχήμα 2.14).



Σχήμα 2.14: Κροκοίτης (PbCrO_4) και λοπεζίτης ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) (ChemID Plus, 2008)

Σε περίπτωση που ανιχνευτεί σε εδάφη που δεν το περιέχουν, θεωρείται αποτέλεσμα ανθρωπίνων δραστηριοτήτων (π.χ. βιομηχανικές διεργασίες). Το εξασθενές χρώμιο είναι σταθερό στον αέρα και στο καθαρό νερό, αλλά ανάγεται ταχύτατα προς τρισθενές όταν έρθει σε επαφή με οργανική ύλη, στο νερό, στο έδαφος και σε ζωντανούς οργανισμούς. Η παρουσία, η συγκέντρωση και οι μορφές του εξαρτώνται από διάφορες χημικές/ φυσικές διεργασίες. Πιο αναλυτικά το εξασθενές χρώμιο Cr(VI), εμφανίζεται στη φύση σαν διχρωμικά ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), χρωμικά (CrO_4^{2-}) και υδροχρωμικά ανιόντα (HCrO_4^{2-}) ή ακόμα και ως χρωμικό βάριο (BaCrO_4) ή διχρωμικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) (Σχήμα 2.15). Θεωρούνται σταθερές ενώσεις αλλά και σχετικά ισχυρά οξειδωτικά (Motzer and Engineers, 2004). Ιδιαίτερα τοξικές ενώσεις του Cr(VI), θεωρούνται το χρωμικό οξύ (CrO_3) και τα παράγωγα του.



Σχήμα 2.15: Από αριστερά προς τα δεξιά: χρωμικό CrO_4^{2-} , διχρωμικό $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, υδροχρωμικό HCrO_4^{2-}

Τα διάφορα είδη του εξασθενούς χρωμίου εμφανίζονται κατά βάση σε συνθήκες ύπαρξης οξυγόνου και αλκαλικές συνθήκες ($\text{pH} > 6$). Το Cr(VI) επίσης σχηματίζει άλλα είδη, όπως $\text{HCr}_2\text{O}_7^{-1}$ και $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$. Ωστόσο, ο σχηματισμός τους απαιτεί συγκεντρώσεις $> 10^{-2,1}$ M (Baes and Mesmer, 1976), οι οποίες δεν απαντώνται συχνά σε φυσικά ύδατα.

Ο όρος εξασθενές χρώμιο ουσιαστικά είναι ένας εσφαλμένος διότι δε βρίσκεται στο περιβάλλον ως ελεύθερο κατιόν σε αντίθεση με το τρισθενές χρώμιο. Όλες οι μορφές του εξασθενούς χρωμίου είναι οξείδια και συμπεριφέρονται πιο πολύ ως ανιονικά ιόντα (Kimbrough et al., 1999). Μία εξίσου σημαντική πληροφορία για το εξασθενές χρώμιο είναι ότι παραμένει σε κίνηση μόνο όταν η συγκέντρωση του ξεπερνά την προσροφητική και αναγωγική ικανότητα του εδάφους. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την κινητική ικανότητα του εξασθενούς χρωμίου είναι τα ελεύθερα οξείδια του σιδήρου και το μαγγάνιο, τα οποία το επιβραδύνουν και προκαλούν σε αυτό αναγωγή. Παράγοντες ωστόσο όπως οι ιδιότητες του εδάφους, η ικανότητα ανταλλαγής ιόντων, η επιφάνεια και η περιεκτικότητα σε άργιλο δεν ασκούν σημαντική επιρροή στην κινητικότητα του Cr(VI) (Kimbrough et al., 1999).

2.5.2.1 Κινητική Αναγωγής Εξασθενούς Χρωμίου

Το εξασθενές χρώμιο είναι ισχυρό οξειδωτικό και ανάγεται σε γενικές γραμμές παρουσία δοτών ηλεκτρονίων. Αυτή η διεργασία επιτυγχάνεται με συμβατικές χημικές μεθόδους. Οι Motzer και Engineers το 2004 είχαν αναφέρει ότι σχετικά με την ταχύτητα διεξαγωγής των αντιδράσεων (δηλαδή την κινητική της οξειδοαναγωγής), η αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) πραγματοποιείται σε πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα σε σχέση με την ανάλογη οξείδωση του Cr(III) σε Cr(VI) . Η αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) κάτω από αναερόβιες συνθήκες, ολοκληρώνεται το ανώτερο σε 53 ημέρες, ενώ κάτω από αερόβιες συνθήκες μεταξύ 15 λεπτών έως 21,5 ημερών.

Το εξασθενές χρώμιο μπορεί εύκολα να αναχθεί σε τρισθενές με την παρουσία κατιόντων σιδήρου και μαγγανίου (Fe^{2+} και Mn^{2+}), σουλφιδίων (οργανικές όσο και ανόργανες ενώσεις του θείου (S) με άλλα στοιχεία ή ρίζες.) καθώς και μικροοργανισμών (ή οργανική

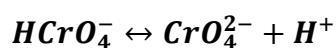
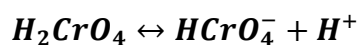
ύλη του εδάφους ή οργανικές ενώσεις). Σε μελέτες που έγιναν (Fantonini et al., 2002) έχει αναφερθεί ότι η αναγωγή με δισθενή σίδηρο είναι 100 φορές ταχύτερη από τη βιολογική αναγωγή και γίνεται υπό αναερόβιες συνθήκες. Η αναγωγή από μικρόβια είναι δυνατόν να συμβεί τόσο σε αναερόβιες αλλά και σε αερόβιες ή ανοξικές συνθήκες. Ένας άλλος τρόπος το εξασθενές χρώμιο να αναχθεί σε τρισθενές είναι μέσω της φωτοαναγωγής (Loyaux-Lawniczak et al., 2001), μέθοδος σημαντική μόνο για την ατμόσφαιρα και για τα επιφανειακά νερά.

Ως ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται επίσης τα H_2S , SO_2 , S^{2-} , H_2O_2 . Για την ίδια διαδικασία προτείνεται η χρησιμοποίηση και άλλων αναγωγικών μέσων όπως FeO (Puls et al., 1999), $Na_2S_2O_4$ (Ignatiadis et al., 2005), $CaSx$ (Kumpiene et al., 2006) ή $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (Dermatas et al., 2006). Οι Schröder και Lee το 1975 προσδιόρισαν ότι ο δισθενής σίδηρος $Fe(II)$, τα σουλφίδια και ορισμένες οργανικές ενώσεις με ομάδες σουλφυδρυλίου ήταν σε θέση να ανάγουν το $Cr(VI)$. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις οξειδοαναγωγής επηρεάζουν την κινητικότητα του χρωμίου και πολλών άλλων βαρέων μετάλλων εντός φυσικών συστημάτων. Σε όλες τις προαναφερθείσες περιπτώσεις, θα πρέπει να προηγείται η ρύθμιση του pH του διαλύματος ώστε να είναι επιτυχής και αποδοτική η αντίδραση.

2.5.2.2 Αναγωγή Εξασθενούς Χρωμίου σε Όξινο ή Βασικό Περιβάλλον

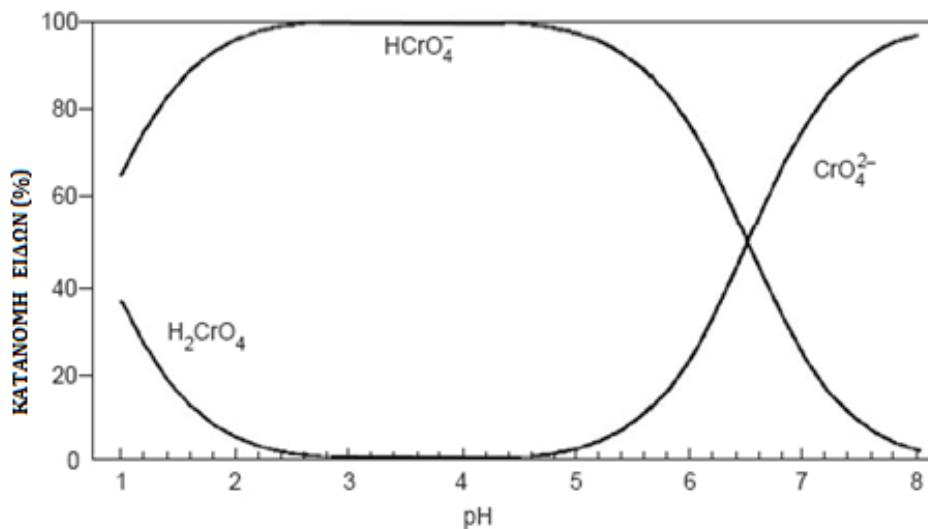
Η υψηλή διαλυτότητα του τοξικού $Cr(VI)$, επιτρέπει στα είδη του να ταξιδέψουν μακριά από τις περιοχές της αρχικής ρύπανσης στα αποθέματα νερού, δηλαδή στους υδροφόρους ορίζοντες και ταμιευτήρες, καθώς επίσης και στα υδάτινα ενδιαιτήματα (Whittleston, 2009). Ο ρυθμός των αντιδράσεων κατακρήμνισης και διάλυσης μεταξύ χρωμικών και διχρωμικών ιόντων διαφέρουν πολύ και είναι εξαρτημένοι από την τιμή του pH. Το ίδιο συμβαίνει και με την ρόφηση τους από το έδαφος και από υλικά του υδροφόρου ορίζοντα. Ωστόσο, και τα δύο (χρωμικά και διχρωμικά) είναι διαλυτά στο νερό σε όλες τις τιμές του pH. Παρ' όλα αυτά το χρωμικό ιόν μπορεί να είναι δυσδιάλυτο όταν είναι άλας με τα εξής στοιχεία: Ba^{2+} , Sr^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} .

Σε υδατικά συστήματα με pH μεταξύ 6 και 12, το Cr(III) είναι αδιάλυτο και υφίσταται κυρίως ως Cr(OH)₃ (Loyaux-Ławniczak et al., 2001), συνεπώς το χρώμιο στο διάλυμα υπάρχει επομένως κυρίως ως Cr(VI). Οι κυρίαρχες μορφές σε αυτές τις συνθήκες είναι του διχρωμικού άλατος (HCrO₄⁻) ή κίτρινων τετραεδρικών χρωμικών ιόντων (CrO₄²⁻) ή σε συγκεντρώσεις πάνω από 10 mmol/L, πολυμερίζεται σε πορτοκαλί-κόκκινα διχρωμικά ιόντα (Cr₂O₇²⁻) βάσει των παρακάτω αντιδράσεων (Palmer and Wittbrodt, 1991; Lide, 1995):



Ο πολυμερισμός πέρα από το διχρωμικό (Cr₂O₇²⁻) περιορίζεται στο σχηματισμό των τρι (Cr₃O₁₀²⁻) και τετρα (Cr₄O₁₃²⁻) χρωμικών (Cotton et al., 1980; Greenwood and Earnshaw, 1984). Τα όξινα διαλύματα διχρωμικού είναι ισχυρά οξειδωτικά. Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης το Cr(VI) ανάγεται προς Cr(III), μέσω του σχηματισμού των ενδιάμεσων Cr(V), Cr(IV) και Cr(II), ωστόσο, τα βασικά χρωμικά διαλύματα είναι λιγότερο οξειδωτικά (Cotton et al., 1980).

Υπό ισχυρά όξινες συνθήκες, δηλαδή pH<1, το Cr(VI) κυριαρχεί ως διχρωμικό ιόν Cr₂O₇²⁻, χωρίς να αποκλείεται να βρεθεί κάτω από αυτές τις ακραίες συνθήκες και σαν H₂CrO₄. Στις περιπτώσεις όπου το pH βρίσκεται ανάμεσα στις τιμές 2 και 6, τότε παρουσιάζεται ως HCrO₄⁻. Σε ουδέτερο ή αλκαλικό περιβάλλον συναντάται υπό τη μορφή CrO₄²⁻ (Kimbrough et al., 1999). Πιο συγκεκριμένα, αυτό συμβαίνει όταν το pH είναι ανάμεσα στις τιμές 6-14 με Eh από -0,1 έως +0,9V (Bookins, 1987) (Σχήμα 2.16). Συμπερασματικά, η επίδραση του pH επί της διαλυτότητας του Cr(VI) είναι τέτοια ώστε η μόλυνση των υπόγειων υδάτων είναι πιο σοβαρή υπό αλκαλικές συνθήκες, όπου διαλυτότητα του Cr(VI) ευνοείται σε σχέση με το Cr (III) (Whittleston, 2009).

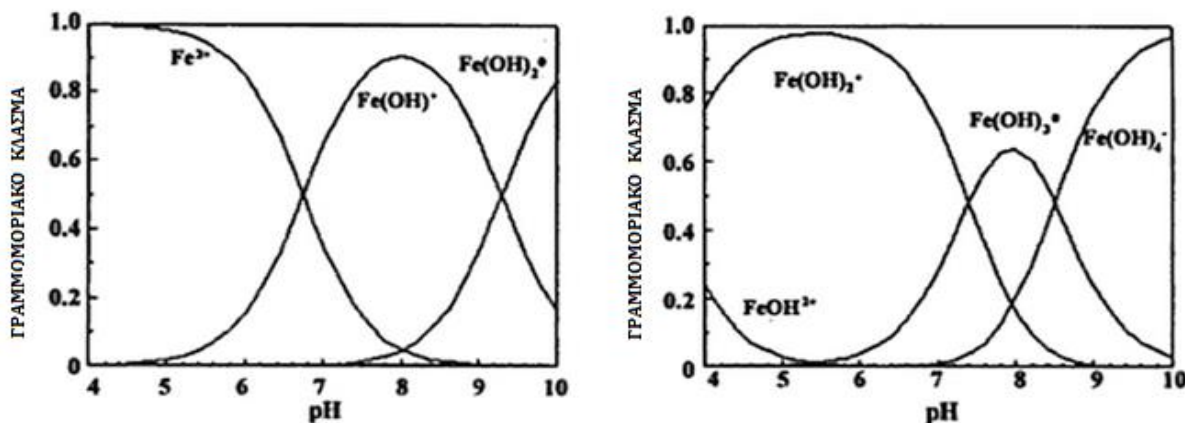


Σχήμα 2.16: Υπολογιζόμενη κατανομή των ανόργανων ειδών Cr(VI), ως συνάρτηση του pH για συγκέντρωση 10^{-6} mol/L (Sperling, 2005)

Αυτές οι μορφές αποτελούν πολλές ενώσεις του εξασθενούς χρωμίου, οι οποίες είναι αρκετά διαλυτές και επομένως, εμφανίζουν κινητικότητα στο περιβάλλον. Ωστόσο, τα ανιόντα του εξασθενούς χρωμίου μπορούν εύκολα να αναχθούν σε τρισθενείς μορφές από δότες ηλεκτρονίων, όπως η οργανική ύλη ή άλλες ανόργανες αναγωγικές ενώσεις, οι οποίες υπάρχουν στο έδαφος, το νερό και την ατμόσφαιρα (Kotas and Stasicka, 2000).

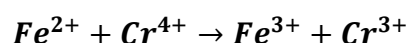
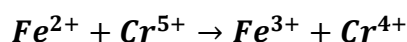
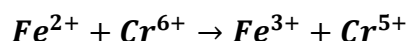
2.5.2.3 Αναγωγή Εξασθενούς Χρωμίου παρουσία Δισθενούς Σιδήρου

Ο δισθενής σίδηρος Fe(II) είναι ένας σημαντικός υποψήφιος για τη μείωση του Cr(VI) στο φυσικό περιβάλλον, όπου τα βιολογικά συστήματα και οι φωτοχημικές διαδικασίες οξειδώσεως της οργανικής ύλης συμβάλλουν στην αντίδραση δισθενούς σιδήρου και χρωμίου (Kieber and Helz, 1992; Hug et al., 1997; Pettine et al., 1998). Σημαντικό ρόλο στην ύπαρξη των αντίστοιχων μορφών σιδήρου στο περιβάλλον διαδραματίζει το pH όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 2.17).



Σχήμα 2.17: Κατανομή μορφών Fe(III) και Fe(II) αντίστοιχα σε διάλυμα συναρτήσει του pH (Summer, 1999)

Ο τρισθενής σίδηρος που προκύπτει από την αντίδραση αναγωγής προσροφάται έπειτα στην επιφάνεια του βιοτίτη και ανάγεται πάλι σε δισθενή σίδηρο (Palmer and Puls, 1994). Παρακάτω παρατίθενται οι αντιδράσεις σε αυτήν την διαδικασία των τριών σταδίων (Seldak and Chan, 1997):



Η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου παρουσία οξειδίων σιδήρου παρατηρήθηκε σε αρκετά πειράματα. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του αιματίτη, η αναγωγή πραγματοποιήθηκε αφού το FeO διαλύθηκε σε διάλυμα και υπήρξε η παρουσία ιόντων. Στην περίπτωση του πυριτίου, πάλι η αναγωγή συμβαίνει με την παρουσία δισθενούς σιδήρου (Lancy, 1966). Το εξασθενές χρώμιο βρίσκεται στην επιφάνεια του πυριτίου και όχι τόσο σε διάλυμα και κατά αυτόν τον τρόπο αποτρέπει τη διάβρωση του. Πειράματα που έγιναν σε πυρίτιο με την παρουσία ή όχι ασβεστίτη έδειξαν ότι υπάρχει πιο γρήγορη αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου στην περίπτωση που δεν υπάρχει ασβεστίτης (Blowers and Ptacek, 1992).

Η αντίδραση του Cr(VI) με το FeO, το οποίο προέρχεται από βιοτίτη ή αιματίτη, μπορεί να περιγραφεί σύμφωνα με τους Eary and Rai (1989) ως εξής:



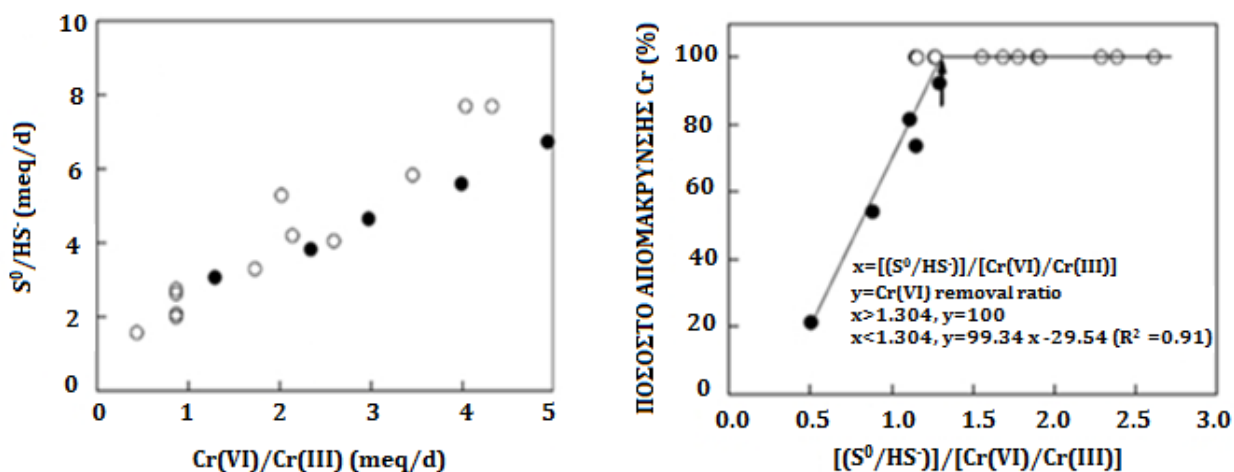
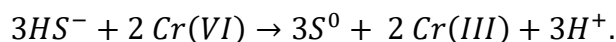
Αυτή είναι μια σχετικά γρήγορη αντίδραση όταν πραγματοποιείται στο περιβάλλον ενώ στο εργαστήριο είναι πλήρης εντός 2 λεπτών (Eary and Rai, 1988). Τελικά προϊόντα αυτής της αντίδρασης είναι ο τρισθενής σίδηρος Fe(III) και το τρισθενές χρώμιο Cr(III), τα οποία συν-καθιζάνουν σε όξινο διάλυμα (Stollenwerk and Grove, 1985) και πιθανόν να σχηματιστεί Cr(OH)_{3(s)} σε ουδέτερες προς αλκαλικές συνθήκες, λόγω πολύ χαμηλής διαλυτότητας του Fe(OH)_{3(s)} (Rai et al., 1988).

Κάτω από ουδέτερες μέχρι αλκαλικές συνθήκες (pH<9) όπου ο δισθενής σίδηρος είναι σε διαλυτή μορφή, μπορεί να ελέγχει την αναγωγή του χρωμίου από εξασθενές σε τρισθενές σε φυσικά αναερόβια συστήματα (Pettine et al., 1998), ενώ σε pH>9, οι αντιδράσεις γίνονται με βραδύτερο ρυθμό (Vrionis et al., 2005). Σε όξινες συνθήκες, άλλα αναγωγικά μέσα μπορεί να αποβούν καίριας σημασίας έναντι του σιδήρου. Σε υπόγεια νερά με pH πάνω από 4, το τρισθενές χρώμιο ιζηματοποιείται μαζί με τον τρισθενή σίδηρο σε ένα συμπαγές διάλυμα με τη γενική μορφή Cr_xFe_{1-x}(OH)₃.

2.5.2.4 Αναγωγή του Εξασθενούς Χρωμίου παρουσία Σουλφιδίων

Τα περισσότερα σουλφίδια δεν είναι διαλυτά ενώ μπορούν να εμφανιστούν διαλυμένα στο περιβάλλον λόγω βιομηχανικών αποβλήτων, αποσύνθεσης της οργανικής ύλης ή αναγωγής των θειικών. Ερευνητές (Chang and Kim, 2007) θέλησαν να διαπιστώσουν εάν το Cr ανάγεται βιολογικά ή χημικά, μέσω της οξειδωσης του παραγόμενου HS⁻ σε στοιχειακό S⁰ από τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Sulfate Reducing Bacteria- SRB). Η αρχική τους υπόθεση ήταν ότι αν το Cr(VI) ανάγεται κυρίως βιολογικά, τότε το HS⁻ θα συσσωρεύεται ταχέως στο διάλυμα, εφόσον δεν οξειδώνεται από το Cr(VI) σε στοιχειακό θείο. Ωστόσο, όταν ανιχνεύθηκε Cr(VI), δεν ανιχνεύτηκαν στην εκροή HS⁻. Στο σχήμα που ακολουθεί (Σχήμα 2.18) απεικονίζεται η σχέση μεταξύ της παραγωγής HS⁻ και αναγωγής

του Cr(VI), όταν το HS⁻ βρίσκεται σε περίσσεια. Τελικά οι ερευνητές κατέληξαν ότι η πιο πιθανή αντίδραση για την αναγωγή του Cr(VI) είναι η ακόλουθη:



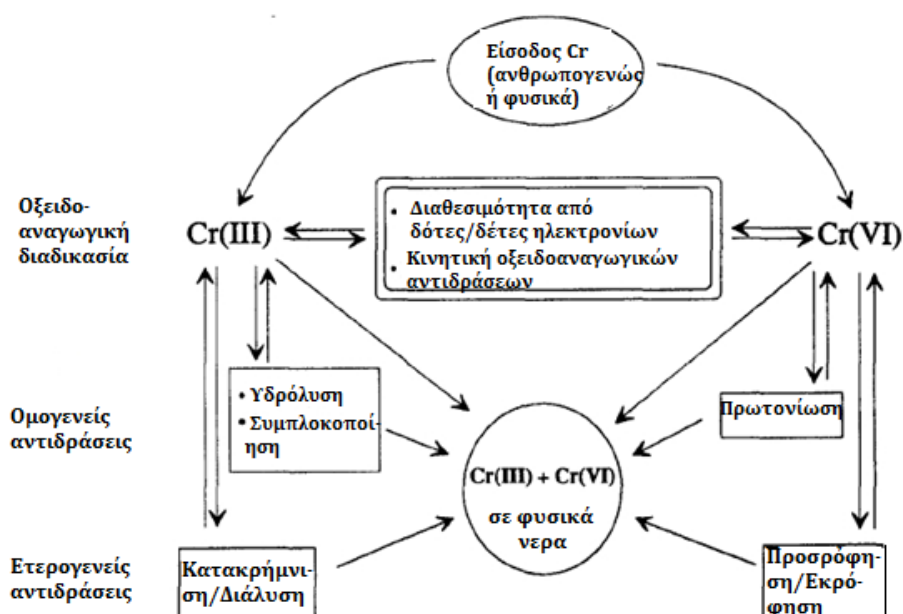
Σχήμα 2.18: αριστερά-Συσχέτιση μεταξύ του ρυθμού αναγωγής του Cr(VI) και του ρυθμού παραγωγής HS⁻; δεξιά-παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό απομάκρυνσης Cr(VI) (Chang and Kim, 2007)

Οι ερευνητές αναφέρουν στα αποτελέσματά τους ότι η αναγωγή του Cr(VI) είναι δυνατή κάτω από αναερόβιες συνθήκες πλούσιες σε θειικά, καθώς τα σουλφίδια που παράγονται από τη βιοαναγωγή των θεικών συμβάλλουν στην αναγωγή του Cr(VI). Η αναγωγή του εξασθενούς σε τρισθενές είναι στην αρχή γρήγορη, μετά επιβραδύνει αφού περάσει λίγος χρόνος και ολοκληρώνεται μετά από μια μέρα. Περίπου το 30% της περίσσειας HS⁻ απαιτείται για την πλήρη απομάκρυνση του Cr(VI). Ο ρυθμός αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου από υδρόθειο (H₂S) μελετήθηκε επίσης εκτενώς (Pettine et al., 1998).

2.5.3 Χημική Ισορροπία Ιοντικών Μορφών Χρωμίου

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, η διαλυτότητα του χρωμίου εξαρτάται έντονα από την οξειδωτική του κατάσταση. Εκτός από τις συνθήκες οξειδοαναγωγής, η

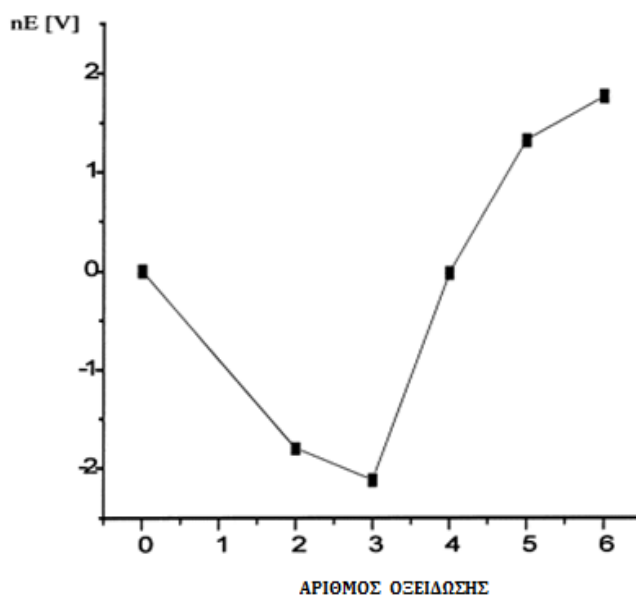
επίδραση της χημείας του νερού (pH, ανταγωνιστικά ιόντα, παράγοντες συμπλοκοποίησης) και των φυσικών στερεών (προσοροφητές) μπορεί επίσης να είναι αρκετά σημαντική. Ως αποτέλεσμα, οι γεωχημικοί κύκλοι του χρωμίου (Σχήμα 2.19) θα πρέπει να ελέγχονται κατά κύριο λόγο από τις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες, λαμβάνοντας υπόψη, ότι η δημιουργία ισορροπίας μεταξύ Cr(III) και Cr(VI) δεν είναι ταχεία (Richard and Bourg, 1991). Η ισορροπία μεταξύ των δύο μορφών χρωμίου είναι δυνατόν να καθοριστεί από το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του περιβάλλοντος (Redox) ή τη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου (DO).



Σχήμα 2.19: Γεωχημική ισορροπία του χρωμίου (Richard and Bourg, 1991)

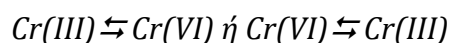
Όπως παρατηρούμε και στο παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 2.20), γνωστό και ως διάγραμμα Frost, για να μετατραπεί το τρισθενές χρώμιο σε χαμηλότερες ή σε υψηλότερες καταστάσεις οξείδωσης απαιτούνται σημαντικά ποσά ενέργειας (Kotas and Stasicka, 2000). Το αρνητικό πρότυπο δυναμικό (E) του ζευγαριού ιόντων Cr(III)/Cr(II) υποδεικνύει ότι το Cr(II) οξειδώνεται εύκολα σε Cr(III) και τα είδη του Cr(II) είναι σταθερά μόνο σε περίπτωση απουσίας οποιουδήποτε οξειδωτικού (αναερόβιες συνθήκες). Αντίθετα το Cr(VI) σε όξινο διάλυμα επιδεικνύει ένα πολύ υψηλό θετικό

δυναμικό οξειδοαναγωγής (Shriver et al., 1994), το οποίο δηλώνει ότι είναι ισχυρό οξειδωτικά και ασταθές παρουσία δοτών ηλεκτρονίων.



Σχήμα 2.20: Διάγραμμα Frost για είδη Cr σε όξινο διάλυμα (Shriver et al., 1994)

Το Cr(VI) διατηρεί την ιοντική του μορφή δηλαδή δε μετατρέπεται σε Cr(III), όταν βρεθεί σε ουδέτερες ή οξειδωτικές συνθήκες, ενώ παράλληλα το Cr(III), κάτω από αναγωγικές συνθήκες παραμένει στην αρχική μορφή του. Είναι γεγονός ότι για να μπορέσει να μετατραπεί το χρώμιο από μια ιοντική μορφή σε άλλη θα πρέπει να υπάρχουν κατάλληλες συνθήκες ώστε να ευνοηθεί μια τέτοια διεργασία. Βέβαια, καμιά μετατροπή δε γίνεται σε απόλυτο βαθμό, δηλαδή σε μια αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου π.χ. θα υπάρχει στο διάλυμα και τρισθενές και εξασθενές χρώμιο στο τέλος. Με άλλα λόγια δεν έχουμε 100% μετατροπή και στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν εκμηδενίζεται εντελώς η συγκέντρωση ούτε του εξασθενούς αλλά ούτε και του τρισθενούς χρωμίου. Αντίθετα, υπάρχει μια χημική ισορροπία μεταξύ των δύο μορφών (Saleh et al., 1989):



Η συμπεριφορά του χρωμίου μελετήθηκε από πολλούς τα τελευταία χρόνια. Η μετατροπή του εξασθενούς σε τρισθενές χρώμιο και αντίστροφα «απαιτεί» όπως έχει προαναφερθεί την ύπαρξη ενός οξειδοαναγωγικού ζευγαριού το οποίο δέχεται ή προσφέρει τα απαραίτητα ηλεκτρόνια. Σε φυσικά υδατικά περιβάλλοντα τα σημαντικά αυτά ζευγάρια είναι (Richard and Bourg, 1991): $H_2O/O_2(aq)$, $Mn(II)/Mn(IV)$, NO_2/NO_3 , $Fe(II)/Fe(III)$, S^{2-}/SO_4^{2-} , CH_4/CO_2 .

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται πιο αναλυτικά οι πιο χαρακτηριστικές εξισώσεις οξείδωσης και αναγωγής του χρωμίου (εξασθενούς και τρισθενούς) σε διάφορα E(V).

Πίνακας 2.2: Χημικές εξισώσεις αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου (Kimbrough et al., 1999)

Χημικές εξισώσεις Αναγωγής	E(V)
$2HCrO_4^- + 3V^{2+} + 7H^+ \leftrightarrow Cr^{3+} + 3V^{3+} + 4H_2O$	0,56
$HCrO_4^- + 3Fe^{2+} + 7H^+ \leftrightarrow Cr^{3+} + 3Fe^{3+} + 4H_2O$	0,56
$2HCrO_4^- + 3H_2S + 8H^+ \leftrightarrow 2Cr^{3+} + 3S + 5H_2O$	1,18
$2HCrO_4^- + 3HNO_2 + 5H^+ \leftrightarrow 2Cr^{3+} + 3NO_3^- + 5H_2O$	0,35
$2HCrO_4^- + 3HSO_3 + 5H^+ \leftrightarrow 2Cr^{3+} + 3SO_4^{2-} + 5H_2O$	2,115
$2CrO_4^{2-}/Cr_2O_7^{2-} + R_3CH \leftrightarrow Cr^{3+} + R_3COH$	
$2CrO_4^{2-}/Cr_2O_7^{2-} + RCH_3 \leftrightarrow Cr^{3+} + RCH_2OH$	
$2CrO_4^{2-}/Cr_2O_7^{2-} + RCHO \leftrightarrow Cr^{3+} + RCOOH$	
$2CrO_4^{2-}/Cr_2O_7^{2-} + PAH \leftrightarrow Cr^{3+} + Quinones$	
$2CrO_4^{2-}/Cr_2O_7^{2-} + 3HCOOH \leftrightarrow 2Cr^{3+} + 3CO_2$	
$2CrO_4^{2-}/Cr_2O_7^{2-} + 2CH_3CH_2OH \leftrightarrow 2Cr^{3+} + 2CH_3OOH$	

Πίνακας 2.3: Χημικές εξισώσεις οξειδωσης του τρισθενούς χρωμίου (Kimbrough et al., 1999)

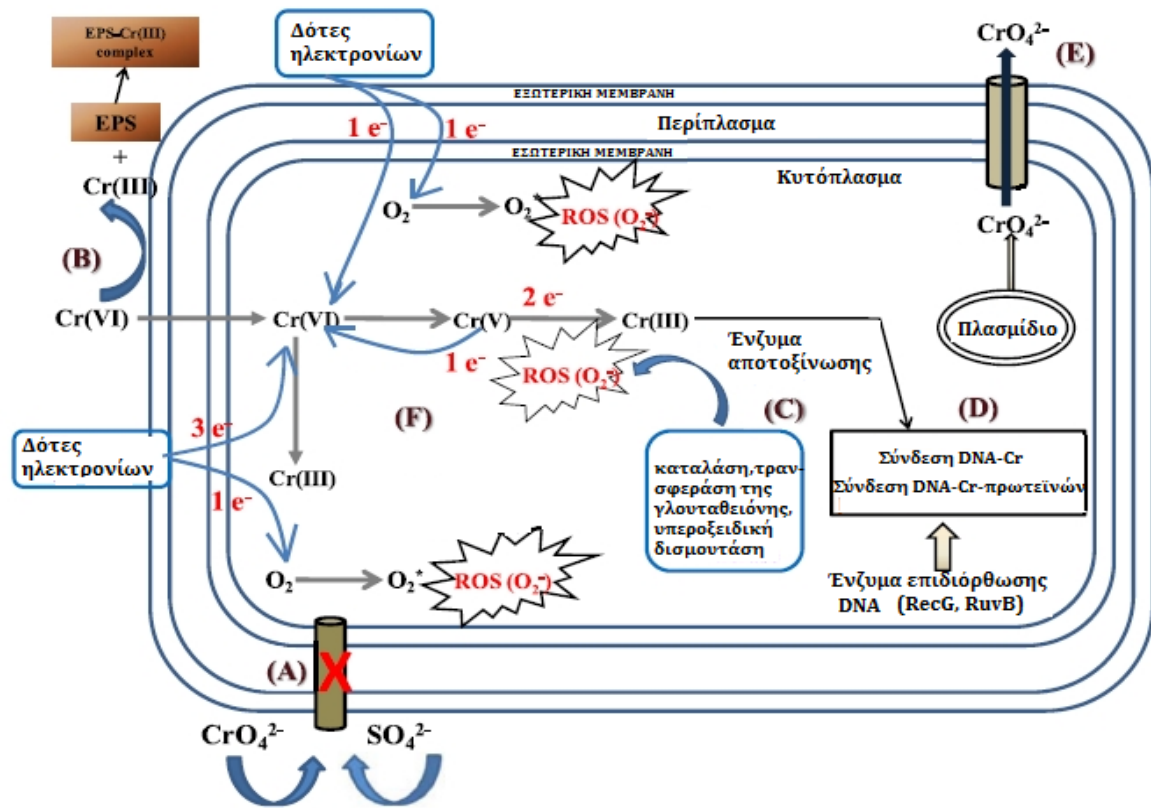
Χημικές εξισώσεις Οξειδωσης	E(V)
$2Cr^{3+} + 5H_2O + 3O_3 \leftrightarrow 2CrO_4^{2-} + 10H^+ + 3O_2$	0,87
$2Cr^{3+} + 2H_2O + 3H_2O_2 \leftrightarrow 2CrO_4^{2-} + 10H^+$	0,58
$2Cr(OH)_3 + 3MnO_2(s) \leftrightarrow 2CrO_4^{2-} + 3Mn^{2+} + 2H_2O + 2OH^-$	1,328
$2Cr^{3+} + 3H_2O + 2MnO_4^- \leftrightarrow Cr_2O_7^{2-} + 6H^+ + 2MnO_2$	0,35
$2Cr^{3+} + 7H_2O + 6Mn^{3+} \leftrightarrow Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6Mn^{2+}$	0,18
$2Cr^{3+} + H_2O + 3PbO_2 \leftrightarrow Cr_2O_7^{2-} + 2H^+ + 6Pb^{2+}$	0,13

2.6 Βιοχημεία Αναγωγής Χρωμίου

Ο μηχανισμός της βακτηριακής αναγωγής του Cr(VI) κυμαίνεται από στέλεχος σε στέλεχος ανάλογα με βιο-γεωχημικές δραστηριότητες του κάθε μ/ο και τον τρόπο που αξιοποιούν τα θρεπτικά συστατικά τους, τα οποία επηρεάζουν άμεσα την αντίσταση/ανοχή στο χρώμιο (Megharaj et al., 2003; Lovley and Coates, 1997). Αυτοί οι δύο όροι συχνά χρησιμοποιούνται αδιακρίτως, αλλά η σημασία τους είναι διαφορετική.

«Αντίσταση» (resistance) ορίζεται ως η ικανότητα ενός μικροοργανισμού να επιβιώσει από τις τοξικές επιδράσεις της έκθεσης σε ένα μέταλλο με τη βοήθεια μηχανισμών αποτοξίνωσης που παράγει ως άμεση ανταπόκριση στην επαφή που έχει με άλλα είδη μετάλλων και «ανοχή» (tolerance) ορίζεται ως η ικανότητα ενός μικροοργανισμού να επιβιώσει από την τοξικότητα των μετάλλων με τη βοήθεια των εγγενών ιδιοτήτων ή/και λόγω περιβαλλοντικής τροποποίησης της τοξικότητας (Gadd, 1992).

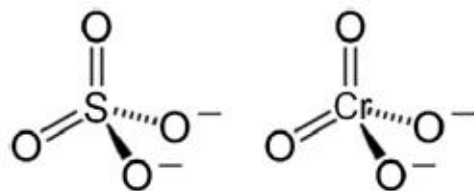
Η βακτηριακή αναγωγή του Cr(VI) μπορεί να συμβεί είτε «άμεσα» με τη χρήση ενζύμων ή «έμμεσα», με κατάλυση από μεταβολικά τελικά προϊόντα όπως ο Fe(II) και το HS, μέσω βακτηρίων αναγωγής του σιδήρου και του θείου, αντίστοιχα (Hwang et al., 2002). Τα βακτήρια έχουν αναπτύξει διαφορετικούς μηχανισμούς αντοχής για να ξεπεραστεί η τοξικότητα του Cr(VI), οι οποίοι σε γενικές γραμμές περιλαμβάνουν τη μειωμένη πρόσληψη του Cr(VI), την εξωκυτταρική αναγωγή, ενδοκυτταρικά ένζυμα αποτοξίνωσης από τα ROS, ένζυμα για την επιδιόρθωση του DNA, εκροή του Cr(VI) από τα κύτταρα και δράση ενζύμων προς αποφυγή των ROS. Όλη η μικροβιακή αποκατάσταση του Cr(VI) αποτυπώνεται στο Σχήμα 2.21 και επεξηγείται παρακάτω αναλυτικά ως εξής (Thatoi et al., 2014):



Σχήμα 2.21: Μηχανισμοί χρωμικής αντίστασης σε βακτηριακά κύτταρα. (A) Μετάλλαξη σε κωδικοποιημένα χρωμοσώματα-πρόσληψης/μεταφοράς θεικών (B) Εξωκυτταρική αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) (C) Ενδοκυτταρική αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) με χρωμικές αναγωγάσες (D) Λειτουργία του συστήματος επιδιόρθωσης SOS στη μείωση του οξειδωτικού στρες (E) Εκροή του χρωμικού από το κυτταρόπλασμα (F) Η δράση του ενζύμου εντοπισμού των ROS για τη μείωση του οξειδωτικού στρες (Thatoi et al., 2014)

(A) Μειωμένη πρόσληψη του Cr(VI)

Ένα από τα πιο αποτελεσματικά συστήματα προστασίας από τις τοξικές επιπτώσεις του Cr(VI) είναι πιθανόν να σχετίζεται με τη μειωμένη πρόσληψη του Cr(VI), καθώς έχει παρόμοια οδό πρόσληψης με τα θειικά. Η τετραεδρική δομή των χρωμικών ιόντων (CrO_4^{2-}) μοιάζει με τα ιόντα των θειικών (SO_4^{2-}) (Σχήμα 2.22) και μπορεί εύκολα να περάσει στην κυτταρική μεμβράνη μέσω της οδού μεταφοράς των SO_4^{2-} , με τη βοήθεια ανιονικών φορέων (SO_4^{2-} , PO_4^{3-}) (Wenbo et al., 2000). Η μεταφορά του χρωμικού είναι μειωμένη εάν το χρωμοσωμικό μονοπάτι πρόσληψης θειικών είναι μεταλλαγμένο (Ramirez-Diaz et al., 2008). Οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται σε ρυπασμένο περιβάλλον υφίστανται ταχεία μετάλλαξη προκειμένου να αναπτύξουν αντίσταση στο Cr(VI) που οδηγεί σε μείωση της πρόσληψης Cr(VI) από το θειικό μονοπάτι μεταφοράς. Ευαίσθητοι οργανισμοί μπορεί να γίνουν ανθεκτικότεροι με μετάλλαξη ή με ενσωμάτωση της γενετικής πληροφορίας, η οποία κωδικοποιεί την αντίσταση (Kümmerer, 2004).



Σχήμα 2.22: Δομική ομοιότητα των χρωμικών και θειικών ιόντων (Thatoi et al., 2014)

(B) Εξωκυτταρική αναγωγή Cr(VI)

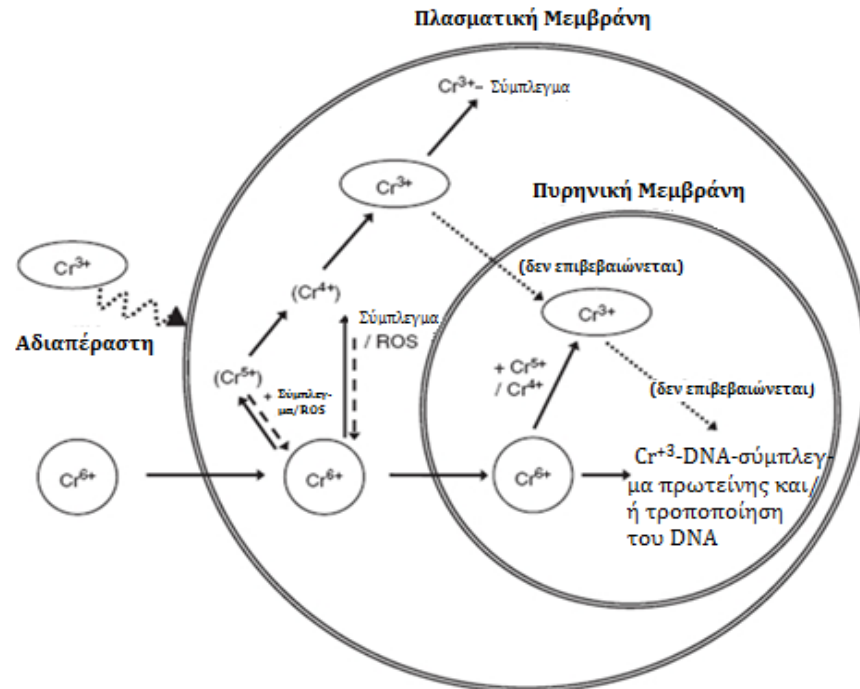
Η εξωκυτταρική αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) που ακολουθείται από σύνδεση του με λειτουργικές ομάδες επί της βακτηριακής κυτταρικής επιφάνειας είναι ένας ακόμη μηχανισμός αντίστασης (Ngwenya and Chirwa, 2011). Η δέσμευση του Cr(III) σε βακτηριακή κυτταρική επιφάνεια βοηθά την εύκολη αφαίρεση του από το ρυπασμένο περιβάλλον. Τα συστατικά πεπτιδογλυκάνης που υπάρχουν στα κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων έχει βρεθεί πως δημιουργούν ισχυρούς δεσμούς με το Cr(III) (Hoyle and Beveridge, 1983). Έχει επίσης αποδειχθεί ότι ορισμένα είδη βακτηρίων έχουν προσροφητικές ιδιότητες που διευκολύνουν την απομάκρυνση των μεταλλικών ειδών

από τα υδατικά διαλύματα. Αυτές οι ιδιότητες εξαρτώνται κυρίως από την κατανομή δραστικών ομάδων όπως η καρβοξυλαμίνη, το υδροξύλιο, το φωσφορικό άλας και οι σουλφυδρυλομάδες ή αλλιώς υδροθειομάδες (-SH) στην επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων (Parmar et al., 2000). Με αυτόν τον τρόπο δεν υπάρχει προφανής είσοδος Cr(VI) στο κύτταρο όταν η βιομετατροπή του πραγματοποιείται εξωκυτταρικά.

(C) Ενδοκυτταρική αναγωγή Cr(VI)

Η κυτταρική μεμβράνη είναι σχεδόν αδιαπέρατη από το Cr(III) και έχει περίπου το ένα χιλιοστό της τοξικότητας του Cr(VI) (Czako-Ver et al., 1999). Το Cr(VI) παραλαμβάνεται στα κύτταρα των οργανισμών μέσω της μεμβράνης, με διαύλους μεταφοράς των θεικών (Ohtake et al., 1987). Υπό κανονικές φυσιολογικές συνθήκες, το Cr(VI) αντιδρά αυθόρμητα με τα αναγωγικά ενδοκυτταρικά συστατικά (π.χ. ασκορβικό και γλουταθειόνη) για να δημιουργήσει τα βραχύβια ενδιάμεσα Cr(V) ή/και Cr(IV), ελεύθερες ρίζες και το τελικό προϊόν Cr(III) (Costa, 2003; Xu et al., 2004; 2005). Το Cr(V) υποβάλλεται σε έναν οξειδοαναγωγικό κύκλο του ενός ηλεκτρονίου για την ανάπλαση του Cr(VI). Η διεργασία παράγει χημικά μόρια που περιέχουν οξυγόνο (ROS-Reactive Oxygen Species) που εύκολα ενώνονται με συκροτήματα DNA-πρωτεϊνών. Τα ROS οδηγούν σε οξειδωτικό στρες τα βακτήρια. Το Cr(IV) θα συνδεθεί με κυτταρικά υλικά και θα ανατρέψει τις φυσιολογικές λειτουργίες τους (Pesti et al., 2000; Cervantes et al., 2001).

Σε αυτή τη διαδικασία, οι βακτηριακές πρωτεΐνες κατατάσσονται στην άμυνα κατά του οξειδωτικού στρες που οδηγεί σε έναν πρόσθετο μηχανισμό χρωμικής αντίστασης (Ramirez-Diaz et al., 2008). Ωστόσο, το οξειδωτικό στρες που προκύπτει λόγω των ROS εκμηδενίζεται σε μεγάλο βαθμό από αποτοξινωτικά ένζυμα όπως η τρανσφεράση της γλουταθειόνης, η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η καταλάση (Ackerley et al., 2004b). Στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 2.23) συνοψίζονται τα διάφορα μονοπάτια που ακολουθούνται από το Cr(VI) αφού μπει στα κύτταρα των μικροοργανισμών. Αφορά δηλαδή το κομμάτι C του Σχήματος 2.22 απομονωμένο.



Σχήμα 2.23: Επεξηγηματικό σχηματικό διάγραμμα της εισχώρησης του Cr(VI) στο κύτταρο. Τα ενδοκυτταρικά Cr(VI) συχνά υποχρεούνται να δώσουν ένα ηλεκτρόνιο παράγοντας το Cr(V) και ένα μεγάλο ποσοστό των ROS που προκαλούν τα προβλήματα στο κύτταρο (Vincent, 1994)

(D) Ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA

Η προστασία των βακτηριακών κυττάρων από ένζυμα επιδιόρθωσης του κατεστραμμένου DNA που προκαλείται από το Cr(VI) είναι μια άλλη ασπίδα. Το Cr(VI) εισέρχεται στο βακτηριακό κύτταρο και εύκολα μετατρέπεται σε Cr(III) με τη δράση διαφόρων ενζυμικών ή μη-ενζυμικών δραστηριοτήτων που οδηγεί στην παραγωγή των ROS, τα οποία με τη σειρά τους προκαλούν σοβαρές βλάβες στις πρωτεΐνες και το DNA των κυττάρων όπως τροποποίηση των βάσεων και βλάβη της μονής αλυσίδας. Αυτές οι βλάβες που προκαλούνται στο DNA μπορεί να επισκευαστούν μέσω ειδικού μηχανισμού επιδιόρθωσης του DNA, όπως είναι τα ένζυμα ανταπόκρισης SOS (RecA, RecG, RuvB) (Hu et al., 2005). Για παράδειγμα, για το *Escherichia coli*, η παρουσία Cr(VI) είναι γνωστό ότι ενεργοποιεί το σύστημα επιδιόρθωσης που προστατεύει το DNA από οξειδωτική βλάβη (Llagostera et al., 1986). Ομοίως οι DNA ελικάσες RecG και RuvB, έχει αποδειχθεί από τους

Miranda et al. (2005) ότι συμμετέχουν στα προβλήματα που προκαλούνται από τα χρωμικά στο *Pseudomonas aeruginosa*, ως συστατικά του συνδυαστικού συστήματος επιδιόρθωσης του DNA. Μία επιπλέον διαδικασία ενεργοποίησης της άμυνας κατά τον Zhitkovich (2011), συμβαίνει κατά την αναγωγή του Cr(VI), κατά την οποία παράγονται δραστικά ενδιάμεσα οξειδοαναγωγής-Cr(V/IV) και το σταθερό Cr(III), σχηματίζοντας ενώσεις Cr-DNA που προκαλούν μεταλλάξεις και χρωμοσωμικά κενά.

(E) Εκροή του Cr(VI) από το κύτταρο

Η εκροή χρωμικών ιόντων από το κυτταρόπλασμα των κυττάρων, που προκαλείται από ειδικούς μεταφορείς γονιδίων που κωδικοποιούνται από το πλασμίδιο, είναι επίσης ένας μηχανισμός ανθεκτικότητας που βρέθηκε σε βακτήρια. Η εκροή των χρωμικών έχει διαπιστωθεί ότι είναι ένας αποτελεσματικός και ευρέως διαδεδομένος μηχανισμός αντίστασης, ο οποίος εμποδίζει τη συσσώρευση των τοξικών ιόντων μέσα στα βακτηριακά κύτταρα (Ramirez-Diaz et al., 2008). Το καλύτερο κατανοητό σύστημα αντίστασης στο χρώμιο παρέχεται από την πρωτεΐνη ChrA του *P. Aeruginosa*, η οποία ανήκει στους μεταφορείς χρωμικών ιόντων της ευρύτερης CHR κατηγορίας πρωτεϊνών. Η ChrA, είναι μία υδρόφοβη πρωτεΐνη μεμβράνης, που κωδικοποιείται από τα πλασμίδια pUM505 του *P. aeruginosa* και pMOL28 του *Cupriavidus metallidurans* (πρώην *Alcaligenes eutrophus* και *Ralstonia metallidurans*) (Cervantes et al., 1990; Nies et al., 1990) και έχει καταδειχθεί ότι συμμετέχει στη χρωμική αντίσταση μέσω του μηχανισμού εκροής (Ramirez-Diaz et al., 2008). Η ChrA πρωτεΐνη λειτουργεί ως χημοστατική αντλία που οδηγεί τα ιόντα χρωμίου από το κυτταρόπλασμα ή το περίπλασμα προς τα έξω ωθούμενη από την κινητήρια δύναμη των πρωτονίων (Alvarez et al., 1999). Οι CHR πρωτεΐνες υπάρχουν σε πολλά βακτήρια και έχει αποδειχθεί γενικότερα ότι λαμβάνουν μέρος στο μηχανισμό εκροής του εξασθενούς χρωμίου (Ramirez-Diaz et al., 2008).

Οι Ackerley et al. (2004b) πρότειναν μια ευρεία ταξινόμηση αυτών των αναγωγικών ως προς το Cr(VI) ενζύμων, χωρίζοντας τα στις Τάξεις I ή II με βάση την κοινή δομική/γενετική τους αλληλουχία. Στην Τάξη I ανήκουν για παράδειγμα τα ένζυμα ChrR και YieF των βακτηρίων που έχουν κοινή αλληλουχία ενώ στην Τάξη II περιλαμβάνονται

οι χρωμικές αναγωγάσες, οι οποίες διαθέτουν ικανότητες αναγωγής νιτρικών και είναι οι μόνες που μοιάζουν γενετικά με τα ένζυμα της Τάξης I.

(F) Δράση ενζύμων προς αποφυγή των ROS

Μετά την είσοδο του Cr(VI) στο κύτταρο, φορείς ηλεκτρονίων ή κάποιες άλλες οργανικές ενώσεις (όπως γλυκόζη) δωρίζουν ηλεκτρόνια προς το Cr(VI), οδηγώντας στο σχηματισμό του σχετικά ασταθούς τοξικού ενδιάμεσου Cr(V). Αν και οι χρωμικές αναγωγάσες μετατρέπουν το Cr(V) σε Cr(III) με μεταφορά δύο ηλεκτρονίων, μερικές φορές αυτή η αντίδραση δεν είναι τόσο ταχεία. Ως αποτέλεσμα ένα τμήμα του ενδιάμεσου Cr(V) γρήγορα επανοξειδώνεται σε Cr(VI) δημιουργώντας τα ROS, παρόλο που οι αναγωγάσες δρουν με ταχύτητα προς αποφυγή της ύπαρξης αυτών. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας σχηματίζονται ρίζες υδροξυλίου (OH^\cdot) στο κύτταρο (Shi and Dalal, 1994) όπως αναγράφεται στην εξίσωση: $\text{Cr(V)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cr(VI)} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αναγωγής, το μοριακό οξυγόνο ανάγεται σε ρίζες O_2^\cdot που παράγουν H_2O_2 μέσω αποσύνθεσης. Το Cr(V) αντιδρά με H_2O_2 για να δημιουργήσει ρίζες $\cdot\text{OH}$ και Cr(VI).

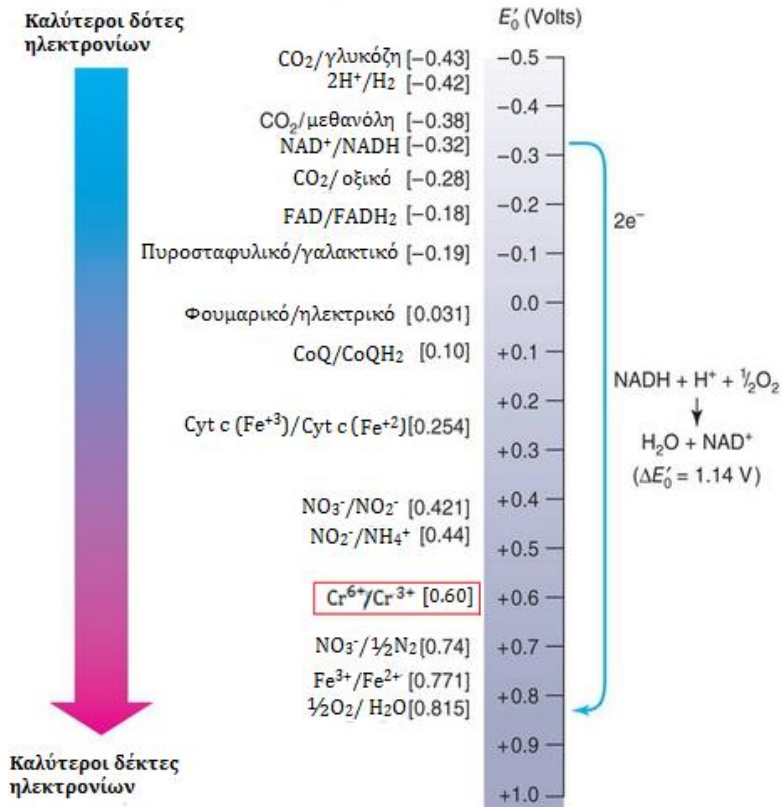
Σχετικά με τους φορείς των ηλεκτρονίων, αυτοί υποδιαιρούνται σε δύο κατηγορίες: εκείνους που διαχέονται ελεύθερα και εκείνους που συνδέονται ισχυρά με ένζυμα της κυτταρικής μεμβράνης.

Στους ελεύθερα διαχεόμενους φορείς ανήκουν τα συνένζυμα νικοτιναμιδο-αδενινω-δινουκλεοτίδιο (NAD^+) και φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινω-δινουκλεοτίδιο (NADP^+) (Madigan et al., 2003). Τα NAD^+ και NADP^+ είναι φορείς ατόμου του υδρογόνου: μεταφέρουν δύο άτομα υδρογόνου στον επόμενο φορέα της αλυσίδας στην οποία συμμετέχουν (αφυδρογόνωση). Αυτές οι αφυδρογονάσες που στην ανηγμένη μορφή τους είναι τα NADH και NADPH αντίστοιχα, προσδένονται στην εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης, μεταφέρουν ηλεκτρόνια από ένα σημείο του κυττάρου στο άλλο και στη συνέχεια απελευθερώνονται.

Οι συνδεδεμένοι φορείς, οι οποίοι συμμετέχουν στις αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων που λαμβάνουν χώρα στην κυτταρική μεμβράνη είναι: οι φλαβοπρωτεΐνες, οι κινόνες, τα κυτοχρώματα και οι σιδηροθειούχες πρωτεΐνες. Πιο αναλυτικά, οι φλαβοπρωτεΐνες, είναι

πρωτεΐνες που περιέχουν ένα παράγωγο της ριβοφλαβίνης (το τμήμα της φλαβίνης που μπορεί να ανάγεται ή να οξειδώνεται). Οι φλαβοπρωτεΐνες προσλαμβάνουν άτομα υδρογόνου και αποβάλλουν ηλεκτρόνια. Οι κινόνες είναι ιδιαίτερος υδρόφοβα, μη πρωτεϊνικά μόρια που συμμετέχουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων. Λειτουργούν ως δέκτες ατόμων υδρογόνου και ως δότες ηλεκτρονίων, όπως οι φλαβοπρωτεΐνες. Τα κυτοχρώματα, που είναι πρωτεΐνες στις οποίες έχουν προσδεθεί σιδηροπορφυρινικοί δακτύλιοι (αίμη) ως προσθετική ομάδα, υφίστανται οξείδωση και αναγωγή, αποβάλλοντας ή προσλαμβάνοντας ένα μόνο ηλεκτρόνιο από το άτομο του σιδήρου στο κέντρο του κυτοχρώματος. Τέλος υπάρχουν οι σιδηροθειούχες πρωτεΐνες, οι οποίες απαντούν πολλές διατάξεις σιδήρου-θείου, αλλά συνηθέστερα είναι τα συμπλέγματα Fe_2S_2 και Fe_2S_4 . Οι πρωτεΐνες αυτές, όπως και τα κυτοχρώματα, μεταφέρουν μόνο ηλεκτρόνια όχι άτομα υδρογόνου (Madigan et al., 2003).

Όταν χρησιμοποιούνται τέτοιοι φορείς, η πρώτη ουσία που προσφέρει ηλεκτρόνια είναι ο αρχικός δότης ηλεκτρονίων και η τελευταία ουσία που προσλαμβάνει είναι ο τελικός δέκτης. Η καθαρή μεταβολή της ενέργειας σε μία ολοκληρωμένη διαδικασία αντίδρασης ορίζεται ως η διαφορά των δυναμικών αναγωγής ($\Delta E_0'$) μεταξύ του αρχικού δότη και του τελικού δέκτη. Στο παρακάτω σχήμα φαίνονται οι κύριοι συντελεστές μεταφοράς ηλεκτρονίων σε ένα μικροοργανισμό (Σχήμα 2.24).



Σχήμα 2.24: Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και η σχέση τους με το E'_0 (Microbiology, Westminster College; Singh, 2005)

2.6.1 Ενδοκυτταρικοί Μηχανισμοί Αναγωγής Cr(VI)

Επειδή η μικρή ως μηδενική διαλυτότητα του Cr(III) διευκολύνει την κατακρήμιση του και την αφαίρεση, η βιομετατροπή του Cr(VI) προς Cr(III) θεωρήθηκε ως εναλλακτική μέθοδος για την αναγωγή του Cr(VI) (Ohtake and Silver, 1994; Cervantes et al., 2001). Δεδομένου ότι η ανακάλυψη του πρώτου μικροβίου ικανό να μειώσει τη συγκέντρωση του Cr(VI) έγινε τη δεκαετία του 1970 (Romanenko and Korenkon, 1977), η αναζήτηση μικροοργανισμών (τόσο αερόβιων όσο και αναερόβιων) έχει επιδιωχθεί με ενθουσιασμό, με πολυάριθμα στελέχη που απομονώθηκαν.

Η αερόβια βιοεπανόρθωση περιλαμβάνει μικροβιακές αντιδράσεις που απαιτούν οξυγόνο για να προχωρήσουν. Τα βακτήρια χρησιμοποιούν ένα υπόστρωμα άνθρακα ως δότη ηλεκτρονίων και το οξυγόνο ως τον αποδέκτη ηλεκτρονίων. Η αερόβια και ανοξική αναγωγή είναι διαδικασίες όπου τα μικρόβια δεν αποκτούν ενέργεια ή άνθρακα αλλά επιτυγχάνεται αποικοδόμηση του μετάλλου μέσω μιας πλευρικής αντίδρασης (EPA, 2006).

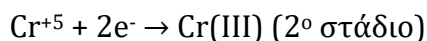
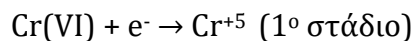
Από την άλλη πλευρά, η αναερόβια βιοεπανόρθωση περιλαμβάνει μικροβιακές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την απουσία οξυγόνου. Περιλαμβάνει πολλές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ζύμωσης, της αναγωγικής αποχλωρίωσης, της μεθανογένεσης, της αποθείωσης και της απονιτροποίησης. Στον αναερόβιο μεταβολισμό, τα θειικά, το διοξείδιο του άνθρακα, τα οξειδωμένα υλικά ή οι οργανικές ενώσεις, μπορούν να αντικαταστήσουν το οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων. Πολλοί από τους μικροοργανισμούς που καταλύουν τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής χρησιμοποιούν τα μέταλλα ή μεταλλοειδή ως τερματικούς αποδέκτες ηλεκτρονίων στην αναερόβια αναπνοή. Τέτοιοι μικροοργανισμοί ποικίλουν ως προς τη φυλογενετική (Loneragan et al., 1996) και τη φυσιολογία (Lovley et al., 1997). Μεταξύ των διαφορετικών ομάδων μικροοργανισμών, η αναγωγή του Cr(VI) μελετήθηκε σε ένα μεγάλο αριθμό βακτηριακών ειδών. Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα βακτηριακά στελέχη μετατρέπουν το Cr(VI) σε Cr(III) ποικίλουν και εξαρτώνται από τα είδη των μ/ο (McLean et al., 2000). Από μελέτες σε μικροοργανισμούς έχει καταγραφεί ότι η μικροβιακή απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου Cr(VI) από διαλύματα, περιλαμβάνει τυπικά τα ακόλουθα στάδια: 1. Δέσμευση του χρωμίου στην κυτταρική επιφάνεια 2. Μεταφορά του χρωμίου εντός του κυττάρου 3. Αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου Cr(VI) σε Cr(III).

2.6.1.1 Μηχανισμός Αναγωγής Cr(VI) σε Αερόβιο Περιβάλλον

Στην περίπτωση της αερόβιας μικροβιακής αναγωγής, η διεργασία της αναγωγής οφείλεται σε διαλυτές πρωτεΐνες που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα ή στο διαλυτό κλάσμα του κυττάρου και χρειάζονται προσθήκη άνθρακα για να πραγματοποιηθεί η

αναγωγή. Με την παρουσία οξυγόνου, η αναγωγή του Cr(VI) μέσω βακτηρίων συνήθως εμφανίζεται ως μια διαδικασία δύο ή τριών σταδίων, με το Cr(VI) να μετατρέπεται αρχικά στα βραχύβια ενδιάμεσα Cr(V) ή/και Cr(IV) πριν την περαιτέρω αναγωγή στο θερμοδυναμικά σταθερό τελικό προϊόν Cr(III) (Cheung and Gu, 2007).

Παρουσία οξυγόνου, τα ένζυμα υπεύθυνα για τη μείωση του Cr(VI) σε Cr(III) απαιτούν το NAD(P)H. Δύο βήματα έχουν προταθεί ότι συμμετέχουν στις αντιδράσεις αναγωγής: πρώτα το Cr(VI) δέχεται ένα ηλεκτρόνιο από ένα μόριο NADH και δημιουργεί το Cr(V) ως ενδιάμεσο και στη συνέχεια, το Cr(V) δέχεται δύο ηλεκτρόνια για να σχηματίσουν το Cr(III) (Singh et al., 2011) ως ακολούθως:

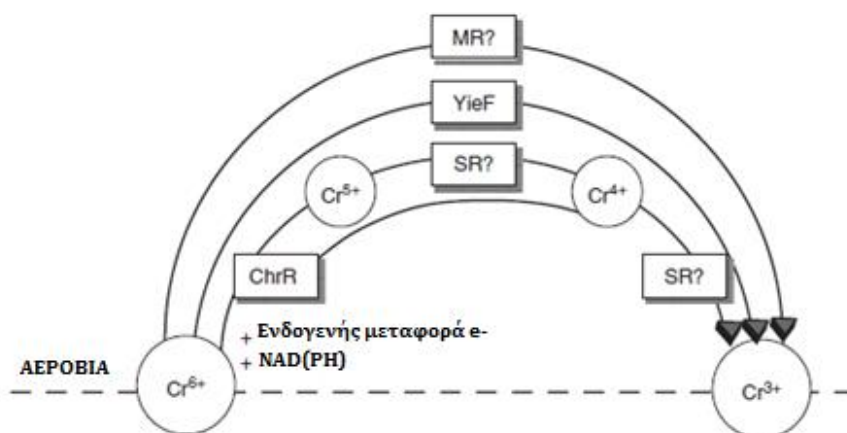


Το παραγόμενο τρισθενές χρώμιο Cr(III), έχει τη μορφή δυσδιάλυτου Cr(OH)₃ (Cheung and Gu, 2007). Ωστόσο σε πολλά πειράματα βιοαναγωγής, έχει βρεθεί ότι μετά από τη βακτηριακή μετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III), το τελικό προϊόν δεν έχει ανιχνευθεί ως Cr(OH)₃ ακόμη και σε ουδέτερο έως αλκαλικό pH. Μερικοί ερευνητές έχουν αναφέρει ότι το εξασθενές χρώμιο μετά από αναγωγή του από βακτηρίδια σχηματίζει οργανοσύμπλοκα του τρισθενούς χρωμίου, τα οποία είναι αναπόσπαστο μέρος του βιογεωχημικού κύκλου του χρωμίου (Puzon et al., 2005).

Το υπόστρωμα, το NAD (P) H και ηλεκτρόνια από την ενδογενή εφεδρεία, εμπλέκονται ως δότες ηλεκτρονίων στη διαδικασία αναγωγής του Cr (VI) (Appenroth et al., 2000). Για να γίνει πιο κατανοητό σχηματικά, θα χρησιμοποιηθούν τα προαναφερθέντα ένζυμα ChrR και YieF των βακτηρίων *Pseudomonas putida* MK1 και *Escherichia coli*, αντίστοιχα, τα οποία είναι ευρέως μελετημένα (Park et al., 2002; Ackerley et al., 2004b). Το παρακάτω σχήμα αποτυπώνει το μηχανισμό της ενζυμικής μετατροπής του εξασθενούς χρωμίου κάτω αερόβιες συνθήκες (Σχήμα 2.25).

Η διμερής φλαβοπρωτεΐνη YieF καταλύει την άμεση αναγωγή του Cr(VI) προς Cr(III) μέσω μεταφοράς τεσσάρων ηλεκτρονίων, στην οποία τρία ηλεκτρόνια καταναλώνονται για το Cr(VI) και το άλλο μεταφέρεται στο οξυγόνο (Cheung and Gu, 2007). Δεδομένου ότι

η ποσότητα των ROS που δημιουργούνται κατά τη μετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) από το YieF είναι ελάχιστη, θεωρείται πιο αποτελεσματικό από ότι η αναγωγή ChrR για αυτή τη διαδικασία (Park et al., 2002). Αυτό οφείλεται στο ότι η διμερής φλαβοπρωτεΐνη ChrR βοηθά το Cr(VI) να δεχτεί παροδικά ένα ηλεκτρόνιο για να σχηματιστεί το Cr(V) και στη συνέχεια πραγματοποιείται η μεταφορά δύο ηλεκτρονίων για τη δημιουργία του Cr(III) (Shen and Wang, 1994). Βέβαια παρά το γεγονός ότι ένα ποσοστό του ενδιάμεσου Cr(V) αυθόρμητα επανοξειδώνεται για την παραγωγή των ROS, η αναγωγή του μέσω της μεταφοράς δύο ηλεκτρονίων που καταλύεται από το ChrR, μειώνει τη δυνατότητα να παραχθούν πάρα πολλές βλαβερές ρίζες (Ackerley et al., 2004b).



Σχήμα 2.25: Πιθανοί μηχανισμοί ενζυμικής αναγωγής Cr(VI) υπό αερόβιες συνθήκες. Κάτω από αερόβιες συνθήκες, το ChrR του *Ps. putida* MK1 καταλύει ένα συνδυασμό μεταφοράς ενός και δύο ηλεκτρονίων για τον παροδικό σχηματισμό Cr(V), το YieF του *E. coli* προκαλεί την άμεση αναγωγή του Cr(VI) προς Cr(III) με τη μεταφορά τεσσάρων ηλεκτρονίων. Τα SR και MR αντιπροσωπεύουν διαλυτές και δεσμευμένες σε μεμβράνη αναγωγάσες αντίστοιχα (Wang and Shen, 1995)

Στην ίδια κατηγορία ενζύμων (Τάξη I) ανήκει η προαναφερθείσα πρωτεΐνη ChrA που απομονώθηκε από τα στελέχη *B. cereus* SJ1 και *B. Thuringiensis* (He et al., 2010), η Frp (Zenno et al., 1998), η Azor (Robins et al., 2013) καθώς και η φλαβοπρωτεΐνη Nema, η οποία καταλύει τη χρωμική αναγωγή μέσω της προσθήκης ενός ή δυο ηλεκτρονίων από τους συμπαραγόντες NADH/NADPH (Roldan et al., 2008).

Τα διαλυτά ένζυμα που καταλύσουν την αναγωγή του Cr(VI) προς Cr(III), μπορούν να αποτοξινώσουν το περιβάλλον. Μετά τη βιομετατροπή, το Cr(III) συνήθως προσδένεται στις ηλεκτραρνητικά φορτισμένες λειτουργικές ομάδες επί της βακτηριακής κυτταρικής επιφάνειας, οι οποίες χρησιμεύουν ως θέσεις πυρήνωσης για περαιτέρω κατακρήμνιση. Το Cr(III) υποβάλλεται επίσης σε συμπλοκοποίηση με το κυτταρικό περίβλημα, γεγονός που αναστέλλει την είσοδο των μετάλλων στο κυτταρόπλασμα. Με τη χρήση αυτής της διαδικασίας, τα χρωμικά αποτοξινώνονται αποτελεσματικά και αφαιρούνται από το ρυπασμένο σε Cr(VI) υπόστρωμα κατά της αερόβιες συνθήκες (McLean and Beveridge, 2001).

2.6.1.2 Μηχανισμός Αναγωγής Cr(VI) σε Ανοξικό Περιβάλλον

Τα υπόγεια ύδατα χρησιμοποιούνται ευρέως για πόσιμο νερό στις περισσότερες χώρες. Τα νιτρικά μπορούν να μεταφερθούν στα υπόγεια ύδατα μέσω των ανεξέλεγκτων πηγών που περιέχουν νιτρικά, όπως χημικά λιπάσματα, βιομηχανικά ή οικιακά απόβλητα και στραγγίδια χώρου υγειονομικής ταφής (Ghafari et al., 2009). Τα νιτρικά άλατα στο πόσιμο νερό οδηγούν σε ενδογενή νιτρώδωση και δημιουργούν υπόνοιες για καρκίνο στον άνθρωπο (Espejo-Herrera et al., 2015). Η παραδοσιακή μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εξάλειψη νιτρικών είναι η βιολογική απονιτροποίηση. Χρησιμοποιώντας ετεροτροφικά βακτηρίδια απονιτροποίησης κάτω από ανοξικές συνθήκες γίνεται βαθμηδόν μετατροπή των νιτρικών (NO_3^-) σε νιτρώδη (NO_2^-), κατόπιν σε νιτρικό οξείδιο (NO), έπειτα σε υποοξείδιο του αζώτου (N_2O) και τελικά σε αέριο άζωτο (N_2) (Zumft, 1997).

Έχει βρεθεί πως σε αερόβιο περιβάλλον που υπάρχουν NO_3^- , η αναγωγή Cr(VI) από βακτήρια έχει αδιαίρετη σχέση με το φυσιολογικό αποδέκτη ηλεκτρονίων (οξυγόνο ή νιτρικά). Ωστόσο, η αλληλεπίδραση Cr(VI)/ NO_3^- παρέμενε μέχρι πρότινος αμφιλεγόμενη. Οι Konovalova et al. (2008) σε αερόβιες συνθήκες ανέφεραν ότι το χρωμικό άλας μπορούσε να αναστείλει την αναγωγή των νιτρικών, αλλά τα νιτρικά δεν επηρεάζουν το ποσοστό μείωσης Cr(VI) από τα στελέχη του βακτηρίου *Pseudomonas* (Han et al., 2010).

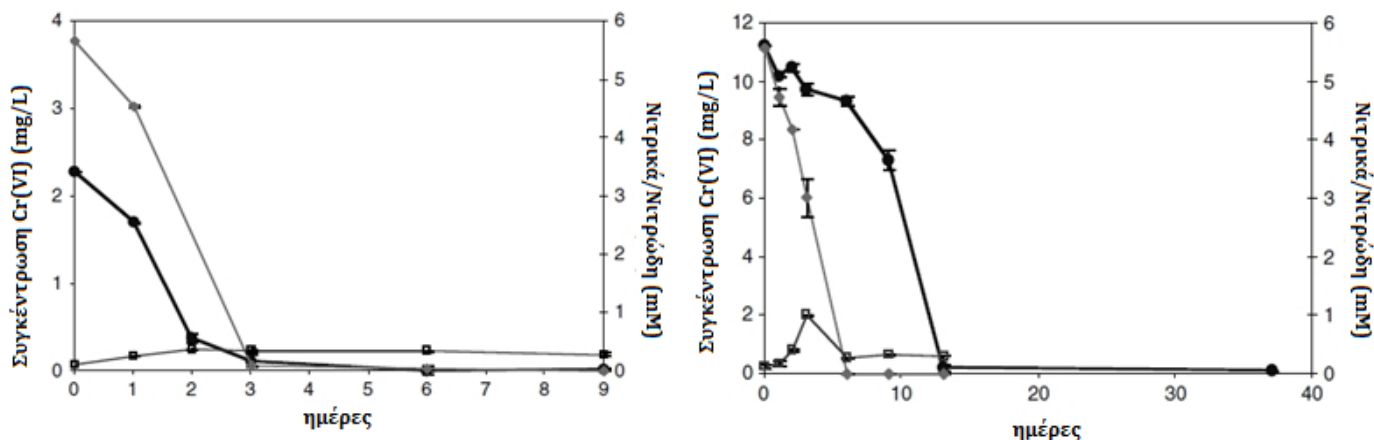
Μεταγενέστερα οι He et al. (2015) ανακάλυψαν ότι η παρουσία γονιδίων όπως η απονιτροποιητική και η χρωμική αναγωγάση εξηγεί την ικανότητα του στελέχους *Pseudomonas aeruginosa* PCN-2 να χρησιμοποιεί το O₂, το νιτρικό και το Cr(VI), ως αποδέκτες ηλεκτρονίων την ίδια στιγμή. Ωστόσο, το Cr(VI) θα μπορούσε να παρεμποδίσει την αερόβια διεργασία απονιτροποίησης, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση του N₂O λόγω ανταγωνισμού μεταξύ τριών δεκτών ηλεκτρονίων στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.

Οι νιτροαναγωγάσες ή αναγωγάσες απονιτροποίησης, ένζυμα που ανήκουν στην Τάξη II, δε φέρουν γενετικές ομοιότητες με όλα τα ένζυμα της κατηγορίας I αλλά μόνο με τις χρωμικές αναγωγάσες όπως ανακαλύφθηκε στο *P. ambigua* από τους Park et al. (2002). Τα δύο πιο διαδεδομένα μέλη της Τάξης II είναι η πρωτεΐνη NsfA του *E. coli* και η πρωτεΐνη ChfN του *B. subtilis* (Park et al., 2002). Η ChfN σε ηλεκτροφορητικά ουδέτερη κατάσταση, διαθέτει ιδιότητες χρωμικής αναγωγάσης (Park et al., 2002) και η NsfA που ανάγει αζωτούχες ενώσεις και κινόνες με υποχρεωτική μεταφορά δύο ηλεκτρονίων (Zenno et al., 1996; Ackerley et al., 2004b), θεωρείται πως έχει αναγωγικές ιδιότητες χρωμίου (Ackerley et al., 2004b). Γενικότερα έχει αναφερθεί πως οι νιτροαναγωγάσες είναι πολύ αποτελεσματικές στη βιομετατροπή Cr(VI) σε Cr(III) (Kwak et al., 2003).

Στη μελέτη των Viamajala et al. (2002) που πραγματοποιήθηκε υπό ανοξικές συνθήκες, διαπιστώθηκε αναχαίτιση της αναγωγής των NO₃⁻ παρουσία Cr(VI) και το αντίστροφο. Οι παραπάνω μελέτες αναχαίτισης που πραγματοποιήθηκαν υποδεικνύουν την εμπλοκή της νιτρώδους αναγωγάσης στην αναγωγή του Cr(VI). Επειδή η μείωση των νιτρωδών είναι μέρος της διαδικασίας της αναερόβιας αναπνοής, η αναχαίτιση λόγω Cr(VI) είναι ένα αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των συστατικών της αναερόβιας αναπνοής με το ένζυμο της νιτρώδους αναγωγάσης. Επίσης, οι διαφορές ως προς το βαθμό της αναχαίτισης στην αναγωγή των νιτρωδών παρουσία χρωμικού άλατος καθώς και το αντίστροφο φαινόμενο, σε διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης, υποδηλώνουν ότι ο μηχανισμός της τοξικότητας του Cr(VI) εξαρτάται κατά πολύ από αυτές. Συνεπώς, η αρνητική αλληλεπίδραση Cr(VI)/NO₃⁻ που μπορεί να παρατηρηθεί σε πειράματα είναι απόρροια όχι τόσο των ενζύμων που συμμετέχουν αλλά των περιβαλλοντικών συνθηκών που έχουν αναπτυχθεί στον αντιδραστήρα (Viamajala et al., 2002).

Οι περισσότερες από τις ερευνητικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί μέχρι τώρα σχετικά με την απομάκρυνση του Cr(VI), έγιναν σε αποκλειστικά ανοξικές ή αποκλειστικά αερόβιες συνθήκες, λιγότερες κάτω από αερόβιες/ανοξικές συνθήκες και σπανίως σε ανοξικές/αναερόβιες (He et al., 2015).

Η μελέτη των Williams et al. (2004) που εμπίπτει στην τελευταία από τις παραπάνω κατηγορίες, έχοντας απτά πειραματικά αποτελέσματα, έρχεται να ρίξει φως στο κατά πόσο μπορεί να πραγματοποιηθεί αναγωγή του Cr(VI) παρουσία νιτρικών και απουσία οξυγόνου. Αφού πήραν υπόγειο νερό από υδροφόρο και το εμπλούτισαν με NH₄Cl, KH₂PO₄, ιχνοστοιχεία, βιταμίνες, γαλακτικό (0.01 mol/L) για πηγή άνθρακα, NO₃⁻ (0.005 mol/L) και K₂CrO₄ σε συγκέντρωση 2,5-11 mg/L (Σχήμα 2.26), παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση NO₃⁻ και Cr(VI) μπορεί να πραγματοποιηθεί ταυτοχρόνως από μ/ο ως μία διαδικασία συν-μεταβολισμού (cometabolic) και πως μικρή μείωση της συγκέντρωσης SO₄²⁻ σημειώθηκε κατά τη διάρκεια της πειράματος (Philip et al., 1998). Εάν η παρουσία των NO₃⁻ είχε ανασταλτικό αποτέλεσμα επί της αναγωγής του Cr(VI), η μείωση/απομάκρυνση των NO₃⁻ θα έπρεπε να προηγείται αυτής του Cr(VI). Τέλος βάσει των Williams et al. (2004), σε κοινότητες μικροοργανισμών που είχαν καλλιεργηθεί με Cr(VI) ως το μόνο αποδέκτη ηλεκτρονίων, ο ρυθμός αναγωγής Cr(VI) ήταν πιο αργός και μερικές φορές αμελητέος.



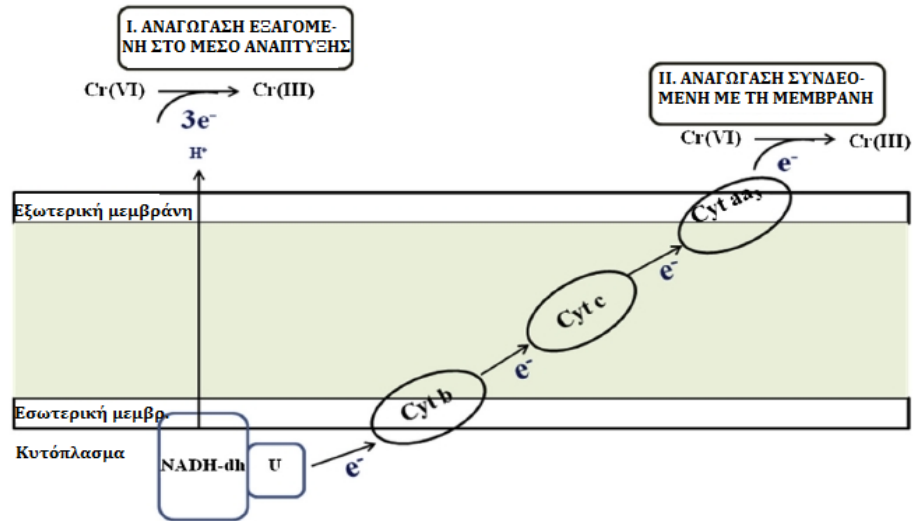
Σχήμα 2.26: αριστερά-Ταυτόχρονη αναγωγή NO₃⁻ και Cr(VI), με Cr(VI)₀=2.5 mg/L, δεξιά-Ταυτόχρονη αναγωγή NO₃⁻ και Cr(VI), με Cr(VI)₀=11 mg/L (Williams et al., 2004)

2.6.1.3 Μηχανισμός Αναγωγής Cr(VI) σε Αναερόβιο Περιβάλλον

Ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών βασίζεται στον κύκλο των ηλεκτρονίων από τους δότες ηλεκτρονίων στους αποδέκτες, κατά τη διαδικασία απελευθέρωσης ενέργειας για την ανάπτυξη τους (Francis et al., 2000). Στην περίπτωση της αναερόβιας μικροβιακής αναγωγής, σημαντικό ρόλο παίζουν οι αναγωγάσες της κυτταρικής μεμβράνης, όπως οι αναγωγάσες της φλαβίνης και οι υδρογονάσες που μπορεί να είναι μέρος του συστήματος μεταφοράς ηλεκτρονίων και να χρησιμοποιούν τα χρωμικά ως τερματικό δέκτη ηλεκτρονίων. Η μικροβιακή αναγωγή του Cr(VI) αναφέρθηκε πρώτα από τους Romanenko και Korenkon (1977) χρησιμοποιώντας ένα αναερόβιο βακτήριο, το *Pseudomonas dechromaticans*, απομονωμένο από λυματολάσπη.

Αυτό το αρνητικό κατά Gram, χρησιμοποιεί το Cr(VI) ως τερματικό δέκτη ηλεκτρονίων. Αργότερα ένα επαμφοτερίζον αναερόβιο βακτήριο, το *Enterobacter cloacae*, απομονωμένο από βιομηχανικά λύματα, βρέθηκε επίσης ότι χρησιμοποιεί το χρωμικό/διχρωμικό ως τερματικό δέκτη ηλεκτρονίων κατά τη διάρκεια της απομάκρυνσης του Cr(VI) (Wang et al., 1989; 1991) στον περιπλασματικό χώρο μέσω της ενωμένης με τη μεμβράνη υδρογονάσης ή του κυτοχρώματος. Τόσο διαλυτά όσο και συνδεδεμένα με μεμβράνη ένζυμα βρέθηκε ότι μεσολαβούν στη διαδικασία απομάκρυνσης του Cr(VI).

Σε αντίθεση με τα αερόβια αναγωγικά ένζυμα εξασθενούς χρωμίου που απομονωθήκαν, τα αναερόβια αναγωγικά ένζυμα σχετίζονται με τα συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων καταλύοντας χημικές ενώσεις που διεγείρουν τη βιοαποικοδόμηση των ρύπων, διευκολύνοντας τη μεταφορά ηλεκτρονίων από και προς τα βακτήρια (electron shuttles), κατά μήκος των αναπνευστικών αλυσίδων (Wang and Shen, 1995). Οι οικογένειες κυτοχρώματος (π.χ. κυτόχρωμα *b* και κυτόχρωμα *c*) έχει αποδειχθεί ότι συμμετέχουν στην ενζυμική αναερόβια αναγωγή του Cr(VI) (Σχήμα 2.27).

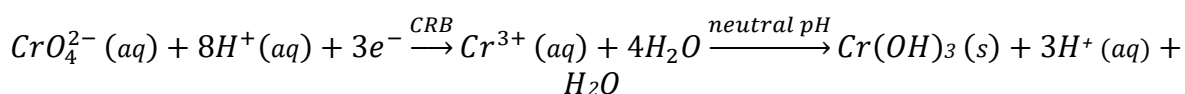


Σχήμα 2.27: Οδοί της αναερόβιας αναγωγής Cr(VI) από τα βακτήρια (Thatoi et al., 2014)

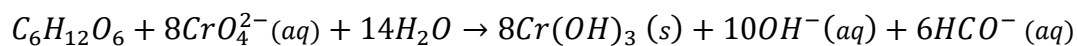
Η παραπάνω διαδικασία προσφέρει μεγάλες δυνατότητες για την *in situ* βιοαποκατάσταση του Cr(VI) στα ιζήματα, στην οποία απαιτείται μόνο η συμπλήρωση των θρεπτικών ουσιών και η διαμόρφωση των φυσικών συνθηκών για τη διευκόλυνση της αντίδρασης (Turick et al., 1996). Στο παρελθόν, η αναερόβια αναγωγή του Cr(VI) θεωρήθηκε ως μια τυχαία διαδικασία που δεν παρέχει ενέργεια για τη μικροβιακή ανάπτυξη (Wang and Shen, 1995). Πιο πρόσφατα, ωστόσο, από μια απομόνωση σε θειοαναγωγικά βακτήρια βρέθηκε ότι η ενέργεια που παράγεται κατά τη διάρκεια της αναερόβιας μείωσης της συγκέντρωσης του Cr(VI), χρησιμοποιείται από τους μικροοργανισμούς (Tebo and Obratzsova, 1998).

Η οξείδωση των δότην ηλεκτρονίων, δηλαδή κοινώς του οργανικού άνθρακα που χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί για να σχηματίσουν CO₂ απελευθερώνοντας ενέργεια για ανάπτυξη, συμβαίνει μέσω της αναγωγής του αποδέκτη. Ο τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων χρησιμοποιείται κατά προτίμηση με τη σειρά της ενέργειας που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης του δότη ηλεκτρονίων (Francis et al., 2000). Αυτό είναι γνωστό ως μικροβιακή μεσολάβηση στην τελική αποδοχή ηλεκτρονίων και έχει ως αποτέλεσμα ένα φαινόμενο καταρράκτη, καθώς οι διαφορετικοί αποδέκτες χρησιμοποιούνται κατά σειρά αποτελεσματικότητας. Στην περίπτωση των αναερόβιων

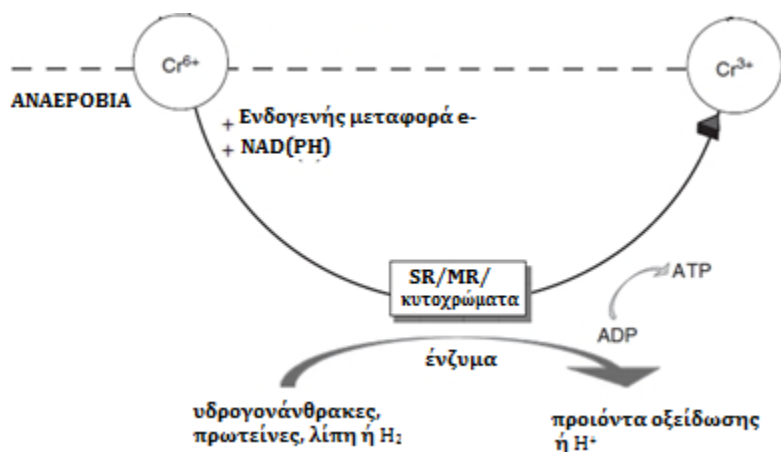
συνθηκών, οι τερματικοί αποδέκτες ηλεκτρονίων, όπως τα νιτρικά και θειικά βρέθηκε ότι μπορούν να αντικατασταθούν από τα χρωμικά ιόντα για τα *Shewanella*, *Enterobacter* και τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Chardin et al., 2003; Myers et al., 2000). Σε απουσία οξυγόνου, το Cr(VI) ενεργεί ως τερματικός δέκτης ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα για μια μεγάλη ποικιλία από δότες ηλεκτρονίων, συμπεριλαμβανομένων των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών, του λίπους, του υδρογόνου, του NAD(P)H και ενδογενών αποθεμάτων ηλεκτρονίων (Wang, 2000; Cheung and Gu, 2007). Σε γενικές γραμμές, η ενζυμική μεσολάβηση για την αναγωγή του Cr(VI) και η επακόλουθη καταβύθιση του Cr(III) μπορεί να απεικονιστεί ως ακολούθως (Chen and Hao, 1998):



όπου το CRB αντιπροσωπεύει την αναγωγή του Cr(VI) από ένζυμα (το πρωτογενές αναγωγικό είναι η γλουταθειόνη). Κάτω από αναερόβιες συνθήκες, με γλυκόζη ως δότη ηλεκτρονίων, μικροβιακή αναγωγή Cr(VI) παρουσιάζεται ως εξής (Singh et al., 2011):



Αυτή η διαδικασία δημιουργεί μια δυναμική, σε ένα περιβάλλον εντός του οποίου οι συνθήκες αλλάζουν συνεχώς ώστε να αντικατοπτρίζει τις κυρίαρχες μικροβιακές διεργασίες (Whittleston, 2009). Η τυπική αναερόβια απομάκρυνση του Cr(VI) φαίνεται στο Σχήμα 2.28.



Σχήμα 2.28: Κάτω από αναερόβιες συνθήκες, οι οργανισμοί μπορούν να απομακρύνουν το Cr(VI) μέσω της μεσολάβησης είτε μίας διαλυτής αναγωγάσης (SR), μίας δεσμευμένης σε μεμβράνη αναγωγάσης (MR), ή με δύο αναγωγάσες (SR + MR) που σχετίζονται με το κυτόχρωμα (Wang and Shen, 1995)

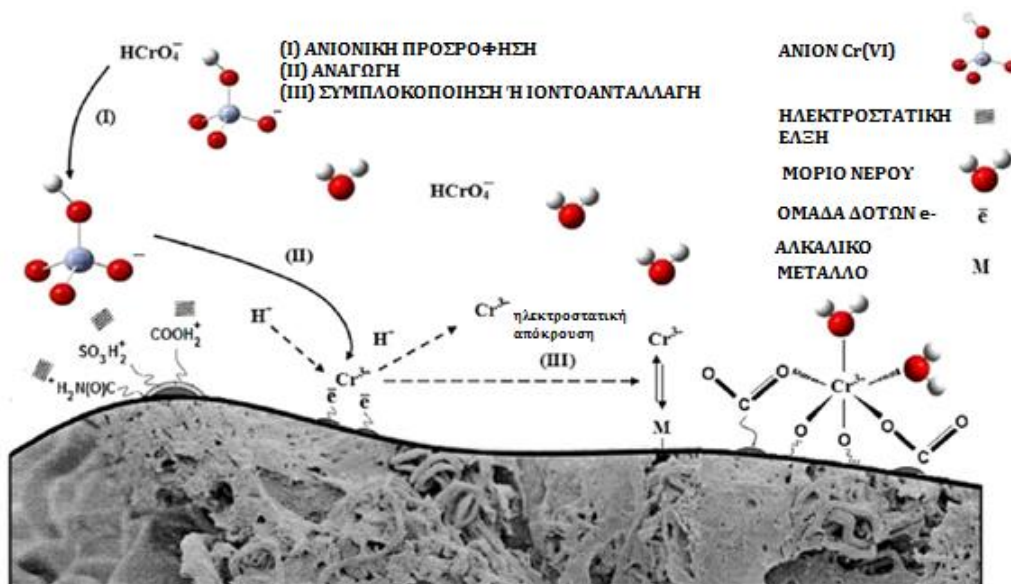
2.6.1.4 Μη Ενζυμική Αναγωγή Cr(VI)

Στη μη ενζυμική διεργασία, το Cr(VI) μετατρέπεται σε Cr(III) με τη βοήθεια διαφόρων χημικών ενώσεων που παράγονται από τη βακτηριακή μεταβολική διαδικασία. Για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι το Fe(II) και το HS, τα τελικά προϊόντα από την αναερόβια μεταβολή σιδηροαναγωγικών και θειοαναγωγικών βακτηρίων, μπορούν να μειώσουν το εξασθενές χρώμιο. Το πιο ισχυρό μη-ενζυμικό αναγωγικό χρωμίου είναι το ασκορβικό οξύ, η γλουταθειόνη (GSH), η κυστεΐνη, το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) για τα μικροβιακή κύτταρα και το ασκορβικό για ανώτερους οργανισμούς (Poljsak et al., 2010). Η βιομετατροπή του Cr(VI) μπορεί επίσης να οφείλεται σε χημικές αντιδράσεις που σχετίζονται με ενώσεις που περιέχονται σε ενδο/εξω κυτταρικές ενώσεις όπως αμινοξέα, νουκλεοτίδια, σάκχαρα, βιταμίνες, οργανικά οξέα, γλουταθειόνη (Dhal et al., 2013).

2.6.2 Εξωκυτταρικοί Μηχανισμοί Αναγωγής Cr(VI)

Η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου που γίνεται στο κυτταρικό τοίχωμα, βασίζεται σε μηχανισμούς όπως η συμπλοκοποίηση, η ιοντική ανταλλαγή, ο σχηματισμός χημικών ενώσεων και η μικροκαθίζηση (Srivastava and Thakur, 2006). Οι μηχανισμοί αυτοί μπορεί να λειτουργούν σε συνεργασία ή ανεξάρτητα. Η αναγωγή επιτελείται κυρίως από εξωκυτταρικά πολυμερή που παράγουν οι μικροοργανισμοί και εντοπίζονται στο κυτταρικό τοίχωμα. Τα εξωκυτταρικά πολυμερή έχουν τη μορφή κάψας που περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα (capsular polymers), είτε τη μορφή ρευστού πολυμερούς υλικού που είναι διασπαρμένο στο μέσο ανάπτυξης (slime polymers). Τα δύο είδη πολυμερών δε φαίνεται να διαφέρουν ως προς τη χημική τους σύσταση (Dudman and Wilkinson, 1956). Σύμφωνα με το μηχανισμό αναγωγής εξασθενούς χρωμίου εξωκυτταρικά, ένα μέρος του εξασθενούς χρωμίου ανάγεται προς Cr(III) με βιοπροσροφητικά μέσα και ως εκ τούτου το Cr(VI) είναι προσροφημένο στη βιομάζα ενώ το Cr(III) παραμένει στο διάλυμα (Aoyama et al., 1999; 2000; 2001).

Τα βακτήρια της ενεργού ιλύος φέρουν ένα καθαρό αρνητικό φορτίο μέσα στην κλίμακα pH από 5 μέχρι 9 (Busch and Stumm, 1968). Οι Imai και Gloyna (1993), έχουν υποστηρίξει ότι για τιμές pH=7 το εξασθενές χρώμιο Cr(VI) εμφανίζεται ως CrO_4^{2-} και η προσέγγιση των χρωμικών ανιόντων στις αρνητικά φορτισμένες βακτηριακές επιφάνειες επιτυγχάνεται με τη βοήθεια μηχανισμών ειδικής προσρόφησης, οπότε η αναγωγή είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί και στην εξωτερική επιφάνεια του βακτηριακού κυττάρου (Σχήμα 2.29).



Σχήμα 2.29: Σχηματικό διάγραμμα προσρόφησης Cr(VI) από τη βιομάζα (Albadarin et al., 2013)

2.6.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη Μικροβιακή Αναγωγή Cr(VI)

Είναι σημαντικό να αξιολογηθούν οι παράγοντες που ελέγχουν τη μικροβιακή απομάκρυνση του Cr(VI), γεγονός που αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για το σχεδιασμό πειραμάτων αναγωγής εξασθενούς χρωμίου από βακτήρια. Αυτοί οι παράγοντες περιλαμβάνουν εκτός από τη διαθεσιμότητα σε οξυγόνο, βάσει του οποίου έγινε και η κατάταξη των συνθηκών απομάκρυνσης στο εσωτερικό του κυττάρου (αερόβιες/ανοξικές/αναερόβιες), την πυκνότητα της βιομάζας, την αρχική συγκέντρωση Cr(VI), τις πηγές άνθρακα, το pH, το DO και τη θερμοκρασία, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό (ORP), άλλα οξυ-ανιόντα και κατιόντα μετάλλου (Chen and Hao, 1998).

2.6.3.1 Πυκνότητα Βιομάζας

Στη βιβλιογραφία συχνά αναφέρεται ότι τόσο η συνολική ικανότητα αναγωγής του Cr(VI), όσο και η ταχύτητα αναγωγής του εξαρτάται από τη συγκέντρωση της βιομάζας

(He et al., 2011; Ibrahim et al., 2011; McLean and Beveridge, 2001; Pal and Paul, 2004). Η συγκεκριμένη συμπεριφορά αιτιολογείται με την υπόθεση της πεπερασμένης αναγωγικής ικανότητας των μικροοργανισμών (reduction finite capacity) (Shen and Wang, 1995; Wang and Shen, 1997). Η πεπερασμένη αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών υποδεικνύει το μέγιστο ποσοστό Cr(VI) που μπορεί να αναχθεί από αυτούς και η ύπαρξη της αποδίδεται στη σταδιακή τοξική δράση του Cr(VI) στα κύτταρα και συγκεκριμένα στους μηχανισμούς αναγωγής του Cr(VI) σε Cr(III) (Shen and Wang, 1995). Η ικανότητα αναγωγής χάνεται πλήρως, όταν προσεγγιστεί η πεπερασμένη ικανότητα αναγωγής των μικροοργανισμών. Η βιοσυσσώρευση των βαρέων μετάλλων συχνά περιλαμβάνει δύο φάσεις: την αρχική φάση που εξελίσσεται ταχύτατα και σχετίζεται με την προσρόφηση ή με την ανταλλαγή ιόντων των κυττάρων και τη μεταγενέστερη που εξελίσσεται πιο αργά και αφορά στη μεταφορά και το μεταβολισμό του μετάλλου μέσα στο βακτηριακό κύτταρο (Gadd, 1990). Συνεπώς, απαιτείται σημαντική ποσότητα στερεών ώστε να επιτευχθεί αρχικά η προσρόφηση και η ανταλλαγή ώστε εν συνεχεία να πραγματοποιηθεί η μεταφορά του Cr(VI) μέσα στο κύτταρο όπου και πρόκειται να αναχθεί (Narayani and Shetty, 2013).

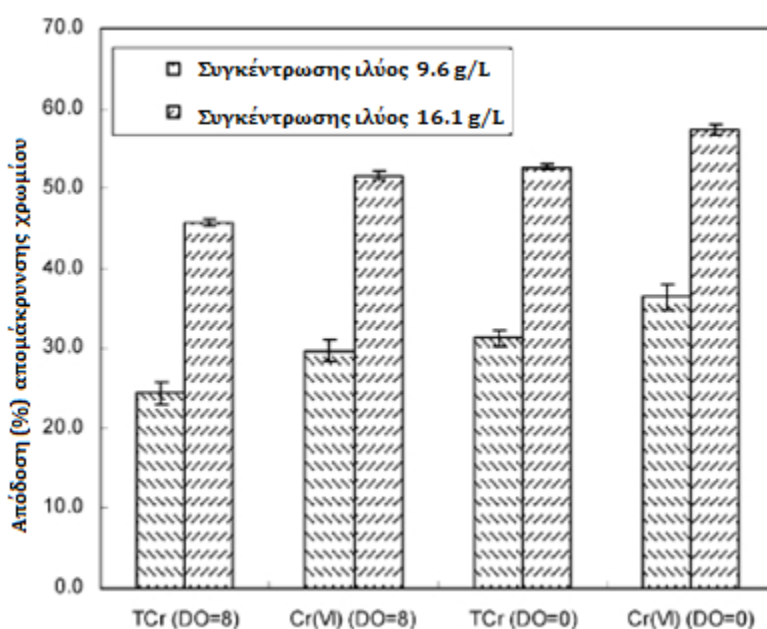
Σε επίπεδο μελέτης συγκεκριμένων μικροοργανισμών, για την καλλιέργεια του *E. coli* ATCC 33456, το ποσοστό απομάκρυνσης του Cr(VI) επίσης αυξάνεται με την αύξηση της πυκνότητας των κυττάρων τόσο υπό αερόβιες όσο και υπό αναερόβιες συνθήκες (Shen and Wang, 1994b). Ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αναγωγής του Cr(VI) ήταν 0,09 και 0,05 mg Cr(VI)/mg κυττάρων · h, αντίστοιχα, για αναερόβιες και αερόβιες καλλιέργειες μικροοργανισμών. Επιπλέον, η πλήρης αναγωγή του Cr(VI) παρατηρήθηκε και από αυτήν την ομάδα ερευνητών, μόνο με σχετικά υψηλή πυκνότητα κυττάρων. Σε μία μέση συγκέντρωση βιομηχανικών αποβλήτων 260 mg/LCr(VI), το ποσοστό αναγωγής του Cr(VI) από το *E. cloacae* HO1 βρέθηκε να είναι ανάλογο με την πυκνότητα των κυττάρων και το ειδικό ποσοστό αυτό εκτιμήθηκε ότι είναι 0,11 mg Cr(VI)/mg κυττάρων · h (Ohtake et al., 1990b), η οποία ήταν ελαφρώς υψηλότερη από την τιμή των 0,09 mg Cr(VI)/mg κύτταρο · h, αναφερόμενη από τους Komori et al. (1989). Μετά από περαιτέρω έρευνα με βιομηχανικά απόβλητα που περιέχουν 182 mg/LCr(VI), οι Ohtake et al. (1990c) έδειξαν ότι το ποσοστό μείωσης του Cr(VI) μειώθηκε δραματικά, όταν μειώθηκαν οι αρχικές

πυκνότητες κυττάρου από $7 \cdot 10^8$ σε $4 \cdot 10^8$ κύτταρα/mL, και σχεδόν καθόλου αναγωγή συνέβη σε κυτταρική πυκνότητα $2 \cdot 10^8$ κύτταρα/mL. Αύξηση της πυκνότητας των κυττάρων σε επίπεδα πάνω από $8 \cdot 10^8$ κύτταρα/mL ωστόσο, δε διεγείρουν σημαντικά τον αναγωγικό ρυθμό του Cr(VI).

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά στο ανάμικτο υγρό (MLSS) κάθε βιοαντιδραστήρα, αποτελούν μια εκτίμηση της πυκνότητας των μικροοργανισμών και των αδρανών στερεών. Προκύπτει ότι ένα πρακτικό μέγεθος για την περιγραφή της αναγωγικής ικανότητας των μικροοργανισμών είναι ο λόγος της μάζας του αρχικού Cr(VI)₀ προς τη μάζα των μικροοργανισμών που καλούνται να το μετατρέψουν σε Cr(III) (mg Cr(VI)/g MLSS). Οι Philip et al. το 1998, προσπάθησαν να βρουν το μέγιστο ποσοστό χρωμίου που μπορούν να απομακρύνουν οι μικροοργανισμοί χωρίς να επηρεάζονται από την τοξικότητα του. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι σε κύτταρα συγκέντρωσης 500 mg/L παρουσιάστηκε μειωμένη ικανότητα αναγωγής (φαινόμενα κορεσμού) σε αρχικές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου μεγαλύτερες των 26 mg/L και εντός περιόδου 72 ωρών με προσθήκη COD συγκέντρωσης 1000 mg/L.

Το 2002 σε διδακτορική διατριβή (Στασινάκης, 2002) μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης της ενεργού ιλύος χρησιμοποιώντας πέντε αντιδραστήρες διακοπτόμενης ροής με τις εξής αρχικές συγκεντρώσεις MLSS: A= 10000 mg/L, B= 5600 mg/L, Γ= 3400 mg/L, Δ= 1720 mg/L, E= 1180 mg/L. Η αρχική συγκέντρωση του εξασθενούς χρωμίου ισούταν με 5 mg/L, ενώ προστέθηκε COD συγκέντρωσης 1000 mg/L. Διαπιστώθηκε ότι η απομάκρυνση του χρωμίου και η μέση ταχύτητα αναγωγής δεν επηρεάστηκαν από τη συγκέντρωση των αιωρούμενων στερεών. Σύμφωνα με τον ερευνητή, η πλήρης αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου εντός των 24 ωρών, οφείλεται στην μικρή αρχική συγκέντρωση του χρωμίου και στην υψηλή συγκέντρωση των στερεών (Στασινάκης, 2002). Σχεδόν πολλαπλάσιες συγκεντρώσεις MLSS χρησιμοποίησαν οι Chen και Gu (2005b) στα περάματά τους, βάσει των οποίων ανέφεραν επίσης ότι υπήρχε μία γραμμική σχέση μεταξύ του αρχικού ποσοστού απομάκρυνσης του Cr(VI) και της συγκέντρωσης της βιομάζας. Εξέτασαν δύο συγκεντρώσεις ιλύος (MLSS=9,6 g/L, 16,1 g/L) ως προς την επιρροή τους στην απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου (Cr(VI)₀= 40,52 mg/L) σε

αερόβιες (DO=8 mg/L) και αναερόβιες (DO=0 mg/L) συνθήκες. Τα αποτελέσματα αποτυπώνονται στο Σχήμα 2.30. Παρατηρείται ότι η απόδοση απομάκρυνσης χρωμίου (εξασθενούς και ολικού) αυξήθηκε με την αύξηση των αιωρούμενων στερεών υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Ως εκ τούτου, η διατήρηση μίας επαρκούς ποσότητας της βιομάζας είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική αφαίρεση του Cr(VI) (Chen and Hao, 1996). Οι ερευνητές εντοπίζουν τη συμπεριφορά αυτή στην παρουσία μεγαλύτερου αριθμού διαθέσιμων περιοχών προσρόφησης που αναμένεται να δημιουργηθούν με την αύξηση της συγκέντρωσης στερεών. Οι περιοχές αυτές διατίθενται για πρόσληψη του Cr(VI) είτε στο κυτταρόπλασμα και στο κυτταρικό τοίχωμα ή στα εξωκυτταρικά πολυμερή, η οποία ακολουθείται από αναγωγή του Cr(VI), διαδικασίες που έχουν περιγραφεί σε ανωτέρω παραγράφους.



Σχήμα 2.30: Επίδραση της συγκέντρωσης βιομάζας στο ποσοστό απομάκρυνσης (%) του Cr(VI) (Chen and Gu, 2005b)

Συμπερασματικά για την καθολική απομάκρυνση υψηλών αρχικών συγκεντρώσεων Cr(VI) απαιτείται συγκέντρωση MLSS>1000 mg/L και οργανικό υπόστρωμα της ίδιας περίπου συγκέντρωσης, με δυνατότητα ανανέωσης και των δύο παραγόντων.

2.6.3.2 Αρχική Συγκέντρωση Εξασθενούς Χρωμίου

Η προσθήκη του Cr(VI) σε μια αναπτυσσόμενη κυτταρική καλλιέργεια οδηγεί σε παροδική μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας, ανεξάρτητα από το αν οι καλλιέργειες είναι αερόβιες ή αναερόβιες (Wang et al., 1989; Komori et al., 1990a; Ohtake et al., 1990b). Ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων στη συνέχεια αυξάνεται και ξεπερνά τον αρχικό, μετά από την αναγωγή του 50% της προστιθέμενης ποσότητας Cr(VI) (Ohtake et al., 1990b). Κατά συνέπεια και ο χρόνος επώασης για την πλήρη αναγωγή Cr(VI) αυξάνεται με την αυξανόμενη συγκέντρωση Cr(VI) (Revati Wani et al., 2007; Laxman and More, 2002; Lee et al., 2008). Το ίδιο παρατηρήθηκε με το βακτήριο *E. coli* ATCC 33456, όπου ο αρχικός ειδικός ρυθμός αναγωγής Cr(VI) αυξήθηκε με την αρχική συγκέντρωση Cr(VI) (Shen and Wang, 1994a) και ο χρόνος που απαιτείται για την πλήρη αναγωγή του Cr(VI) επίσης αυξήθηκε με τις αυξανόμενες αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI). Τα παραπάνω έχουν μία ορισμένη εξήγηση.

Όσο η αρχική συγκέντρωση του μετάλλου αυξάνεται, ο αριθμός των μεταλλικών ιόντων αυξάνεται γεγονός που οδηγεί τελικώς σε αύξηση του ποσοστού συγκρούσεων των μεταλλικών ιόντων πάνω στις επιφάνειες των κυττάρων. Καθώς το ποσοστό σύγκρουσης αυξάνεται, η πιθανότητα ενεργών συγκρούσεων αυξάνεται επίσης. Επειδή η αναγωγή του Cr(VI) από βακτήρια οφείλεται σε ενζυμική δράση, όσο πραγματοποιούνται ενεργές συγκρούσεις, τόσο αυξάνονται οι ενζυμικές αντιδράσεις αφού το χρώμιο καταλαμβάνει όλο και περισσότερες θέσεις όπου πραγματοποιείται ενζυμική δραστηριότητα. Συνεπώς, η αναγωγή Cr(VI) αυξάνεται αντικατοπτρίζοντας την αυξανόμενη ενζυμική δραστηριότητα, η οποία συνεχίζεται έως ότου καταλειφθούν όλες οι ενεργές θέσεις επάνω στην επιφάνεια των κυττάρων, δηλαδή μέχρι το ένζυμο να κορεστεί με Cr(VI).

Όλες οι παραπάνω ακολουθίες γεγονότων οδηγούν τελικώς σε αύξηση ποσοστού αναγωγής με αύξηση αρχικής συγκέντρωσης. Αυτή η τάση παρατηρείται όταν η τιμή της συγκέντρωσης μεταλλικών ιόντων βρίσκεται κάτω από την τιμή αναχαίτισης. Αντιθέτως, όταν η συγκέντρωση είναι πάνω από το όριο που αναστέλλει τη λειτουργία του μ/ου, τότε το αναγωγικό ποσοστό θα μειωθεί με την αύξηση της συγκέντρωσης, εξαιτίας της

χαμηλής ανάπτυξης της βιομάζας και της χαμηλής παραγωγής ενζύμων. Όσα προαναφέρθηκαν, παρουσιάζονται και στην πρόσφατη εργασία των Mangaiyarkarasi et al. (2011), οι οποίοι παρατήρησαν ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση Cr(VI) αυξάνει τη διάρκεια που απαιτείται για ολική αναγωγή αλλά έχει και σημαντική επίδραση στο αρχικό ποσοστό αναγωγής.

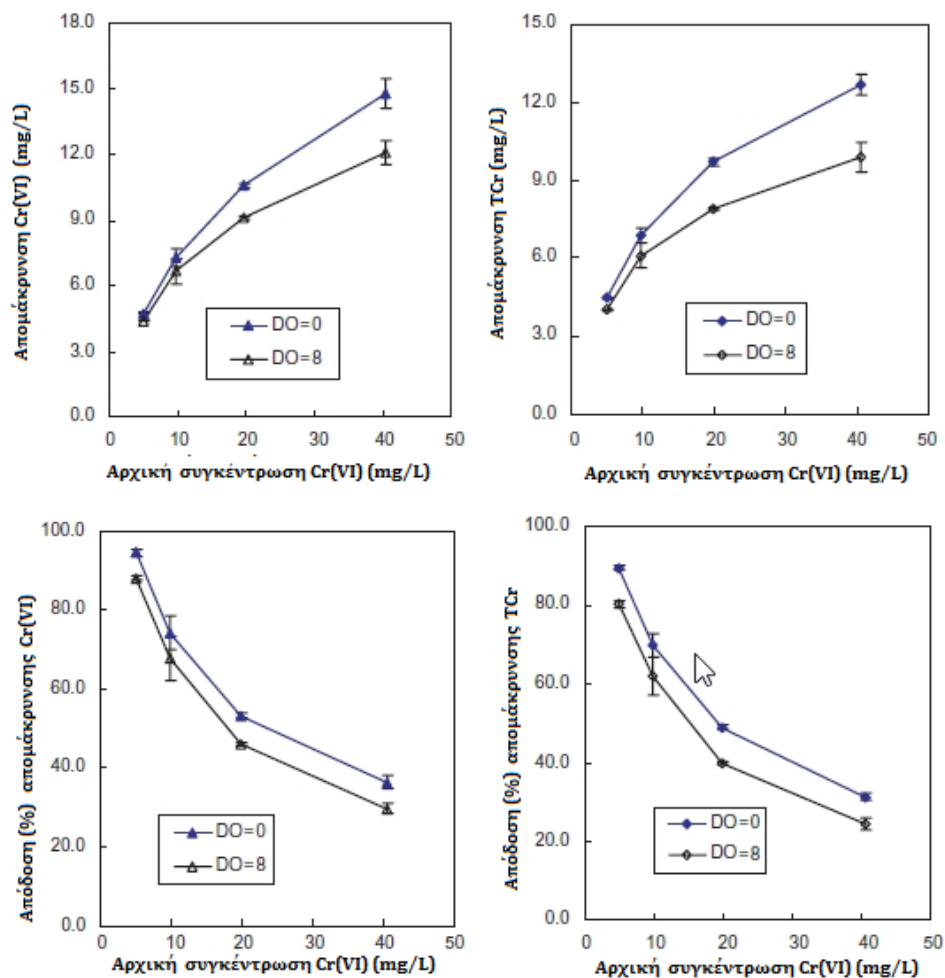
Σε επίπεδο αριθμών, οι Apel και Turick (1991) παρατήρησαν ότι η μικροβιακή αναγωγή του Cr(VI) από το *P. fluorescens* LB300 ανεστάλη σημαντικά όταν η αρχική συγκέντρωση Cr(VI) έφτασε τα επίπεδα που υπερβαίνουν τα 25 mg/L. Επειδή κάθε αναγωγικό στέλεχος μεταβάλλει τη φαινομενική αντίσταση του προς το Cr(VI), ο έλεγχος της αρχικής συγκέντρωσης Cr(VI) είναι κρίσιμος για την αποτελεσματική απομάκρυνση του σε μικροβιακές καλλιέργειες. Μεταγενέστερα αλλά πραγματοποιώντας πειράματα ίδιου σκοπού, οι Liu et al. (2006) ανέφεραν ότι ο *Bacillus* sp. ανήγαγε ολοκληρωτικά το Cr(VI) όταν οι τιμές αρχικών συγκεντρώσεων ήταν 10, 20 και 40 mg/L σε 12, 18 και 66 h αντίστοιχα, πράγμα που δε συνέβαινε με αρχική συγκέντρωση 80 mg/L ούτε μετά από 72 h. Με αρχική συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου περί των 20 mg/L επίσης ασχολήθηκαν πολλοί επιστήμονες όπως αναλύεται εν συνεχεία.

Οι Chen και Gu (2005b) διενήργησαν batch πειράματα για τη μελέτη των περιβαλλοντικών παραγόντων που επηρεάζουν τη βιολογική απομάκρυνση του χρωμίου από συνθετικά λύματα. Μία από τις παρατηρήσεις τους ήταν ότι σε υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου, λόγω τοξικότητας, εμποδίζεται η βιολογική δραστηριότητα μειώνεται ο ρυθμός αύξησης των βακτηριακών κυττάρων, που συνοδεύεται από μορφολογικές αλλαγές (Ackerley et al., 2006; Chourey et al., 2006; Desai et al., 2008) και πως η μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης χρωμίου στην είσοδο επηρεάζει αρνητικά την απόδοση μόνο κατά τις πρώτες ημέρες λειτουργίας (Chen et al., 2005b). Σε συμφωνία με την παρατήρηση αυτή συνάδουν οι μελέτες των Fujie et al. (1990) και Chirwa και Wang (2000), οι οποίοι σε μία συγκεκριμένη αναερόβια βακτηριακή καλλιέργεια που εξέτασαν, ανακάλυψαν ότι η μέση απόδοση αναγωγής του Cr(VI) αυξήθηκε με την αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης Cr(VI)₀ (Caravelli et al., 2008), μέχρι τη (βέλτιστη) τιμή των 20 mg/L. Ωστόσο, η μέση απόδοση αναγωγής άρχισε να ελαττώνεται για αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) > 20 mg/L.

Το 2009 οι Orozco et al. αντιθέτως πραγματοποίησαν πειράματα με αερόβια ενεργό ιλύ συγκέντρωσης που διατηρήθηκε στα 700 ± 50 mg/L και έλεγξαν διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου, οι οποίες ήταν: 25, 50 και 100 mg/L. Η συγκέντρωση του COD ήταν υψηλή και ισούταν με 5,000 mg/L από τα οποία τα 1500 mg/L προέρχονταν από ορό γάλατος. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου στην είσοδο (50 και 100 mg/L Cr(VI)_0) μειώθηκε η απόδοση της αναγωγής.

Τέλος, σε συνδυαστική έρευνα, οι Chen και Gu το 2005 εργάστηκαν σε batch αντιδραστήρες τροφοδοτούμενους με διάφορες αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) ίσες με 5,0, 9,81, 19,80 και 40,52 mg/L. Τα πειράματα διεξήχθησαν τόσο υπό αερόβιες ($\text{DO}=0$ mg/L), όσο και υπό αναερόβιες ($\text{DO}=8$ mg/L) συνθήκες. Η επιρροή του Cr(VI)_0 στην απόλυτη αλλά και ποσοστιαία απομάκρυνση του TCr και του Cr(VI) αποτυπώνεται στα παρακάτω διαγράμματα (Σχήμα 2.31), για $\text{DO}=0$ και 8 mg/L, χρόνο επαφής $\text{HRT}=24$ h και $\text{MLSS}=9600$ mg/L.

Παρατηρήσεις των ερευνητών επί του διαγράμματος: Ενώ η απομάκρυνση του χρωμίου (εξασθενούς και ολικού) σε απόλυτες μονάδες (mg/L) αυξάνεται με την αύξηση του Cr(VI)_0 , η απόδοση (%) της απομάκρυνσης του Cr(VI)_0 μειώνεται. Η συμπεριφορά αυτή είναι ποιοτικά ανεξάρτητη του DO, αν και παρατηρείται η ποσοτική υπεροχή της αναερόβιας απομάκρυνσης έναντι της αερόβιας. Οι ερευνητές σημειώνουν ότι η αρνητική επιρροή της αύξησης της αρχικής συγκέντρωσης του χρωμίου στην απόδοση απομάκρυνσης του οφείλεται στην τοξικότητα και το υψηλό οξειδωτικό δυναμικό των χρωμικών (CrO_2^{-4}).



Σχήμα 2.31: Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης Cr(VI) στην επί τοις εκατό απομάκρυνση του (Chen and Gu, 2005b)

Συμπερασματικά για την αποτελεσματικότερη απόδοση αναγωγής Cr(VI), απαραίτητες προϋποθέσεις μέχρι τώρα είναι η υψηλή συγκέντρωση βιομάζας, η χαμηλότερη του ορίου τοξικότητας αρχική συγκέντρωση Cr(VI) για κάθε μ/ο, σε συνδυασμό με το απαραίτητο χρονικό διάστημα επαφής και η αφθονία/είδος υποστρώματος, ζήτημα που θα αναλυθεί παρακάτω.

2.6.3.3 Πηγές Άνθρακα-Δότες Ηλεκτρονίων

Η δυνατότητα επιλογής υποστρώματος μπορεί να παίξει καθοριστικό παράγοντα στην αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου. Η παρουσία υποστρώματος εκτός από πηγή άνθρακα μπορεί να αποτελέσει και το δότη ηλεκτρονίων για την αναγωγή του χρωμίου. Ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης και το είδος βακτηρίων, πολλές οργανικές ενώσεις θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως δότες ηλεκτρονίων για τη διαδικασία αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου. Η απόδοση της αναγωγής του χρωμίου διαφέρει αναλόγως το διαθέσιμο δότη ηλεκτρονίων (Revati Wani et al., 2007) ενώ στελέχη όπως τα *Cellulomonas* sp. ES6 και *Acinetobacter haemolyticus* έδειξαν αναγωγική δραστηριότητα απουσία δοτών ηλεκτρονίων γεγονός που υποδηλώνει ύπαρξη και ενδογενών δοτών (Viamajala et al., 2007).

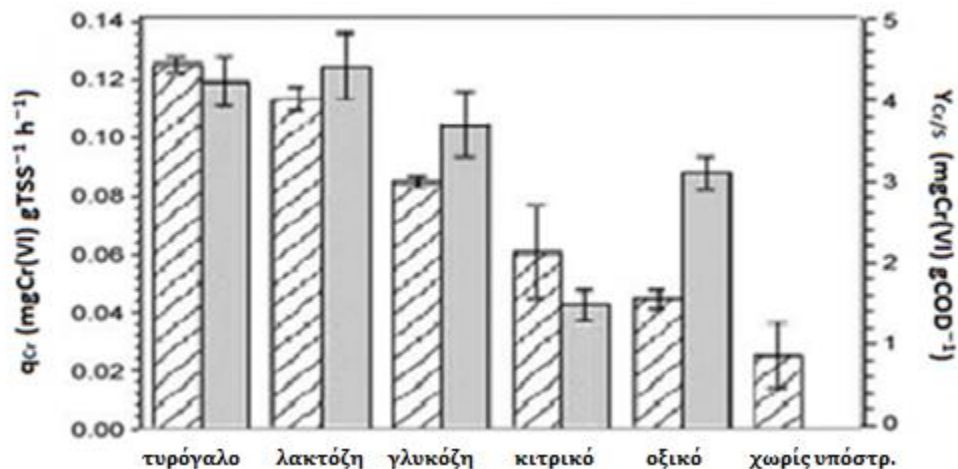
Η γλυκόζη, το κιτρικό, το πυρουβικό και το γαλακτικό άλας υποστηρίζουν την αναερόβια ανάπτυξη, αλλά παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση του Cr(VI) μειώθηκε σε περιορισμένο ποσοστό με αυτές τις οργανικές ενώσεις. Από τα παραπάνω είδη υποστρώματος, η γλυκόζη παρουσίασε ταχύτερη αναγωγή στα *B. coagulans* (Philip et al., 1998), *E. coli* (Bae et al., 2000), και *Bacillus* sp. (Kathiravan et al., 2010a; Liu et al., 2006), επειδή καταβολίζεται σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω της διαδικασίας της γλυκόλυσης ενώ άλλοι δότες ηλεκτρονίων όπως η σακχαρόζη και η λακτόζη είναι μόρια δισακχαρίτη που πρέπει πρώτα να μετατραπούν σε μονοσακχαρίτες και στη συνέχεια να καταβολιστούν, με τις διαφορές ως προς την ταχύτητα να είναι μικρές. Επιπλέον, οι Revati Wani et al. (2007) παρατήρησαν ότι το *B.cepacia* ανήγαγε αποτελεσματικότερα το Cr(VI) όταν χρησιμοποιούσε τη λακτόζη, τη γλυκόζη, τη σακχαρόζη και το άμυλο απ' ότι όταν χρησιμοποιούσε αιθανόλη, μεθανόλη και οξικό νάτριο ως δότες ηλεκτρονίων (Komori et al., 1989).

Η υπεροχή της γλυκόζης έναντι του οξικού αλάτος, ως χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα στην αναγωγή του Cr(VI), παρατηρείται και από άλλη ομάδα ερευνητών. Οι Tekerlorouliou et al. (2010), εργαζόμενοι σε αερόβιους batch αντιδραστήρες με βιομηχανική ιλύ, εξέτασαν την αναγωγή του Cr(VI) ως προς δύο πηγές άνθρακα (οξικό

νάτριο και σακχαρόζη). Η αλλαγή του υποστρώματος τροποποίησε μέσα σε τέσσερις μήνες ριζικά τη δομή της μικροβιακής κοινότητας από βακτήρια σε μύκητες, με τους οποίους και επιτεύχθηκαν μεγαλύτεροι ρυθμοί αναγωγής. Με βάση το πόρισμα των παραπάνω ερευνητών συμπεραίνεται ότι το υπόστρωμα μπορεί να επάγει την αναγωγή του Cr(VI) και μέσω αλλαγής της μικροβιακής κοινότητας, εκτός από τη χημική αντίδραση αυτού με το Cr(VI). Αυτό το αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι η πηγή άνθρακα είναι μία παράμετρος κλειδί για τη μικροβιακή δυναμική και την ενίσχυση της αναγωγής χρωμίου και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για τον αποτελεσματικό σχεδιασμό ενός βιοαντιδραστήρα (Tekeriopoulou et al., 2010).

Την ίδια περίοδο οι Ozozco et al. το 2010 πειραματίστηκαν με 5 διαφορετικές πηγές άνθρακα (τυρόγαλο, λακτόζη, γλυκόζη, κιτρικό άλας, οξικό άλας) ως δότες ηλεκτρονίων για την αναγωγή 25 mg/L Cr(VI) από αερόβια ενεργό ιλύ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ρυθμός και η ποσότητα αναγωγής του διέφεραν σημαντικά ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα. Στο διάγραμμα που ακολουθεί (Σχήμα 2.32) παρουσιάζεται η επίδραση του οργανικού υποστρώματος τόσο στην ποσότητα του Cr(VI) που απομακρύνεται ανά μονάδα καταναλωθέντος οργανικού υποστρώματος $Y_{Cr/S}$ (mg Cr(VI) · gCOD⁻¹) όσο και στον ειδικό ρυθμό απομάκρυνσης Cr(VI) q_{Cr} (mg Cr(VI) · gTSS⁻¹ · h⁻¹).

Η υψηλότερη ειδική ταχύτητα αναγωγής q_{Cr} επιτεύχθηκε με τη χρήση τυρόγαλου και λακτόζης ως δότη ηλεκτρονίων ακολουθώντας, κατά φθίνουσα σειρά απόδοσης: γλυκόζη > κιτρικό άλας > οξικό άλας.



Σχήμα 2.32: Επίδραση του υποστρώματος στον ειδικό ρυθμό Cr(VI) q_{Cr} (διαγραμματισμένοι ράβδοι) και στο ποσοστό απομάκρυνσης ανά μονάδα καταναλισκόμενου οργανικού υποστρώματος $Y_{Cr/s}$ (πλήρεις ράβδοι) (Orozco et al., 2010)

Ωστόσο, εφαρμόζοντας ισοζύγιο ηλεκτρονίων, έδειξαν ότι λιγότερο από 0.2% των συνολικά μεταφερόμενων ηλεκτρονίων από κάθε υπόστρωμα αξιοποιήθηκε για την αναγωγή του Cr(VI). Το υπόλοιπο 99,8% χρησιμοποιήθηκε για σύνθεση νέας βιομάζας και για την παραγωγή ενέργειας, ανάγοντας το μοριακό οξυγόνο O₂. Συνεπώς, το τυρόγαλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μια εναλλακτική λύση λόγω του χαμηλού κόστους του, καθώς αποτελεί ένα υπόλειμμα από τις βιομηχανίες γαλακτοκομικών προϊόντων, αλλά και λόγω των ικανοποιητικών αποδόσεων του σε σχέση με αντίστοιχες πηγές άνθρακα που μελετήθηκαν. Τέλος, από τα πειράματα της ίδιας εργασίας, προέκυψε ότι η μικροβιακή κοινότητα μπορεί να εγκλιματίζεται σε νέο περιβάλλον με παρουσία χρωμικών. Επιπλέον, τα νέα κύτταρα που παράγονται παρουσία Cr(VI) διατηρούν την αναγωγική ικανότητα των μητρικών (Orozco et al., 2010).

Οι Singh et al. (2011), ασχολήθηκαν με την επίδραση των διάφορων πηγών άνθρακα στην απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου αλλά κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν sulfate reducing bacteria (SRB) βακτήρια προερχόμενα από αναερόβιο χωνευτή εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων. Οι διάφορες πηγές άνθρακα (γαλακτικό νάτριο, γλυκόζη, σακχαρόζη και φρουκτόζη) είχαν τροποποιηθεί με τέτοιο τρόπο ώστε η συνολική περιεκτικότητα σε άνθρακα ήταν περίπου 2,58%. Σύμφωνα με τους συγγραφείς

η πηγή άνθρακα που παρουσίασε τη μέγιστη απομάκρυνση χρωμίου ήταν τα γαλακτικά ιόντα (96,7%), γεγονός που μάλλον οφειλόταν στις υψηλές τιμές του pH που επικρατούσαν. Τα χαμηλότερα ποσοστά παρουσίασαν η φρουκτόζη και γλυκόζη, με τιμές όχι πολύ μικρότερες από αυτές των γαλακτικών ιόντων.

Αναφορικά με έρευνες σύγκρισης συνθηκών, το 2005a οι Chen et al. πραγματοποίησαν πειράματα με υπόστρωμα γλυκόζης σε διαφορετικές συνθήκες (αερόβια- DO = 8 mg/L) και αναερόβια-DO = 0 mg/L) σε ενεργό ιλύ. Πιο συγκεκριμένα, έλεγξαν τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις γλυκόζης 281,3 mg/L, 562,5 mg/L και 1125,0 mg/L. Οι αντιδραστήρες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μικρής διάρκειας λειτουργίας, ενώ η συγκέντρωση ιλύος ισούταν με MLSS = 9600 mg/L και του εξασθενούς χρωμίου που προστίθετο, ισούταν με Cr(VI) = 9,81 mg/L. Το συμπέρασμα που προέκυψε ήταν πως η αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης είχε σαν αποτέλεσμα να μειωθεί το ποσοστό απομάκρυνσης του χρωμίου. Αυτό συνέβη, σύμφωνα με τους ερευνητές, διότι σε υψηλά αποθέματα γλυκόζης, η μη εγκλιματισμένη βιομάζα ιλύος προτιμά να χρησιμοποιεί τη γλυκόζη στις μεταβολικές της δραστηριότητες παρά να ανάγει το εξασθενές χρώμιο. Ωστόσο, οι ερευνητές αναφέρουν ότι, η συγκέντρωση της γλυκόζης δεν θα πρέπει να περιοριστεί σε τέτοιο βαθμό ώστε να αποτελέσει περιοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (Orozco et al., 2010). Ένα δεύτερο συμπέρασμα ήταν ότι το αερόβιο σύστημα, καθώς αυξανόταν η δόση της γλυκόζης, παρουσίασε μεγαλύτερη επίδραση στο ποσοστό απομάκρυνσης από την πρώτη κιόλας ώρα εφαρμογής. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι η μέση απόδοση της απομάκρυνσης του χρωμίου σε αναερόβιες συνθήκες ήταν μεγαλύτερη από την αερόβια σε οποιαδήποτε συγκέντρωση γλυκόζης.

Έρευνες για διαφορετικούς δότες ηλεκτρονίων έδειξαν ότι οι αλκοόλες (Shen and Wang, 1994a; Fulladose et al., 2006), το οξικό, το μηλικό και το ηλεκτρικό άλας, καθώς και μίγματα αμινοξέων είναι επίσης αποτελεσματικοί δότες ηλεκτρονίων για την απομάκρυνση του Cr(VI) από το *E. cloacae* HO1 (Ohtake et al., 1990d), το *Pannonibacter phragmitetus* (Xu et al., 2011a) και το *P. dechromaticans* σε προαιρετικά αναερόβιες συνθήκες (Romanenko and Korenkon, 1977). Σχετικά με τις αλκοόλες, οι Shen και Wang μελέτησαν τις φαινολικές ενώσεις, οι οποίες ως ένα επίπεδο δεν επηρέασαν την αναγωγική ικανότητα του βακτηρίου.

Είναι ενδιαφέρον ότι η φαινόλη χρησιμοποιήθηκε ως μοναδική πηγή άνθρακα στο τεστ της συγκαλλιέργειας δύο ειδών: α) του *E. coli* ATCC 33456 που είναι αναγωγικό του Cr(VI), καθώς και του *P. putida* DMP-1 το οποίο αποδομεί τις φαινόλες (Shen and Wang, 1995a). Τόσο ο ρυθμός και η έκταση της αναγωγής του Cr(VI) όσο και η αποδόμηση της φαινόλης επηρεάστηκαν σημαντικά από τη σύνθεση του πληθυσμού της συγκαλλιέργειας. Καθώς η ανάπτυξη του *E. coli* ATCC 33456 εξαρτιόταν από μεταβολίτες της υποβάθμισης της φαινόλης από το *P. putida* DMP-1, το ποσοστό αποικοδόμησης της φαινόλης έγινε ένας παράγοντας περιορισμού του ρυθμού αναγωγής Cr(VI). Παρ' όλα αυτά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι οργανικές αρωματικές ενώσεις θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως μια έμμεση πηγή άνθρακα για τη βιολογική απομάκρυνση του Cr(VI) σε μία μικτή καλλιέργεια, με μία κατάλληλη δομή πληθυσμού.

Τέλος, το ποσοστό αναγωγής του Cr(VI) χρησιμοποιώντας το βακτήριο *E. cloacae* HO1 βρέθηκε ότι εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα του οργανικού άνθρακα στο διάλυμα των αποβλήτων (Ohtake et al., 1990c). Το παραπάνω υποστήριξαν και οι Fujie et al. (1994), όπου σε έναν αντιδραστήρα ασυνεχούς τροφοδοσίας, έδειξαν περαιτέρω ότι το ποσοστό μείωσης του εξασθενούς χρωμίου είναι ανάλογο με το ρυθμό πρόσληψης οργανικού υποστρώματος σε αναλογία τουλάχιστον 4 mg C/mg Cr(VI). Διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση υποστρωμάτων πρέπει να είναι υψηλότερη από 200 mg C/L και του Cr(VI) μικρότερη από 50 mg/L, έτσι ώστε να μην εμποδίζεται η ταχύτητα αναγωγής του.

Εν κατακλείδι η αφθονία οργανικού άνθρακα σε έναν αντιδραστήρα καθώς και το είδος του με έμφαση στη γλυκόζη, σακχαρόζη, λακτόζη έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να παίξει εξίσου καθοριστικό ρόλο στην αναγωγική ικανότητα των βακτηρίων όπως συμβαίνει με τη συγκέντρωση της βιομάζας και του εξασθενούς χρωμίου.

2.6.3.4 Περιβαλλοντικές Συνθήκες (pH, Θερμοκρασία και Διαλυμένο Οξυγόνο)

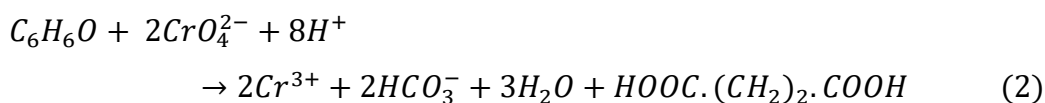
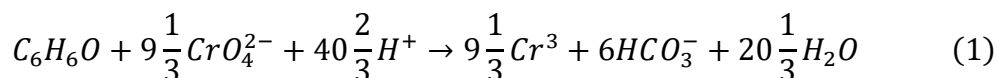
Οι παράγοντες pH, DO και T παρουσιάζονται στην ίδια ενότητα, διότι στη βιβλιογραφία συχνά συνεξετάζονται.

Επίδραση του pH

Οι διακυμάνσεις του pH παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και στις ιδιότητες των βακτηριακών στελεχών που αφορούν στη βιοσυσσώρευση των μετάλλων (Doenmez and Aksu, 2001). Αυτό συμβαίνει διότι από αυτές εξαρτάται η μορφή με την οποία απαντάται το χρώμιο και κατ' επέκταση η διαλυτότητα και η βιοδιαθεσιμότητα του Cr(VI) (Adriano, 2001). Πιο συγκεκριμένα, αναλόγως την τιμή του pH το Cr(VI) μπορεί να λάβει διάφορες μορφές όπως διχρωμικό Cr₂O₇, υδροχρώμιο HCrO₄, χρωμίτης CrO₄²⁻ και το Cr(III) δύναται να λάβει ένυδρη τρισθενή μορφή όπως Cr(H₂O)₆³⁺ ή μορφή ενώσεων υδροξειδίου του χρωμίου.

Η αναγωγή του Cr(VI) θεωρείται μια αντίδραση κατανάλωσης πρωτονίων, ως εκ τούτου αυξάνεται με τη μείωση της τιμής του pH ενώ αντίθετα η τιμή του pH αυξάνεται όσο η συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου μειώνεται (Bolan et al., 2003). Τα παραπάνω μπορούν να εξηγηθούν μέσω των εξισώσεων (1) και (2), όπως ανέφεραν οι Chirwa και Wang (2000; 2001), οι οποίες αναφέρονται σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες αντίστοιχα, σε καλλιέργειες του βακτηρίου *E. coli* ATCC 33456.

Αυτές οι εξισώσεις δείχνουν ότι η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου είναι ακριβώς μία αντίδραση κατανάλωσης πρωτονίων.



Υπάρχουν πολλοί ερευνητές που ασχολήθηκαν με το κατά πόσο οι τιμές του pH επηρεάζουν τη διαδικασία της αναγωγής εξασθενούς από διάφορα είδη βακτηρίων. Το 1990, οι Wang et al. έδειξαν πως η αναγωγή του χρωμίου στο στέλεχος του *Enterobacter* συμβαίνει σε τιμές pH 6,5-8,5, ενώ αναστέλλεται έντονα στις τιμές 5,0 και 9,0. Το 2011 οι Zhang και Li εξήγησαν πως η τιμή του pH συσχετίζεται περισσότερο με την αναγωγή απ' ό,τι με την ανάπτυξη των κυττάρων, αφού το βέλτιστο pH για ανάπτυξη του *Serratia* sp. ήταν 5,0 και ταυτόχρονα στην ίδια τιμή αντιστοιχούσε ελάχιστη απομάκρυνση χρωμίου. Η

αναγωγή του χρωμίου από το είδος *E. coli* ATCC 33456 επετεύχθη για τιμές μεταξύ 3,0 και 8,0 με τη βέλτιστη να είναι το 7,0 (Shen and Wang, 1994b). Στην περίπτωση του *Exiguobacterium* GS1, η απομάκρυνση ήταν περίπου ίδια για τιμές 6,0-8,0 ενώ μειώθηκε σημαντικά στην τιμή 9,0 αλλά η ανάπτυξη των βακτηρίων αυξήθηκε με αύξηση του pH της αρχικής καλλιέργειας (Okeke, 2008). Το είδος βακτηρίου *Streptomyces* sp. MS-2 ανήγαγε το Cr(VI) σε ένα μεγάλο εύρος τιμών pH (6-9) με μέγιστη απομάκρυνση στην τιμή 7,0 (Mabrouk, 2008). Το βέλτιστο pH για την ανάπτυξη του *Bacillus* sp. και του *Pseudomonas fluorescens* ήταν 7,0 με 8,0 ενώ οι τιμές 5,0 και 9,0 ανέστειλαν τόσο την ανάπτυξη των βακτηρίων, όσο την αναγωγή Cr(VI) (Parameswari et al., 2009).

Γενικά, πολλά αναγωγικοί μ/ο εξασθενούς χρωμίου που έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία, ήταν σε θέση να μειώσουν το Cr(VI) σε τιμές pH κοντά στο (7-7.8), το οποίο υποδηλώνει ότι δεν απαιτούνται δαπανηρά χημικά αντιδραστήρια. Οι μορφές του Cr(VI) είναι διαλυτές σε μία ευρεία περιοχή pH και γενικά σε συστήματα εδάφους-νερού (Losi and Frankenberger, 1994). Η διαφορά στη βέλτιστη τιμή pH υποδηλώνει ότι τροποποίηση του pH είναι σημαντική για διαφορετικές καλλιέργειες ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη βιοαποκατάσταση του χρωμικού (Mabrouk, 2008). Η σχέση μεταξύ του pH και της απομάκρυνσης του Cr(VI) δεν αποτελεί έκπληξη αφού το χρωμικό (CrO_2^{4-}) είναι το κυρίαρχο είδος εξασθενούς χρωμίου σε ένα υδατικό περιβάλλον με pH 6,5-9,0 (McLean and Beveridge, 2001). Επειδή για την αναγωγή Cr(VI) μεσολαβούν ένζυμα, οι μεταβολές του pH επηρεάζουν το ρυθμό ιονισμού των ενζύμων, αλλάζουν τη διαμόρφωση των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια, επηρεάζουν τη δραστικότητα των ενζύμων (Farrell and Ranallo, 2000).

Επίδραση της Θερμοκρασίας

Η ανάπτυξη των κυττάρων των μικροοργανισμών επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία αφού καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τη βιωσιμότητά τους. Πιο συγκεκριμένα, σε χαμηλές θερμοκρασίες μειώνεται η ρευστότητα της μεμβράνης των κυττάρων των μικροοργανισμών και η μεταφορική ικανότητα ουσιών με αποτέλεσμα τα υποστρώματα

να μην προλαβαίνουν να εισέλθουν στο κύτταρο. Συνέπεια αυτών είναι η αδυναμία του κυττάρου να αναπτυχθεί έστω και με χαμηλούς ρυθμούς (Narayani and Shetty, 2013).

Από την άλλη, η υψηλή θερμοκρασία μπορεί να προκαλέσει θερμική μετουσίωση των πρωτεϊνών η οποία είναι μη αναστρέψιμη. Η θερμική μετουσίωση μπορεί να οδηγήσει σε αδυναμία αναγωγής του Cr(VI), σε μεταβολή της δομής της κυτταρικής μεμβράνης ή σε απενεργοποίηση του συστήματος σύνθεσης πρωτεϊνών εξαιτίας πιθανών μεταβολών στη διαμόρφωση των ριβοσωμάτων. Η βέλτιστη θερμοκρασία εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη φύση των μικροοργανισμών (Narayani and Shetty, 2013).

Όπως έχει σημειωθεί, η απομάκρυνση του Cr(VI) οφείλεται κατ' αρχήν στο σχηματισμό του σε Cr(III), που αποτελεί το προϊόν αναγωγής του Cr(VI). Η επίδραση της θερμοκρασίας (T) στην απόδοση της αναγωγής αυτής έχει διαπιστωθεί ότι ακολουθεί εξίσωση τύπου Arrhenius για το εύρος 10-30 °C (Ohtake et al., 1990; Shen and Wang, 1994b). Το εύρος θερμοκρασίας με το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης Cr(VI) παρατηρήθηκε σε θερμοκρασίες μεταξύ 25 και 40°C (Zhang and Li, 2011; Losi and Frankenberger, 1994). Η βέλτιστη θερμοκρασία σύμφωνα με τους ερευνητές θεωρείται αυτή των 30 °C για διάφορους μ/ο όπως το *E. cloacae* (Wang et al., 1989) και το *Streptomyces griseus* (Laxman and More, 2002). Με την αύξηση της θερμοκρασίας μεταξύ 20-30 °C, η μετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) επιταχύνεται, και ως εκ τούτου, η απομάκρυνση του Cr(VI) βελτιώνεται (Wang et al., 1995; Chen and Hao, 1997). Παρόμοια ευρήματα έχουν αναφερθεί από τους και Wang και Xiao (1995), οι οποίοι πειραματιζόμενοι επί αμιγούς καλλιέργειας του στελέχους *Bacillus* sp., παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση του Cr(VI) αυξήθηκε ραγδαία με τη θερμοκρασία, σε θερμοκρασίες κάτω των 30 °C.

Ωστόσο το αρνητικό αποτέλεσμα των υψηλών θερμοκρασιών περιγράφουν οι Laxman και More, οι οποίοι το 2002 ανέφεραν πως στους 50 °C, τα κύτταρα αρχίζουν να λύνονται μετά από 24 h επώασης και ως εκ τούτου αυξάνεται η συγκέντρωση του χρωμίου στο διήθημα. Οι Gandhi et al. (2002) παρατήρησαν επίσης μια κρίσιμη θερμοκρασία, αυτή των 20 °C, κάτω από την οποία ο ρυθμός της κυτταρικής ανάπτυξης ως ένα βαθμό αναστάληκε. Οι μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι ακραίες θερμοκρασίες μείωσαν σοβαρά τη

βακτηριακή ανάπτυξη και την αναγωγή του Cr(VI) λόγω της απώλειας της βιωσιμότητας ή της μεταβολικής δραστηριότητας των κυττάρων σε παρατεταμένη επώαση.

Οι βέλτιστες συνθήκες θερμοκρασίας (20-30 °C) και pH (~7) είναι έντονα ενδεικτικά της μικροβιακής ανάπτυξης που σχετίζεται με τη βιομετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) και πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη κατά το σχεδιασμό ενός βιοαντιδραστήρα (Chen and Hao, 1996; Komori et al., 1989; Ohtake et al., 1990b).

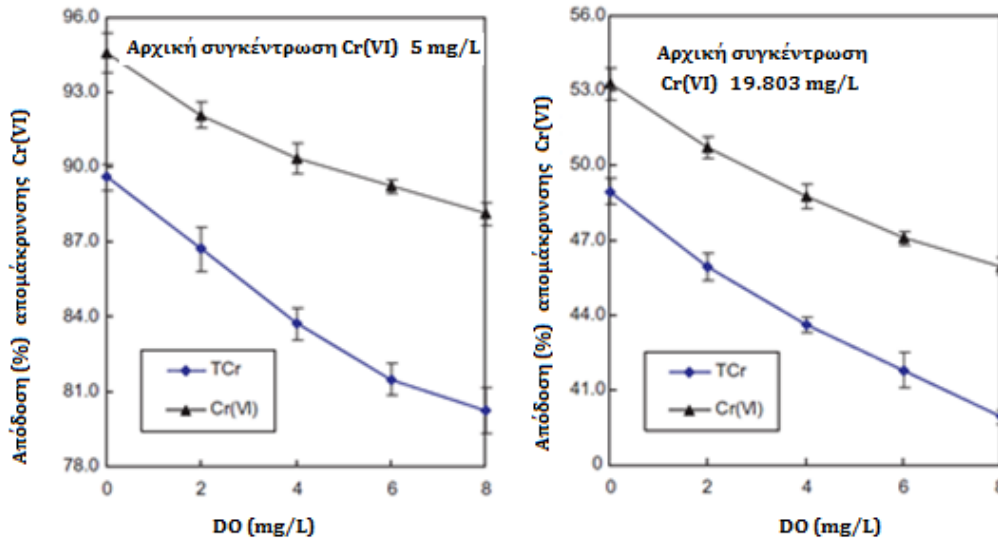
Επίδραση του Διαλυμένου Οξυγόνου

Στη βιβλιογραφία, κυριαρχεί η άποψη ότι η βιολογική απομάκρυνση του Cr(VI) ταυτίζεται με τη μικροβιακή ενζυμική αναγωγή του σε Cr(III) (Imai and Gloyna, 1990; Schmieman et al., 1998; Wang and Xiao, 1995). Η αύξηση του οξυγόνου σε σύστημα ενεργού ιλύος ωστόσο, παρεμβαίνει στην ενζυμική αυτή αναγωγή, με αποτέλεσμα τη μειωμένη απομάκρυνση χρωμίου (Chen and Gu, 2005a). Οι Komori et al. (1990a), μελετώντας αμιγή καλλιέργεια του στελέχους *E. cloacae* HO1, παρατήρησαν ότι η απόδοση απομάκρυνσης του Cr(VI) μειώθηκε με αύξηση του DO, παρά το γεγονός ότι τα κύτταρα αναπτύσσονταν σαφώς ταχύτερα υπό αερόβιες, παρά υπό αναερόβιες συνθήκες. Σε τιμή διαλυμένου οξυγόνου της τάξης των 4,5 mg/L, παρατήρησαν ισχυρή αναστολή της απομάκρυνσης Cr(VI) ενώ για DO>6,0 mg/L, δεν παρατηρήθηκε απομάκρυνση Cr(VI) στις αερόβιες καλλιέργειες. Όπως έχει προαναφερθεί, αυτό το γεγονός μπορεί να οφείλεται στον ανταγωνισμό του οξυγόνου και του Cr(VI) ως προς την αποδοχή ηλεκτρονίων και αυτό διότι το οξυγόνο είναι ο πιο ισχυρός δέκτης ηλεκτρονίων στη φύση.

Στη βιβλιογραφία εμφανίζεται και μια άλλη πιθανή εξήγηση της μείωσης της απόδοσης ως προς την απομάκρυνση του Cr(VI) με αύξηση του DO: Σε σύστημα ενεργού ιλύος το χρώμιο, μέσω της ειδικής προσρόφησης, προσροφάται στη βακτηριακή επιφάνεια και έπειτα ανάγεται στις κροκίδες (Imai and Gloyna, 1990). Όσο αυξάνεται το DO στο διάλυμα και συνεπώς η αύξηση της ροής του αέρα, τόσο δυσχεραίνεται η ειδική προσρόφηση με επακόλουθη μείωση της απόδοσης αναγωγής του Cr(VI).

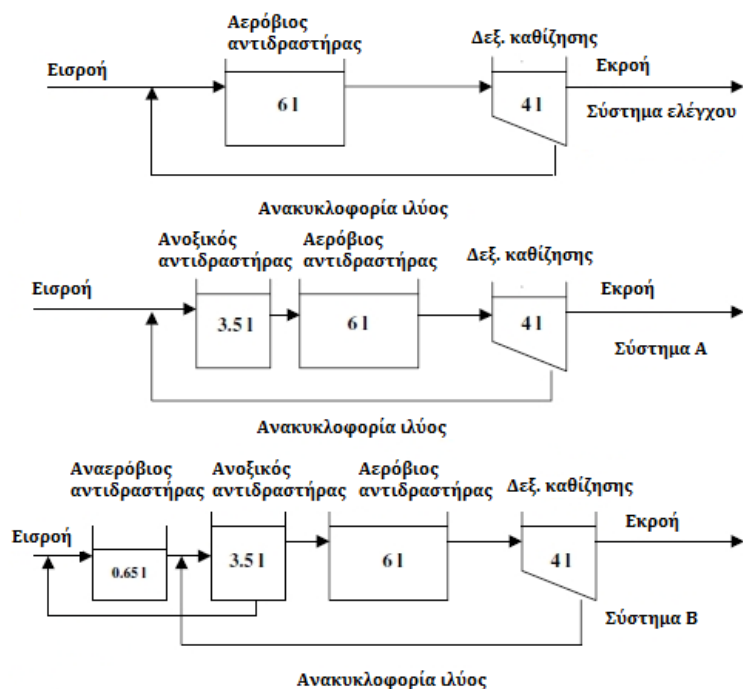
Μία επιπλέον παράμετρος που λαμβάνεται υπόψη όταν μελετάται η επίδραση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου, στην παρατηρούμενη αναγωγή του Cr(VI) είναι το είδος του μικροοργανισμού. Συγκεκριμένα, οι Shen και Wang (1993), πραγματοποίησαν πειράματα χρησιμοποιώντας το μικροοργανισμό *E.Coli*, σε αερόβιες και αναερόβιες καλλιέργειες. Αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι οι αναερόβιες καλλιέργειες παρουσίασαν υψηλότερη ταχύτητα αναγωγής του Cr(VI) σε σχέση με τις αερόβιες και ότι στις τελευταίες, η αύξηση της συγκέντρωσης του DO αναχάιτισε την αναγωγή του Cr(VI). Αντιθέτως, οι Guha et al. (2001), σε πειράματα με το μικροοργανισμό *Shewanella alga*, υποστήριξαν ότι η αναγωγή του Cr(VI) ήταν παρόμοια τόσο υπό αερόβιες, όσο και υπό αναερόβιες συνθήκες αλλά στη μέγιστη αρχική συγκέντρωση Cr(VI) που εφαρμόστηκε, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αναγωγή του Cr(VI) υπό αερόβιες συνθήκες.

Σχετικά με αναφορές για πειράματα που πραγματοποιήθηκαν εξ ολοκλήρου σε βιοαντιδραστήρες, οι Chen και Gu το 2005 εργάστηκαν σε βιοαντιδραστήρες, ρυθμίζοντας την παροχή αέρα, σε πειράματα batch. Μελέτησαν το σύστημα από αερόβιες (DO=8 mg/L) έως αναερόβιες (DO=0 mg/L) συνθήκες, καθώς και σε δύο θερμοκρασίες περιβάλλοντος (10 °C και 20 °C). Από το παρακάτω σχήμα (Σχήμα 2.33) διαπιστώνεται ότι η απομάκρυνση χρωμίου από το σύστημα μειώθηκε με την αύξηση του διαλυμένου οξυγόνου και στις δύο αρχικές συγκεντρώσεις χρωμίου (5 mg/L και 19,8 mg/L). Βάσει των παραπάνω παρατηρήσεων, οι ερευνητές προτείνουν τη διατήρηση του DO σε χαμηλά επίπεδα σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος για την αποδοτικότερη απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου.



Σχήμα 2.33: Επίδραση της συγκέντρωσης DO στην απομάκρυνση (%) του Cr(VI) και TCr (Chen and Gu, 2005b)

Σε συμφωνία με τα παραπάνω και θέλοντας να προσθέσουν έναν επιπλέον παράγοντα, αυτόν της απονιτροποίησης, οι Stasinakis et al. το 2004, πραγματοποίησαν πειράματα με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης του διαλυμένου οξυγόνου στην απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου σε μονάδες ενεργού ιλύος συνεχούς ροής. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε τρία διαφορετικά συστήματα, τα οποία αποτελούνταν από: ένα σύστημα αερόβιου αντιδραστήρα-δεξαμενής καθίζησης για έλεγχο (control), ένα σύστημα ανοξικού - αερόβιου αντιδραστήρα με δεξαμενή καθίζησης και ένα σύστημα αναερόβιου - ανοξικού - αερόβιου αντιδραστήρα με δεξαμενή καθίζησης (Σχήμα 2.34). Στα συστήματα γινόταν προσθήκη εξασθενούς χρωμίου συγκέντρωσης 1 mg/L, ενώ το διαλυμένο οξυγόνο στον αερόβιο αντιδραστήρα ήταν μεγαλύτερο από 4 mg/L, στον αναερόβιο και στον ανοξικό έφτανε μέχρι τα 0,2 mg/L και η αρχική συγκέντρωση των NO_3^- στον τελευταίο ήταν της τάξης του 18-25 mg/L. Ο χρόνος παραμονής των στερεών (θ_c) ήταν 20 ημέρες. Επιπλέον, η συγκέντρωση των στερεών (MLSS) κυμαίνονταν από 1500 mg/L- 1700 mg/L ενώ το COD ισούταν με 300 mg/L. Ως αποτέλεσμα, το σύστημα ανοξικού - αερόβιου αντιδραστήρα υπερείχε έναντι των υπολοίπων, ενώ ακολούθησε με μικρή διαφορά ο αναερόβιος - ανοξικός - αερόβιος και τέλος το σύστημα ελέγχου.



Σχήμα 2.34: Διάταξη συστημάτων συνεχούς ροής για διερεύνηση επίδρασης του DO (Stasinakis et al., 2004)

2.6.3.5 Οξειδοαναγωγικό δυναμικό (ORP)

Η κινητικότητα και η βιοδιαθεσιμότητα διαφόρων στοιχείων, συμπεριλαμβανομένων των βαρέων μετάλλων σε βιολογικό σύστημα, εξαρτάται από τις συνθήκες της αντίδρασης οξειδοαναγωγής (Singh et al., 2011). Η εισαγωγή του Cr(VI) σε ένα βακτηριακό σύστημα ανάπτυξης έχει ως αποτέλεσμα την απότομη αύξηση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού (Gvozdyak et al., 1986). Επειδή το Cr(VI) έχει ως αποτέλεσμα την αναγωγή από την αποδοχή των τριών ηλεκτρονίων από CrO_4^{2-} , η βιομετατροπή του Cr(VI) προκαλεί βαθμιαία μειώσεις στο δυναμικό. Γενικά, στις αερόβιες συνθήκες απαιτείται η επικράτηση ενός θετικού οξειδοαναγωγικού δυναμικού (Eh), διότι οι αερόβιοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται ταχέως υπό ένα υψηλό δυναμικό οξείδωσης-αναγωγής. Για αναερόβια συστήματα, απαιτείται η επικράτηση ενός αρνητικού οξειδοαναγωγικού δυναμικού. Η ικανότητα των βακτηριών που συνήθως ταξινομούνται ως αυστηρά αερόβια, να αξιοποιούν το Cr(VI) ως τερματικό αποδέκτη ηλεκτρονίων εξηγείται από το γεγονός ότι

το πρότυπο δυναμικό αναγωγής του Cr(VI) (1,33 mV) είναι κοντά σε εκείνο του O₂ (1,23 mV) (Dmitrenko et al., 2006).

Αλλαγές στις συνθήκες οξειδοαναγωγής είναι γνωστό ότι εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης βακτηριακών καλλιεργειών που οφείλονται σε διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να επηρεάσουν έμμεσα την αναγωγή του Cr(VI). Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό για τη μείωση του Cr(VI) δεν είναι καθορισμένο δεδομένου ότι ποικίλει αναλόγως των βακτηρίων (Gvozdyak et al., 1986; Llovera et al., 1993a; Shen and Wang, 1994b). Μερικά είδη βακτηρίων είναι ικανά να μειώσουν το Cr(VI) αερόβια και αναερόβια, ανάλογα με το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του περιβάλλοντος (Bopp, 1984; Llovera et al., 1993a). Οι Llovera et al. (1993a) ανέφεραν ότι σε αναερόβιες συνθήκες, ο ρυθμός μείωσης των χρωμικών ήταν μεγαλύτερος όταν το δυναμικό οξειδοαναγωγής των κυττάρων ήταν πιο ηλεκτραρνητικό. Οι ίδιοι επιστήμονες (Llovera et al., 1993b) παρατήρησαν ότι τα κύτταρα του *A. radiobacter* EPS-916 ανεπτυγμένα με γλυκόζη, φρουκτόζη ή λακτόζη παρουσίασαν δυναμικό οξειδοαναγωγής περίπου -200 mV και πλήρη αναγωγή Cr(VI) στα 26 mg/L εντός 6 ωρών. Ωστόσο, σε ORP υψηλότερο από -135 mV, δεν ανιχνεύθηκε αναγωγή από αυτήν την καλλιέργεια.

Το ίδιο διαπιστώθηκε και από τους Gvozdyak et al. (1986), όταν το *E. coli* σε 10¹⁰ κύτταρα/mL, γλυκόζη για υπόστρωμα και κάτω από αναερόβιες συνθήκες δεν απομάκρυνε το Cr(VI) σε δυναμικό υψηλότερο από -100 mV. Ωστόσο στα -140 mV, το Cr(VI) συγκέντρωσης 14 mg/L μετατράπηκε σε Cr(III) εντός 15 λεπτών, δηλαδή το ποσοστό αναγωγής Cr(VI) αυξήθηκε με τη μείωση του ORP.

Αντιθέτως, υπήρξε μερίδα επιστημόνων, οι οποίοι δε βρήκαν συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού αναγωγής του Cr(VI) και του οξειδοαναγωγικού δυναμικού (Wang and Xiao, 1995; Klonowska et al., 2008). Πιο συγκεκριμένα, οι αλλαγές στο δυναμικό οξειδοαναγωγής του μέσου δεν επηρεάζουν το ρυθμό απομάκρυνσης του Cr(VI) από το *E. Coli* ATCC 33456 κατά τους Shen και Wang (1994a) και από το *E. cloacae* H01 κατά τους Ohtake και Hardoyo (1992). Οι Fujie et al. (1994) σε μελέτη της καλλιέργειας του *E. cloacae* H01 ωστόσο, διαπίστωσαν ότι η αύξηση του δυναμικού κατά τη διάρκεια αερισμού της καλλιέργειας μπορεί να συνέβαλε στην απενεργοποίηση κυττάρων. Κατά

συνέπεια, σε αναερόβιες συνθήκες, η διατήρηση ενός ORP μικρότερου από -100 mV ήταν προτιμότερο για το *E. cloacae* HO1, ώστε να διατηρήσει το ποσοστό βιομετατροπής του Cr(VI).

Γενικότερα, η αυξομείωση στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό μίας καλλιέργειας τείνει να επηρεάσει την απόδοση του συστήματος ως προς την απομάκρυνση του Cr(VI), ανάλογα με το είδος του μ/ο και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν (Dmitrenko et al., 2001; Chardin et al., 2002; Xu et al., 2009).

2.6.3.6 Άλλοι Δέκτες Ηλεκτρονίων

Ο ρόλος των οξυανιόντων όπως του PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} και του NO_3^- ως ανταγωνιστικοί δέκτες ηλεκτρονίων στην αναγωγή του Cr(VI) είναι πολύ σημαντικός. Το CrO_4^{2-} είναι ανάλογο με το SO_4^{2-} λόγω χημικής ομοιότητας. Επειδή τα χρωμικά ιόντα έχουν το ίδιο φορτίο και ανάλογη δομή με αυτή των θεικών, το εξασθενές μπορεί να εισέλθει στο κύτταρο διαμέσου του μεταβολικού μονοπατιού των θεικών και να αναχθεί σε τρισθενές μέσω διάφορων διεργασιών (Alvarez et al., 1999; Cervantes et al., 2001; Goulhen et al., 2006).

Έχει ανιχνευθεί ότι το CrO_4^{2-} είναι ένας ανταγωνιστικός αναστολέας της μεταφοράς SO_4^{2-} στα αναγωγικά είδη Cr(VI) (Ohtake et al., 1987; Nies and Silver, 1989) και ότι η πρόσληψη του CrO_4^{2-} από μικροβιακά κύτταρα μπορεί να αναστέλλεται ανταγωνιστικά από το SO_4^{2-} , σε υψηλές συγκεντρώσεις αυτού (Ohtake et al., 1987). Πιο αναλυτικά, η αναγωγική δραστηριότητα των κυτταρικών εκχυλισμάτων του *Bacillus* sp. όσων αφορά το εξασθενές χρώμιο δεν επηρεάζεται από την παρουσία 1,000-1,200 mg/L θεικών ούτε 1000-1400 mg/L νιτρικών (Wang and Xiao, 1995). Οι Philip et al. (1998) επίσης, διαπίστωσαν ότι η παρουσία θεικού ή νιτρικού έως 1000 mg/L δεν επηρεάζει την απομάκρυνση Cr(VI) από το *Bacillus coagulans*. Αυξανόμενης της συγκέντρωσης, οι Lovley και Phillips (1994) ανέφεραν ότι η αναγωγή του Cr(VI) στο θειοαναγωγικό βακτήριο *D. vulgaris* δεν αναστάλθηκε σε συγκεντρώσεις SO_4^{2-} τόσο υψηλές όσο 4,8 g/L. Σε πιο υψηλές

συγκεντρώσεις ωστόσο (6 g/L), οι Hardoyo και Ohtake (1991) ανέφεραν ότι τα θειικά ανέστειλαν σημαντικά την αναγωγή Cr(VI).

Το *E. cloacae* H01 βρέθηκε ότι αναπτύσσεται γρηγορότερα με νιτρώδη και νιτρικά άλατα υπό αναερόβιες συνθήκες. Νιτρώδη σε συγκέντρωση 14 mg/L δεν αναστέλλουν την αναγωγή Cr(VI) και μόνο χρησιμοποιώντας νιτρικά σε συγκέντρωση 70 mg/L φάνηκε κάποια ανασταλτική δράση (Komori et al., 1989). Άλλα οξυ-ανιόντα όπως το MnO_4^- , το VO_3^- και το TeO_4^{2-} σε επίπεδα που δεν επηρεάζουν την κυτταρική ανάπτυξη, αναστέλλουν σημαντικά την αναγωγή Cr(VI) στο *E. cloacae* H01 (Komori et al., 1989). Επιπλέον, τα ανιόντα SO_3^{2-} , MoO_4^{2-} και VO_4^{2-} σε 0,2 mM δεν επηρέασαν την απομάκρυνση Cr(VI) in vitro ή με κύτταρα του *P. putida* PRS2000 (Ishibashi et al., 1990).

Συμπερασματικά, η ύπαρξη άλλων οξυανιόντων θα μπορούσε να επηρεάσει την έκβαση της αναγωγής εξασθενούς χρωμίου, μόνο όταν οι συγκεντρώσεις αυτών υπερέβαινε τα 4 g/L (Shen and Wang, 1994a; Komori et al., 1989).

2.6.3.7 Κατιόντα μετάλλων

Τα φυσικά ενδιαιτήματα γενικά χαρακτηρίζονται από τη συνύπαρξη ενός μεγάλου αριθμού τοξικών και μη τοξικών κατιόντων και επομένως είναι απαραίτητο να μελετηθούν οι πολλαπλές επιδράσεις των μετάλλων στη φυσιολογία και βιοχημεία των μικροοργανισμών (Verma and Singh, 1995). Επειδή η ύπαρξη των ιόντων βαρέων μετάλλων σε ένα βιολογικό σύστημα αντιδραστήρα επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη των βακτηρίων και την αναγωγική τους δραστηριότητα, πρέπει να ληφθούν υπόψη οι δυσμενείς επιδράσεις των άλλων μετάλλων κατά την ανάπτυξη μιας βιώσιμης εγκατάστασης βιολογικής επεξεργασίας για απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου.

Οι Hardoyo και Ohtake (1991) έδειξαν ότι ο βαθμός αναχαίτισης της αναγωγής Cr(VI) από το *E. cloacae* H01 ακολούθησε τη σειρά: $Hg^{2+} > Ag^+ > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+}$, όπου το Hg^{2+} ανέστειλε πλήρως τη διαδικασία αναγωγής σε συγκέντρωση 0.2 mg/L. Γενικότερα, πολλοί μελετητές (Faisal and Hasnain, 2004; Shen and Wang, 1994b; McLean

and Beveridge, 2001; Bae et al., 2000; Sultan and Hasnain, 2007) οι οποίοι ερεύνησαν την επίπτωση της ύπαρξης ιόντων βαρέων μετάλλων όπως των Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , As^{3+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , κατά την αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου από βακτήρια, διαπίστωσαν ότι ήταν εφικτή η αναστολή της αναγωγής αλλά σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις αυτών των μετάλλων της τάξης των 20 mg/L και πάνω.

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι κάθε καλλιέργεια εμφανίζει διαφορετικές ευαισθησίες με την προσθήκη των ιοντικών μετάλλων, γεγονός που οφείλεται: (1) στη μικροβιακή δραστηριότητα και στα μονοπάτια του μεταβολισμού (2) στην παρουσία άλλων ουσιών συμπλοκοποίησης και (3) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του διαλυμένου μετάλλου. Παρ' όλα αυτά όπως προαναφέρθηκε, οι μικροβιακές δραστηριότητες για τη μετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) είναι σχετικά ευαίσθητες στην παρουσία ιόντων βαρέων μετάλλων, τα οποία μπορεί να συνυπάρχουν με το Cr(VI). Ως εκ τούτου, για την επιτυχή βιολογική απομάκρυνση του Cr(VI) από ρυπασμένα με Cr(VI) απόβλητα και υπόγεια ύδατα είναι πιθανό να απαιτείται η προ-απομάκρυνση των μεταλλικών κατιόντων (Chen and Hao, 1998).

2.7 Μικροβιολογία Αναγωγής Χρωμίου

Οι μικροοργανισμοί που έχουν την ικανότητα να μειώνουν το Cr(VI) συνήθως ονομάζονται βακτήρια αναγωγής χρωμίου (CRB) (Thatoi et al., 2014). Η δυνατότητα βιομετατροπής του Cr(VI) σε Cr(III) μπορεί να διαφέρει μεταξύ μικροοργανισμών. Επιπλέον διαφορετικά βακτήρια μπορούν να ανέχονται διαφορετικές συγκεντρώσεις Cr(VI). Συνεπώς, μια σημαντική πρόκληση που πρέπει να ξεπεραστεί πριν την εφαρμογή της βιολογικής απομάκρυνσης του Cr(VI) είναι η τοξικότητα του, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρική αδρανοποίηση, δυσχεραίνοντας έτσι και την απόδοση της απομάκρυνσης. Ορισμένοι μικροοργανισμοί έχουν αναφερθεί σε προηγούμενη παράγραφο ότι επιτυγχάνουν ικανοποιητική αναγωγή του Cr(VI) και είναι κυρίως βακτήρια, γιατί μπορούν να εμφανίζουν χαμηλή αναχαίτιση στο χρώμιο. Η βιβλιογραφία

παρέχει πολλές αναφορές που περιγράφουν την τοξική επίδραση του Cr(VI) στο ρυθμό ανάπτυξης των βακτηρίων και στην απομάκρυνση του από αυτά, οι οποίες συγκλίνουν. Στην παρούσα παράγραφο θα γίνει εκτενής αναφορά αυτών των μικροοργανισμών.

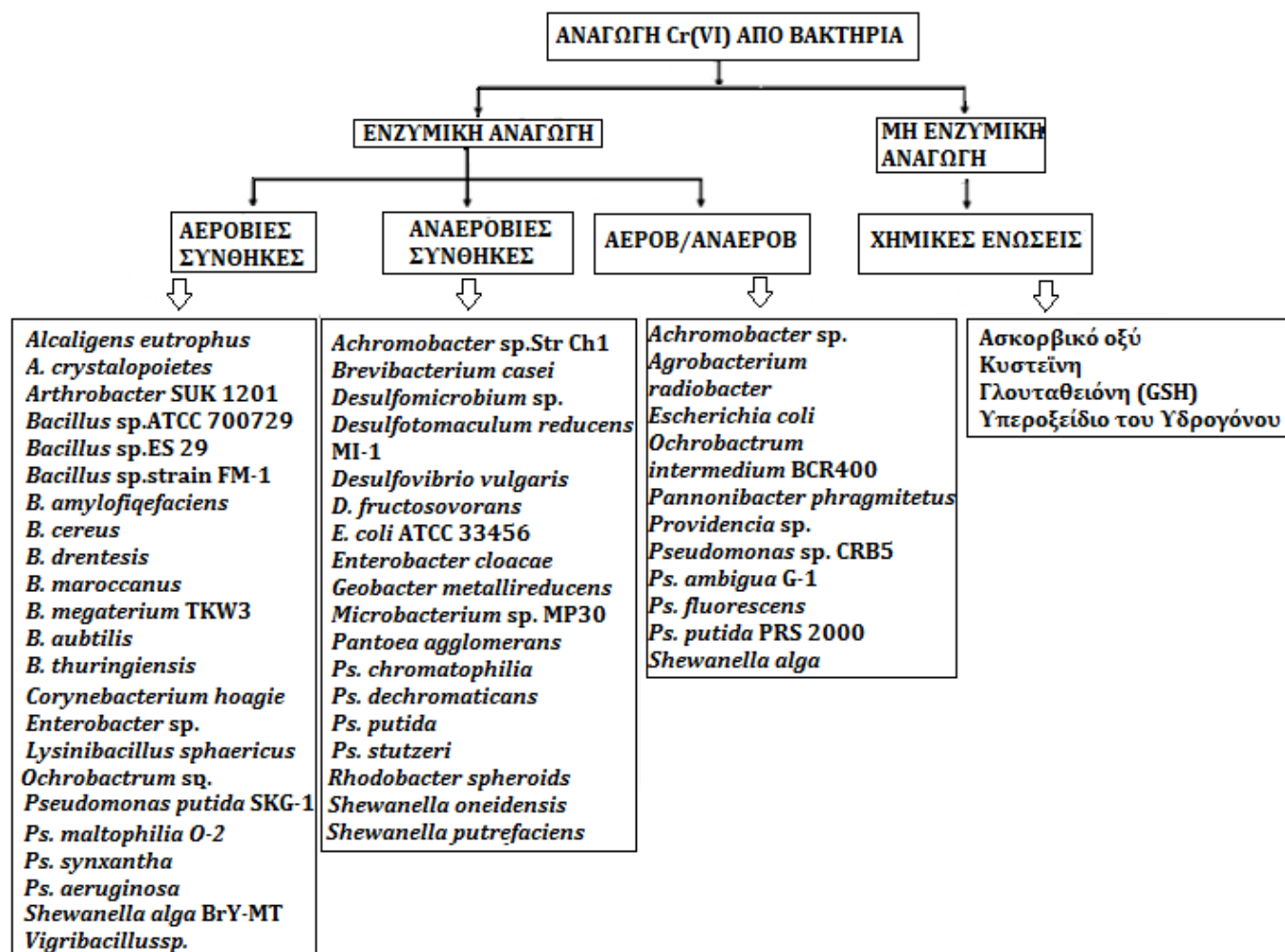
2.7.1 Μικροοργανισμοί που ανάγουν το Εξασθενές Χρώμιο

Πολλοί μικροοργανισμοί έχουν τη δυνατότητα να επιβιώσουν σε ένα τοξικό περιβάλλον αναπτύσσοντας μηχανισμούς για την αποφυγή τοξικότητας των μετάλλων, όπως η προσρόφηση, η μεθυλίωση του DNA και η βιομετατροπή είτε άμεσα με ενζυμική αναγωγή σε λιγότερο τοξικές μορφές είτε έμμεσα μέσω της δημιουργίας συμπλόκων με μεταβολίτες (όπως το H₂S) (Camargo et al., 2005; Pei et al., 2009; Soni et al., 2012). Αρκετοί μικροοργανισμοί που παρουσιάζουν αναγωγική συμπεριφορά και αντοχή στο Cr(VI) έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί σε φυσικά, χωρίς ρύπανση οικοσυστήματα (Schmieman et al., 1998; Turick et al., 1996; Wang and Shen, 1995). Έντονη μικροβιακή δραστηριότητα επίσης διαπιστώθηκε από βακτήρια σε περιβάλλοντα ρυπασμένα με Cr(VI) όπως βιομηχανικές λάσπες (Lebedeva and Lyalikova, 1979; Kvasnikov et al., 1988), βιομηχανικά απόβλητα (Romanenko and Korenkov, 1977; Gopalan and Veeramani, 1994), ενεργό ιλύ (Horitsu et al., 1978; Wang et al., 1989) και ιζήματα ποταμού (Bopp, 1984).

Παρά το γεγονός ότι η βιορρόφηση είναι ένα παθητικό φαινόμενο, το οποίο εξαρτάται απόλυτα από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του κυτταρικού τοιχώματος, η δομή του κυτταρικού τοιχώματος επίσης εξαρτάται από την έκφραση των γενετικών στοιχείων (Langley and Beveridge, 1999) και ποικίλλει φαινοτυπικά ανάλογα με τη σύνθεση του υποστρώματος (Wong and So, 1993; Simmons and Singleton, 1996; Andres et al., 2000) και τη μεταβολική κατάσταση των κυττάρων (Donocik et al., 1996; Andres et al., 2000). Πολλά βακτήρια οφείλουν την αντοχή τους σε βαρέα μέταλλα λόγω της αλληλεπίδρασης του κυτταρικού τοιχώματος με αυτά (Silver, 1992). Τα εξωκυτταρικά πολυμερή πολλών βακτηρίων (*Zoogloea ramigera*, *Klebsiella aerogenes*, *Arthrobacter viscosus*, *Pseudomonas*) αναφέρθηκαν κατά καιρούς ως κάψουλα/στρώμα λάσπης, είναι αποτελούν τα κύρια συστατικά της κυτταρικής βιορρόφησης (Volesky, 1990; Gadd and White, 1993).

Με κάθε είδος βακτηρίου του παρακάτω πίνακα, ασχολήθηκαν πολλοί μελετητές, οι οποίοι ανέλυσαν διαφορετικά στελέχη και έβγαλαν τα δικά τους συμπεράσματα ως προς την αναγωγική τους απόδοση. Οι Kvasnikov et al. (1988) και οι Ohtake et al. (1987), οι οποίοι διερεύνησαν τη μικροβιακή αναγωγή του Cr(VI) σε διαφορετικά περιβάλλοντα, έδειξαν ότι στους μικροοργανισμούς ικανούς για ενζυμική αναγωγή περιλαμβάνονται κυρίως αντιπρόσωποι του γένους *Escherichia*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Shewanella*, *Bacillus* και *Pseudomonas* (τάξη Gamma Proteobacteria).

Στο Σχήμα 2.35 που ακολουθεί (Thatoi et al., 2014), παραθέτονται συγκεντρωτικά τα είδη των πιο ευρέως μελετημένων βακτηρίων που ανάγουν το Cr(VI) και οι συνθήκες (αναερόβιες/ αερόβιες) στις οποίες αυτά πραγματοποιούν τις καταβολικές και αναβολικές τους διαδικασίες.



Σχήμα 2.35: Αναγωγικά βακτήρια εξασθενούς χρωμίου (Thatoi et al., 2014)

Πιο αναλυτικά, οι Horitsu et al. (1983) μελετώντας σε αερόβια καλλιέργεια το γένος *Pseudomonas* και συγκριμένα το είδος *ambigua* Q-1, βρήκαν μια σημαντική διαφορά στη σύνθεση των λιπαρών οξέων του κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ κυττάρων ανεκτικών σε Cr(VI) και κυττάρων μεταλλαγμένων. Σε επίπεδο απομάκρυνσης, έχει βρεθεί ότι με υπόστρωμα το συνδυασμό πεπτόνης-γλυκόζης, στους 30°C και pH 7,2-7,6, η απομάκρυνση του Cr(VI) σε μία συγκέντρωση εισροής 124 mg/L Cr(VI) έφτασε το 81% (Gopalan and Veeramani, 1994). Σε μια άλλη εργασία αναφέρεται ότι το είδος *ambigua* Q-1 απομακρύνει το Cr(VI) από 150 mg/L σε 60 mg/L Cr(VI) μετά από 6 h καλλιέργειας χωρίς καμία περαιτέρω σημαντική μείωση μετά τις επόμενες 36 h (Horitsu et al., 1987).

Το βακτήριο *Pseudomonas fluorescens* LB300 είναι ικανό να απομακρύνει το Cr(VI) σε αερόβιες συνθήκες, κάτω από υψηλές συγκεντρώσεις ποικιλίας οργανικών ενώσεων Σε πειράματα συνεχούς τροφοδοσίας και υπόστρωμα το κιτρικό οξύ, με θερμοκρασία στους 20 °C και ουδέτερο pH, το Cr(VI) σε συγκέντρωση 11 mg/L απομακρύνθηκε αερόβια κατά 28%, 39% και 57% (DeLeo and Ehrlich, 1994). Το συγκεκριμένο στέλεχος ωστόσο δεν ήταν σε θέση να μειώσει τη συγκέντρωση του Cr(VI) σε αναερόβιες συνθήκες, εκτός αν το υπόστρωμα ήταν το οξικό οξύ και οι συγκεντρώσεις του Cr(VI) σχετικά χαμηλές (Bopp and Ehrlich, 1988).

Τα στελέχη *Pseudomonas dechromaticans* (Romanenko and Korenkov, 1977) και *Enterobacter cloacae* H01 (τάξη Gamma Proteobacteria) (Wang et al., 1989) μπορούν να αναπτυχθούν παρουσία χρωμίου σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες, αλλά η βακτηριακή αναγωγή του Cr(VI) πραγματοποιείται μόνο σε αναερόβιο περιβάλλον.

Με την οικογένεια των *Enterobacteriaceae* ασχολήθηκαν και οι Martins et al. (2010), οι οποίοι θεώρησαν ενδιαφέρον να μελετήσουν την αναερόβια απομάκρυνση του Cr(VI) συγκριτικά με αυτής του U(VI) από το γένος *Clostridium* (τάξη Clostridia), διότι αυτά τα δύο στοιχεία έχουν κοινά χαρακτηριστικά (πολλοί αριθμοί οξειδωσης, μη σταθερότητα, επιβλαβή στο περιβάλλον) αν και το Cr(VI) χαρακτηρίζεται από τους μελετητές πιο τοξικό. Παρατηρήθηκε από μια σειρά πειραμάτων πως τα βακτήρια απομάκρυναν το U(VI) σε ποσοστό 91% και το Cr(VI) σε ποσοστό 99%. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί επηρεάζονταν και ανάλογα με το βαρύ μέταλλο που τους τροφοδοτούσαν.

Το πιο μελετημένο ερευνητικά βακτήριο αυτής της οικογένειας είναι το *Escherichia coli*, το οποίο απασχόλησε πολλούς επιστήμονες ως προς την αναγωγή του Cr(VI) (Ono, 1988; Wang and Chirwa, 1998; Lin et al., 2011). Οι Shen και Wang (1993) μελέτησαν τη δραστηριότητα μετατροπής του Cr(VI) (σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες) τόσο σε ακέραια κύτταρα όσο και σε κυτταρικά εκχυλίσματα του *E.coli* ATCC 33456, τα βιοχημικά χαρακτηριστικά και την κυτταρική τοποθεσία της αναγωγής Cr(VI), καθώς και την πιθανή εμπλοκή της αναπνευστικής του αλυσίδας στην αναγωγική δραστηριότητα του Cr(VI). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το Cr(VI), που υπήρχε κυρίως στην κυτταρική επιφάνεια του *E.coli* ATCC 33456 μετατρέπεται ποιοτικώς σε Cr(III). Η αναπνευστική

αλυσίδα που συνδέεται με τη μεταφορά ηλεκτρονίων συμμετείχε επίσης στη μείωση του Cr(VI), μολονότι απαιτεί την παρουσία διαλυτής αναγωγάσης για να μεσολαβήσει στη μεταφορά ηλεκτρονίων προς το Cr(VI).

Η απομάκρυνση του Cr(VI) από τρία στελέχη του γένους *Bacillus* (τάξη Bacilli) μελετήθηκε από τους Quan et al. (2006). Η ικανότητα αποτοξίνωσης μέσω των τριών βακτηριακών στελεχών ήταν πολύ ισχυρότερη από εκείνη ενός αντίστοιχου μεμονωμένου στελέχους, γεγονός που δείχνει ένα εξαιρετικό συνεργιστικό αποτέλεσμα. Σε επίπεδο αριθμών, οι ερευνητές Zahoor και Rehman το 2009 παρουσίασαν μια μελέτη σχετικά με τη βιοαποδόμηση του χρωμίου από τα στελέχη των βακτηρίων *Bacillus* sp. JDM-2-1 και *Staphylococcus capitis* (τάξη Bacilli). Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι τα παραπάνω βακτήρια μπορούν να απομακρύνουν χρώμιο σε υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου 4,5 mg/L και 2,8 mg/L, αντίστοιχα. Τέλος, το *Acidithiobacillus* το οποίο όπως όλα τα Πρωτεοβακτήρια στα οποία ανήκει είναι ένα gram αρνητικό, αυτοτροφικό βακτήριο, που με τη σειρά του κάτω από αναερόβιες και αερόβιες συνθήκες έχοντας ως πηγή ενέργειας το θείο έχει την ικανότητα να μειώνει τις συγκεντρώσεις των V, Mn, Fe και Cr (Quintana et al., 2001).

Σχετικά με τα υπόλοιπα βακτήρια του Σχήματος 2.35, το προϊόν απομόνωσης του *Streptomyces* 3M (τάξη Actinobacteria) που ελήφθη από ρυπασμένο έδαφος, βρέθηκε ότι θα μπορούσε να απομακρύνει μέχρι και 250 mg/L Cr(VI) με την παρουσία γλυκόζης ή NADH και κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες (Das and Chandra, 1990). Οι Llovera et al. (1993a) περιγράφουν ότι το στέλεχος του *Agrobacterium radiobacter* EPS-916 (τάξη Alpha Proteobacteria) απομονώθηκε από χώμα και ήταν ευαίσθητο στο Cr(VI) υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Η καλλιέργεια αυτή κατά την περίοδο ανάπτυξης της μπόρεσε να απομακρύνει 8 mg/L Cr(VI) αναερόβια και μόνο 2,6 mg/L Cr(VI) αερόβια. Σε περίοδο εγκλιματισμού ωστόσο, τα υπόλοιπα κύτταρα αυτού του στελέχους ήταν σε θέση να ανάγουν πλήρως το Cr(VI) σε συγκεντρώσεις 26 mg/L. Μια επιπλέον ομάδα που έχει μελετηθεί για την ικανότητα της να ανάγει το Cr(VI), είναι τα βακτήρια που μειώνουν τα θειικά (SRB). Οι Lovley και Phillips (1994) ανέφεραν ότι το θειοαναγωγικό βακτήριο

Desulfovibrio vulgaris (τάξη Delta Proteobacteria), το οποίο ήταν ικανό να ανάγει ενζυμικά τα Fe(III) και U(VI), θα μπορούσε επίσης να δρα ως αναγωγέας του Cr(VI) παρουσία του H₂ ως δότη ηλεκτρονίων. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν, εκτός του παραπάνω πίνακα, πολλές αναφορές μικροοργανισμών που ανήκουν στην τάξη Alpha Proteobacteria (γένη *Brucella* και *Ochrobactrum*) (Thacker et al., 2007) καθώς και κυανοβακτήρια (γένη *Thermophilic Phormidium* και *Synechocystis*) (Sadettin and Dönmez, 2007; Ozturk et al., 2009), τα οποία πραγματοποιούν τη διαδικασία της αναγωγής του χρωμίου στο διαλυτό κλάσμα του κυττάρου με υψηλά ποσοστά επιτυχίας.

Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν ανάλογα ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την απομάκρυνση χρωμίου με αυτά των προκαρυωτικών οργανισμών. Ο ευκαρυωτικός μικροοργανισμός *Euglena gracilis* εξετάστηκε από τους Jasso-Chavez et al. (2010), όσον αφορά την ικανότητα του να αντιστέκεται και να συσσωρεύει ενδοκυτταρικά βαρέα μέταλλα. Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το μηλικό για pH= 3,5 και για pH=7 αιθανόλη και γλυταμίνη. Διαπιστώθηκε ότι σε 6 ημέρες η συγκέντρωση του Cr(VI) μειώθηκε κατά 14%. Αυτό που σημειώνεται από την παρούσα εργασία είναι πως το Cr(III) μπορεί να είναι πιο τοξικό από το Cr(VI) ανάλογα με την καλλιέργεια. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η μελέτη για την εξωκυτταρική αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου από μύκητες. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia guilliermondii* ATCC 20191, *Rhodotorula pilimanae* D-76, *Yarrowia lipolytica* VKMY-917 και *Hansenula polymorpha* 356. Σύμφωνα με τους ερευνητές, η αναγωγική τους ικανότητα οφείλεται στη δυνατότητα που έχουν να εκκρίνουν μικρομοριακά προϊόντα, που επιτρέπουν την αναγωγή του εξασθενούς εξωκυτταρικά (DeFilippi, 1994).

Με την προσθήκη βιολογικών αναστολέων (inhibitors) όπως πενικιλίνη, κυκλοσερίνη ή χλωραμφενικόλη, η απώλεια της ικανότητας των μικροβιακών κυττάρων να απομακρύνουν το Cr(VI) υπό αναγωγικές συνθήκες δείχνει σαφώς ότι αναγωγή του είναι μια ενζυμικά καταλυόμενη αντίδραση. Άλλες ενδείξεις για τον ενζυμικό ρόλο στη μικροβιακή αναγωγή περιλαμβάνουν τα εξής γεγονότα: α) το Cr(VI) ανάγεται ταχύτερα σε υψηλότερες συγκεντρώσεις κυττάρων (Wang et al., 1990; Chen and Hao, 1996), β) η αναγωγή του Cr(VI) σημειώνεται μόνο παρουσία κυττάρων ή κυτταρικών εκχυλισμάτων και δοτών ηλεκτρονίων (Bopp and Ehrlich, 1988; Ohtake et al., 1990b; Lovley and Phillips,

1994), γ) η μείωση της συγκέντρωσης του Cr(VI) σταματά να παρατηρείται όταν τα εκχυλίσματα των κυττάρων θερμανθούν στους 100 °C (Horitsu et al., 1987; Ohtake and Hardoyo, 1992) δ) η αναγωγή Cr(VI) είναι ατελής με ανεπαρκή συγκέντρωση υποστρώματος (Chen and Hao, 1996) και ε) τα υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης του Cr(VI) σημειώνονται κατά την εκθετική φάση ανάπτυξης των στελεχών βακτηρίων (Arel and Turick, 1991).

Όλες αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν έντονα ότι η μετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) σε βιολογικά συστήματα είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη μικροβιακή δραστηριότητα (Chen and Hao, 1998) και πως η πληθώρα των μικροοργανισμών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, έδωσαν την ευκαιρία στους ερευνητές να μελετήσουν την αναγωγή του χρωμίου κάτω από πολλές διαφορετικές συνθήκες. Απαραίτητη προϋπόθεση για την αναγνώριση αυτών των βακτηρίων είναι η ταυτοποίηση τους στο μικροσκόπιο, γεγονός που δεν συμβαίνει πολύ συχνά ερευνητικά, καθώς οι μελετητές προτιμούν να ασχολούνται μεμονωμένα με ένα μ/ο και όχι να μελετούν μικροσκοπικά μικτές καλλιέργειες. Σε περίπτωση μικτών καλλιεργειών χρησιμοποιείται ο όρος βιομάζα ή MLSS χωρίς περαιτέρω ανάλυση από πλευράς μελετητών.

2.7.2 Αναχαίτιση μικροοργανισμών

Η αναχαίτιση είναι η μερική ή ολική αναστολή της ανάπτυξης των μικροοργανισμών και μπορεί να οφείλεται στην παρουσία κάποιων ουσιών στο υπόστρωμα ή στα προϊόντα των αντιδράσεων που πραγματοποιούνται. Από μαθηματικής άποψης, η αναχαίτιση ορίζεται ως το ποσοστό της μείωσης της δραστηριότητας της βιομάζας για συγκεκριμένη συγκέντρωση του αναχαιτιστικού παράγοντα (ή αλλιώς του παράγοντα τοξικότητας) ως προς τη δραστηριότητα της βιομάζας χωρίς την ύπαρξη του αναχαιτιστικού παράγοντα (Alvarino et al., 2013).

Ανάλογα με το μηχανισμό με τον οποίο οι ουσίες αυτές οδηγούν σε αναχαίτιση την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, η αναχαίτιση μπορεί να χαρακτηριστεί βιοστατική ή

βιοκτόνος. Η βιοστατική αναχαίτιση δε σχετίζεται με άμεση αντίδραση της τοξικής ουσίας με το μικροοργανισμό και είναι κατά κανόνα αναστρέψιμη. Επηρεάζει συνήθως τους ρυθμούς πρόσληψης τροφής ή τους ρυθμούς ανάπτυξης των μικροοργανισμών (μέγιστους ρυθμούς πρόσληψης τροφής, συντελεστές μετατροπής βιομάζας, σταθερές ημικορεσμού) (Batstone et al., 2002). Η βιοκτόνος αναχαίτιση είναι συνήθως μη αναστρέψιμη και μπορεί να οδηγήσει σταδιακά στη θανάτωση των μικροοργανισμών. Επηρεάζει κυρίως το ρυθμό φθοράς των μικροοργανισμών (Batstone et al., 2002). Προκαλείται συνήθως από την παρουσία τοξικών ουσιών που συμμετέχουν ανταγωνιστικά σε αντιδράσεις απαραίτητες για τη λειτουργία ή την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, όπως στη σύνθεση λιπαρών οξέων, σε αντιδράσεις απαραίτητες για τη μεταφορά ηλεκτρονίων ή επηρεάζοντας τη δομή και τη λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης. Παραδείγματα τέτοιων ουσιών αποτελούν τα μεγαλομοριακά λιπαρά οξέα, οι αλδεΐδες, τα αντιβιοτικά, τα βαρέα μέταλλα και διάφορα απορρυπαντικά.

Ωστόσο, παρατηρείται συχνά το φαινόμενο, οι μικροοργανισμοί να αναπτύσσουν αντίσταση σε κάποια τοξική ουσία μετά από παρατεταμένη έκθεση σε αυτή, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η συγκέντρωση για την οποία υφίστανται αναχαίτιση.

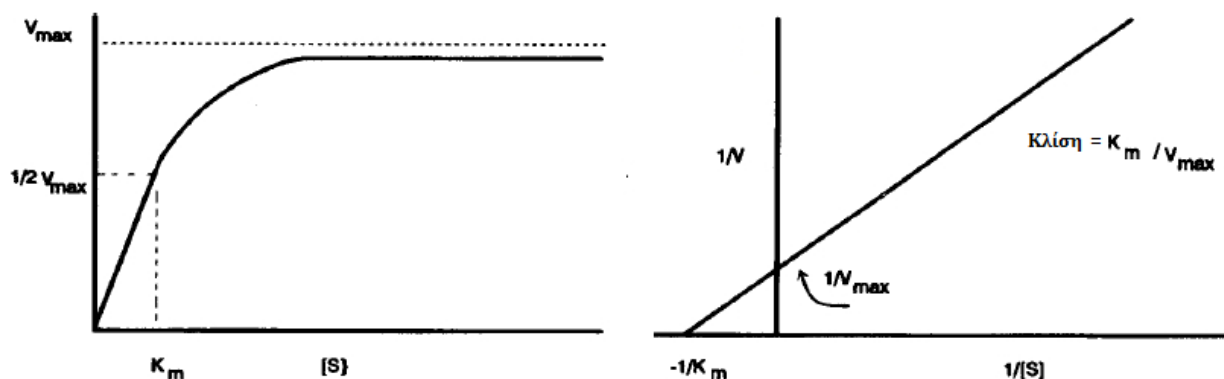
2.7.3 Κινητικές Παράμετροι Τοξικότητας Cr(VI)

Τα τοξικά βαρέα μέταλλα και ιδιαιτέρως το χρώμιο όπως έχει προαναφερθεί, καταλαμβάνουν τη θέση των απαραίτητων μεταλλικών ιόντων στις θέσεις διασύνδεσης, αλλάζουν τη δομή των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών, παρεμποδίζουν την οξειδωτική φωσφορυλίωση και την οσμωτική ισορροπία. Σε περιπτώσεις που οι συγκεντρώσεις των μετάλλων ξεπερνούν τη συγκέντρωση που είναι απαραίτητη για τις ενζυμικές αντιδράσεις, είναι πιθανό να προκαλέσουν αδρανοποίηση των ενζύμων η οποία σταδιακά οδηγεί στη θανάτωση (Hughes and Poole, 1989).

Για την κατανόηση της δράσης των τοξικών ουσιών στους μικροοργανισμούς χρησιμοποιούνται επίσης εκτός από τα πειράματα και εμπειρικά μοντέλα. Η απλούστερη κινητική θεώρηση βασίζεται στην υπόθεση ότι μία τοξική ουσία επηρεάζει τον ειδικό ρυθμό απομάκρυνσης υποστρώματος μίας καλλιέργειας με τρόπο ανάλογο με αυτόν που η συγκεκριμένη τοξική ουσία επηρεάζει τη δραστηριότητα των ενζύμων. Βάσει του γενικού μοντέλου ενζυμικής κατάλυσης, το υπόστρωμα συνδέεται με το ενεργό κέντρο του ενζύμου για να σχηματίσει ένα σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος (ES). Ένα νέο προϊόν (P) σχηματίζεται και το αμετάβλητο ένζυμο E είναι έτοιμο να αντιδράσει ξανά με το υπόστρωμα (Bitton, 1999).



Σε χαμηλή συγκέντρωση υποστρώματος, η ταχύτητα μιας ενζυμικής αντίδρασης (V) είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του υποστρώματος (κινητική πρώτης τάξεως). Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις υποστρώματος, η ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης προσεγγίζει μία μέγιστη τιμή (V_{max}) (κινητική μηδενικής τάξης). Η ταχύτητα μίας ενζυμικής αντίδρασης V συναρτήσει της συγκέντρωσης του υποστρώματος δίδεται από την εξίσωση Michaelis-Menten και απεικονίζεται στο Σχήμα 2.36: $V = V_{max} [S]/K_m + [S]$ όπου V = ταχύτητα αντίδρασης (t^{-1}), V_{max} = μέγιστη ταχύτητα αντίδρασης (t^{-1}), [S] = συγκέντρωση υποστρώματος (mol/L), K_m = σταθερά κορεσμού Michaelis-συγκέντρωση υποστρώματος για την οποία $V=V_{max}/2$ (mol/L). Η καμπύλη υπερβολής του Σχήματος 2.36 μετατρέπεται σε ευθεία με γραφική απεικόνιση του $1/V$ σε συνάρτηση με το $1/S$ (Lineweaver-Burkle plot). Η κλίση του συγκεκριμένου γραφήματος ισούται με τον παράγοντα K_m/V_{max} .



Σχήμα 2.36: αριστερά- Γράφημα Michaelis-Menten, δεξιά- Γράφημα Lineweaver-Burk (Bitton, 1999)

Οι τοξικές ουσίες επηρεάζουν τις ενζυμικές αντιδράσεις αλλάζοντας τις τιμές των K_m ή V_{max} . Υπάρχουν τρεις τύποι αναστολής ενζύμου: η ανταγωνιστική (competitive), η μη ανταγωνιστική (noncompetitive) και η αντί-ανταγωνιστική (uncompetitive ή anti-competitive), που είναι πολύ σπάνια (Bitton, 1999). Στην αντί-ανταγωνιστική αναστολή, ο αναστολέας συνδέεται στο σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος (ES), αλλά όχι στο ελεύθερο ένζυμο.

Στην ανταγωνιστική αναστολή, ο αναστολέας (I) και το υπόστρωμα (S) ανταγωνίζονται για την ίδια αντιδρώσα θέση επί του ενζύμου. Παρουσία ενός ανταγωνιστικού αναχαιτιστή (I), η ταχύτητα της αντίδρασης (V) δίνεται από την ακόλουθη σχέση και απεικονίζεται στο Σχήμα 2.37:

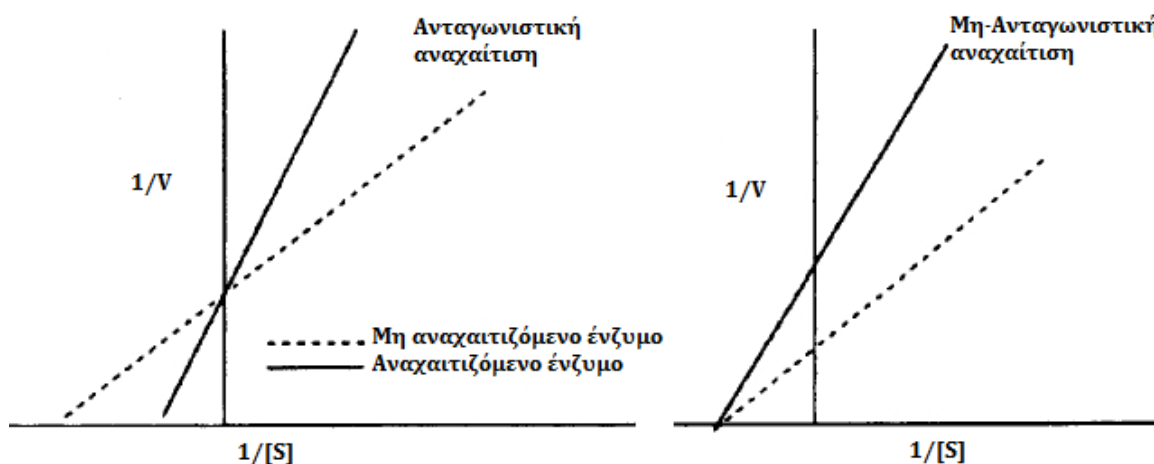
$$V = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

όπου $[I]$ = συγκέντρωση της τοξικής ουσίας (mol/L), K_i = συντελεστής αναχαιτίσης. Στην ανταγωνιστική αναχαιτίση, η τιμή του V_{max} δεν επηρεάζεται παρουσία του αναχαιτιστή, ενώ η τιμή του K_m αυξάνει κατά συντελεστή ίσο με $(1 + [I]/K_i)$.

Στη μη ανταγωνιστική αναστολή, ο αναστολέας μπορεί να δεσμεύει τόσο το ένζυμο E όσο και το σύμπλεγμα ενζύμου-υποστρώματος (ES). Σύμφωνα με την κινητική Michaelis-Menten, η ταχύτητα της αντίδρασης δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{([S] + K_m)(1 + \frac{[I]}{K_i})}$$

Στη μη ανταγωνιστική αναχαίτιση, η παρουσία του αναχαιτιστή μειώνει την τιμή του V_{\max} , ενώ δε μεταβάλλει την τιμή του K_m (Σχήμα 2.37). Χαρακτηριστική περίπτωση μη-ανταγωνιστικού αναχαιτιστή είναι το χρώμιο.



Σχήμα 2.37: Κυριότεροι τύποι ενζυμικής αναχαίτισης: αριστερά-Ανταγωνιστική αναχαίτιση, δεξιά-μη ανταγωνιστική αναχαίτιση (Bitton, 1999)

2.7.4 Κινητικές Παράμετροι Ανάπτυξης Βιομάζας

Ο προσδιορισμός των κινητικών ανάπτυξης βακτηρίων και κατανάλωσης οργανικού φορτίου είναι ιδιαίτερα σημαντικός για την ακριβή πρόβλεψη του βαθμού βιοαποδόμησης των οργανικών ενώσεων στο φυσικό (Ducklow and Shiah, 1993) και τεχνητό περιβάλλον (Grady et al., 1996). Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί όπως τα βακτήρια αναπαράγονται κυρίως από δυαδική σχάση (δηλαδή, κάθε κύτταρο δίνει δύο θυγατρικά κύτταρα). Η ανάπτυξη ενός μικροβιακού πληθυσμού ορίζεται ως η αριθμητική αύξηση ή

μία αύξηση στη μικροβιακή μάζα. Ο ρυθμός ανάπτυξης είναι η αύξηση του αριθμού μικροβιακών κυττάρων ή μάζας ανά μονάδα χρόνου. Ο χρόνος που απαιτείται για το μικροβιακό πληθυσμό να πολλαπλασιαστεί ποικίλλει από min έως ημέρες. Ο μικροβιακός πληθυσμός μπορεί να αναπτυχθεί σε καλλιέργειες ασυνεχούς τροφοδοσίας (κλειστά συστήματα) είτε σε συνεχείς καλλιέργειες (ανοικτά συστήματα) (Marison, 1988a).

Η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη εξίσωση κινητικής, η κινητική Monod (1949), συσχετίζει την ταχύτητα βακτηριακής αύξησης και την ταχύτητα απομάκρυνσης υποστρώματος, με τη συγκέντρωση του υποστρώματος που απομακρύνεται. Η εξίσωση Monod (Σχήμα 2.38) έχει την ίδια μορφή με την εξίσωση Michaelis-Menten, αλλά διαφέρει γιατί είναι εμπειρική, ενώ η τελευταία βασίζεται σε θεωρητικές εκτιμήσεις.

$$r_x = (\mu - b)X$$

$$r_s = -\frac{\mu}{Y_g}X = -qX$$

$$r_x = (Y_g q - b)X$$

όπου

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad , \quad q = \frac{q_m S}{K_s + S}$$

r_x =ταχύτητα κυτταρικής αύξησης (mg/L/h), r_s =ταχύτητα απομάκρυνσης υποστρώματος (mg/L/h), μ = μέγιστη ειδική ταχύτητα ανάπτυξης (h^{-1}), μ_m =μέγιστη ειδική ταχύτητα ανάπτυξης (h^{-1}), q =ειδική ταχύτητα απομάκρυνσης υποστρώματος= μ/Y_g (h^{-1}), q_m =μέγιστη ειδική ταχύτητα απομάκρυνσης υποστρώματος = μ_m/Y_g (h^{-1}), K_s = συγκέντρωση υποστρώματος όπου $\mu=\mu_m/2$ (mg/L), b =ταχύτητα βακτηριακής φθοράς (h^{-1}), Y_g = συντελεστής μετατροπής υποστρώματος σε βιομάζα (mg σχηματιζόμενων κυττάρων/mg απομακρυνόμενου υποστρώματος), X =συγκέντρωση βιομάζας (mg/L), S =συγκέντρωση υποστρώματος (mg/L).

Το K_s αντιπροσωπεύει το συσχετισμό του μικροοργανισμού με το υπόστρωμα. Τα μ_{max} και K_s επηρεάζονται από παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το pH, το επίπεδο οξυγόνου και ο τύπος πηγής άνθρακα.

Κατά τη βιολογική επεξεργασία των υγρών αποβλήτων και του ρυπασμένου νερού, ο καθορισμός των τιμών μίας σειράς κινητικών παραμέτρων, όπως η μέγιστη ειδική ταχύτητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών (μ_m), ο συντελεστής μετατροπής υποστρώματος σε βιομάζα (Y) και ο ειδικός ρυθμός πρόσληψης υποστρώματος (q), έχει διπλό στόχο. Οι συγκεκριμένες παράμετροι αφενός αποτελούν τη βάση μαθηματικών μοντέλων που χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό και τη λειτουργία μονάδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και αφετέρου χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της αναχαίτισης της βιολογικής διεργασίας των μ/ο από τοξικούς ρυπαντές.

Η επίδραση του Cr(VI) σχετικά με τις βιολογικές διαδικασίες επεξεργασίας λυμάτων και υδάτων έχει διερευνηθεί ευρέως. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων ωστόσο, είναι πρακτικά αδύνατη διότι οι τοξικές επιδράσεις του μετάλλου σε ένα χημοστάτη (chemostat system) είναι πολύπλοκες και μπορεί να εξαρτώνται από πλήθος παραγόντων. Για παράδειγμα, οι Gokcay και Yetis (1991) παρατήρησαν ότι η συνεχής δοσολογία του Cr(VI) από 1 έως 25 mg/L σε εγκλιματισμένο σύστημα ενεργού ιλύος, διέγειρε τη μικροβιακή ανάπτυξη σε όρους μέγιστης ταχύτητας ανάπτυξης (μ_{max}) και συντελεστή μετατροπής βιομάζας (Y), ενώ η χαμηλότερη συγκέντρωση για την ανασταλτική επίδραση σε ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς υπολογίστηκε σε 10 mg/L και 1 mg/L για το TCR και Cr(VI), αντίστοιχα (Tchobanoglous et al., 2003). Οι παρατηρήσεις αυτές έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα που προκύπτουν από μία μη εγκλιματισμένη καλλιέργεια, στην οποία η προσθήκη του Cr(VI) μείωσε το μ_{max} αλλά αύξησε τη σταθερά κορεσμού υποστρώματος (K_s) (Mazierski, 1995).

Ο Mazierski (1994) ανέφερε επίσης ότι η παρουσία του Cr(VI) ελάττωσε τόσο το μ_{max} όσο και τη σταθερά κορεσμού υποστρώματος (K_s) σε απονιτροποιητικά βακτήρια. Ο Lewandowski (1985) έδειξε επίσης, ότι ο βαθμός αναχαίτισης λόγω Cr(VI) σε ένα απονιτροποιητικό σύστημα ήταν εξαρτώμενος από τις πηγές άνθρακα. Οι μελέτες δείχνουν επιτυχή βιοεπανόρθωση του Cr(VI) και εξάρτηση από τον τύπο των υποστρωμάτων και την αρχική συγκέντρωση του Cr(VI) (Guha et al., 2001). Η διαδικασία της νιτροποίησης εμφανίστηκε επίσης σχετικά ευαίσθητη στην παρουσία Cr(VI) (Ajmal et al., 1984), η οποία οφείλεται στην εξαιρετικά ανασταλτική δράση του Cr(VI) επί των

βακτηρίων *Nitrosomonas*. Η τοξικότητα του Cr(VI), επηρεάζεται και από τη συνέργεια ή τον ανταγωνισμό με άλλα μέταλλα (Ahmed and Abdul, 2009).

Ένα μοντέλο μη ανταγωνιστικής αναχαίτισης προτάθηκε για την αξιολόγηση της επίδρασης του Cr(VI) στο ρυθμό αναπνοής των μικροοργανισμών σε ενεργό ιλύ (Lewandowski et al., 1985). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η παρατηρούμενη επίδραση είναι η συνολική επίδραση του Cr(VI) σε ένα βιολογικό σύστημα και όχι η καθαρή αναστολή ενός μόνο ενζύμου. Έτσι, τα απλά μη ανταγωνιστικά μοντέλο μπορεί να έχουν περιορισμένη εφαρμογή στους βιολογικούς αντιδραστήρες με μικτές καλλιέργειες.

Προκειμένου να αποφευχθούν τέτοιες περιπλοκές, μελετήθηκε η επίδραση του Cr(VI) στο ρυθμό ανάπτυξης των βακτηρίων ενεργού ιλύος σε χημωστατικές καλλιέργειες. Για συγκέντρωση χρωμίου ίση με 11 mg/L, ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται και αυξάνεται η σταθερά K_s . Η επίδραση αυτή παριστάνεται από μια γενικευμένη μαθηματική περιγραφή που αναπτύχθηκε από τον Mazierski (1994; 1995), η οποία βασίζεται στην κινητική Monod αλλά συνδυάζει και την παρουσία του εξασθενούς χρωμίου:

$$\mu(i) = \frac{\mu_m S(1 + pI)}{S(1 + qI) + K_s (1 + rI)}$$

όπου $\mu(i)$ = μέγιστη ειδική ταχύτητα ανάπτυξης παρουσία αναχαιτιστικής ουσίας (h^{-1}), S = συγκέντρωση του υποστρώματος (mg/L), I = συγκέντρωση της αναχαιτιστικής ουσίας (mg/L), μ_m = μέγιστη ειδική ταχύτητα ανάπτυξης των μ/o (h^{-1}), K_s = σταθερά κορεσμού υποστρώματος (mg/L) και τα p , q , r είναι σταθερές (mg/L). Τα K_s , p , q , r υπολογίστηκαν 1,2071 mg/L, -0,07941 mg/L, -0,070025 mg/L, 1,758517 mg/L, αντίστοιχα. Οι διαφορετικές τιμές του p , q , r ελήφθησαν βάσει αξιολόγησης των ποσοστών αύξησης των απονιτροποιητών (Mazierski, 1994) και των βακτηριδίων ενεργού ιλύος, παρουσία εξασθενούς χρωμίου (Mazierski, 1995).

2.7.5 Μέθοδοι Προσδιορισμού μ_m

Από τις κινητικές παραμέτρους αύξησης της βιομάζας, η μέγιστη ταχύτητα αύξησης των μ /ο (μ_m), τυγχάνει ευρείας χρήσης σε έρευνες εκτίμησης της επίδρασης των βαρέων μετάλλων στην ενεργό ιλύ (Yetis and Gokcay, 1989; Mazierski, 1995; Cabrero et al., 1998). Οι μέθοδοι αναπνοής για την εκτίμηση της τοξικότητας του χρωμίου, είναι οι πιο δημοφιλείς, καθώς πολλοί ερευνητές έχουν μετρήσει το ρυθμό πρόσληψης οξυγόνου (OUR) (Lamp and Tollefson, 1973; Lewandowski et al., 1985; Almanza et al., 1996; Madoni et al., 1999; Stasinakis et al., 2002) ή τη βιοχημική ζήτηση οξυγόνου (BOD) (Mowat, 1976; Vankova et al., 1999).

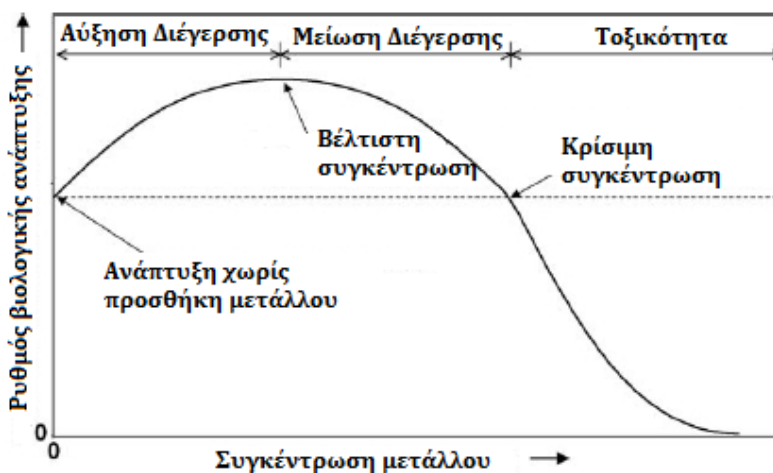
Άλλες τεχνικές που χρησιμοποιούνται συχνά στον προσδιορισμό του μ_m βασίζονται στη μέτρηση των πτητικά αιωρούμενων στερεών MLVSS (Cabrero et al., 1998; Dilek et al., 1998; Gikas and Romanos, 2006) μέσω του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι σε αντιδραστήρα ασυνεχούς τροφοδοσίας με αρχικά υψηλό λόγο S_0/X_0 , η τιμή του μ_m υπολογίζεται με τη βοήθεια της αύξησης της βιομάζας. Πιο αναλυτικά, ο αριθμός των ετεροτροφικών αυξάνει εκθετικά σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση: $\frac{dX_H}{dt} = (\mu_{max} - b_H) \cdot X_{H(t)}$ που με ολοκλήρωση γίνεται: $X_{H(t)} = X_{H0} \cdot e^{(\mu_{max} - b_H) \cdot t}$. Μετά από λογαρίθμηση προκύπτει: $\ln\left(\frac{X_t}{X_0}\right) = (\mu_{max} - b_H) \cdot t$, όπου X_{t0} είναι η συγκέντρωση των VSS τη στιγμή $t=0$ (mg/VSS) και X_t είναι η συγκέντρωση των VSS τη στιγμή t (mg/VSS).

Οι μέθοδοι οι οποίες βασίζονται στη μέτρηση του ποσοστού χρήσης του υποστρώματος όπως οι παραπάνω, εκτιμούν την επιρροή του χρωμίου σε ειδικές βιολογικές διεργασίες, όπως η νιτροποίηση (Rai and Raizada, 1989; Jonsson et al., 2001), η απονιτροποίηση (Rai and Raizada, 1989), η οξείδωση οργανικών ενώσεων και η ικανότητα προσρόφησης (Rai and Raizada, 1989; Saida and Abdelkader, 1994; Chua, 1998; Jonsson et al., 2001).

2.7.6 Παράγοντες που Επηρεάζουν τον Προσδιορισμό του μ

Σε γενικές γραμμές, τα βαρέα μέταλλα θεωρούνται ως τοξικές ενώσεις που αναστέλλουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, αν και η ανάπτυξη τους συχνά διεγείρεται από την παρουσία ιχνών επιλεγμένων βαρέων μετάλλων. Η επίδραση των βαρέων μετάλλων στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών περιγράφηκε το 1964 από τον McCarthy (Σχήμα 2.38), ο οποίος ταξινόμησε την αύξηση του πληθυσμού των βακτηρίων σε σχέση με τη συγκέντρωση του μετάλλου, σε τρεις ζώνες: (i) ζώνη αύξησης διέγερσης, (ii) ζώνη μείωσης διέγερσης και (iii) ζώνη τοξικότητας.

Η προσθήκη μικρών ποσοτήτων βαρέων μετάλλων στο περιβάλλον των κυττάρων είναι συνήθως επωφελής για την ανάπτυξη των κυττάρων, μέχρι το σημείο της βέλτιστης συγκέντρωσης, διότι μετά παρατηρείται και μία σχετική μείωση της διέγερσης των βακτηρίων. Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων έχει μία δυσμενή επίδραση επί της κυτταρικής ανάπτυξης, μέχρι την πλήρη αναγωγή της μικροβιακής δραστηριότητας και την αποτυχία του συστήματος.



Σχήμα 2.38: Η επίδραση των βαρέων μετάλλων στο ρυθμό ανάπτυξης των μ /o (McCarthy, 1964)

Το κρίσιμο σημείο και το σχήμα της καμπύλης δεν εξαρτώνται ωστόσο, μόνο από τον τύπο του μικροοργανισμού αλλά και από την ικανότητα να προσαρμοστεί στο χρόνο σε σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις βαρέων μέταλλα, σύμφωνα με ένα φαινόμενο που ονομάζεται εγκλιματισμός (Gikas and Romanos, 2006).

Όταν τα βαρέα μέταλλα εφαρμόζονται σε μικτές καλλιέργειες, όπως η ενεργός ιλύς, είναι αναμενόμενο λόγω της υψηλής ποικιλομορφίας των μικροοργανισμών που υπάρχουν να είναι ακόμη μεγαλύτερη η ανθεκτικότητα των βακτηρίων. Έτσι, μερικά είδη μπορούν να επηρεαστούν σημαντικά, ενώ άλλα μπορούν να προσαρμοστούν στο νέο περιβάλλον (Barth, 1975).

Παρά το γεγονός ότι τα παραπάνω φαινόμενα έχουν μελετηθεί αρκετά εκτενώς, η επιστημονική κοινότητα δεν έχει σαφώς συμπεράνει αν η παρουσία συγκεκριμένων βαρέων μετάλλων όπως το χρώμιο αναστέλλει ή διεγείρει την ανάπτυξη των μικροβίων. Μια ακόμα μεγαλύτερη ασάφεια υπάρχει όσον αφορά την καθιέρωση του ρυθμού ανάπτυξης των βακτηρίων και της τοξικής δόσης του χρωμίου στα υπόγεια νερά σε ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες, με χαμηλή δόση υποστρώματος και συγκέντρωσης MLSS.

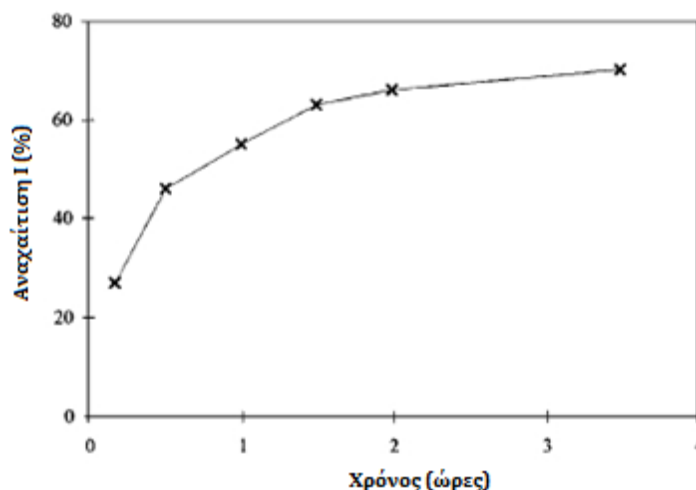
Στη συνέχεια παρουσιάζονται συνοπτικά οι κυριότεροι παράγοντες που σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία επηρεάζουν την τοξικότητα του εξασθενούς χρωμίου στους μικροοργανισμούς και συγκεκριμένα: α) ο χρόνος επαφής, β) η συγκέντρωση βιομάζας, γ) η συγκέντρωση Cr(VI), δ) η ηλικία ιλύος και ε) η αναλογία αρχικού υποστρώματος προς αρχική βιομάζα.

2.7.6.1 Χρόνος Επαφής

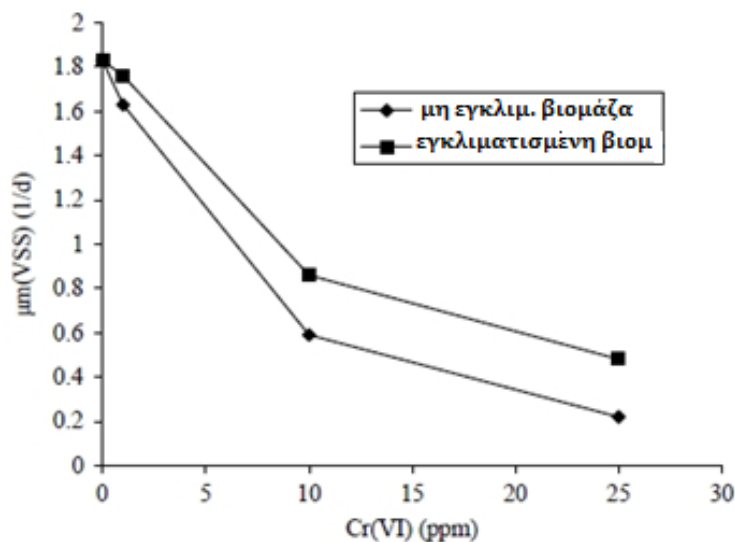
Ο εγκλιματισμός συνήθως περιλαμβάνει τη χρήση εναλλακτικών μεταβολικών οδών, οι οποίες δεν διαταράσσονται (ή τουλάχιστον διασπώνται σε μικρότερο βαθμό) από την παρουσία βαρέων μετάλλων. Αυτή η διαδικασία είναι ωστόσο περιορισμένη και αν το

κύτταρο δεν είναι σε θέση να εγκλιματιστεί σε σχετικώς υψηλότερες συγκεντρώσεις, απόρροια είναι η πλήρης αναχαίτιση της βιολογικής δραστηριότητας (Bagby and Sherrard, 1981; Garcia-Toledo et al., 1985).

Την αναστολή της ταχύτητας αναπνοής των μικροοργανισμών σε σχέση με το χρόνο, ως μέθοδο για τη μελέτη ετερογενών καλλιιεργειών σε ένα υδατικό μέσο, χρησιμοποίησαν οι Vankova et al. (1999). Αυτό επετεύχθη μέσω μίας μανομετρικής συσκευής που επέτρεπε τη συνεχή παρακολούθηση του βιολογικά απαιτούμενου οξυγόνου (BOD). Επίσης πραγματοποίησαν μια σειρά από μετρήσεις για να διερευνηθεί η εξάρτηση της αναχαίτισης (I) επί της ανάπτυξης των μικροοργανισμών στο ανάμικτο υγρό (MLSS). Από τα ερευνητικά τους αποτελέσματα προέκυψε πως η τιμή IC₅₀ (Inhibitory Concentration) που χαρακτηρίζει την τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας και ουσιαστικά επηρεάζεται από το χρονικό διάστημα κατά το οποίο η τοξική ουσία δρα σε μικροοργανισμούς. Αυτή η εξάρτηση είναι διαφορετική για διάφορους αναστολείς, μια συνέπεια των διαφόρων μηχανισμών δράσης τους. Η επίδραση του χρόνου έκθεσης σχετικά με την τοξικότητα του χρωμίου απεικονίζεται στο Σχήμα 2.39. Πειράματα batch που διεξήχθησαν με εγκλιματισμένη και μη βιομάζα έδειξαν ότι η παρουσία του Cr(VI) σε μη εγκλιματισμένη βιομάζα αναστέλλει περισσότερο τις καταβολικές δραστηριότητες και είναι πιο ευαίσθητη σε σχέση με την εγκλιματισμένη (Stasinakis et al., 2002) (Σχήμα 2.40).



Σχήμα 2.39: Η αναχαίτιση (%) του ρυθμού αναπνοής σε συγκέντρωση 50 mg Cr(VI)/L κατά τη διάρκεια 3,5 ωρών (Vankova et al., 1999)



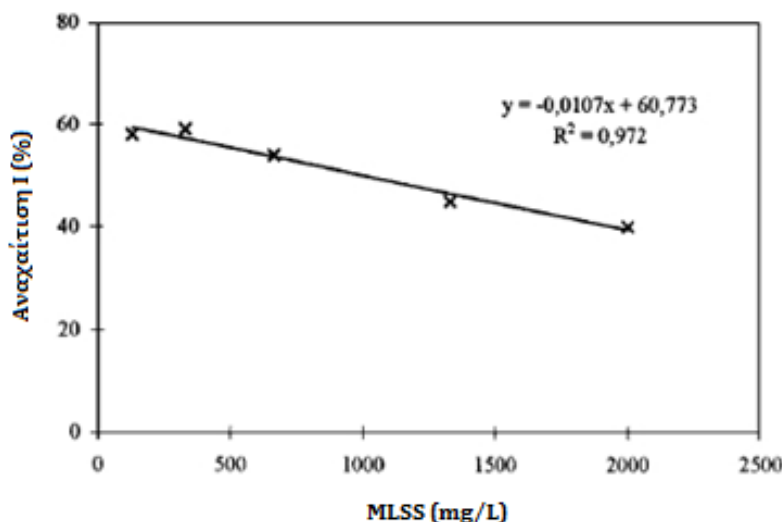
Σχήμα 2.40: Επίδραση του εγκλιματισμού της βιομάζας στην ταχύτητα ανάπτυξης μ/ο (πειράματα batch με $S_0/X_0=10$ και ηλικία υλός 5 ημέρες) (Stasinakis et al., 2002)

Αυτό το φαινόμενο οφείλεται πιθανότατα στο γεγονός ότι κατά τη διάρκεια του εγκλιματισμού, οι ανθεκτικοί μικροοργανισμοί επιλέγονται και/ή προσαρμόζονται μεταβολικά στη συγκέντρωση των βαρέων μετάλλων. Σύμφωνα με την υπόθεση της μεταβολικής προσαρμογής, τα κατεστραμμένα, από τα ιόντα μετάλλων, ένζυμα αντικαθίστανται από νέα (Gokcay and Yetis, 1991; Chang et al., 1986).

2.7.6.2 Συγκέντρωση βιομάζας

Όσον αφορά την ερμηνεία της εξάρτησης της αναχαίτισης με τη συγκέντρωση των MLSS υπάρχουν αντίθετα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία. Οι Lewandowski et al. (1985) ανέφεραν ότι οι συγκεντρώσεις της ενεργού υλός σε εύρος 2,3-5,6 g/L δεν είχαν καμία επίδραση στο συντελεστή αναχαίτισης (K_i) για τα χρωμικά ανιόντα. Οι Larson και Schaeffer (1982) αντιθέτως, διαπίστωσαν ότι η ανασταλτική συγκέντρωση IC_{50} εξαρτάται γραμμικά από τη συγκέντρωση τη βιομάζας. Οι Lamb και Tollefson (1973) επιβεβαιώνουν επίσης το συσχετισμό της αναχαίτισης από τη συγκέντρωση των αιωρούμενων στερεών. Τέλος όπως παρουσιάζεται και στο Σχήμα 2.41 των Vankova et al.

(1999), η αναστολή του ρυθμού αναπνοής των μ/ο από εξασθενές χρώμιο, μειώνεται ελαφρά με την αύξηση της συγκέντρωσης της ενεργού ιλύος.



Σχήμα 2.41: Η αναχαίτιση (%) του ρυθμού αναπνοής έχει πτωτική τάση καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των MLSS (Vankova et al., 1999)

2.7.6.3 Συγκέντρωση Cr(VI)

Είναι ευρύτερα γνωστό ότι η τοξικότητα των βαρέων μετάλλων εξαρτάται από τη συγκέντρωση που είναι πραγματικά διαθέσιμη στα κύτταρα των μ/ο. Η επίδραση της συμπλοκοποίησης ίσως είναι το πιο σημαντικό στοιχείο για την αξιολόγηση της βιοδιαθεσιμότητας των μεταλλικών ιόντων. Η βιοδιαθεσιμότητα ή τοξικότητα των μεταλλικών ιόντων διαφέρει σημαντικά από τη χημική σύσταση του υποστρώματος και ως εκ τούτου αυξάνεται η διαθεσιμότητα ιόντων ή μορίων (ligands) τα οποία συνδέονται ομοιοπολικά/ηλεκτροστατικά με τα μεταλλικά ιόντα. Πολλές μελέτες για την τοξικότητα των μετάλλων έχουν μικρή συγκριτική αξία, επειδή έχουν διεξαχθεί χρησιμοποιώντας ένα «πλούσιο» υπόστρωμα ή ένα υπόστρωμα που περιέχει ένα ειδικό πρόσδεμα που συμπλέκεται έντονα με το ιόν του υπό μελέτη μετάλλου. Η τοξικότητα του μεταλλικού ιόντος θα μειωθεί σημαντικά κάτω από αυτές τις συνθήκες, δεδομένου ότι θα συμπλοκοποιηθεί έντονα (Hughes and Poole, 1991).

Αυτό εξηγεί γιατί τα *Tetrahymena pyriformis* μπορούν να ανεχθούν ως και 100 φορές υψηλότερη συγκέντρωση Cu(II) σε ένα πλούσιο οργανικό μέσο (Nilsson, 1981), γιατί η προσθήκη εκχύλισματος μαγιάς σε καλλιέργειες του *Aerobacter aerogenes* (*Klebsiella pneumoniae*) προστατεύει τα βακτηρίδια από τις συνήθεις τοξικές επιδράσεις του Cu(II) (MacLeod et al., 1967) και γιατί το εκχύλισμα μαγιάς μπορεί να μετριάσει τα τοξικά αποτελέσματα στο *Thiobacillus ferrooxidans* του Ag(I) κατά την οξείδωση του Fe(II) (Tuovinen et al., 1985).

Η ικανότητα ενός μεταλλικού ιόντος να σχηματίζει σύμπλοκα εξαρτάται από την πολικότητα του, δηλαδή από το λόγο του φορτίου προς την ακτίνα του κατιόντος. Τα κατιόντα με ισχυρή πολικότητα σχηματίζουν ισχυρά σύμπλοκα με υποκαταστάτες. Αύξηση στην οξύτητα του μέσου ανάπτυξης των μ/ο μπορεί να προκαλέσει συμπλοκοποίηση των υποκαταστατών με πρωτόνια, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των διαθέσιμων μεταλλικών ιόντων. Τέλος, η εσφαλμένη εκτίμηση της κατακρήμνισης των μετάλλων σε ένα μέσο ανάπτυξης μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα συμπεράσματα αναφορικά με την ανθεκτικότητα των βακτηρίων σε κάποια μέταλλα (Hughes and Poole, 1991).

Βάσει της παραπάνω θεωρίας, το 2006 οι Gikas και Romanos αξιολόγησαν τις επιδράσεις του Cr(VI) και Cr(III) επί του ρυθμού ανάπτυξης της βιομάζας σε σύστημα ενεργού ιλύος, για συγκέντρωση χρωμίου μεταξύ 0 και 70 mg/L για το Cr(VI). Για αυτό το σκοπό διεξήχθησαν αερόβια πειράματα ασυνεχούς τροφοδοσίας, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα πεπτόνη, εκχύλισμα μαγιάς και σταφυλοσάκχαρο συνολικής συγκέντρωσης 17.5 mg/L σε κάθε φιάλη. Ο προσδιορισμός της τιμής του μ_{\max} υπολογίστηκε από την παρακολούθηση της αύξησης των πτητικών αιρούμενων στερεών.

Ο ρυθμός μέγιστης ανάπτυξης της βιομάζας (μ_{\max}) εμφανίστηκε ότι λαμβάνει υψηλές τιμές σε συγκεντρώσεις Cr(VI) μέχρι περίπου 25 mg/L, με μέγιστη τιμή στα 10 mg/L. Για συγκεντρώσεις Cr(VI) υψηλότερες από 10 mg/L, το μ_{\max} ακολούθησε πτωτική τάση ώσπου ανήλθε στο μηδέν. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σχετικά σύμφωνα με αυτά που αναφέρθηκαν από τους Gokcay και Yetis (1991), οι οποίοι εργάστηκαν σε συνεχή αντιδραστήρα και με αυτά που ανέφερε και ο Mazierski (1995) εργαζόμενος με ενεργό ιλύ που αναπτύχθηκε σε ένα χημειοστάτη, ο οποίος παρουσίασε μια συνεχή μείωση του μ_{\max}

με την προσθήκη Cr(VI) σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,1 και 10 mg/L (Stasinakis et al., 2002).

Επιπροσθέτως, οι Vankova et al. (1999) ανέφεραν ότι η προσθήκη ακόμη και 2 mg/L Cr(VI), μπορεί να προκαλέσει αναστολή ρυθμού αναπνοής στην ενεργό ιλύ. Ενισχύοντας την προηγούμενη άποψη, οι Stasinakis et al. (2003), λειτουργώντας δύο αερόβια συνεχή συστήματα ενεργού ιλύος εργαστηριακής κλίμακας (εκ των οποίων το ένα ήταν το control), έδειξαν ότι η προσθήκη μέχρι έως 1 mg/L Cr(VI) είχε ως αποτέλεσμα μια μη στατιστικά σημαντική (σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%) μείωση του ρυθμού πρόσληψης του οργανικού υποστρώματος, ενώ προσθήκη 5 mg/L Cr(VI) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση κατά 10% του ρυθμού πρόσληψης του οργανικού υποστρώματος, αντίστοιχα.

2.7.6.4 Αναλογία αρχικού υποστρώματος S_0 προς αρχική βιομάζα X_0

Για μία καλλιέργεια σε αντιδραστήρα ασυνεχούς τροφοδοσίας, η αναλογία S_0/X_0 αναπαριστά το αρχικό ενεργειακό επίπεδο της καλλιέργειας στον αντιδραστήρα διακοπτόμενης ροής και καθορίζει αν θα πραγματοποιηθεί κυτταρικός πολλαπλασιασμός ή όχι κατά τη διάρκεια του πειράματος (Speece et al., 1973; Pitter and Chudoba, 1990; Chudoba et al., 1992; Ghigliazza et al., 1996). Στη βιβλιογραφία της περιβαλλοντικής μηχανικής έχει αναφερθεί ότι συντελεστής μετατροπής βιομάζας μειώνεται καθώς ο λόγος S_0/X_0 αυξάνεται. Ένα τέτοιο φαινόμενο δείχνει ότι η ενέργεια αποσύζευξης μεταξύ αναβολισμού και καταβολισμού συμβαίνει σε υψηλές αναλογίες S_0/X_0 (Liu et al., 1998). Χαρακτηριστικό της ενέργειας αποσύζευξης (energy uncoupling) είναι η διάσπαση και η ανάπλαση του υποστρώματος από μικροοργανισμούς, χωρίς ωστόσο μια αντίστοιχη μεταβολή στην κυτταρική μάζα (Liu et al., 1998).|

Σχετικά με την επιλογή της σωστής αναλογίας, υπάρχει μεγάλη διάσταση απόψεων μεταξύ των ερευνητών. Γενικότερα αναφέρεται ότι για τα πειράματα με χαμηλό αρχικό λόγο υποστρώματος προς βιομάζα, θα πρέπει ο λόγος S_0/X_0 να είναι μικρότερος ή ίσος του 2 (Chudoba et al., 1992). Επίσης, για τα πειράματα με υψηλό αρχικό λόγο υποστρώματος προς βιομάζα, οι Karpeler και Gujer (1992) προτείνουν τιμή S_0/X_0 ίση με 4, ενώ άλλοι

ερευνητές προτείνουν λόγους μεγαλύτερους ή ίσους του 20 (Grady et al., 1996). Δεδομένου ότι ο ρυθμός πρόσληψης οξυγόνου από τους μικροοργανισμούς είναι πιθανό να διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος του υποστρώματος που χρησιμοποιείται και την προέλευση της βιομάζας, άλλοι ερευνητές προτείνουν την πραγματοποίηση δοκιμαστικών πειραμάτων σε ένα εύρος τιμών S_0/X_0 για την επιλογή κατάλληλου λόγου S_0/X_0 .

Στην πραγματικότητα, όπως εξηγούν οι Liu et al. (1998), σε πολύ υψηλές αναλογίες ($S_0/X_0 > 10$), υπάρχει περίσσεια της ενέργειας δυναμικού σε σχέση με τα καταβολικά ένζυμα των κυττάρων, δηλαδή η παραγωγή βιοενέργειας μπορεί να είναι ταχύτερη από ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί από τους μικροοργανισμούς. Από την άλλη πλευρά, οι μικροοργανισμοί δεν είναι ικανοί να ρυθμίζουν το ρυθμό καταβολισμού ακριβώς ανάλογα με τις ανάγκες του αναβολισμού τους (Forrest, 1969; Stouthamer, 1977). Κατά συνέπεια το υπόστρωμα δεν θα οξειδώνεται πλήρως και όλα τα είδη μεταβολιτών θα αποβάλλονται, με αποτέλεσμα τη μείωση της ενεργειακής αποδοτικότητας (Forrest, 1969; Neijssel and Tempest, 1975; Zeng and Decker, 1995).

Καταλήγοντας, οι Stasinakis et al. (2002) απέδειξαν ότι οι υψηλές αναλογίες ($S_0/X_0 = 10$) τείνουν να υποστηρίζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και ευνοούν την ανάπτυξη ταχύτερα αναπτυσσόμενων βακτηριακών ειδών. Κατά αυτόν τον τρόπο θα μπορούσε να προωθηθεί η υψηλότερη παραγωγή βιομάζας (εξωκυτταρικά πολυμερή σε υψηλότερες συγκεντρώσεις), οδηγώντας σε χαμηλότερη βιοδιαθεσιμότητα αναστολέων. Από την άλλη πλευρά, σε χαμηλή αναλογία S_0/X_0 δεν προλαβαίνει να συντελεστεί καμία μεταβολή της σύστασης της αρχικής βιομάζας. Συμπερασματικά, η επιλογή υψηλού λόγου υποστρώματος προς βιομάζα ($S_0/X_0 = 10$) ευνοεί την επιλογή ταχέως αναπτυσσόμενων μικροοργανισμών και κατά συνέπεια η αναχαίτιση που προσδιορίζεται αναφέρεται κυρίως σε αυτά τα είδη. Αντίστοιχα η επιλογή χαμηλού σχετικά λόγου υποστρώματος προς βιομάζα ($S_0/X_0 = 2$) δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην σύνθεση της βιοκοινότητας και η αναχαίτιση που προσδιορίζεται αναφέρεται κυρίως στην αρχική βιομάζα. Με βάση πειράματα που έχουν γίνει και με τους δύο λόγους υποστρώματος προς βιομάζα καταδεικνύουν ότι οι ταχέως αναπτυσσόμενοι μικροοργανισμοί φαίνεται να είναι λιγότερο ευαίσθητοι σε εξασθενές χρώμιο από την αρχική βιοκοινότητα ενεργού υλός.

Γενικότερα, υπάρχουν αρκετοί λόγοι για τους οποίους υπάρχουν τυχόν αποκλίσεις στα βιβλιογραφικά αποτελέσματα γύρω από το συγκεκριμένο ζήτημα της αναχαίτισης και μπορούν να αποδοθούν (Gikas and Roamnos, 2006):

(α) στη μεγάλη ποικιλία συμπεριφοράς της ενεργού ιλύος, (β) στο σύστημα που χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (ασυνεχής τροφοδοσία, συνεχής, με ή χωρίς ανακύκλωση ιλύος), (γ) στη συγκέντρωση της ενεργού ιλύος μετά την περίοδο εγκλιματισμού (όπου το Cr(VI) μπορεί να απορροφηθεί από τη βιομάζα), (δ) στην ηλικία της ενεργού ιλύος, (ε) στις συνθήκες εγκλιματισμού της ενεργού ιλύος στο τοξικό χρώμιο και (ζ), στις διάφορες μεθόδους μέτρησης και τεχνικών που χρησιμοποιούν οι ερευνητές για τον προσδιορισμό του μ.

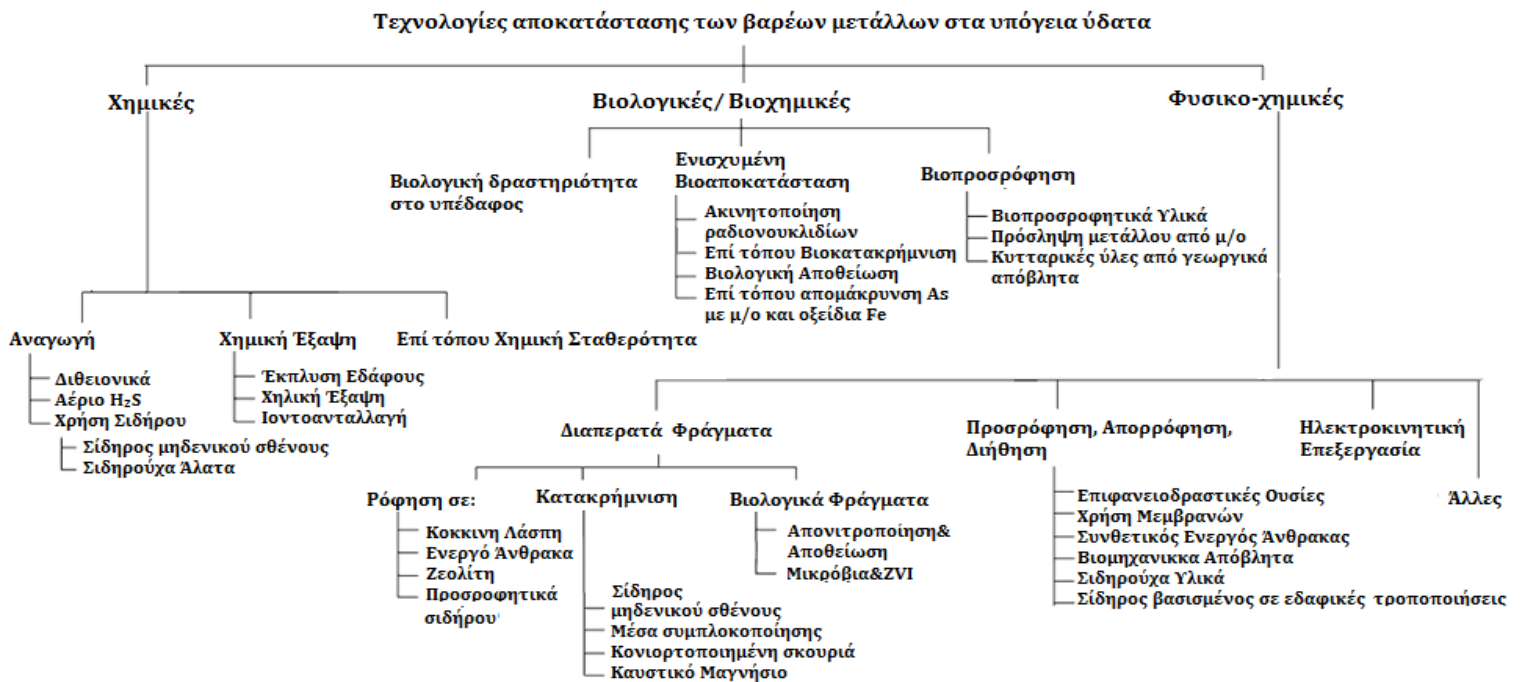
2.8 Μέθοδοι και Μηχανισμοί Αναγωγής Χρωμίου στο Υδατικό Περιβάλλον

Για την απορρύπανση και εξυγίανση των υπόγειων υδροφορέων απαιτείται πρώτον ο έλεγχος της πηγής ρύπανσης, εάν αυτή εξακολουθεί να υπάρχει, ώστε να παρεμποδισθεί η περαιτέρω παραγωγή ρύπων στο υπέδαφος και μετά στον υδροφορέα και δεύτερον η επεξεργασία του ρυπασμένου εδάφους ή/και νερού ώστε να απομακρυνθούν οι ρύποι ή να ελαττωθεί σημαντικά η συγκέντρωσή τους. Εάν η απομάκρυνση των αποβλήτων από την πηγή είναι τεχνικά ή/και οικονομικά αδύνατη, θα πρέπει να εξετασθεί η δυνατότητα απομονώσεως ή περιορισμού της πηγής. Μετά την απομάκρυνση ή τον περιορισμό της πηγής ρύπανσης επιλέγεται κάποια τεχνολογία για την επεξεργασία του ρυπασμένου νερού (Hawley et al., 2004).

Οι περισσότερες τεχνολογίες απαιτούν τη γνώση ειδικών συνθηκών, την ευελιξία στο σχεδιασμό αποκατάστασης και τη δημιουργικότητα σε στρατηγικές βελτιστοποίησης, όχι

την προσκόλληση σε μια συγκεκριμένη τεχνική. Δεδομένου ότι οι βιογεωχημικές ιδιότητες του χρωμίου μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση αφαίρεσης του σε πολλές στρατηγικές απομάκρυνσης, η κατανόηση των ιδιοτήτων αυτών είναι απαραίτητη για την επιλογή της πιο αποτελεσματικής μεθόδου (Hawley et al., 2004).

Η επιλογή της κατάλληλης διαδικασίας απομάκρυνσης του εξασθενούς χρωμίου από λύματα και νερό πληροί κάποιες προϋποθέσεις όπως να είναι συμβατή με τις υπάρχουσες εφαρμογές, λειτουργική ως προς το κόστος, προσαρμοστική στις διακυμάνσεις της ποιότητας των υδάτων/αποβλήτων και αξιόπιστη. Όπως αναφέρθηκε, οι διάφορες μορφές το χρωμίου που συναντώνται στο περιβάλλον εξαρτώνται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (redox, pH, T). Η μορφή του χρωμίου καθορίζει την τοξικότητα, την κινητικότητα και την εφαρμοστικότητα των διαφόρων τεχνικών επεξεργασίας. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.42, τρία είναι τα είδη των βασικών μεθόδων απομάκρυνσης του χρωμίου από το υδατικό περιβάλλον: οι φυσικές και οι χημικές μέθοδοι επεξεργασίας, και οι βιολογικές/βιοχημικές μέθοδοι επεξεργασίας.



Σχήμα 2.42: Τεχνολογίες αποκατάστασης των βαρέων μετάλλων στα υπόγεια ύδατα (Hashim et al., 2011)

Παρακάτω θα αναλυθούν οι πιο διαδεδομένες- και συμφέρουσες οικονομικά μέθοδοι, οι οποίες βασίζονται στην άντληση και επεξεργασία του ρυπασμένου υπόγειου νερού. Στην διδακτορική αυτή διατριβή δεν αναλύονται περισσότερο, καθώς δεν αποτελούν αντικείμενο της διατριβής, οι επί τόπου μέθοδοι αποκατάστασης του υπόγειου υδροφορέα.

2.8.1 Φυσικοχημικές/χημικές Μέθοδοι Επεξεργασίας

Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι επεξεργασίας για την απομάκρυνση του Cr(VI) είναι ρόφηση, η χημική αναγωγή και κατακρήμνιση, η εναλλαγή ιόντων και η χρήση μεμβρανών.

2.8.1.1 Ρόφηση

Ο όρος ρόφηση περιλαμβάνει δύο διαφορετικές διαδικασίες: την απορρόφηση και την προσρόφηση. Προσρόφηση είναι δυνατόν να συμβεί όταν η διαλυμένη πλέον ουσία προσκολλάται σε συμπαγή επιφάνεια ενώ απορρόφηση είναι η διαδικασία όπου η διαλυμένη ουσία διαχέεται (διαδίδεται) μέσα σε μια πορώδη και συμπαγή επιφάνεια και προσκολλάται πλέον στο εσωτερικό της επιφάνειας αυτής. Όταν συμβαίνουν και οι δύο διαδικασίες τότε μπορούμε να μιλάμε για ρόφηση ή όταν δεν ξέρουμε τι από τα δύο ακριβώς συμβαίνει σε μια κατάσταση. Η αντίστροφη διαδικασία λέγεται εκρόφηση.

Εν απουσία στερεών που ελέγχουν τη διαλυτότητα, οι υδατικές συγκεντρώσεις Cr(VI) υπό όξινες έως ελαφρά αλκαλικές συνθήκες, ελέγχονται κυρίως από τις αντιδράσεις προσρόφησης/εκρόφησης (Rai et al., 1989). Οι διεργασίες ρόφησης για το χρώμιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως στρατηγικές απομάκρυνσης του από τα ύδατα. Ωστόσο, το Cr(III) είναι η πρωταρχική μορφή του χρωμίου που συγκρατείται από τη διαδικασία της ρόφησης. Η κινητική ρόφησης του Cr(III) είναι ταχεία σε αργίλους, στην άμμο και σε εδάφη που περιέχουν οξειδία σιδήρου και μαγγανίου. Για παράδειγμα, σε μία εργαστηριακή μελέτη, περίπου το 90% του Cr(III) που προστέθηκε σε αργιλικά ορυκτά και οξειδία του σιδήρου απορροφήθηκε μέσα σε 24 h (Richard and Bourg, 1991). Το Cr(III) συμπεριφέρεται σαν ένα θετικά φορτισμένο ιόν όταν προσροφάται σε επιφάνειες.

Καθώς αυξάνεται το pH, οι επιφάνειες αποπρωτονιώνονται, αυξάνοντας την έλξη μεταξύ Cr(III) και επιφάνειας. Η ρόφηση συνεπώς, ενισχύεται καθώς αυξάνεται το pH (MacNaughton, 1975).

Παρά το γεγονός ότι το Cr(VI) είναι συνήθως ευκίνητο στα υπόγεια νερά, κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να απορροφηθεί. Ωστόσο, το Cr(VI) συμπεριφέρεται σαν ένα ανιόν (CrO_4^{2-} και HCrO_4^-), συνεπώς η ρόφηση του μειώνεται με την αύξηση του pH. Σε χαμηλές τιμές pH, οι επιφάνειες θα είναι ουδέτερες ή θετικά φορτισμένες, με αποτέλεσμα να δημιουργούν έλξη (Stollenwerk and Grove, 1985).

Παρόλα αυτά, η ρόφηση του Cr(VI) γίνεται λιγότερο σημαντική, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των ανταγωνιστικών ανιόντων που ροφώνται σε στερεές επιφάνειες. Στα υπόγεια ύδατα, επομένως, η προσρόφηση του Cr(VI) είναι συνήθως αμελητέα (Richard and Bourg, 1991).

Η μάζα του Cr(VI) που προσροφάται, εξαρτάται από τα είδη των χημικών δεσμών μεταξύ προσροφητικού και Cr(VI) (οι ιοντικοί δεσμοί, ηλεκτροστατική έλξη, δεσμοί υδρογόνου), οι οποίοι διαμορφώνονται από το pH και την παρουσία ή απουσία συναγωνιστικών μορίων. Η προσροφητική ικανότητα των παραπάνω υλικών μπορεί να διαμορφωθεί με την κατάλληλη προεπεξεργασία τους. Ωστόσο, ο βαθμός της προεπεξεργασίας αυξάνει το κόστος των υλικών αυτών, αν και μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη εξοικονόμηση κόστους τελικώς, λόγω υψηλότερης ικανότητας προσρόφησης (Albadarin et al., 2013).

Σε πειράματα που έχουν γίνει για την προσρόφηση χρωμικών σε ενεργό άνθρακα (εσωτερική ειδική επιφάνεια 500–1500 m^2/g), οι αποδόσεις διαφέρουν ανάλογα με την αρχική συγκέντρωση του Cr(VI), τη θερμοκρασία, καθώς και με την παροχή προς τον αντιδραστήρα. Στην περίπτωση του ενεργού άνθρακα γίνεται κατά κανόνα φυσική προσρόφηση και μετά τον κορεσμό, ο άνθρακας αναγεννάται. Η απόδοση του ενεργού άνθρακα μπορεί να κυμαίνεται σε πολύ υψηλά επίπεδα (πχ. ικανότητα απομάκρυνσης 109,08 g Cr(VI)/ημέρα/kg προσροφητικού υλικού). Η μέθοδος της προσρόφησης στον ενεργό άνθρακα είναι ιδιαίτερα επιτυχής, αλλά το υψηλό κόστος της, την καθιστά ασύμφορη για εφαρμογή σε μεγάλη βιομηχανική κλίμακα. Συγκεκριμένα, το υψηλό κόστος του ποιοτικού ενεργού άνθρακα, το υψηλό κόστος, που απαιτείται για τη χημική

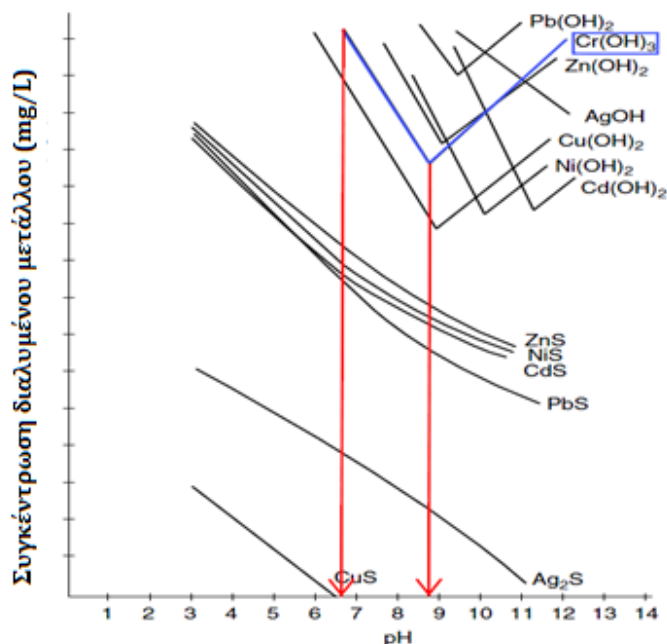
και θερμική αναγέννηση του ήδη χρησιμοποιημένου άνθρακα, καθώς και η παραγωγή επιπλέον εκροών καθιστούν ανέφικτη τη χρήση του υλικού αυτού σε μεγαλύτερη κλίμακα.

2.8.1.2 Χημική Αναγωγή και Κατακρήμνιση

Ο όρος χημική αναγωγή αναφέρεται στην αβιοτική μείωση του Cr(VI), είτε σε εργαστηριακή κλίμακα είτε στο πεδίο, με ένα δότη ηλεκτρονίων όπως το S, ο Fe(II) ή ο Fe(0). Το νεοσχηματισμένο Cr(III), στη συνέχεια, καθιζάνει στο διάλυμα. Αυτή η προσέγγιση επιτυγχάνει τόσο μείωση της τοξικότητας του Cr(VI) όσο και την απομάκρυνση του από το υδατικό διάλυμα. Η χημική αναγωγή περιλαμβάνει φυσικώς απαντώμενα οξειδία του εδάφους και φυσικά οργανικά (Hawley et al., 2004).

Η τεχνολογία της χημικής αναγωγής συγκεκριμένα περιλαμβάνει την προσθήκη ή επί τόπου έγχυση ενός δότη ηλεκτρονίων όπως υδρόθειο (H₂S) (Thornton and Amonette, 1999), διθειονώδες νάτριο (Na₂S₂O₄) (Fruchter et al., 2000), μεταδιθειώδες νάτριο (NaHSO₃), μεταδιθειώδες ασβέστιο (CaHSO₃), θειικός σίδηρος (FeSO₄), πολυσουλφίδιο του ασβεστίου (CaS₅) (Jacobs et al., 2001), Fe(II) (Seaman et al., 1999), Fe(0) (Ponder et al., 2000), θειοθειικό νάτριο (Na₂S₂O₅) ή χλωρίδιο του δισθενούς κασσίτερου (SnCl₂) (Brandhuber et al., 2005).

Το pH ρυθμίζεται για τη βελτιστοποίηση της ηλεκτροστατικής αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανιονικών ειδών Cr(VI) και του δότη ηλεκτρονίου. Εναλλακτικά, για υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI), όπως αυτές που συναντώνται σε βιομηχανικά ρεύματα αποβλήτων, το pH αυξάνεται έτσι ώστε το Cr(III) να σχηματίσει καθιζάνοντα S²⁻ ή/και OH⁻. Τα σουλφίδια μετάλλων είναι πρακτικά αδιάλυτα σε όλη την περιοχή pH των φυσικών υπόγειων υδάτων (pH 5 έως 9) και πολύ λιγότερο διαλυτά από τα μεταλλικά υδροξείδια (Σχήμα 2.42) (Hawley et al., 2004).



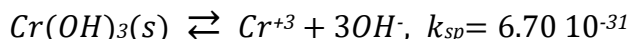
Σχήμα 2.42: Διαλυτότητα υδροξειδίων των μετάλλων και σουλφιδίων συναρτήσει του pH (Hawley et al., 2004)

Η εξισορρόπηση μεταξύ στερεών και διαλυτών μορφών του χρωμίου είναι μια τρίτη φυσικοχημική αλληλεπίδραση που χρησιμοποιείται σε διαδικασίες επεξεργασίας. Η καταβύθιση του Cr(III) συμβαίνει κυρίως ως $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$, $\text{FeCr}_2\text{O}_4(\text{s})$, ή $\text{Fe}_x\text{Cr}_y(\text{OH})_3(\text{s})$ (Richard and Bourg, 1991). Η διαλυτότητα του Cr(III) ρυθμίζει τη μετακίνησή του. Η καθίζηση/διάλυση είναι διαδικασίες βασιζόμενες στο pH, τη συμπλοκοποίηση με οργανική ύλη και την παρουσία άλλων ιόντων.

Όσο το pH αυξάνεται, αυξάνεται η συγκέντρωση των OH^- και περισσότερα ιόντα χρωμίου κατακρημνίζονται. Η οργανική ύλη μπορεί να σχηματίσει ένα σύμπλεγμα με το διαλυτό χρώμιο, καθιστώντας δύσκολη την απομάκρυνση του Cr(VI) με καθίζηση ή προσρόφηση.

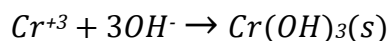
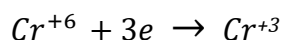
Η καθίζηση του Cr(III) είναι χρήσιμη για την αύξηση των ποσοστών αντίδρασης του Cr(VI) σε Cr(III), σύμφωνα με την αρχή του Le Chatelier (Hawley et al., 2004).

Το παραπάνω φαινόμενο διατυπώνεται με την παρακάτω εξίσωση ιοντικής ισορροπίας:



όπου $k_{sp} = [Cr(III)] \cdot [OH^-]^3 = x \cdot (3x)^3$, $[Cr(III)] = x = 1.255 \cdot 10^{-8} M$, $[OH^-] = 3x = 3.765 \cdot 10^{-8} M$,
 $pOH = -\log(3.765 \cdot 10^{-8}) = 7.424$, $pH = 14 - pOH = 14 - 7.424 = 6.576$

Σύμφωνα με τα παραπάνω, αύξηση του pH ισοδυναμεί με μείωση του pOH. Μείωση του pOH ισοδυναμεί με αύξηση της συγκέντρωσης των υδροξειδίων $[OH^-]$, η οποία βάσει της αρχής Le Chatelier οδηγεί την παραπάνω αντίδραση ισορροπίας προς τα αριστερά. Συνεπώς αυξάνεται η παραγωγή του ιζήματος $Cr(OH)_3$. Επιπλέον, η ελάχιστη τιμή pH που απαιτείται στο διάλυμα για να πραγματοποιηθεί η κατακρήμνιση υπολογίζεται περίπου 6.6. Ταυτόχρονα, βάσει της αρχής Le Chatelier, η αύξηση των OH^- μέσω της αύξησης του pH ευνοεί την μετατόπιση προς τη παραγωγή $Cr(OH)_3(s)$ με παράλληλη κατανάλωση $Cr(III)$. Η κατανάλωση του $Cr(III)$ βάσει της ίδιας πάντα αρχής, ευνοεί την κατανάλωση $Cr(VI)$ στο υδατικό διάλυμα και άρα την αύξηση του ρυθμού αναγωγής του (Hawley et al., 2004). Παρατηρείται κατά συνέπεια η ευνοϊκά συνεργαζόμενη δράση των δύο μηχανισμών. Ενδεικτικά:

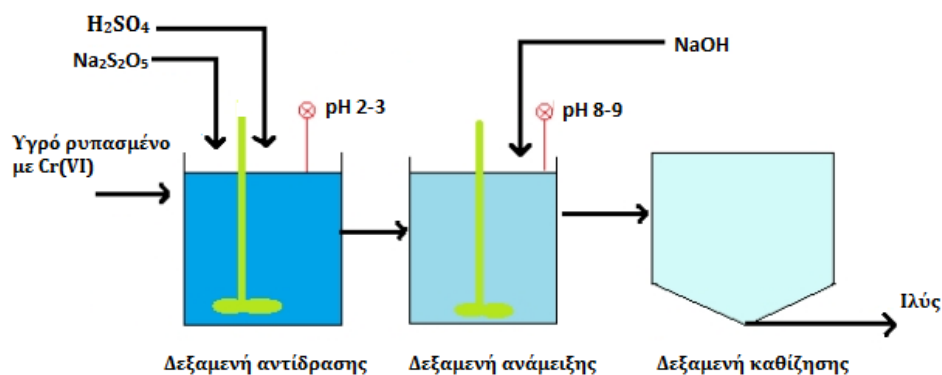
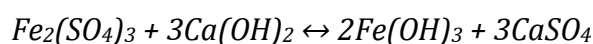
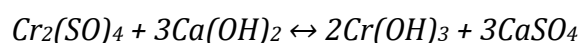


Αυτές οι τρεις διαδικασίες (ρόφηση, αντιδράσεις οξειδοαναγωγής και κατακρήμνιση) συντελούν τη βάση των χημικών και βιολογικών διεργασιών που χρησιμοποιούνται για τη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ $Cr(III)$ και $Cr(VI)$.

2.8.1.2.1 Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Χημικής Αναγωγής και Κατακρήμνισης

Σε υψηλές τιμές του pH το χρώμιο δεν μπορεί να υποστεί καθίζηση εύκολα. Με αυτή την διαδικασία, δηλαδή με τη μετατροπή του σε τρισθενές, καθιζάνει πιο εύκολα. Η αναγωγή πραγματοποιείται με τις ουσίες που αναφέρθηκαν (κυρίως με $FeSO_4$, SO_2 ή $NaHSO_3$) και με την ταυτόχρονη προσθήκη οξέος ώστε το pH να έχει τιμές μικρότερες του 3. Μετά το

πέρας της αντίδρασης αναγωγής, προστίθεται ένα αλκάλιο (π.χ. ασβέστης) ή ένας πολυηλεκτρολύτης για την εξουδετέρωση της οξύτητας και την καθίζηση του τρισθενούς χρωμίου (Σχήμα 2.43). Ο πιο αποτελεσματικός συνδυασμός είναι NaOH και Ca(OH)₂ (Ramakrishnaiah and Prathima, 2012). Γενικώς, οι υδροξυλικές ενώσεις είναι πιο αποτελεσματικές στη χημική καθίζηση του τρισθενούς χρωμίου. Παραδείγματα τέτοιων αντιδράσεων είναι:



Σχήμα 2.43: Παράδειγμα διαδικασίας χημικής αναγωγής και κατακρήμνισης (προσωπικό αρχείο)

Αξίζει να αναφερθεί, ότι για την απομάκρυνση 1 mg Cr(VI) απαιτούνται περίπου 16 mg FeSO₄·7H₂O, 6 mg H₂SO₄ για τη μείωση του pH και 9,5 mg ασβέστη για την κατακρήμνιση του Cr(III) (Ramakrishnaiah and Prathima, 2012).

Κατά συνέπεια, ανάλογα με τη μορφή του χρωμίου, δηλαδή αν θα είναι σε τρισθενή η εξασθενή μορφή, χρησιμοποιούμε ανάλογα μία από τις 2 παραπάνω μεθόδους. Έτσι αν έχουμε εξασθενές χρώμιο σε ένα διάλυμα ή γενικά περιεχόμενο σε υγρά απόβλητα, πρέπει πρώτα να το ανάγουμε σε τρισθενές, και έπειτα με χρήση κροκιδωτικού ή υδροξειδίου του ασβεστίου να πραγματοποιηθεί η κατακρήμνιση.

Όπως προαναφέρθηκε τα χρωμικά και διχρωμικά ιόντα είναι υδατοδιαλυτά για όλες τις τιμές του pH. Παρόλα αυτά τα χρωμικά μπορούν να υπάρξουν και σαν δυσδιάλυτα άλατα με ένα εύρος δισθενών κατιόντων όπως Ba(II), Sr(II), Pb(II), Zn(II), Cu(II). Όσον αφορά τους ρυθμούς κατακρήμισης και διάλυσης σε αυτές τις περιπτώσεις (των χρωμικών και διχρωμικών ιόντων) μπορούν να διαφέρουν σημαντικά και είναι επίσης εξαρτώμενες από το pH (Hawley et al., 2004).

2.8.1.3 Ιοντοανταλλαγή

Η ιοντοανταλλαγή είναι μια φυσική διεργασία κατά την οποία ένα ιόν με υψηλή συγγένεια με τη ρητίνη της στήλης ανταλλαγής ιόντων, αντικαθιστά ένα ιόν με χαμηλότερη συγγένεια που ήταν προηγουμένως συνδεδεμένο στη ρητίνη της στήλης (Hawley et al., 2004).

Οι εργαστηριακής κλίμακας δοκιμές επεξεργασίας διεξάγονται συνήθως πριν από την εφαρμογή των διορθωτικών δραστηριοτήτων πλήρους κλίμακας. Οι μεταβλητές περιλαμβάνουν τον τύπο ρητίνης που είναι πιο αποτελεσματική για την αφαίρεση του Cr(VI) κάτω από τον αναμενόμενο ρυθμό φόρτωσης, τα επιλεκτικά ιόντα χρωμίου σε σχέση με τα θειικά και νιτρικά, την ικανότητα του συστήματος (χρόνος μέχρι ρήξη), και τέλος, το ποσοστό της οργανικής ρύπανσης, η οποία μπορεί επίσης να επηρεάσει τη διάρκεια της λειτουργίας των στηλών (Hawley et al., 2004).

2.8.1.3.1 Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Ιοντοανταλλαγής

Καθώς ρέει το προς επεξεργασία υδατικό διάλυμα μέσω της στήλης ανταλλαγής ιόντων, τα διαλυμένα ιόντα Cr(VI) δεσμεύονται στη ρητίνη αντικαθιστώντας τα προηγουμένως δεσμευμένα ιόντα (συνήθως Cl⁻ ή OH⁻). Οι ρητίνες που χρησιμοποιούνται για τη δέσμευση του Cr(VI) είναι συνήθως φυσικός ανόργανος ζεόλιθος ή τεχνητή ασθενής βάση ή ρητίνη εναλλαγής ανιόντων ισχυρής βάσης (Hawley et al., 2004).

Μόλις οι ρητίνες συσσωρεύσουν Cr(VI) μέχρι μια ανώτατη τιμή πρέπει να αναγεννηθούν. Οι ρητίνες ιοντοανταλλαγής είναι ικανές να μειώσουν τις συγκεντρώσεις Cr(VI) σε τιμές κάτω των ορίων ανίχνευσης. Οι ρητίνες είναι συνήθως πιο αποτελεσματικές σε χαμηλές τιμές pH, διότι σε αυτές το Cr(VI) υφίσταται ως HCrO_4^{2-} και $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, και όχι ως CrO_4^{2-} . Αυτό ισχύει διότι ο λόγος των θέσεων ιοντοανταλλαγής προς τα δεσμευμένα ιόντα HCrO_4^{2-} ή $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ είναι 1/1, ενώ προς το CrO_4^{2-} 2/1 (δηλαδή δεσμεύει δύο θέσεις ιοντοανταλλαγής). Ο ανταγωνισμός από άλλα ανιόντα (όπως SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^-) δεν αποτελεί πρόβλημα στις περισσότερες εφαρμογές, εφόσον το Cr(VI) παρουσιάζει υψηλότερη συγγένεια με όλους τους πολυμερείς εναλλάκτες ανιόντων. Αύξηση του λόγου συγκέντρωσης των ανταγωνιστικών ιόντων προς τη συγκέντρωση των ιόντων Cr(VI) μπορεί να αλλάξει σημαντικά την επιλεκτικότητα υπέρ των Cr(VI). Ο κορεσμός της ρητίνης είναι σταδιακός και διέπεται από την ισορροπία μεταξύ αυτής και της υδατικής φάσης (U.S. Filter Recovery Services, Inc., 2001). Η αναγέννηση συνήθως επιτυγχάνεται με τη χρήση NaOH και αλκαλικής άλμης. Το Cr(VI) στην εκροή της αναγέννησης είτε διατίθεται σε συμπυκνωμένη μορφή ή ανακτάται για επαναχρησιμοποίηση.

2.8.1.4 Μεμβράνες Διύλισης-Ηλεκτροδιάλυσης

Ημιπερατά φίλτρα μεμβράνης χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία του νερού για να φιλτράρουν κάθε διαλυτή ένωση ανιόντων και κατιόντων, συμπεριλαμβανομένων των HCrO_4^- και CrO_4^{2-} . Η ροή του νερού μέσω της μεμβράνης είναι ανάλογη με την πίεση που εφαρμόζεται (Hawley et al., 2004).

Τα συστήματα αυτά κατηγοριοποιούνται με βάση το μέγεθος των πόρων της χρησιμοποιούμενης μεμβράνης (μικροδιήθηση, υπερδιήθηση, νανοδιήθηση και αντίστροφη όσμωση). Παρότι οι μεμβράνες αντίστροφης όσμωσης επιτυγχάνουν την υψηλότερη καθαρότητα του νερού εκροής, καλούνται να λειτουργούν σε υψηλότερες συγκριτικά πιέσεις. Εξάλλου, τα ιόντα Cr(VI) είναι πολύ μικρά για να απομακρυνθούν με μεμβράνες μικροδιύλισης ή υπερδιύλισης, εκτός και αν εφαρμοστεί προεπεξεργασία ώστε να συμπλοκοποιηθεί το Cr(VI) σε μόρια μεγαλύτερου μεγέθους (Hawley et al., 2004). Για αυτό η νανοδιήθηση έχει προσελκύσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον (Hafiane et al., 2000).

Η ηλεκτροδιάλυση ή ηλεκτροδιαπίδηση (electrodialysis) είναι μια ηλεκτροχημική μέθοδος διαχωρισμού των διαλυτών συστατικών του ύδατος με μεμβράνες ηλεκτροδιάλυσης υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Όταν υδατικό διάλυμα με υψηλή συγκέντρωση ιόντων εκτεθεί σε ένα ηλεκτρικό πεδίο, τότε παρατηρείται κίνηση των κατιόντων προς την κάθοδο και των ανιόντων προς την άνοδο (Δρακόπουλος, 2012). Οι μεμβράνες ηλεκτροδιάλυσης είναι αδιαπέραστες από το νερό αλλά επιτρέπουν τη διέλευση ιονιζόμενων ομάδων. Για την κατασκευή τους χρησιμοποιούνται συνήθως ιοντικές ρητίνες ιοντοανταλλαγής. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως στην αφαλάτωση των υφάλμυρων νερών. Επιπλέον έχει χρησιμοποιηθεί για την αποδέσμευση εξασθενούς και τρισθενούς χρωμίου από απόβλητα βιομηχανιών.

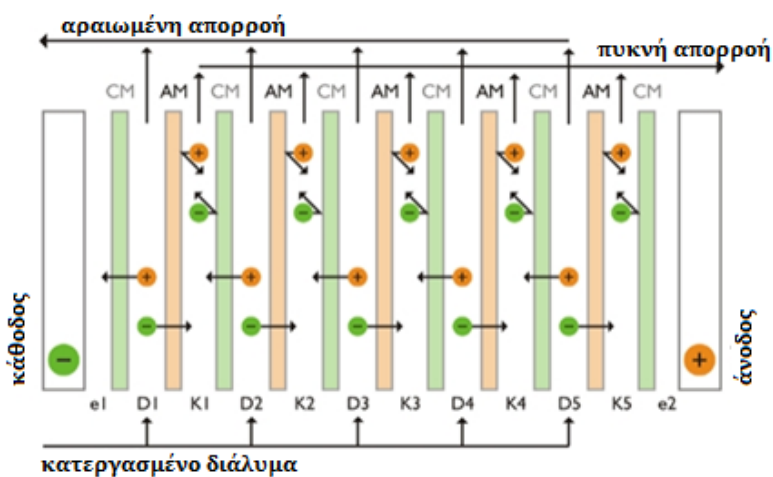
2.8.1.4.1 Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Διύλισης-Ηλεκτροδιάλυσης

Η αρχή λειτουργίας των μεμβρανών διύλισης συνίσταται εν γένει στη διέλευση, υπό την επίδραση πίεσης, της υγρής φάσης δια μέσου μεμβρανών οι οποίες συγκρατούν τις αδιάλυτες και μεγάλο μέρος των διαλυμένων ουσιών, λόγω της μικρής διαπερατότητας αυτών. Εξαιτίας της αρνητικά φορτισμένης επιφάνειας της μεμβράνης, το Cr(VI) και άλλα ανιόντα απωθούνται από αυτήν. Καθώς το ηλεκτρικό δυναμικό του νερού αυξάνεται από την παρουσία των ανιόντων, το παραπάνω φαινόμενο παγιώνεται και η απομάκρυνση του Cr(VI) μειώνεται. Όπως είναι αναμενόμενο, η απομάκρυνση του Cr(VI) βελτιώνεται με αύξηση του pH (Hawley et al., 2004).

Η μέθοδος των μεμβρανών ηλεκτροδιάλυσης μοιάζει με την εναλλαγή ιόντων, με τη διαφορά ότι τα ιόντα του διαλύματος εμποδίζονται να περάσουν από τις εκλεκτικά ημιπερατές μεμβράνες σε ανιόντα (-) και σε κατιόντα (+) και κινούνται κάτω από την επίδραση ηλεκτρικού δυναμικού (Hafiane et al., 2000). Με αυτό τον τρόπο δημιουργούνται διαφορετικά διαμερίσματα με μεγαλύτερη και μικρότερη απ' ότι της αρχικής, συγκέντρωσης αλάτων.

Στο Σχήμα 2.44 παρουσιάζεται η αρχή λειτουργίας μια διάταξης ηλεκτροδιάλυσης. Λόγω της εναλλακτικής διατάξεως των μεμβρανών και της εκλεκτικής περατότητας σε ανιόντα

ή σε κατιόντα, τα χρωμικά ιόντα εμποδίζονται να περάσουν από τις αδιαπέραστες μεμβράνες και τελικά απομακρύνονται με έκπλυση, λαμβάνοντας με αυτό τον τρόπο δύο είδη απορροών, μια αραιωμένη και μια πιο πυκνή.



Σχήμα 2.44: Διάταξη ηλεκτροδιάλυσης (CM: μεμβράνη ανταλλαγής κατιόντων, AM: μεμβράνη ανταλλαγής ανιόντων, D: θάλαμοι αραιώσης, K: θάλαμοι συμπύκνωσης, e1/e2: θάλαμοι ηλεκτροδίων) (Chen, 2004)

Καθεμιά από τις τεχνολογίες επεξεργασίας και απομάκρυνσης χρωμίου που αναφέρθηκαν δίνει διαφορετικά επίπεδα εκροής. Η αποδοτικότητα της επεξεργασίας που παρέχει κάθε τεχνολογία εξαρτάται από τις συνθήκες περιβάλλοντος (οι οποίες όπως αναφέρθηκε καθορίζουν τη χημική μορφή του χρωμίου), την αρχική συγκέντρωση και την παρουσία άλλων ενώσεων στο διάλυμα. Για την απομάκρυνση των ιόντων χρωμίου από υδατικά διαλύματα, οι τεχνικές που χαιρούν μεγαλύτερης αποδοχής σε εφαρμογές μεγάλης κλίμακας, είναι η προσρόφηση, κυρίως ενεργού άνθρακα, η χημική αναγωγή και κατακρήμνιση και η ιοντοανταλλαγή (Fadali et al. 2004; Mohan and Pittman, 2006).

Οι φυσικοχημικές μέθοδοι επεξεργασίας ωστόσο, δεν κρίνονται πάντα ικανοποιητικές, διότι παρουσιάζουν μεγάλες ενεργειακές απαιτήσεις, υψηλό κόστος απαιτούμενου εξοπλισμού και συστημάτων παρακολούθησης και τέλος συντελούν στην παραγωγή τοξικών αποβλήτων ή δευτερευόντων προϊόντων που απαιτούν επεξεργασία. Οι τύποι των υπολειμμάτων αυτών είναι (Demir and Arisoy, 2007):

- Επιβεβαρυμμένη με χρώμιο ιλύς που παράγεται από τη χημική καθίζηση (ενδεικτικά η επεξεργασία 1 tn Cr(VI) έχει ως παραπροϊόν 15 tn υγρής λάσπης)
- Επιβεβαρυμμένα με χρώμιο υψηλής συγκέντρωσης απόνερα έκπλυσης στοιχείων διύλισης και ιοντοανταλλαγής
- Διαλύματα αλάτων υψηλής συγκέντρωσης, που χρησιμοποιήθηκαν ως κροκιδωτικά
- Χρησιμοποιημένα προσροφητικά και ρητίνες ιοντοανταλλαγής

Οι δύο διαφορετικοί μηχανισμοί απομάκρυνσης (φυσικοχημικοί-βιολογικοί) συγκρίθηκαν από τους Demir και Arisoy (2007) σε σχέση με το κόστος και το ποσοστό τους στην απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της σύγκρισης, το κόστος ανά μονάδα στην απομάκρυνση με χημικά (Amberlite IRA-904 και IR-120 Plus) υπολογίστηκε σε τιμή σχεδόν διπλάσια από αυτή για τη βιολογική απομάκρυνση του *Bacillus Thuringiensis*.

Κατά συνέπεια, τα τελευταία χρόνια έγινε στροφή στη μελέτη των βιολογικών (αερόβιων, αναερόβιων ή/και ανοξικών) μεθόδων επεξεργασίας σε ρυπασμένα με χρώμιο ύδατα και απόβλητα, λόγω χαμηλού κόστους και ενεργειακών απαιτήσεων. Πρόκειται για αξιοποίηση βιολογικών διεργασιών που είναι ανταγωνιστικές, αποτελεσματικές και οικονομικές σε σύγκριση με τις φυσικοχημικές μεθόδους.

2.8.2 Βιολογικές Μέθοδοι Επεξεργασίας

Έχει παρατηρηθεί ότι αρκετοί μικροοργανισμοί μέσω των κυτταρικών τους δραστηριοτήτων ή/και των παραγομένων εξ αυτών προϊόντων, συμβάλλουν στη διαμόρφωση του βιογεωχημικού κύκλου του χρωμίου. Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την αξιοποίηση των μικροοργανισμών στην απομάκρυνση των μετάλλων από ρυπασμένα ύδατα και απόβλητα. Πρόκειται για την αξιοποίηση βιολογικών διεργασιών όπως η βιοχημική αναγωγή και η βιοπροσρόφηση.

2.8.2.1 Βιοχημική Αναγωγή

Όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.6, οι μικροοργανισμοί μπορούν να καταλύσουν αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με ένα συνδυασμό αρκετών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της εξωκυτταρικής ενζυμικής αναγωγής, της μη μεταβολικής αναγωγής από βακτηριακές επιφάνειες και της ενδο-κυτταρικής αναγωγής και καθίζησης. Οι μικροοργανισμοί μπορούν να μετατρέψουν το Cr(IV) σε Cr (III) περιλαμβάνουν βακτήρια (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Achromobacter* και *Desulfotomaculum*) (McLean and Beveridge, 1999), τα φύκη (Cervantes et al., 1994), ζύμες και μύκητες.

Τόσο τα ευκαρυωτικά και όσο και τα προκαρυωτικά κύτταρα μπορούν να μεταφέρουν το Cr(VI) σε όλη την κυτταρική μεμβράνη τους. Σε ζυμομύκητες, το Cr(VI) μπορεί να εισέλθει μέσω του συστήματος περμεάση, μιας μη ειδικής μεθόδου μεταφοράς ιόντων για ανιόντα όπως φωσφορικά (PO_4^{3-}) και θειικά (SO_4^{2-}) (Cervantes et al., 2001). Οι διαφορές στη διατήρηση του Cr(VI) από φύκη έχουν μελετηθεί επίσης. Πράσινα φύκη διατηρούν περισσότερο το χρώμιο από τα κόκκινα ή τα καφέ φύκη (Cervantes et al., 1994).

Οι αντιδράσεις βιολογικής αναγωγής απαιτούν την παρουσία ενός εξωτερικού δότη ηλεκτρονίων, όπως Fe, Mn, ή οξειδωμένη οργανική ύλη. Η διαδικασία είναι η ίδια με τη χημική αναγωγή, αλλά υπάρχει η βιολογική μεσολάβηση και πλεονεκτεί κινητικά έναντι των μη βιολογικών αντιδράσεων, ιδιαίτερα υπό αερόβιες συνθήκες. Εναλλακτικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα θειοαναγωγικά βακτήρια, τα οποία διεγείρονται για να παράγουν H_2S , το οποίο χρησιμεύει ως αναγωγικό. Έρευνες από τους Fein et al. (2001) έχουν δείξει ότι οι βακτηριακές επιφάνειες μπορούν επίσης να καταλύσουν την αναγωγή του Cr(VI) (μηχανισμός βιοπροσρόφησης).

Εργαστηριακές μελέτες έχουν ποσοτικοποιήσει την επίδραση των διαφόρων παραγόντων που επηρεάζουν το ποσοστό της μικροβιακής αναγωγής, συμπεριλαμβανομένων του διαλυμένου οξυγόνου, της συγκέντρωσης του οργανικού άνθρακα και του pH. Αν και η βιολογική αναγωγή μπορεί να είναι είτε αερόβια ή αναερόβια, οι αντιδράσεις αναγωγής είναι ευαίσθητες σε υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου. Κάτω από αναερόβιες συνθήκες,

τόσο οι αβιοτικοί και όσο και οι βιοτικοί μηχανισμοί απομάκρυνσης είναι πιο ανταγωνιστικοί (Hawley et al., 2004).

Ωστόσο, η αναγωγική αυτή ικανότητα που διαθέτει πλήθος μικροοργανισμών είναι πεπερασμένη. Διερεύνηση της επίδρασης της αρχικής συγκέντρωσης του Cr(VI) στην παρατηρούμενη αναγωγή του, έδειξε ότι πλήρης αναγωγή επιτεύχθηκε μόνο στις χαμηλότερες τιμές. Η εμφάνιση πεπερασμένης αναγωγικής ικανότητας στους μικροοργανισμούς πιθανότατα συνδέεται με τοξικές επιδράσεις ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες που προκαλεί το Cr(VI) σε υψηλές δόσεις (Wang and Shen, 1997). Κατ' επέκταση, η αμιγώς βιολογική αναγωγική ικανότητα καθορίζεται από την ικανότητα των επιδιορθωτικών μηχανισμών του κυττάρου να αναιρεί τις γενετικές βλάβες που προκαλούν οι ενεργές ρίζες. Προφανώς, η αύξηση του ρυθμού παραγωγής νέας βιομάζας ενισχύει συνολικά την αναγωγική ικανότητα. Τέτοια αύξηση ευνοείται σε περιβάλλον όπου οι πηγές άνθρακα (υπόστρωμα) ή θρεπτικών δεν αποτελούν περιοριστικό παράγοντα.

2.8.2.1.1 Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Βιοχημικής Αναγωγής

Τα ένζυμα από διαφορετικούς οργανισμούς, που κυμαίνονται από βακτήρια μέχρι θηλαστικά, λαμβάνουν μέρος στη μείωση του εξασθενούς χρωμίου. Όσον αφορά τα θηλαστικά, ένζυμα όπως η οξειδάση της αλδεΐδης, το κυτόχρωμα P450 και η DT-διαφοράση εμπλέκονται στην απομάκρυνση του Cr(VI). Ωστόσο, τα μικροβιακά ένζυμα είναι πιο σημαντικά για τη μείωση του Cr(VI) από περιβαλλοντική άποψη (Thatoi et al., 2014).

Οι Patra et al. (2010) περιέγραψαν το ρόλο των διαφόρων ενζύμων που εμπλέκονται στην απομάκρυνση του Cr(VI) από βακτήρια. Ορισμένες οξειδοαναγωγάσες με διαφορετικές μεταβολικές λειτουργίες που έχει αναφερθεί ότι ενισχύουν τη βιομετατροπή του Cr(VI) σε βακτήρια περιλαμβάνουν τις νιτροαναγωγάσες (Kwak et al., 2003), τις σιδηροαναγωγάσες, τις αναγωγάσες κινόνης (Gonzalez et al., 2005), τις υδρογονάσες (Chardin et al., 2003), τις αναγωγάσες φλαβίνης (Ackerley et al., 2004a), καθώς και τις

εξαρτώμενες αναγωγάσες NAD(P)H (Puzon et al., 2002). Ο τύπος της βακτηριακής αναγωγάσης χρωμικών εξαρτάται από τη φύση των βακτηρίων που διενεργούν την αντίδραση αναγωγής (αερόβια ή αναερόβια). Οι βακτηριακές χρωμικές αναγωγάσες είναι εντοπισμένες είτε στη μεμβράνη (Wang et al., 1991; Cheung et al., 2006) είτε στο κυτταρόπλασμα (Suzuki et al., 1992; Park et al., 2000; Bae et al., 2005) των αναγωγικών βακτηριδίων. Η ενζυμική αναγωγή του Cr(VI) στα βακτήρια επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους. Διαλυτές αναγωγάσες μπορεί συμμετέχουν στην εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια βιομετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) (Elangovan et al., 2010; Das et al., 2014), λαμβάνοντας υπόψη ότι η δεσμευμένη στη μεμβράνη αναγωγάση ανάγει το Cr(VI) με εξωκυτταρικά μέσα (Wang et al., 1991).

Εξωκυτταρικά

Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα εξωκυτταρικά αναγωγικά ένζυμα Cr(VI) που παράγονται από βακτηριακά κύτταρα, εξάγονται μέσα στο υδατικό διάλυμα για να επιτύχουν την απομάκρυνση του Cr(VI). Πολλοί επιστήμονες αναφέρθηκαν σε αυτό το ζήτημα όπως οι Priester et al. (2006) και οι Cheung και Gu (2007). Οι τελευταίοι κατέληξαν ότι τα εξωκυτταρικά ένζυμα (κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες) είναι διαλυτές αναγωγάσες χρωμικών όπως αναγωγάσες φλαβίνης, αναγωγάσες νιτρικών, φλαβοπρωτεΐνες και σιδηροαναγωγάσες.

Οι Wang et al. (1991) παρατήρησαν ότι τα βακτήρια με δεσμευμένες στη μεμβράνη αναγωγάσες μπορούν επίσης να μετατρέψουν το Cr(VI) σε Cr(III) με εξωκυτταρικές διαδικασίες, χρησιμοποιώντας τη μεταφορά ηλεκτρονίων δια μέσου της αναπνευστικής αλυσίδας (electron shuttling). Τα περισσότερα από αυτά τα ένζυμα παράγονται επαγωγικά, δηλαδή παράγονται παρουσία του Cr(VI) στο διάλυμα (Cheung and Gu, 2007). Η ρύθμιση της παραγωγής τους ελέγχεται από στοιχεία όπως η έλλειψη τροφής που επιτρέπουν τη μαζική σύνθεση κάτω από δυσμενές περιβάλλον. Οι Smith και Gadd (2000) όρισαν την εξωκυτταρική πορεία μείωσης του Cr(VI) από θειοαναγωγικά βακτήρια μέσω ενός ισοζυγίου μάζας κατά το οποίο το 90% του ανηγμένου χρωμίου ανιχνεύθηκε στο υπερκείμενο υγρό.

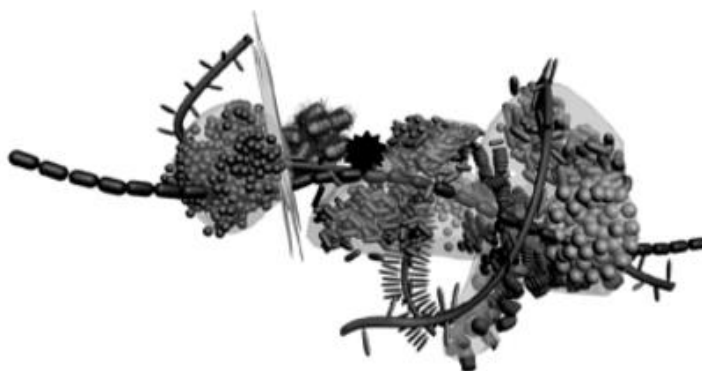
Ενδοκυτταρικά

Στις ενδοκυτταρικές διεργασίες, το Cr(VI) ανάγεται στο κυτταρόπλασμα χρησιμοποιώντας κυτταροπλασματικά διαλυτά ένζυμα αναγωγής. Αυτά τα ένζυμα παίζουν ένα ενδιάμεσο ρόλο μεταξύ των βιολογικών δοτών ηλεκτρονίων. Οι Puzon et al. (2005) πρότειναν ότι το Cr(VI) ανάγεται ενδο-κυτταρικά στο κυτταρόπλασμα από ένα βακτηριακό ένζυμο, χρησιμοποιώντας το NADH και το NADPH ως αναγωγικό. Πολλά βακτήρια είναι γνωστό ότι συμμετέχουν στην ενδοκυτταρική αναγωγή του Cr(VI). Μερικά παραδείγματα των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων που ανάγουν το Cr(VI) ενδοκυτταρικά είναι τα *P. aeruginosa*, *Pseudomonas sp.* CRB5, *E. coli* ATCC 33456, *Rhodobacter sphaeroides*, *Alcaligenes*, *Enterobacter* και *P. fluorescens* LB300. Ένα Gram θετικό βακτήριο που διενεργεί την ενδοκυτταρική αναγωγή του Cr(VI) είναι το *B. subtilis* κατά τους Ohtake et al. (1990).

Η βιοχημική αναγωγή ενισχύεται σημαντικά από την ύπαρξη των βιοκροκίδων οι οποίες παρέχουν μεγάλο πλήθος θέσεων προς κατάληψη από το διαλυτό χρώμιο. Σε κάθε περίπτωση, θα πρέπει να αναφερθεί ότι το μεγαλύτερο μέρος της βιομάζας δεν αιωρείται ελεύθερα στο ανάμικτο υγρό, αλλά είναι οργανωμένο σε κροκίδες (Nielsen, 2002). Η χωρική θέση του μικροοργανισμού εντός του συστήματος (μέσα σε κροκίδες ή σε ελεύθερη αιώρηση στο ανάμικτο υγρό,) είναι ζωτικής σημασίας, επειδή τελικά θα καθορίσει αν ένας πληθυσμός θα διατηρηθεί μέσα στον αντιδραστήρα ή θα αποβληθεί μέσω του διαυγασμένου υγρού και ως εκ τούτου θα συμβάλει στην τελική ποιότητα της εκροής. Η θέση μπορεί επίσης να επηρεάσει την πρόσβαση του μ/ο σε θρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων του O₂ και την ευαισθησία σε τοξικές ενώσεις (Henriques and Love, 2007; Henriques et al., 2005). Η οργάνωση σε κροκίδες πιθανότατα θα καθορίσει επίσης τον τρόπο με τον οποίο μπορούν να ανακτηθούν με επιτυχία κύτταρα από δείγματα ανάμικτου υγρού στην προσπάθεια να απομονωθούν σε καθαρή καλλιέργεια (Banks and Walker, 1976).

Οι βιοκροκίδες συντελούν μία ετερογενή δομή (Neu et al., 1999), που αποτελείται από συσσωματώματα των βακτηρίων και άλλων οργανισμών ενσωματωμένα σε μία

πολυμερική γέλη, η οποία συχνά αναφέρεται ως εξωκυτταρική πολυμερή ουσία ή EPS. Συσσωματωμένη σωματιδιακή οργανική ύλη και ανόργανα σωματίδια μπορεί επίσης να ενσωματωθούν σε αυτό το σύνολο (Σχήμα 2.45). Τα EPS πιστεύεται ότι προστατεύουν τα βακτηριακά κύτταρα από την ξήρανση, τα βαρέα μέταλλα ή άλλες περιβαλλοντικές πιέσεις και επίσης βοηθούν στη δημιουργία βιοφίλμ (Sutherland, 2001). Από πειράματα των Ozturk et al. (2009) προέκυψε ότι η ύπαρξη των EPS δεν παίζει ρόλο στην απομάκρυνση του Cr(VI) αλλά πως υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα στην ανοχή της τοξικότητας του Cr(VI) και στην παραγωγή των EPS.



Σχήμα 2.45: Διαγραμματική παρουσίαση της οργάνωσης και δομής βιοκροκίδας σε σύστημα ενεργού ιλύος (Seviour and Nielsen, 2010)

Οι σχηματιζόμενες κροκίδες παρουσιάζουν αποδεκτούς τεχνολογικά ρυθμούς καθίζησης. Αφού το χρώμιο προσροφηθεί απομακρύνεται από το επεξεργαζόμενο νερό μέσω αυτής. Η καθίζηση βαρύτητας είναι η βιωσιμότερη οικονομικά μέθοδος διαχωρισμού της βιομάζας από το επεξεργασμένο υγρό σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας πλήρους-κλίμακας.

Η μέθοδος ενεργού ιλύος διαθέτει ένα σύνολο χαρακτηριστικών που ευνοούν την επιστράτευση και το χειρισμό των παραπάνω διεργασιών (αναγωγή, προσρόφηση, κατακρήμνιση). Η βιομάζα που εντοπίζεται σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος αποτελεί μικτή καλλιέργεια μικροοργανισμών (κυρίως βακτηρίων). Σε αντίθεση με τις αμιγείς καλλιέργειες, η βιομάζα αυτή προσαρμόζεται εύκολα σε διαφορετικά περιβάλλοντα και δε

χρειάζεται αυστηρούς χειρισμούς των συνθηκών περιβάλλοντος. Μια άλλη σημαντική ιδιότητα της βιομάζας αυτής είναι η δυνατότητα να συσσωματώνεται.

Στο σύστημα της ενεργού ιλύος, είναι δυνατή η ρύθμιση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου και συνεπώς η εφαρμογή αερόβιων ή αναερόβιων συνθηκών. Οι τελευταίες καθορίζουν το είδος των μηχανισμών αναγωγής του Cr(VI). Επιπλέον είναι δυνατή η ρύθμιση της συγκέντρωσης της βιομάζας και του βιολογικού χρόνου παραμονής αυτής. Η ρύθμιση αυτή γίνεται μέσω του ελέγχου της ιλύος, η οποία εν μέρει ανακυκλοφορείται στο σύστημα και εν μέρει απορρίπτεται. Η μεν ποσότητα της βιομάζας (συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών) συνδέεται με την αναγωγική ικανότητα της. Η δε ηλικία της βιομάζας (βιολογικός χρόνος παραμονής) συνδέεται με την παραγωγή των εξωκυτταρικών πολυμερών τα οποία καταλύουν τη βιοπροσρόφηση (Crites and Tchobanoglous, 1998). Το pH του υγρού περιβάλλοντος ενός συστήματος ενεργού ιλύος ρυθμίζεται σε τιμές που ευνοούν την κατακρήμνιση (~7), του παραγόμενου από αναγωγή, Cr(III). Το κατακρημνισμένο Cr(III), υπό τη μορφή $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$, απομακρύνεται προστιθέμενο στην παραγόμενη ιλύ.

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθιστούν το σύστημα ενεργού ιλύος μια ιδιαίτερα ελκυστική τεχνολογία απομάκρυνσης του χρωμίου. Το συμπέρασμα αυτό μπορεί να γενικευθεί και για τις διάφορες παραλλαγές του συστήματος ενεργού ιλύος, είτε είναι συνεχούς ροής, είτε διαλείπουσας λειτουργίας (σύστημα SBR).

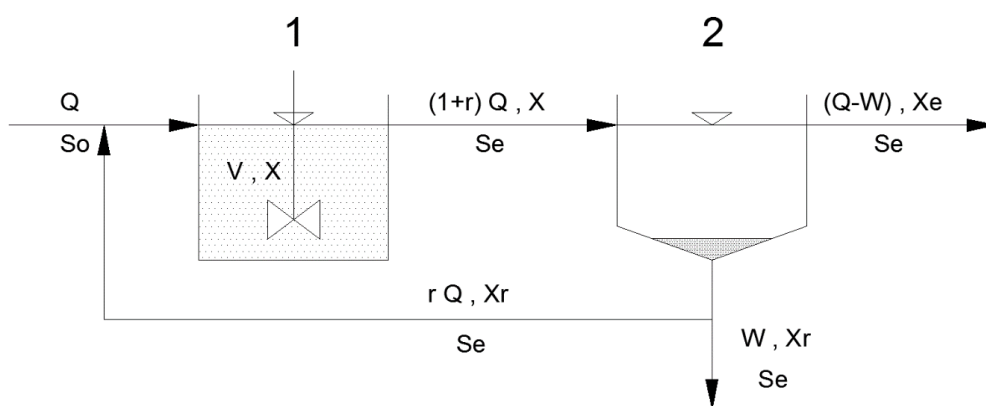
Τα βασικά χαρακτηριστικά και μεγέθη ενός συστήματος ενεργού ιλύος αιωρούμενης βιομάζας, συνεχούς ροής και διαλείπουσας λειτουργίας είναι τα εξής:

Συνεχούς Ροής

Αποτελεί την πλέον συνήθη διεργασία αιωρούμενης βιομάζας στην επεξεργασία αστικών λυμάτων, η οποία μπορεί να υιοθετηθεί για τη μελέτη των υπόγειων νερών. Το διάγραμμα ροής φαίνεται στο Σχήμα 2.46 που ακολουθεί. Στη δεξαμενή αερισμού (1), λαμβάνει χώρα πλήρης ανάδευση και αερισμός μέσω κατάλληλων συστημάτων (διαχυτήρες πεπιεσμένου αέρα, επιφανειακή ανάδευση κτλ), ενώ παράλληλα λαμβάνει χώρα είσοδος ανεπεξέργαστου λύματος με σταθερή και συνεχή παροχή (Q). Στη δεξαμενή αερισμού

διεξάγεται ο μεταβολισμός-οξείδωση της αιωρούμενης και διαλυτής οργανικής ύλης (S_o) από τους μικροοργανισμούς (X).

Μέρος αυτής αξιοποιείται στη σύνθεση νέας βιομάζας και το υπόλοιπο οξειδώνεται σε CO_2 και νερό ώστε να παραχθεί η απαιτούμενη βιοχημική ενέργεια. Κατόπιν το μεικτό υγρό υπερχειλίζει συνεχώς από τη δεξαμενή αερισμού προς μια δεξαμενή καθίζησης (2) όπου και λαμβάνει χώρα διαχωρισμός των αιωρούμενων σωματιδίων (ενεργός ιλύς) με τη βοήθεια της βαρύτητας προς τον πυθμένα της δεξαμενής, απ' όπου και απομακρύνεται (W), ενώ ταυτόχρονα ένα μέρος ανακυκλοφορείται προς τη δεξαμενή αερισμού (ιλύς ανακυκλοφορίας) (rQ). Το διευγασμένο υπερκείμενο υγρό της δεξαμενής αερισμού υπερχειλίζει για απόρριψη ή περαιτέρω επεξεργασία πριν την τελική διάθεση στο περιβάλλον (Gray, 1990).



Σχήμα 2.46: Διάγραμμα ροής για τη διεργασία αιωρούμενης βιομάζας σε λύματα και υπόγειο νερό (προσωπικό αρχείο)

Διαλείπουσας Λειτουργίας

Ο βιοαντιδραστήρας διαλείπουσας λειτουργίας ή διαδοχικών φάσεων (sequencing batch reactor, SBR) αποτελεί μία από τις γνωστότερες παραλλαγές της συμβατικής μεθόδου ενεργού ιλύος. Η ειδοποιός διαφορά με το παραπάνω σύστημα είναι ότι συνδυάζει όλα τα στάδια επεξεργασίας σε μία δεξαμενή. Πρόκειται δηλαδή για μια διεργασία πλήρωσης και εκκένωσης (fill-and-draw process), όπου τα διαδοχικά βήματα της βιολογικής οξείδωσης και καθίζησης πραγματοποιούνται στην ίδια δεξαμενή. Η εφαρμογή της τεχνολογίας SBR

παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των υπολοίπων συμβατικών μεθόδων βιολογικής επεξεργασίας. Τα εν λόγω πλεονεκτήματα απορρέουν από την εγγενή προσαρμοστικότητα και ευελιξία που παρέχει η κυκλική εναλλαγή λειτουργικών φάσεων, σήμα κατατεθέν της μεθόδου SBR. Έτσι, ο κυκλικός χαρακτήρας της λειτουργίας του SBR μπορεί εύκολα να τροποποιηθεί οποιαδήποτε χρονική στιγμή, προκειμένου να αντισταθμιστούν τυχόν μεταβολές στις συνθήκες επεξεργασίας, στα χαρακτηριστικά της εισροής, ή στις απαιτήσεις ποιότητας της παραγόμενης εκροής (Kang et al., 2002).

2.8.2.2 Βιοπροσρόφηση

Βιορρόφηση είναι μια παθητική, φυσική διαδικασία που βασίζεται στην ικανότητα των βιολογικών υλικών να απομακρύνουν βαρέα μέταλλα από το νερό με ανταλλαγή ιόντων, μικροκαθίζηση, προσρόφηση και το συντονισμό (Febrianto et al., 2009; Luna et al., 2010). Είναι μια διαδικασία ανεξάρτητη του μεταβολισμού των μικροοργανισμών, συνεπώς μπορεί να πραγματοποιηθεί τόσο από ζωντανή όσο και από νεκρή βιομάζα. Η αποτελεσματικότητα της εξαρτάται από (Mulligan, 2002):

- την προσροφητική ικανότητα του προσροφητικού υλικού (mg-contaminant/g-biosorbent)
- την διαθεσιμότητα του υλικού
- την ειδική επιφάνεια του
- το κόστος του
- την ευκολία αναγέννησης του
- τη συγκέντρωση της προσροφημένης ουσίας

Στη φύση υπάρχουν πολλά βιοπροσροφητικά υλικά όπως: χαμηλού κόστους βιομηχανικά απόβλητα, φυσικά διαθέσιμοι μικροοργανισμοί (ζώσα και νεκρή βιομάζα, όπως βακτήρια, και μύκητες) ή ακόμα και ταχύτατα αναπτυσσόμενοι οργανισμοί. Σε περιπτώσεις όπου το προσροφητικό υλικό είναι η ενεργή βιομάζα, η αποτελεσματικότητα της βιοπροσρόφησης εξαρτάται και από την τοξικότητα του μετάλλου. Η προσρόφηση επιτελείται κυρίως από

εξωκυτταρικά πολυμερή που παράγουν οι μικροοργανισμοί και εντοπίζονται στο κυτταρικό τοίχωμα (Dudman and Wilkinson, 1956).

Εναλλακτικά προσροφητικά υλικά έχουν προταθεί για την απομάκρυνση του Cr(VI), με στόχο την εξοικονόμηση χρηματικών πόρων, αλλά και την ανακύκλωση αποβλήτων. Τα υλικά που έχουν εξεταστεί μέχρι τώρα ποικίλουν από χρησιμοποιημένα ελαστικά τροχών κίνησης μέχρι φύκη. Αυτή η πρωτοποριακή μέθοδος χρησιμοποιεί βιο-υλικά τα οποία είναι χαμηλής ή υψηλής διαθεσιμότητας, για παράδειγμα λιγνίνη (Albadarin et al., 2011a; Albadarin et al., 2011b), πριονίδια (Albadarin et al., 2011c), απόβλητα από βιομηχανία ελαιολάδου (Malkoc et al., 2006), φύκια (Murphy et al., 2008). Τα βιο-υλικά πιστεύεται ότι παρέχουν εξαιρετική απομάκρυνση του χρωμίου από υδατικά διαλύματα που περιέχουν λειτουργικές ομάδες με αναγωγικά και προσροφητικά χαρακτηριστικά (Kavita et al., 2011). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η απομάκρυνση που επιτυγχάνουν μπορεί να είναι ισοδύναμη ή υψηλότερη από αυτή που παρέχουν οι ρητίνες ιονανταλλαγής (Bailey et al., 1999). Τα προσροφητικά υλικά χαμηλού κόστους δεν αναγεννώνται, αλλά απορρίπτονται όταν σημειωθεί σημαντική εξάντληση τους.

2.8.2.2.1 Μηχανισμός βασιζόμενος στις Αρχές Βιοπροσρόφησης

Υπάρχουν τέσσερις μηχανισμοί βιοπροσρόφησης για το Cr(VI) σε ένα σύστημα ενεργού υλός: I. ανιονική προσρόφηση II. αναγωγή και προσρόφηση (κατιονική/ανιονική) III. ανιονική και κατιονική προσρόφηση IV. αναγωγή και ανιονική προσρόφηση (Saha and Orvig, 2010).

I. Ανιονική προσρόφηση

Τα αρνητικά φορτισμένα είδη χρωμίου (χρωμικό (CrO_4^{2-})/διχρωμικό ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) δεσμεύουν μέσω ηλεκτροστατικής έλξης, θετικά φορτισμένες λειτουργικές ομάδες επί της επιφανείας των βιορροφητικών μέσων (Σχήμα 2.47). Ο μηχανισμός αυτός βασίζεται στην παρατήρηση ότι σε χαμηλό pH αυξάνεται η προσρόφηση του Cr(VI) και σε υψηλά pH μειώνεται. Σε χαμηλό pH οι λειτουργικές ομάδες των βιορροφητικών μέσων γίνονται πρωτόνια και εύκολα προσελκύσουν το αρνητικά

φορτισμένο χρώμιο, αλλά σε υψηλό pH, οι λειτουργικές ομάδες γίνονται αρνητικά φορτισμένες και απωθούν το χρώμιο (από-πρωτονιώνονται). Εκτός από τη δύναμη Coulomb, την ηλεκτροστατική έλξη, η επιφανειακή συμπλοκοποίηση έχει σημαντικό ρόλο στην εξάλειψη του Cr(VI) από υδατικά μέσα (Scharma et al., 2003; Scharma, 2007).

II. Αναγωγή και προσρόφηση (κατιονική/ανιονική)

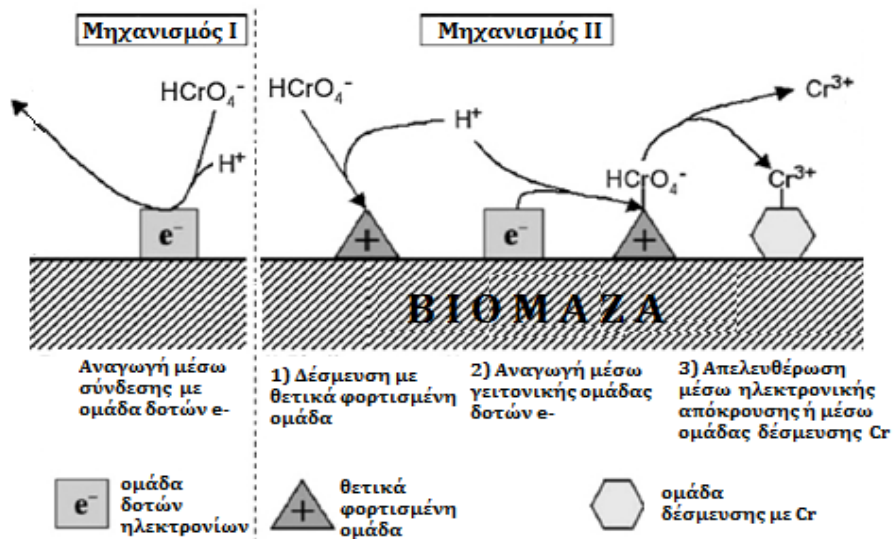
Ο μηχανισμός της αναγωγής του Cr(VI) ακολουθούμενη από κατιονική προσρόφηση προτάθηκε για πρώτη φορά από Volesky για τη βιομάζα φυκιών *sargassum* (Kratochvil et al., 1998). Σε αυτόν το μηχανισμό το Cr(VI) μετατρέπεται σε Cr(III) με βιομάζα παρουσία οξέος. Στη συνέχεια, μέρος του Cr(III) προσροφάται στη βιομάζα (Σχήμα 2.47). Το ποσοστό της προσρόφησης εξαρτάται από τη φύση της βιομάζας (Natale et al., 2007).

III. Ανιονική και κατιονική προσρόφηση

Σύμφωνα με το μηχανισμό αυτό, ένα μέρος του Cr(VI) ανάγεται προς Cr(III). Το εξασθενές χρώμιο (ανιονικό) και τρισθενές χρώμιο (κατιονικό) απορροφώνται από τη βιομάζα (Hasan et al., 2008; Namasivayam et al., 2008).

IV. Αναγωγή και ανιονική προσρόφηση

Σύμφωνα με το μηχανισμό αυτό, ένα μέρος του Cr(VI) ανάγεται προς Cr(III) με βιορροφητικά μέσα και ως εκ τούτου το Cr(VI) είναι προσροφημένο στη βιομάζα ενώ το Cr(III) παραμένει στο διάλυμα (Aoyama et al., 1999; 2000; 2001).

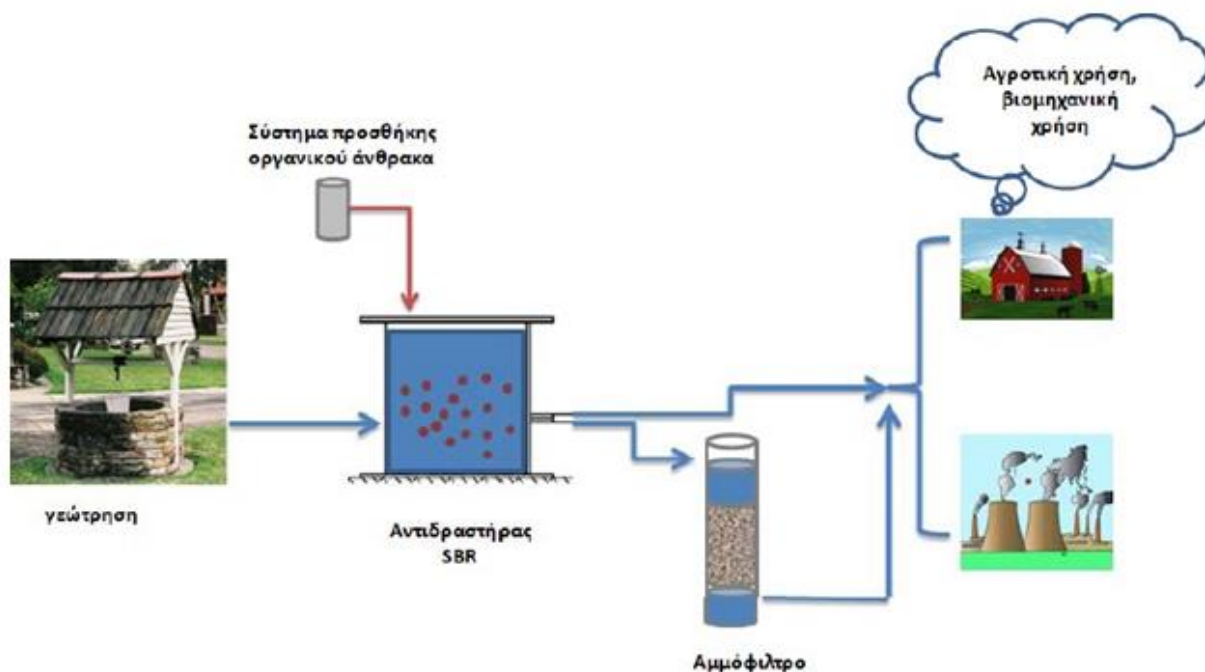


Σχήμα 2.47: Προτεινόμενοι μηχανισμοί (I, II) βιορρόφησης Cr(VI) από βιομάζα (Park et al., 2005)

2.9 Στόχοι Διδακτορικής Διατριβής

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση που προηγήθηκε έδειξε ότι μέχρι σήμερα έχει γίνει εκτεταμένη έρευνα σε θέματα που αφορούν την παρουσία και απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου με βιολογικές μεθόδους σε απόβλητα και πολύ λιγότερο στα υπόγεια ύδατα. Από την εκτεταμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση που προηγήθηκε γίνεται φανερό ότι οι μέχρι σήμερα έρευνα εστιάζεται στην βιολογική επεξεργασία υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου που υπερβαίνουν το 1 – 5 mg/L. Σε σχέση με τα υγρά απόβλητα τα ρυπασμένα με Cr(VI) υπόγεια ύδατα παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές καθώς υπάρχει συνήθως απουσία οργανικής ρύπανσης που θα μπορούσε να υποστηρίξει την ανάπτυξη μικροοργανισμών και οι συγκεντρώσεις Cr(VI) συνήθως δεν υπερβαίνουν τα 200 $\mu\text{g/L}$. Οι συγκεντρώσεις αυτές του Cr(VI) στα υπόγεια ύδατα παρότι είναι σημαντικά χαμηλότερες των αντίστοιχων τιμών που συναντώνται στα απόβλητα, καθιστούν απαγορευτική την οποιαδήποτε χρήση του υπόγειου νερού.

Από την ανάγκη αυτή για επεξεργασία των υπόγειων υδάτων που περιέχουν Cr(VI) ανέκυψε ο κύριος στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής που είναι η ανάπτυξη, εφαρμογή και βελτιστοποίηση ενός συστήματος βιολογικής επεξεργασίας των υπόγειων υδάτων για την παραγωγή νερού κατάλληλου για βιομηχανική και αγροτική χρήση. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.48 ένα τέτοιο σύστημα επεξεργασίας πρέπει να περιλαμβάνει τα κάτωθι μέρη: 1) άντληση των υπόγειων υδάτων, 2) προσθήκη οργανικών ενώσεων, που να είναι πλήρως βιοδιασπάσιμες, να μην δημιουργούν προβλήματα ρύπανσης των υπόγειων υδάτων και να υποστηρίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων ικανών να ανάγουν το εξασθενές χρώμιο σε τρισθενές, 3) διατήρηση των βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρα σε συνθήκες περιβάλλοντος χωρίς την απαίτηση θέρμανσης. Κάτω από τις επιλογές συνθήκες οξειδοαναγωγής τα βακτήρια που αναπτύσσονται θα πρέπει να έχουν την ικανότητα αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου σε αδιάλυτο τρισθενές χρώμιο. Για την απλότητα του συστήματος και την εύκολη λειτουργία του προτιμήθηκε η χρήση αντιδραστήρων διακοπτόμενου έργου και 4) απομάκρυνση του παραγόμενου τρισθενούς χρωμίου με προσρόφηση του στα βιολογικά στερεά και στην συνέχεια με απλή καθίζηση ή αν απαιτείται και με διύλιση.



Σχήμα 2.48: Ροϊκό διάγραμμα συστήματος βιολογικής επεξεργασίας υπόγειων υδάτων για την απομάκρυνση του χρωμίου (προσωπικό αρχείο)

Οι επιμέρους στόχοι της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι:

α) η διερεύνηση των κυριότερων παραγόντων που επιδρούν στην απομάκρυνση εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα, με τη χρήση βιολογικών μεθόδων άντλησης και επεξεργασίας β) η βελτιστοποίηση της βιολογικής μεθόδου απομάκρυνσης του χρωμίου από τα υπόγεια νερά με στόχο την επίτευξη της μέγιστης δυνατής απομάκρυνσης εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα στο χαμηλότερο δυνατό κόστος και γ) η μελέτη της κινητικής που ακολουθεί η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου και η εκτίμηση της τοξικής επίδρασης του στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Η διερεύνηση των παραγόντων που επιδρούν στην απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα, επιτεύχθηκε με τη σχεδίαση και λειτουργία βιοαντιδραστήρων διαλείποντος έργου εργαστηριακής κλίμακας, με μετρήσεις που διεξάγονταν σε καθημερινή βάση.

Στο πλαίσιο της διερεύνησης της επίδρασης διαφόρων λειτουργικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στην βιολογική απομάκρυνση του χρωμίου από τα υπόγεια νερά, εξετάστηκαν οι ακόλουθοι παράγοντες:

α) Οι οξειδοαναγωγικές συνθήκες που επικρατούν στον βιοαντιδραστήρα. Οι συνθήκες που μελετήθηκαν αρχικά ήταν αερόβιες, αναερόβιες και ανοξικές, με κάθε πιθανό συνδυασμό που θα μπορούσε να επιφέρει τη μεγαλύτερη και ταχύτερη βιομετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III)

β) Το είδος και η συγκέντρωση της οργανικής τροφής που απαιτείται να προστίθεται στο υπόγειο νερό για την υποστήριξη της βιολογικής αναγωγής του Cr(VI). Εξετάστηκαν εύκολα και δύσκολα βιοδιασπάσιμες πηγές οργανικής τροφής και συγκεκριμένα γλυκόζη, γάλα, μείγμα γλυκόζης και γάλακτος και τυρόγαλο σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

γ) Η συμπεριφορά συστημάτων επεξεργασίας υπογείου νερού επιβαρυσμένου με υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI), ο προσδιορισμός των μέγιστων ρυθμών ανάπτυξης των μικροοργανισμών και τα όρια τοξικότητάς τους.

δ) Για την ελαχιστοποίηση του κόστους το σύστημα επεξεργασίας θα πρέπει να επιτυγχάνει υψηλό βαθμό απομάκρυνσης χρωμίου σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και να

μην απαιτείται θέρμανση, για το λόγο αυτό εξετάστηκε επίσης ο παράγοντας θερμοκρασία.

ε) ο υδραυλικός χρόνος παραμονής και η χρήση αμμόφιλτρου κατάντι της εκροής ενός αναερόβιου αντιδραστήρα.

Για τη διερεύνηση της επίδρασης όλων των ανωτέρω παραμέτρων χρησιμοποιήθηκαν οι εργαστηριακής κλίμακας βιοαντιδραστήρες διαλείποντος έργου, σε πειράματα στα οποία οι παραπάνω μεταβλητές διαφοροποιούνταν, προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση της κάθε παραμέτρου στο ποσοστό απομάκρυνσης του Cr(VI) και του TCr.

Η μελέτη της κινητικής που ακολουθεί η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου και η εκτίμηση της τοξικής επίδρασης του Cr(VI) στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε για συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου που κυμαίνονταν μεταξύ 0 – 15 mg/L Cr(VI). Για την εκτίμηση της τοξικής επίδρασης του Cr(VI) στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών, διεξήχθησαν πειράματα ασυνεχούς τροφοδοσίας-εντατικής παρακολούθησης (batch), χρησιμοποιώντας τη βιομάζα των μητρικών καλλιιεργειών από τους SBR αντιδραστήρες. Σκοπός αυτών ήταν η εκτίμηση της επίδρασης του εξασθενούς χρωμίου στην ειδική ταχύτητα σύνθεσης μικροοργανισμών. Στο πλαίσιο των ανωτέρω πειραμάτων εφαρμόστηκε η μέθοδος της Φθορίζουσας Επί Τόπου Υβριδοποίησης (Fluorescent In Situ Hybridization- FISH), με στόχο τον ποσοτικό προσδιορισμό των βακτηρίων που μπορούν να αναπτυχθούν στο σύστημα βιολογικής επεξεργασίας των υπόγειων υδάτων για την απομάκρυνση του χρωμίου.

Κεφάλαιο 3: Περιγραφή Εργαστηριακών Διατάξεων - Πειραματικό Πρωτόκολλο

3.1 Εισαγωγή

Αναφορικά με τη βιβλιογραφία του Κεφαλαίου 2, μελετώντας δηλαδή τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των μεθόδων που έχουν εφαρμοστεί ως τώρα για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου, οι βιολογικές μέθοδοι φαίνεται να κερδίζουν συνεχώς έδαφος λόγω του χαμηλού κόστους τους (κατασκευαστικού και λειτουργικού), την εύκολη συντήρηση και λειτουργία, τα υψηλά ποσοστά απόδοσης και την παραγωγή σχετικά χαμηλών ποσοτήτων τοξικών αποβλήτων.

Ωστόσο, όπως έχει προαναφερθεί, οι περισσότερες μελέτες εφαρμόστηκαν σε λύματα ή βιομηχανικά απόβλητα, ενώ τα τελευταία χρόνια έχει κριθεί αναγκαία η απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου και από τα υπόγεια νερά. Ειδικότερα, λόγω της έκτασης που έχει λάβει το πρόβλημα στον ποταμό Ασωπό και σε άλλες περιοχές της Ελλάδας, η παρούσα διδακτορική έρευνα εστίασε στη βιολογική απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου από το υπόγειο νερό συνδυάζοντας πειράματα με αντιδραστήρες διαλείποντος έργου-συνεχούς λειτουργίας (Sequencing Batch Reactors), πειράματα με αντιδραστήρες διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας (Batch Reactors) και τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου με τεχνική αντίθεσης φάσεως (χρωστικές τεχνικές Gram και Neisser) συνδεδεμένο με ηλεκτροκίνητη τράπεζα στους (άξονες x,y) και έγχρωμη ψηφιακή κάμερα μικροσκοπίας, με σκοπό την ποσοτικοποίηση και την καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των μικροοργανισμών που ανάγουν το Cr(VI).

Για τους σκοπούς της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε μια σειρά από πειράματα, για τα οποία ήταν απαραίτητη η προμήθεια και η χρήση εργαστηριακού εξοπλισμού και η ανάπτυξη κατάλληλων εργαστηριακών μεθόδων. Τα πειράματα αυτά διήρκησαν από το Σεπτέμβριο του 2012 έως το Σεπτέμβριο του 2015 και πραγματοποιήθηκαν όλα στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας (Ε.Υ.Τ) του Ε.Μ.Π. Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφονται οι διατάξεις των βιοαντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν, ο τρόπος της

λειτουργία τους καθώς και οι μέθοδοι προσδιορισμού των λειτουργικών παραμέτρων τους.

3.2 Περιγραφή Εργαστηριακών Διατάξεων

3.2.1 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου-Συνεχούς Λειτουργίας (SBR)

Οι στόχοι των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν με αντιδραστήρες διαλείποντος έργου – συνεχούς τροφοδοσίας ήταν οι εξής:

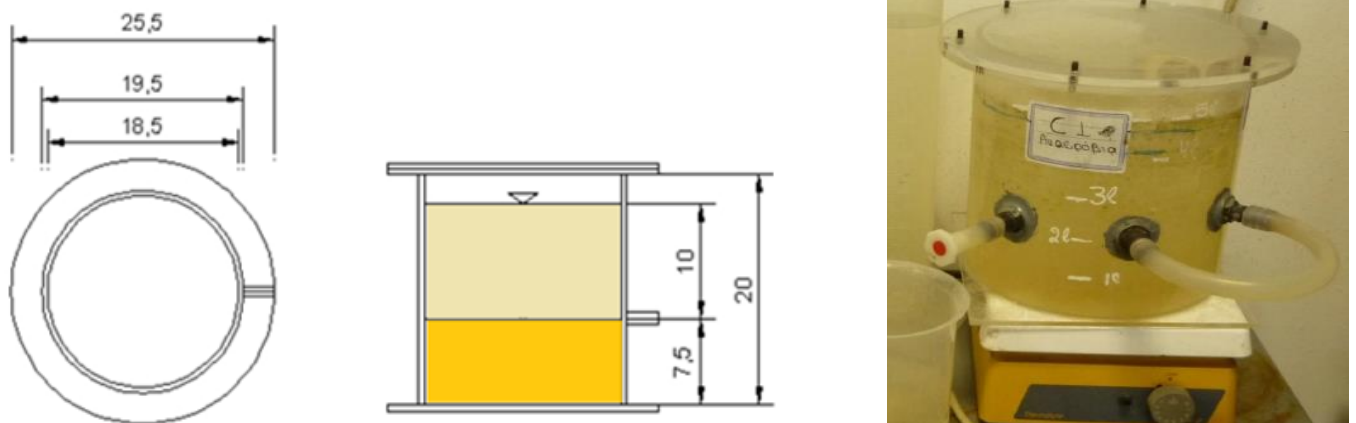
- Η διερεύνηση της απόδοσης του κάθε συστήματος ως προς την απομάκρυνση ολικού και εξασθενούς χρωμίου κάτω από αερόβιες, ανοξικές και αναερόβιες συνθήκες σε μητρικές καλλιέργειες με τη χρήση της βιολογικής επεξεργασίας, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις/είδη υποστρώματος, διαφορετικές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου και υδραυλικό χρόνο παραμονής (μονή/διπλή/τριπλή τροφοδοσία). Επιπλέον κρίθηκε αναγκαία η διερεύνηση του ρόλου της ηλικίας της ιλύος και του εγκλιματισμού της βιομάζας στην παρατηρούμενη τοξικότητα καθώς και ο παράγοντας θερμοκρασία.
- Να παράσχει εργαλεία σχεδιασμού και λειτουργίας μονάδων με σκοπό να χρησιμοποιηθούν αργότερα σε συστήματα πραγματικής κλίμακας.
- Να παράσχει βιομάζα εγκλιματισμένη στις συγκεκριμένες συνθήκες λειτουργίας των αντιδραστήρων διαλείποντος έργου – συνεχούς τροφοδοσίας, ώστε να είναι δυνατή η εκτέλεση ειδικών πειραμάτων για την εκτίμηση των χαρακτηριστικών της βιοκοινότητας που αναπτύχθηκε στις συγκεκριμένες συνθήκες.

Για τους παραπάνω λόγους, επιλέχθηκαν να κατασκευαστούν αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (SBR), οι οποίοι αποτελούν μία χρήσιμη παραλλαγή της συμβατικής μεθόδου του συστήματος της ενεργού ιλύος. Η διαφοροποίηση σε σχέση με τη συμβατική

σχεδίαση αντιδραστήρων ενεργού ιλύος είναι ότι στους αντιδραστήρες διαλείποντος έργου ή εναλλασσόμενης λειτουργίας (SBR) όπως έχει προαναφερθεί, οι φάσεις της επεξεργασίας διαχωρίζονται χρονικά και όχι χωρικά καθώς οι φάσεις της τροφοδοσίας, της καθίζησης και της εκκένωσης, διαδέχονται η μια την άλλη. Έτσι, δεν απαιτούνται ξεχωριστές δεξαμενές βιολογική επεξεργασίας και καθίζησης αλλά οι δυο αυτές διεργασίες πραγματοποιούνται σε μια κοινή δεξαμενή.

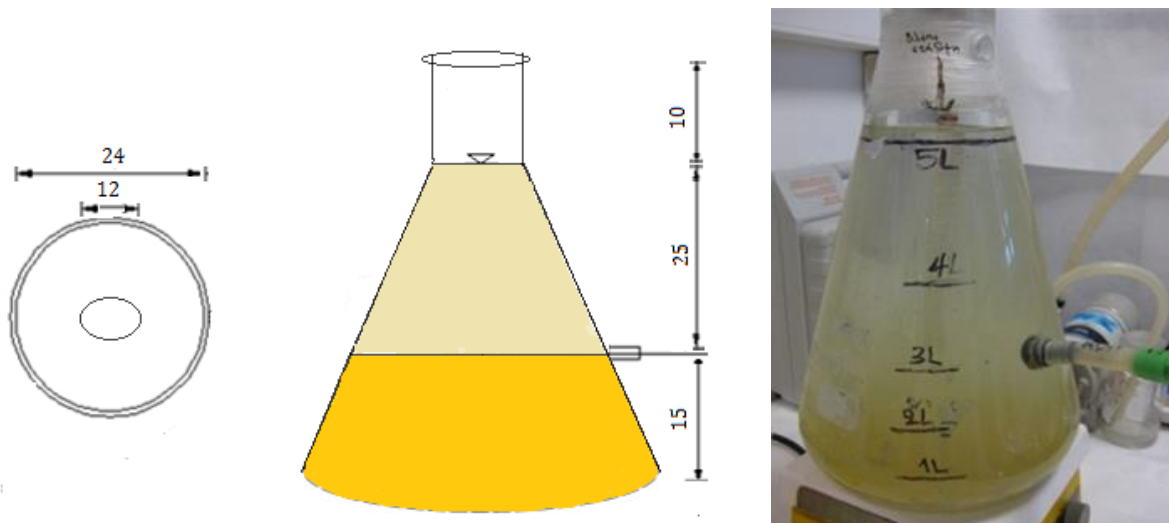
Τα τρία είδη SBR αντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν, τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά τους και ο όγκος είναι τα εξής:

1. Κυλινδρικοί διαφανείς plexiglass αντιδραστήρες χωρητικότητας $V_{tot} = 5$ L (Σχήμα 3.1) με λειτουργικό όγκο $Q_{in} = 3$ L.



Σχήμα 3.1: Κυλινδρικοί διαφανείς plexiglass αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας 5L

2. Κωνικοί διαφανείς γυάλινοι αντιδραστήρες (Σχήμα 3.2), στις οποίες έγινε βαθμονόμηση και υπολογίστηκε ότι ο όγκος νερού στην είσοδο ανέρχεται στα $Q_{in} = 3$ L και ο συνολικός όγκος επίσης προέκυψε στα $V_{tot} = 5$ L.

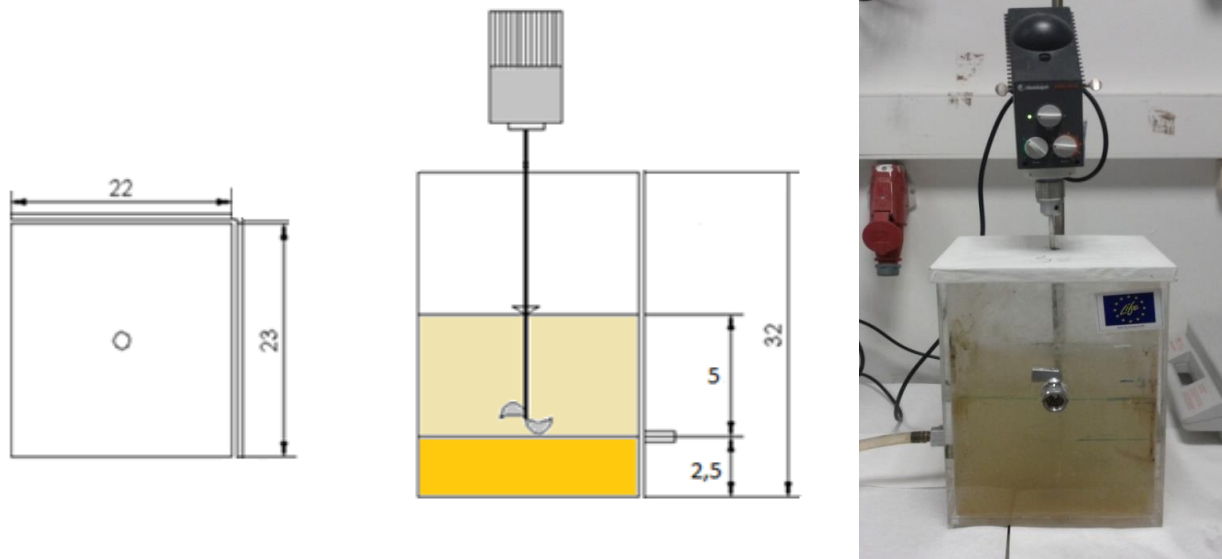


Σχήμα 3.2: Κωνικοί διαφανείς γυάλινοι αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας 5 L

3.Ορθογώνιοι διαφανείς plexiglass αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας περίπου 15 L, οι οποίες αποτυπώνονται σε όψη και κάτοψη με τις διαστάσεις της στο Σχήμα 3.3. Στα πειράματα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν συνολικό ωφέλιμο όγκο 7,5 L και $Q_{in}= 5$ L.

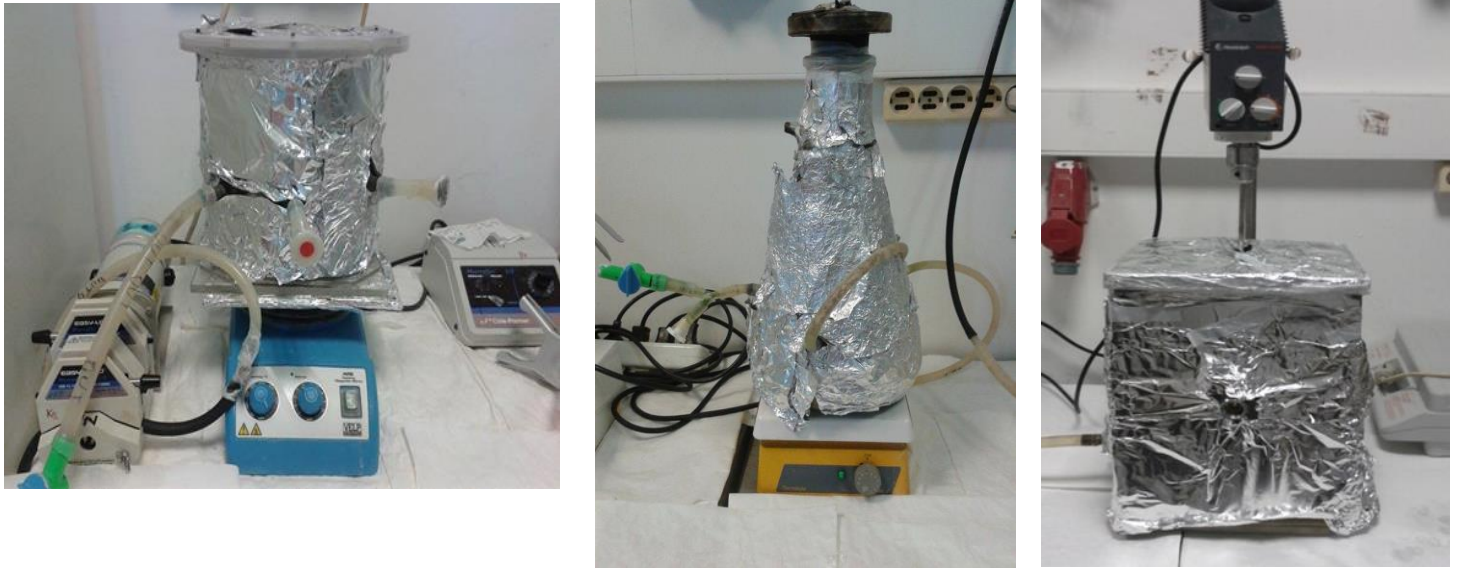
Η ανάδευση πραγματοποιούταν με μηχανικό αναδευτήρα τύπου IKA τύπου RW20 digital & RW20n.

Για την προσομοίωση αερόβιων συνθηκών χρησιμοποιήθηκε αεροσυμπιεστής και χρονοδιακόπτης για αυτόματη λειτουργία της βαλβίδας παροχής αέρα. Με χρήση τεσσάρων διαχυτήρων σε κάθε γωνία του αντιδραστήρα γινόταν η παροχέτευση του αέρα για καλύτερη ανάδευση και ομοιόμορφη διάχυση αυτού στο ανάμικτο υγρό. Επίσης, με την είσοδο αέρα στο βάθος του αντιδραστήρα αποτρεπόταν τυχόν συσσώρευση βιομάζας στις γωνίες του αντιδραστήρα, καθώς η μηχανική ανάδευση σε περιπτώσεις ορθογώνιων δεξαμενών ίσως δεν επαρκεί για να αποτρέψει αυτό το φαινόμενο.



Σχήμα 3.3: Ορθογώνιοι διαφανείς plexiglass αντιδραστήρες συνολικής χωρητικότητας 7,5 L

Στις δεξαμενές όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 3.4), προσαρμοζόταν ειδικά σχεδιασμένο άνω κάλυπτρο και parafilm επειδή χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για την προσομοίωση ανοξικών/αναερόβιων συνθηκών (εκτός από τον τύπο αντιδραστήρα 3 που χρησιμοποιήθηκε και για αερόβιες συνθήκες), ενώ καλύπτονταν από φύλλα αλουμινίου (αλουμινόχαρτα) για την αποφυγή του φαινομένου της φωτοσύνθεσης, κατά το οποίο είναι δυνατή η διάχυση ποσοτήτων οξυγόνου στο μείγμα του αντιδραστήρα. Για να επικρατήσουν ομοιόμορφες συνθήκες στο εσωτερικό των αντιδραστήρων χρησιμοποιήθηκε σύστημα ανάμειξης βιομάζας.



Σχήμα 3.4: Οι χρησιμοποιούμενοι SBR αντιδραστήρες καλυμμένοι με φύλλα αλουμινίου

Σημειώνεται επίσης ότι η έναρξη λειτουργίας των αντιδραστήρων έγινε με 0,4 L βιομάζας για τους τύπους αντιδραστήρων 1-2 και 2 L για τον τύπο 3 (MLSS~3000 mg/L) από χωνεμένη ιλύ της Εγκατάστασης Επεξεργασίας Λυμάτων της Ψυτάλλειας. Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν, ο τρόπος λειτουργίας και οι παράμετροι που μελετήθηκαν για κάθε πείραμα αναλύονται εκτενώς σε επόμενη παράγραφο (§3.3).

3.2.2 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου- Ασυνεχούς Λειτουργίας (Batch reactors)

Σκοπός των πειραμάτων αυτών ήταν η εποπτεία των συστημάτων μητρικής καλλιέργειας (αντιδραστήρες SBR) και η ανάγκη να ελεγχθούν επιμέρους μεταβλητές που αφορούν τις συνθήκες ανάπτυξης των μικροοργανισμών παρουσία Cr(VI), όπως Α) οι εξισώσεις κινητικής για την αναγωγή του Cr(VI), Β) ο συντελεστής ανάπτυξης βιομάζας μ_{max} , Γ) ο ετεροτροφικός συντελεστής μετατροπής βιομάζας Y (Heterotrophic Yield Coefficient) και

Δ) ο ποσοστιαίος υπολογισμός των ισοδύναμων ηλεκτρονίων που καταναλώνονται σε κάθε διεργασία. Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν, ο τρόπος λειτουργίας και οι παράμετροι που μελετήθηκαν για κάθε πείραμα αναλύονται εκτενώς στην επόμενη παράγραφο (§3.3).

Οι διατάξεις των αντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν διέφεραν ανάλογα με το είδος του batch πειράματος και αναφέρονται επιγραμματικά ως εξής:

A. Πειράματα κινητικής για την αναγωγή Cr(VI)

Για αυτό το είδος πειραμάτων δε χρειάστηκε να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές διατάξεις από τις ήδη υφιστάμενες αφού το δείγμα από τις μητρικές καλλιέργειες (αερόβιες, ανοξικές, αναερόβιες) διοχετευόταν σε tubes corning των 50 mL (Σχήμα 3.5) και γίνονταν οι κατάλληλες μετρήσεις που θα αναλυθούν παρακάτω.



Σχήμα 3.5: Tubes corning των 50 mL με τα οποία γινόταν δειγματοληψία από μητρικές καλλιέργειες

B. Πειράματα προσδιορισμού μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης μικροοργανισμών (μ_{max})

Τα πειράματα του προσδιορισμού του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκαν για μητρικές καλλιέργειες στις οποίες επικρατούσαν ανοξικές ή/και αναερόβιες συνθήκες. Χρησιμοποιήθηκαν γυάλινες κωνικές φιάλες του 1 L (Σχήμα 3.6), τα

πώματα των οποίων ήταν σφραγισμένα με parafilm. Θα μπορούσαν αντί αυτών των αντιδραστήρων να χρησιμοποιηθούν διαφορετικοί μικρότερου όγκου, με δυνατότητα πλήρους σφραγίσματος. Ωστόσο στα συγκεκριμένα πειράματα ήταν απαραίτητη η ανά τακτά χρονικά διαστήματα δειγματοληψία, γεγονός που θα δημιουργούσε πρόβλημα στην εξασφάλιση ανοξικών/αναερόβιων συνθηκών. Για την εξασφάλιση ανοξικών/αναερόβιων συνθηκών, έγινε σύνδεση των αντιδραστήρων με διαχυτήρα φιάλης βιομηχανικού αζώτου (N_2) με σύστημα μανόμετρου-αγωγού-βελόνας (Σχήμα 3.7). Η εισαγωγή του αερίου αζώτου πραγματοποιούνταν την απαλλαγή των αντιδραστήρων από το οξυγόνο και τα προϊόντα της μεθανογένεσης και της θεικοαναγωγής. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιούνταν με τη βελόνα βυθισμένη εντός του υγρού των αντιδραστήρων.



Σχήμα 3.6, 3.7: Οι χρησιμοποιούμενοι batch αντιδραστήρες και η φιάλη αζώτου

Γ. Πειράματα προσδιορισμού του ετεροτροφικού συντελεστή μετατροπής βιομάζας Υ

Για να προσδιοριστεί ο ρυθμός ανάπτυξης των μ/ο σε σχέση με την κατανάλωση του COD ήταν απαραίτητο να εξασφαλιστούν πλήρως αναερόβιες συνθήκες αφού το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε για τα εν λόγω πειράματα ανήκε σε ανοξική ή/και αναερόβια μητρική καλλιέργεια. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν γυάλινοι κυλινδρικοί αντιδραστήρες συνολικού όγκου 300 mL, οι οποίοι μπορούσαν πλήρως να σφραγιστούν (Σχήμα 3.6).

Δ. Πειράματα προσδιορισμού ισοζυγίου ηλεκτρονίων

Τα πειράματα προσδιορισμού του ποσοστιαίου υπολογισμού των ισοδύναμων ηλεκτρονίων που καταναλώνονται σε κάθε διεργασία, πραγματοποιήθηκαν για καλλιέργειες μ/ο στις οποίες επικρατούσαν ανοξικές ή/και αναερόβιες συνθήκες. Χρησιμοποιήθηκαν γυάλινοι σφραγισμένοι κυλινδρικοί αντιδραστήρες συνολικού όγκου 300 mL (Σχήμα 3.8). Η μόνη διαφορά ως προς τη διαδικασία που ακολουθήθηκε σε σχέση με τον προσδιορισμό του Υ, ήταν ο συνολικός χρόνος διάρκειας του πειράματος και οι μεταβλητές που μετρήθηκαν με το πέρας αυτού.



Σχήμα 3.8: Χρησιμοποιούμενος αντιδραστήρας στα batch πειράματα προσδιορισμού του Υ και του I.H

3.3 Περιγραφή Λειτουργίας και Παρακολούθησης Εργαστηριακών Διατάξεων

3.3.1 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου-Συνεχούς Τροφοδοσίας (SBR)

Το θέμα της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η «Διερεύνηση Βιολογικών Μεθόδων Απομάκρυνσης Ολικού και Εξασθενούς Χρωμίου από τα Υπόγεια Ύδατα». Για το σκοπό αυτό, κρίθηκε απαραίτητο να προσομοιωθεί το εισερχόμενο υπόγειο νερό με διαφορετικές συγκεντρώσεις Cr(VI). Επιπλέον ήταν αναγκαίο να ληφθούν υπόψη οι οξειδοαναγωγικές συνθήκες που πρέπει να επικρατούν σε έναν βιοαντιδραστήρα για την ταχύτερη αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) καθώς και η ποσότητα υποστρώματος που χρειάζονται οι μ/ο για να συμμετάσχουν στη διαδικασία της βιομετατροπής. Εξαιτίας όλων των παραπάνω μελετήθηκαν εκτενώς σενάρια ως προς την αρχική συγκέντρωση του Cr(VI) στο υπόγειο νερό (η οποία κυμάνθηκε από 0-15000 μg/L), ως προς τις οξειδοαναγωγικές συνθήκες (αερόβιες ή/και αναερόβιες ή/και ανοξικές), ως προς την αρχική συγκέντρωση του υποστρώματος COD_{tot} (η οποία κυμάνθηκε από 100-400 mg/L) καθώς και ως προς το είδος του υποστρώματος (100% γάλα, 100% τυρόγαλο, 80% ζάχαρη-20% γάλα, 90% ζάχαρη-10% γάλα, 100% ζάχαρη) με το οποίο έπρεπε να εφοδιαστεί ένας αντιδραστήρας. Σκοπός ήταν να προκύψει το σύστημα με το μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας όσον αφορά την αναγωγή του Cr(VI), με τη μικρότερη ανάγκη για COD, την χαμηλότερη παραγωγή βιομάζας, με τον ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης μ/ο παρουσία Cr(VI) και όλα τα παραπάνω με το χαμηλότερο δυνατό κόστος λειτουργίας.

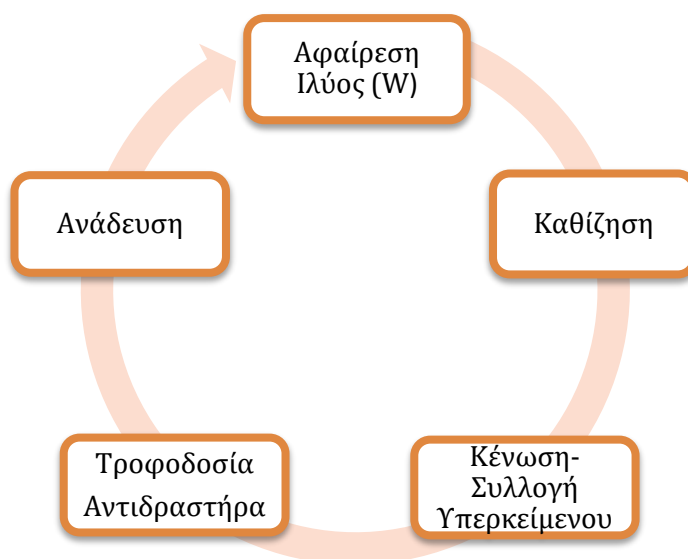
Αναφέρονται επιγραμματικά όλες οι μεταβλητές που συνδυάστηκαν και μελετήθηκαν: η οξειδοαναγωγική συνθήκη που επικρατεί στον αντιδραστήρα, η αρχική συγκέντρωση του Cr(VI) και του COD_{tot}, το είδος υποστρώματος, ο χρόνος παραμονής των στερεών (θ_c), ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT), η θερμοκρασία (T) και τέλος παρατίθεται και η διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα σε ημέρες (η διάρκεια αφορά την εγκλιματισμένη περίοδο λειτουργίας- ο χρόνος μέχρι να εγκλιματιστεί η βιομάζα ορίστηκε στα 3*θ_c από την έναρξη του κάθε συστήματος).

3.3.2 Περιγραφή Λειτουργίας

3.3.2.1 Πειράματα Ενός Κύκλου Λειτουργίας

Ο κύκλος λειτουργίας του αντιδραστήρων ήταν 24 h και περιελάμβανε 22,5 h λειτουργίας υπό ανάδευση, 1 ώρα καθίζηση και 0,5 ώρες άδειασμα και τροφοδοσία.

Όλες οι διεργασίες των συστημάτων λαμβάνουν χώρα εντός της δεξαμενής και διακρίνονται σε 5 λειτουργικές φάσεις. Η συνολική διάρκεια αυτών των φάσεων είναι μία ημέρα δηλαδή 24 h. Ακολουθεί διάγραμμα ροής για την καθημερινή λειτουργία των συστημάτων:

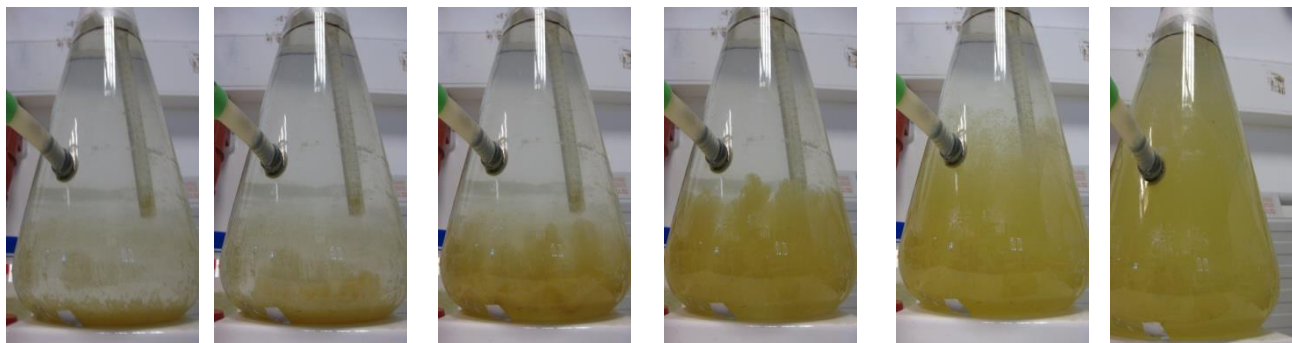


Σχήμα 3.9: Διάγραμμα ροής της καθημερινής λειτουργίας των συστημάτων

Παρακάτω παρουσιάζονται οι λειτουργικές φάσεις και οι χρόνοι που απαιτούνται για να ολοκληρωθούν:

Τροφοδοσία-Πλήρωση: Καθημερινά γινόταν προσθήκη του νερού προς επεξεργασία που περιείχε: υπόγειο νερό από το Πολυτεχνείο, εξασθενές χρώμιο, το υπόστρωμα και θρεπτικά που εξασφάλιζαν την ανάπτυξη των μ/ο (άζωτο και φωσφόρος). Χρόνος ολοκλήρωσης: 10 min.

Ανάδευση: Για να επικρατούν ομοιόμορφες συνθήκες στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και για να έρθει η βιομάζα σε επαφή με το νερό προς επεξεργασία χρησιμοποιούνταν σύστημα ανάδευσης (Σχήμα 3.10). Χρόνος ολοκλήρωσης: 22,5 h.



Σχήμα 3.10: Το σύστημα ανάδευσης (η βιομάζα σε επαφή με το νερό)

Αφαίρεση ιλύος: Καθημερινά στο τέλος του σταδίου ανάδευσης γινόταν (χειρωνακτικά) αφαίρεση κατάλληλης ποσότητας (όγκο) ανάμικτου υγρού (W) που λόγω ευκολίας αφαιρούνταν όταν ακόμα λειτουργούσε η ανάδευση. Η αφαίρεση της λάσπης και του υπερκείμενου υγρού διεξαγόταν από την κατώτερη οπή των αντιδραστήρων.

Η αφαίρεση ανάμικτου υγρού έχει ως στόχο, να διατηρηθεί σταθερός ο χρόνος παραμονής των στερών (θ_c). Όλα τα συστήματα επιλέχθηκαν να λειτουργούν με χρόνο παραμονής από 3 ως 10 ημέρες. Για να προκύψει η ποσότητα της λάσπης που πρέπει να αφαιρεθεί λύθηκε η εξίσωση του θ_c ως προς W :

$$\theta_c = \frac{V \cdot X}{W \cdot X + (Q - W) \cdot X_e} \rightarrow W = \frac{V \cdot X - Q \cdot X_e \cdot \theta_c}{\theta_c \cdot (X - X_e)} \rightarrow W = \frac{V \cdot MLSS - Q \cdot TSS \cdot \theta_c}{\theta_c \cdot (MLSS - TSS)}$$

Για την αρχική ποσότητα λάσπης που αφαιρείται απλοποιούμε την παραπάνω εξίσωση με $SS_{out} = 0 \text{ mg/L}$, οπότε προκύπτει η τιμή της από τον τύπο: $W = \frac{1}{\theta_c} \cdot V_{δεξ}$.

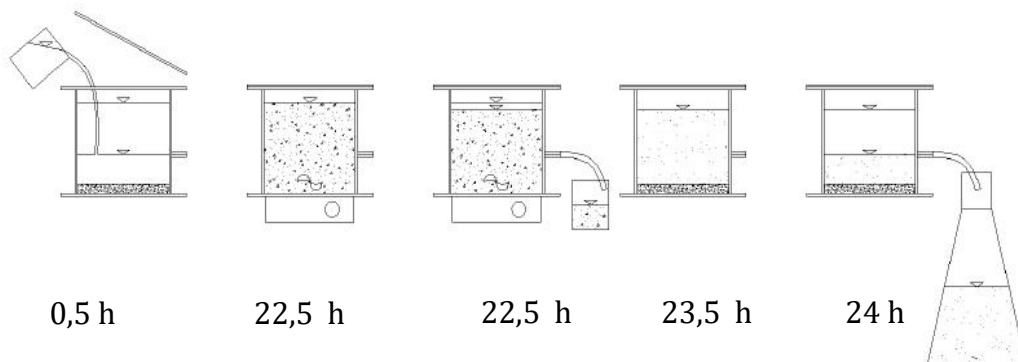
Έπειτα, με βάση τις προκύπτουσες μετρήσεις $MLSS$ και TSS_{out} , γινόταν καθημερινή επαλήθευση της ποσότητας W για τη διατήρηση του επιθυμητού χρόνου παραμονής

στερεών και αναλόγως το αποτέλεσμα γινόταν ανάλογη προσθήκη στους αντιδραστήρες, από τη λάσπη που κρατήθηκε. Χρόνος ολοκλήρωσης: 10 min.

Καθίζηση: Σε αυτή τη φάση γινόταν διαχωρισμός των στερεών από το επεξεργασμένο υγρό σε συνθήκες ηρεμίας. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της καθίζησης των στερεών, δηλαδή τη διακοπή της ανάδευσης. Χρόνος ολοκλήρωσης: 1 h.

Κένωση-Συλλογή Υπερκείμενου: Σε αυτή τη φάση γινόταν η απομάκρυνση της υγρής φάσης (απορρυπασμένο νερό). Χρόνος ολοκλήρωσης: 10 min.

Τα στάδια απεικονίζονται και σχηματικά και για τους τρεις τύπους αντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν:



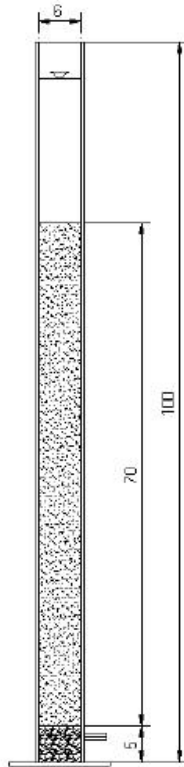
Σχήμα 3.11: Απεικόνιση του κύκλος πειράματος στους αντιδραστήρες SBR: γέμισμα, ανάδευση, αφαίρεση λάσπης, καθίζηση, συλλογή εκροής

3.3.2.2 Πειράματα Ενός Κύκλου Λειτουργίας με προσθήκη Αμμοδιυλιστηρίου

Για τη διατήρηση του συνολικού όγκου χρωμίου (TCr_{tot}) σε χαμηλά επίπεδα ($<50 \mu\text{g/L}$ -νομοθετικό όριο ύδρευσης) προστίθεται κατάντι της εκροής των SBR αντιδραστήρων μια μονάδα διύλισης-αμμόφιλτρο (SandFilter-SF). Η γεωμετρία της μονάδας αμμόφιλτρου αποδίδεται στο Σχήμα 3.12.

Η στήλη διύλισης του 1 m πληρούται με 70 cm χαλαζιακή άμμο, η οποία εδράζεται σε 5 cm αποστραγγιστικής βάσης χαλικιού. Στο ύψος της βάσης χαλικιού, το διυλιστήριο φέρει

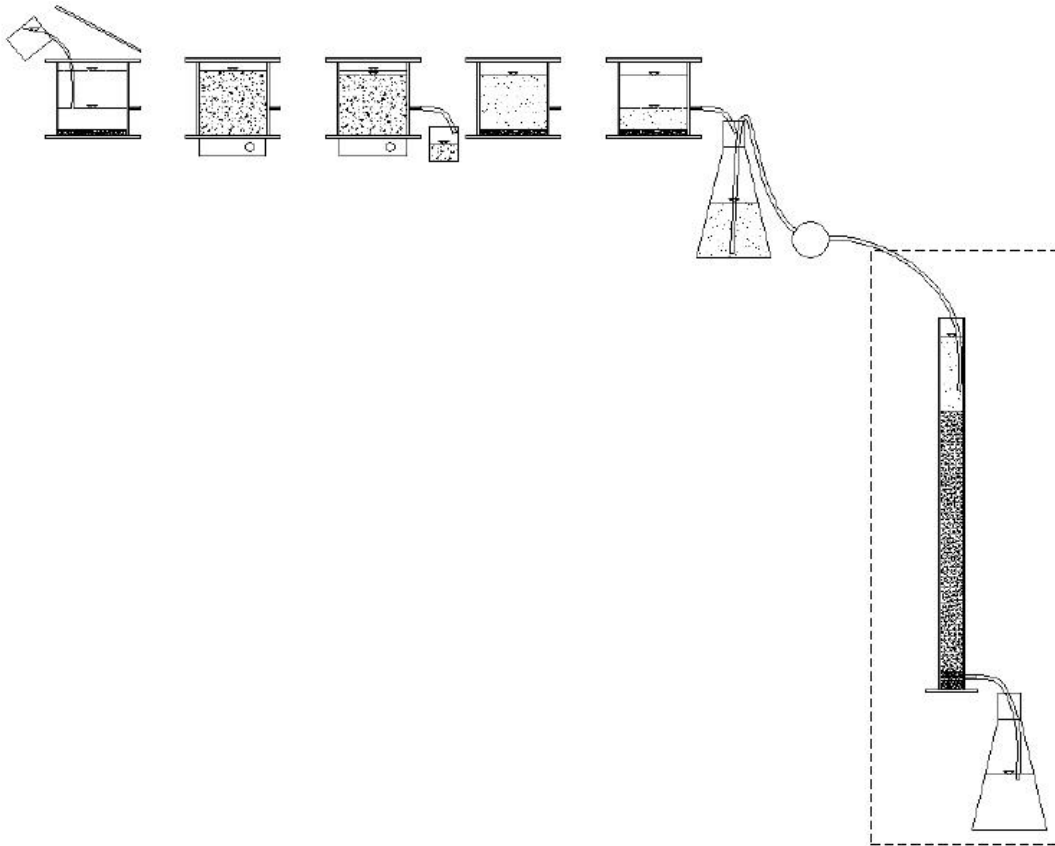
στόμιο εκροής. Η μονάδα εδράζεται εντός λεκάνης για τη συλλογή τυχόν διαφορών όπως φαίνεται και στην φωτογραφία. Η βάση της στήλης ενισχύθηκε με στεγανωτική κόλλα για ελαχιστοποίηση των διαρροών.



Σχήμα 3.12: Γεωμετρία αμμόφιλτρου και χρησιμοποιούμενη διάταξη

Το αμμοδιυλιστήριο σχεδιάστηκε να λειτουργεί με υδραυλική φόρτιση περί τα $6 \text{ m}^3 / \text{m}^2 / \text{h}$ που αντιστοιχεί σε ρυθμό εφαρμογής του υπερκείμενου Q στην κεφαλή του διυλιστηρίου περί τα $0,40 \text{ L/min}$. Η παροχή αυτή εφαρμόζεται χρησιμοποιώντας περισταλτική αντλία διπλής κεφαλής Masterflex L/S. Καθ' όλη τη διάρκεια της λειτουργίας του δεν έγινε καθαρισμός του διυλιστικού μέσου, συνεπώς δεν αφαιρέθηκε επιφανειακό στρώμα χαλαζιακής άμμου. Ωστόσο σταδιακά παρατηρήθηκε για σταθερή παροχή $0,40 \text{ L/min}$ ταχύτερη άνοδος στάθμης της ελεύθερης επιφάνειας εντός της στήλης (ένδειξη αύξησης ενεργειακών απωλειών. Εφαρμόστηκε χειροκίνητη αυξομείωση της παροχής με σκοπό την αποφυγή υπερχειλίσης του προς διύλιση όγκου. Επιπλέον η μονάδα εξασφαλίστηκε έναντι πτώσης ή καμπτικής καταπόνησης με κατάλληλη πρόσδεση.

Ο κύκλος λειτουργίας του συστήματος SBR-SF είναι προφανώς επέκταση ενός αναερόβιου υφιστάμενου SBR συστήματος. Ένας πλήρης κύκλος λειτουργίας του ολοκληρωμένου συστήματος SBR-SF αποδίδεται γραφικά στο Σχήμα 3.13. Οι 5 λειτουργικές φάσεις επομένως εκτελούνται βάσει της προαναφερθείσας διαδικασίας και προστίθεται το στάδιο διύλισης και συλλογής του εξερχόμενου όγκου (διακεκομμένο περίγραμμα).



Σχήμα 3.13: Κύκλος λειτουργίας SBR-SF: τροφοδοσία, ανάδευση, αφαίρεση ιλύος, καθίζηση, κένωση-συλλογή υπερκείμενου, διύλιση υπερκείμενου-συλλογή διυλισμένου

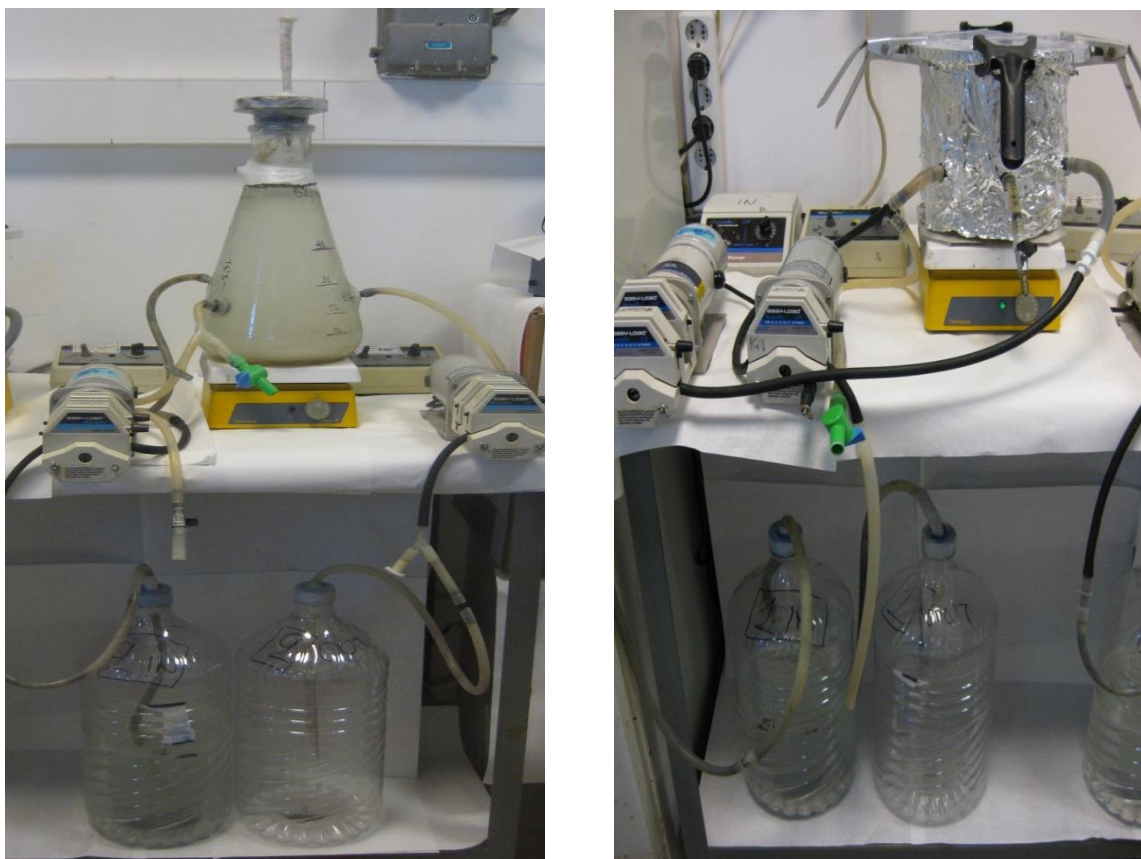
3.3.2.3 Πειράματα Πολλαπλών Κύκλων Λειτουργίας

Κατά τη διάρκεια λειτουργίας των παραπάνω συστημάτων διαπιστώθηκε ότι η απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου γινόταν με ικανοποιητικούς ρυθμούς σε σύντομο χρονικό διάστημα, οπότε θεωρήθηκε σκόπιμο να μειωθεί η διάρκεια του κύκλου λειτουργίας του αντιδραστήρα (24 h) ώστε να δοκιμαστούν τα όρια του συστήματος. Συνεπώς, αποφασίστηκε οι βιοαντιδραστήρες να επεξεργάζονται ανά ημέρα στον ίδιο όγκο μεγαλύτερες ποσότητες νερού ρυπασμένου με εξασθενές χρώμιο.

Για το λόγο αυτό, τέθηκαν σε λειτουργία οι παραπάνω SBR αντιδραστήρες, οι οποίοι με τη βοήθεια αυτόματου συστήματος αντλιών τροφοδοτούταν 2 ή 3 φορές την ημέρα, δηλαδή κάθε 12 h από την έναρξη της πρώτης τροφοδοσίας ή κάθε 8 h, αντίστοιχα.

Το κάθε σύστημα εκτός από το βιοαντιδραστήρα αποτελούνταν επίσης από (Σχήμα 3.14):

1. περισταλτική αντλία (διπλής κεφαλής) εισόδου και από μια εξόδου τύπου Masterflex L/S
2. μαγνητικό αναδευτήρα
3. πλαστικές φλάσκες των 10 L (αποθηκευτικοί χώροι της τροφής ή του υπερκείμενου υγρού)
4. ηλεκτρονικούς χρονοδιακόπτες όπου είχαν ρυθμιστεί ώστε να μπορεί να ολοκληρώνονται οι κύκλοι τροφοδοσίας και κατά τη διάρκεια της νύχτας



Σχήμα 3.14: Βιολογικά συστήματα απομάκρυνσης Cr(VI) με διπλό και τριπλό κύκλο τροφοδοσίας σε 24 h λειτουργίας

Με αυτόν τον τρόπο, σε κάθε σύστημα που εφαρμόστηκαν οι διαφορετικοί κύκλοι λειτουργίας, μεταβλήθηκε ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT). Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής είναι το μέσο χρονικό διάστημα κατά το οποίο διατηρείται το υπόστρωμα μέσα στο βιοαντιδραστήρα. Σχετίζεται με τον όγκο του αντιδραστήρα (V , m^3) και τον όγκο του υποστρώματος που τροφοδοτείται στη μονάδα του χρόνου (Q_{in} , m^3/d) σύμφωνα με την εξίσωση: $HRT = \frac{V}{Q_{in}}$ (d). Σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση, όσο αυξάνεται το υδραυλικό φορτίο τόσο μειώνεται ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, επομένως είναι σημαντικό να προσαρμοστεί στο ρυθμό αποσύνθεσης των χρησιμοποιούμενων υποστρωμάτων.

3.3.2.4 Περιγραφή Παρακολούθησης

Προκειμένου να γίνεται μία ολοκληρωμένη παρακολούθηση των συνθηκών που επικρατούν στο εσωτερικό των αντιδραστήρων, πραγματοποιούνταν μετρήσεις παραμέτρων και αναλύσεις σε εβδομαδιαία βάση. Οι μετρήσεις γίνονταν τόσο στο υπερκείμενο υγρό των αντιδραστήρων, δηλαδή στην έξοδο τους, όσο και στο ανάμικτο υγρό. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα συστατικά τροφοδοσίας και οι συγκεντρώσεις τους όπως προστίθεντο στην είσοδο του συστήματος (Πίνακας 3.1) καθώς και οι παράμετροι που παρακολουθούνταν 6 μέρες την εβδομάδα (Πίνακας 3.2). Σημειώνεται ότι η προσθήκη $\text{NO}_3\text{-N}$ αφορά ανοξικούς αντιδραστήρες.

Πίνακας 3.1: Συγκέντρωση συστατικών τροφοδοσίας στην είσοδο του συστήματος

Συστατικά τροφοδοσίας	Συγκέντρωση (mg/L)
Cr(VI)	0-15 (αναλόγως συνθηκών)
COD_{tot} (Ζάχαρη ή/και Γάλα ή Τυρόγαλο)	100-400 (αναλόγως συνθηκών)
NO₃-N	10
NH₄-N	6

Πίνακας 3.2: Πρόγραμμα εβδομαδιαίων αναλύσεων για τους SBR αντιδραστήρες

Παράμετροι	Συμβολισμός	Συχνότητα
Δυναμικό οξειδοαναγωγής	Redox	Καθημερινά
Διαλυμένο οξυγόνο	DO	Καθημερινά
pH	pH	Καθημερινά
Θερμοκρασία	T	Καθημερινά
Ολικά αιωρούμενα στερεά ανάμικτου υγρού	MLSS	3 φορές/εβδομάδα
Πτητικά αιωρούμενα στερεά ανάμικτου υγρού	MLVSS	3 φορές/εβδομάδα
Ολικά αιωρούμενα στερεά εξόδου	TSS _{out}	3 φορές/εβδομάδα
Ολικό COD εξόδου	COD _{total}	2 φορές/εβδομάδα
Διαλυτό COD εξόδου	COD _{soluble}	2 φορές/εβδομάδα
Ολικό Cr ανάμικτου υγρού/εξόδου	TCr	1 φορά/εβδομάδα
Διαλυτό Cr(VI) εξόδου	Cr(VI)	2 φορές/εβδομάδα
Νιτρικό άζωτο εξόδου	NO ₃ -N	1 φορά/εβδομάδα
Θειικά ιόντα εξόδου	SO ₄ ⁻²	1 φορά/εβδομάδα

3.3.3 Αντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου- Ασυνεχούς Λειτουργίας (Batch Reactors)

Τα πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρες διαλείποντος έργου-ασυνεχούς ροής (Batch Reactors) είχαν ως σκοπό την απομόνωση βιομάζας από μητρικές καλλιέργειες με δεδομένες συνθήκες λειτουργίας και τη μελέτη συγκεκριμένων παραμέτρων που θεωρήθηκε σκόπιμο να εξεταστούν κάτω από δυναμικές συνθήκες και με χρονικό βήμα μεταξύ ωρών και ημερών. Όπως έχει προαναφερθεί, τα batch πειράματα της παρούσας διατριβής χωρίστηκαν στις εξής κατηγορίες: πειράματα κινητικής για την αναγωγή Cr(VI), πειράματα προσδιορισμού του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης

μικροοργανισμών παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων εξασθενούς χρωμίου κάτω από ανοξικές ή αναερόβιες συνθήκες, του συντελεστή Y και του ισοζυγίου των ηλεκτρονίων. Επειδή τα σενάρια που εξετάστηκαν για τους SBR αντιδραστήρες όπως φάνηκε και από τον Πίνακα 3.1 ήταν πάρα πολλά, δεν ήταν εφικτό τα πειράματα με τους αντιδραστήρες διαλείποντος έργου-ασυνεχούς ροής (Batch Reactors) να πραγματοποιηθούν χρησιμοποιώντας βιομάζα από όλους. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3.4) παρατίθενται τα βασικά χαρακτηριστικά των μητρικών καλλιιεργειών που χρησιμοποιήθηκαν στα batch πειράματα και ποιο batch πείραμα αντιστοιχεί στην κάθε SBR καλλιέργεια.

3.3.4 Περιγραφή Λειτουργίας

3.3.4.1 Πειράματα Κινητικής για την Αναγωγή Cr(VI)

Στο πλαίσιο της διατριβής πραγματοποιήθηκαν batch πειράματα που αφορούν τη μελέτη της αναγωγής του Cr(VI) σε σχέση με το χρόνο, σε συνδυασμό με την κατανάλωση του COD_{sol} και των NO_3-N , με σκοπό να προσδιοριστεί ο ρυθμός αναγωγής του Cr(VI) που αντιστοιχεί στην 100% βιομετατροπή αυτού, σε διάφορες συνθήκες. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε κατά τη διεξαγωγή αυτών των πειραμάτων παρουσιάζεται παρακάτω:

1. Τροφοδοσία-Πλήρωση: Σε χρόνο $t=0$ προστίθεντο στις υπό εξέταση μητρικές καλλιέργειες το προς επεξεργασία, υπόγειο νερό που περιείχε: νερό από το Πολυτεχνείο, την ανάλογη συγκέντρωση Cr(VI) (200 $\mu\text{g/L}$), την ανάλογη συγκέντρωση (100-400 mg/L COD) και είδος υποστρώματος (γάλα ή/και ζάχαρη ή τυρόγαλο) και θρεπτικά που εξασφάλιζαν την ανάπτυξη των μ/ο (άζωτο και φωσφόρος) και γινόταν η πρώτη δειγματοληψία.
2. Ανάδευση-Δειγματοληψία: Για να επικρατούν ομοιόμορφες συνθήκες στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και για να έρθει η βιομάζα σε επαφή με το νερό προς επεξεργασία χρησιμοποιείτο σύστημα ανάδευσης. Σε τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν δειγματοληψία της τάξης των 50 mL. Δείγμα από τις υπό εξέταση μητρικές καλλιέργειες μ/ο λαμβανόταν αρχικά κάθε μία ώρα, ενώ στη συνέχεια κάθε δύο ώρες

και τελικά λαμβανόταν μία μέτρηση στο τέλος του 24ωρου κύκλου (δηλαδή το πρωί της επόμενης ημέρας).

Το δείγμα υγρού που λαμβανόταν αρχικά διηθούνταν μέσα από μεμβράνη (με διάμετρο πόρων 0,45 μm) χρησιμοποιώντας αντλία κενού.

Τέλος στο διηθημένο δείγμα γινόταν μέτρηση της τιμής εξασθενούς χρωμίου, διαλυτού COD και όπου χρειαζόταν των νιτρικών. Επιπλέον σε κάθε δειγματοληψία παρακολουθούνταν επίσης τα επίπεδα του pH, της θερμοκρασίας, του δυναμικού οξειδοαναγωγής (Redox) και του διαλυτού οξυγόνου (DO).

3. Συλλογή τελικού δείγματος: Μετά από 24 ώρες πραγματοποιείτο η συλλογή του τελευταίου δείγματος. Σε αυτή τη φάση ολοκληρωνόταν η διαδικασία και ο αντιδραστήρας λειτουργούσε ξανά σαν SBR ακολουθώντας τη συνήθη καθημερινή του λειτουργία.

Κάθε τέτοιου είδους πείραμα που μελετούσε συγκεκριμένες συνθήκες, επαναλήφθηκε 3 φορές (triplicate) για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

3.3.4.2 Πειράματα Προσδιορισμού Μέγιστου Ρυθμού Ανάπτυξης μ_{max}

Πειράματα ασυνεχούς τροφοδοσίας-εντατικής παρακολούθησης (batch) διεξήχθησαν ανά περίοδο λειτουργίας των SBR αντιδραστήρων, προκειμένου να μελετηθεί και να ποσοτικοποιηθεί ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών του κάθε συστήματος (μ_{max}) παρουσία συγκεντρώσεων εξασθενούς χρωμίου που κυμαίνονταν από 0 – 15000 $\mu\text{g/L}$. Για την επίτευξη αυτού του στόχου έπρεπε να μελετηθεί η αύξηση των αιωρούμενων πτητικών στερεών στο δείγμα και η συσχέτιση τους ως προς το χρόνο διεξαγωγής του πειράματος. Για το σκοπό αυτό γινόταν η παρακάτω προετοιμασία και ακολουθούνταν τα εξής βήματα:

1. Τροφοδοσία-Πλήρωση: Δείγμα βιομάζας (400 mL) και υπερκείμενου υγρού (600 mL) της υπό εξέταση SBR μητρικής καλλιέργειας η οποία αναπτυσσόταν στην ίδια συγκέντρωση Cr(VI) (0-15000 $\mu\text{g/L}$) και στις ίδιες συνθήκες που θα πραγματοποιείτο το batch πείραμα (αναερόβια ή ανοξική-αναερόβια), μεταφερόταν σε διαφορετικό,

μικρότερου μεγέθους αντιδραστήρα. Σε αυτόν προστίθετο ανάλογη συγκέντρωση Cr(VI) (0-15,000 $\mu\text{g/L}$), υπόστρωμα (90% ζάχαρη-10% γάλα) της τάξης των 5,000 $\text{mg/L COD}_{\text{tot}}$ και θρεπτικά που εξασφάλιζαν την ανάπτυξη των μ/ο (άζωτο και φωσφόρος) μεγαλύτερης αναλογίας συγκεντρώσεων από την καθημερινή τροφοδοσία των βιοαντιδραστήρων SBR, ώστε να μην αποτελούν περιοριστικό παράγοντα και γινόταν η πρώτη δειγματοληψία ($t=0$).

2. Ανάδευση-Δειγματοληψία: Για να επικρατούν ομοιόμορφες συνθήκες στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και για να έρθει η βιομάζα σε επαφή με το προς επεξεργασία μείγμα χρησιμοποιείτο σύστημα ανάδευσης. Οι διατάξεις που χρησιμοποιηθήκαν ήταν κωνικές φιάλες του 1 L (Σχήμα 3.11) τα πώματα των οποίων ήταν σφραγισμένα με parafilm. Για την αποφυγή ανάπτυξης αερόβιων συνθηκών, είχαν προστεθεί δύο σωληνάκια. Το ένα επικοινωνούσε με τον διαχυτήρα της φιάλης αζώτου ενώ το άλλο ήταν ανοικτό. Το αέριο άζωτο παρεχόταν προκειμένου να εξασφαλιστούν αναερόβιες συνθήκες, κατά τη δειγματοληψία ώστε να διαλύεται το οξυγόνο της ατμόσφαιρας που πιθανόν να εισερχόταν, να εκτονώνεται και να διαφεύγει από το ανοικτό στόμιο. Η διαδικασία εισαγωγής αέριου αζώτου διαρκούσε περίπου 30 min αμέσως μετά τη δειγματοληψία για να εξασφαλιστούν οι αναερόβιες συνθήκες. Κατόπιν αυτού, ο αντιδραστήρας σφραγιζόταν εκ νέου. Παράλληλα με τη δειγματοληψία γινόταν μέτρηση θερμοκρασίας και pH ενώ όπου σε περίπτωση μεγάλης απόκλισης από την τιμή 7, προστίθετο ρυθμιστικό διάλυμα. Την ώρα της δειγματοληψίας λαμβάνονταν κάθε φορά δύο δείγματα των 20 mL (duplicate) για μεγαλύτερη αξιοπιστία και αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος. Σε τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν δειγματοληψία.
3. Συλλογή τελικού δείγματος-Κένωση: Μετά το πέρας 51 ωρών συνεχόμενης λειτουργίας, το πείραμα ολοκληρωνόταν μέσω της συλλογής του τελικού δείγματος και το μείγμα απομακρυνόταν.

Κάθε τέτοιου είδους πείραμα που μελετούσε συγκεκριμένες συνθήκες, επαναλήφθηκε 3 φορές (triplicates) για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

3.3.4.3 Πειράματα Προσδιορισμού Ετεροτροφικού Συντελεστή Βιομάζας Y

Κατά τη σύνθεση η ταχύτητα ανάπτυξης των ετεροτροφικών μικροοργανισμών είναι ανάλογη της ταχύτητας κατανάλωσης της τροφής δηλαδή του COD. Ο συντελεστής Y εκφράζει τη μάζα ετεροτροφικών μικροοργανισμών που αναπτύσσεται σε σχέση με την κατανάλωση συγκεκριμένης μάζας τροφής (σε όρους BOD₅ ή COD) και ονομάζεται ετεροτροφικός συντελεστής μετατροπής βιομάζας (Heterotrophic Yield Coefficient). Στην παρούσα διατριβή κρίθηκε αναγκαία η μελέτη αυτής της παραμέτρου, διότι είχε υπολογιστεί μόνο με τη χρήση μαθηματικών τύπων για το Y_{obs}/Y_{act} και έπρεπε να βρεθεί αν τα αποτελέσματα ταυτίζονται. Η διαδικασία η οποία ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

1. Τροφοδοσία-Πλήρωση: Δείγμα βιομάζας (120 mL) της υπό εξέταση SBR καλλιέργειας (αναερόβια ή ανοξική-αναερόβια) μεταφερόταν σε διαφορετικό, μικρότερου όγκου αντιδραστήρα (300 mL). Σε αυτό προστίθεντο υπόγειο νερό βρύσης (180 mL), προσομοιώνοντας τις συνθήκες που επικρατούν στους SBR αντιδραστήρες και προσθέτοντας παραπάνω συγκέντρωση COD_{tot} (3000 mg/L) και θρεπτικών, για να μπορούν οι μ/ο να αναπτυχθούν χωρίς κανένα περιορισμό και γινόταν η πρώτη να δειγματοληψία όγκου 20 mL ($t=0$). Το ότι το 95% - 100% του COD προστίθετο με την μορφή διαλυτού COD ώστε η κατανάλωση του COD να είναι μετρήσιμη μέσω του διαλυτού COD.

Οι αναλύσεις για $t=0$ περιελάμβαναν τη μέτρηση των πτητικών στερεών MLVSS, δηλαδή των μικροοργανισμών και του διαλυτού COD του δείγματος τη στιγμή της έναρξης του πειράματος. Λαμβάνονταν δύο μετρήσεις για VSS και COD (duplicates) για μεγαλύτερη ακρίβεια.

2. Ανάδευση-Δειγματοληψία: Για να επικρατούν ομοιόμορφες συνθήκες στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και για να έρθει η βιομάζα σε επαφή με το προς επεξεργασία μείγμα χρησιμοποιείτο σύστημα ανάδευσης. Ο αντιδραστήρας που περιείχε το δείγμα (Σχήμα 3.13) σφραγιζόταν για την εξασφάλιση των αναερόβιων συνθηκών. Οι αναερόβιες συνθήκες διαμορφώνονταν τοποθετώντας στο πώμα του φιαλιδίου δύο σύριγγες. Από τη μία γινόταν χορήγηση αερίου αζώτου και από το άλλο έβγαине το

οξυγόνο. Η διάρκεια χρήσης του αερίου αζώτου ήταν 10 min. Η ανάδευση του δείγματος διαρκούσε 5 ημέρες (120 h).

3. Συλλογή τελικού δείγματος-Κένωση: Μετά το πέρας 120 ωρών, γινόταν αποσφράγιση του αντιδραστήρα και μέτρηση των MLVSS και του διαλυτού COD (duplicate). Ο συντελεστής υπολογιζόταν σύμφωνα με τη σχέση $Y = \Delta VSS \text{ (mg/L)} / \Delta COD \text{ (mg/L)}$, συμπεριλαμβανομένης και της φθοράς. Σε αυτή τη φάση ολοκληρωνόταν το πείραμα μέσω της συλλογής του τελικού δείγματος και το μείγμα απομακρυνόταν.

Κάθε τέτοιου είδους πείραμα που μελετούσε συγκεκριμένες συνθήκες, επαναλήφθηκε 3 φορές (triplicates) για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

3.3.4.4 Πειράματα Προσδιορισμού Ισοζυγίου Ηλεκτρονίων

Προκειμένου να διαπιστωθεί το κατά πόσο ικανοποιούνται τα ισοζύγια ηλεκτρονίων σε κάθε διαδικασία στις μητρικές καλλιέργειες (αναερόβιες ή ανοξικές-αναερόβιες) των αντιδραστήρων όγκου 5 L, διεξήχθησαν ορισμένες μετρήσεις στο πλαίσιο πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch). Πιο συγκεκριμένα προετοιμάστηκαν αντιδραστήρες όγκου 300 mL που προσομοίαζαν επακριβώς τις συνθήκες των μητρικών συστημάτων και τις συγκεντρώσεις των συστατικών που περιέχουν οι SBR αντιδραστήρες. Τα βήματα της παραπάνω διαδικασίας ήταν τα εξής:

1. Τροφοδοσία-Πλήρωση: Δείγμα βιομάζας (120 mL) της υπό εξέταση SBR καλλιέργειας μεταφερόταν σε διαφορετικό, μικρότερου όγκου αντιδραστήρα (300 mL). Σε αυτόν, προστίθεντο υπόγειο νερό βρύσης (180 mL), ανάλογη συγκέντρωση υποστρώματος (200 mg/L COD_{tot}) και θρεπτικά (άζωτο και φωσφόρος) που εξασφάλιζαν την ανάπτυξη των μ/ο, ίδιας ακριβώς αναλογίας με τους SBR αντιδραστήρες και γινόταν η πρώτη δειγματοληψία ($t=0$).
2. Ανάδευση-Δειγματοληψία: Για να επικρατούν ομοιόμορφες συνθήκες στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και για να έρθει η βιομάζα σε επαφή με το προς επεξεργασία μείγμα χρησιμοποιείτο σύστημα ανάδευσης. Στην πρώτη δειγματοληψία όγκου 20 mL γινόταν μέτρηση της βιομάζας MLVSS, του Cr(VI), των COD_{tot}/COD_{sol} , των SO_4^- και NO_3-N του δείγματος τη στιγμή της έναρξης του πειράματος. Λαμβάνονταν δύο

μετρήσεις για VSS και COD (duplicates) για μεγαλύτερη ακρίβεια. Ο αντιδραστήρας που περιείχε το δείγμα (Σχήμα 3.13) σφραγιζόταν για την εξασφάλιση των αναερόβιων συνθηκών. Οι αναερόβιες συνθήκες διαμορφώνονταν τοποθετώντας στο πώμα του φιαλιδίου δύο σύριγγες. Από τη μία γινόταν χορήγηση αερίου αζώτου και από το άλλο έβγαине το οξυγόνο. Η διάρκεια χρήσης του αερίου αζώτου ήταν 10 min. Μετά το πέρας των 24 ωρών αποσφραγιζόταν, επαναλαμβανόταν η παραπάνω διαδικασία και σφραγιζόταν εκ νέου. Η συνολική ανάδευση του δείγματος διαρκούσε 2 ημέρες.

3. Συλλογή τελικού δείγματος-Κένωση: Με το πέρας ορισμένου χρονικού διαστήματος (48 ωρών) αποσφραγιζόταν ο αντιδραστήρας και αξιολογούνταν οι παρακάτω παράμετροι στο ανάμικτο υγρό: COD_{tot} , COD_{sol} , νιτρικά NO_3-N , νιτρώδη NO_2-N , θειικά SO_4 , θειώδη S^{2-} , μεθάνιο CH_4 , βιομάζα MLVSS και Cr(VI). Σε αυτή τη φάση ολοκληρωνόταν το πείραμα και το μείγμα απομακρυνόταν.

Κάθε τέτοιου είδους πείραμα που μελετούσε συγκεκριμένες συνθήκες, επαναλήφθηκε 3 φορές (triplicates) για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα συστατικά και οι ποσότητες τροφοδοσίας που προστίθεντο στους batch αντιδραστήρες (συγκεντρώσεις ή όγκος) (Πίνακας 3.3).

Σημειώσεις: *Η προσθήκη NO_3-N αφορά τους ανοξικούς-αναερόβιους αντιδραστήρες. **Οι ποσότητες τροφοδοσίας αφορούν τον SBR αντιδραστήρα από τον οποίο γινόταν η δειγματοληψία, η οποία ήταν της τάξης των 50 mL.

Πίνακας 3.3: Συστατικά/ποσότητες τροφοδοσίας που προστίθεντο στους batch αντιδραστήρες

	Κινητική αναγωγής Cr(VI)	Ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max})	Ετεροτροφικός συντελεστής Y	Ισοζύγιο e⁻
Cr(VI)_{in} (mg/L)	0,2	0-15	0 και 0,2	0,2-4,5
COD_{tot} (mg/L)	100-400	5000	3000	200
NO₃-N* (mg/L)	10	10	10	10
PO₄-P (mg/L)	2	10	10	2
NH₄-N (mg/L)	6	18	18	6
Ρυθμ. διάλ. (mg/L)	10	20	25	10
MLSS_{μητρ.καλ.} (mL)	-	400	120	120
Υπόγειο νερό (mL)	3000	-	180	180
Υπερ.υγρό_{μητρ.καλ.} (mL)	-	600	-	-

3.3.4.5 Περιγραφή Παρακολούθησης

Προκειμένου να γίνεται μία ολοκληρωμένη παρακολούθηση των συνθηκών που επικρατούν στο εσωτερικό των αντιδραστήρων, διεξάγονταν μετρήσεις παραμέτρων και αναλύσεις σε τακτά χρονικά διαστήματα από την έναρξη του κάθε πειράματος μέχρι τη λήξη. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν στο ανάμικτο υγρό των αντιδραστήρων, διότι όπως αναλύθηκε παραπάνω δεν υπήρχε η δυνατότητα καθίζησης και συλλογής του υπερκείμενου υγρού, αφού το μείγμα βρισκόταν υπό συνεχή ανάδευση. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι παράμετροι που παρακολουθούνταν καθ' όλη τη διάρκεια του κάθε πειράματος (Πίνακας 3.4).

Πίνακας 3.4: Παράμετροι που παρακολουθούνταν σε κάθε batch πείραμα

	Κινητική αναγωγής Cr(VI)	Ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max})	Ετεροτροφικός συντελεστής Y	Ισοζύγιο e ⁻
Cr(VI) _{sol} (in-out)	✓	✓		✓
MLSS/ MLVSS		✓	✓	✓
COD _{tot} (in-out)				✓
COD _{sol} (in-out)	✓	✓	✓	✓
NO ₃ -N(in-out)	✓			✓
NO ₂ -N, S ⁻² , SO ₄ ⁻ , CH ₄				✓
Redox, DO, T	✓	✓	✓	✓
Συχνότητα δειγματοληψίας	t=0, t=1 h, t=2 h, t=3 h, t=5 h, t=7 h, t=9 h, t=24 h	t=0, t=3 h, t=6 h, t=9 h, t=24 h, t=26 h, t=28 h, t=48 h, t=51 h	t=0, t=120 h	t=0, t=24 h, t=48 h
Διάρκεια πειράματος	24 h	51 h	120 h	48 h

3.3.5 Ποιοτικά Χαρακτηριστικά Τροφοδοσίας Αντιδραστήρων

Η καθημερινή τροφοδοσία των αντιδραστήρων SBR καθώς αυτή στα batch πειράματα της διδακτορικής διατριβής περιελάμβαναν τη χρήση του υπόγειου νερού από το πολυτεχνείο μαζί με εξασθενές χρώμιο που προστίθετο επιπλέον, τα οποία ωστόσο δεν προσέδιδαν αυτούσια κάποια πηγή άνθρακα στο σύστημα για την απαραίτητη ανάπτυξη της βιομάζας καθιστώντας αναγκαία την εύρεση κατάλληλης τροφής για τους μικροοργανισμούς.

Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση προέκυψε μεγάλο εύρος τροφών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγή COD για τα συγκεκριμένα συστήματα. Επιλέχθηκαν να δοκιμαστούν η ζάχαρη, το γάλα και το τυρόγαλο διότι αποτελούν μια τροφή πλούσια σε θρεπτικά και ιχνοστοιχεία που παράλληλα δεν αποτελεί μεγάλη οικονομική επιβάρυνση. Για τη διασφάλιση και της απαραίτητης ποσότητας αζώτου και φωσφόρου προστίθεντο επίσης και κάποιες κατάλληλες ενώσεις ως θρεπτικά, ώστε να μην υπάρχει κάποιος περιοριστικός παράγοντας στην ανάπτυξη της βιομάζας. Παρακάτω αναφέρονται τα πιο

σημαντικά χαρακτηριστικά του κάθε συστατικού με το οποίο τροφοδοτούνταν οι μικροοργανισμοί κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

3.3.5.1 Υπόγειο Νερό

Επειδή δεν υπήρχε η δυνατότητα της χρησιμοποίησης φυσικά ρυπασμένου με χρώμιο νερού, τα συστήματα επεξεργασίας εφοδιάζονταν με νερό βρύσης στο οποίο γινόταν προσθήκη χρωμίου. Το νερό που υδροδοτεί το κτίριο Υδραυλικής στο οποίο στεγάζεται το Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας όπου πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα προέρχεται από ένα αυτόνομο σύστημα υδροδότησης της Πολυτεχνειούπολης Ζωγράφου. Στην περιοχή λειτουργούν τρεις γεωτρήσεις και τροφοδοτούν μια κεντρική δεξαμενή από την οποία ξεκινά η διανομή του νερού μέσω ενός μικτού δικτύου ύδρευσης και άρδευσης σε όλες τις εγκαταστάσεις του Πολυτεχνείου.

Οι πιο πρόσφατες αναλύσεις για τον έλεγχο της ποιότητας του νερού στην Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου πραγματοποιήθηκαν από το εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας της σχολής Χημικών Μηχανικών. Πιο συγκεκριμένα, τον Ιανουάριο του 2007, μετά από επιθυμία της διοίκησης του Ε.Μ.Π, έγιναν αναλύσεις από το συγκεκριμένο εργαστήριο σε συνεργασία με την ΕΥΔΑΠ και άλλους φορείς, σύμφωνα με τις πρότυπες διαδικασίες. Εξετάσθηκαν αντίστοιχες μετρήσεις για τις περισσότερες από αυτές τις παραμέτρους στο νερό βρύσης του Ε.Υ.Τ προκειμένου να επαληθευτούν τα αποτελέσματα του εργαστηρίου Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας (Όξενκιουν-Πετροπούλου, 2007). Παρακάτω παρατίθενται πίνακας με θέση δειγματοληψίας το Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας (Πίνακας 3.5) για το χαρακτηρισμό του υπογείου νερού της περιοχής. Ενδεικτικά αναγράφονται 15 από τις 22 παραμέτρους ποιότητας για το κτίριο Ε.Υ.Τ.

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα φυσικοχημικών παραμέτρων για το νερό βρύσης του Ε.Υ.Τ

Θέση Δειγματοληψίας	Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας	Ανώτατο όριο (Υ2/ 2600/ 2001)
Θερμοκρασία (°C)	18	
pH	7,22	6,5<pH<9,5
Αγωγιμότητα (μS/cm)	840	2500
Θολότητα (NTU)	0,72	<1
Διαλελυμένα Στερεά (mg/L)	200	1500
Χλωριόντα (mg/L)	60	250
Νιτρικά (mg/L)	7	50
Νιτρώδη (mg/L)	0,03	0,5
Θειικά (mg/L)	28	250
Αμμωνία (mg/L)	<0,2	0,5
Σίδηρος (μg/L)	3,8	200
Χαλκός (μg/L)	5	50
Μαγνήσιο (μg/L)	<0,1	

3.3.5.2 Εξασθενές Χρώμιο

Για την προσομοίωση του ρυπασμένου με εξασθενές χρώμιο υπόγειου νερού, παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα $K_2Cr_2O_7$ με περιεκτικότητα ως προς Cr(VI) 1000 mg/L. Το διάλυμα του $K_2Cr_2O_7$ φυλασσόταν σε σκουρόχρωμη φιάλη και διατηρούνταν στο ψυγείο.

3.3.5.3 Υπόστρωμα (COD)

3.3.5.3.1 Ζάχαρη

Ως κύρια πηγή COD χρησιμοποιήθηκε λευκή κρυσταλλική ζάχαρη της Ελληνικής Εταιρίας Ζάχαρης (EBZ), ποιότητας STANDARD (EOK Κατηγορία II), που παράγεται από την επεξεργασία των ζαχαρότευτλων. Θεωρείται ως ευκολοδιασπάσιμη πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς ενώ παράλληλα είναι οικονομική, μειώνοντας έτσι το κόστος λειτουργίας των συστημάτων επεξεργασίας.

Η ζάχαρη ή αλλιώς σακχαρόζη είναι οργανική κρυσταλλική, γλυκαντική ουσία που ανήκει στους δισακχαρίτες, παραγόμενη από την επεξεργασία διαφόρων φυτών. Ο μοριακός χημικός της τύπος είναι $C_{12}H_{22}O_{11}$ και στην καθαρή μορφή της είναι λευκή και άχρωμη.

Αποτελεί χημική ένωση ενός μορίου γλυκόζης και ενός μορίου φρουκτόζης ως προϊόν της φωτοσύνθεσης των φυτικών κυττάρων. Η σακχαρόζη αποτελεί μη αναγωγικό, πολύ διαλυτό στο νερό μόριο (Avigad and Dey, 1997). Όπως όλοι οι πολυσακχαρίτες, υδρολύεται σε διαλύματα οξέων ή βάσεων και σε ιδιαίτερα ένζυμα, οπότε χωρίζεται στους πολυσακχαρίτες που την αποτελούν. Για να είναι γνωστή η τιμή του COD της ζάχαρης που προστίθεται στους αντιδραστήρες, πραγματοποιήθηκαν εργαστηριακές αναλύσεις και προέκυψε ένας μέσος όρος COD_{tot} : 35000 mg/L, ομοίως το COD_{sol} προέκυψε γύρω στις 32000 mg/L. Επομένως σχεδόν το 100% του ολικού COD της ζάχαρης που χρησιμοποιήθηκε όπως αναμενόταν ήταν διαλυτό. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3.6) παρουσιάζονται τα διατροφικά στοιχεία της κατεργασμένης, κρυσταλλικής ζάχαρης.

Για να είναι γνωστή η τιμή του COD του γάλακτος που προστίθεται στους αντιδραστήρες, πραγματοποιήθηκαν εργαστηριακές αναλύσεις και προέκυψε ένας μέσος όρος COD_{tot} : 200000 mg/L, ενώ το COD_{sol} προέκυψε γύρω στις 30000 mg/L. Επομένως περίπου το 15% του ολικού COD του γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε ήταν διαλυτό.

Πίνακας 3.6: Τα διαφορετικά στοιχεία της ζάχαρης (USDA SR-21)

Ζάχαρη κατεργασμένη, κρυσταλλική (ανά 100 gr)	
Θεωρητική ενεργειακή απόδοση	387 kcal
νερό	0 gr
Μακροθρεπτικά Συστατικά	
λίπη	0 gr
Υδατάνθρακες	100 gr
εκ των οποίων σάκχαρα	99,9 gr
πρωτεΐνες	0 gr
Ιχνοστοιχεία- Μέταλλα	
ασβέστιο	1 mg
Βιταμίνες	
Λιποδιαλυτές	0 gr
Υδατοδιαλυτές	0 gr
Άλλα	
καφεΐνη, θεοβρωμίνη, τέφρα	0 gr

3.3.5.3.2 Γάλα

Εκτός από τη ζάχαρη κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε ως πηγή COD και αγελαδινό γάλα της εταιρείας Δέλτα. Το γάλα είναι κατά κύριο λόγο βιοδιασπάσιμο, περιέχει ωστόσο και λίπη που είναι δύσκολα βιοδιασπώσιμα, ενώ θεωρείται πλούσιο σε θρεπτικά, πρωτεΐνες και ιχνοστοιχεία. Περιλαμβάνει μεγάλη ποικιλία συστατικών, μερικά από τα οποία υπάρχουν σε σημαντικές ποσότητες και χαρακτηρίζονται ως κύρια, ενώ άλλα, πολύ περισσότερα σε αριθμό, απαντώνται σε μικρές ποσότητες και ονομάζονται δευτερεύοντα (Πίνακας 3.7).

Πίνακας 3.7: Τα συστατικά του αγελαδινού γάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004)

Κύρια	Δευτερεύοντα
<p>Νερό (88%)</p> <p>Λίπος (3.7%)</p> <p>Πρωτεΐνες (3.2%)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Καζεΐνες ▪ Πρωτεΐνες ορού <p>Υδατάνθρακες (4.7%)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Λακτόζη <p>Άλατα (0.75%)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Φωσφορικά ▪ Θειικά ▪ Χλωριούχα ▪ Κιτρικά ▪ Ανθρακικά 	<p style="text-align: center;">Αέρια</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Οξυγόνο ▪ άζωτο ▪ διοξείδιο του άνθρακα <p style="text-align: center;">Λιπίδια εκτός λίπους</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Φωσφολιπίδια ▪ Βιταμίνες D, E, K, A, ▪ Στερόλες ▪ Καροτενοειδή ▪ Κερεβροσίτες <p style="text-align: center;">Ένζυμα</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Καταλάση ▪ Υπεροξειδάση ▪ Ξανθίνη οξειδάση ▪ Φωσφατάσες ▪ Αμυλάσες ▪ Ανυδράση ▪ Λιπάσες ▪ Εστεράσες ▪ Πρωτεάσες ▪ Αλδολάσες ▪ Καρβονική <p style="text-align: center;">Υδατοδιαλυτές βιταμίνες</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Θειαμίνη ▪ Βιοτίνη ▪ Ριβοφλαβίνη ▪ Βιταμίνη B12 και C ▪ Νιασίνη ▪ Πυριδοξίνη ▪ Παντοθενικό οξύ ▪ Φολικό οξύ <p style="text-align: center;">Μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Αμμωνία ▪ Αμινοξέα ▪ Ουρία ▪ Ουρικό οξύ <p style="text-align: center;">Μικροοργανισμοί</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Βακτήρια ▪ Ζύμες ▪ Μύκητες

3.3.5.3.3 Τυρόγαλο

Το τυρόγαλο είναι το υγρό υπόλοιπο που ακολουθεί την καθίζηση και την απομάκρυνση της καζεΐνης του γάλακτος κατά τη διαδικασία παραγωγής τυριού. Το παραπροϊόν αυτό, αντιπροσωπεύει περίπου το 85-95% του όγκου του γάλακτος και συγκρατεί περίπου το 55% από τα θρεπτικά του συστατικά. Από αυτά σε μεγαλύτερη αφθονία απαντάται η λακτόζη (4,5-5% w/v), οι διαλυτές πρωτεΐνες (0,6-0,8% w/v), τα λιπίδια (0,4 - 0,5% w/v) και τα μεταλλικά άλατα (8-10% του ξηρού εκχυλίσματος), ενώ αποτελείται κατά 93% από νερό (Mishra et al., 2000). Τα μεταλλικά άλατα του τυρόγαλου είναι κυρίως χλωριούχο νάτριο και χλωριούχο κάλιο σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% καθώς και άλατα του ασβεστίου. Στο τυρόγαλο βρίσκονται και άλλα συστατικά σε πολύ μικρότερες αναλογίες, όπως γαλακτικό και κιτρικό οξύ, μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ενώσεις όπως ουρία και ουρικό οξύ και βιταμίνες του συμπλέγματος Β (Venetsaneas et al., 2009; Gonzalez, 1996).

Το είδος του τυρόγαλου, που προκύπτει κάθε φορά, εξαρτάται από την παραγωγική διαδικασία και την καθίζηση της καζεΐνης και διακρίνεται σε όξινο (pH<5) και σε ουδέτερο (pH 6-7). Το όξινο συνήθως περιέχει λιγότερες πρωτεΐνες και χρησιμοποιείται πολύ περιορισμένα για βρώση λόγω της όξινης γεύσης του και της υψηλής περιεκτικότητας σε άλατα (Mawson, 1994). Το τυρόγαλο είναι υψηλής περιεκτικότητας σε οργανική ύλη. Οι τιμές του τυρόγαλου σε χημικά απαιτούμενο οξυγόνο μετρήθηκε εργαστηριακά ότι κυμαίνεται από COD_{tot}: 60000-80000 mg/L με το 65% αυτού να αποτελείται από το διαλυτό COD.

3.3.5.4 Νιτρικά (NO₃-N)

Τα νιτρικά αποτελούν τμήμα του κύκλου του αζώτου στη φύση, επομένως υπάρχουν στα φυσικά νερά, αλλά η συγκέντρωσή τους είναι συνήθως χαμηλή. Υψηλές συγκεντρώσεις στα φυσικά νερά οφείλονται σε λιπάσματα, απορρίμματα και ζωικά ή ανθρώπινα απόβλητα, αποτελούν το τελικό στάδιο υδρόλυσης της αμμωνίας και η παρουσία τους αποδεικνύει μεγάλης διάρκειας ρύπανση. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω,

μελετήθηκαν συστήματα κάτω από ανοξικές-αναερόβιες συνθήκες που αυτό πρακτικά σημαίνει ότι γινόταν προσθήκη νιτρικών. Για να μπορέσει να προσομοιωθεί το υπόγειο νερό που διαθέτει ποσότητα νιτρικών, παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα KNO_3 συγκέντρωσης 1000 mg/L και προστίθετο στους ανοξικούς-αναερόβιους αντιδραστήρες σε συγκέντρωση 10 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$.

3.3.5.5 Θρεπτικά (NH_4^+ και PO_4^{3-})

Για την εξασφάλιση της σωστής λειτουργίας των συστημάτων και για να μην αποτελούν περιοριστικό παράγοντα στην ανάπτυξη των μ/ο, γινόταν καθημερινά προσθήκη αζώτου και φωσφόρου υπό τη μορφή NH_4Cl και K_2HPO_4 , αντίστοιχα. Το πρότυπο διάλυμα NH_4Cl και K_2HPO_4 ήταν περιεκτικότητας 1000 mg/L ως προς άζωτο (N) ως προς φωσφόρο (P) και η προσθήκη τους στους αντιδραστήρες ανερχόταν σε συγκέντρωση 6 mg/L και 2 mg/L, αντιστοίχως.

3.3.5.6 Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών

Κατά τη λειτουργία των αντιδραστήρων, όταν το pH σημειωνόταν κάτω από 6.8 προστίθετο ρυθμιστικό διάλυμα για την διατήρηση του pH. Χρησιμοποιήθηκε ρυθμιστικό διάλυμα διβασικού φωσφορικού νατρίου (Na_2HPO_4) και δισόξινου φωσφορικού νατρίου (NaH_2PO_4) κατάλληλα παρασκευασμένο ώστε να έχει pH ίσο με 7,2. Η παρασκευή του συγκεκριμένου ρυθμιστικού διαλύματος βασίστηκε σε υπολογισμούς που έγιναν σύμφωνα με την εξίσωση Henderson-Hasselbach: $\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Αλας}]}{[\text{Οξύ}]}$. Συγκεκριμένα παρασκευάστηκε stock διάλυμα ρυθμιστικό 1 L (0.1 M) με την προσθήκη 720 mL από πρότυπο διάλυμα $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (17,80 g/L) και 140 mL από πρότυπο διάλυμα $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (13,80 g/L).

3.4 Πειραματικές Μέθοδοι Ανάλυσης

3.4.1 Προσδιορισμός αιωρούμενων στερεών

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά στο ανάμικτο υγρό, MLSS (Mixed Liquid Suspended Solid), αποτελούν μια εκτίμηση της πυκνότητας των μικροοργανισμών και των αδρανών στερεών των αντιδραστήρων, όταν αυτοί βρίσκονται υπό ανάδευση. Όπως αναφέρεται και στη βιβλιογραφία η συγκέντρωση των στερεών επιδρά όχι μόνο στην αναγωγή του εξασθενούς αλλά και στην προσρόφηση του τρισθενούς χρωμίου.

Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά, MLVSS (Mixed Liquid Volatile Suspended Solid), αποτελούν την πιο αντιπροσωπευτική τιμή της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών στα συστήματα κατά τη λειτουργία της ανάδευσης.

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά του υπερκείμενου υγρού, TSS (Total Soluble Solids), αποτελούν μέτρο της ποιότητας της καθιζησιμότητας της βιομάζας. Προσδιορίζονται επίσης, επειδή περιέχονται στον επεξεργασμένο όγκο νερού (εκροή) και το επιβαρύνουν με σωματιδιακό χρώμιο, που ενδεχομένως έχει κατακρημνιστεί ή προσροφηθεί στη βιομάζα και διαφεύγει με την εκροή.

Οι μετρήσεις των αιωρούμενων στερεών MLSS, MLVSS και TSS πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το Standard Methods, μέθοδοι 2540 B, D, E (APHA, 2012), αντίστοιχα. Όπου χρειάστηκε προηγήθηκε διήθηση των δειγμάτων με φίλτρα Whatman GF/C, πορώδους 1,2 μm.

3.4.2 Προσδιορισμός Χημικών Μορφών Χρωμίου

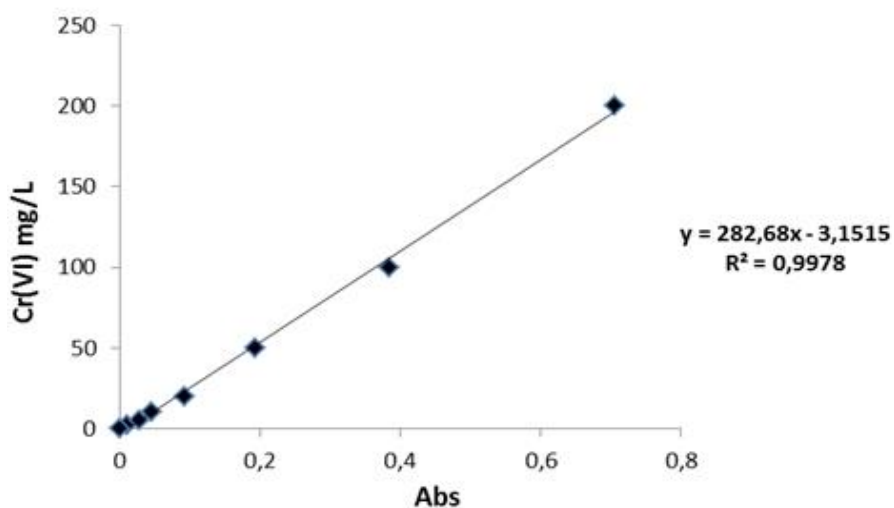
3.4.2.1 Διαλυτό Εξασθενές Χρώμιο Cr(VI)

Το υπολειμματικό διαλυτό Cr(VI) στο τέλος του κύκλου είναι ο δείκτης για την εκτίμηση της αναγωγικής ικανότητας και άρα της απόδοσης του συστήματος. Ο προσδιορισμός του γινόταν με τον εξής τρόπο: Σε αντιδραστήρια της εταιρίας Hach Lange με κωδικό LCK 313

και εύρος τιμών από 0,03–1 mg/L εισάγονται 4 mL του παραπάνω διηθημένου υγρού και σε ένα άλλο 4 mL απιονισμένου νερού για τη δημιουργία ενός blank δείγματος.

Πραγματοποιείται αντίδραση, κατά την οποία τα ιόντα εξαθενούς χρωμίου αντιδρούν με 1,5 diphenylcabazide ($C_6H_5NHNHCONHNHC_6H_5$) και σχηματίζουν 1,5 diphenylcarbazone, το οποίο δημιουργεί ένα ροζ σύμπλεγμα με το Cr(VI). Ρυθμίζεται το φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός τύπου Hach Lange DR 2800 σε μήκος κύματος ίσο με 543 nm. Χρησιμοποιείται κατάλληλη καμπύλη βαθμονόμησης και με την εξίσωση της υπολογίζεται η συγκέντρωση του δείγματος.

Η καμπύλη βαθμονόμησης παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.1. Με βάση την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίστηκε η συγκέντρωση του δείγματος σε $\mu\text{g/L}$ με τη βοήθεια του ακόλουθου τύπου: $\text{Cr(VI)} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) = 282,68 * \text{Abs} - 3,1515$ όπου Abs: η απορρόφηση του δείγματος.



Διάγραμμα 4.1: Καμπύλη βαθμονόμησης Cr(VI)

3.4.2.2 Ολικό Χρώμιο TCr

Στη μέτρηση ολικού χρωμίου χρησιμοποιούνται τα παρακάτω:

- φίλτρα μεμβράνης πορώδους 0,45 μm
- μονή συσκευή διήθησης (γυάλινη) με χρήση αντλίας κενού
- ογκομετρικός σωλήνας των 50 mL
- κωνικές φιάλες των 100 mL
- θερμαντική πλάκα της Cimarec 3
- διάλυμα πυκνού νιτρικού οξέος HNO_3

Τα βήματα που εκτελέστηκαν στο εργαστήριο για τον προσδιορισμό του ολικού χρωμίου συμφωνούν με το Standard Methods κωδικός 3500 B (APHA, 2012). Μετά το πέρας της όξινης χώνευσης των δειγμάτων, τα τελευταία αφού κρυώσουν και διηθηθούν, μετρήθηκαν με τη μέθοδο της Φασματομετρίας Ατομικής Απορρόφησης. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκε το φασματόμετρο Perkin Elmer 3110 εξοπλισμένο με φούρνο γραφίτη Perkin Elmer HGA-600 με σύστημα διόρθωσης υποβάθρου λυχνία δευτερίου. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται στα 357,9 nm, χρησιμοποιώντας λυχνία κοίλης καθόδου Varian, που δέχεται ρεύμα έντασης 20 mA.

3.4.3 Προσδιορισμός Χημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD)

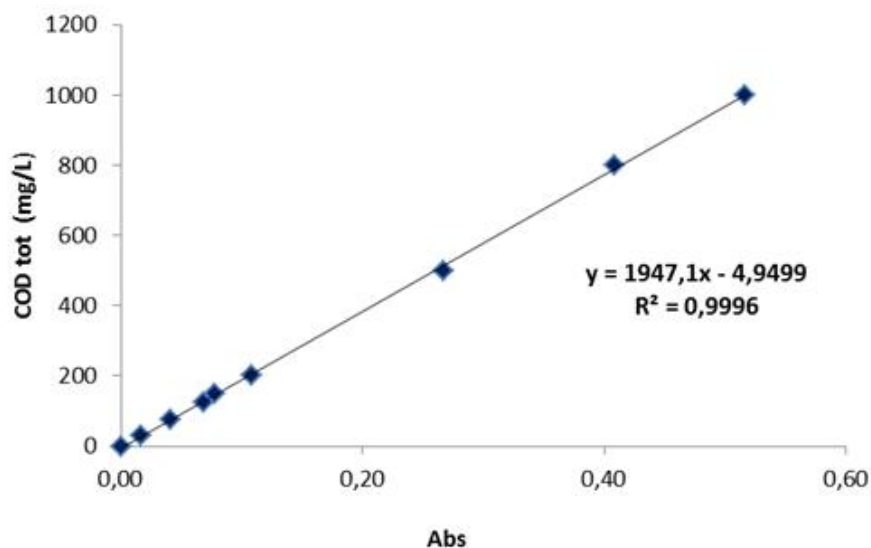
Το COD ορίζεται ως η ποσότητα του διχρωμικού καλίου που καταναλώνεται για την οξείδωση των οργανικών και ανόργανων ενώσεων που περιέχονται στο δείγμα. Η μέτρηση του διαρκεί δύομιση περίπου ώρες και γίνεται σε έντονα όξινο περιβάλλον (50% H_2SO_4), σε θερμοκρασία 150°C και παρουσία Ag_2SO_4 , το οποίο προστίθεται ως καταλύτης για την αποτελεσματικότερη οξείδωση ορισμένων οργανικών ενώσεων και συγκεκριμένα πτητικών οργανικών οξέων. Υπό αυτές τις συνθήκες, οι οργανικές ενώσεις οξειδώνονται σε CO_2 , H_2O , NH_4^{+1} , PO_4^{-3} και SO_4^{-2} και το διχρωμικό ανιόν Cr(VI) (πορτοκαλί) σε χρωμικό Cr(III) (πράσινο).

Ο προσδιορισμός του ολικού και διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD_{tot} , COD_{sol}) για την παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Hach Lange LCK 514 (εύρος

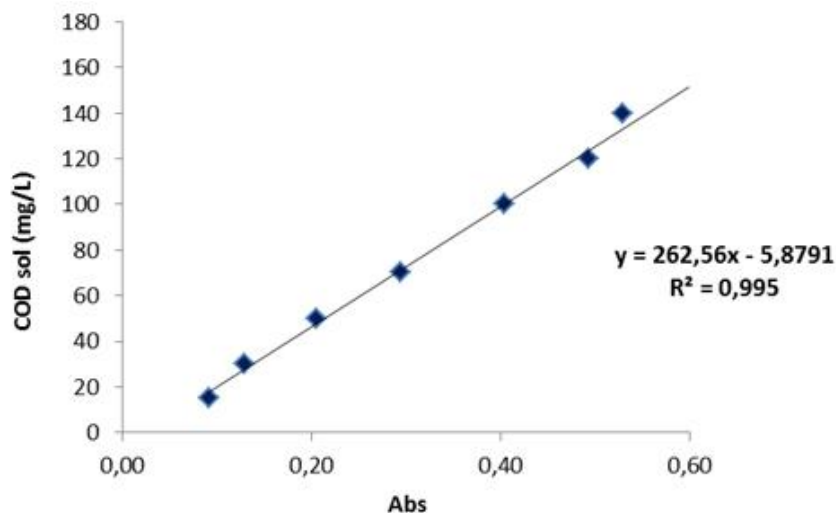
τιμών 150-1000 mg/L) και Hach Lange LCK 314 (εύρος τιμών 15-150 mg/L) αντίστοιχα, με τη χρήση του φασματοφωτομέτρου Hach Lange DR 2800 ρυθμισμένο στα 605 nm για το COD_{tot} και 448 nm για το COD_{sol}. Για τον προσδιορισμό του COD_{sol}, προηγήθηκε διήθηση του δείγματος με φίλτρα μεμβράνης, πορώδους 0,45 μm.

Η καμπύλη βαθμονόμησης για το COD_{tot} παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.2. Με βάση την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίστηκε η συγκέντρωση του δείγματος σε mg/L με τη βοήθεια του ακόλουθου τύπου: $\text{COD}_{\text{sol}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 1947,1 * \text{Abs} - 4,9499$ όπου Abs: η απορρόφηση του δείγματος.

Η καμπύλη βαθμονόμησης για το COD_{sol} παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.3. Με βάση την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίστηκε η συγκέντρωση του δείγματος σε mg/L με τη βοήθεια του ακόλουθου τύπου: $\text{COD}_{\text{sol}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = -262,56 * \text{Abs} - 5,879$ όπου Abs: η απορρόφηση του δείγματος.



Διάγραμμα 4.2: Καμπύλη βαθμονόμησης COD_{tot}



Διάγραμμα 4.3: Καμπύλη βαθμονόμησης COD_{sol}

3.4.4 Προσδιορισμός Νιτρικού Αζώτου (NO₃-N)

Ο προσδιορισμός των νιτρικού αζώτου γίνεται με χρήση αντιδραστηρίων της Hach Lange με κωδικό LCK 339 και βασίζεται στην αντίδραση των νιτρικών ανιόντων με 2,6-διμεθυλφαινόλη προς σχηματισμό 4- νιτρο-2,6-διμεθυλφαινόλη, σε διάλυμα που περιέχει θειικό και φωσφορικό οξύ. Το δείγμα που χρησιμοποιούνταν στη διαδικασία ήταν δείγμα υπερκείμενου υγρού διηθημένου σε μεμβράνη 0.45 μm με απαραίτητη τη ρύθμιση του φασματοφωτομέτρου Hach Lange DR 2800 στα 345 nm.

Το εύρος τιμών νιτρικού αζώτου που μετράται είναι μεταξύ 0,23 – 13,50 mg/L NO₃-N. Για τον υπολογισμό συγκεντρώσεων απαιτείται η χρήση καμπύλης βαθμονόμησης, η οποία κατασκευάζεται από πρότυπα διαλύματα νιτρικού καλίου (KNO₃). Η καμπύλη αυτή είχε ήδη κατασκευαστεί και χρησιμοποιήθηκε για τη μετατροπή των τιμών απορρόφησης σε συγκέντρωση νιτρικού αζώτου και δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$\text{NO}_3 - \text{N} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 8.8364 * \text{Abs} + 0.0210$$

3.4.5 Προσδιορισμός Νιτρωδών (NO₂-N)

Τα νιτρώδη (NO₂-N) τα οποία περιέχονταν στο υπερκείμενο υγρό όλων των αντιδραστήρων προέρχονταν σε μικρές ποσότητες από το νερό βρύσης του Πολυτεχνείου και από την απονιτροποίηση των νιτρικών που περιέχονταν στο ανάμικτο υγρό των ανοξικών αντιδραστήρων.

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η συγκέντρωση των νιτρωδών είναι ανάλογη της θολότητας που προκαλείται λόγω της συνύπαρξης του δισόξινου φωσφορικού καλίου, του θειικού καλίου και του σουλφανλικού νατρίου, η μέτρηση της οποίας πραγματοποιείται με τη μέθοδο 8507 της Hach στο πρόγραμμα 371 του φασματοφωτομέτρου Hach Lange DR 2800. Το μήκος κύματος της μεθόδου είναι ίσο με 507 nm και η μέθοδος εμφανίζει γραμμικότητα για συγκεντρώσεις από 0,002-0,3 mg/L NO₂-N.

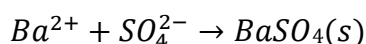
3.4.6 Προσδιορισμός Αμμωνιακού Αζώτου (NH₄-N)

Το αμμωνιακό άζωτο (NH₄-N), ορίζεται ως η ποσότητα αζώτου που υπολογίζεται στα αμμωνιακά ιόντα και μόνο. Ο προσδιορισμός τους γίνεται αντιδραστήρια της Hach Lange με κωδικό LCK 304 και βασίζεται στην αντίδραση των αμμωνιακών ιόντων σε pH 12.6 με ανιόντα ClO⁻ και σαλικυλικά ιόντα C₆H₄(OH)COO⁻ υπό την παρουσία Na₂[Fe(CN)₅NO]·2H₂O, που δρα ως καταλύτης στο σχηματισμό indophenol blue (N-(p-dimethylaminophenyl)-1,4-naphthoquinoneimine).

Το εύρος τιμών αμμωνιακού αζώτου που μετράται είναι μεταξύ 0,015 – 2,0 mg/L NH₄-N. Η μέτρηση της συγκέντρωσης τους γίνεται απευθείας στα 604 nm από το φασματοφωτόμετρο τύπου Hach Lange DR 2800.

3.4.7 Προσδιορισμός Θεικών Ιόντων (SO_4^{2-})

Τα θειικά ιόντα τα οποία περιέχονταν στο υπερκείμενο υγρό των αντιδραστήρων προέρχονταν από το νερό βρύσης του Πολυτεχνείου. Οι μετρήσεις των θεικών ιόντων πραγματοποιούνταν μέσω του νεφελομετρικού προσδιορισμού του $BaSO_4$, σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο 4500 E του APHA 2012.



Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή η συγκέντρωση των θεικών ιόντων είναι ανάλογη της θολότητας που προκαλείται από τη δημιουργία του $BaSO_4(s)$, η μέτρηση της οποίας πραγματοποιείται με τη μέθοδο 690 του φασματοφωτομέτρου Hach Lange DR 2800. Το μήκος κύματος της μεθόδου αυτής ήταν ίσο με 665 nm και η μέθοδος εμφάνιζε γραμμικότητα για συγκεντρώσεις έως 70 mg/L SO_4^{2-} .

3.4.8 Προσδιορισμός Σουλφιδίων (S^{2-})

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ικανότητα των σουλφιδίων να μετατρέπουν το N,N-dimethyl-p-phenylenediamine απ' ευθείας σε κυανό του μεθυλενίου (methylene blue) παρουσία κάποιου μέτριου οξειδωτικού παράγοντα, όπως π.χ. $K_2Cr_2O_7$. Η ένταση του κυανού του μεθυλενίου που σχηματίζεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των σουλφιδίων στο δείγμα. Για τις μετρήσεις αυτές χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Hach Lange DR 2800 και συγκεκριμένα η μέθοδος 8131 της HACH με μήκος κύματος 665 nm και γραμμικότητα μεταξύ των συγκεντρώσεων 5 μ g/L και 800 μ g/L.

3.4.9 Προσδιορισμός Μεθανίου (CH_4)

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του μεθανίου ήταν η αέρια χρωματογραφία της στατικής υπερκείμενης φάσης. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, (Kolb and Ettre, 1997), το υγρό δείγμα που πρόκειται να αναλυθεί και που περιέχει την υπό ανάλυση πτητική ουσία μάζας M εισάγεται σε κλειστό φιαλίδιο, τμήμα του οποίου

καταλαμβάνεται από το δείγμα (V_s), ενώ ο υπόλοιπος όγκος του (V_G) αποτελεί την αέρια υπερκείμενη φάση. Αφού η ισορροπία μεταξύ της υγρής και της αέριας φάσης των πτητικών ενώσεων του δείγματος έχει επιτευχθεί με την παρέλευση ενός εύλογου χρονικού διαστήματος, ένα ποσοστό της μάζας της πτητικής ένωσης έχει μεταφερθεί στην αέρια υπερκείμενη φάση, ενώ η υπόλοιπη μάζα της ουσίας παραμένει στο υγρό δείγμα. Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι η δυνατότητα που δίνεται στον αναλυτή, μετρώντας τη συγκέντρωση της πτητικής ένωσης στο δείγμα της αέριας υπερκείμενης φάσης, να προσδιορίζει την αρχική ή ονομαστική συγκέντρωση της εν λόγω ένωσης. Δεδομένου δε ότι κατά τη μέθοδο αυτή οι δύο φάσεις (υγρή και αέρια) βρίσκονται υπό «στατική ισορροπία», η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται ως «στατική».

Για τις μετρήσεις του μεθανίου χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος (Autosystem XL, Pektin Elmer), εφοδιασμένος με ανιχνευτή FID (Flame Ionization Detector) και στήλη GS-GasPro (30 m, 0,32 mm, J&W), εφαρμόζοντας μία μέθοδο ισοθερμοκρασιακή. Συγκεκριμένα, για τη μέθοδο αυτή ο όγκος του αέριου δείγματος που εισαγόταν ήταν 50 μL και τόσο ο εισαγωγέας όσο και ο ανιχνευτής βρίσκονταν στους 250 $^{\circ}\text{C}$, ενώ η θερμοκρασία του φούρνου παρέμενε ίση με 50 $^{\circ}\text{C}$.

Για τη λήψη και την εισαγωγή των αέριων αντιδραστηρίων χρησιμοποιούνταν γυάλινες σύριγγες των 100 μL , 250 μL , 1 mL και των 10 mL τύπου samplelock-gastight (Hamilton). Η μέθοδος προσδιορισμού του μεθανίου διαρκούσε περίπου 2 min.

3.4.10 Προσδιορισμός Θερμοκρασίας (T), pH, Δυναμικού Οξειδοαναγωγής (Redox) και Διαλυμένου Οξυγόνου (DO)

Ο προσδιορισμός του pH και της θερμοκρασίας γινόταν μέσω ηλεκτροδίου του πολύμετρου Multi 3410 της εταιρίας WTW. Το συγκεκριμένο πολύμετρο εξυπηρετεί και τη μέτρηση του Redox, αλλάζοντας απλώς το ηλεκτρόδιο. Για τον προσδιορισμό του διαλυμένου οξυγόνου (DO) χρησιμοποιήθηκε το φορητό οξυγονόμετρο Oxi 3301 της εταιρίας WTW και η μέτρηση γινόταν σε mg/L.

Η βαθμονόμηση των συγκεκριμένων οργάνων πραγματοποιούταν μία φορά το μήνα για εξασφάλιση της σωστής λειτουργίας τους.

3.4.11 Μικροσκοπική Παρατήρηση με τη Μέθοδο FISH

Για τις ανάγκες τις παρούσας διδακτορικής διατριβής, συλλέχθηκαν δείγματα με στόχο την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών που ανάγον το Cr(VI) με τη μοριακή μέθοδο Φθορίζουσας Επί Τόπου Υβριδοποίησης (Fluorescent In Situ Hybridization– FISH). Τα δείγματα απομονώθηκαν από βιοαντιδραστήρες με τα εξής χαρακτηριστικά: Α. Ανοξικές-αναερόβιες συνθήκες, COD_{tot(in)}= 200 mg/L, υπόστρωμα 90% ζάχαρη-10% γάλα, Cr(VI)_{in}=0, 200 μg/L, 7 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, Β. Αναερόβιες συνθήκες, COD_{tot(in)}= 200 mg/L, υπόστρωμα 90% ζάχαρη-10% γάλα, Cr(VI)_{in}=0, 200 μg/L, 2,5 mg/L, Γ. Αναερόβιες συνθήκες, COD_{tot(in)}= 200mg/L, υπόστρωμα 100% τυρόγαλο, Cr(VI)_{in}=200 μg/L, Δ. Αναερόβιες συνθήκες, COD_{tot(in)}= 200 mg/L, υπόστρωμα 100% ζάχαρη, Cr(VI)_{in}=200 μg/L. Παρακάτω παρουσιάζεται η διαδικασία που ακολουθήθηκε:

1. Παρασκευή διαλύματος 4% w/v παραφορμαλδεΐδης/φωσφορικού άλατος

Σε 80 mL υπερκάθαρου νερού προστίθενται 4 gr παραφορμαλδεΐδης (PFA) και το μείγμα θερμαίνεται στους 60°C κάτω από απαγωγό για περίπου 10 min. Εν συνεχεία προστίθενται 3 σταγόνες NaOH (1M) για να διαλυθεί η PFA και αφήνεται να κρυώσει. Μετά, προστίθενται 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος (PBS) συγκέντρωσης 10 M, ποσότητα 5M θειϊκού οξέος μέχρι το pH να φτάσει 7,2 καθώς και υπερκάθαρο νερό ώστε ο τελικός όγκος να φτάσει τα 100 mL. Το διάλυμα αυτό πρέπει να διατηρηθεί στους 4 °C για 24 h.

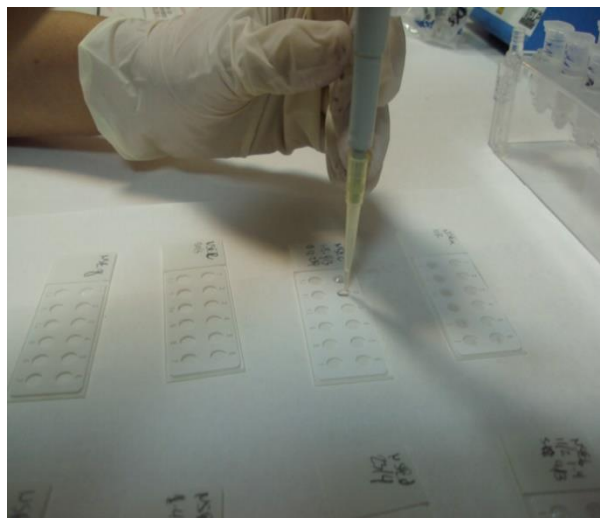
2. Σταθεροποίηση δειγμάτων

Συλλέγονται δυο δείγματα όγκου 37,5 mL για Gram αρνητικούς μικροοργανισμούς και 25 mL για Gram θετικούς από κάθε καλλιέργεια και μεταφέρονται σε tube corning των 50 mL. Για την επίτευξη του βέλτιστου φθορισμού, η σταθεροποίηση των Gram-

μικροοργανισμών πραγματοποιείται με την προσθήκη 12,5 mL διαλύματος παραφορμαλδεΐδης και ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος (4% w/v PFA/PBS), ενώ των Gram⁺ με 25 mL καθαρής αιθανόλης (98%). Τα δείγματα πρέπει να αποθηκευθούν στους 4 °C για 4-16 h. Μετά το πέρας των 4-16 ωρών, φυγοκεντρώνονται στα 10,000 rpm για 10 min και το υπερκείμενο υγρό απομακρύνεται. Για την επαναδιάλυση των δειγμάτων, προστίθεται 1,5 mL PBS (1M) και τα μείγματα μεταφέρονται σε tube των 2 mL. Οι διαδικασίες της φυγοκέντρωσης-αφαίρεσης υπερκειμένου υγρού επαναλαμβάνονται και πραγματοποιείται επαναδιάλυση σε 1,5 mL μείγματος αναλογίας 1/1 v/v PBS/αιθανόλης. Το δείγμα διατηρείται ανέπαφο στους -20°C έως 3 μήνες.

3. Τοποθέτηση σε πλακίδια και Αφυδάτωση

Το δείγμα αφήνεται να έρθει σε υγρή μορφή και αναταράσσεται για να επαναδιαλυθεί. 10 μL τοποθετούνται σε μια θέση του μικροσκοπικού πλακιδίου και απλώνονται με την άκρη της μικροπιπέτας σε όλη την επιφάνεια (Σχήμα 3.15). Όταν συμπληρωθούν οι 12 θέσεις του πλακιδίου, τοποθετείται στον φούρνο στους 46 °C μέχρι να στεγνώσουν τα δείγματα.



Σχήμα 3.15: Τοποθέτηση του δείγματος σε πλακίδια με τη χρήση μικροπιπέτας

Αφού αφυδατωθούν τα πλακίδια, τοποθετούνται κάθετα σε ειδικό δοχείο (Corlin jar), στο οποίο έχει προστεθεί ποσότητα διαλύματος αιθανόλης, συγκέντρωσης 50% v/v, ώστε

η περιοχή των πλακιδίων με δείγμα να είναι πλήρως καλυμμένη, για 3 min. Στη συνέχεια, τα πλακίδια μεταφέρονται διαδοχικά σε δεύτερο και τρίτο δοχείο με διαλύματα αιθανόλης συγκέντρωσης 80% v/v και 98% v/v για 3 min στο καθένα και αφήνονται να στεγνώσουν.

4. Υβριδοποίηση και Έκπλυση

Σε tube 2 mL παρασκευάζεται το διάλυμα υβριδοποίησης σε συνθήκες σκότους, προσθέτοντας 360 μ L NaCl (5M), 40 μ L Tris-HCl (1M) και φορμαμίδιο αναλόγως τον ιχνηλάτη που θα χρησιμοποιηθεί (Πίνακας 3.8). Τέλος, στο καπάκι του tube, προστίθενται 2 μ L SDS (10% v/v) για την αποφυγή καθίζησης.

Πίνακας 3.8: Διάλυμα Υβριδοποίησης

Ιχνηλάτης	% v/v Φορμαμίδιο	Φορμαμίδιο (μL)	Υπερκάθαρο νερό (μL)
EUB338	35	700	900
ARCH915	35	700	900
DEN67	35	700	900
ALF968	20	400	1200
SPH120	30	600	1000
BET42a	35	700	900
NSE1472	50	1000	600
GAM42a	35	700	900
PAE997	0	-	1600
LGC354b	35	700	900
LGC353b	20	400	1200

Σε κάθε θέση του πλακιδίου, προστίθενται 8 μL διαλύματος υβριδοποίησης, 1 μL ιχνηλάτη (τελική συγκέντρωση 5 ng/mL) και 1 μL 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) (20 ng/mL). Στη συνέχεια, τα πλακάκια εισάγονται σε υγρό και σκοτεινό θάλαμο και αφήνονται για 2 h στους 46 °C.

Στη συνέχεια σε 50 mL tube corning προστίθενται 1000 mL Tris-HCl (1 M), NaCl και EDTA σύμφωνα με τη συγκέντρωση φορμαμιδίου που εισάχθηκε στο βήμα της υβριδοποίησης (Πίνακας 3.10) και υπερκάθαρο νερό έως τα 50 mL. Τέλος, προστίθενται 50 μL SDS (10%) σύμφωνα με τον Πίνακα 3.9.

Τα πλακίδια εκπλένονται μέσα σε σκοτεινό, θερμαινόμενο λουτρό για 20 min στους 48 °C. Ακολουθεί έκπλυση με υπερκάθαρο νερό και αφήνονται να στεγνώσουν σε μέρος χωρίς φως.

Πίνακας 3.9: Διάλυμα Έκπλυσης

Ιχνηλάτης	% v/v Φορμαμίδιο	NaCl (mM)	5 M NaCl (μL)	EDTA (μL)
EUB338	35	80	800	500
ARCH915	35	80	800	500
DEN67	35	80	800	500
ALF968	20	225	2250	500
SPH120	30	112	1120	500
BET42a	35	80	800	500
NSE1472	50	28	280	500
GAM42a	35	80	800	500
PAE997	0	900	9000	-
LGC354b	35	80	800	500
LGC353b	20	225	2250	500

5. Αποθήκευση πλακιδίων και Παρατήρηση-Καταμέτρηση

Για τη σωστή αποθήκευση προστίθενται 2-3 σταγόνες αντι-αποχρωστικής ουσίας (Citifluor), τα δείγματα καλύπτονται με καλυπτρίδες σε χαμηλό φωτισμό και μπορούν να φυλαχθούν στους -20 °C σε ειδικά δοχεία έως 3 μήνες, αλλιώς γίνεται παρατήρηση-καταμέτρηση την ίδια στιγμή.

Τα πλακίδια παρατηρούνται στο μικροσκόπιο υπό φθορισμό με το κατάλληλο φίλτρο (Cy3 ή TexasRed), το οποίο είναι συμβατό με τη φθοροφόρο ουσία του ιχνηλάτη, για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων στοχευμένων μικροοργανισμών (targetgroup) και μετά με φίλτρο DAPI για την εύρεση του συνόλου των μικροοργανισμών. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιούνται 20 περίπου ζεύγη φωτογραφιών (Cy3-DAPI ή TexasRed-DAPI) ώστε να είναι αντιπροσωπευτική η μέτρηση του ποσοστού γένους ή κλάσης που μελετάται/σύνολο μικροοργανισμών (target group/DAPI) με τη χρήση του προγράμματος Image-Pro.

Κεφάλαιο 4: Παρουσίαση αποτελεσμάτων

4.1 Εισαγωγή

Το πειραματικό μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής διήρκεσε από τις 25 Σεπτεμβρίου 2012 έως την 15η Σεπτεμβρίου 2015. Το ερευνητικό της αντικείμενο αφορά στη διερεύνηση βιολογικών μεθόδων απομάκρυνσης του εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα. Ο απώτερος σκοπός ήταν να διασαφηνιστούν μέσω πειραμάτων οι βέλτιστες λειτουργικές συνθήκες ενός βιοαντιδραστήρα που θα έχει ως στόχο την βιομετατροπή του Cr(VI) του υπογείου νερού σε Cr(III), από αναγωγικά βακτήρια, με τη μεγαλύτερη δυνατή απόδοση και το χαμηλότερο κόστος. Συγκεκριμένα, το πειραματικό μέρος της διδακτορικής διατριβής στόχευσε στη διερεύνηση της επίδρασης των ακόλουθων παραμέτρων κατά τη βιολογική επεξεργασία των υπόγειων υδάτων για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου. Οι παράμετροι που διερευνήθηκαν ήταν οι εξής:

- Η επίδραση του αποδέκτη ηλεκτρονίων στην αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών.
- Η επίδραση του δότη ηλεκτρονίων και της συγκέντρωσης αυτού στην αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών.
- Επίδραση της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου στην αναχαίτιση της βιολογικής αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου.
- Η επίδραση της διακύμανσης της θερμοκρασίας στην αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου από αναγωγικά βακτήρια.
- Η επίδραση της υδραυλικής φόρτισης στον βαθμό απομάκρυνσης του εξασθενούς και ολικού χρωμίου κατά την βιολογική επεξεργασία του υπόγειου νερού

Για την υλοποίηση των ανωτέρω στόχων εκτελέσθηκαν πειράματα εργαστηριακής κλίμακας σε βιοαντιδραστήρες στο Ε.Υ.Τ. της Σχολής Πολιτικών Μηχανικών Ε.Μ.Π. Οι εργαστηριακής κλίμακας βιοαντιδραστήρες (εφεξής συστήματα) λειτούργησαν ως αντιδραστήρες εναλλασσόμενων κύκλων λειτουργίας (SBR) και περιείχαν βιομάζα, η

οποία τροφοδοτείτο καθημερινά με υπόγειο νερό από το Πολυτεχνείο στο οποίο γινόταν προσθήκη Cr(VI) και όλων των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (οργανικό υπόστρωμα, άζωτο, φωσφόρος). Αναλυτικά το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε για τη διατήρηση των συστημάτων αυτών περιγράφηκε στο 3^ο Κεφάλαιο.

Το πειραματικό μέρος της διατριβής χωρίζεται σε υποκεφάλαια στα οποία μελετήθηκαν με τη σειρά οι πέντε προαναφερθείσες παράμετροι. Για την ορθότερη εξαγωγή συμπερασμάτων γινόταν καθημερινά μέτρηση της χρονικής διακύμανσης των βασικών συντελεστών λειτουργίας των συστημάτων όπως ήταν: η συγκέντρωση της βιομάζας, η απομάκρυνση του Cr(VI), η κατανάλωση του ολικού και διαλυτού COD, η κατανάλωση του NO₃-N. Ταυτόχρονα έγινε ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου (ολικό χρώμιο, εξασθενές διαλυτό, τρισθενές σωματιδιακό) στην έξοδο του κάθε συστήματος καθώς και στο ανάμικτο υγρό. Η σταθερότητα της λειτουργίας όλων των συστημάτων παρακολουθούνταν επίσης καθημερινά μέσω της μέτρησης της θερμοκρασίας (T), του pH, του δυναμικού οξειδοαναγωγής (Redox) και του διαλυμένου οξυγόνου (DO). Σε κάθε σύστημα υπολογίστηκαν μέσω πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς λειτουργίας (batch) οι ρυθμοί αναγωγής του Cr(VI) παράλληλα με το ρυθμό κατανάλωσης COD/NO₃-N.

Επίσης κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί ο ποσοστιαίος υπολογισμός του ισοζυγίου ηλεκτρονίων που καταναλώνονται σε κάθε διεργασία και να καταγραφούν μέσω της εφαρμογής της μοριακής τεχνικής καταμέτρησης των μικροοργανισμών (FISH), τα είδη των αναγωγικών βακτηρίων που μετείχαν στις καλλιέργειες.

Αναγκαίο επίσης ήταν να μελετηθεί ο ετεροτροφικός συντελεστής μετατροπής βιομάζας (Y) των βακτηρίων, για να διαπιστωθεί αν ταυτίζεται με τις βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τα είδη των μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία.

Τέλος, η τοξικότητα του Cr(VI) στους μικροοργανισμούς διερευνήθηκε για ένα μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων Cr(VI) που κυμαινόταν από 0 - 15000 μg/L. Το ποσοστό τοξικότητας προσδιορίστηκε ως ποσοστό μείωσης του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης μ_{max} (d⁻¹) εγκλιματισμένης βιομάζας στη συγκεκριμένη συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου.

Όπως προαναφέρθηκε, βάσει των παραπάνω παραμέτρων χωρίστηκε το παρόν κεφάλαιο σε πέντε υποκεφάλαια στα οποία εκτενώς συγκρίνονται τα συστήματα ως προς την εκάστοτε υπό μελέτη παράμετρο. Σε κάθε υποκεφάλαιο παρατίθενται πίνακες που περιγράφουν τα πιο σημαντικά λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση βιοαντιδραστήρων όπως τις οξειδοαναγωγικές συνθήκες (αποδέκτης ηλεκτρονίων), την αρχική συγκέντρωση υποστρώματος και το είδος υποστρώματος με αναφορά ως προς το COD (δότης ηλεκτρονίων), την αρχική συγκέντρωση Cr(VI), το χρόνο παραμονής στερεών (θc), τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT) και τη θερμοκρασία T του κάθε αντιδραστήρα. Στο έκτο υποκεφάλαιο αξιολογείται το κόστος επεξεργασίας των υπογείων υδάτων, χρησιμοποιώντας SBR αντιδραστήρες, όπως χρησιμοποιήθηκαν και στην παρούσα διατριβή σε πιλοτικό επίπεδο.

4.2 Επίδραση του Αποδέκτη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγική Ικανότητα Cr(VI) των Μικροοργανισμών

4.2.1 Εισαγωγή

Η μελέτη της επίδρασης του αποδέκτη ηλεκτρονίων αναφορικά με την απομάκρυνση του Cr(VI) από τα υπόγεια ύδατα αποτελεί ένα κομβικό σημείο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, καθώς αποτέλεσε το εφαλτήριο για την περαιτέρω έρευνα προς μία κατεύθυνση.

Η βιολογική αναγωγή του Cr(VI) στο λιγότερο τοξικό Cr(III) μπορεί να συμβεί αερόβια (Ishibashi et al., 1990; Stasinakis et al., 2004), αναερόβια (Lovley and Philips 1994), αερόβια και αναερόβια (Shen and Wang, 1993; McLean and Beveridge, 2001). Υπό αερόβιες συνθήκες, η αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) μπορεί να πραγματοποιηθεί με τα NADH, NADPH ή ηλεκτρόνια από ενδογενή αποθέματα, λειτουργούν ως δότες

ηλεκτρονίων στη διαδικασία απομάκρυνσης του Cr(VI) (Ishibashi et al., 1990; Garbisu et al., 1998; Narayani and Vidya Shetty, 2013). Όπως έχει αναφερθεί και στο 2^ο κεφάλαιο, υπό αερόβιες συνθήκες, τα μόρια του οξυγόνου συναγωνίζονται με το Cr(VI) ως δέκτες ηλεκτρονίων. Θερμοδυναμικά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.1, η αναγωγή οξυγόνου παράγει περισσότερη ενέργεια από την αναγωγή του Cr(VI) (Shen and Wang, 1993). Επομένως, η μείωση του Cr(VI) παρουσία οξυγόνου είναι περισσότερο αποτέλεσμα του συμμεταβολισμού, με το οξυγόνο να είναι ο πρωταρχικός δέκτης ηλεκτρονίων, παρά μια διαδικασία παραγωγής ενέργειας (Wang and Shen, 1997). Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία (Chen and Gu, 2005; Komori et al., 1990a) που έδειξαν ότι η απομάκρυνση Cr(VI) σε αερόβιες καλλιέργειες αναστέλλεται σε υψηλά επίπεδα διαλυμένου DO.

Πίνακας 4.1: Παραγωγή ενέργειας από διάφορες οδούς για μεταβολισμό γλυκόζης (Shen and Wang, 1993; Lovley and Philips, 1989)

Αντιδρώντα	Προϊόντα	ΔG° (kJ/μεταφε ρόμενα e ⁻)	Λειτουργία
$C_6H_{12}O_6 + 6O_2$	$6CO_2 + 6H_2O$	-121	Αερόβια αναπνοή
$C_6H_{12}O_6 + 8CrO_4^{2-} + 34H^+$	$8Cr^{3+} + 6HCO_3^- + 20H_2O$	-83	Cr(VI) ως δέκτης e ⁻ λόγω οξειδωσης
$C_6H_{12}O_6 + H_2O$	$CH_3COO^- + HCO_3^- + H_2 + 3H^+$	-71	Ζύμωση
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O$	$2CH_3CH_2OH + 2HCO_3^- + 2H^+$	-57	Ζύμωση
$C_6H_{12}O_6 + 2.7CrO_4^{2-} + 9.3H^+$	$2.7Cr^{3+} + 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + 6.7H_2O$	-109	Μερική Ζύμωση: Cr(VI) ως δέκτης e ⁻
$C_6H_{12}O_6 + 0.67CrO_4^{2-} + 0.3H^+$	$0.67Cr^{3+} + CH_3COO^- + CH_3CH_2COO^- + HCO_3^- + 1.67H_2O$	-96	Ζύμωση: Cr(VI) ως δέκτης e ⁻

Υπό αναερόβιες συνθήκες, το Cr(VI) μπορεί να δρα ως δέκτης ηλεκτρονίων τόσο μέσω της δραστηριότητας της αναγωγάσης του εξασθενούς χρωμίου που είναι στο κυτταρόπλασμα

ή προσκολλημένη στην κυτταρική μεμβράνη. Απουσία οξυγόνου, το Cr(VI) χρησιμοποιείται ως δέκτης ηλεκτρονίων για την οξειδωση μιας μεγάλης ποικιλίας δοτών ηλεκτρονίων όπως υδατανθράκων, λιπών, πρωτεϊνών, αερίου υδρογόνου (Barrera-Diaz et al., 2012; Dhal et al., 2013). Σε αντίθεση με τη μείωση του Cr(VI) σε αερόβιες συνθήκες, η απομάκρυνση Cr(VI) σε αναερόβιο περιβάλλον όπου χρησιμοποιούνται διάφοροι δότες ηλεκτρονίων είναι συχνά πιο ευνοϊκή ενεργειακά από διεργασίες ζύμωσης, στις οποίες δε συμμετέχει η αναγωγή Cr(VI) (Mamais et al., 2016).

Για να μπορέσει να κατανοηθεί η επίδραση του αποδέκτη ηλεκτρονίων στην αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών, κρίθηκε αναγκαίο να μελετηθούν τρεις διαφορετικοί αποδέκτες ηλεκτρονίων, ώστε να βρεθούν οι πιο αποδοτικοί ως προς την αναγωγή Cr(VI) και οι πιο συμφέροντες από οικονομικής πλευράς.

Τα συστήματα που εξετάστηκαν σε αυτό το πρώτο στάδιο πειραμάτων της διατριβής και συγκρίθηκαν στις ίδιες λειτουργικές συνθήκες ήταν ένα πλήρως αερόβιο, ένα ανοξικό-αερόβιο σύστημα, ένα αναερόβιο-αερόβιο, ένα ανοξικό-αναερόβιο και ένα αναερόβιο, τα οποία περιγράφονται εν συνεχεία. Σκοπός επιλογής των παραπάνω συνθηκών ήταν να καλυφθεί πλήρως κάθε δυνατός συνδυασμός που πιθανόν να προκύψει κατά την επεξεργασία των υπόγειων υδάτων.

Παρακάτω παρουσιάζονται σε συντομία οι συνθήκες λειτουργίας του κάθε συστήματος που διέφεραν μεταξύ τους ως προς τον αποδέκτη ηλεκτρονίων και παρατίθενται σε πίνακα (Πίνακας 4.2) τα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους, διαγραμματική απεικόνιση των οποίων υπάρχει στο Παράρτημα Α1.

Α.Αερόβιος αντιδραστήρας: Ο κύκλος λειτουργίας του ήταν 24 ώρες και περιελάμβανε 22,5 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση, 1 ώρα καθίζηση και 0,5 ώρες άδειασμα και τροφοδοσία. Σε όλη τη διάρκεια λειτουργίας επικρατούσαν αερόβιες συνθήκες με τη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου να ξεπερνά τα 2 mg/L. Ο χρόνος παραμονής στερεών ήταν ίσος με 10 ημέρες και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής με 1,7 ημέρες.

Β. Ανοξικός-Αερόβιος αντιδραστήρας: Ο κύκλος λειτουργίας του ανοξικού-αερόβιου αντιδραστήρα ήταν 24 ώρες και περιελάμβανε αρχικά 8 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση

παρουσία νιτρικών, και χωρίς αερισμό (ανοξικές συνθήκες), 14,5 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση παρουσία αερισμού (αερόβιες συνθήκες), 1 ώρα καθίζηση και 0,5 ώρες άδειασμα και τροφοδοσία. Επιλέχθηκε χρόνος λειτουργίας του αντιδραστήρα υπό ανοξικές συνθήκες ίσος με 8 ώρες έτσι ώστε η συγκέντρωση των νιτρικών στο σύστημα να είναι μηδενική στο πέρας της φάσης αυτής. Ο χρόνος παραμονής στερεών ήταν ίσος με 10 ημέρες και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής με 1,5 ημέρες.

Γ. Αναερόβιος-αερόβιος: Ο κύκλος λειτουργίας του ήταν 24 ώρες και περιελάμβανε αρχικά 14,5 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση χωρίς αερισμό (αναερόβιες συνθήκες), 8 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση παρουσία αερισμού (αερόβιες συνθήκες), 1 ώρα καθίζηση και 0,5 ώρες άδειασμα και τροφοδοσία. Ο χρόνος παραμονής στερεών ήταν ίσος με 10 ημέρες και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής με 1,5 ημέρες.

Δ. Ανοξικός - Αναερόβιος αντιδραστήρας: Ο κύκλος λειτουργίας του ήταν 24 ώρες και περιελάμβανε 22,5 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση, 1 ώρα καθίζηση και 0,5 ώρες άδειασμα και τροφοδοσία. Από τις 22,5 ώρες λειτουργίας κατά τις 8 πρώτες ώρες μετά την τροφοδοσία επικρατούσαν ανοξικές συνθήκες και έπειτα λόγω της πλήρους κατανάλωσης των νιτρικών γίνονταν αναερόβιες. Ο χρόνος παραμονής στερεών ήταν ίσος με 10 ημέρες και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής με 1,5 ημέρες.

Ε. Αναερόβιος: κύκλος λειτουργίας του ήταν 24 ώρες και περιελάμβανε 22,5 ώρες λειτουργίας υπό ανάδευση, 1 ώρα καθίζηση και 0,5 ώρες άδειασμα και τροφοδοσία. Από τις 22,5 ώρες λειτουργίας κατά τις 2 πρώτες ώρες μετά την τροφοδοσία επικρατούσαν ανοξικές συνθήκες λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας των υπόγειων υδάτων σε νιτρικά και έπειτα λόγω της πλήρους κατανάλωσης των χαμηλών συγκεντρώσεων νιτρικών, επικρατούσαν αναερόβιες συνθήκες όπου κυριαρχούσαν κυρίως τα θειοαναγωγικά βακτήρια. Ο χρόνος παραμονής στερεών ήταν ίσος με 10 ημέρες και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής με 1,7 ημέρες.

Πίνακας 4.2: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων συμπεριλαμβανομένης της τυπικής απόκλισης (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Α1).

	Ανοξικό-Αερόβιο	Αναερόβιο-Αερόβιο	Ανοξικό-Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αερόβιο
Cr(VI)_{in(0)} (mg/L)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
COD_{in(tot)} (mg/L)	200	200	200	200	200
Είδος υποστ.	Γάλα	Γάλα	Γάλα	Γάλα	Γάλα
NO₃-N_{in} (mg/L)	10	-	10	-	-
T (°C)	17±0,4	17±0,5	17±0,8	17±1,0	17±2,0
Redox (mV)	-230±21/50±21*	-110±21/76±21*	-221±30	-179±17	140±18
pH	6,9±0,5	7,3±0,4	7±0,3	7,1±0,5	7,2±0,5
DO (mg/L)	0,08±0,02/1±0,1*	0,04±0,04/1,5±0,1*	0,06±0,04	0,04±0,03	2,2±0,03
HRT (d)	1,5	1,5	1,5	1,7	1,7
θ_c (d)	10	10	10	10	10
Εγκλιματισμένη λειτουργία (d)	95	95	30	85	60

4.2.2 Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση του Αποδέκτη Ηλεκτρονίων

Στην παρούσα υποενότητα θα εξεταστούν τα αποτελέσματα των πειραμάτων μεταξύ των προαναφερθέντων συστημάτων αρχικά ως προς την απόδοση τους στην αναγωγή του Cr(VI) και ταυτόχρονα ως προς την απομάκρυνση του οργανικού υποστρώματος (COD) από το διάλυμα. Επίσης παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των μορφών χρωμίου στα συστήματα επεξεργασίας ώστε: 1) να είναι δυνατός ο προσδιορισμός της δυνατότητας τήρησης των ορίων για νερό άρδευσης, 2) να επιβεβαιωθεί η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου σε τρισθενές καθώς και 3) να υπολογισθεί η περιεκτικότητα της λύσης σε χρώμιο. Παρακάτω παρατίθεται πίνακας (Πίνακας 4.3) στον οποίο αναφέρονται εκτενώς όλα τα πειραματικά αποτελέσματα για τον κάθε δέκτη που εξετάστηκε. Η τιμή που αναγράφεται αντιστοιχεί στο μέσο όρο των

μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν για το διάστημα εγκλιματισμένης λειτουργίας του κάθε αντιδραστήρα.

Πίνακας 4.3: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Α2)

	Ανοξικό- Αερόβιο	Αναερόβιο- Αερόβιο	Ανοξικό- Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αερόβιο
MLSS (mg/L)	200±18	200±43	218±17	604±17	493±116
MLVSS/MLSS (%)	90,0	94,0	88,0	90,0	91,8
COD_{soleff} (mg/L)	15±11	23±15	25±8	28±6	11±4
TSS_{eff} (mg/L)	27±16	49±20	27±9	59±28	8±3
COD_{solrem} (%)	92,5	88,5	88	86	94,5
Cr(VI)_{eff} (μg/L)	12±5	10±9	<LOQ*	<LOQ*	145±48
Cr(VI)_{rem} (%)	94,0	95,0	>99,0	>99,0	27,5
Cr_{(total)eff} (μg/L)	168±33	122±28	45±9	139±2	-
Cr_{(total)rem} (%)	16	39	73	30	-
TCr_{(sol)eff} (μg/L)	135±21	80±10	18±3	83±5	-
Cr(III) part/MLSS (mgCr/gSS)	1,05±0,4	1,9±0,2	1,6±0,2	3,0±0,3	-
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης Cr(VI) (μg Cr(VI)/h/gVSS)**	50±25	74±19	85±17	100±2	0
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης COD (mg COD/h/g VSS)**	20±5	16±6	15±10	18±8	-
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης NO₃-N (mg NO₃-N /h/g VSS)**	2,03±1	-	3,3±0,6	-	-

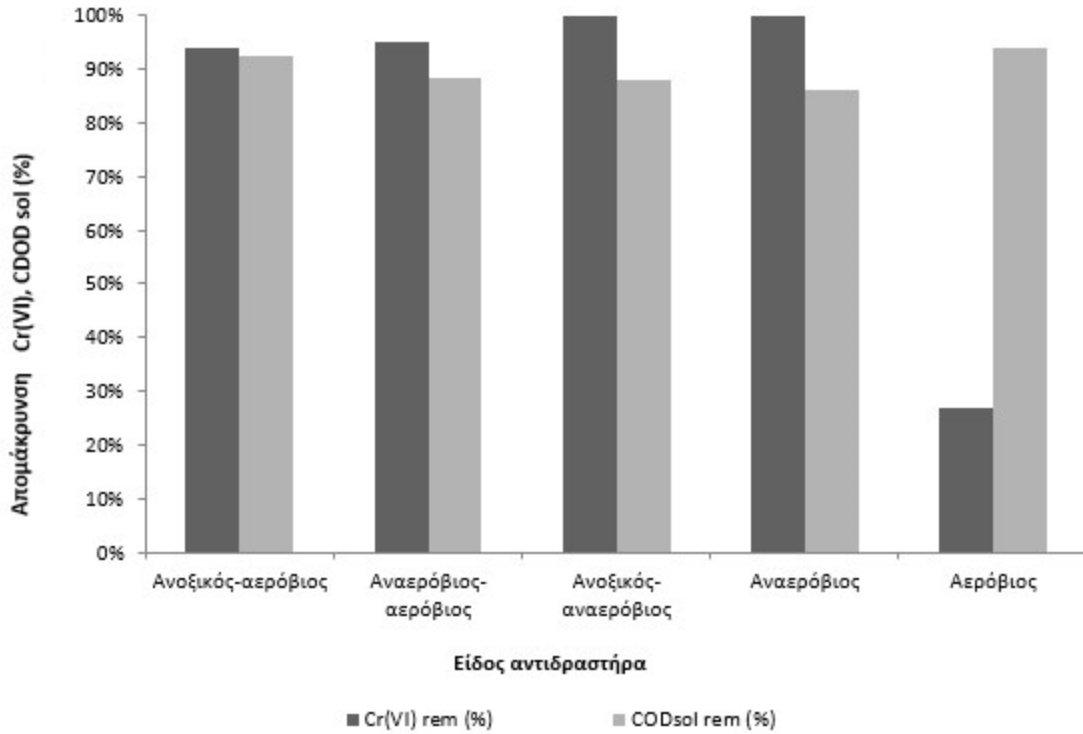
* LOQ = 2.5 μg/L **Υπολογισμένα κατά τη διάρκεια πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch)

4.2.3 Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)

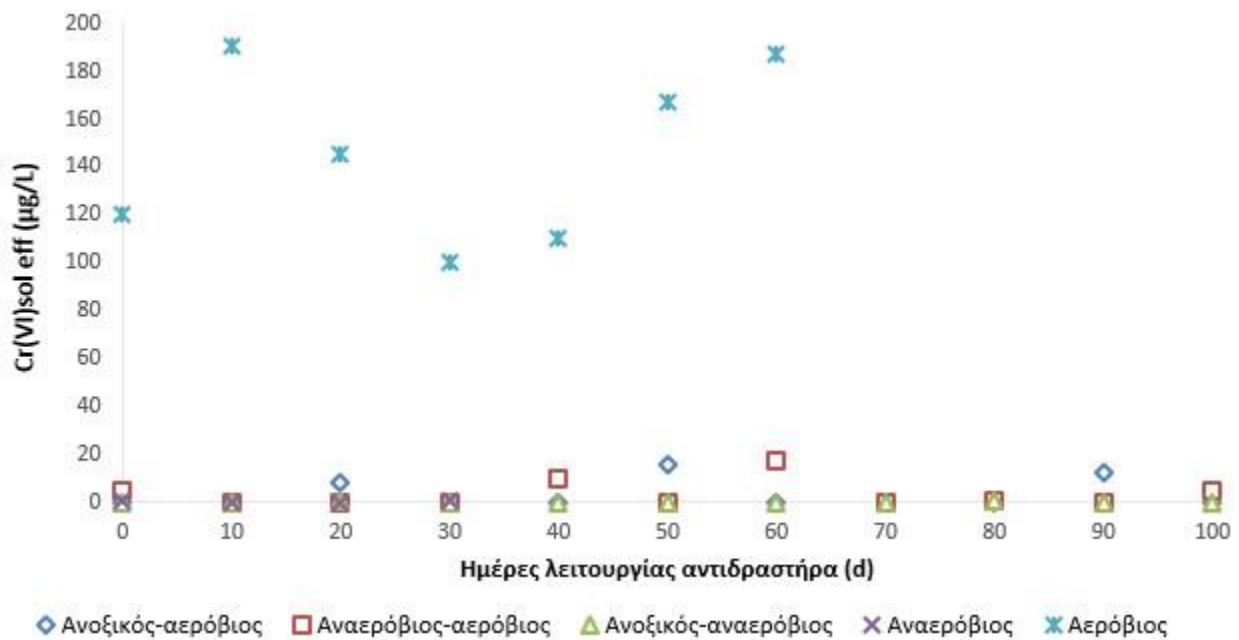
Κατά τη μελέτη των πειραματικών δεδομένων που συνοπτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3, προέκυψε ότι η λειτουργία ενός πλήρως αναερόβιου συστήματος και ενός ανοξικού-αναερόβιου, σε συνδυασμό με προθήκη εξωτερικής πηγής οργανικού άνθρακα (γάλα) σε συγκέντρωση ολικού COD ίση με 200 mg/L, μπορεί να οδηγήσουν σε πλήρη απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου από το υπόγειο νερό, που άγγιξε το 100% για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 μg/L. Αξιόλογη απομάκρυνση Cr(VI) μπορεί επίσης να επιτευχθεί σε ένα αναερόβιο-αερόβιο σύστημα SBR, καθώς και σε ένα ανοξικό-αερόβιο σύστημα SBR. Παρόμοια προσέγγιση υιοθετήθηκε και από άλλους ερευνητές (Stasinakis et al. 2004; Imai and Gloyna, 1990). Όλοι οι αναφερθέντες SBR αντιδραστήρες είχαν απόδοση αναγωγής χρωμίου πάνω από 94% και κατανάλωση οργανικού υποστρώματος μεγαλύτερης του 86% (Διάγραμμα 4.1).

Ωστόσο, το αερόβιο σύστημα δεν κατέστη δυνατόν να υποστηρίξει τόσο υψηλή απόδοση αναγωγής Cr(VI), αφού δεν ξεπέρασε το 28% στην απομάκρυνση του τοξικού ρύπου, με μέσο όρο συγκέντρωσης εξόδου του Cr(VI) να φτάνει τα 148 μg/L (Διάγραμμα 4.2). Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την ενεργειακή απαίτηση οξυγόνου κατά τη διάρκεια λειτουργίας του, συντέλεσαν στον αποκλεισμό του από τη συνέχεια της έρευνας.

Στο Παράρτημα A2 παρατίθενται αναλυτικά διαγράμματα που αφορούν την απόδοση του κάθε αντιδραστήρα ως προς την αναγωγή του Cr(VI) συγκριτικά με την κατανάλωση του οργανικού άνθρακα για όλη τη διάρκεια λειτουργίας του, ενώ παρακάτω εμφανίζονται συνοπτικά διάγραμμα όλων των συστημάτων όσον αφορά την απόδοση και τη συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου στην έξοδο.



Διάγραμμα 4.1: Το ποσοστό (%) αναγωγής Cr(VI) και οξείδωσης του οργανικού άνθρακα (COD)sol στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 $\mu\text{g/L}$)



Διάγραμμα 4.2: Συγκέντρωση Cr(VI) στην έξοδο του κάθε αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 $\mu\text{g/L}$

4.2.4 Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο

Από τις μετρήσεις ολικού και εξασθενούς χρωμίου μπορεί να υπολογισθεί η κατανομή των δύο μορφών χρωμίου (εξασθενές και τρισθενές) σε κάθε φάση του συστήματος. Το τρισθενές χρώμιο υπολογίζεται αφαιρώντας την τιμή του εξασθενούς από το ολικό χρώμιο. Έχει θεωρηθεί ότι η διηθημένη έξοδος του συστήματος (διήθηση από μεμβράνη 0,45 μm) αποτελεί τη διαλυτή φάση. Για τον υπολογισμό της σωματιδιακής φάσης αφαιρείται από το ολικό χρώμιο ανάμικτου υγρού, το ολικό διαλυτό χρώμιο εξόδου (είναι ίδιο με τη διαλυτή φάση του ανάμικτου υγρού).

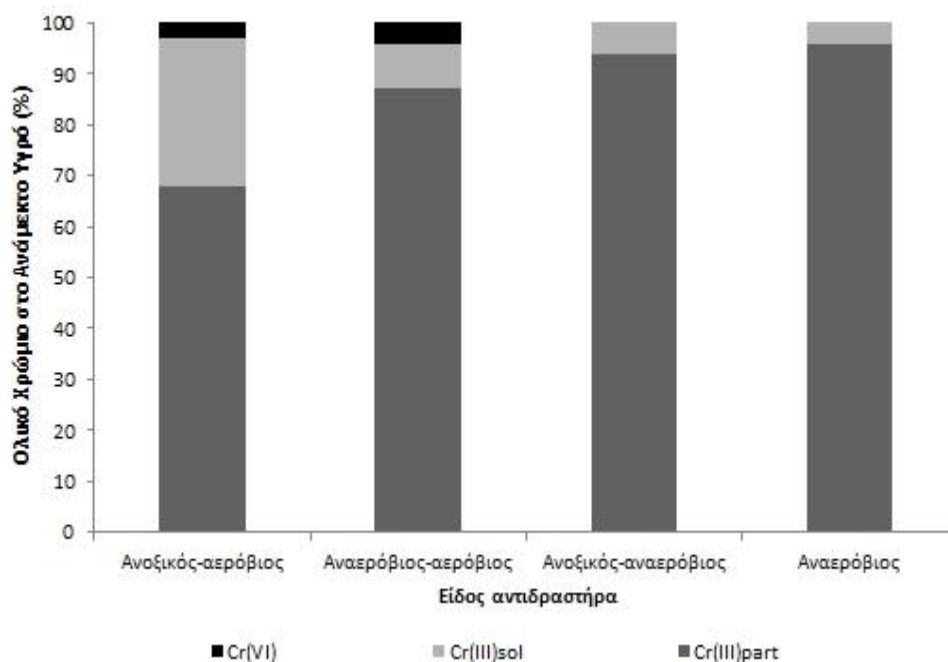
Η απόδοση του συστήματος ως προς το ολικό χρώμιο υπολογίστηκε με τιμή τελικής εξόδου από τη διηθημένη έξοδο, δηλαδή σαν τιμή εισόδου λήφθηκε η τιμή του εξασθενούς χρωμίου που υπολογιζόταν επί καθημερινής βάσεως. Ο τύπος υπολογισμού της απόδοσης είναι:

$$E_{\text{ολικού χρωμίου}} = \frac{200 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} TCr - \text{Τιμή Εξόδου}}{200 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} TCr}$$

Από τον Πίνακα 4.3 καθώς και στα παρακάτω διαγράμματα (Διάγραμμα 4.3, 4.4) σχετικά με την ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου προκύπτουν τα εξής:

Σε όλα τα είδη αποδέκτη ηλεκτρονίων, η μορφή που επικρατεί στο ανάμικτο υγρό είναι αυτή του σωματιδιακού τρισθενούς χρωμίου, γεγονός που επαληθεύει την αναγωγή του εξασθενούς σε τρισθενές χρώμιο από τους μικροοργανισμούς, το οποίο συσσωρεύεται στη βιομάζα (Διάγραμμα 4.3). Η τιμή ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό είναι όπως αναμενόταν μεγαλύτερη από την καθημερινή τιμή εισόδου εξασθενούς καθώς σε αυτήν τη μέτρηση συμπεριλαμβάνεται και η συσσώρευση χρωμίου που έχει γίνει μέσα στους μικροοργανισμούς. Συνεπώς, η τιμή αυτή έχει άμεση σχέση με τη συγκέντρωση μικροοργανισμών στο διάλυμα. Ο αναερόβιος αντιδραστήρας παράγαγε την περισσότερο επιβαρυσμένη λάσπη, αλλά αυτό οφείλεται στην αυξημένη συγκέντρωση στερεών που διέθετε. Οι υπόλοιποι αντιδραστήρες κινήθηκαν στα ίδια επίπεδα, με τον καθένα να

ξεπερνάει κατά πολύ τα όρια αγροτικής διάθεσης της παραγόμενης λάσπης (500 mgTCr/kg MLSS). Ο αερόβιος αντιδραστήρας δε μετρήθηκε όσον αφορά την απόδοση του στην απομάκρυνση του ολικού χρωμίου, εφόσον η τιμή συγκέντρωσης του εξασθενούς διαλυτού χρωμίου στην έξοδο ήταν πολύ υψηλή (148 µg/L).

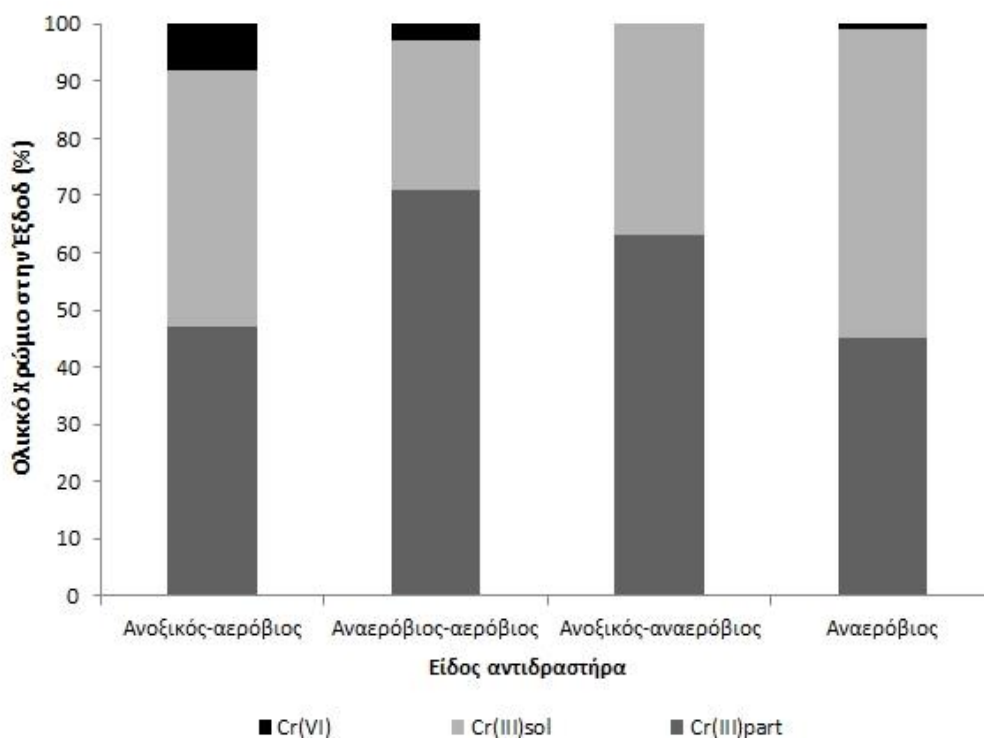


Διάγραμμα 4.3: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμεικτο υγρό για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)

Στην έξοδο, οι τιμές ολικού χρωμίου υπερβαίνουν τα όρια των 100 µg/L που έχουν θεσπιστεί για ολικό χρώμιο εξόδου σε όλους τους αντιδραστήρες. Το ποσοστό του διαλυτού τρισθενούς που μετρήθηκε είναι σχετικά μεγάλο συγκρινόμενο με αντίστοιχες τιμές από την βιβλιογραφία (Stasinakis et al., 2003), αλλά αυτό οφείλεται στο ότι ως διηθημένο περιέχει και σημαντικές ποσότητες οργανικών κολλοειδών, οι οποίες μέσω της κλασματοποίησης διαπερνούν τη μεμβράνη των 0,45 µm, επομένως θα μπορούσαν να αφαιρεθούν με μία περαιτέρω επεξεργασία της εξόδου. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν γίνει και από άλλες ερευνητικές ομάδες οι οποίες αναφέρουν ότι σημαντικές ποσότητες Cr(III) παραμένουν σε διαλυτή μορφή σχηματίζοντας σύμπλοκα διαλυτού Cr(III)-

οργανικών (Remoundaki et al., 2007; Xu et al., 2011) σε συστήματα που τροφοδοτούνται με οργανικές ενώσεις.

Παρατηρείται τέλος ότι στην πλειονότητα των μετρήσεων, και στις δύο φάσεις υπερισχύει το σωματιδιακό τρισθενές όπως ήταν και αναμενόμενο λόγω της βιοχημικής αναγωγής του εξασθενούς σε τρισθενές και τη μετέπειτα προσρόφηση του στη βιομάζα (Διάγραμμα 4.4).

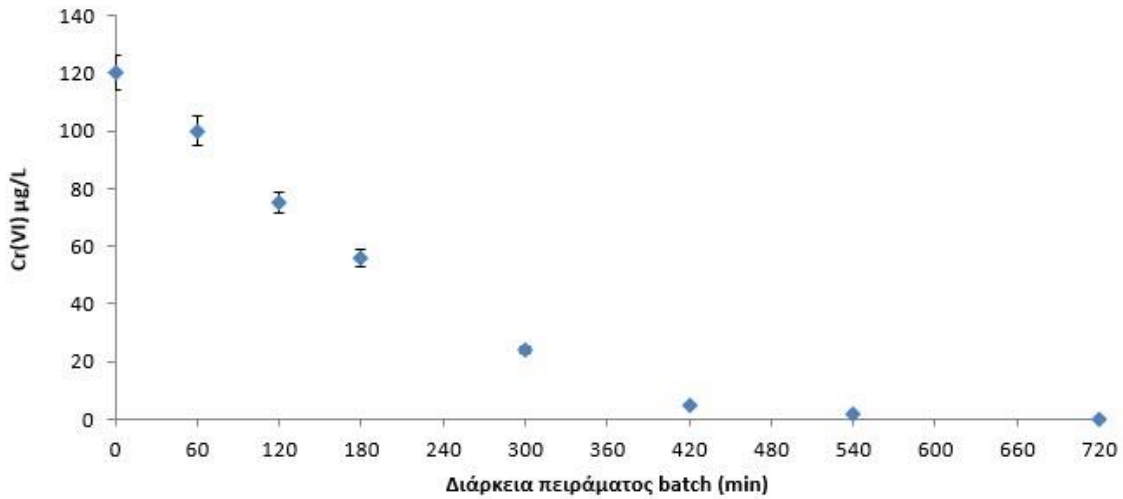


Διάγραμμα 4.4: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην έξοδο για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)

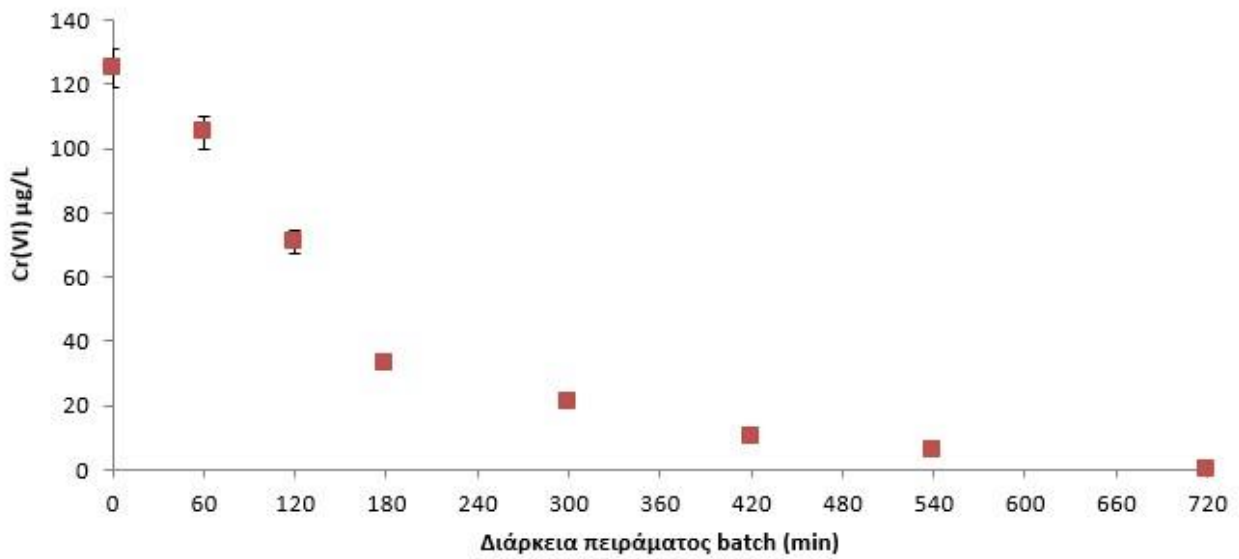
4.2.5 Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)

Ο ρυθμός απομάκρυνσης του Cr(VI), του διαλυτού COD καθώς και των νιτρικών (όπου αυτό ήταν απαραίτητο), προέκυψε από πειράματα διαλείποντος έργου-ασυνεχούς λειτουργίας (batch), τα οποία διεξάγονταν πάντα 3 φορές (triplicates) για μεγαλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Βάσει του Πίνακα 4.3, ο ρυθμός απομάκρυνσης του Cr(VI) που αποτελεί και το κύριο εύρημα των εν λόγω πειραμάτων, ήταν μεγαλύτερος στον αναερόβιο αντιδραστήρα (100 $\mu\text{g Cr(VI)/h/gVSS}$) έπειτα στον ανοξικό-αναερόβιο (85 $\mu\text{g Cr(VI)/h/gVSS}$) και οι υπόλοιποι έπονται (αναερόβιος-αερόβιος: 74 $\mu\text{g Cr(VI)/h/gVSS}$ και ανοξικός-αερόβιος: 50 $\mu\text{g Cr(VI)/h/gVSS}$), για αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 $\mu\text{g/L}$. Για την καλύτερη συγκριτική ανάλυση των αποτελεσμάτων, ο κάθε βιοαντιδραστήρας στον οποίο διεξαγόταν το batch πείραμα, περιείχε την ίδια συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών (MLSS) με τους υπόλοιπους. Παρακάτω παρατίθενται διαγράμματα (Διαγράμματα 4.5-4.8) με τη γραμμική απομάκρυνση του Cr(VI) για τον κάθε αντιδραστήρα (μέσος όρος των 3 πειραμάτων). Τα παρακάτω διαγράμματα περιέχουν και τους άξονες σφάλματος (error bars), ωστόσο είναι τόσο μικροί που στην πλειονότητα των σημείων δεν φαίνονται. Ο ρυθμός αναγωγής Cr(VI) στον αντιδραστήρα που λειτουργούσε σε αερόβιες συνθήκες ήταν σχεδόν μηδενικός, κατά συνέπεια δεν συμπεριλήφθηκε στα διαγράμματα, ενώ η απομάκρυνση του COD παρατίθεται στο Παράρτημα A2. Σε κάθε πείραμα πρώτα υπολογίζεται η αρχική συγκέντρωση Cr(VI) που θα έχει ο αντιδραστήρας μετά την τροφοδοσία, με βάση το εξασθενές χρώμιο που προστίθεται. Το χρώμιο που προστίθεται με τη μορφή εξασθενούς, είναι συγκέντρωσης 200 $\mu\text{g/L}$. Για να υπολογιστεί η αραίωση που γίνεται όταν το Cr(VI) εισέρχεται στον αντιδραστήρα, πολλαπλασιάζεται η συγκέντρωση με την παροχή και διαιρείται με τον συνολικό όγκο του.

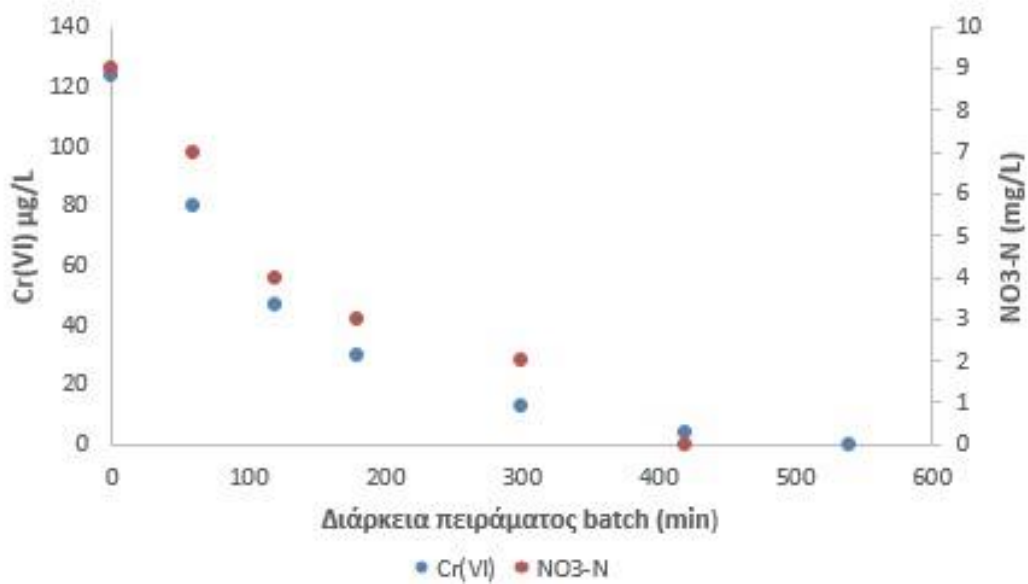
Αραίωση = $\frac{Q \cdot Cr(VI)}{V} = \frac{3,1 \text{ L} \cdot 200 \mu\text{g/L}}{5 \text{ L}} = 124 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}}$. Αυτός είναι και ο λόγος που στο παρακάτω γράφημα η αρχική συγκέντρωση του Cr(VI) ξεκινά από μία τιμή της τάξης των 125 $\mu\text{g/L}$.



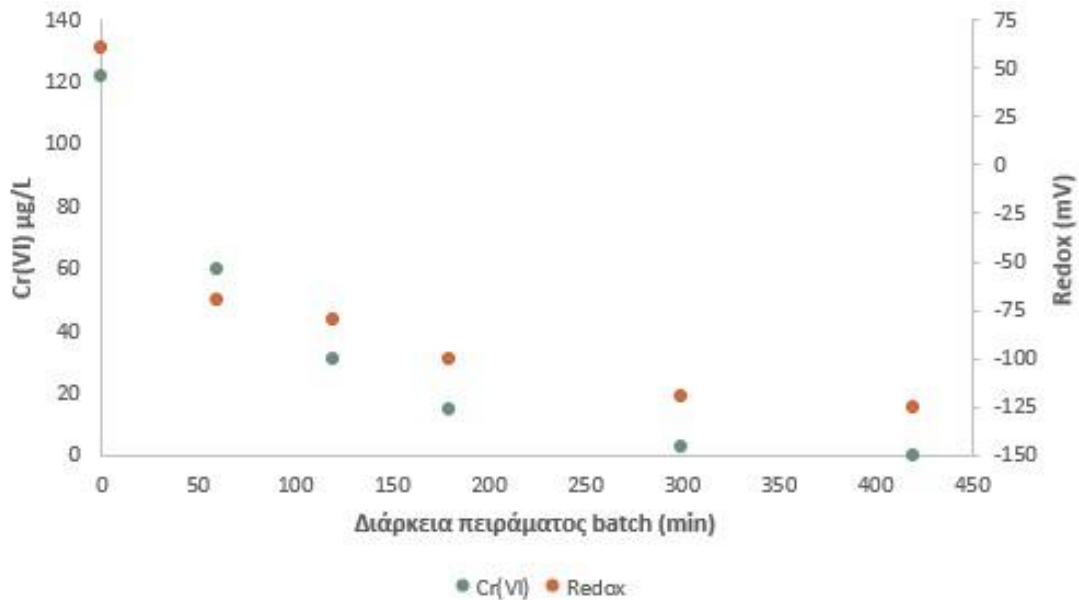
Διάγραμμα 4.5: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον ανοξικό-αερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L



Διάγραμμα 4.6: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον αναερόβιο-αερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L



Διάγραμμα 4.7: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον ανοξικό-αναερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L



Διάγραμμα 4.8: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για τον αναερόβιο αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 µg/L

Στα Διαγράμματα 4.7 και 4.8, θωρήθηκε σκόπιμο να αναλυθεί παράλληλα με την αναγωγή του Cr(VI) στα πειράματα batch και η πτώση της συγκέντρωσης των NO₃-N για τον ανοξικό-αναερόβιο αντιδραστήρα και η πτώση του δυναμικού οξειδοαναγωγής (Redox) για τον αναερόβιο, αντίστοιχα.

Συγκρίνοντας την κατανάλωση των νιτρικών στο Διάγραμμα 4.7, συμπεραίνεται ότι η κατανάλωση του COD από τους μικροοργανισμούς οδηγεί στην απονιτροποίηση των NO₃-N και ταυτόχρονα στην αναγωγή του Cr(VI). Παρατηρείται ότι η μείωση του χρωμίου γίνεται ταυτόχρονα με την μείωση των νιτρικών και ο ένας αποδέκτης ηλεκτρονίων δεν αναχαιτίζει την αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου σε τρισθενές. Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής συμφωνούν με τους Williams et al. (2004) που παρατήρησαν ότι η απομάκρυνση NO₃⁻ και Cr(VI) μπορεί να πραγματοποιηθεί ταυτοχρόνως από μ/ο ως μία διαδικασία συν-μεταβολισμού (cometabolic).

Σχετικά τα πειράματα που εκτελέστηκαν σε αναερόβιες και θειοαναγωγικές συνθήκες (Διάγραμμα 4.8) παρατηρείται ότι, επειδή το νερό βρύσης που προστίθεται κατά την τροφοδοσία του συστήματος περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου, σε t=0 οι τιμές του δυναμικού οξειδοαναγωγής είναι θετικές. Όπως και στην περίπτωση των ανοξικών συνθηκών, η αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου δεν αναχαιτίζεται από τις υψηλότερες τιμές του δυναμικού οξειδοαναγωγής και ξεκινά άμεσα παράλληλα με τη μείωση της τιμής του δυναμικού οξειδοαναγωγής.

4.2.6 Συμπεράσματα Επίδρασης Αποδέκτη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγή Cr(VI)

Ολοκληρώνοντας την παρούσα ενότητα, εξήχθησαν σημαντικά συμπεράσματα όσον αφορά στην επίδραση του αποδέκτη ηλεκτρονίων στη δυνατότητα απομάκρυνσης ολικού και εξασθενούς χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα με βιολογικά συστήματα SBR.

Πιο συγκεκριμένα από τα συστήματα που εξετάστηκαν (ανοξικό-αερόβιο, αναερόβιο-αερόβιο, ανοξικό-αναερόβιο, αναερόβιο και αερόβιο), προκύπτουν τα εξής:

Όσον αφορά τον ανοξικό-αερόβιο και τον αναερόβιο-αερόβιο αντιδραστήρα κρίθηκαν ως αποδοτικά συστήματα με την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου να είναι χαμηλότερη από 90% κατά το διάστημα λειτουργίας τους, για αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 μg/L.

Παρόλα αυτά η απόδοση των υπόλοιπων συστημάτων (ανοξικού-αναερόβιου και αναερόβιου) κρίθηκε άκρως ικανοποιητική, αφού άγγιξε το 100% (Mamais et al., 2016).

Από την άλλη πλευρά, κατά την τρίμηνη λειτουργία του αερόβιου συστήματος δεν ήταν δυνατό να αποδειχθεί σημαντική απομάκρυνση Cr(VI). Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στο ότι η διάρκεια των πειραμάτων δεν ήταν επαρκής για την ανάπτυξη μιας αερόβιας καλλιέργειας μείωσης του Cr(VI) και/ή ότι η σχετικά χαμηλή συγκέντρωση Cr(VI) στο προς επεξεργασία νερό δεν ήταν αρκετά υψηλή για να δημιουργήσει ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα για το Cr(VI), μειώνοντας τα βακτήρια σε σύγκριση με άλλους μη αναγωγικούς ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς. Η απόδοση του αερόβιου αντιδραστήρα δεν ήταν καθόλου ικανοποιητική, μη ξεπερνώντας το 28%, γεγονός επίσης που ταυτίζεται με τις έρευνες που έδειξαν ότι η απομάκρυνση Cr(VI) σε αερόβιες καλλιέργειες αναστέλλεται σε υψηλά επίπεδα διαλυμένου DO (Chen and Gu, 2005; Komori et al., 1990). Βάσει των αποτελεσμάτων αυτής της μελέτης και της εκτεταμένης εμφάνιση αναερόβιων αναγωγικών βακτηρίων, φαίνεται ότι η επεξεργασία των υπόγειων υδάτων για την απομάκρυνση του Cr(VI) στην κλίμακα 0-200 μg/L είναι πιθανότερο να μη συμβεί (Mamais et al., 2016).

Μέσω των πειραμάτων προσδιορισμού των μέγιστων ρυθμών απομάκρυνσης Cr(VI) προέκυψε ότι η αναγωγή του χρωμίου γινόταν μόνο κατά τη λειτουργία υπό αναερόβιες συνθήκες καθώς με την έναρξη του αερόβιου κύκλου δεν πραγματοποιείται περαιτέρω μείωση της συγκέντρωσης του χρωμίου.

Το ανοξικό-αναερόβιο σύστημα συνδύασε την απομάκρυνση των νιτρικών από τα υπόγεια νερά με την πλήρη απομάκρυνση Cr(VI), η οποία ευνοείται υπό αναερόβιες συνθήκες. Η απόδοση του συστήματος ως προς την απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου ήταν μεγαλύτερη από 99% για αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 μg/L, δίνοντας

του άμεσο προβάδισμα λόγω και της απαλλαγής του από το κόστος του αερισμού. Το ίδιο ισχύει και για το πλήρως αναερόβιο σύστημα.

Στην περίπτωση του ανοξικού-αναερόβιου συστήματος, όλες οι μετρήσεις ολικού χρωμίου τόσο στην εκροή όσο και στο διήθημα αυτής, είναι αρκετά χαμηλότερες του ορίου άρδευσης (100 $\mu\text{g/L}$). Οι αποδόσεις του συστήματος είναι ιδιαίτερα αυξημένες, γεγονός που οφείλεται τόσο στην πλήρη αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III), αλλά και στην αυξημένη θερμοκρασία που συμβάλλει στη μείωση διαλυτού τρισθενούς. Κατά συνέπεια, η διηθημένη εκροή φτάνει στην εξαιρετικά χαμηλή τιμή των 17 $\mu\text{g/L}$.

Το σωματιδιακό χρώμιο διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μόνο υπό τη μορφή τρισθενούς καθώς ελέγχθηκε και αποκλείστηκε το ενδεχόμενο προσρόφησης του Cr(VI) στη βιομάζα (<5 ng Cr(VI)/mg TSS). Συνεπώς, η απομάκρυνση του Cr(VI) γίνεται μέσω αναγωγής του και όχι προσρόφησης του από τους μικροοργανισμούς, γεγονός που επιβεβαιώνεται από τη διεθνή βιβλιογραφία (Stasinakis et al., 2004; Xu et al., 2011). Από τις τιμές περιεκτικότητας λύος σε χρώμιο συμπεραίνεται ότι σε όλα τα συστήματα υπερβαίνονται τα όρια αγροτικής διάθεσης της παραγόμενης λάσπης (500 mgTCr/kg MLSS). Κατά συνέπεια δεν κρίνεται δυνατή η αγροτική χρήση της λύος και θα πρέπει να διερευνηθούν εναλλακτικοί τρόποι περαιτέρω επεξεργασίας και τελικής διάθεσης αυτής.

Αποσαφηνίζοντας την επίδραση του αποδέκτη ηλεκτρονίων στη βιομετατροπή του Cr(VI), ως απόρροια των παραπάνω συμπερασμάτων, κρίθηκε σκόπιμο η περαιτέρω έρευνα να εμβαθύνει ως προς τη συγκέντρωση/είδος του δότη ηλεκτρονίων και τα όρια της τοξικότητας, έχοντας ως βάση τον ανοξικό-αναερόβιο και τον αναερόβιο αντιδραστήρα, αφού κρίθηκαν οι πλέον ικανοποιητικοί από πλευράς απόδοσης και κόστους λειτουργίας.

4.3 Επίδραση του Είδους και της Δόσης Δότη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγική Ικανότητα του Cr(VI) των Μικροοργανισμών

4.3.1 Εισαγωγή

Υπό αναερόβιες συνθήκες, τα βακτήρια που μειώνουν το Cr(VI) μπορούν να χρησιμοποιούν μια μεγάλη ποικιλία οργανικών ουσιών ως δότες ηλεκτρονίων που κυμαίνονται από απλές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους, όπως λιπαρά οξέα και υδατάνθρακες μέχρι πιο σύνθετες πηγές άνθρακα όπως άμυλο, γλυκερόλη και πράσινο κομπόστ (Revati Wani et al., 2007; Orozco et al., 2010; Singh et al. 2011; Brodie et al., 2011; Narayani and Vidya Shetty, 2013).

Στην παρούσα υποενοότητα κρίθηκε σκόπιμο να ερευνηθεί σε βάθος όχι μόνο το είδος του οργανικού άνθρακα αλλά και η συγκέντρωσή του, ώστε να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός για την αναγωγή του Cr(VI). Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν, προσομοιώνουν εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις (ζάχαρη) καθώς επίσης και δύσκολα βιοδιασπάσιμες ουσίες που περιέχονται στο γάλα και στο απόβλητο των τυροκομείων (εφεξής τυρόγαλο). Επιπλέον παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της έρευνας του ισοζυγίου των ηλεκτρονίων που χρησιμοποιήθηκε στην πλειονότητα των πειραμάτων, με σκοπό τον ποσοστιαίο υπολογισμό των ισοδύναμων ηλεκτρονίων που καταναλώνονταν από κάθε διεργασία. Καθώς τα πειράματα πραγματοποιούνταν υπό συγκεκριμένες συνθήκες, οι κύριες διεργασίες κατανάλωσης ισοδύναμων ηλεκτρονίων ήταν γνωστές και ήταν οι εξής: α) η μεθανογένεση, β) η θεικοαναγωγή, γ) η οξικογένεση και δ) ομοοξικογένεση. Τέλος για πιο εμπεριστατωμένα συμπεράσματα, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) στους βιοαντιδραστήρες, προκειμένου να διαπιστωθεί αν οι πολλές αλλαγές είδους/συγκέντρωσης υποστρώματος προκαλούσαν αστάθεια των συστημάτων.

4.3.2 Επίδραση του Είδους Υποστρώματος στην Αναγωγική Ικανότητα των μικροοργανισμών

Το είδος υποστρώματος που έχει ήδη εξεταστεί και είχε πλήρως ικανοποιητικά αποτελέσματα ήταν το γάλα, σε συγκέντρωση εισόδου COD_{total} ίση με 200 mg/L (βλέπε ενότητα 4.2). Ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης Cr(VI) για όλα τα υπό εξέταση συστήματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε το γάλα ως δότης ηλεκτρονίων κυμαινόταν από 50-100 μg Cr(VI)/h/g VSS και η απόδοση αναγωγής Cr(VI) κυμάνθηκε σε τιμές άνω του 94%, για αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI) 200 μg/L, με εξαίρεση το αερόβιο σύστημα το οποίο πέτυχε σχεδόν μηδενική αναγωγή εξασθενούς χρωμίου.

Η ανάγκη εξεύρεσης οικονομικότερης λύσης από το γάλα του εμπορίου και χωρίς να μειώνεται η θρεπτική αξία για τους μικροοργανισμούς, οδήγησε τις έρευνες στην ανάγκη χρήσης άλλων πηγών οργανικού άνθρακα, όπως η ζάχαρη και το τυρόγαλο αντίστοιχα. Ο συνδυασμός ζάχαρης/γάλακτος έγινε σε ποσοστό 90/10 σε όρους COD.

Οι βιοαντιδραστήρες που χρησιμοποιήθηκαν όπως έχει προαναφερθεί λειτούργησαν σε αναερόβιες και ανοξικές-αναερόβιες συνθήκες, με ίδιο χρόνο παραμονής στερεών (10 ημέρες) και ίδιο υδραυλικό χρόνο παραμονής (1,7 ημέρες). Παρακάτω παρουσιάζεται πίνακας (Πίνακας 4.4) με τον μέσο όρο των μετρήσεων για τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αντιδραστήρων.

Πίνακας 4.4: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Β1)

	Ανοξικό- Αναερόβιο	Ανοξικό- Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο
Cr(VI)_{in (0)} (mg/L)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
COD_{in(tot)} (mg/L)	200	200	200	200	200
Είδος υποστ.	Τυρόγαλο	Ζάχαρη/Γάλα	Τυρόγαλο	Ζάχαρη/Γάλα	Ζάχαρη
NO₃-N_{in} (mg/L)	10	10	-	-	-
T (°C)	25±0,5	22±1	25±0,7	22±0,2	23±0,5
Redox (mV)	-225 ±12	-210±19	-155±20	-152±17	-170±27
pH	7,1±0,1	6,9±0,1	7,1±0,2	6,8±0,05	6,9±0,05
DO (mg/L)	0,05±0,02	0,05±0,01	0,04±0,02	0,07±0,01	0,06±0,02
HRT (d)	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
θ_c (d)	10	10	10	10	10
Εγκλιματισμένη λειτουργία (d)	60	52	60	60	130

4.3.2.1 Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση του Είδους Υποστρώματος

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.5) παρατίθενται τα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση του είδους του υποστρώματος στην απομάκρυνση του Cr(VI).

Πίνακας 4.5: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Β2)

Είδος υποστρ.	Ανοξικό- Αναερόβιο	Ανοξικό- Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο
	Τυρόγαλο	Ζάχαρη/Γάλα	Τυρόγαλο	Ζάχαρη/Γάλα	Ζάχαρη
MLSS (mg/L)	444±29	623±24	524±34	755±19	633±35
MLVSS/MLSS (%)	82,0	86,0	83,0	71,0	91,0
COD_{soleff} (mg/L)	12±5	35±5	12±5	18±5	15±5
TSS_{eff} (mg/L)	32±12	30±5	40±6	18±9	24±7
COD_{solrem} (%)	94,0	82,0	94,0	91,0	92,0
Cr(VI)_{eff} (μg/L)	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
Cr(VI)_{rem} (%)	>99,0	>99,0	>99,0	>99,0	>99,0
Cr_{(total)eff} (μg/L)	44±3	37±10	103±4	13±5	-
Cr_{(total)rem} (%)	78,0	81,0	48,0	90,0	-
TCr_{(sol)eff} (μg/L)	17±5	13±2	22±8	7±3	-
Cr(III) part/MLSS (mgCr/gSS)	2,3±0,04	2,4±0,03	2,6±0,02	1,9±0,05	-
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης Cr(VI) (μg Cr(VI)/h/g VSS)**	127±30	270±50	179±16	230±41	263±23
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης COD (mg COD/h/g VSS)**	10±2	16±5	27±1	16±4	25±3
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης NO₃-N (mg NO₃-N /h/g VSS)**	5±2	3±1	-	-	-

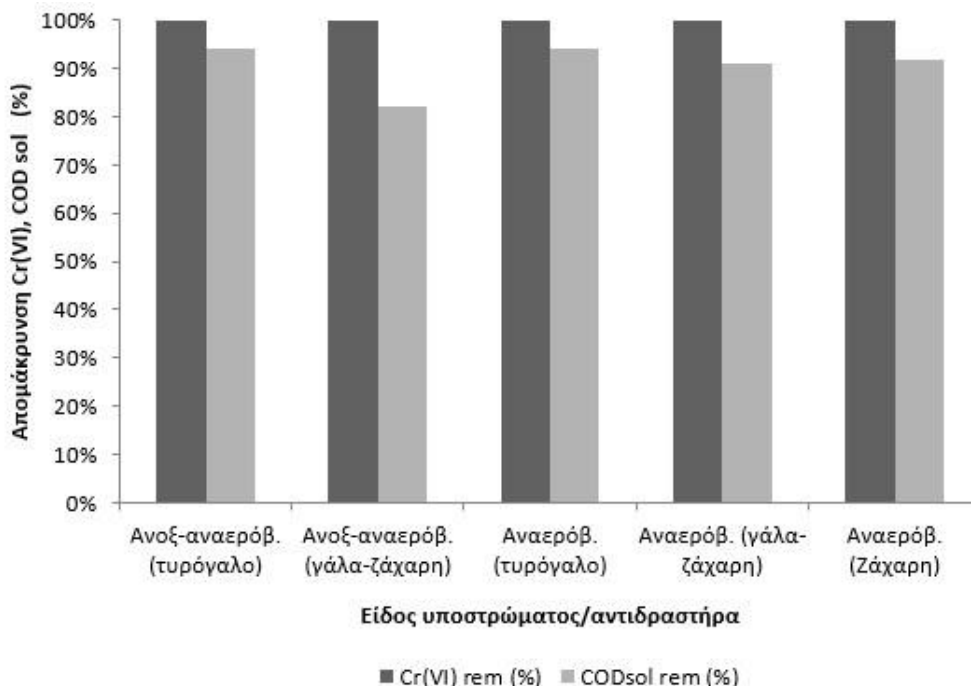
* LOQ = 2.5 μg/L **Υπολογισμένα κατά τη διάρκεια πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch)

Σε μία πρώτη ανάγνωση του Πίνακα 4.5, όλες οι διαφορετικές πηγές ηλεκτρονίων λειτούργησαν εξαιρετικά παρέχοντας υψηλά ποσοστά επιτυχίας που αγγίζουν το 100% στη βιομετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III) για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 μg/L, και πάνω από 80% για την απομάκρυνση του οργανικού υποστρώματος, παρόλη τη διαφορά της συγκέντρωσης των οργανικών αιωρούμενων στερεών στο ανάμικτο υγρό του κάθε αντιδραστήρα. Αναλυτικά διαγράμματα με τα πειραματικά αποτελέσματα περιέχονται στο Παράρτημα B2.

4.3.2.2 Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)

Αναλογιζόμενοι τα αποτελέσματα των πειραμάτων με το γάλα για τα αναερόβια και ανοξικά-αναερόβια συστήματα με αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 μg/L, (μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης Cr(VI) ίση με 50-100 μg Cr(VI)/h/g VSS, απομάκρυνση $Cr(VI)_{rem} > 99\%$), και από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται πως τα είδη του οργανικού δότη ηλεκτρονίων που εξετάστηκαν για τη βιομετατροπή του Cr(VI) σε Cr(III), δεν επηρέασαν ιδιαίτερα το αποτέλεσμα, καθώς σε κάθε πιθανό συνδυασμό δότη η απόδοση αναγωγής άγγιξε το 100%. Μικρή διαφορά παρατηρείται ως προς την απομάκρυνση του COD, η οποία ωστόσο σε απόλυτους αριθμούς δε διαφέρει πολύ (Διάγραμμα 4.9). Η ουσιαστική διαφορά έγκειται μόνο στην ταχύτητα της αναγωγής του Cr(VI), γεγονός που θα αναλυθεί παρακάτω.

Η επιτυχής και πλήρης αναγωγή του Cr(VI) με κάθε είδος οργανικού υποστρώματος, υποδεικνύει ότι η πηγή άνθρακα είναι μία παράμετρος κλειδί για τη μικροβιακή δυναμική και την ενίσχυση της αναγωγής χρωμίου και πως θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για τον αποτελεσματικό σχεδιασμό ενός βιοαντιδραστήρα (Tekerlopolou et al., 2010; Mamais et al., 2016; Panousi et al., 2017).

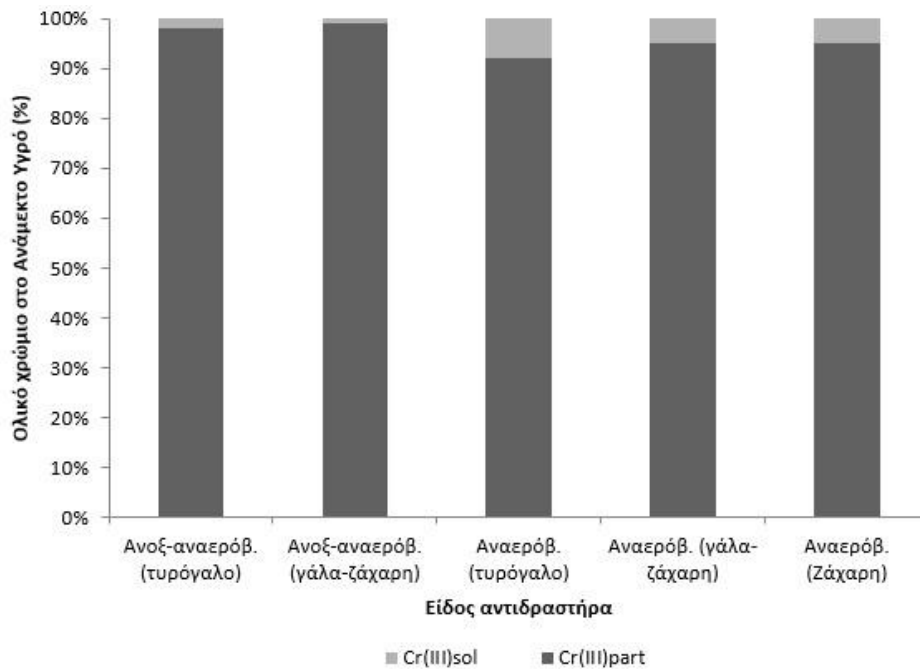


Διάγραμμα 4.9: Η (%) αναγωγή Cr(VI) και οξείδωση του οργανικού άνθρακα (COD)sol στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L)

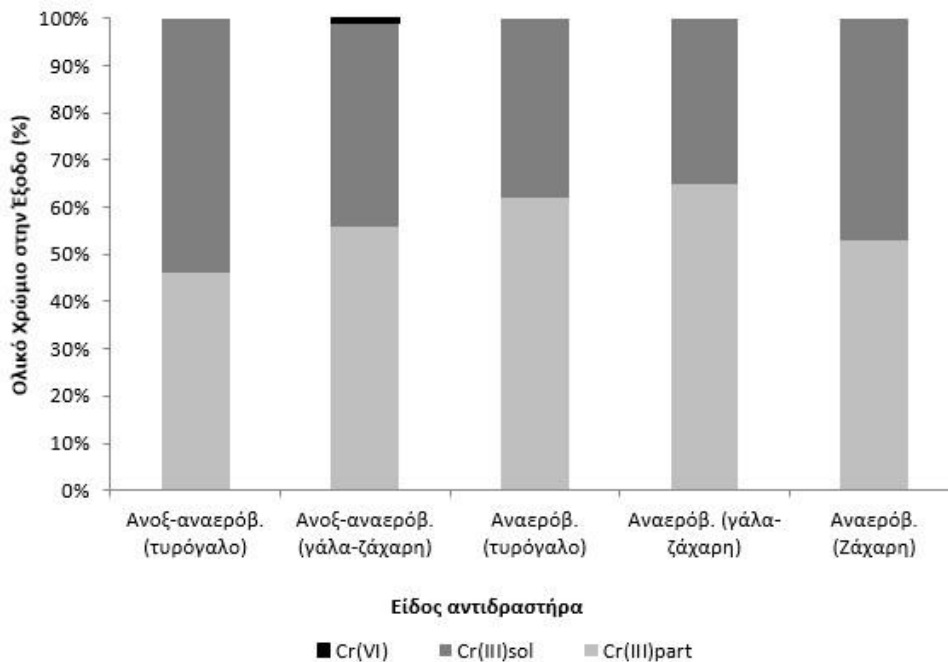
4.3.2.3 Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο

Η τιμή ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό είναι όπως αναμενόταν μεγαλύτερη από την καθημερινή τιμή εισόδου εξασθενούς καθώς σε αυτήν τη μέτρηση συμπεριλαμβάνεται και η συσσώρευση χρωμίου που έχει γίνει μέσα στους μικροοργανισμούς, δηλαδή κυμαινόταν ανάμεσα στα 1900-2600 mgTCr/kg MLSS. Όλοι οι αντιδραστήρες κινήθηκαν στα ίδια επίπεδα, με τον καθένα να ξεπερνάει κατά πολύ τα όρια αγροτικής διάθεσης της παραγόμενης λάσπης (500 mgTCr/kg MLSS). Στην έξοδο, οι τιμές ολικού χρωμίου δεν υπερβαίνουν τα όρια των 100 μg/L που έχουν θεσπιστεί για το ολικό χρώμιο εξόδου, εκτός από την περίπτωση του αναερόβιου αντιδραστήρα που είχε ως υπόστρωμα το τυρόγαλο και είχε ως μέσο όρο μετρήσεων ολικού χρωμίου TCr: 103 μg/L. Παρατηρείται τέλος ότι στην πλειονότητα των μετρήσεων, και στις δύο φάσεις (ανάμικτο υγρό, έξοδος - Διάγραμμα 4.10, 4.11 αντίστοιχα) υπερισχύει το σωματιδιακό τρισθενές όπως ήταν και

αναμενόμενο λόγω της βιοχημικής αναγωγής του εξασθενούς σε τρισθενές και τη μετέπειτα προσρόφηση του στη βιομάζα.



Διάγραμμα 4.10: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L)

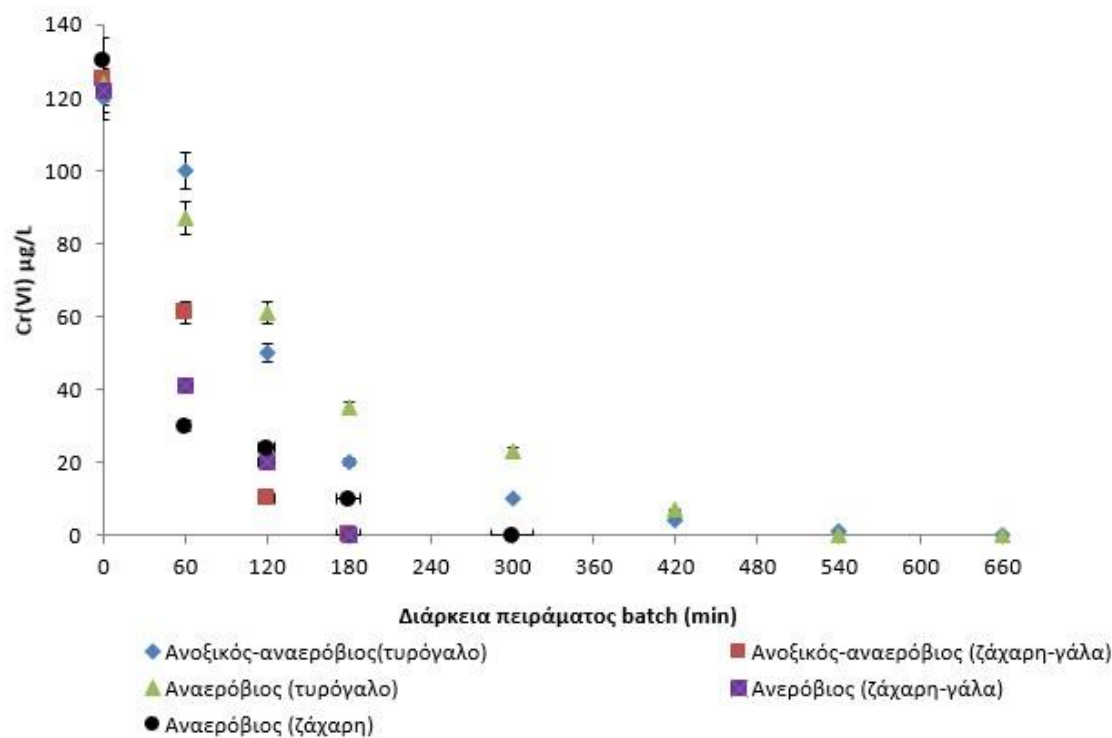


Διάγραμμα 4.11: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην εκροή για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L)

4.3.2.4 Ρυθμός αναγωγής Cr(VI)

Η κύρια διαφορά των συστημάτων παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας για τη μέτρηση του μέγιστου ρυθμού αναγωγής Cr(VI), δηλαδή της ταχύτητας με την οποία ο τοξικός ρύπος απομακρύνεται από το εκάστοτε σύστημα. Πιο αναλυτικά, προκειμένου να προσδιοριστεί καλύτερα η επίδραση των οργανικών πηγών στην ταχύτητα απομάκρυνσης Cr(VI) διεξήχθησαν πειράματα απομάκρυνσης εξασθενούς χρωμίου για τη μέτρηση των μέγιστων ρυθμών απομάκρυνσης των Cr(VI) σε σταθερή θερμοκρασία (22-25 °C). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των πειραμάτων (Πίνακας 4.5), ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης του Cr(VI) κάτω από αναερόβιες συνθήκες με χρήση ζάχαρης ως κύριο οργανικό υπόστρωμα είναι κατά μέσο όρο 263 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, ενώ ο μέσος όρος με τη χρήση γάλακτος και τυρόγαλου ήταν 100 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ (Πίνακας 4.3) και 179 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ (Πίνακας 4.5) αντίστοιχα. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι εύκολα βιοαποικοδομήσιμα υποστρώματα, όπως η ζάχαρη, υποστηρίζουν υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης του εξασθενούς χρωμίου σε σχέση με τα πιο πολύπλοκα ζυμώσιμα υποστρώματα όπως το γάλα και το τυρόγαλο.

Παρόμοια αποτελέσματα, που δημοσιεύθηκαν από τους Guo et al. (2012), έδειξαν ότι η γλυκόζη υποστήριζε τον υψηλότερο ρυθμό μείωσης Cr(VI) σε σύγκριση με το κιτρικό νάτριο, τη σακχαρόζη, το ηλεκτρικό νάτριο και το οξικό νάτριο. Όπως αναφέρθηκε από τους Philip et al. (1998) και Kathiravan et al. (2010a), η γλυκόζη υποστηρίζει υψηλότερα ποσοστά Cr(VI) σε σύγκριση με πιο πολύπλοκα ζυμώσιμα οργανικά υποστρώματα όπως η λακτόζη επειδή μετατρέπεται εύκολα σε πυροσταφυλικό μέσω της διεργασίας της γλυκόλυσης, ενώ οι δότες ηλεκτρονίων όπως η λακτόζη και η σακχαρόζη που είναι μόρια δισακχαρίτη πρέπει να μετατραπούν πρώτα στους καταλυόμενους μονοσακχαρίτες καταβολισμό (Mamais et al., 2016). Στο Διάγραμμα 4.12 απεικονίζονται οι ρυθμοί αναγωγής των υπό εξέταση αντιδραστήρων, όπου μέσα στις 3 πρώτες ώρες του πειράματος, το Cr(VI) μπορεί να μετατραπεί στη μη τοξική μορφή του Cr(III), για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 $\mu\text{g/L}$. Το διάγραμμα περιέχει και τους άξονες σφάλματος (error bars), ωστόσο είναι τόσο μικροί που στην πλειονότητα των σημείων δεν φαίνονται.



Διάγραμμα 4.12: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για κάθε αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L

4.3.3 Επίδραση της Συγκέντρωσης Υποστρώματος στην Αναγωγική Ικανότητα των μικροοργανισμών

Σε πειράματα που διεξήχθησαν από τους Ohtake et al. (1990c) και Ozorco et al. (2010) διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση υποστρωμάτων πρέπει να είναι υψηλότερη από 200 mgCOD/L και του Cr(VI) μικρότερη από 50 mg/L, έτσι ώστε να μην εμποδίζεται η ταχύτητα αναγωγής του. Για την διερεύνηση της επίδρασης της συγκέντρωσης του υποστρώματος στην απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου αξιολογήθηκαν τα αποτελέσματα της λειτουργίας δύο αντιδραστήρων εργαστηριακής κλίμακας. Ο ένας αντιδραστήρας λειτούργησε σε πλήρως αναερόβιες συνθήκες και ο δεύτερος σε ανοξικές - αναερόβιες συνθήκες. Ο χρόνος παραμονής στερεών και ο υδραυλικό χρόνος παραμονής και στους δύο αντιδραστήρες ήταν ίσος με 10 ημέρες και 1,7 ημέρες αντίστοιχα και ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε μείγμα ζάχαρης - γάλατος με αναλογία 90/10. Οι

συγκεντρώσεις της δόσης οργανικού υποστρώματος $COD_{total(in)}$ που μελετήθηκαν και συγκρίθηκαν ήταν των 200, των 150 και των 100 mg/L. Στον Πίνακα 4.6 παρουσιάζονται τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση βιοαντιδραστήρων.

Πίνακας 4.6: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Γ1)

	Ανοξικό- Αναερόβιο	Ανοξικό- Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο
Cr(VI)_{in(0)} (mg/L)	0,2	0,2	0,2	0,2
COD_{in(tot)} (mg/L)	150	200	100	200
Είδος υποστ.	Γάλα/Ζάχαρη	Γάλα/Ζάχαρη	Γάλα/Ζάχαρη	Γάλα/Ζάχαρη
NO₃-N_{in} (mg/L)	10	10	-	-
T (°C)	22±0,5	22±1	22±0,5	22±0,2
Redox (mV)	-200±12	-210±19	-175±10	-152±17
pH	7,0±0,2	6,9±0,1	7,2±0,1	7,0±0,05
HRT (d)	1,7	1,7	1,7	1,7
θ_c (d)	10	10	10	10
Εγκλιματισμένη λειτουργία (d)	37	52	30	60

4.3.3.1 Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση της Συγκέντρωσης Υποστρώματος

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 4.7, η συγκέντρωση του υποστρώματος παίζει καθοριστικότατο ρόλο στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών και κατά συνέπεια στην απόδοση τους όσον αφορά την αναγωγή του Cr(VI). Χωρίς επαρκή ποσότητα οργανικού υποστρώματος COD, είναι αδύνατον για τα αναγωγικά βακτήρια να εκτελέσουν τις απαραίτητες λειτουργίες αναβολισμού και καταβολισμού, με αποτέλεσμα να μην έχουν τη δυνατότητα να απομακρύνουν τον τοξικό ρύπο που τα περιβάλλει.

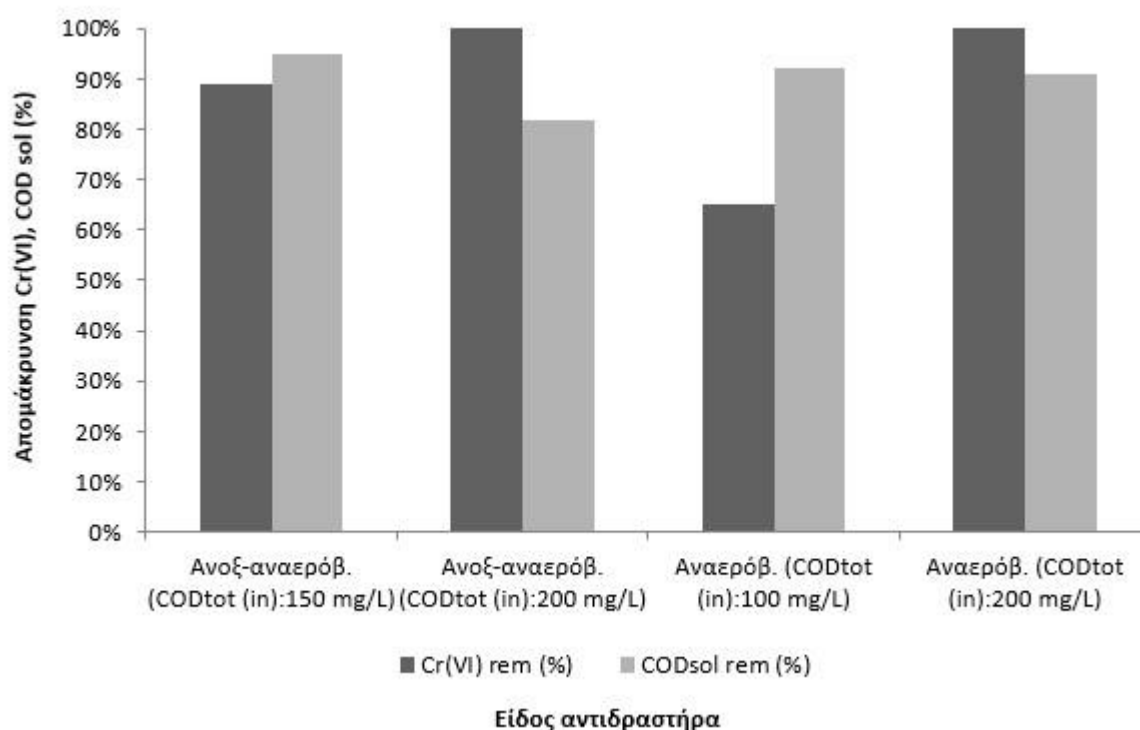
Πίνακας 4.7: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Γ2)

	Ανοξικό- Αναερόβιο	Ανοξικό- Αναερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο
C υποστρ. (mg/L)	150	200	100	200
MLSS (mg/L)	518±30	623±24	276±20	755±19
MLVSS/MLSS (%)	80,0	86,0	96,0	71,0
COD_{soleff} (mg/L)	10±2	35±5	8±3	18±5
TSS_{eff} (mg/L)	20±5	30±5	8±2	18±9
COD_{solrem} (%)	95,0	82,0	92,0	91,0
Cr(VI)_{eff} (μg/L)	22±3	<LOQ*	68±10	<LOQ*
Cr(VI)_{rem} (%)	89,0	>99,0	65,0	>99,0
Cr_{(total)eff} (μg/L)	38±3	37±10	105±3	13±5
Cr_{(total)rem} (%)	80,0	81,0	46,0	90,0
TCr_{(sol)eff} (μg/L)	21±4	13±2	46±8	7±3
Cr(III) part/MLSS (mgCr/gSS)	3,5±0,03	2,4±0,03	3,1±0,03	1,9±0,05
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης Cr(VI) (μg Cr(VI)/h/g VSS)**	90±34	270±50	59±19	230±41
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης COD (mg COD/h/g VSS)**	20±5	16±5	26±6	16±4
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης NO₃-N (mg NO₃-N /h/g VSS)**	1,5±0,4	3±1	-	-

* LOQ = 2.5 μg/L **Υπολογισμένα κατά τη διάρκεια πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch)

4.3.3.2 Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)

Ενώ το είδος του οργανικού άνθρακα που θα χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση του Cr(VI) δεν είναι τόσο μείζονος σημασίας όπως αποδείχθηκε προηγουμένως, δεν μπορεί να ειπωθεί το ίδιο και για τη συγκέντρωση αυτού. Βάσει του παραπάνω πίνακα και των διαγραμμάτων που ακολουθούν καθίσταται σαφές πως η συγκέντρωση του υποστρώματος αποτελεί έναν από τους κυριότερους περιοριστικούς παράγοντες όσον αφορά την ανάπτυξη της βιομάζας και την απομάκρυνση του Cr(VI). Το Διάγραμμα 4.13 απεικονίζει τη σχέση μεταξύ της απόδοσης απομάκρυνσης (%) του εξασθενούς χρωμίου και της οξειδωσης του οργανικού υποστρώματος COD_{tot}, που στη συγκεκριμένη σειρά πειραμάτων στην είσοδο του αντιδραστήρα κυμαινόταν από 100-200 mg/L. Όσο χαμηλότερη ήταν η αρχική συγκέντρωση της ζάχαρης και του γάλακτος, τόσο πιο δύσκολο ήταν για τα αναγωγικά βακτήρια να μετατρέψουν το Cr(VI) σε Cr(III).



Διάγραμμα 4.13: Η (%) αναγωγή Cr(VI) και οξειδωση του οργανικού άνθρακα (COD)_{sol} στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 μg/L)

Η απομάκρυνση του Cr(VI) είναι περιορισμένη για αρχικές συγκεντρώσεις οργανικού υποστρώματος (COD_{tot}) μικρότερες των 150 mg/L, καθώς δεν ξεπερνάει το 65%. Το ίδιο ισχύει και για συγκεντρώσεις οργανικού υποστρώματος μεταξύ 150-200 mg/L, παρόλο σε αυτήν την περίπτωση οι αποδόσεις αναγωγής Cr(VI) είναι σαφώς καλύτερες (89%). Η επιτυχής και πλήρης αναγωγή του Cr(VI) πραγματοποιείται μόνο με την προσθήκη οργανικού άνθρακα της τάξης των 200 mg/L και άνω, εύρημα που συμφωνεί με αυτά των Fujie et al. (1994) και Chen et al. (2005a).

Σημαντικό ρόλο στα προαναφερθέντα αποτελέσματα διαδραματίζει και η συγκέντρωση των αιωρούμενων στερεών, η οποία μειώθηκε αισθητά στην περίπτωση της προσθήκης οργανικού υποστρώματος της τάξης των 100 mg/L, στον αναερόβιο αντιδραστήρα. Στις πρώτες ημέρες των πειραμάτων ο εν λόγω αναερόβιος αντιδραστήρας περιείχε συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών (MLSS) της τάξης των 600 mg/L περίπου όπως και οι υπόλοιποι βιοαντιδραστήρες αυτής της σειράς πειραμάτων. Ωστόσο σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα η συγκέντρωση MLSS μειώθηκε κατά το ήμισυ και δεν ξεπέρασε τα 300 mg/L καθώς το οργανικό υπόστρωμα της τάξης των 100 mg/L δεν άφησε περιθώρια στα αναγωγικά βακτήρια για ανάπτυξη (Πίνακας 4.7).

4.3.3.3 Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο

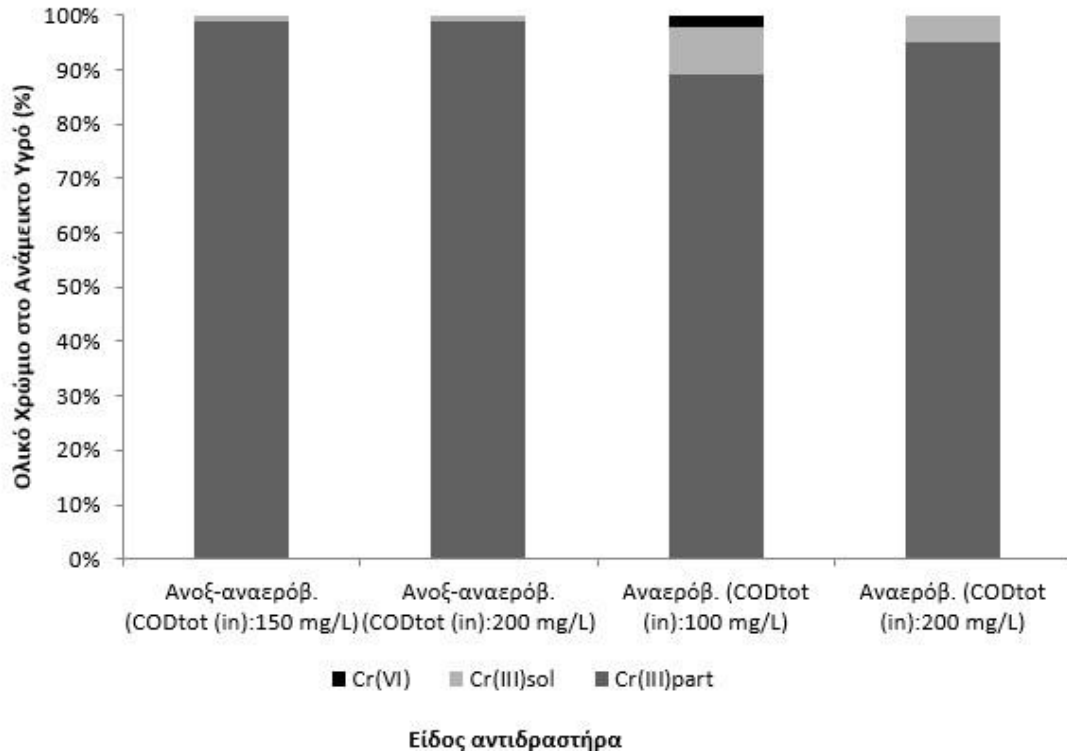
Οι συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου στην εκροή μας δίνουν πληροφορίες σχετικά με το ολικό χρώμιο της εξόδου, ενώ αντίστοιχα οι μετρήσεις του διηθημένου υγρού στην έξοδο σχετικά με το διαλυτό χρώμιο της εξόδου. Όλες οι τιμές της συγκέντρωσης του ολικού χρωμίου στην εκροή είναι κάτω από 50 $\mu\text{g/L}$, με εξαίρεση τον αναερόβιο αντιδραστήρα ο οποίος τροφοδοτείτο με χαμηλή δόση οργανικού υποστρώματος ($\text{COD}_{\text{total(in)}}$: 100 mg/L). Κατά συνέπεια η μη διηθημένη έξοδος πληροί τα νομοθετικά όρια (100 $\mu\text{g/L}$) σχετικά με το ολικό χρώμιο, για χρήση του ως αρδευτικό νερό εκτός του προαναφερθέντος συστήματος, στο οποίο η συγκέντρωση ολικού χρωμίου στην έξοδο υπολογίστηκε στα 105 $\mu\text{g/L}$. Όσον αφορά τις μετρήσεις της διηθημένης εξόδου, (Πίνακας 4.7), όλες οι τιμές

είναι κάτω από 50 $\mu\text{g/L}$, συνεπώς η διηθημένη έξοδος πληροί τα νομοθετικά όρια σχετικά με το ολικό χρώμιο για άρδευση (όριο: 100 $\mu\text{g/L}$).

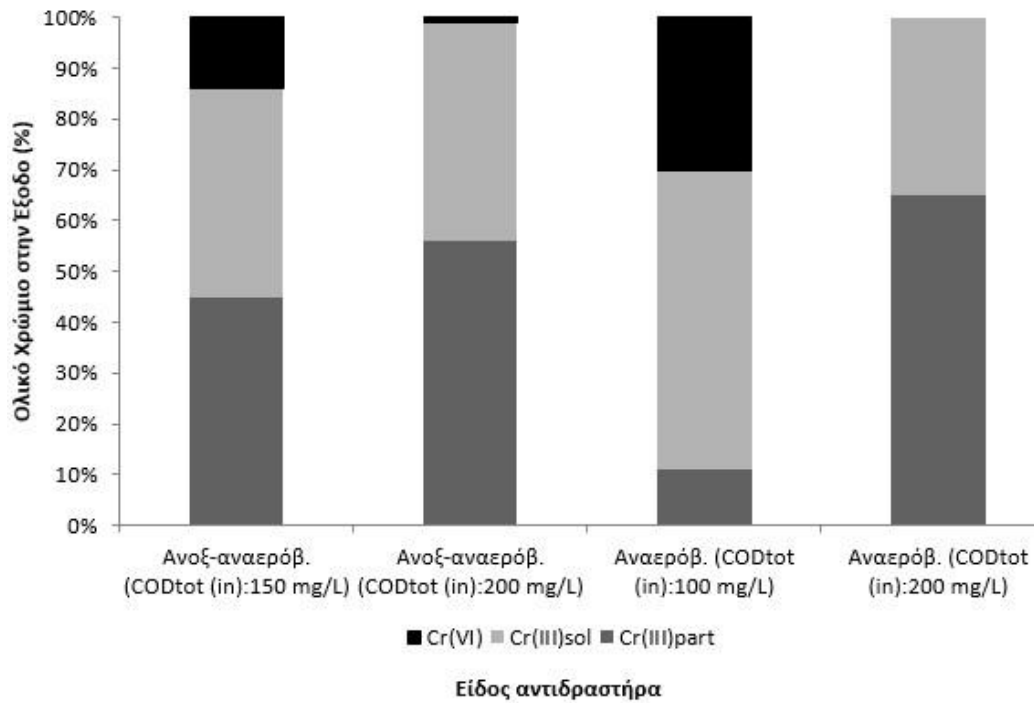
Με τον υπολογισμό του ποσοστού του σωματιδιακού χρωμίου στη λάσπη, ελέγχεται αν το χρώμιο στη βιομάζα ξεπερνάει τα όρια αγροτικής διάθεσης που ορίζει η νομοθεσία. Οι τιμές χρωμίου στη λάσπη μετρήθηκαν σε όρους Cr(III) και κυμαίνονται για όλα τα συστήματα από 1900-3500 mgCr/kg MLSS . Όλες οι μετρήσεις ξεπερνούν κατά πολύ τα όρια αγροτικής διάθεσης της παραγόμενης λάσπης που είναι τα 500 mgCr/kg MLSS . Συνεπώς η λάσπη των αντιδραστήρων δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη γεωργία.

Όσον αφορά το ποσοστό των μορφών του χρωμίου στο ανάμικτο υγρό και στην έξοδο, όπως φαίνεται στα παρακάτω γραφήματα, η μορφή που επικρατεί στο ανάμικτο υγρό των συστημάτων είναι αυτή του σωματιδιακού τρισθενούς χρωμίου (Διάγραμμα 4.14). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει ότι λαμβάνει χώρα αναγωγή του εξασθενούς σε τρισθενές χρώμιο από τους μικροοργανισμούς, το οποίο συσσωρεύεται στη βιομάζα

Παρατηρώντας το Διάγραμμα 4.15, διαπιστώνεται ότι στην έξοδο του συστήματος, η επικρατούσα μορφή χρωμίου, στην πλειονότητα των υπό εξέταση συστημάτων είναι το διαλυτό τρισθενές χρώμιο. Τέλος στον αναερόβιο αντιδραστήρα, ο οποίος τροφοδοτείται με χαμηλή δόση οργανικού υποστρώματος ($\text{COD}_{\text{total(in)}}: 100 \text{ mg/L}$), το εξασθενές χρώμιο στην έξοδο αντιστοιχεί στο 30% του συνολικού χρωμίου, φαίνεται δηλαδή αυξημένο συγκριτικά με αυτό του ανάμικτου υγρού. Ωστόσο, η αύξηση αυτή, δεν οφείλεται στη συγκέντρωση του εξασθενούς αλλά στο ποσοστό αυτού και σχετίζεται με τη μείωση του σωματιδιακού τρισθενούς χρωμίου στην έξοδο.



Διάγραμμα 4.14: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμεικτο υγρό για κάθε σύστημα (με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L)



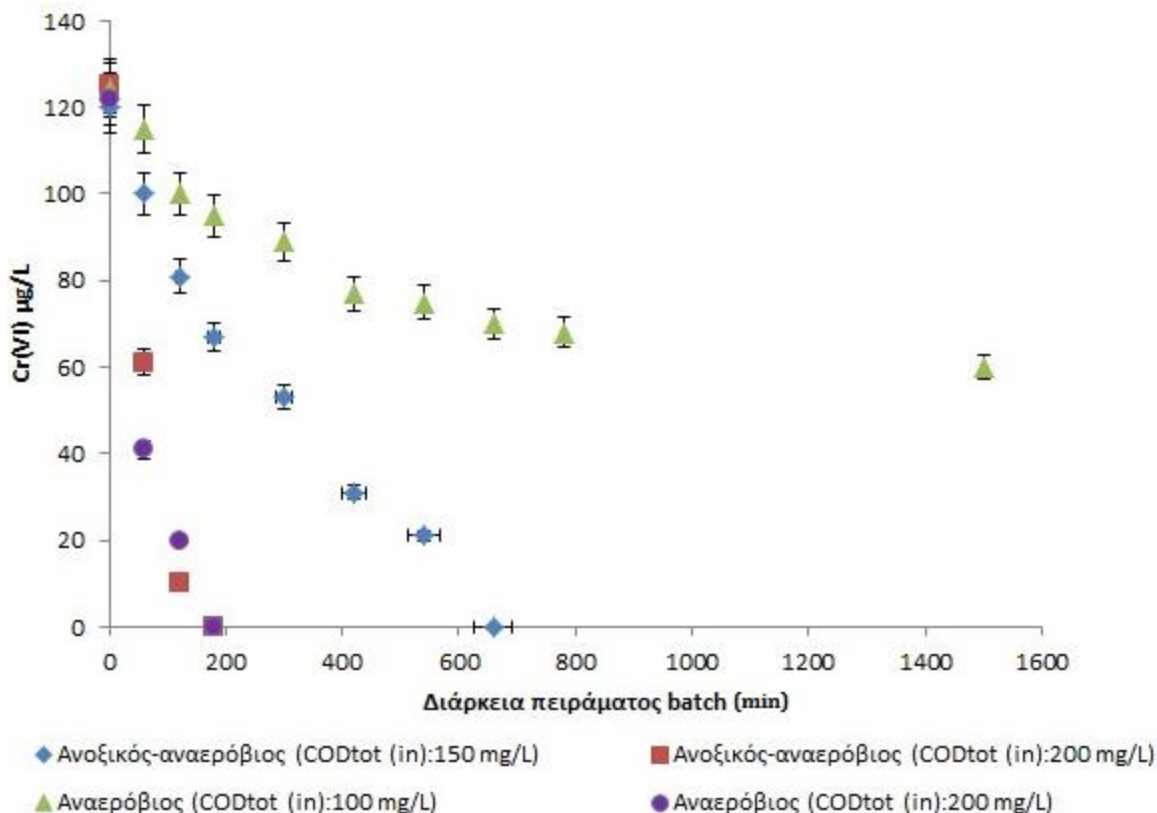
Διάγραμμα 4.15: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην εκροή για κάθε σύστημα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L

4.3.3.4 Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν προηγουμένως, η αρχική συγκέντρωση του οργανικού υποστρώματος (COD_{tot}) επηρεάζει σημαντικά την απόδοση των συστημάτων βιολογικής αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου. Η προσθήκη οργανικού υποστρώματος σε δόση της τάξης των 100 mg/L στάθηκε σαφώς ανεπαρκής για την επίτευξη της πλήρους αναγωγής εξασθενούς χρωμίου, αφού ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του Cr(VI) στην έξοδο ήταν 65 $\mu\text{g/L}$ σε αρχική συγκέντρωση Cr(VI) στην είσοδο ίση με 200 $\mu\text{g/L}$.

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 4.16, τα συστήματα που τροφοδοτήθηκαν με συγκέντρωση οργανικού υποστρώματος της τάξης των 200 mg/L εμφάνισαν τους υψηλότερους ρυθμούς αναγωγής Cr(VI) δηλαδή 270 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ για τον ανοξικό-αναερόβιο και τα 230 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ για τον αναερόβιο αντιδραστήρα, με αποτέλεσμα την πλήρη απομάκρυνση του Cr(VI) εντός 2 ωρών. Ο ανοξικός-αναερόβιος αντιδραστήρας με αρχική συγκέντρωση υποστρώματος 150 mg/L κυμάνθηκε σε χαμηλούς ρυθμούς αναγωγής Cr(VI) (90 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$), ενώ για το σύστημα που τροφοδοτούνταν με οργανικό υπόστρωμα συγκέντρωσης 100 mg/L, οι 24 ώρες του πειράματος ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch) δεν στάθηκαν ικανές να μηδενίσουν τη συγκέντρωση του εξασθενούς. Κατά συνέπεια ο εν λόγω αντιδραστήρας παρέμεινε σε πολύ χαμηλά επίπεδα, με ρυθμό αναγωγής Cr(VI) που μόλις και άγγιζε τα 60 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$.

Το διάγραμμα περιέχει και τους άξονες σφάλματος (error bars), ωστόσο είναι τόσο μικροί που στην πλειονότητα των σημείων δεν φαίνονται.



Διάγραμμα 4.16: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για κάθε αντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση εισόδου Cr(VI): 200 µg/L

4.3.4 Συμπεράσματα Επίδρασης της Συγκέντρωσης και του Είδους Δότη Ηλεκτρονίων στην Αναγωγή Cr(VI)

Προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση του τύπου πηγής άνθρακα στη μικροβιακή αναγωγή του Cr(VI) κάτω από αναερόβιες συνθήκες, οι αντιδραστήρες SBRs που χρησιμοποιήθηκαν λειτουργούσαν με τρεις διαφορετικούς τύπους πηγών άνθρακα: α) το γάλα, ένα σύμπλοκο οργανικό β) το υγρό τυρογάλακτος, ένα χαμηλού κόστους σύμπλεγμα πηγής οργανικού άνθρακα και γ) η γλυκόζη, μια απλή, χαμηλού μοριακού βάρους ουσία που προστέθηκε ως ο πρωταρχικός δότης ηλεκτρονίων στην αναλογία 90% ζάχαρη-10% γάλα (Mamais et al., 2016; Panousi et al., 2017).

Η αποδοτικότητα ως προς την απομάκρυνση του Cr(VI) όλων των συστημάτων που μελετήθηκαν, ξεπέρασε το 98%. Διαφορές στην απόδοση παρατηρήθηκαν μόνο στα αποτελέσματα των ασυνεχών πειραμάτων (batch tests) που έγιναν για τον προσδιορισμό του μέγιστου ρυθμού απομάκρυνσης Cr(VI). Οι ρυθμοί που μετρήθηκαν με γάλα κυμάνθηκαν περίπου κατά μέσο όρο στα 75 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, με τυρόγαλο στα 150 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, ενώ με τη ζάχαρη κατά μέσο όρο στα 250 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι ο υψηλότερος ρυθμός απομάκρυνσης Cr(VI) επιτεύχθηκε με τον πιο εύκολα βιοδιασπώμενο υπόστρωμα δηλαδή τη ζάχαρη (Philip et al., 1998).

Σχετικά με τη συγκέντρωση του δότη ηλεκτρονίων στα υπό μελέτη συστήματα, είναι εμφανές από τα αποτελέσματα αυτών, ότι η συγκέντρωση των υποστρωμάτων πρέπει να είναι κατ' ελάχιστο 200 mg COD/L, ώστε να μην μειώνεται η ταχύτητα αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου που φαίνεται ότι εξαρτάται από την ταχύτητα του μεταβολισμού των βακτηρίων (Ohtake et al., 1990c; Ozorco et al., 2010). Σε συνθήκες χαμηλότερης συγκέντρωσης υποστρώματος (όπως 100 και 150 mg/L), η απόδοση και ο ρυθμός αναγωγής του Cr(VI) μειώθηκαν αισθητά, γεγονός που ενισχύει τα παραπάνω ευρήματα για την ελάχιστη συγκέντρωση υποστρώματος.

4.3.5 Αποτελέσματα Μέτρησης Πτητικών Λιπαρών Οξέων (VFAs)

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν κάτω από αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες μετρήθηκε η παρουσία πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs), για να διασαφηνιστεί αν η παρουσία τους επηρεάζει τη σωστή λειτουργία των βιοαντιδραστήρων. Πιο συγκεκριμένα, η παρακολούθηση των πτητικών οξέων πραγματοποιήθηκε ώστε να είναι δυνατός ο προσδιορισμός των σταδίων της αποδόμησης του προστιθέμενου οργανικού υποστρώματος καθώς και η πιθανή συσχέτιση της παραγωγής οργανικών οξέων και της μείωσης του pH στους βιοαντιδραστήρες. Στα αναερόβια συστήματα λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας λειτουργίας των βιοαντιδραστήρων και του σχετικά χαμηλού χρόνου παραμονής των στερεών αναμένεται να υπάρχει ανισορροπία μεταξύ των σταδίων

παραγωγής των VFAs και κατανάλωσης τους μέσω μεθανογένεσης. Η ανισορροπία ευνοεί τη συσσώρευση των VFAs και είναι πιθανό να οδηγεί σε απώλεια αλκαλικότητας και πτώση του pH.

Κατά την καθημερινή παρακολούθηση των συστημάτων, προκειμένου να βρεθεί η ελάχιστη συγκέντρωση οργανικού υποστρώματος COD, η οποία επιτρέπει την πλήρη αναγωγή του Cr(VI), διαπιστώθηκε αυξομείωση των τιμών του pH. Πιο συγκεκριμένα, αυτό παρατηρήθηκε στους ανοξικούς-αναερόβιους αντιδραστήρες με αρχική συγκέντρωση υποστρώματος 200 και 150 mg/L. Για το λόγο αυτό, πραγματοποιήθηκαν επιπλέον μετρήσεις των πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) που εξαιτίας της ικανότητας τους να ανιχνεύουν έγκαιρα μια επικείμενη αστάθεια των συστημάτων, θεωρούνται αξιόπιστος δείκτης.

Κατά την πειραματική διαδικασία μετρήθηκαν το οξικό οξύ, το προπιονικό, το ισοβουτυρικό και το βουτυρικό. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.8), παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις του οξικού οξέος και του προπιονικού, καθώς επίσης και το αντίστοιχο διαλυτό COD εξόδου για τους υπό εξέταση αντιδραστήρες. Τα υπόλοιπα οξέα δεν παρουσιάζονται καθώς οι συγκεντρώσεις τους στο σύστημα ήταν μηδενικές.

Πίνακας 4.8: Οι συγκεντρώσεις των VFAs και για τα δύο συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης

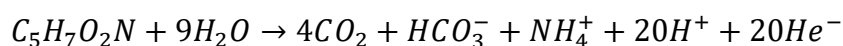
	1 ^ο σύστημα			2 ^ο σύστημα		
	Ανοξικό-Αναερόβιο			Ανοξικό-αναερόβιο		
	Cr(VI) _{in} :200 μg/L, COD _{tot(in)} : 200 mg/L			Cr(VI) _{in} :200 μg/L, COD _{tot(in)} : 150 mg/L		
	Οξικό οξύ (mg/L)	Προπιονικό οξύ (mg/L)	COD _{sol} . (mg/L)	Οξικό οξύ (mg/L)	Προπιονικό οξύ (mg/L)	COD _{sol} . (mg/L)
Πείραμα 1	0,51	0,00	9,8	-	-	-
Πείραμα 2	1,01	1,34	11,1	7,43	0,00	47,15
Πείραμα 3	0,00	0,00	40,69	0,00	0,00	7,5
Πείραμα 4	0,00	0,00	31,92	0,99	0,64	14,07

Βάσει των παραπάνω σχετικά χαμηλών συγκεντρώσεων VFAs, συμπεραίνεται ότι τα αναερόβια συστήματα δεν φαίνεται να συσσωρεύουν πτητικά λιπαρά οξέα οπότε τα όρια της αλκαλικότητας και του pH στο εσωτερικό των βιοαντιδραστήρων κυμαίνονται σε επίπεδα που δεν εμποδίζεται η σωστή λειτουργία αυτών.

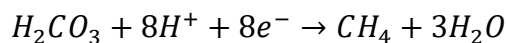
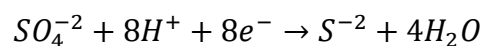
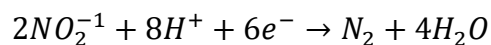
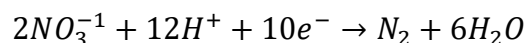
4.3.6 Αποτελέσματα Προσδιορισμού Ποσοστιαίου Υπολογισμού Ισοδύναμων Ηλεκτρονίων

Με στόχο τη διερεύνηση της τύχης του προστιθέμενου οργανικού υποστρώματος κάτω από αναγωγικές συνθήκες προσδιορίστηκε το σύνολο των καταναλισκόμενων οργανικών ενώσεων (δότες ηλεκτρονίων) και των αντίστοιχων αποδεκτών ηλεκτρονίων. Στα πειράματα που διεξήχθησαν, οι διαδικασίες που απαιτούν δότη ηλεκτρονίων είναι η απονιτροποίηση, η αποθείωση, η μεθανογένεση, ενώ πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις νιτρικού αζώτου, νιτρώδους αζώτου και θειικών ιόντων, μεθανίου και ανάπτυξη βιομάζας σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές.

-Η οξειδοαναγωγική αντίδραση της κοινότητας βακτηρίων που χρησιμοποιούν ως πηγή αζώτου την αμμωνία για σύνθεση κυτταρικού υλικού είναι η ακόλουθη:



-Οι ημι-αντιδράσεις αναγωγής του νιτρικού αζώτου, του νιτρώδους αζώτου, των θειικών ιόντων και η παραγωγή μεθανίου είναι κατά αντιστοιχία οι εξής:



Οι αντιδραστήρες που χρησιμοποιήθηκαν για τα εν λόγω πειράματα ήταν οι εξής τέσσερις όπως φαίνονται παρακάτω στον Πίνακα 4.9.

Πίνακας 4.9: Λειτουργικά χαρακτηριστικά αντιδραστήρων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη ισοζυγίου των ηλεκτρονίων (Οι αντιδραστήρες 2, 4 θα αναλυθούν στην ενότητα §4.4)

Είδος αντιδραστήρα	Συνθήκες συστήματος	Δότης ηλεκτρονίων	COD _{total} (in) (mg/L)	Cr(VI) _{in} (μg/L)
Αντιδραστήρας 1	Αναερόβιες	τυρόγαλο	200	200
Αντιδραστήρας 2	Αναερόβιες	ζάχαρη/γάλα	200	1,800
Αντιδραστήρας 3	Αναερόβιες	ζάχαρη	200	200
Αντιδραστήρας 4	Ανοξ-αναερόβ.	ζάχαρη/γάλα	200	4,500

Από τα δεδομένα που παρατίθενται στον Πίνακα 4.10 φαίνεται ότι τα ηλεκτρόνια που έχουν δοθεί από το COD, έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη της βιομάζας καθώς και για διαδικασίες απονιτροποίησης και θεικοαναγωγής. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπήρξε μεθανογένεση, γι' αυτό και παραλείπεται η στήλη μεθανίου στον πίνακα.

Στην τελευταία στήλη του πίνακα, υπάρχει ο λόγος Σδότη (meq/L)/Σδέκτη (meq/L), δηλαδή ο λόγος που έχει ως αριθμητή τα ηλεκτρόνια που δόθηκαν από το υπόστρωμα και ως παρονομαστή τα ηλεκτρόνια που χρησιμοποιήθηκαν για την αναγωγή των νιτρικών (NO₃-N), των νιτρωδών (NO₂-N), των θειικών (SO₄²⁻) και των θειωδών (S²⁻) αλάτων στο περιβάλλον των αντιδραστήρων καθώς και αυτά που χρησιμοποιήθηκαν από τη βιομάζα για μεταβολισμό και ανάπτυξη. Για να ικανοποιείται το ισοζύγιο, ο λόγος αυτός πρέπει να ισούται με 100%.

Πίνακας 4.10: Ισοζύγιο ηλεκτρονίων των υπό εξέταση αντιδραστήρων 1, 2, 3, 4

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ 1 (ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ -ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΧΡΩΜΙΟΥ 200 µg/L- COD: ΤΥΡΟΓΑΛΟ)																
Ημέρες	COD _{tot}		COD _s		Σδότη	NO ₃ -N		NO ₂ -N		SO ₄		S		βιομάζα		Σδέκτη
	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L
0,0	682	0	71	0	0,00	3,83	0,00	0,329	0,00	30	0	0,00	0,00	365	0	0,00
1,0			14	7,1	7,13	0,06	1,35			24	0,47	1,98	0,47			1,82
2	660	3	11	7,5	7,50	0,10	1,33	0,03	0,06	13	1,46	4,58	1,07	389	4,3	7,20
96%																
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ 2 (ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ -ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΧΡΩΜΙΟΥ 1800 µg/L- COD: ΖΑΧΑΡΗ/ΓΑΛΑ)																
Ημέρες	COD _{tot}		COD _s		Σδότη	NO ₃ -N		NO ₂ -N		SO ₄		S		βιομάζα		Σδέκτη
	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L
0,0	510	0	70	0	0	2,75	0,00	0,075	0,00	30	0	0,00	0,00	393	0	0,00
1,0			21	6	6	0,03	0,97			28	0,20	0,83	0,20			1,17
2	498	2	25	6	5,56	0,05	0,97	0,03	0,01	25	0,42	0,89	0,21	416	4	5,55
100%																
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ 3 (ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ -ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΧΡΩΜΙΟΥ 200 µg/L- COD: ΖΑΧΑΡΗ)																
Ημέρες	COD _{tot}		COD _s		Σδότη	NO ₃ -N		NO ₂ -N		SO ₄		S		βιομάζα		Σδέκτη
	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L
0,0	470	0	63	0	0	4,07	0,00	0,164	0,00	28	0	0,00	0,00	361	0	0,00
1,0			18	6		0,08	1,42			26	0,15	0,65	0,15			1,59
2	458	2	20	5	5,4	0,15	1,40	0,03	0,03	26	0,17	0,43	0,10	379	3,2	4,79
89%																
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ 4 (ΑΝΟΞΙΚΟΣ/ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ -ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΧΡΩΜΙΟΥ 4500 µg/L- COD: ΓΑΛΑ/ΖΑΧΑΡΗ)																
Ημέρες	COD _{tot}		COD _s		Σδότη	NO ₃ -N		NO ₂ -N		SO ₄		S		βιομάζα		Σδέκτη
	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	mg/L	meq/L	meq/L
0.0	356	0	53	0	0	5,93	0,00	0,092	0,00	30	0	0,00	0,00	200	0	0,00
1.0			15	5		0,07	2,09			27	0,23	0,97	0,23			2,33
2	340	2	13	5	5,00	0,08	2,09	0,03	0,01	26	0,33	0,83	0,20	215	3	5,18
104%																

Στην περίπτωση των τεσσάρων αντιδραστήρων οι τιμές κυμάνθηκαν από 89% έως 104%, δηλαδή πολύ κοντά στη ζητούμενη τιμή. Οι μικρές αποκλίσεις που καταγράφηκαν οφείλονται, εν μέρει, σε στρογγυλοποιήσεις που έγιναν κατά τον επιμέρους των ηλεκτρονίων. Η αναγωγή του Cr(VI) είναι αμελητέα ως προς την κατανάλωση ηλεκτρονίων κατά συνέπεια παραλείφθηκε από τον πίνακα.

4.4 Επίδραση της Συγκέντρωσης Cr(VI) στην Αναγωγική Ικανότητα των Μικροοργανισμών

4.4.1 Εισαγωγή

Για τον προσδιορισμό της αναχαίτισης που προκαλεί το Cr(VI) στους μικροοργανισμούς χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής, αντιδραστήρες SBR με αναερόβιες και ανοξικές-αναερόβιες συνθήκες, δότη ηλεκτρονίων ζάχαρη/γάλα σε αναλογία 90/10 και συγκεντρώσεις του Cr(VI) στην είσοδο των αντιδραστήρων που έφτασαν τα 15 mg/L. Σκοπός αυτής της ενότητας των πειραμάτων, γνωρίζοντας ήδη το καταλληλότερο περιβάλλον ανάπτυξης των αναγωγικών βακτηρίων (είδος δότη ηλεκτρονίων και συγκέντρωση, αποδέκτη ηλεκτρονίων), ήταν να βρεθούν τα ποσοστά αναχαίτισης των μικροοργανισμών κάτω από αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες. Η αναχαίτιση για κάθε συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου προσδιοριζόταν μέσω της μείωσης του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης (μ_{max}) μικροοργανισμών, εγκλιματισμένων στη συγκεκριμένη συγκέντρωση Cr(VI). Παράλληλα με τον προσδιορισμό της μείωσης του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης (μ_{max}), σε κάθε καλλιέργεια προσδιορίσθηκε ο ετεροτροφικός συντελεστής μετατροπής βιομάζας (Y) και ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν τα κυρίαρχα βακτήρια με τη μέθοδο μικροσκοπίου FISH.

4.4.2 Εκτίμηση τοξικότητας του Cr(VI) στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών

Η σειρά πειραμάτων των προσδιορισμού του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης των μικροοργανισμών διήρκεσαν περίπου 20 μήνες. Οι συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν έφτασαν τα 3000 $\mu\text{g/L Cr(VI)}_{in}$ για τον αναερόβιο αντιδραστήρα και 15000 $\mu\text{g/L Cr(VI)}_{in}$ για τον ανοξικό-αναερόβιο.

4.4.2.1 Αποτελέσματα Αναερόβιου και Ανοξικού-αναερόβιου Αντιδραστήρα

Προκειμένου να αναλυθούν τα πειραματικά αποτελέσματα για την αναχαίτιση του Cr(VI), είναι απαραίτητο να γίνει μνεία στα λειτουργικά χαρακτηριστικά που ίσχυαν σε κάθε αντιδραστήρα ανεξαρτήτως αρχικής συγκέντρωσης Cr(VI), και αυτά ήταν το ολικό οργανικό υπόστρωμα $COD_{tot(in)}$ ίση με 200 mg/L, χρόνος παραμονής στερεών θς ίσος με 10 ημέρες, υδραυλικός χρόνος παραμονής HRT 1,7 ημέρες και είδος δότη ηλεκτρονίων 90% ζάχαρη-10% γάλα. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης των δύο συστημάτων SBR που λειτουργούν υπό αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες για τις διάφορες συγκεντρώσεις Cr(VI), παρουσιάζονται στους Πίνακες 4.11 και 4.12, αντίστοιχα.

Πίνακας 4.11: Πειραματικά αποτελέσματα και λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Δ1)

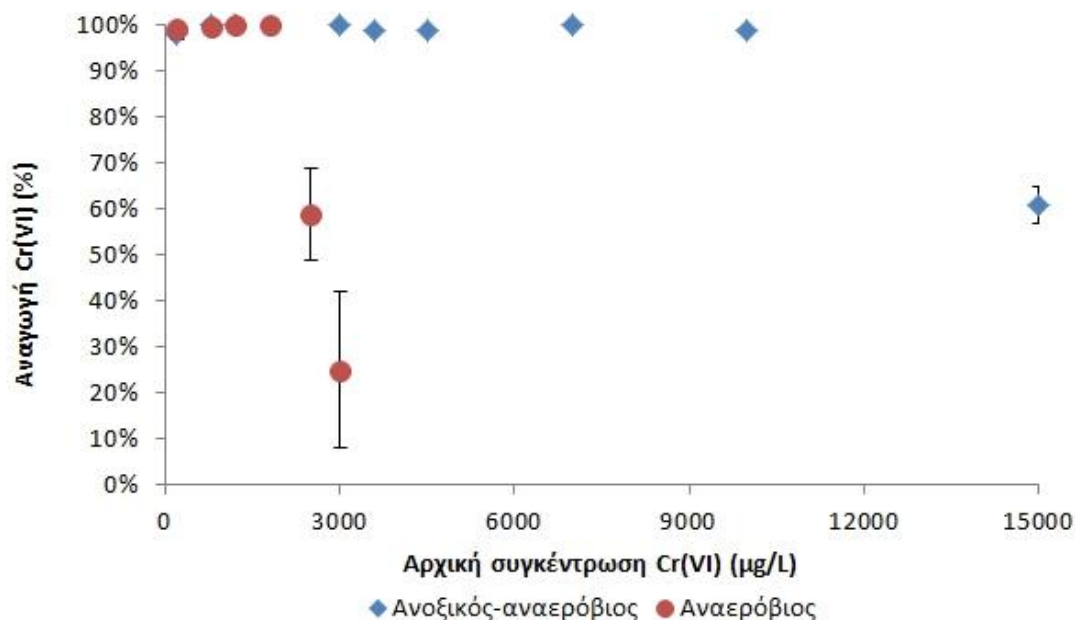
Cr(VI)_{in} (μg /L)	0	200	800	1200	1800	2500	3000
MLSS (mg/L)	918±50	955±71	953±90	800±87	617±19	333±44	321±33
MLVSS/MLSS (%)	0,61	0,56	0,5	0,7	0,92	0,87	0,84
COD_{sol}^{eff} (mg/L)	15±3	18±4	12±7	31±8	24±5	38±10	94±24
COD_{sol}^{rem}(%)	92,6	90,8	93,8	84,7	86,3	78,8	53
TSS^{eff} (mg/L)	30±7	18±13	29±13	21±12	27±9	37±17	41±20
Cr(VI)^{eff} (μg/L)	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,024±230	2,253±521
Cr(VI)^{rem}(%)	-	>99	>99	>99	>99	59	24,9
Cr(tot)^{eff} (μg/L)	-	13,1±5	41±13	65,6±9	200±25	1,760±100	4,185±287
Cr(tot)^{rem}(%)	-	93,4	94,8	94,5	88,8	33,6	-
Cr(tot)^{eff} (μg/L)	-	6,7±1	22±3	14±2	48±4	1,110±39	3,300±198
following filtration							
Cr(III)_{part}/MLSS (mg Cr/g SS)	-	1,1±0,3	6±0,2	9,6±0,1	15,4±0,3	22±0,6	39,5±0,9
Temperature (°C)	25,5±0,4	25,2±1,6	23,3±1,5	22,3±1	22,9±2	22,4±1,8	26,4±0,4
Redox (mV)	-176±10	-152±21	-197±10	-228±9	-197±28	-208±10	-131±25
pH	7,1±0,1	7,2±0,1	7,2±0,3	6,9±0,2	6,9±0,1	6,9±0,3	7,2±0,1
DO (mg/L)	0,06±0,01	0,07±0,02	0,08±0,02	0,03±0,02	0,06±0,03	0,05±0,02	0,07±0,01

Πίνακας 4.12: Πειραματικά αποτελέσματα και λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά στοιχεία δίνονται στο Παράρτημα Δ2)

Cr(VI)_{in} (μg/L)	0	200	800	1200	3000	3600	4500	7000	10000	15000
MLSS (mg/L)	439±56	593±27	347±55	426±67	708±43	425±38	466±87	438±66	546±64	366±23
MLVSS/MLSS (%)	0,72	0,68	0,69	0,74	0,64	0,78	0,82	0,80	0,77	0,73
COD_{sol}^{eff} (mg/L)	9±4	8±7	23±10	7±4	7±6	7±5	27±11	16±12	15±8	48±14
COD_{sol}^{rem}(%)	95,5	96,0	89,0	97,0	97,0	96,1	85,3	90,9	91	76
TSS^{eff} (mg/L)	24±10	11±8	40±14	22±10	21±13	20±8	42±11	36±10	50±13	68±21
Cr(VI)^{eff} (μg/L)	-	4,8±0,5	3,2±3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,9±1,5	6,3±2,5	<LOQ	5,850±586
Cr(VI)^{rem}(%)	-	98,0	>99	>99	>99	>99	>99	>99	>99	61
Cr(tot)^{eff} (μg/L)	-	25±3	239±15	60±11	99±19	235±36	330±16	615±44	618±13	9,000±378
Cr(tot)^{rem}(%)	-	87,5	70,1	95	96,7	90,8	85,5	91,2	93,8	40,5
Cr(tot)^{eff} (μg/L) <small>κατόπιν διυλιστ.</small>	-	16±2	106±10	15,3±5	29±8	120±12	270±21	215±11	488±31	6,200±186
Cr(III)_{part}/MLSS (mg Cr/g SS)	-	2,5±0,3	9,6±0,8	10,9±0,1	11,0±0,4	12,1±0,4	16,2±0,5	22±0,4	34,2±0,3	47,7±3
Θερμ. (°C)	23,9±1,6	23,3±1,7	24,3±0,8	26,4±0,3	27,2±0,5	26,2±0,5	23,1±1,3	22,0±1,3	25,8±0,2	23,4±1,6
Redox (mV)	-198±26	-113±12	-151±25	-207±31	-230±20	-192±21	-167±23	-202±22	-199±19	-205±28
pH	7,1±0,1	7,2±0,1	7,2±0,3	6,9±0,2	6,9±0,1	6,9±0,3	7,2±0,1	7,1±0,1	7,2±0,1	7,2±0,3
DO (mg/L)	0,06±0,01	0,07±0,02	0,08±0,02	0,03±0,02	0,06±0,03	0,05±0,02	0,07±0,01	0,06±0,01	0,03±0,02	0,08±0,02

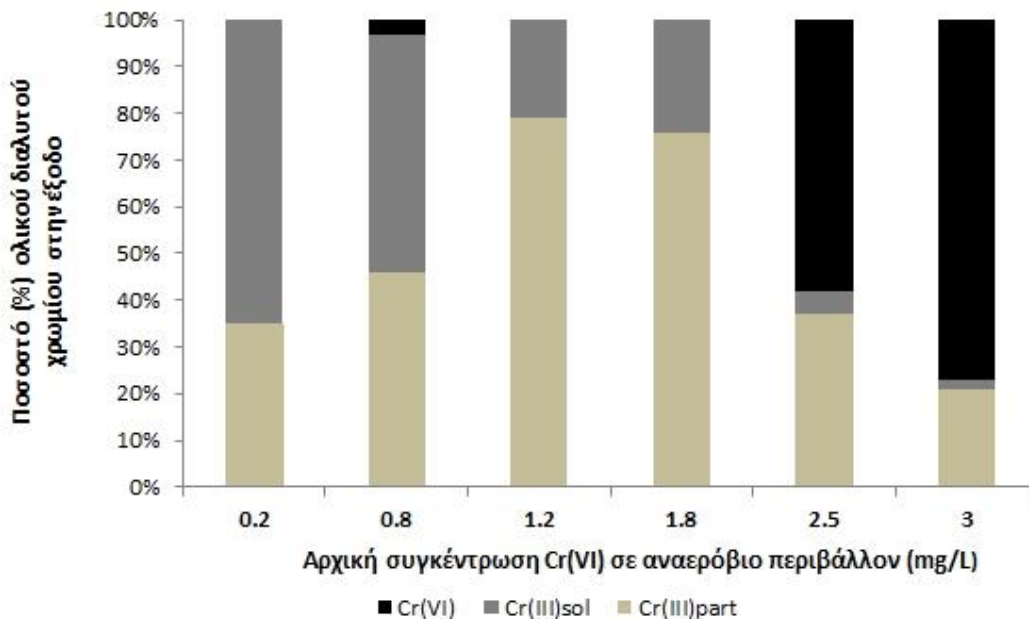
Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα των συστημάτων SBR, οι αναερόβιες συνθήκες υποστήριξαν πλήρη αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III) (>99%) μέχρι και για αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) των υπογείων υδάτων περίπου 1800 mg/L. Από την άλλη πλευρά, διαπιστώθηκε ότι οι ανοξικές συνθήκες υποστηρίζουν την πλήρη απομάκρυνση του Cr(VI) (>99%) μέχρι και για αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) των υπογείων υδάτων έως 10000 mg/L (Panousi et al., 2016). Πρέπει επίσης να υπογραμμιστεί ότι αυτή η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης Cr(VI) που καταγράφηκε υπό αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες επιτυγχάνεται με την προσθήκη μιας σχετικά χαμηλής δόσης οργανικού υποστρώματος που για όλες τις αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) που μελετήθηκε ήταν σταθερή και ίση με 200 mg/L ως COD. Χαμηλότερες απομακρύνσεις Cr(VI) της τάξης του 59% και 25% καταγράφηκαν υπό αναερόβιες συνθήκες για αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) των υπογείων υδάτων ίσες με 2500 mg/L και 3000 mg/L αντίστοιχα. Στο Διάγραμμα 4.17 δίνονται οι βαθμοί απόδοσης ως προς την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου κάθε βιοαντιδραστήρα συναρτήσει της συγκέντρωσης Cr(VI) στο υπόγειο νερό χρησιμοποιώντας και τις μπάρες σφάλματος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η βιομάζα που εγκλιματίστηκε στο Cr(VI) υπό ανοξικές συνθήκες παρουσίασε μεγαλύτερη ανοχή στο Cr(VI).

Απόδειξη της μικροβιακής αναστολής λόγω υψηλών συγκεντρώσεων Cr(VI) στα υπόγεια ύδατα ήταν επίσης η μείωση της απομάκρυνσης COD που παρατηρήθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις υπογείων υδάτων. Όπως φαίνεται στους παραπάνω πίνακες, το διαλυτό COD εκροής αυξήθηκε από περίπου 20 mg/L έως 48 mg/L και 94 mg/L στα ανοξικά και αναερόβια συστήματα SBR αντίστοιχα. Όμοια συμπεριφορά είχε και η συγκέντρωση των ολικών αιρούμενων στερεών στην έξοδο των συστημάτων, η οποία σταδιακά αυξήθηκε ανάλογα με την αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης χρωμίου Cr(VI)_{in} στο νερό (Panousi et al., 2016), λόγω μειωμένης βιοκροκκίδωσης. Παρόμοια αποτελέσματα ως προς την αποκροκκίδωση είχαν παρατηρήσει και οι Stasinakis et al. (2003) σε συστήματα ενεργού ιλύος που τροφοδοτούνταν με υγρά απόβλητα που περιείχαν συγκεντρώσεις Cr(VI) έως και 5 mg/L.

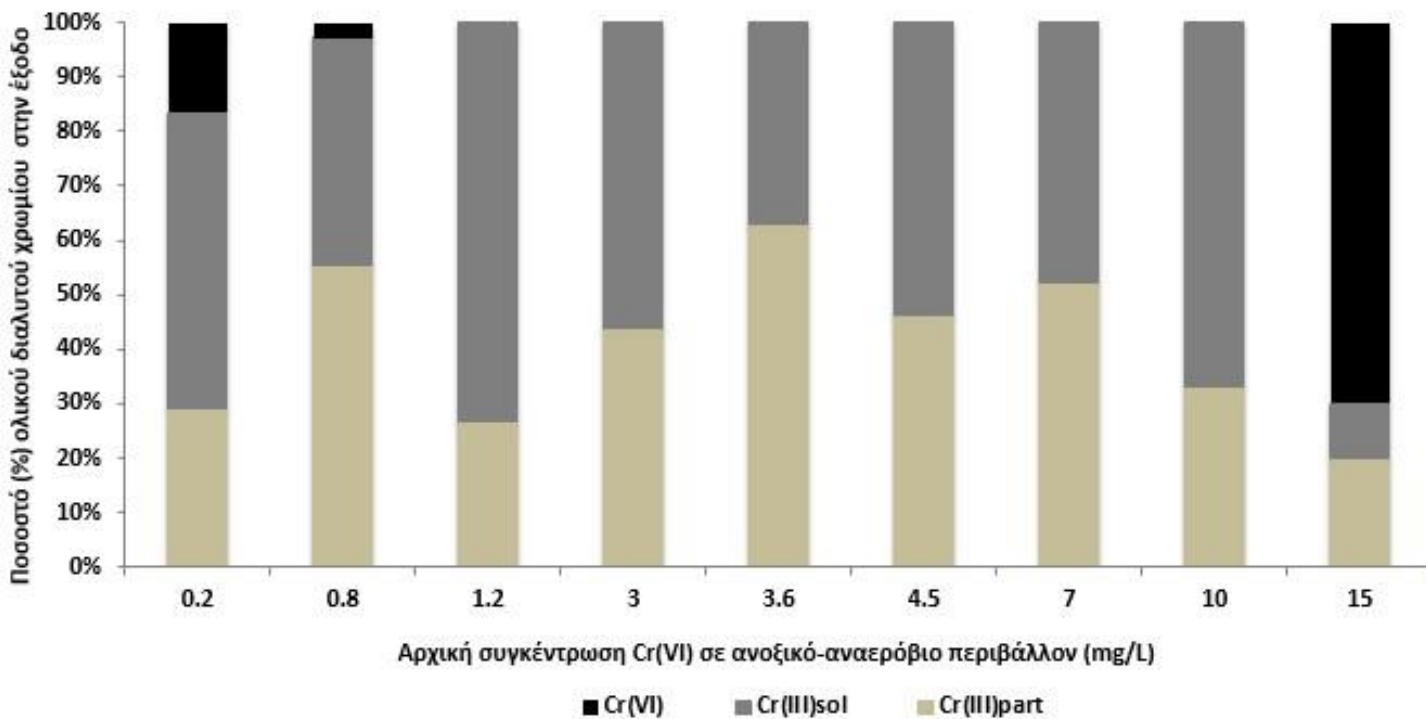


Διάγραμμα 4.17: Μέση απομάκρυνση (%) Cr(VI), στον αναερόβιο και ανοξικό-αναερόβιο αντιδραστήρα

Τα Διαγράμματα 4.18 και 4.19 αποτυπώνουν τις μορφές ολικού χρωμίου στην έξοδο του κάθε αντιδραστήρα ανάλογα με την αρχική συγκέντρωση Cr(VI). Στην έξοδο των συστημάτων που έδειξαν ανεκτικότητα στο χρώμιο, η επικρατούσα μορφή ολικού χρωμίου είναι το διαλυτό τρισθενές χρώμιο, συμπέρασμα που έχει αναλυθεί σε όλες τις προηγούμενες υποενότητες. Τα διαγράμματα μέσω των μετρήσεων επαληθεύουν πως το όριο τοξικότητας για τον αναερόβιο αντιδραστήρα ήταν περίπου τα 2,5 mg/L, και για τον ανοξικό-αναερόβιο τα 10 mg/L, καθώς αρχικές τιμές εξασθενούς χρωμίου άνω των προαναφερθέντων δεν ήταν δυνατόν να αναχθούν στις παρούσες συνθήκες, κατά συνέπεια στην έξοδο το διαλυτό εξασθενές χρώμιο κυριαρχεί.

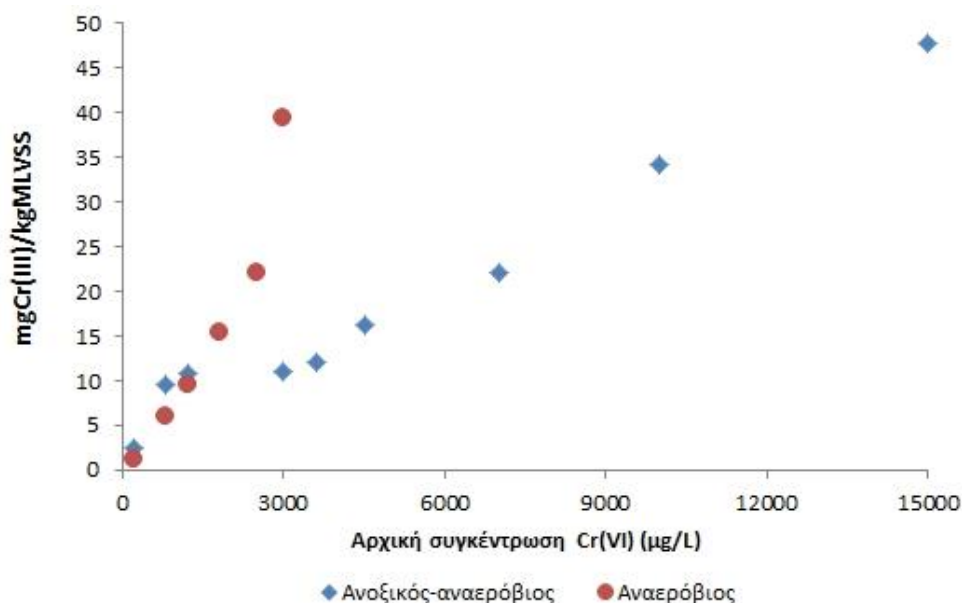


Διάγραμμα 4.18: Ποσοτικοποίηση μορφών ολικού διαλυτού χρωμίου στην έξοδο του αναερόβιου αντιδραστήρα



Διάγραμμα 4.19: Ποσοτικοποίηση μορφών ολικού διαλυτού χρωμίου στην έξοδο του ανοξικού-αναερόβιου αντιδραστήρα

Προκειμένου να διερευνηθούν οι μορφές Cr στα αιωρούμενα στερεά, διεξήχθη συσχέτιση χρωμίου στο ανάμικτο υγρό των συστημάτων SBR. Όπως φαίνεται στους Πίνακες 4.11 και 4.12, τα αιωρούμενα στερεά περιείχαν σημαντική ποσότητα χρωμίου μόνο με τη μορφή Cr(III) που κυμαίνεται από 1,1 mg Cr/gSS έως 47,7 mg Cr/gSS (Διάγραμμα 4.20). Η τιμή ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό του αναερόβιου αντιδραστήρα είναι όπως αναμενόταν μεγαλύτερη στην ίδια αρχική συγκέντρωση Cr(VI) από αυτή που προέκυψε στο ανάμικτο υγρό του ανοξικού αναερόβιου αντιδραστήρα, καθώς σε αυτήν τη μέτρηση συμπεριλαμβάνεται η συσσώρευση χρωμίου που έχει γίνει μέσα στους μικροοργανισμούς. Επίσης, η συσσώρευση Cr στο ανάμικτο υγρό ακολουθεί πορεία γραμμική και ανάλογη της αρχικής συγκέντρωσης Cr(VI) και για τα δύο περιβάλλοντα. Με βάση τις μετρήσεις αυτές, η βιομάζα θα πρέπει πιθανώς να διαχειρίζεται ως τοξικό απόβλητο λόγω της υψηλής περιεκτικότητας τρισθενούς χρωμίου. Ωστόσο, οι ποσότητες της παραγόμενης βιολογικής ιλύος είναι περιορισμένες λόγω του χαμηλού συντελεστή απόδοσης των μικροοργανισμών υπό αναερόβιες συνθήκες. Παρόμοια με τα αποτελέσματα αυτά, άλλοι ερευνητές ανέφεραν επίσης ότι η απομάκρυνση του Cr(VI) αποδίδεται αποκλειστικά σε βιοτικές διεργασίες που τείνουν να μετατρέπουν το Cr(VI) στο Cr(III) (Stasinakis et al., 2004; Xu et al., 2011).



Διάγραμμα 4.20: Γραφική απεικόνιση της συσσώρευσης τρισθενούς χρωμίου στη βιομάζα ως προς το εξασθενές χρώμιο εισόδου στα δύο υπό εξέταση περιβάλλοντα

4.4.2.2 Αποτελέσματα Προσδιορισμού Μέγιστου Ρυθμού Ανάπτυξης μικροοργανισμών

Για να εκτιμηθεί η μικροβιακή αναχαίτιση λόγω της παρουσίας Cr(VI) στα υπόγεια ύδατα, μετρήθηκαν οι μέγιστοι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης (μ_{max}) σε πειράματα ασυνεχούς τροφοδοσίας. Τα πειράματα διεξήχθησαν εις τριπλούν σε σταθερή θερμοκρασία ίση με 20 °C, χρησιμοποιώντας εγκλιματισμένη βιομάζα από τους SBR σε συγκέντρωση Cr(VI) που χρησιμοποιούνταν την κάθε περίοδο. Προκειμένου να επιτευχθεί ο εγκλιματισμός της βιομάζας, τα συστήματα SBR λειτουργούσαν για τουλάχιστον 30 ημέρες (3* θ_c) στη συγκεκριμένη συγκέντρωση Cr(VI) πριν από τη διεξαγωγή των κινητικών αυτών πειραμάτων.

Μέσα από τα αποτελέσματα της συνάρτησης των MLVSS με το χρόνο, υπολογίστηκε ο μέγιστος ρυθμός ειδικής ανάπτυξης (μ_{max}) σύμφωνα με τους Stasinakis et al. (2003b), εφαρμόζοντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\ln\left(\frac{X(t)}{X(t_0)}\right) = (\mu_{max} - b) * t,$$

όπου X(t) είναι η συγκέντρωση βιομάζας στο χρόνο t (mg VSS/L), X(t₀) είναι η συγκέντρωση βιομάζας στον χρόνο t= 0 (mg VSS/L) και b είναι ο ρυθμός ενδογενούς αποσύνθεσης (d⁻¹).

Η τιμή του μ_{max} είναι πολύ μικρότερη από το b και, σύμφωνα με τους Karppler and Gujer, 1992:

$$\mu_{max} = 1,05(\mu_{max} - b)$$

Τόσο τα απόλυτα αποτελέσματα του μ_{max} , όσο και η γραφική απεικόνιση της αναχαίτισης για την κάθε συγκέντρωση που εξετάστηκε στο αναερόβιο και το ανοξικό-αναερόβιο περιβάλλον παρατίθενται στον Πίνακα 4.13 και στο Διάγραμμα 4.21 αντίστοιχα (Panousi et al., 2016). Ο Πίνακας 4.13 συνοψίζει τους μέγιστους ρυθμούς ανάπτυξης μ_{max} που λαμβάνονται παρουσία διαφόρων αρχικών συγκεντρώσεων Cr(VI) των υπογείων υδάτων υπό αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες. Όπως φαίνεται από τον πίνακα, η αύξηση της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου, οδήγησε σε μείωση των τιμών μ_{max} υπό

αμφότερες τις αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες. Σύμφωνα με τα πειράματα κινητικής που διεξήχθησαν, η αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης που παρατηρήθηκε κάτω από αναερόβιες ή ανοξικές συνθήκες για αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) έως 1500-1800 μg/L δεν ήταν σημαντική. Υπό αναερόβιες συνθήκες, η αναστολή της αναγωγής μικροβιακού Cr ήταν μικρότερη από 65% για τις αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) των υπογείων υδάτων μέχρι περίπου 2000 μg/L. Η αύξηση των αρχικών συγκεντρώσεων Cr(VI) σε περισσότερο από 2000 μg/L, προκάλεσε σημαντική αναστολή και οδήγησε σε μειωμένη απόδοση απομάκρυνσης του Cr(VI) υπό αναερόβιες συνθήκες. Η πλήρης αναστολή επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση υπογείων υδάτων Cr(VI)_{in} ίση με 3000 μg/L.

Ο μέγιστη τιμή του μ_{max} που προέκυψε δεν ξεπερνούσε τα 0,8 d⁻¹, γεγονός που φανερώνει πως οι καλλιέργειες αποτελούνταν κυρίως από αποθειωτές και απονιτροποιητές, καθώς αυτός είναι περίπου ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης αυτού του είδους βακτηρίων (Oude Elferink et al., 1994; Stams et al., 2003). Αυτό το αποτέλεσμα ενισχύει τα ευρήματα που προέκυψαν από τον ποσοστιαίο υπολογισμό των ισοδύναμων ηλεκτρονίων, κατά το οποίο δε συμμετείχαν μεθανογόνα βακτήρια, αλλά βακτήρια που συνέβαλλαν στην αποθείωση και την απονιτροποίηση. Τα παραπάνω θα επιβεβαιωθούν και στην πορεία από τον προσδιορισμό του ετεροτροφικού συντελεστή μετατροπής βιομάζας Y και την εφαρμογή της μοριακής τεχνικής καταμέτρησης μικροοργανισμών (FISH).

Η μικροβιακή αναστολή εκτιμήθηκε σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{Αναχαίτιση} = [(\mu_{maxcontrol} - \mu_{maxCr(VI)}) / \mu_{maxcontrol}] * 100,$$

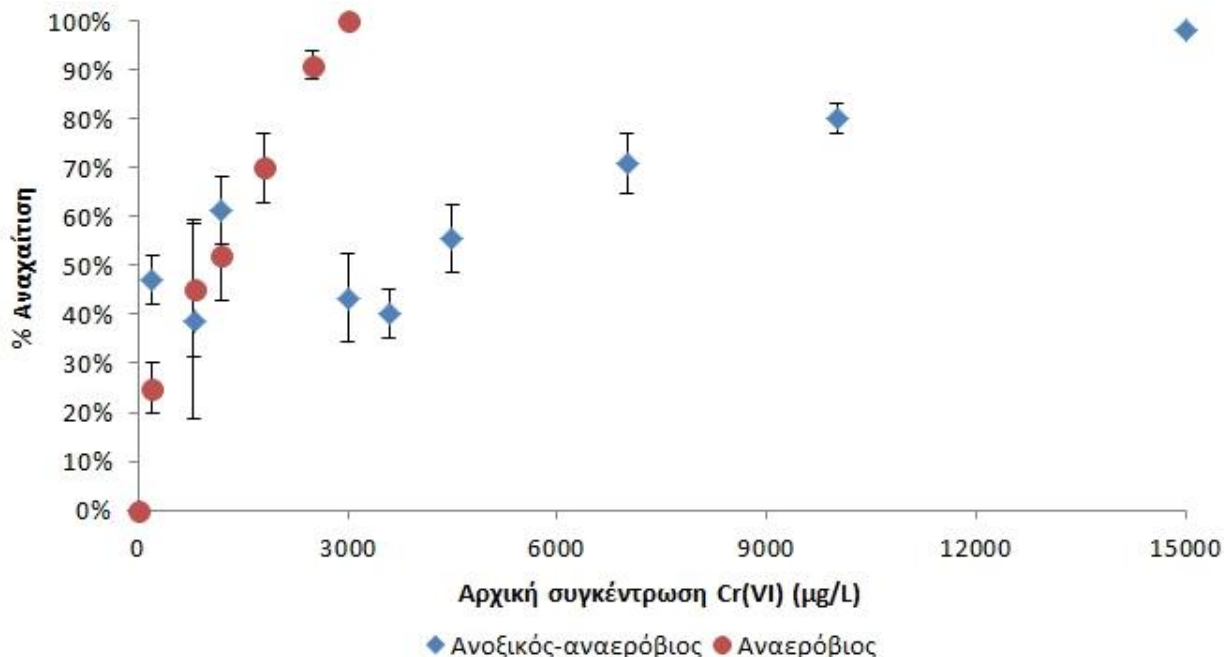
όπου το $\mu_{maxcontrol}$ αποτελεί το μέγιστο ρυθμό ειδικής ανάπτυξης που προσδιορίζεται χωρίς προσθήκη Cr(VI) και $\mu_{maxCr(VI)}$, ο μέγιστος ρυθμός ειδικής ανάπτυξης που προσδιορίζεται παρουσία Cr(VI).

Η βιομάζα που εγκλιματίστηκε κάτω από ανοξικές συνθήκες παρουσίασε πολύ μεγαλύτερη ανοχή στο Cr(VI). Στην αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 3000 μg/L, η αναστολή της αναγωγής Cr(VI) ήταν μικρότερη από 45% και η απόδοση απομάκρυνσης ήταν μεγαλύτερη από 98%. Σημαντική αναχαίτιση, υψηλότερη από 75%, παρατηρήθηκε μόνο στις συγκεντρώσεις Cr(VI) υπογείων υδάτων στην κλίμακα 10000 - 15000 μg/L

(Panousi et al., 2016). Παρόμοιες επιδράσεις τοξικότητας του Cr(VI) έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία σε αερόβιες καλλιέργειες και σε υψηλότερες συγκεντρώσεις Cr(VI). Οι Stasinakis et al. (2001), αναφέρουν ότι συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 25 mg/L, προκάλεσε περισσότερο από 70% αναχαίτιση στην εγκλιματισμένη βιομάζα. Ομοίως, οι Contreras et al. (2011) ανέπτυξαν ένα μαθηματικό μοντέλο που προέβλεπε ότι κάτω από αερόβιες συνθήκες οι συγκεντρώσεις Cr(VI) στην κλίμακα 0-25 mg/L, ασκούν ισχυρή επίδραση στους μέγιστους ρυθμούς ανάπτυξης βιομάζας. Παρόμοιες μελέτες με στόχο την αξιολόγηση της επίδρασης του Cr(VI) στους μέγιστους ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία μόνο υπό πλήρως αερόβιες συνθήκες (Contreras et al., 2011; Stasinakis et al., 2002; Elangovan and Philip, 2009).

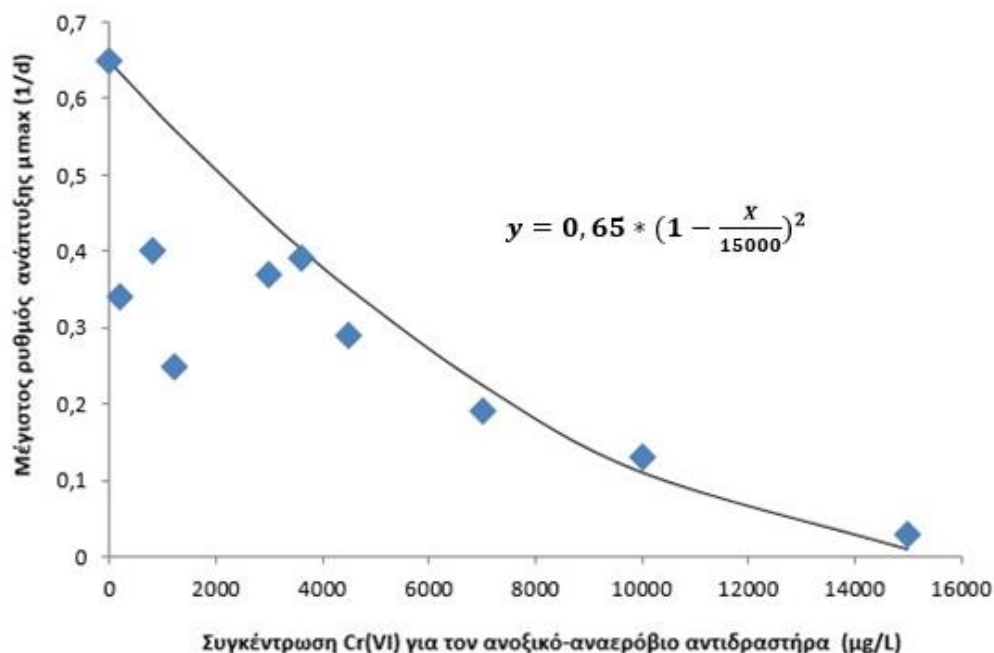
Πίνακας 4.13: Μέγιστοι ρυθμοί ανάπτυξης μικροοργανισμών (μ_{max}) στο αναερόβιο και ανοξικό περιβάλλον

Αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ($\mu\text{g/L}$)	μ_{max} (d^{-1})	
	Ανοξικός-αναερόβιος SBR	Αναερόβιος SBR
0	0,65±0,26	0,78±0,11
200	0,34±0,03	0,58±0,04
800	0,40±0,13	0,43±0,11
1200	0,25±0,05	0,37±0,07
1800	-	0,23±0,05
2500	-	0,07±0,03
3000	0,37±0,05	0,02±0,01
3600	0,39±0,03	-
4500	0,29±0,04	-
7000	0,19±0,04	-
10000	0,13±0,02	-
15000	0,03±0,01	-

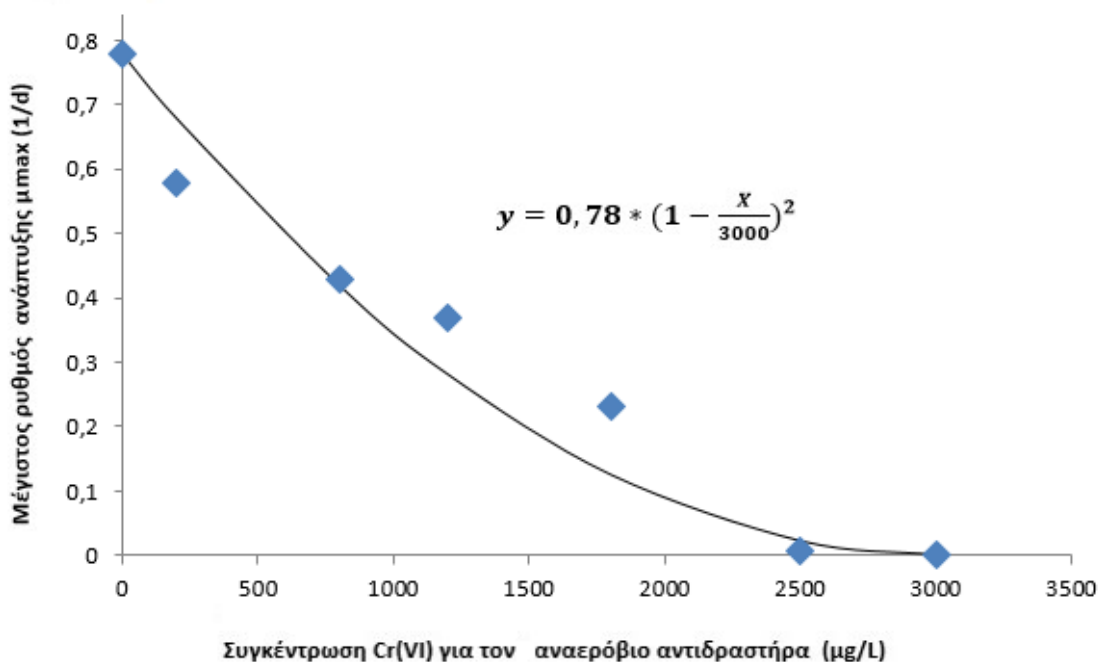


Διάγραμμα 4.21: Ποσοστό αναχαίτισης του Cr(VI) στα αναερόβια και ανοξικά-αναερόβια συστήματα χρησιμοποιώντας τους άξονες σφάλματος (error bars)

Για κάθε περιβάλλον (ανοξικό, αναερόβιο) υπάρχει μία σχέση τύπου Monod που μπορεί να περιγράψει την αναχαίτιση της ανάπτυξης των βακτηρίων λόγω εξασθενούς χρωμίου. Βάσει των αποτελεσμάτων του Πίνακα 4.13, το μοντέλο που προσεγγίζει καλύτερα τη μη ανταγωνιστική αναχαίτιση (noncompetitive inhibition) λόγω εξασθενούς χρωμίου σε αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες είναι του Levenspiel (Meric et al., 2001): $\mu_{maxi} = \mu_{max} * (1 - \frac{P}{P_m})^\beta$, όπου μ_{max} αποτελεί το μέγιστο ρυθμό ειδικής ανάπτυξης Monod που προσδιορίζεται απουσία Cr(VI), μ_{maxi} αποτελεί το μέγιστο ρυθμό ειδικής ανάπτυξης Monod που προσδιορίζεται παρουσία Cr(VI) συγκέντρωσης P, P_m είναι η συγκέντρωση Cr(VI) στην οποία παρουσιάζεται πλήρης αναχαίτιση, P είναι η συγκέντρωση Cr(VI) και β σταθερά που ισούται με 2. Τα παρακάτω διαγράμματα (Διάγραμμα 4.22, 4.23) απεικονίζουν την εφαρμογή του μοντέλου Levenspiel χρησιμοποιώντας τις συγκεντρώσεις Cr(VI) του Πίνακα 4.13 και φαίνεται γραφικά η ταύτιση των αποτελεσμάτων μ_{max} του πίνακα με τον άξονα y των διαγραμμάτων.



Διάγραμμα 4.22: Γραφική απεικόνιση του μοντέλου Levenspiel που προσεγγίζει τη μη ανταγωνιστική αναχαίτιση (noncompetitive inhibition) λόγω εξασθενούς χρωμίου σε ανοξικές συνθήκες με βάση τις μετρήσεις του Πίνακα 4.13



Διάγραμμα 4.23: Γραφική απεικόνιση του μοντέλου Levenspiel που προσεγγίζει τη μη ανταγωνιστική αναχαίτιση (noncompetitive inhibition) λόγω εξασθενούς χρωμίου σε αναερόβιες συνθήκες με βάση τις μετρήσεις του Πίνακα 4.13

4.4.3 Αποτελέσματα Εφαρμογής της Μοριακής Τεχνικής Καταμέτρησης Μικροοργανισμών FISH

Η ανάλυση FISH διεξήχθη προκειμένου να προσδιοριστεί η σύνθεση της μικροβιακής καλλιέργειας στα συστήματα SBR που περιγράφηκαν προηγουμένως. Πιο αναλυτικά, παρατίθενται στον παρακάτω Πίνακα 4.14 τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των αντιδραστήρων, δείγματα των οποίων απομονώθηκαν για την καταμέτρηση των μικροοργανισμών με FISH.

Πίνακας 4.14: Χαρακτηριστικά βιοαντιδραστήρων στους οποίους εφαρμόστηκε η μέθοδος FISH

	Αποδέκτης e ⁻	Δότης e ⁻	COD _{total} (in) (mg/L)	Cr(VI) _{in} (mg/L)
Αντιδραστήρας 1	Αναερόβιος	τυρόγαλο	200	0,2
Αντιδραστήρας 2	Αναερόβιος	ζάχαρη/γάλα	200	0,2
				2,5
Αντιδραστήρας 2	Αναερόβιος	ζάχαρη	200	0,2
				7
Αντιδραστήρας 4	Ανοξ-ανερόβ.	ζάχαρη/γάλα	200	10
				15

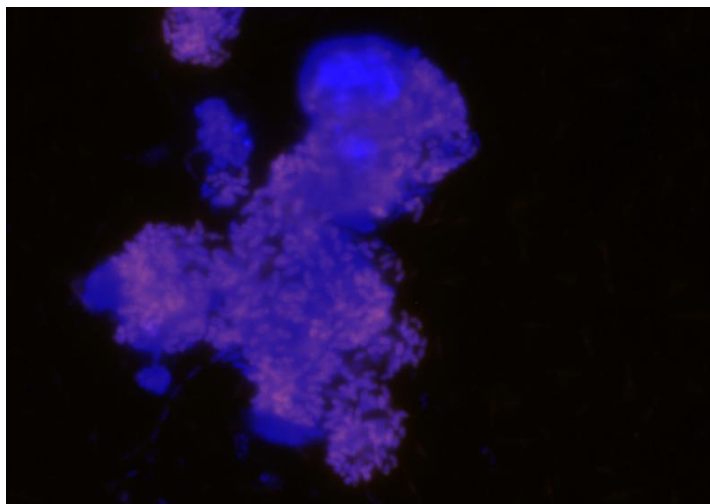
Η έρευνα στόχευσε στην ταύτιση συγκεκριμένων ειδών βακτηρίων τα οποία περιελάμβαναν τα *Eurobacteria* (EUB), *γ-proteobacteria* (GAM), *Pseudomonas* (PAE), *δ-proteobacteria* (DELTA), *Desulfobacteraceae/Syntrophobacteraceae* (DSBAC), *Archaea* (ARCH), *Methanosarcinales* (MSMX), *Clostridia* (CLOST I), *Acetobacterium* (AW). Όλα τα αποτελέσματα παρατίθενται αναλυτικά στο Παράρτημα Δ3. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων καταδεικνύουν ότι τα *Archaea* σε όλα τα συστήματα, αντιπροσωπεύουν χαμηλό ποσοστό της τάξης του 2%±1% από το 84%±4% του συνόλου θετικών αποκρίσεων που μπόρεσαν να υπολογιστούν (DAPI). Οι συγκεντρώσεις των

Methanosarcina και των *Methanosaeta spp.* ήταν επίσης χαμηλές, ως εκ τούτου η παρουσία των μεθανογόνων που προσδιορίστηκε ήταν ελάχιστη (Panousi et al., 2016).

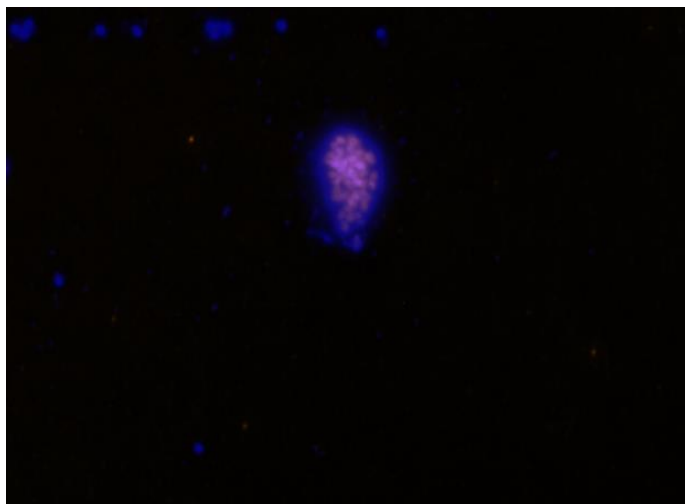
Τα *Deltaproteobacteria* που περιλαμβάνουν τα περισσότερα θειοαναγωγικά βακτηρίδια επικράτησαν έναντι άλλων ομάδων μικροοργανισμών υπό αναερόβιες συνθήκες. Αυτό το αποτέλεσμα, είναι σύμφωνο με την υψηλή περιεκτικότητα σε θειικά άλατα που περιλαμβάνονταν στο νερό του Πολυτεχνείου που χρησιμοποιήθηκε σε όλα τα πειράματα (40 mg/L). Πιο συγκεκριμένα, στο αναερόβιο σύστημα με δότη ηλεκτρονίων ζάχαρη-γάλα, η πυκνότητα των *Deltaproteobacteria* κυμαινόταν από 15% σε συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 0,2 mg/L μέχρι 7% σε συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 2,5 mg/L. Όμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στον μοναδικό ανοξικό-αναερόβιο βιοαντιδραστήρα που εξετάστηκε, στον οποίο η πυκνότητα των *Deltaproteobacteria* είχε πτωτική τάση καθώς αυξανόταν η συγκέντρωση του Cr(VI). Πιο συγκεκριμένα η πυκνότητα κυμάνθηκε από 35% ως 18% σε συγκέντρωση 7 μέχρι 15 mg/L Cr(VI) αντίστοιχα (Panousi et al., 2016) (Σχήμα 4.1).

Υπό αναερόβιες συνθήκες, τα *Gammaaproteobacteria* που περιλαμβάνουν μερικά από τα βακτήρια απονιτροποίησης, παρέμειναν σε χαμηλές πυκνότητες, που μετρήθηκαν από 2% έως 7%, λόγω της απουσίας νιτρικών. Σε ανοξικά συστήματα SBR με συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου μέχρι 7 mg/L, τα *Gammaaproteobacteriare*, που περιλαμβάνουν αρκετά βακτήρια απονιτροποίησης, αποτελούσαν το 23%±3% του συνόλου του πληθυσμού. Ωστόσο, σε αυξημένες συγκεντρώσεις χρωμίου 10 mg/L και 15 mg/L, το ποσοστό μειώθηκε σε 10% και 3% αντίστοιχα, όπως απεικονίζεται παρακάτω (Σχήμα 4.2) υποδηλώνοντας την αναχαίτιση των απονιτροποιητικών βακτηρίων λόγω αύξησης της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου (Διάγραμμα 4.24). Αυτό το αποτέλεσμα είναι συνεπές με τη μείωση της αποτελεσματικότητας απονιτροποίησης που παρατηρείται σε συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου υψηλότερες των 7 mg/L (Διάγραμμα 4.24, 4.25). Επιπλέον, η απουσία των *Pseudomonas spp.* παρατηρήθηκε ακόμη και κάτω από ανοξικές συνθήκες με υψηλές συγκεντρώσεις *Gammaaproteobacteria*. Όσον αφορά τα θετικά κατά Gram βακτήρια, οι συγκεντρώσεις των *Clostridia* και *Acetobacterium spp.* ήταν ελάχιστες, κυμαινόμενες από 0% έως 8% αντίστοιχα (Panousi et al., 2016).

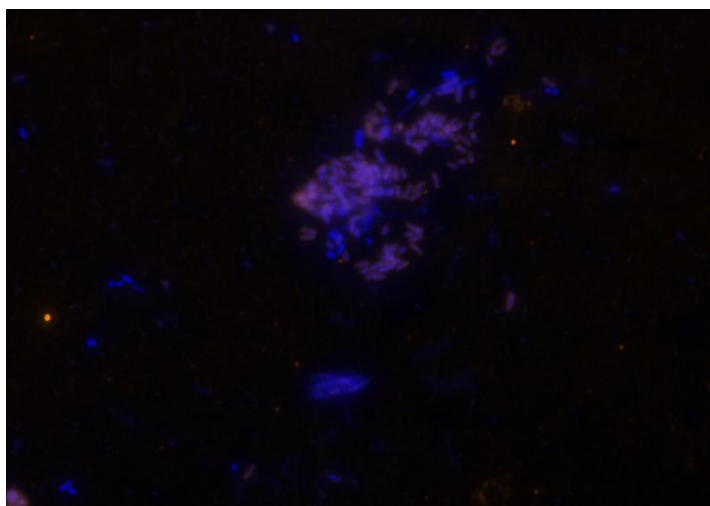
A)



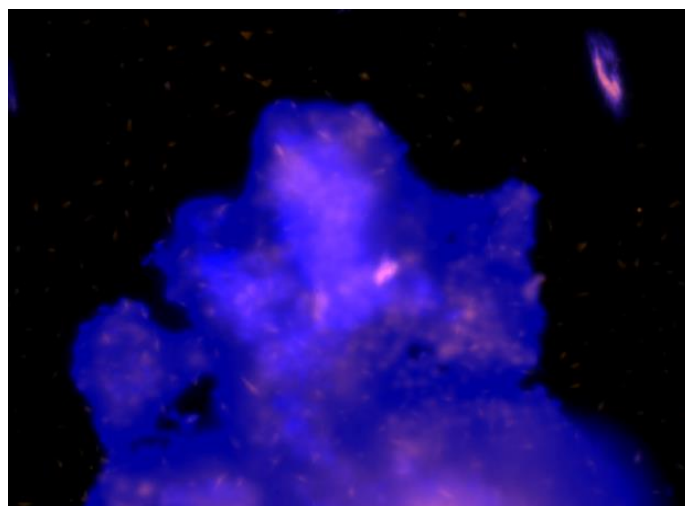
B)



Γ)



Δ)

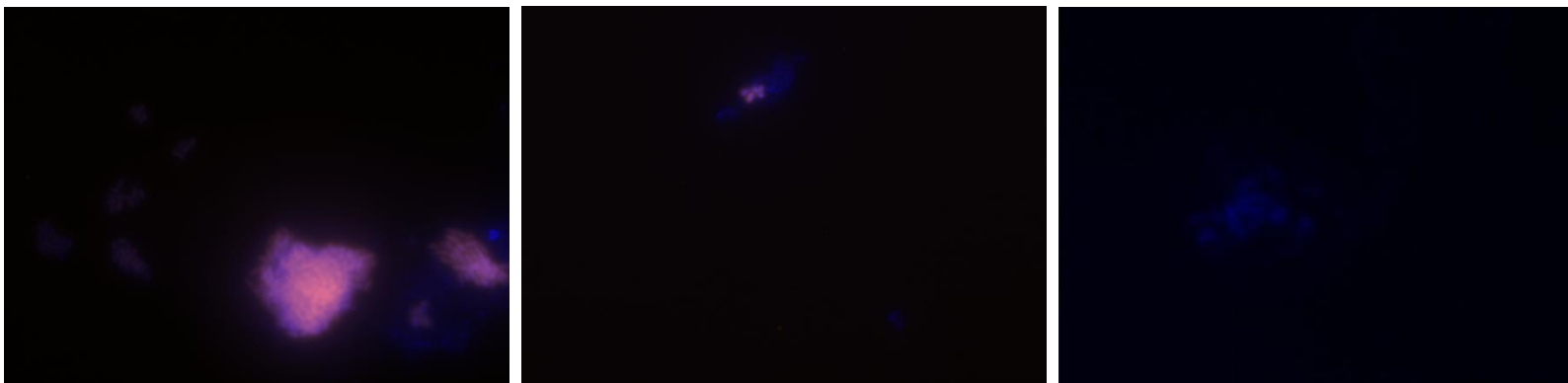


Σχήμα 4.1: Προσδιορισμός μικροοργανισμών *Deltaproteobacteria* μέσω μεθόδου FISH (μωβ χρωματισμός): (A), B) στον αναερόβιο SBR 2 με συγκέντρωση Cr(VI): 0,2 και 2,5 mg/L, αντίστοιχα (Γ), Δ) στον ανοξικό-αναερόβιο SBR 4 με συγκέντρωση Cr(VI): 7 και 10 mg/L, αντίστοιχα

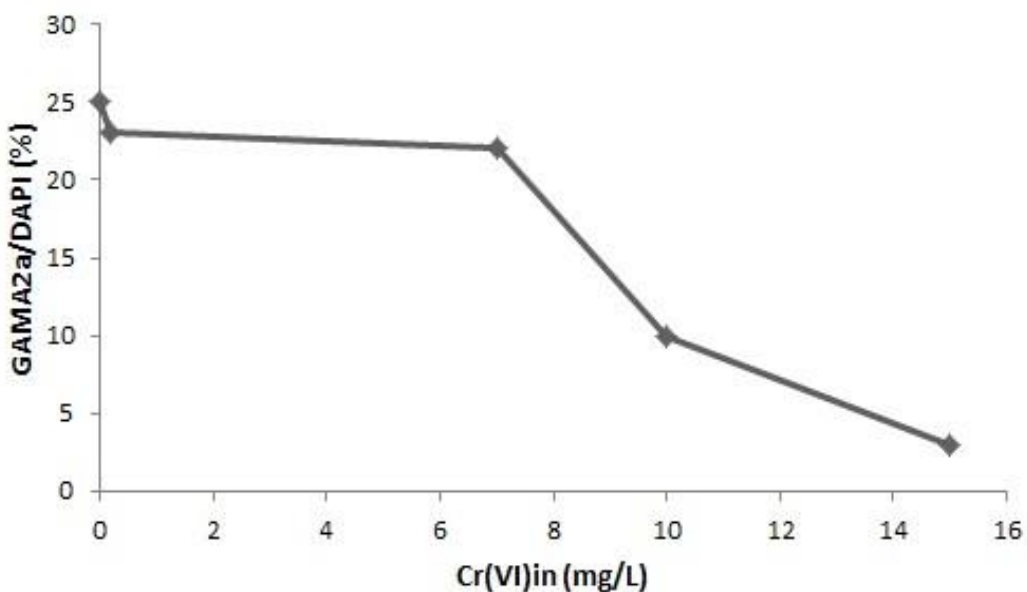
A)

B)

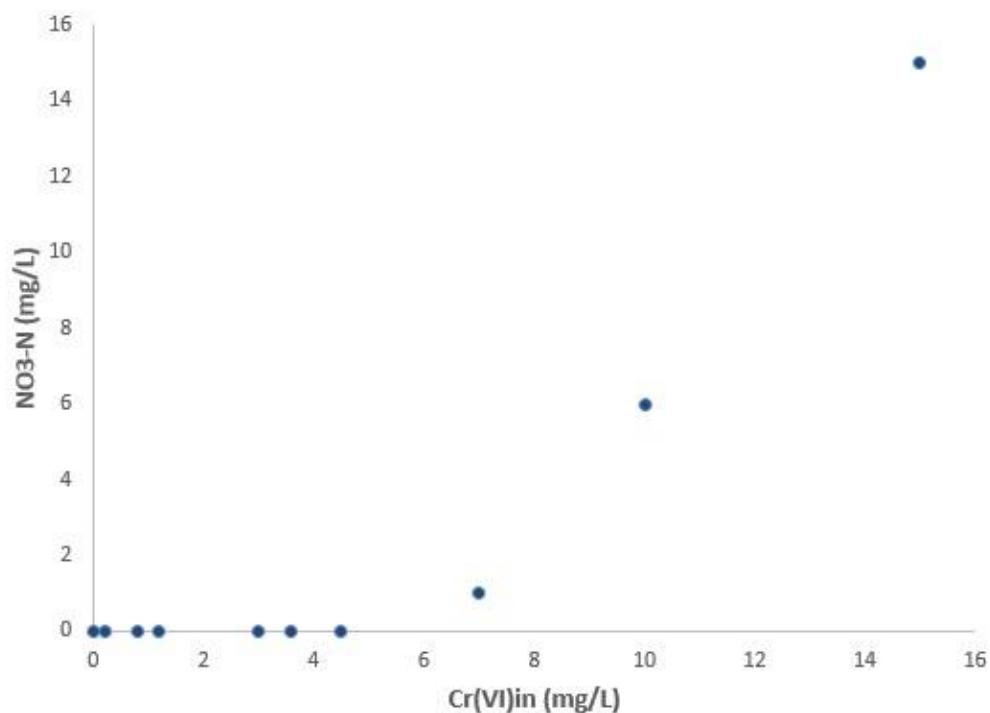
Γ)



Σχήμα 4.2: Προσδιορισμός μικροοργανισμών *Gammaproteobacteria* μέσω μεθόδου FISH (μωβ χρωματισμός) στον ανοξικό-αναερόβιο SBR 4 με συγκέντρωση Cr(VI) A) 7 mg/L, B) 10 mg/L, Γ) 15 mg/L



Διάγραμμα 4.24: Επίδραση της αυξημένης συγκέντρωσης χρωμίου σε καλλιέργεια *Gammaproteobacteria* (βακτήρια απονιτροποίησης) στον ανοξικό-αναερόβιο SBR 4



Διάγραμμα 4.25: Μέση συγκέντρωση NO₃-N συναρτήσει του Cr(VI) στην εκροή του ανοξικού-αναερόβιου SBR 4

4.4.4 Αποτελέσματα Προσδιορισμού Ετεροτροφικού Συντελεστής Μετατροπής Βιομάζας Υ

Ο συντελεστής Υ (Heterotrophic Yield Coefficient) είναι το μέγεθος που δείχνει πόσο αναπτύσσεται η βιομάζα σε σχέση με την κατανάλωση υποστρώματος. Ο προσδιορισμός του συντελεστή Υ υπολογίστηκε από τα πειράματα της καθημερινής λειτουργίας των αντιδραστήρων αλλά και με σειρά πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας για επαλήθευση και για μεγαλύτερη εγκυρότητα των αποτελεσμάτων.

Ο υπολογισμός του παρατηρούμενου συντελεστή παραγωγής βιομάζας (Υ, παραγόμενη βιομάζα/καταναλισκόμενη τροφή) βάσει του ισοζυγίου μάζας των καθημερινών

πειραματικών μετρήσεων, πραγματοποιείται διαιρώντας την παραγόμενη βιομάζα που αφαιρείται καθημερινά με την καταναλισκόμενη ποσότητα COD, καταλήγοντας στον τύπο:

$$Y_{obs} = \frac{W * MLVSS + (Q - W) * TSS * \frac{MLVSS}{MLSS}}{Q * (COD_{tot,in} - COD_{sol,out})}$$

Στη συνέχεια υπολογίζεται το Y πραγματικό: $Y_{obs} = \frac{Y_{act}}{1+b*\theta_c} \rightarrow Y_{act} = Y_{obs} * (1 + b * \theta_c)$, όπου b ο συντελεστής φθοράς της μικροβιακής μάζας που προκύπτει από τη σχέση: $b = 0,03d^{-1} * 1,035^{(T-35)} = 0,021d^{-1}$, με T τη μέση τιμή της θερμοκρασίας.

Στα πειράματα ασυνεχούς λειτουργίας (batch), ο ζητούμενος συντελεστής Y προέκυπτε από το κλάσμα το οποίο είχε ως αριθμητή τη μεταβολή (αύξηση) των VSS (mg/L) σε δεδομένη χρονική διάρκεια 5 ημερών και ως παρονομαστή τη μεταβολή (μείωση) του COD (mg/L) στο ίδιο χρονικό πλαίσιο. Ανάλογα με την πηγή υποστρώματος, είναι πιθανόν να διαφέρει και ο συντελεστής ετεροτροφικής βιομάζας ως ένα ποσοστό, όσον αφορά τα αναερόβια και τα ανοξικά περιβάλλοντα. Ο McCarty (1971) σε πειράματα με αναερόβια συστήματα και είδος υποστρώματος υδατάνθρακες και αμινοξέα διασπίστωσε τιμές του Y της τάξεως των 0,22 και 0,08 mg VSS/ mgCOD αντίστοιχα, ενώ ο Sykes (1975) συμπέρανε ότι ο συντελεστής Y για χρησιμοποιούμενο COD τη γλυκόζη, φτάνει τα 0,28 mg VSS/mgCOD. Οι McClintock et al. (1988) χρησιμοποιώντας τα πειραματικά μοντέλα των Lawrence και McCarty (1970) υπολόγισαν συντελεστές μεταξύ 0,27-0,50 mgVSS/mgCOD για ανοξικό και αναερόβιο σύστημα. Το μοντέλο αυτό, ωστόσο, δε λαμβάνει υπόψιν την ενδογενή παραγωγή υπολειμμάτων. Στις αμιγώς αναερόβιες καλλιέργειες, ο συντελεστής παραγωγής βιομάζας Y ανέρχεται περίπου στα 0,15 mg VSS/ mgCOD και στις αερόβιες περίπου στα 0,45 mg VSS/ mgCOD (Choubert et al., 2008). Τα πειραματικά αποτελέσματα της παρούσας διατριβής σχετικά με τον ετεροτροφικό συντελεστή Y κυμαίνονται μεταξύ 0,22-0,35 mg VSS/ mg COD, γεγονός αναμενόμενο δεδομένου ότι οι καλλιέργειες αποτελούνταν κατά κύριο λόγο από απονιτροποιητικά βακτήρια και αποθειωτές.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.15), παρατίθενται οι λειτουργικές παράμετροι των αντιδραστήρων, των οποίων οι καλλιέργειες μελετήθηκαν για τον υπολογισμό του Y . Οι διαφορετικές οξειδοαναγωγικές συνθήκες και το οργανικό υπόστρωμα (ζάχαρη ή/και

γάλα), καθώς και ποικιλία στην αρχική συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου, φαίνεται πως δεν επηρεάζει τον συντελεστή Υ. Το ίδιο συμπέρασμα προκύπτει και στις περιπτώσεις που αλλάζει η θερμοκρασία.

Πίνακας 4.15: Αποτελέσματα ετεροτροφικού συντελεστή Υ για τις μητρικές καλλιέργειες SBR

Οξειδοαναγωγικές συνθήκες	Είδος υποστρώματος	COD _{tot(in)} (mg/L)	Cr(VI) (μg/L)	M.O Yact (mgVSS/mgCOD)	T (°C)
Ανοξικές-αναερόβιες	Ζάχαρη-γάλα (αναλογία: 90/10)	200	0	0,31	22
			200	0,22	
			400	0,23	
			800	0,28	
			1200	0,29	
			3000	0,27	
Αναερόβιες	Γάλα	200	200	0,31	17
				0,30	12
				0,35	33
Αναερόβιες	Ζάχαρη-γάλα (αναλογία: 90/10)	200	0	0,30	22
			200	0,34	
			400	0,30	
			800	0,32	
			1200	0,28	
Ανοξικές-αναερόβιες	Ζάχαρη-γάλα (αναλογία: 90/10)	150	200	0,29	22
Αναερόβιες	Ζάχαρη	200	200	0,34	23

4.4.5 Συμπεράσματα Επίδρασης Συγκέντρωσης Cr(VI) στην Αναγωγική Ικανότητα των Μικροοργανισμών

Στόχος του παρόντος υποκεφαλαίου είναι η μελέτη της συμπεριφοράς αναερόβιων και ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων επεξεργασίας υπογείου νερού επιβαρυμένου με υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI), ο προσδιορισμός των μέγιστων ρυθμών ανάπτυξης των μ/σμών και τα όρια τοξικότητας τους. Στο πλαίσιο της παρούσας υποενότητας μελετήθηκαν συστήματα σε συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου 0-3000 μg/L για τον αναερόβιο και 0-15000 μg/L για τον ανοξικό-αναερόβιο βιοαντιδραστήρα, με ίδιες λειτουργικές παραμέτρους μεταξύ τους, δηλαδή ίδια ποσότητα και σύσταση COD, τροφοδότηση θρεπτικών συστατικών NH₄-N, PO₄-P και έναν κύκλο λειτουργίας ημερησίως.

Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την αναχαίτιση που προκαλούν οι αυξημένες συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου στην βιολογική αναγωγή του σε τρισθενές κάτω από αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες. Για συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου έως τα 1,2 mg/L, τα υπό μελέτη αναερόβια συστήματα λειτούργησαν χωρίς πρόβλημα, με απόδοση αναγωγής Cr(VI) που κυμαινόταν μεταξύ 80-100% και απομάκρυνση COD_{sol} μεγαλύτερη του 84%. Ο χρόνος εγκλιματισμού που απαιτήθηκε σε ορισμένες περιπτώσεις υψηλών συγκεντρώσεων εξασθενούς χρωμίου, ήταν μεγαλύτερος από το βιβλιογραφικά αναμενόμενο 3*θc. Στις περισσότερες περιπτώσεις πλήρως εγκλιματισμένης βιομάζας οι μικροοργανισμοί ανήγαγαν το εξασθενές χρώμιο στο πέρας του κύκλου λειτουργίας τους σε ποσοστό 100% και η αναχαίτιση που μετρήθηκε δεν ξεπέρασε το 55%. Επίσης, παρατηρήθηκε αυξανόμενη συσσώρευση τρισθενούς χρωμίου στη βιομάζα με την αύξηση του εξασθενούς χρωμίου της εισόδου, όπως αναμενόταν. Στο αναερόβιο σύστημα που επεξεργαζόταν υπόγειο νερό με συγκέντρωση εξασθενούς χρωμίου ίση με 3 mg/L παρατηρήθηκε φθίνουσα λειτουργία και σχεδόν πλήρης αναχαίτιση της ανάπτυξης της βιομάζας. Η λειτουργία δεν ήταν σταθερή και οι συγκεντρώσεις του εξασθενούς χρωμίου στην έξοδο ήταν ιδιαίτερα υψηλές, με αποτέλεσμα την 100% αναχαίτιση της βιολογικής αναγωγής του Cr(VI).

Τα ανοξικά-αναερόβια συστήματα σε σύγκριση με τα αναερόβια συστήματα παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη αναγωγική ικανότητα και φθάνουν να ανάγουν συγκεντρώσεις χρωμίου της τάξης των 15000 μg/L, να παρουσιάζουν μικρότερη αναχαίτιση στις υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI) στο υπόγειο νερό και κατά συνέπεια να επιτυγχάνουν υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης εξασθενούς και ολικού χρωμίου.

Τα παραπάνω πειραματικά αποτελέσματα συνάδουν με αυτά των Philip et al. (1998), Viamajala et al. (2002), Williams et al. (2004) και He et al. (2015), οι οποίοι διαπίστωσαν αναχαίτιση της αναγωγής των NO₃⁻ παρουσία Cr(VI) και το αντίστροφο. Οι μελέτες αναχαίτισης που πραγματοποιήσαν υποδεικνύουν την εμπλοκή της νιτρώδους αναγωγής στην αναγωγή του Cr(VI). Επειδή η μείωση των νιτρωδών είναι μέρος της διαδικασίας της αναερόβιας αναπνοής, η αναχαίτιση λόγω Cr(VI) είναι ένα αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των συστατικών της αναερόβιας αναπνοής με το ένζυμο της νιτρώδους αναγωγής. Επίσης, οι διαφορές ως προς το βαθμό της αναχαίτισης στην αναγωγή των νιτρωδών παρουσία χρωμικού άλατος καθώς και το αντίστροφο φαινόμενο, σε διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης, υποδηλώνουν ότι ο μηχανισμός της τοξικότητας του Cr(VI) εξαρτάται κατά πολύ από αυτές.

Με βάση τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των μέγιστων ρυθμών ανάπτυξης των μικροοργανισμών συναρτήσει της συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου κάτω από αναερόβιες και ανοξικές συνθήκες, υπολογίσθηκε ότι η αναχαίτιση που προκαλείται από το εξασθενές χρώμιο περιγράφεται από τη σχέση του Levenspiel η οποία είναι της μορφής: $\mu_i = \mu_{max} * (1 - \frac{P}{P_m})^\beta$, όπου ο μ_{max} αποτελεί το μέγιστο ρυθμό ειδικής ανάπτυξης Monod που προσδιορίζεται παρουσία Cr(VI), P_m είναι η μέγιστη δυνατή συγκέντρωση Cr(VI) στην οποία παρουσιάζεται τοξικότητα και β ισούται με 2 (Meric et al., 2001).

4.5 Επίδραση της Θερμοκρασίας στην Αναγωγική Ικανότητα Cr(VI) των Μικροοργανισμών

4.5.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων προσδιορισμού της επίδρασης της θερμοκρασίας στην αναγωγική ικανότητα των μικροοργανισμών κατά τη βιολογική επεξεργασία των ρυπασμένων, με εξασθενές χρώμιο, υπόγειων υδάτων. Μέχρι σήμερα παρόμοιες διερευνήσεις έχουν πραγματοποιηθεί μόνο για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων και την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου (Ubay et al., 1998). Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκε σειρά πειραμάτων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (12°C, 17°C, 33°C) κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Ο χρόνος παραμονής των στερεών ανέρχεται στις 10 ημέρες και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στις 1,7 ημέρες σε όλα τα συστήματα (Πίνακας 4.16). Η ψύξη των συστημάτων στους 12°C και η θέρμανση στους 33°C επιτεύχθηκε τοποθετώντας τον αντιδραστήρα σε υδατόλουτρο, με τη χρήση μηχανήματος ψύξης/θέρμανσης.

Πίνακας 4.16: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα E1)

	1	2	3
Cr(VI)_{in (0)} (mg/L)	0,2	0,2	0,2
COD_{in(tot)} (mg/L)	200	200	200
Είδος υποστ.	Γάλα	Γάλα	Γάλα
T (°C)	12±0,4	17±1,0	33±0,5
Redox (mV)	-180±28	-202±17	-166±12
pH	7,3±0,5	7,1±0,5	7,3±0,4
DO (mg/L)	0,04±0,01	0,04±0,03	0,07±0,03
θ_c (d)	10	10	10
HRT (d)	1,7	1,7	1,7
Εγκλιματισμένη λειτ.(d)	85	95	30

4.5.2 Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς την Επίδραση της Θερμοκρασίας

Ο παρακάτω πίνακας περιλαμβάνει τα ευρήματα σχετικά με την απόδοση των βιοαντιδραστήρων που τέθηκαν σε λειτουργία κάτω από διαφορετικές θερμοκρασιακές καταστάσεις, για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 µg/L.

Πίνακας 4.17: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ε2)

	1	2	3
T (°C)	12±0,4	17±1,0	33±0,5
MLSS (mg/L)	724±30	604±17	463±28
MLVSS/MLSS (%)	92,0	90,0	89,0
COD_{soleff} (mg/L)	15±5	28±6	24±4
TSS_{eff} (mg/L)	65±10	59±28	36±8
COD_{solrem} (%)	92,0	86,0	88,0
Cr(VI)_{eff} (µg/L)	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
Cr(VI)_{rem} (%)	>99,0	>99,0	>99,0
Cr_{(total)eff} (µg/L)	114±10	139±2	61±5
Cr_{(total)rem} (%)	42,0	30,0	70,0
TCr_{(sol)eff} (µg/L)	81±6	83±5	44±3
Cr(III) part/MLSS (mgCr/gSS)	1,7±0,2	3,0±0,3	2,9±0,5
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης Cr(VI) (µg Cr(VI)/h/g VSS)**	87±20	100±2	288±60
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης COD (mg COD/h/g VSS)**	23±4	14±6	18±5

* LOQ = 2.5 µg/L **Υπολογισμένα κατά τη διάρκεια πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch)

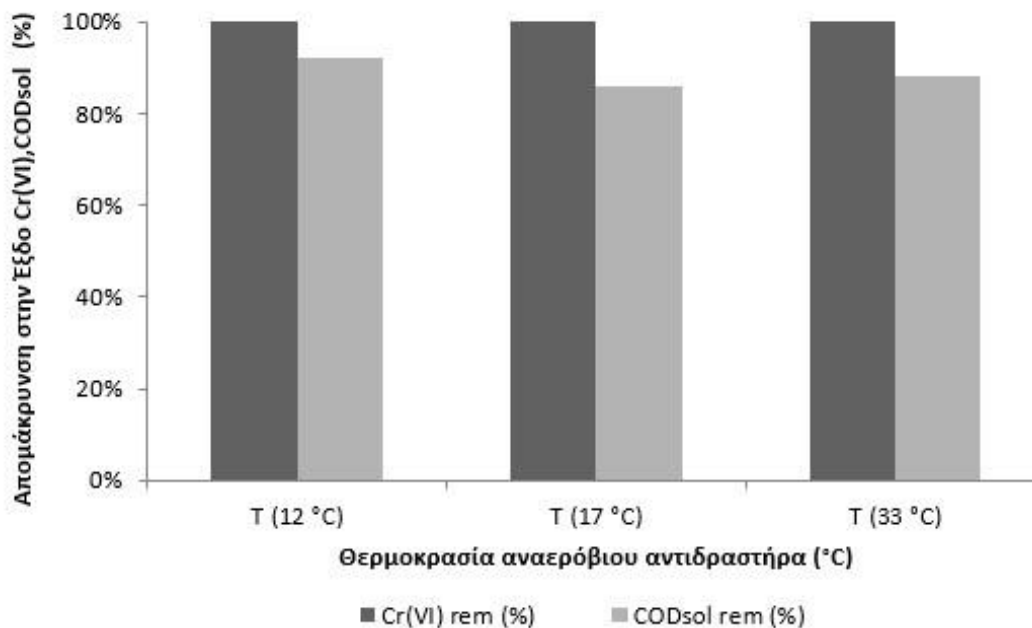
Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι με την άνοδο της θερμοκρασίας επέρχεται μείωση της συγκέντρωσης των ολικών αιωρούμενων στερεών. Συγκεκριμένα με την πτώση της θερμοκρασίας από τους 33°C και από τους 17°C στους 12°C, η αύξηση των στερεών φτάνει το 36% και 20%, αντίστοιχα. Το φαινόμενο μείωσης της συγκέντρωσης της βιομάζας με την αύξηση της θερμοκρασίας πιθανώς οφείλεται στην επίδραση που έχει η θερμοκρασία στο ρυθμό φθοράς της βιομάζας.

Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των αιωρούμενων στερεών εξόδου (TSS), παρατηρείται διακύμανση τιμών μεταξύ 20-100 mg/L, η οποία όμως παραμένει σχεδόν ίδια για τις 2 πρώτες φάσεις των συστημάτων (12°C, 17°C). Αντίθετα, κατά την τρίτη φάση λειτουργίας στους 33°C (αναερόβιος 3) παρατηρείται πτώση των στερεών εξόδου με μέση τιμή τα 36 mg/L, προφανώς εξαιτίας της πτώσης των στερεών στο ανάμικτο υγρό.

Περαιτέρω ανάλυση ως προς την αποδοτικότητα αναγωγής Cr(VI) και TCr περιέχεται στις παρακάτω υποενότητες.

4.5.2.1 Απόδοση Αναγωγής Cr(VI)

Εξαιρώντας τις πρώτες 30 ημέρες λειτουργίας που αντιστοιχούν στη φάση εγκλιματισμού της βιομάζας, διαπιστώθηκε ότι η έξοδος του συστήματος σε εξασθενές χρώμιο έχει συγκέντρωση μικρότερη από 5 μg/L, με την πλειονότητα των μετρήσεων να είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου (2,5 μg/L). Διαπιστώθηκε κατά συνέπεια ότι η θερμοκρασία, ακόμη και όταν βρίσκεται σε αρκετά χαμηλά επίπεδα, δεν εμποδίζει την αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου καθώς η απόδοση του συστήματος ως προς την απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου, αγγίζει το 100%, για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 μg/L. Στο Παράρτημα E2 παρατίθενται αναλυτικά διαγράμματα που αφορούν την απόδοση του αντιδραστήρα σε κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη ως προς την αναγωγή του Cr(VI) συγκριτικά με την κατανάλωση του οργανικού άνθρακα για όλη τη διάρκεια λειτουργίας του. Παρακάτω εμφανίζεται συνοπτικό διάγραμμα (Διάγραμμα 4.26) της πορείας του κάθε αντιδραστήρα ανάλογα με τη θερμοκρασία.



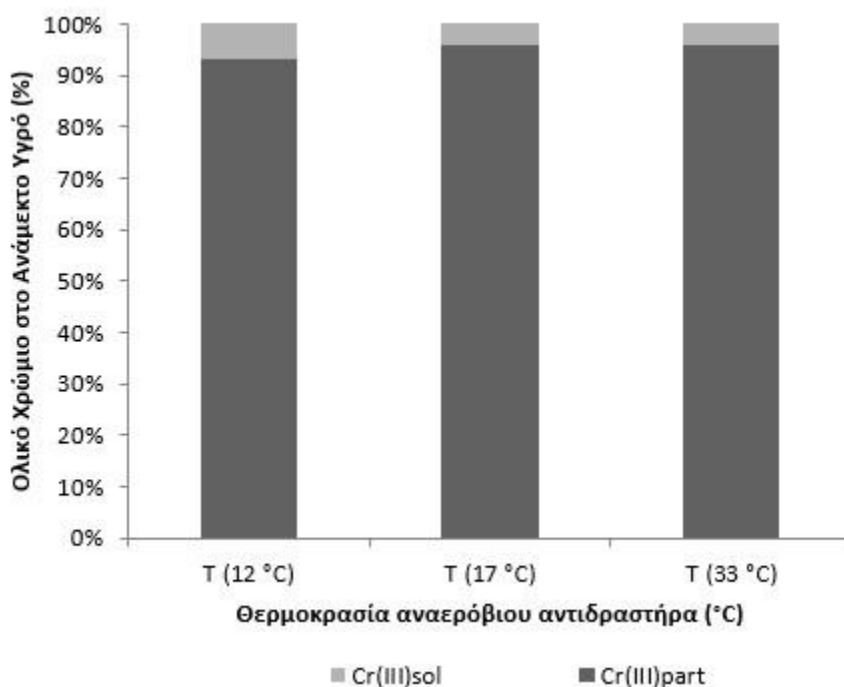
Διάγραμμα 4.26: Η (%) αναγωγή Cr(VI) και οξείδωση του οργανικού άνθρακα (COD)sol στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ'όλη τη διάρκεια λειτουργίας του, για κάθε θερμοκρασία που εξετάστηκε, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 µg/L

4.5.2.2 Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο

Οι αποδόσεις ως προς την απομάκρυνση του ολικού χρωμίου, που υπολογίστηκαν ως προς την έξοδο του συστήματος είναι χαμηλές (~40%) για τις 2 πρώτες φάσεις του συστήματος (12°C, 17°C) ενώ αντιθέτως για τους 33 °C η απόδοση αυξάνεται κατά πολύ και αγγίζει το 70%. Η τιμή ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό είναι αρκετά υψηλή (1300-2000 µg/L). Είναι αναμενόμενο η τιμή του να είναι μεγαλύτερη από την καθημερινή τιμή εισόδου εξασθενούς καθώς σε αυτήν συμπεριλαμβάνεται και η συσσώρευση χρωμίου στα κύτταρα των μικροοργανισμών, άρα είναι άμεσα εξαρτώμενη από το χρόνο παραμονής στερεών που σε αυτό το σύστημα είναι 10 μέρες. Επιπρόσθετα, οι συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις στις αλλαγές θερμοκρασίας λειτουργίας. Κατά την αλλαγή από τους 17°C στους 12°C, υπάρχει μείωση της τιμής του ολικού χρωμίου, το οποίο έρχεται σε αντίθεση με το αποτέλεσμα που αναμενόταν λόγω της αύξησης των στερεών στη φάση των 12°C. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται με την

ταυτόχρονη ελαφρά αύξηση του ποσοστού του διαλυτού Cr(III) στους 12 °C, όπως θα παρουσιαστεί παρακάτω. Με την άνοδο της θερμοκρασίας στους 33 °C παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό με μέσο όρο 1260 μg/L που συσχετίζεται με τη μείωση των αιωρούμενων στερεών στο σύστημα κατά το διάστημα αυτό. Συγκεντρωτικά παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 4.27 η ποσοστιαία κατανομή των μορφών ολικού χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για τις τρεις θερμοκρασίες εφαρμογής στο σύστημα.

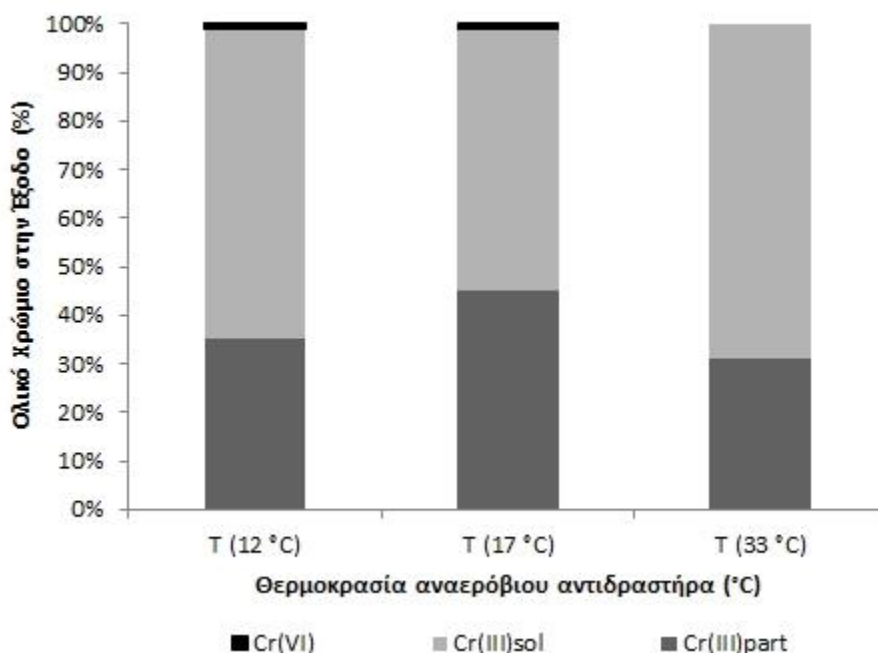
Παρατηρείται ότι και στις τρεις περιόδους λειτουργίας του συστήματος επικρατεί σχεδόν εξ ολοκλήρου στο ανάμικτο υγρό η σωματιδιακή μορφή του τρισθενούς χρωμίου (93%-96%) επιβεβαιώνοντας την αναγωγή του εξαθενούς χρωμίου σε τρισθενές το οποίο συσσωρεύεται στους μικροοργανισμούς. Τα αποτελέσματα έχουν σχεδόν πλήρη ταύτιση και για τις τρεις φάσεις με μόνη παρατήρηση ότι στη φάση λειτουργίας στους 12 °C παρ' όλο που τα αιωρούμενα στερεά έχουν αυξηθεί, το σωματιδιακό τρισθενές μειώνεται και αυξάνεται το διαλυτό τρισθενές. Το γεγονός αυτό εξηγείται με τη μείωση των φαινομένων της κατακρήμνισης και της προσρόφησης κατά την πτώση της θερμοκρασίας.



Διάγραμμα 4.27: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμικτο υγρό για κάθε σύστημα

Τα αποτελέσματα ολικού χρωμίου στην έξοδο του συστήματος δεν εμφανίζουν μεγάλες διαφορές για τις δύο πρώτες περιόδους λειτουργίας (17°C, 12°C). Η έξοδος χωρίς τη διήθηση ξεπερνά τα νομοθετικά όρια για το ολικό χρώμιο στην άρδευση (100 µg/L) και ανέρχεται στα 139 µg/L και 114 µg/L αντίστοιχα. Η διηθημένη έξοδος του ωστόσο είναι κάτω από το όριο, με μέσο όρο τα 83 και 81 µg/L για τους 17 °C και 12°C αντίστοιχα. Κατά τη λειτουργία στους 33 °C η συγκέντρωση ολικού χρωμίου στην έξοδο πληροί το όριο για την άρδευση.

Στην έξοδο του συστήματος το σωματιδιακό τρισθενές είναι αρκετά μειωμένο, καθώς η περιεκτικότητα της εξόδου σε μικροοργανισμούς είναι μικρή. Στους 17°C, εμφανίζεται πτώση του διαλυτού τρισθενούς συγκριτικά με την περίοδο των 12°C (αναερόβιος 1). Βάσει του παρακάτω διαγράμματος (Διάγραμμα 4.28) θα αναμενόταν η περαιτέρω μείωση αυτού του ποσοστού με την αύξηση της θερμοκρασίας στους 33 °C. Αυτό δεν συμβαίνει, αντιθέτως το ποσοστό διαλυτού Cr(III) αυξάνεται στο 69% από 64%, διότι σε αυτήν την περίοδο λειτουργίας μειώθηκαν τα στερεά στην έξοδο σημαντικά, μειώνοντας κατά αυτόν τον τρόπο και το ποσοστό σωματιδιακού τρισθενούς χρωμίου.

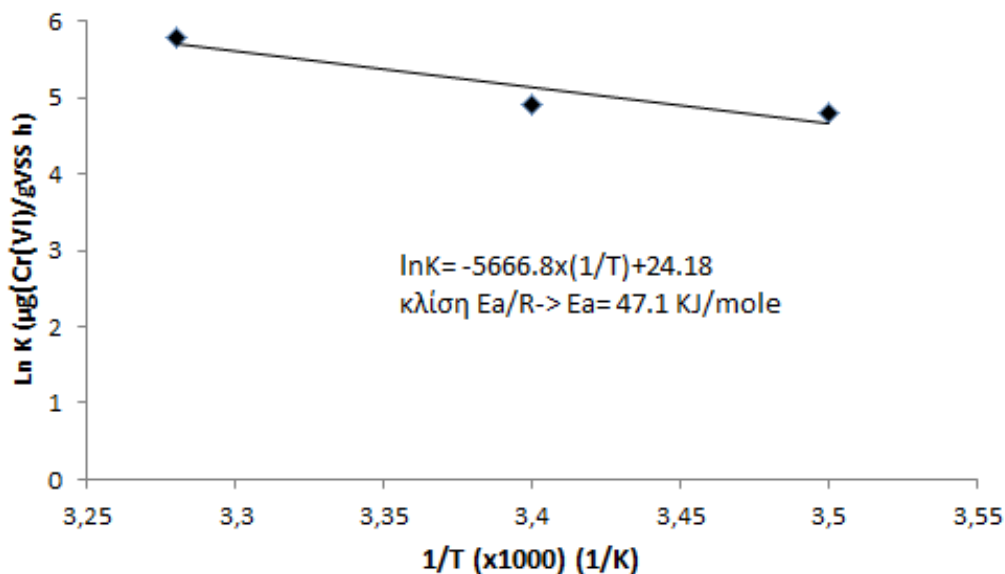


Διάγραμμα 4.28: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου έξοδο για κάθε σύστημα

4.5.2.3 Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων ασυνεχούς λειτουργίας που πραγματοποιήθηκαν με δότη ηλεκτρονίων το γάλα, ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης Cr(VI) κατά μέσο όρο ήταν 87 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, 100 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ και 290 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ σε 12 °C, 17°C και 33°C αντίστοιχα. Οι μέγιστες ειδικές ταχύτητες αναγωγής που μετρήθηκαν μέσω των ειδικών πειραμάτων (batch) βρέθηκε ότι αυξάνονται με τη θερμοκρασία σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius, ως εξής: $K = A * \exp[-\frac{Ea}{R*T}]$, όπου K είναι ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης του εξασθενούς χρωμίου ($\mu\text{g/gVSS/h}$), το A είναι ένας παράγοντας συχνότητας ($\mu\text{g/gVSS/h}$), Ea είναι η ενέργεια ενεργοποίησης της διαδικασίας (J/mol), το R είναι η σταθερά ιδανικού αερίου (8,314 J/mol/K) και T είναι η θερμοκρασία (K).

Στο Διάγραμμα 4.29 η γραμμή έχει προκύψει από τα αποτελέσματα των μετρήσεων του μέγιστου ρυθμού απομάκρυνσης Cr(VI) που ελήφθησαν από αυτή τη μελέτη. Από την κλίση της ευθείας γραμμής, η ενέργεια ενεργοποίησης υπολογίστηκε ίση με 47,1 KJ/mol. Η τιμή αυτή είναι παρόμοια με αναφερόμενες τιμές για τα συστήματα αναερόβιας επεξεργασίας (Grady et al., 1999) και κοντά στις τιμές που αναφέρθηκαν για τη μείωση του χρωμίου υπό αναερόβιες συνθήκες (Guo et al., 2012). Μετά από προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην εξίσωση Arrhenius προέκυψε η παρακάτω πιο εύχρηστη μορφή: $k = 125.5 * 1.027^{T-20}$, όπου T η θερμοκρασία σε βαθμούς Κελσίου και k ο μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης του εξασθενούς χρωμίου σε Cr(VI)/gVSS*hr.



Διάγραμμα 4.29: Σχέση Arrhenius για τη θερμοκρασία και το ρυθμό αναγωγής Cr(VI)

4.5.2.4 Συμπεράσματα Επίδρασης Θερμοκρασίας στην Αναγωγή Cr(VI)

Ολοκληρώνοντας την παρούσα ενότητα, εξήχθησαν σημαντικά συμπεράσματα όσον αφορά τη δυνατότητα απομάκρυνσης ολικού και εξασθενούς χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα με βιολογικά συστήματα SBR, σε διαφορετικά θερμοκρασιακά περιβάλλοντα (12°C, 17°C, 33 °C).

Πιο συγκεκριμένα σε αναερόβιες συνθήκες διαπιστώθηκε ότι μετά την επεξεργασία, το χρώμιο στο νερό βρίσκεται αποκλειστικά με τη μορφή Cr(III), σε κάθε θερμοκρασία που εξετάστηκε. Η απομάκρυνση του Cr(VI) γίνεται ταχύτατα, εντός 1-2 ωρών για αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 μg/L. Οι μέγιστες ειδικές ταχύτητες αναγωγής που μετρήθηκαν μέσω των ειδικών πειραμάτων (batch) βρέθηκε ότι αυξάνονται με τη θερμοκρασία σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius. Μετά από προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην εξίσωση Arrhenius προέκυψε η παρακάτω σχέση: $k = 5 * 10^7 * 6^{0,0656 T}$, όπου T σε Kelvin και k σε Cr(VI)/gVSS*hr μετασχηματίζοντας την σε μια πιο εύχρηστη μορφή: $k = 125,5 * 1,027^{T-20}$, όπου T σε Κελσίου και k σε Cr(VI)/gVSS*hr.

Το ολικό χρώμιο στην έξοδο διαπιστώθηκε ότι υπάρχει μόνο στην μορφή του τρισθενούς καθώς ελέγχθηκε και αποκλείστηκε το ενδεχόμενο προσρόφησης του Cr(VI) στη βιομάζα μέσω της διαδικασίας της κλασματοποίησης (1,7 ng Cr(VI)/mg TSS). Συνεπώς, η απομάκρυνση του εξασθενούς γίνεται μέσω αναγωγής του και όχι προσρόφησης του από τους μικροοργανισμούς. Παρουσιάστηκε εμφανής διαφοροποίηση στη λειτουργία των συστημάτων στις υψηλότερες θερμοκρασίες με τις τιμές εξόδου του ολικού χρωμίου να είναι κάτω του ορίου των 100 μg/L για την άρδευση και τις αποδόσεις απομάκρυνσης ολικού χρωμίου περίπου στο 60%. Στις θερμοκρασίες 12 °C και 17 °C οι αποδόσεις ως προς την απομάκρυνση ολικού χρωμίου είναι χαμηλότερες της τάξης του 30-40%.

Το ολικό χρώμιο στην έξοδο, μετά από τη διαδικασία της διήθησης, μετρήθηκε για να ελεγχθεί το ποσοστό σωματιδιακού χρωμίου. Με αυτόν τον τρόπο θα μπορούσε να διαπιστωθεί αν η χρήση ενός διυλιστηρίου θα βελτιώνει αποτελεσματικά την απόδοση του συστήματος κατακρατώντας το σωματιδιακό τρισθενές. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν αυτήν την πρόβλεψη με τις αποδόσεις απομάκρυνσης ολικού χρωμίου μετά από τη διήθηση να κυμαίνονται από 60-80%, κρίνοντας απαραίτητη τη χρήση του διυλιστηρίου κατά την εφαρμογή του συστήματος στις χαμηλότερες θερμοκρασίες (12°C, 17°C). Συνολικά, το διαλυτό χρώμιο στην έξοδο βρέθηκε ότι εξαρτάται σημαντικά από τη θερμοκρασία λειτουργίας του συστήματος. Αύξηση της θερμοκρασίας περιβάλλοντος οδήγησε στη μείωση της συγκέντρωσης του στην έξοδο.

Ένα ακόμα εξεταζόμενο μέγεθος ήταν η συγκέντρωση του χρωμίου στην ενεργό ιλύ του συστήματος. Τα αποτελέσματα έδωσαν τιμές ίσες με 3000 mgCr/kg MLSS, υπερβαίνοντας κατά πολύ το όριο αγροτικής διάθεσης της λάσπης που είναι 500 mg Cr/kg MLSS. Μικρή διαφοροποίηση με αυτές τις τιμές υπήρξε κατά τη λειτουργία του αναερόβιου αντιδραστήρα στους 12°C. Στη θερμοκρασία αυτή, η συγκέντρωση χρωμίου στη λάσπη ήταν μειωμένη στα 1742 mg/kg MLSS, απόρροια του χαμηλότερου ποσοστού προσρόφησης του τρισθενούς χρωμίου στη βιομάζα που παρατηρήθηκε σε αυτή τη θερμοκρασία.

4.6 Βελτιστοποίηση της Απόδοσης Βιοαντιδραστήρων ως προς την Αύξηση της Απομάκρυνσης Εξασθενούς και Ολικού Χρωμίου

4.6.1 Εισαγωγή

Για τη βελτιστοποίηση της απόδοσης των SBR αντιδραστήρων, εξετάστηκε η δυνατότητα αύξησης του ποσοστού απομάκρυνσης ολικού χρωμίου από το νερό και η δυνατότητα αύξησης της δυναμικότητας επεξεργασίας του συστήματος. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε το ενδεχόμενο: α. τοποθέτησης αμμοδιυλιστηρίου κατάντι της εκροής αναερόβιου SBR αντιδραστήρα για την απομάκρυνση του παραγόμενου σωματιδιακού Cr(III) μέσω κατακράτησης των στερεών εξόδου που το περιέχουν και β. μειώθηκε η διάρκεια του κύκλου λειτουργίας των αντιδραστήρων (24 h) ώστε να δοκιμαστεί η δυνατότητα αύξησης της δυναμικότητας επεξεργασίας του συστήματος, δηλαδή να μελετηθεί η επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής στην αναγωγή Cr(VI). Συνεπώς, αποφασίστηκε οι βιοαντιδραστήρες να επεξεργάζονται ανά ημέρα στον ίδιο όγκο επεξεργασίας διπλάσιες ή τριπλάσιες παροχές ρυπασμένου με εξασθενές χρώμιο νερού, με τη βοήθεια αυτόματου συστήματος αντλιών που τροφοδοτούνταν 2 ή 3 φορές την ημέρα.

4.6.2 Βιοαντιδραστήρες με πολλαπλούς κύκλους λειτουργίας- Λειτουργικές Παράμετροι

Οι καλλιέργειες μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες της σειράς πειραμάτων με πολλαπλούς κύκλους λειτουργίας, ανήκαν στους αντιδραστήρες με έναν κύκλο λειτουργίας που κατά καιρούς χρησιμοποιήθηκαν και εξετάστηκαν για την αξιολόγηση διαφόρων παραμέτρων.

Στο πλαίσιο των πειραμάτων αυτών εξετάστηκαν υδραυλικές φορτίσεις και φορτίσεις εξασθενούς χρωμίου που κυμαίνονταν μεταξύ 0,57–1,8 m³/m³-d και 0,11–0,36

gCr(VI)/m³-d, αντίστοιχα. Πιο αναλυτικά, παρατίθενται στον Πίνακα 4.18 τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των εν λόγω βιοαντιδραστήρων, οι διαφορές και οι ομοιότητες τους.

Πίνακας 4.18: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ζ1)

	Αναερόβιο	Αναερόβιο	Ανοξ-αναερόβιο	Αναερόβιο
Τροφοδοσία	Διπλή	Τριπλή	Τριπλή	Τριπλή
Παροχή (L/d)	2*2,5	3*2,5	3*2,5	3*2,5
Cr(VI)_{in (0)} (mg/L)	0,2	0,2	0,2	0,2
COD_{in(tot)} (mg/L)	200	200	200	200
Είδος υποστ.	Γάλα	Γάλα/Ζάχαρη	Γάλα/Ζάχαρη	Γάλα/Ζάχαρη
θ_c (d)	10	10	10	20
NO₃-N_{in} (mg/L)	-	-	10	-
T (°C)	30±3	22±3	21±3	22±4
Redox (mV)	-157±28	-181±11	-199±12	-157±28
pH	7,3±0,3	6,9±0,2	7±0,2	6,9±0,2
DO (mg/L)	0,05±0,03	0,05±0,02	0,04±0,03	0,06±0,03
HRT (d)	0,9	0,7	0,7	0,7
θ_c (d)	6,5	10	10	20
Εγκλιματ.λειτ. (d)	30	75	65	40

4.6.2.1 Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς τη Χρήση Πολλαπλών Κύκλων Λειτουργίας

Όλοι οι βιοαντιδραστήρες που χρησιμοποιήθηκαν στις προηγούμενες σειρές πειραμάτων είχαν υδραυλικό χρόνο παραμονής HTR ίσο με 1,7 ημέρες. Τα αποτελέσματα αυτών ήταν απολύτως ικανοποιητικά, όπως φαίνεται χαρακτηριστικά στον Πίνακα 4.7 της διατριβής, όπου ανοξικός-αναερόβιος αντιδραστήρας με HRT ίσο με 1,7 ημέρες, μπορεί να ανάγει το Cr(VI) με ποσοστό επιτυχίας πάνω από 99% και ταχύτητα αναγωγής 270 μg Cr(VI)/h/g VSS.

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα σχετικά με τους βιοαντιδραστήρες πολλαπλών κύκλων τροφοδοσίας, οι οποίοι μελετήθηκαν με σκοπό να βρεθεί αν μπορούν να εφαρμοστούν χαμηλότεροι υδραυλικοί χρόνοι παραμονής HRT σε πλήρους κλίμακας συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης.

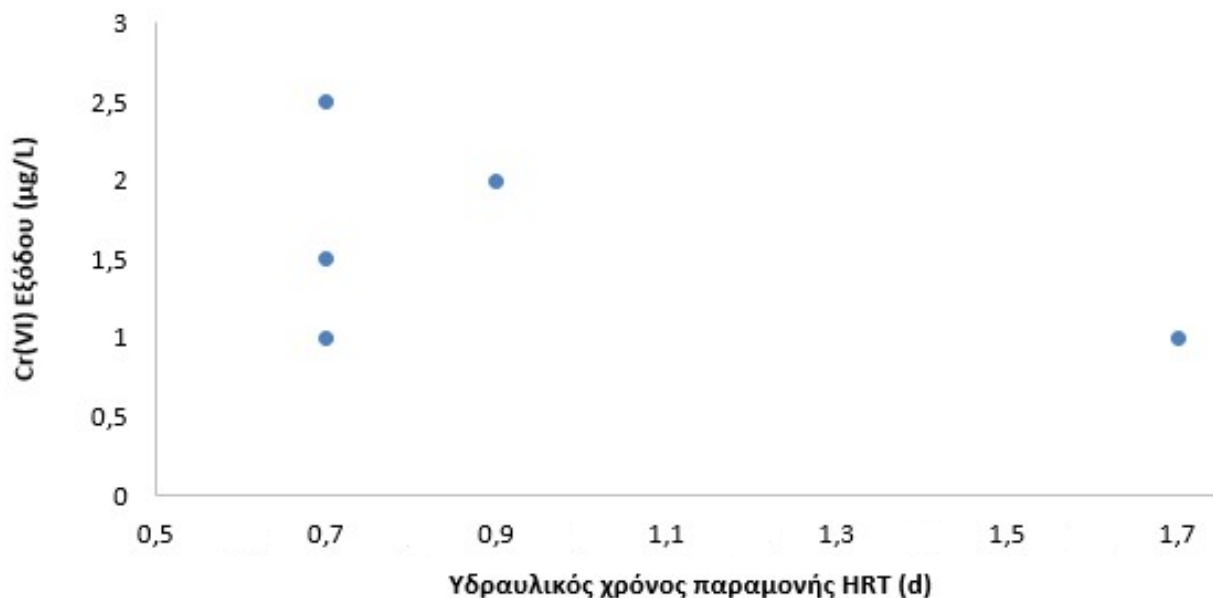
Πίνακας 4.19: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Ζ2)

	Αναερόβιο	Αναερόβιο	Ανοξ-αναερόβιο	Αναερόβιο
HRT (d)	0,9	0,7	0,7	0,7
MLSS (mg/L)	390±29	957±20	736±24	1016±39
MLVSS/MLSS (%)	86,0	98,0	90,0	86,0
COD_{soleff} (mg/L)	12±5	70±15	36±5	38±5
TSS_{eff} (mg/L)	25±3	40±10	27±5	46±9
COD_{solrem} (%)	87,5	66,5	82,5	81,0
Cr(VI)_{eff} (μg/L)	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
Cr(VI)_{rem} (%)	>99,0	>99,0	>99,0	>99,0
Cr_{(total)eff} (μg/L)	84±10	104±6	62±5	92±5
Cr_{(total)rem} (%)	58,0	48,0	69,0	53,0
TCr_{(sol)eff} (μg/L)	34±5	60±5	23±6	27±3
Cr(III) part/MLSS (mgCr/gSS)	1,2±0,04	3,7±0,1	3,4±0,03	3,3±0,05
Μέγιστος Ρυθμός Απομάκρυνσης Cr(VI) (μg Cr(VI)/h/g VSS)**	150 ±5	199±15	221±23	243±4

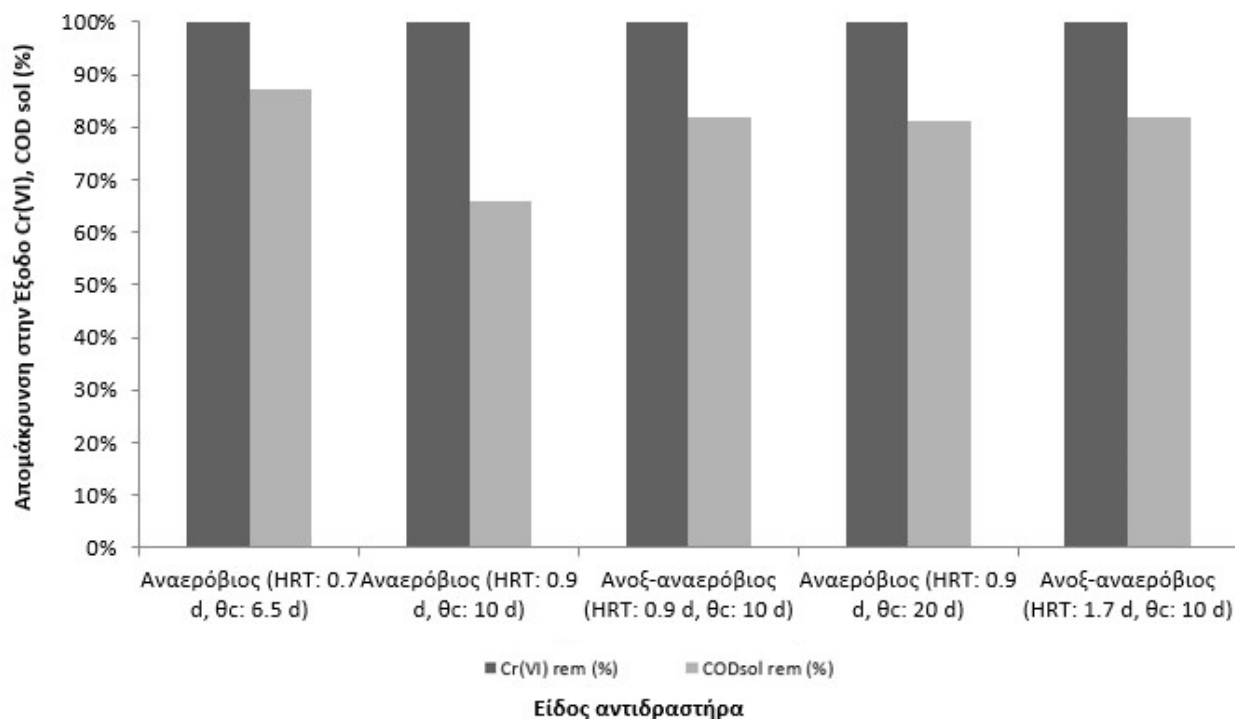
* LOQ = 2.5 μg/L **Υπολογισμένα κατά τη διάρκεια πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch)

Με βάση τα αποτελέσματα που δίνονται συνοπτικά στα Διαγράμματα 4.26 και 4.27, η απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου διατηρήθηκε σε πολύ υψηλά επίπεδα μεγαλύτερα από 99% για όλες τις υδραυλικές φορτίσεις και τις φορτίσεις εξασθενούς χρωμίου που εξετάστηκαν. Σημειώνεται ότι οι υψηλές αυτές αποδόσεις παρατηρήθηκαν σε συστήματα που λειτουργούσαν κάτω από αναερόβιες ή ανοξικές-αναερόβιες συνθήκες.

Σύμφωνα με τα δεδομένα του παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.19), συμπεραίνεται ότι όλα τα αυτόματα συστήματα, δηλαδή τα συστήματα διπλής και τριπλής τροφοδοσίας, εμφανίζουν υψηλότατα ποσοστά απομάκρυνσης Cr(VI) και TCr ενώ ταυτόχρονα επεξεργάζονται πολλαπλάσιους όγκους ρυπασμένου νερού, συγκριτικά με τους ήδη μελετηθέντες βιοαντιδραστήρες (Διάγραμμα 4.30, 4.31). Οι διαφορετικοί λειτουργικοί παράγοντες που εξετάστηκαν όσον αφορά τη θερμοκρασία, το δότη/αποδέκτη ηλεκτρονίων και τον υδραυλικό χρόνο παραμονής, δε φαίνεται ότι επηρέασαν την απόδοση αναγωγής Cr(VI) των βιοαντιδραστήρων, η οποία ξεπέρασε το 99%.



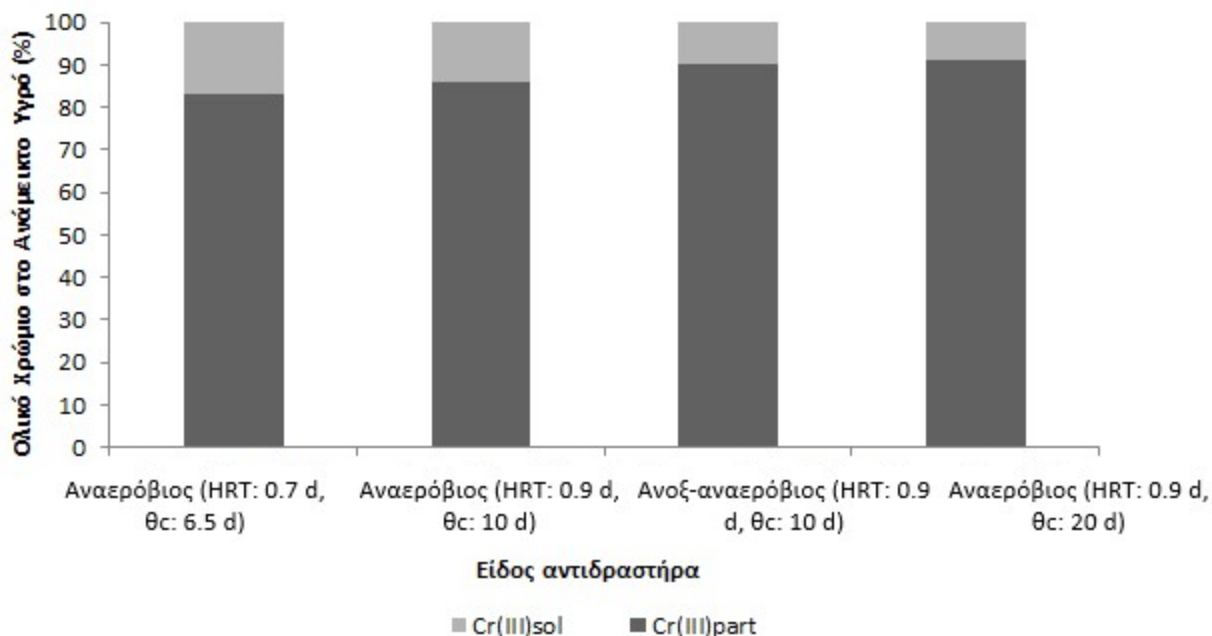
Διάγραμμα 4.30: Απόδοση συστημάτων επεξεργασίας για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου συναρτήσει των υδραυλικών φορτίσεων (όλα τα συστήματα τροφοδοτούνταν με υπόγειο νερό συγκέντρωσης Cr(VI): 200 μg/L)



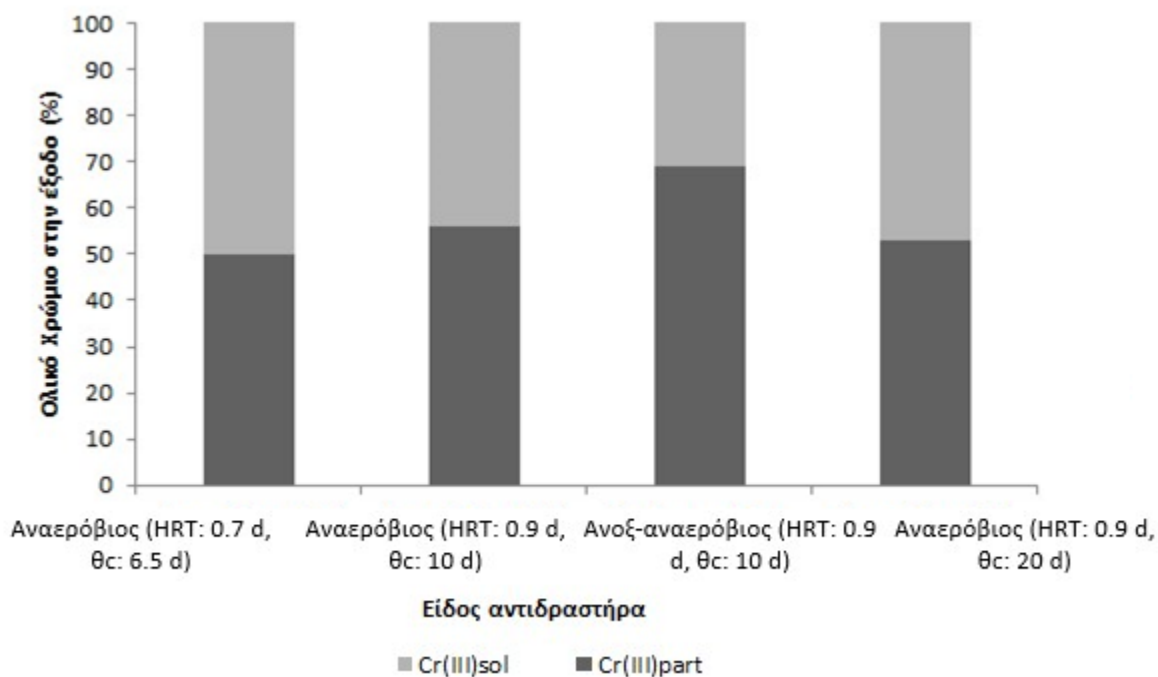
Διάγραμμα 4.31: Το ποσοστό (%) αναγωγής Cr(VI) και οξείδωσης του οργανικού άνθρακα (COD)sol στην έξοδο του κάθε συστήματος καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200μg/L

4.6.2.2 Μορφές Ολικού Χρωμίου στο Ανάμικτο Υγρό και στην Έξοδο

Στην εκροή των υπό εξέταση αντιδραστήρων, οι τιμές ολικού χρωμίου δεν υπερβαίνουν τα όρια των 100 μg/L που έχουν θεσπιστεί για ολικό χρώμιο εξόδου εκτός από τον αναερόβιο Β, γεγονός εξαιρετικά σημαντικό για τη δυνατότητα χρήσης των εν λόγω συστημάτων. Παρατηρείται επιπλέον ότι στην πλειονότητα των μετρήσεων, και στις δύο φάσεις υπερिशύει το σωματιδιακό τρισθενές όπως ήταν αναμενόμενο λόγω της βιοχημικής αναγωγής του Cr(VI) σε Cr(III) και τη μετέπειτα προσρόφηση του στη βιομάζα (Διάγραμμα 4.32, 4.33). Τέλος, μοναδικός βιοαντιδραστήρας με όχι πολύ υψηλά επίπεδα επιβαρυσμένης λάσπης είναι ο αναερόβιος με HRT ίσο με 0,9 ημέρες, αλλά αυτό οφείλεται στη χαμηλότερη φόρτιση εξασθενούς χρωμίου που δεχόταν. Σε κάθε περίπτωση η περιεκτικότητα της παραγόμενης ιλύος σε όλα τα συστήματα υπερέβαινε τα όρια αγροτικής διάθεσης (500 mgTCr/kg MLSS).



Διάγραμμα 4.32: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στο ανάμεικτο υγρό για κάθε σύστημα

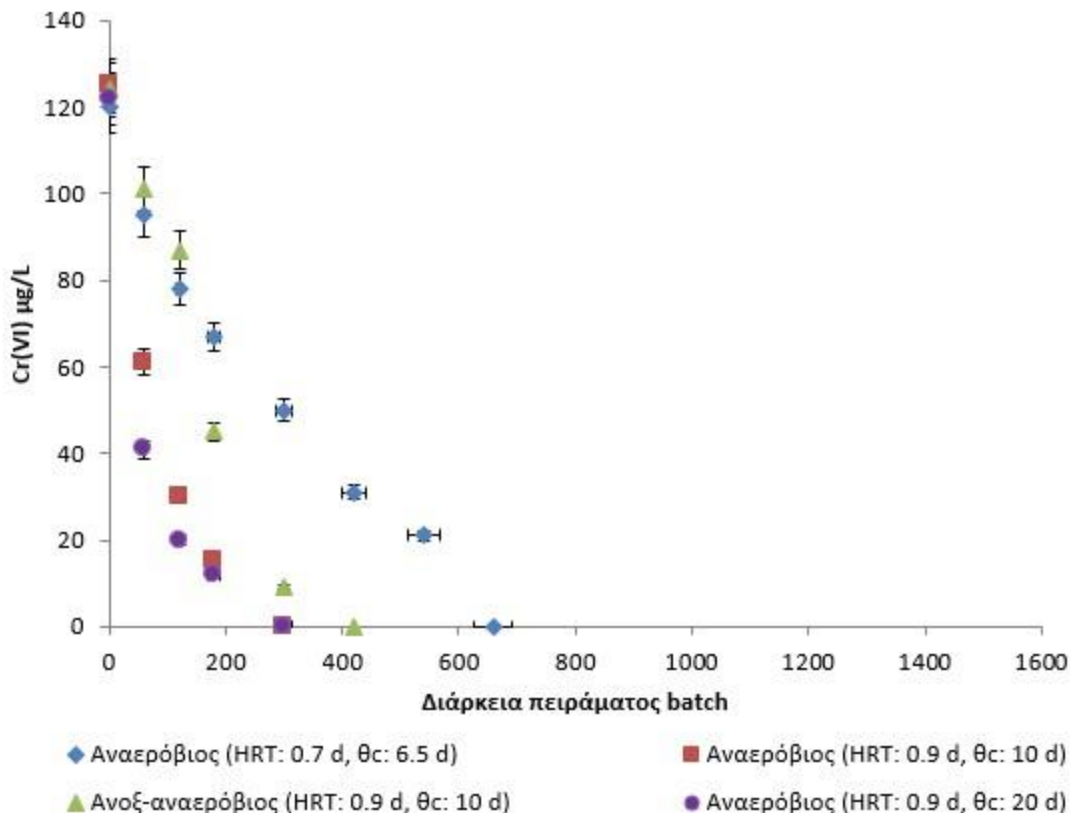


Διάγραμμα 4.33: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου έξοδο για κάθε σύστημα

4.6.2.3 Ρυθμός Αναγωγής Cr(VI)

Η κύρια διαφορά των συστημάτων παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας σε σχέση με τη μέτρηση του ρυθμού αναγωγής Cr(VI). Τα αποτελέσματα επαλήθευσαν το ήδη αναφερθέν συμπέρασμα, δηλαδή πως η χρήση της ζάχαρης ως υπόστρωμα επιτυγχάνει την ταχύτερη αποδόμηση του Cr(VI) ως το πιο εύκολα βιοδιασπώμενο είδος COD (Philip et al., 1998; Mamais et al., 2016; Panousi et al., 2017). Πιο συγκεκριμένα, ο αναερόβιος αντιδραστήρας με διπλή τροφοδοσία (HRT: 0,9 d) και έχοντας ως δότη ηλεκτρονίων το γάλα, επέδειξε ρυθμό αναγωγής της τάξης των 150 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$. Ωστόσο, συστήματα που λειτούργησαν έχοντας ως οργανικό υπόστρωμα το συνδυασμό ζάχαρης-γάλακτος (90/10) εμφάνισαν μεγαλύτερο ρυθμό απομάκρυνσης Cr(VI). Ο αναερόβιος και ο ανοξικός αναερόβιος αντιδραστήρας με τριπλή τροφοδοσία (HRT: 0,7 ημέρες) και χρόνο παραμονής στερεών 10 ημέρες έφτασαν τα 199 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ και 221 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$ αντίστοιχα. Τέλος το αναερόβιο σύστημα με τριπλή τροφοδοσία (HRT: 0,7 ημέρες) και χρόνο παραμονής στερεών (θ_c) 20 ημέρες έφτασε σε απόδοση τα 243 $\mu\text{g Cr(VI)/gVSS/h}$, γεγονός που οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση των ολικών αιωρούμενων στερεών στον αντιδραστήρα (1016 mg/L), απόρροια του αυξημένου θ_c .

Πρακτικά το Διάγραμμα 4.34 αποδεικνύει και γραφικά ότι σε λιγότερο από 4 ώρες το Cr(VI) έχει μετατραπεί στη μη τοξική μορφή του Cr(III), στους δύο από τους τέσσερις αντιδραστήρες που εξετάστηκαν, παρόλο που στην ίδια χρονική διάρκεια επεξεργάστηκαν τριπλάσια παροχή από τη συνήθη. Οι υπόλοιποι αντιδραστήρες ανταποκρίθηκαν 100% επιτυχώς, ωστόσο λόγω χαμηλότερης συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών στο ανάμικτο υγρό και εξαιτίας του μη ευκολοδιασπάσιμου υποστρώματος, ανήγαγαν τον τοξικό ρύπο σε παραπάνω από 4 ώρες όπως φαίνεται παρακάτω. Στο Διάγραμμα 4.29 περιέχονται και άξονες σφάλματος (error bars), αλλά στην πλειονότητα των σημείων δεν φαίνονται γιατί είναι μικρό το εύρος.



Διάγραμμα 4.34: Ρυθμός αναγωγής Cr(VI) για κάθε αντιδραστήρα με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200µg/L

4.6.2.4 Συμπεράσματα Χρήσης Πολλαπλών Κύκλων Τροφοδοσίας στην Αναγωγή Cr(VI)

Με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής, συμπεραίνεται ότι τα αναερόβια και ανοξικά-αναερόβια συστήματα πολλαπλής τροφοδοσίας βιομετατρέπουν επιτυχώς την εισερχόμενη συγκέντρωση Cr(VI) στο σαφώς πιο ακίνδυνο Cr(III) δίνοντας υψηλά ποσοστά αποδόσεων, επεξεργαζόμενα πολλαπλάσιο όγκο ρυπασμένου νερού. Επιπλέον δεν αποτελούν δαπανηρή λύση, αφού τροφοδοτούνται με ζάχαρη ή/και γάλα και δε διαθέτουν αερισμό, κατά συνέπεια συνιστώνται για εφαρμογή σε πλήρους κλίμακας συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης του εξασθενούς χρωμίου.

Πιο συγκεκριμένα, ο αναερόβιος αντιδραστήρας με διπλή τροφοδοσία (HRT: 0,9 d) και έχοντας ως δότη ηλεκτρονίων το γάλα, επέδειξε ρυθμό αναγωγής της τάξης των 150 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$. Ωστόσο, συστήματα που λειτούργησαν έχοντας ως οργανικό υπόστρωμα το συνδυασμό ζάχαρης-γάλακτος (90/10) εμφάνισαν μεγαλύτερο ρυθμό απομάκρυνσης Cr(VI). Ο αναερόβιος και ο ανοξικός αναερόβιος αντιδραστήρας με τριπλή τροφοδοσία (HRT: 0,7 ημέρες) και χρόνο παραμονής στερεών 10 ημέρες έφτασαν τα 199 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$ και 221 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$ αντίστοιχα. Τέλος το αναερόβιο σύστημα με τριπλή τροφοδοσία (HRT: 0,7 ημέρες) και χρόνο παραμονής στερεών (θc) 20 ημέρες έφτασε σε απόδοση τα 243 $\mu\text{g Cr(VI)}/\text{gVSS}/\text{h}$. Σημειώνεται ότι όλα τα συστήματα που εξετάστηκαν παρουσιάζουν υψηλούς βαθμούς απομάκρυνσης του εξασθενούς χρωμίου που δεν συνοδεύονται όμως και από αντίστοιχους υψηλούς ρυθμούς απομάκρυνσης του τρισθενούς χρωμίου.

Βάσει όλων των παραπάνω, κρίνεται απαραίτητη η μελέτη προσθήκης διυλιστηρίου για την κατακράτηση του σωματιδιακού Cr(III) στην έξοδο, άρα και τη βελτίωση της απόδοσης των συστημάτων ως προς την απομάκρυνση ολικού χρωμίου.

4.6.3 Χρήση Αμμοδιυλιστηρίου Κατάντι της Εκροής Βιοαντιδραστήρα

Οι διεργασίες που αξιοποιούνται από τους SBR για την απομάκρυνση του Cr(VI) από το νερό είναι το αναφερθέν σε προηγούμενα κεφάλαια, τρίπτυχο: βιοχημική αναγωγή-προσρόφηση-κατακρήμνιση. Ενώ το Cr(VI) ανάγεται πλήρως, η έξοδος των αντιδραστήρων παρατηρείται ότι μπορεί να είναι βεβαρυμμένη με συγκεντρώσεις ολικού χρωμίου TCr (κατά 99% Cr(III)) της τάξης των 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ και άνω. Η μορφή του του Cr(III) που διαφεύγει στην έξοδο είναι κυρίως μέσω των διαλυτών, κολλοειδών και σωματιδιακών στερεών. Διάφορες ερευνητικές ομάδες ανέφεραν ότι σημαντικές ποσότητες Cr(III) τείνουν να παραμείνουν σε διάλυμα σχηματίζοντας διαλυτά σύμπλοκα οργανικών-Cr(III) (Remoundaki et al., 2007; Turick et al., 1996; Xu et al., 2011). Καθώς η

οργανική ύλη είναι άφθονη στο ανάμικτο υγρό σε σύγκριση με τη συγκέντρωση Cr(III), λόγω της προσθήκης οργανικών υποστρωμάτων, αυτό είναι ένα πρόβλημα που πρέπει να αντιμετωπιστεί κατά τη βιολογική επεξεργασία του νερού για την απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου. Η διαλυτή ποσότητα Cr(III) δύναται να μειωθεί μέσω αύξησης της προσρόφησης, δηλαδή αύξησης της βιομάζας ενώ το σωματιδιακό Cr(III) είτε μέσω της αύξησης του χρόνου καθίζησης, είτε μέσω διύλισης της εξόδου (Mamais et al., 2016).

Στον παρόν υποκεφάλαιο μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα μιας μονάδας διήθησης με άμμο πυριτίου μεγέθους 0,3-1,0 mm (εφεξής SF-Sand Filter) για την περαιτέρω μείωση του ολικού χρωμίου, στην έξοδο αναερόβιου SBR, σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες. Πριν από τη χρήση της, η άμμος υπόκειντο σε πλύση με αποσταγμένο νερό και ξήρανση στους 105 °C. Η περισταλτική αντλία που χρησιμοποιήθηκε παρείχε υδραυλική φόρτιση 6 m³/m²/h. Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των εν λόγω SBR δίνονται στον Πίνακα 4.20.

Πίνακας 4.20: Λειτουργικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Η1)

	1	2	3
Cr(VI)_{in (0)} (mg/L)	0,2	0,2	0,2
COD_{in(tot)} (mg/L)	200	200	200
Είδος υποστ.	Ζάχαρη/Γάλα	Ζάχαρη/Γάλα	Ζάχαρη/Γάλα
T (°C)	17±0,4	25±0,5	33±0,8
Redox (mV)	-130±34	-148±31	-121±20
pH	7,1±0,5	7,3±0,4	7±0,3
DO (mg/L)	0,04±0,02	0,04±0,02	0,06±0,04
HRT (d)	1,7	1,7	1,7
θ_c (d)	10	10	10
Εγκλιμ. λειτ. (d)	35	25	23

4.6.3.1 Αποτελέσματα Σύγκρισης ως προς τη Χρήση Αμμοδιωλιστηρίου

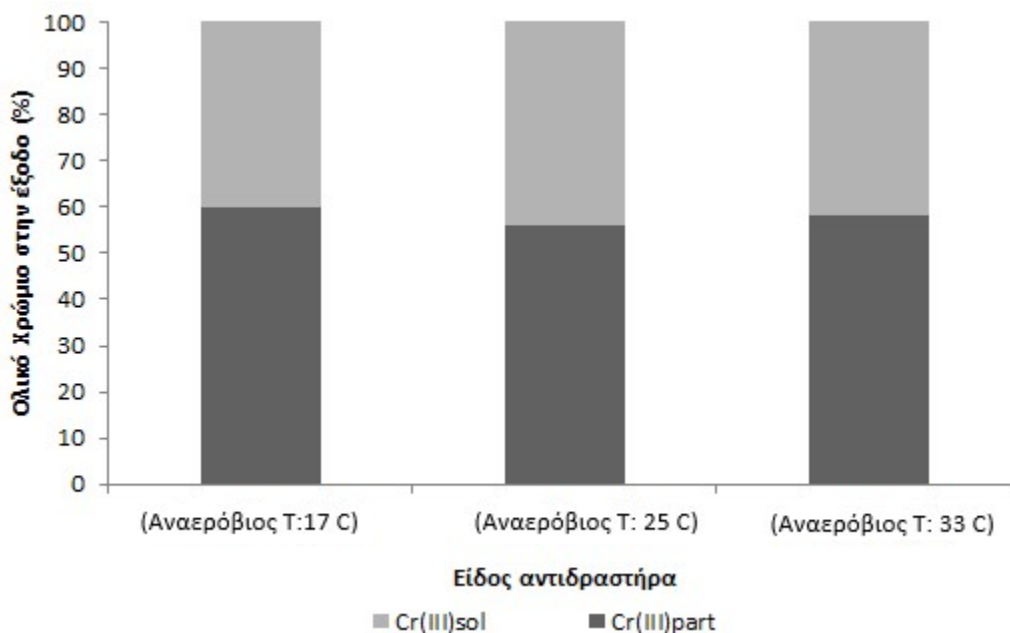
Παρά την υψηλή απόδοση απομάκρυνσης Cr(VI) που πραγματοποιείται σε όλα τα αναερόβια συστήματα SBR (>99%), η απομάκρυνση του ολικού χρωμίου κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα, από 31% έως 83% (Πίνακας 4.21).

Πίνακας 4.21: Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αναερόβιων συστημάτων κατά τη λειτουργία τους πριν και μετά το αμμοδιωλιστήριο (αναλυτικά αποτελέσματα δίνονται στο Παράρτημα Η2)

	1	2	3
T (°C)	17±0,4	25±0,5	33±0,8
MLSS (mg/L)	713±38	529±61	447±65
MLVSS/MLSS (%)	93,1	90,5	92,0
COD_{soleff} (mg/L)	10±4	26±16	25±19
COD_{solrem} (%)	95,0	87,0	87,7
COD_{soleff} (mg/L) κατόπιν διωλιστηρίου	5±2	23±5	17±4
TSS_{eff} (mg/L)	62±21	18±6	29±10
TSS_{eff} (mg/L) κατόπιν διωλιστηρίου	16±5	9±4	14±4
Cr(VI)_{eff} (μg/L)	<LOQ*	<LOQ*	<LOQ*
Cr(VI)_{rem} (%)	>99,0	>99,0	>99,0
TCr_{eff} (μg/L)	137±10	64±10	33±3
TCr_{rem} (%)	31,5	68,0	83,0
TCr_{eff} (μg/L) κατόπιν διωλιστηρίου	19,5±1	11±1,5	7,5±2
TCr_{(sol)eff} (μg/L)	38±10	45±8	6,8±1,3
TCr_{(sol)eff} (μg/L) κατόπιν διωλιστηρίου	9±2,8	7,5±1	3±0,9
Cr(III) part/MLSS (mgCr/gSS)	2,1±0,3	2,1±0,1	3,3±0,4

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.21, η συγκέντρωση του ολικού και του διαλυτού χρωμίου στην εκροή από τους βιοαντιδραστήρες πριν εισέλθει στο αμμόφιλτρο κυμαινόταν από 33 $\mu\text{g/L}$ έως 137 $\mu\text{g/L}$ και από 6,8 $\mu\text{g/L}$ έως 45 $\mu\text{g/L}$ αντίστοιχα, με επικρατούσα τη μορφή Cr(III) (Διάγραμμα 4.35).

Οι έντονες μεταβολές της εξόδου του SBR ωστόσο, σε κάθε θερμοκρασία, δεν επηρεάζουν ανάλογα την έξοδο του αμμοδιυλιστηρίου, το οποίο φαίνεται να διατηρεί σχετικά σταθερή ποιότητα εξόδου, ακόμα και για τις υψηλές τιμές χρωμίου εισόδου. Παρατηρείται ότι η προσθήκη του αμμοδιυλιστηρίου επέφερε μείωση και στις τιμές του διαλυτού Cr(III), πέραν του αναμενόμενου σωματιδιακού. Ωστόσο σημειώνεται ότι ως διαλυτό Cr(III) έχει οριστεί η ποσότητα Cr(III) που διέρχεται από μεμβράνη διαμέτρου οπών 0,45 μm , η οποία χρησιμοποιήθηκε συστηματικά στις μετρήσεις και κατά συνέπεια περιλαμβάνονται και κολλοειδείς μορφές Cr(III).

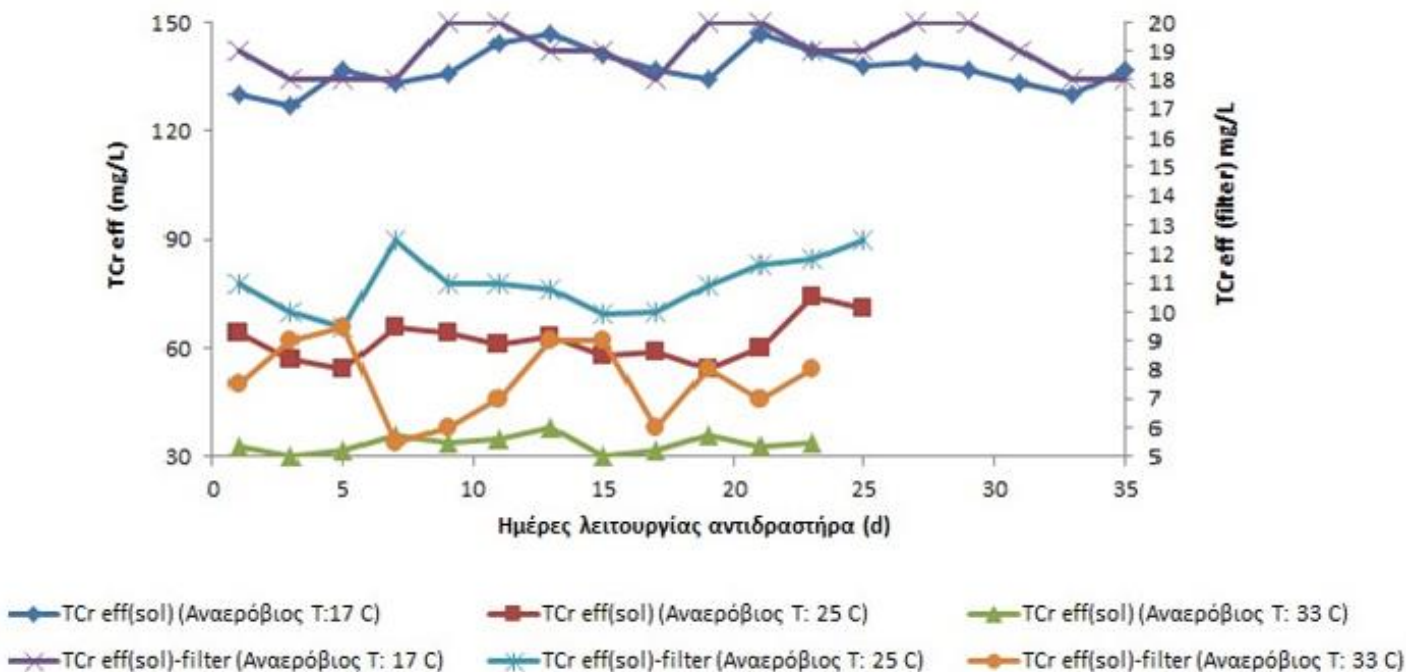


Διάγραμμα 4.35: Ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου στην έξοδο του κάθε συστήματος με διαφορετική θερμοκρασία, πριν την είσοδο στο αμμόφιλτρο

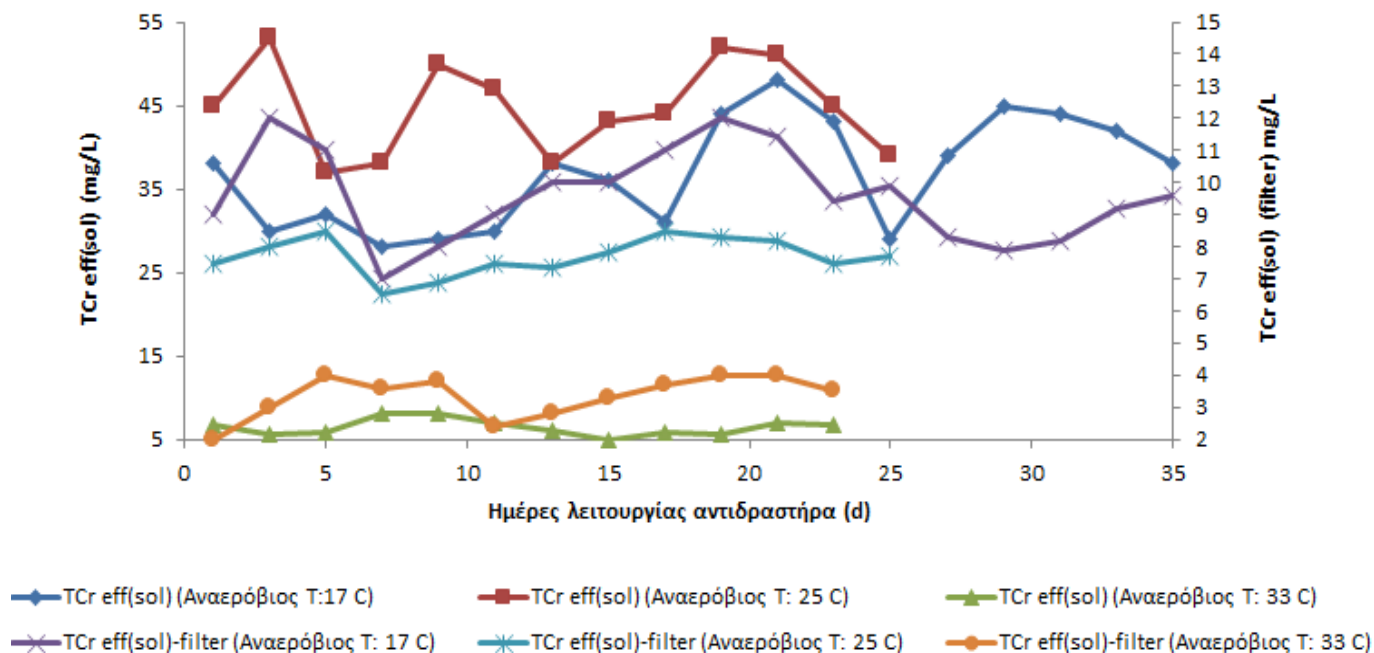
Για να διερευνηθεί περαιτέρω η φύση του διηθήματος Cr(III) στην έξοδο, διεξήχθη κλασματοποίηση του διαλυτού χρωμίου της εξόδου των βιοαντιδραστήρων με διήθηση δειγμάτων μέσω μεμβρανών πολυαιθεροσουλφόνης που έχουν οπές μοριακού βάρους 30 kDa και 1 kDa. Σύμφωνα με τις δοκιμές κλασματοποίησης, περίπου $36\pm 4,5\%$ του διαλυτού Cr(III) ήταν σε κολλοειδή μορφή με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 30 kDa και μέγεθος μικρότερο από 0,45 μm , $31\pm 3,3\%$ ήταν σε μικρο-κολλοειδή μορφή με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 1 kDa και μικρότερο από 30 kDa και μόνο $33\pm 3,6\%$ ήταν σε διαλυτή μορφή με μοριακό βάρος μικρότερο από 1 kDa (Mamais et al., 2016). Συμπερασματικά, η μείωση που υφίσταται το διαλυτό Cr(III) κατά τη διέλευση του από το διυλιστήριο ενδέχεται να οφείλεται στην απομάκρυνση των κολλοειδών μορφών Cr(III) με μηχανισμούς προσρόφησης και διήθησης.

Από τον Πίνακα 4.20 παρατηρείται ότι τα δείγματα εξόδου στην σχεδόν 3μηνη λειτουργία του συστήματος βιοαντιδραστήρα – αμμόφιλτρου (SBR-SF) λαμβάνουν μέγιστες τιμές 19 $\mu\text{g/L}$ ολικού χρωμίου και 9 $\mu\text{g/L}$ διαλυτού. Προφανώς η εκροή του συστήματος SBR-SF ικανοποιεί πλέον τα νομοθετημένα όρια σε χρώμιο, για άρδευση ($\text{TCr}_{\text{tot}} < 100 \mu\text{g/L}$). Όπως έχει αναφερθεί, το TCr στην έξοδο του αναερόβιου SBR ταυτίζεται με το Cr(III). Η απόδοση απομάκρυνσης του ολικού χρωμίου παρατηρείται υψηλότερη όταν εισέρχονται στο SF υψηλές τιμές χρωμίου. Σημειώνεται επιπλέον ότι το Cr(VI) δεν ανιχνεύθηκε στην έξοδο του διυλιστηρίου, καθώς είχε ήδη αναχθεί πλήρως από τον SBR (Mamais et al., 2016).

Στα Διαγράμματα 4.36 και 4.37 δίνεται η χρονική διακύμανση του διαλυτού και του ολικού χρωμίου πριν και μετά την έξοδο του αμμοδιυλιστηρίου για κάθε βιοαντιδραστήρα με αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 $\mu\text{g/L}$. Όπως φαίνεται και γραφικά, για τη βελτίωση της απόδοσης εκροής σε ολικό χρώμιο, το αμμοδιυλιστήριο έπαιξε ρόλο σημαντικότητας. Παράλληλα με το ολικό χρώμιο μειώνονται και τα στερεά της εξόδου (TSS) και το υπόστρωμα (COD). Η μείωση των TSS αποτελεί τον πρωτεύοντα μηχανισμό απομάκρυνσης του σωματιδιακού χρωμίου.



Διάγραμμα 4.36: Χρονική διακύμανση του ολικού χρωμίου πριν και μετά την έξοδο του αμμοδιυλιστηρίου για κάθε βιοαντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 µg/L



Διάγραμμα 4.37: Χρονική διακύμανση του διαλυτού ολικού χρωμίου πριν και μετά την έξοδο του αμμοδιυλιστηρίου για κάθε βιοαντιδραστήρα, με αρχική συγκέντρωση Cr(VI): 200 µg/L

4.6.3.2 Συμπεράσματα Χρήσης Αμμοδιωλιστηρίου Κατάντι Εκροής Βιοαντιδραστήρα

Η επεξεργασία νερού, που περιέχει αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) της τάξης των 200 μg/L, από ένα σύστημα αναερόβιου αντιδραστήρα διαλείποντος έργου-αμμοδιωλιστηρίου, μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη απομάκρυνση του Cr(VI). Συγκεκριμένα, επιτυγχάνεται απομάκρυνση εξασθενούς πάνω από 99% και ολικού χρωμίου πάνω από 90%. Οι τελικές συγκεντρώσεις εκροής είναι αντίστοιχα 0,5-2,5 μg/L και 3-10 μg/L, ανάλογα με τα επίπεδα ρύπανσης της υδροληψίας. Αποτέλεσμα αυτού, η ευκολία εφαρμογής στην επεξεργασία του αντλούμενου νερού που προορίζεται για άρδευση ή βιομηχανική χρήση. Παράλληλα, το εν λόγω σύστημα απομακρύνει ικανοποιητικά το προστιθέμενο υπόστρωμα, που χρειάζεται για την ανάπτυξη της βιομάζας και την αναγωγή του Cr(VI), απαλλάσσοντας έτσι την εκροή από οργανικό φορτίο.

Περίληπτικά, τα πλεονεκτήματα της επεξεργασίας του SBR-SF είναι τα ακόλουθα:

Είναι απλή στην εφαρμογή της, καθώς δεν απαιτεί εξειδικευμένη τεχνολογία ή προσωπικό και μπορεί να εφαρμοστεί σε οποιαδήποτε κλίμακα και σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος με την ίδια επιτυχία, όπως αποδείχθηκε. Η μέθοδος είναι διαθέσιμη στο κοινό, απαιτεί εξοπλισμό που μπορεί να προμηθευτεί ο κάθε ιδιώτης και δε χρειάζεται ιδιαίτερη τεχνογνωσία κατά την εφαρμογή και τη λειτουργία.

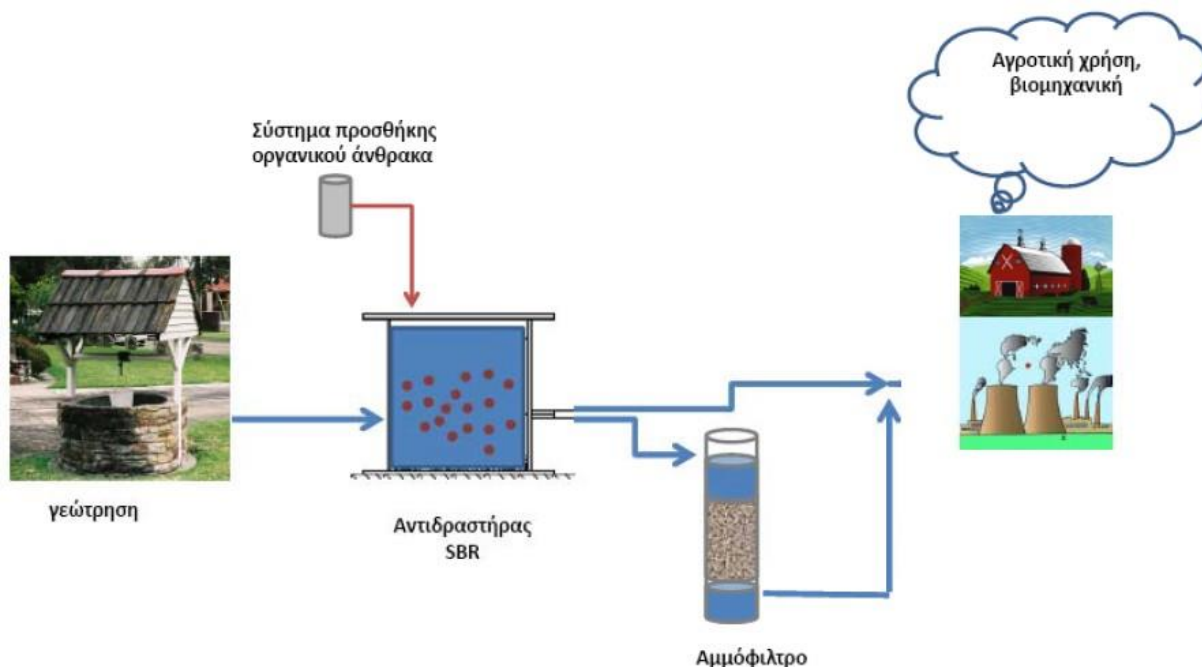
Είναι χαμηλού λειτουργικού κόστους, καθώς δεν εφαρμόζονται ενεργοβόρες διεργασίες και δεν προστίθενται χημικά κατά την επεξεργασία των υπογείων υδάτων. Πρακτικά, το λειτουργικό κόστος της μεθόδου ισούται με το κόστος της τροφής (ζάχαρη και γάλα) που προστίθεται στο νερό, με εκτιμώμενο κόστος τα 0,20 €/m³ επεξεργασμένου νερού και των θρεπτικών.

4.7 Αξιολόγηση του κόστους επεξεργασίας των υπογείων υδάτων χρησιμοποιώντας συστήματα SBR υπό αναερόβιες συνθήκες

Με βάση τα αποτελέσματα της λειτουργίας των εργαστηριακών κλιμάκων και των πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας (batch), αναμένεται ότι η πλειονότητα των συστημάτων που εξετάστηκαν μπορεί εύκολα να αποδώσει επιτυχώς σχετικά με τη βιολογική επεξεργασία των υπογείων υδάτων σε αρχική συγκέντρωση Cr(VI) ίση με 200 µg/L για την απορρύπανση νερού, το οποίο μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί για άρδευση ή βιομηχανικούς σκοπούς.

Το συνολικό κόστος (κόστος κεφαλαίου και λειτουργικό κόστος) της βιολογικής επεξεργασίας των υπογείων υδάτων αξιολογήθηκε για τις ακόλουθες δύο διαφορετικού μεγέθους μονάδες: 1) μονάδα επεξεργασίας υπογείων υδάτων παροχής 10 m³/d που αντιστοιχεί σε μία τυπική περίπτωση χαμηλής ζήτησης ύδατος και 2) μονάδα επεξεργασίας υπογείων υδάτων παροχής 100 m³/d, η οποία αντιστοιχεί σε περίπτωση μέτριας ζήτησης νερού. Σε κάθε περίπτωση όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.3, το σύστημα επεξεργασίας συνίσταται από τα ακόλουθα κύρια μέρη: α) αντλία γεώτρησης, β) βιοαντιδραστήρα (SBR), γ) υπόστρωμα και θρεπτικά συστατικά, δ) μονάδα φιλτραρίσματος, ε) εξίσωση - δεξαμενή αποθήκευσης, στ) δεξαμενή αποθήκευσης πλεονάζουσας ιλύος (Panousi et al., 2017).

Τα έξοδα λειτουργίας και συντήρησης (Operation & Maintenance, O&M) καθορίστηκαν με βάση τα πορίσματα των πειραμάτων της παρούσας διατριβής που διεξήχθησαν σε εργαστηριακό επίπεδο, τις πληροφορίες που παρέχονται από τους προμηθευτές, τη βιβλιογραφία και την κρίση εμπειρογνομώνων. Σε κάθε περίπτωση το συνολικό κόστος (κόστος κεφαλαίου και κόστος-O&M) καθορίστηκε σε ετήσια βάση, υποθέτοντας ότι το επιτόκιο ανέρχεται στο 3% και η περίοδος απόσβεσης στα 40 έτη για έργα πολιτικού μηχανικού και 15 έτη για το μηχανολογικό εξοπλισμό. Οι δαπάνες O&M που εκτιμήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης αποτελούνται από τα ακόλουθα στοιχεία: ενεργειακή κατανάλωση, προσθήκη υποστρώματος και θρεπτικών ουσιών, συντήρηση, ανταλλακτικά και απαιτήσεις εργασίας.



Σχήμα 4.3: Σύστημα βιολογικής επεξεργασίας υπόγειου νερού για την απομάκρυνση του χρωμίου (προσωπικό αρχείο)

Το κόστος ηλεκτρικής κατανάλωσης προσδιορίστηκε με βάση το κόστος μίας ενεργειακής μονάδας 0,10 ευρώ/KWh. Το λειτουργικό κόστος για το υποστρώμα που απαιτείται για την υποστήριξη βιομετατροπής του εξασθενούς χρώμιο μέσω αναγωγικών βακτηρίων, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου υποστρώματος. Σύμφωνα με τα πειράματα, όλα τα είδη υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν (γάλα, ζάχαρη και τυρογάλακτος) διεξήχθησαν ικανοποιητικά και είχαν αξιόλογα αποτελέσματα.

Το κόστος του υποστρώματος καθορίστηκε για τη ζάχαρη και το τυρόγαλο. Στην περίπτωση τυρογάλακτος, το λειτουργικό κόστος θεωρείται αμελητέο, καθώς αυτός ο τύπος υποστρώματος είναι ουσιαστικά ένα απόβλητο προϊόν από την επεξεργασία του τυριού. Το κόστος προσθήκης ζάχαρης εκτιμήθηκε σε 0,75 ευρώ/kg. Υπολογισμός του κόστους των θρεπτικών συστατικών (φωσφορικά, νιτρικά άλατα) βασίστηκε στη χρήση εμπορικού λιπάσματος με κόστος μονάδας 0,6 ευρώ/kg (Panousi et al., 2017). Στην περίπτωση της τροφοδοσίας του αντιδραστήρα με τυρόγαλο, δεν υπάρχει ανάγκη για προσθήκη θρεπτικών ουσιών υποστρώματος αφού το ίδιο περιλαμβάνει όλες τις απαιτήσεις θρεπτικών ουσιών. Λόγω της ανάγκης για αυτοματοποιημένη λειτουργία του

SBR, οι απαιτήσεις εργασίας των συστημάτων αναμένεται να είναι χαμηλές και να μην υπερβαίνουν τις 1-2 ώρες/εβδομάδα. Απαιτείται επιπλέον εργασία προσωπικού, χαμηλής ειδίκευσης με κόστος εργασίας περίπου 10-13 €/ώρα. Για τον υπολογισμό του ετήσιου λειτουργικού κόστους θεωρήθηκαν 365 ημέρες λειτουργίας του συστήματος. Τέλος, το ετήσιο κόστος συντήρησης υπολογίστηκε στο 2% του συνολικού κόστους κατασκευής. Το συνολικό ετήσιο κόστος (κόστος κεφαλαίου και κόστος O&M) των δύο συστημάτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.22.

Πίνακας 4.22: Κόστος βιολογικής επεξεργασίας υπογείου νερού σε ευρώ (€)

Εκτιμώμενο Συνολικό Κόστος	Παροχή 10 m³/d	Παροχή 100 m³/d
Κόστος Κεφαλαίου		
SBR Δεξαμενή, €	5600	14660
Μονάδες προσθήκης υποστρώματος, €	1600	3100
Μονάδα φιλτραρίσματος, Δεξαμενές αποθήκευσης ιλύος, €	2300	12100
Εγκατάσταση εξοπλισμού και οικοδομικές εργασίες, €	8550	16800
Συνολικό Κόστος Κεφαλαίου, €	18050	46610
Ετήσιο Κόστος Κεφαλαίου, €	1512	3191
Ετήσιο Κόστος O&M		
Κατανάλωση ενέργειας, €	106	1,095
Προσθήκη υποστρώματος, €	0 ¹ – 548 ²	0 ¹ – 5475 ²
Προσθήκη θρεπτικών, €	0 ¹ – 102 ²	0 ¹ – 1022 ²
Κόστος συντήρησης, €	360	950
Κόστος προσωπικού, €	520	520
Συνολικό Κόστος O&M, €	986¹ – 1636²	2565¹-9062²
Ετήσιο Συνολικό Κόστος (Κεφάλαιο και O&M), €	2498¹ – 3148²	5756¹ -12253²
Ετήσιο Συνολικό Κόστος (Κεφάλαιο και O&M), €/m³	0,68¹ – 0,86²	0,16¹ – 0,34²

*1: τυρόγαλο ως υπόστρωμα, 2: ζάχαρη ως υπόστρωμα

Συμπερασματικά και βάσει των πειραμάτων σε εργαστηριακή κλίμακα, το κόστος του συστήματος επεξεργασίας εξαρτάται από την ικανότητα επεξεργασίας και τον τύπο του υποστρώματος. Για μονάδα SBR πλήρους κλίμακας με δυναμικότητα επεξεργασίας 10

m³/d, το συνολικό κόστος κυμαίνεται μεταξύ 0,68 - 0,86 €/m³, ενώ το κόστος ενός συστήματος SBR με δυναμικότητα επεξεργασίας 100 m³/d κυμαίνεται μεταξύ 0,16 - 0,34 €/m³ (Panousi et al., 2017).

Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα Διατριβής

5.1 Εισαγωγή

Το πειραματικό μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής διήρκεσε από τις 25 Σεπτεμβρίου 2012 έως την 15η Σεπτεμβρίου 2015. Το ερευνητικό της αντικείμενο αφορά τη διερεύνηση βιολογικών μεθόδων απομάκρυνσης του εξασθενούς και ολικού χρωμίου από τα υπόγεια ύδατα. Ο απώτερος σκοπός ήταν να διασαφηνιστούν κατόπιν πειραμάτων οι βέλτιστες λειτουργικές συνθήκες, ώστε να επιτευχθεί βιομετατροπή Cr(VI) σε Cr(III) στο υπόγειο νερό από αναγωγικά βακτήρια και η απομάκρυνση του χρωμίου, με τη μεγαλύτερη δυνατή απόδοση και το χαμηλότερο κόστος. Για την επίτευξη αυτού του στόχου σχεδιάσθηκαν και λειτούργησαν σε εργαστηριακή κλίμακα βιοαντιδραστήρες στο Ε.Υ.Τ. της Σχολής Πολιτικών Μηχανικών Ε.Μ.Π.

Οι βιοαντιδραστήρες (εφεξής συστήματα) ανέπτυξαν βιομάζα και τροφοδοτούντο με υπόγειο νερό από το Πολυτεχνείο που τίθετο σε επεξεργασία καθώς προστίθεντο σε αυτό Cr(VI) και όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (υπόστρωμα, άζωτο, φωσφόρος). Οι παράμετροι που εξετάστηκαν εκτενώς ήταν ο καταλληλότερος δότης και αποδέκτης ηλεκτρονίων, η αρχική συγκέντρωση Cr(VI) στην είσοδο των συστημάτων, ο ρόλος της θερμοκρασίας στην επίτευξη της αναγωγής Cr(VI) σε Cr(III) καθώς και τρόποι βελτίωσης της απόδοσης των υφιστάμενων βιοαντιδραστήρων. Σε αυτά τα συστήματα μελετήθηκε εκτενώς η χρονική διακύμανση των βασικών παραμέτρων λειτουργίας των συστημάτων όπως: η συγκέντρωση της βιομάζας, η απομάκρυνση του Cr(VI) και η κατανάλωση του ολικού και διαλυτού COD. Παράλληλα έγινε ποσοτικοποίηση των μορφών χρωμίου (ολικό χρώμιο, εξασθενές διαλυτό, τρισθενές σωματιδιακό) στην έξοδο του κάθε συστήματος καθώς και στο ανάμικτο υγρό. Η σταθερότητα της λειτουργίας όλων των βιοαντιδραστήρων παρακολουθούνταν καθημερινά μέσω της μέτρησης της θερμοκρασίας (T), του pH, του Redox και του διαλυμένου οξυγόνου (DO).

Σε κάθε σύστημα υπολογίστηκαν μέσω πειραμάτων διαλείποντος έργου-ασυνεχούς λειτουργίας (batch) οι ρυθμοί αναγωγής του Cr(VI) παράλληλα με το ρυθμό κατανάλωσης COD/NO₃-N. Με batch πειράματα επιπλέον μελετήθηκε η τοξικότητα του Cr(VI) στους μικροοργανισμούς μέσω του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης μ_{\max} (d⁻¹). Κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί ο ποσοστιαίος υπολογισμός του ισοζυγίου ηλεκτρονίων που καταναλώνονται σε κάθε διεργασία και να διευκρινιστεί μέσω της εφαρμογής της μοριακής τεχνικής καταμέτρησης των μικροοργανισμών (FISH), τα είδη των αναγωγικών βακτηρίων που μετέχουν στις καλλιέργειες. Τέλος κρίθηκε αναγκαίο να διαπιστωθεί αν ο ετεροτροφικός συντελεστής μετατροπής βιομάζας (Y) ταυτίζεται με τα ευρήματα που προέκυψαν από τη FISH και από τις βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τα είδη των μικροοργανισμών που μετέχουν στην πειραματική διαδικασία.

5.2 Συμπεράσματα

Το Κεφάλαιο 4 κατέδειξε την πολυπλοκότητα της βιολογικής αναγωγής του Cr(VI) σε Cr(III) και της απομάκρυνσης του ολικού χρωμίου από τα υπόγεια νερά, καθώς, όπως φάνηκε, οι παράμετροι που το επηρεάζουν είναι επιπροσθέτως αλληλεξαρτώμενοι.

Κύρια παράμετρος της απορρύπανσης υπογείων υδάτων από χρώμιο αποτελεί καταρχάς η εύρεση κατάλληλων συνθηκών δότη και αποδέκτη ηλεκτρονίων για την επίτευξη του στόχου. Τελική εκτίμηση είναι πως οι αναερόβιες και οι ανοξικές συνθήκες, αποδεικνύονται παράμετροι κλειδιά για τη μικροβιακή δυναμική και την ενίσχυση της αναγωγής του Cr(VI). Σχετικά με το δότη ηλεκτρονίων, τα συμπεράσματα της παρούσας διατριβής συγκλίνουν στο γεγονός ότι το συνθετικό οργανικό υπόστρωμα (ζάχαρη) ως πηγή άνθρακα, είναι ο καταλληλότερος δότης ηλεκτρονίων, υπό την προϋπόθεση να είναι διαθέσιμο σε συγκεντρώσεις που ευνοούν τη χρήση του από τα αναγωγικά βακτήρια. Οι προαναφερθείσες εκτιμήσεις επικράτησαν έναντι διαφόρων επιλογών και συνδυασμών, κυρίως εξαιτίας της απόδοσης που κατέδειξαν οι αντιδραστήρες που λειτουργούσαν σε αυτές τις συνθήκες ως προς την απορρύπανση του νερού από το χρώμιο και εξαιτίας της ταχύτητας επίτευξης αυτής.

Η παρούσα διατριβή μέσω των μακροχρόνιων πειραμάτων της, κατέδειξε τη σημασία που έχει η αρχική συγκέντρωση του Cr(VI) σε σχέση με τον αποδέκτη ηλεκτρονίων. Τα βιολογικά συστήματα επεξεργασίας υπογείων υδάτων που λειτουργούν υπό αναερόβιες ή ανοξικές συνθήκες ήταν σε θέση να επιτύχουν απομάκρυνση Cr(VI) μεγαλύτερη από 95% από υπόγεια ύδατα υψηλής ρύπανσης. Βάσει των πειραματικών δεδομένων της διατριβής, η λειτουργία των ανοξικών συστημάτων SBR που επεξεργάζονται υπόγεια ύδατα με αρχική συγκέντρωση χρωμίου της τάξης των 10 mg/L, ήτοι τιμές πολύ υψηλότερες από τις συνήθεις σε υπόγειο νερό, μπορούν να παρέχουν πλήρη αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου. Επιπλέον, οι αναερόβιες συνθήκες μπορούν να υποστηρίξουν την πλήρη απομάκρυνση Cr(VI) σε αρχικές συγκεντρώσεις της τάξης των 2,5 mg/L. Τέλος, λαμβάνοντας υπόψιν τις μετρήσεις μέγιστων ειδικών ρυθμών ανάπτυξης, βιομάζα εγκλιματισμένη υπό ανοξικές συνθήκες παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη ανοχή σε Cr(VI) σε σύγκριση με τη βιομάζα που εγκλιματίζεται υπό αναερόβιες συνθήκες. Σύμφωνα με την ανάλυση που παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 4, η αναχαίτιση της βιολογικής αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου τόσο κάτω από αναερόβιες όσο και κάτω από ανοξικές συνθήκες, περιγράφεται ικανοποιητικά από μια σχέση για μη ανταγωνιστική αναχαίτιση της μορφής που έχει προταθεί από τον Levenspiel (Levenspiel, 1980).

Όσον αφορά την τεχνολογική εφαρμογή των βιολογικών μεθόδων αναγωγής Cr(VI) από υπόγεια ύδατα, σχετικές κατευθυντήριες γραμμές ως προς τη βελτιστοποίηση αυτών, συνοψίζονται με δύο τρόπους: χρήση μονάδας αμμοδιυλιστηρίου κατάντι της εκροής του βιοαντιδραστήρα και πολλαπλούς κύκλους λειτουργίας των αντιδραστήρων εντός του 24ωρου. Όπως διαπιστώθηκε, η χρήση μονάδας διήθησης με άμμο πυριτίου επιτυγχάνει την σχεδόν πλήρη απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου που έχει αναχθεί σε τρισθενές κατά την βιολογική επεξεργασία του υπόγειου νερού. Αποτέλεσμα αυτού, η ευκολία εφαρμογής στην επεξεργασία του αντλούμενου νερού που προορίζεται για άρδευση ή βιομηχανική χρήση.

Η επιτυχία των πολλαπλών κύκλων λειτουργίας έγκειται στο ότι οι βιοκοινότητες αποδείχθηκε ότι έχουν τη δυνατότητα να ανταπεξέλθουν στις υψηλές συγκεντρώσεις Cr(VI) παραπάνω από 1 φορά σε μία ημέρα, καθώς βάσει και των αποτελεσμάτων

μοριακής τεχνικής καταμέτρησης μικροοργανισμών (FISH), επρόκειτο για αποθειωτές και απονιτροποιητές.

Εξετάζοντας τον περιβαλλοντικό παράγοντα θερμοκρασία, έγινε αντιληπτό ότι δεν αποτελεί προϋπόθεση η λειτουργία των συστημάτων σε θερμοκρασίες πάνω από 20 °C, για να εξασφαλιστεί η πλήρης αναγωγή Cr(VI). Σε αναερόβιες συνθήκες διαπιστώθηκε πλήρης αναγωγή του ρύπου στη μη τοξική μορφή Cr(III), σε κάθε θερμοκρασία που εξετάστηκε στο εύρος θερμοκρασιών μεταξύ 13,5 και 30 °C. Η απομάκρυνση του Cr(VI) γίνεται ταχύτατα, εντός 1-2 ωρών. Μόνη ουσιαστική διαφορά αποτελεί η μέγιστη ειδική ταχύτητα αναγωγής, που αποδείχθηκε ότι αυξάνεται με τη θερμοκρασία, σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius. Μετά από προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην εξίσωση Arrhenius προέκυψε η παρακάτω σχέση: $k = 5 * 10^7 * 6^{0,0656 T}$, όπου T σε Kelvin και k σε Cr(VI)/gVSS*hr, μετασχηματίζοντας την σε μια πιο εύχρηστη μορφή: $k = 125,5 * 1,027^{T-20}$, όπου T σε Κελσίου και k σε Cr(VI)/gVSS*hr.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί, πως όλα τα παραπάνω συμπεράσματα δεν αποτελούν μοναδική λύση, καθώς η καταλληλότητα των συνθηκών που προτείνονται εξαρτάται από τη σχέση απόδοσης-κόστους. Με βάση την τεχνικο-οικονομική αξιολόγηση των συστημάτων επεξεργασίας που παρουσιάστηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, το ετήσιο κόστος μια μικρής ή μεσαίας δυναμικότητας μονάδα κυμαίνεται από 0,68-0,86€/m³ μέχρι 0,16-0,34€/m³, αντίστοιχα (Panousi et al., 2017).

Η αξία όλων των παραπάνω αποτελεσμάτων καθίσταται μεγαλύτερη, καθώς η παρούσα διατριβή αποτελεί μία από τις λίγες συστηματικές μελέτες που διερεύνησαν βιολογικές μεθόδους απομάκρυνσης Cr(VI) και TCr σε υπόγεια ύδατα και σε πολυπαραγοντικό επίπεδο, κατά συνέπεια, γίνεται αντιληπτή η συμβολή της στην επιστημονική κοινότητα.

5.3 Προτάσεις για Περαιτέρω Έρευνα

Η παρούσα διατριβή αποτελεί σημαντική συμβολή στην έρευνα των αναγωγικών βιολογικών μεθόδων απομάκρυνσης του Cr(VI) και του ολικού χρωμίου στα υπόγεια ύδατα από αναγωγικά βακτήρια, καθώς επιβεβαίωσε πρακτικές, διερεύνησε στρατηγικές εφαρμογής, αλλά και συστηματικά μελέτησε παράγοντες που δεν είχαν καλυφθεί επαρκώς από τη διεθνή βιβλιογραφία.

Από τα πειράματα που παρουσιάστηκαν στην παράγραφο 4.2 διαπιστώνεται ότι υπάρχει έδαφος να μελετηθούν ακόμη περισσότεροι δότες ηλεκτρονίων, πάντα με γνώμονα την ισορροπία μεταξύ απόδοσης και κόστους και φυσικά με τη λιγότερη περιβαλλοντική επίπτωση.

Από τα αποτελέσματα που αναλύθηκαν στην παράγραφο 4.3 προέκυψε ότι μία μονάδα βιοαντιδραστήρα με τροφοδοσία οργανικού υποστρώματος της τάξης των 200 mg/L COD, έχει την ικανότητα να μειώνει την τοξικότητα υδάτων ρυπασμένων σε Cr(VI), μέσω αναγωγής του σε Cr(III), για συγκεντρώσεις ίσες με 10 mg/L Cr(VI), χωρίς να επηρεάζεται η λειτουργία του. Παρά το γεγονός ότι η αναγωγή του Cr(VI) που επιτεύχθηκε προσέγγισε σχεδόν το 100%, ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα είχε η λειτουργία των μονάδων υπό συνθήκες υψηλότερων συγκεντρώσεων οργανικού φορτίου (COD>1000 mg/L). Σκοπός αυτού, η περαιτέρω ανάπτυξη της βιομάζας η οποία θα μπορούσε να αποδομήσει αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) μεγαλύτερες των 15 mg/L που ήδη εξετάστηκαν.

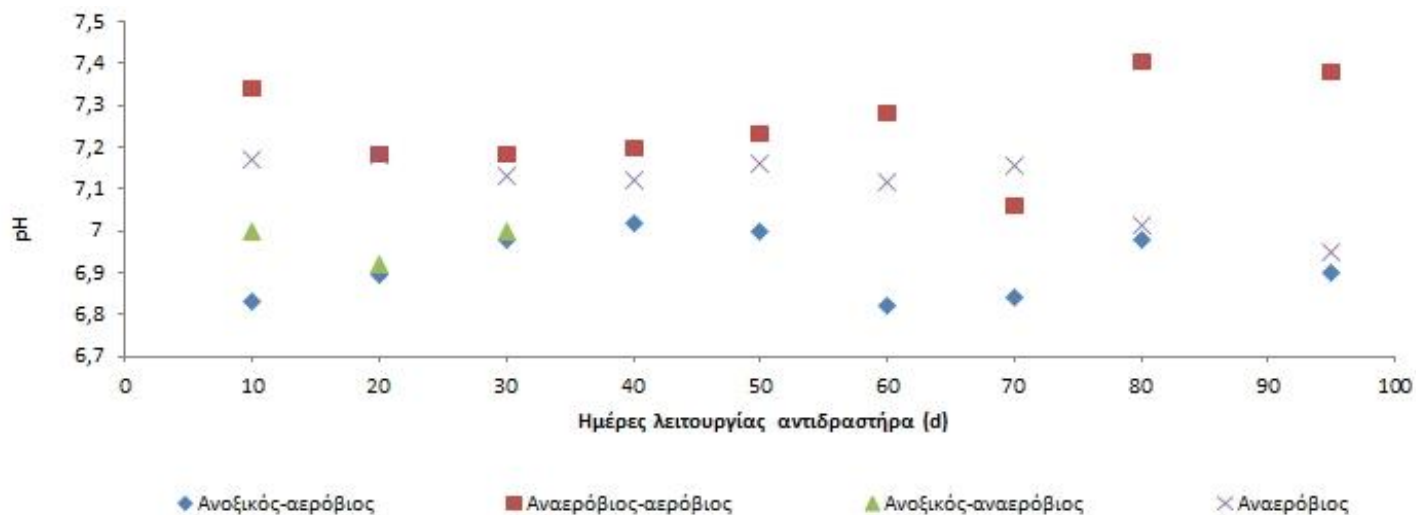
Η χρήση διαφορετικών μεθόδων προσδιορισμού της μέγιστης ειδικής ταχύτητας αύξησης των μικροοργανισμών, μ_{max} συχνά πληροφορεί για διαφορετικές μεταβολικές λειτουργίες των μικροοργανισμών. Τα συμπεράσματα της παρούσας διατριβής προέκυψαν με τη μέτρηση της αύξησης των αιωρούμενων στερεών. Ο προσδιορισμός του μ_{max} μπορεί να πραγματοποιηθεί και με πιο σύγχρονες μικροβιολογικές μεθόδους, όπως το τεστ θυμιδίνης που αναπαριστά με μεγαλύτερη ακρίβεια την κυτταρική αύξηση. Η πραγματοποίηση μέρους των πειραμάτων που παρουσιάστηκαν στην παράγραφο 4.3 με τη βοήθεια τέτοιων μεθόδων και ο ταυτόχρονος προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των εσωκυτταρικών πολυμερών θα έδινε μία σαφέστερη εικόνα για τις συνθήκες που ευνοούν φαινόμενα όπως

την αποσύνδεση των διεργασιών του καταβολισμού και αναβολισμού, την κυτταρική αναπαραγωγή και την αποθήκευση εσωκυτταρικών πολυμερών. Η περαιτέρω διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισης των μικροοργανισμών λόγω της παρουσίας εξασθενούς χρωμίου παρουσιάζει σημαντικό ενδιαφέρον.

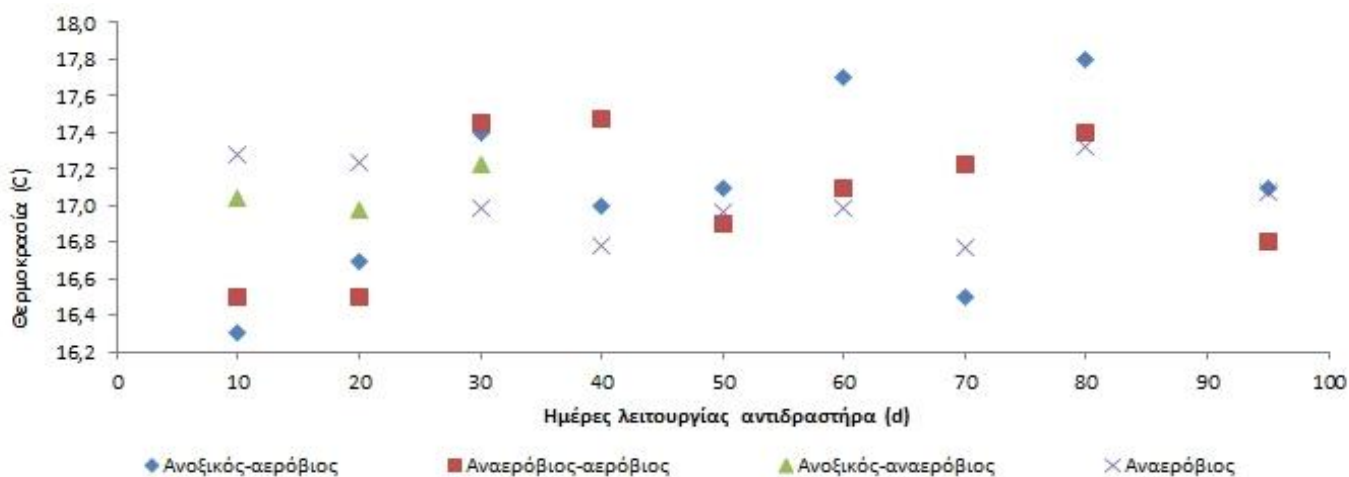
Τα αποτελέσματα της μεθόδου φθορίζουσας υβριδοποίησης-FISH κρίθηκαν πολύ σημαντικά και χρήσιμα για την παρούσα έρευνα. Ωστόσο οι εξελίξεις στον τομέα της μικροσκοπίας που υπαγορεύουν τη χρήση ακόμη πιο εξειδικευμένων μοριακών μεθόδων μικροσκοπίου και αφορούν την απεικόνιση του δείγματος, μπορεί να αποδειχθούν ιδιαιτέρως ενδιαφέρουσες στο άμεσο μέλλον. Με τη χρήση αυτών, σε διάφορες αρχικές συγκεντρώσεις Cr(VI) θα είναι δυνατός ο προσδιορισμός της ακριβούς ταυτότητας των βακτηριακών ειδών αποθείωσης και απονιτροποίησης, που εξαιτίας του διαφορετικού τους μεταβολισμού, επιδρούν και με τρόπο διαφορετικό στην απόδοση της αναερόβιας αναγωγής του εξασθενούς χρωμίου.

Παράρτημα: Αναλυτικά Πειραματικά Αποτελέσματα

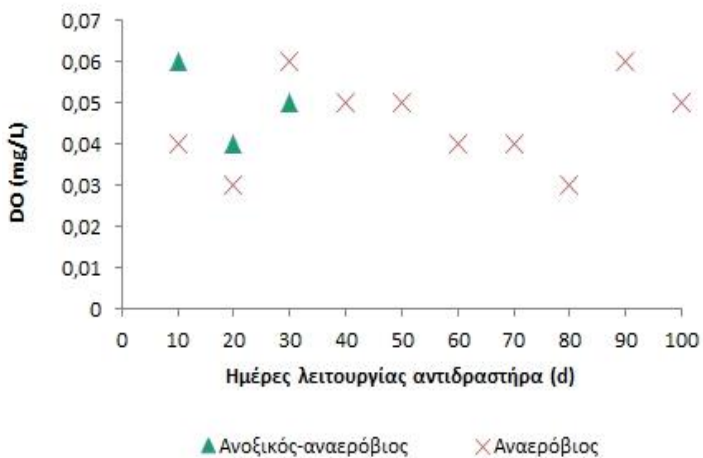
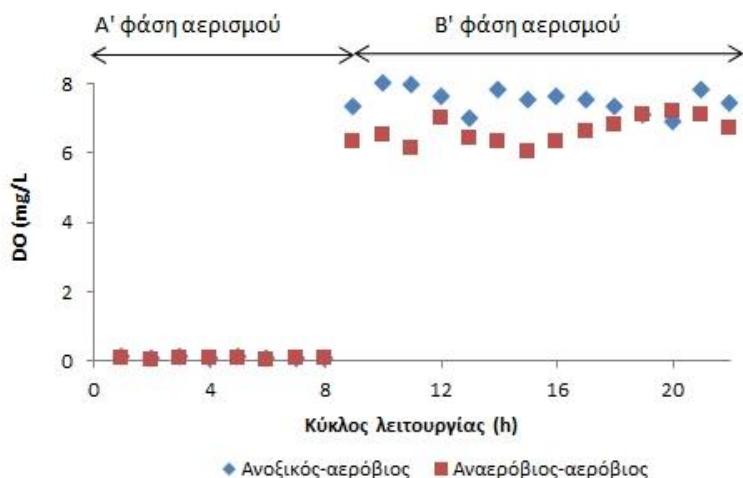
A1. Λειτουργικά χαρακτηριστικά υπό εξέταση αντιδραστήρων



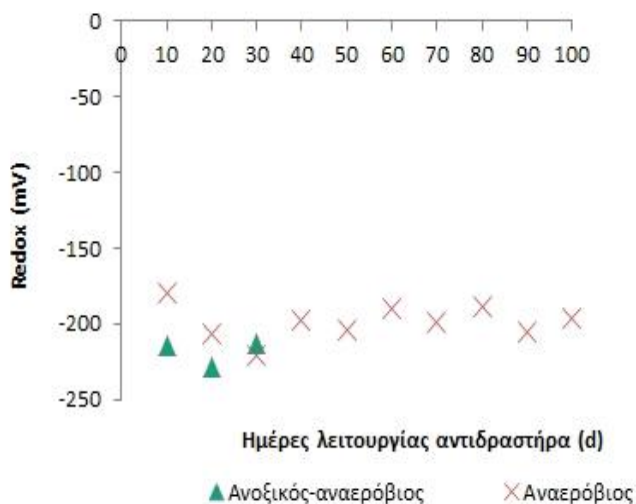
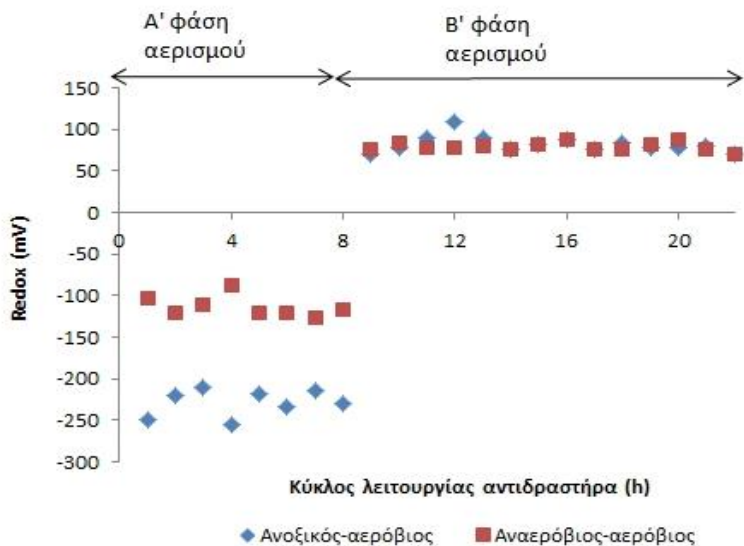
Διάγραμμα A1: Μέσος όρος μετρήσεων pH για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα



Διάγραμμα A2: Μέσος όρος μετρήσεων θερμοκρασίας (°C) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

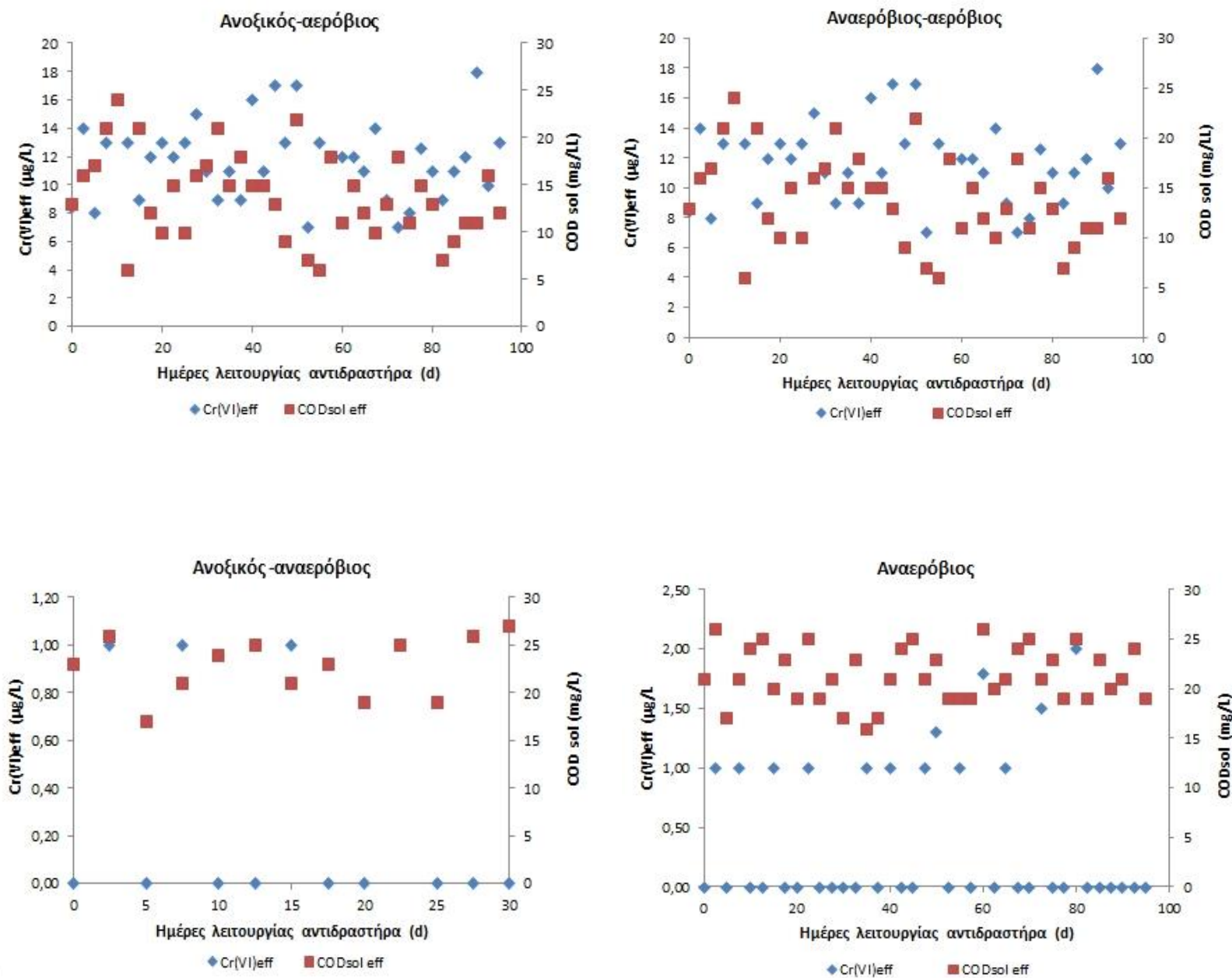


Διάγραμμα A3:αρστερά- Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) από όλα τα πειράματα διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας που διεξήχθησαν επί 24ωρου βάσεως για κάθε φάση λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα. **δεξιά:** Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

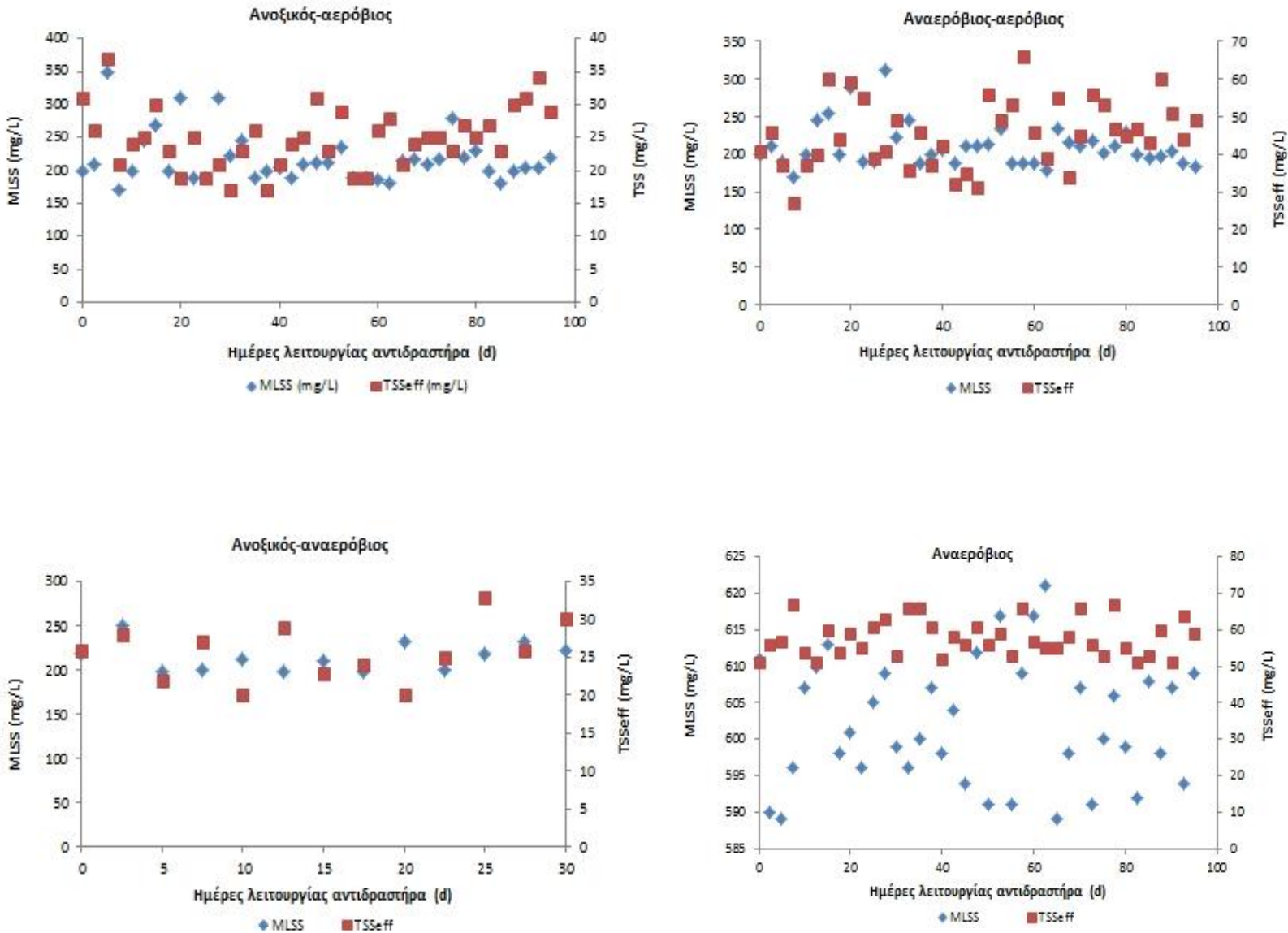


Διάγραμμα A4: αριστερά- Μέσος όρος μετρήσεων οξειδοαναγωγικών συνθηκών (mV) από όλα τα πειράματα διαλείποντος έργου-ασυνεχούς τροφοδοσίας που διεξήχθησαν επί 24ωρου βάσεως για κάθε φάση λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα. **δεξιά:** Μέσος όρος μετρήσεων οξειδοαναγωγικών συνθηκών (mV) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

A2. Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αντιδραστήρων

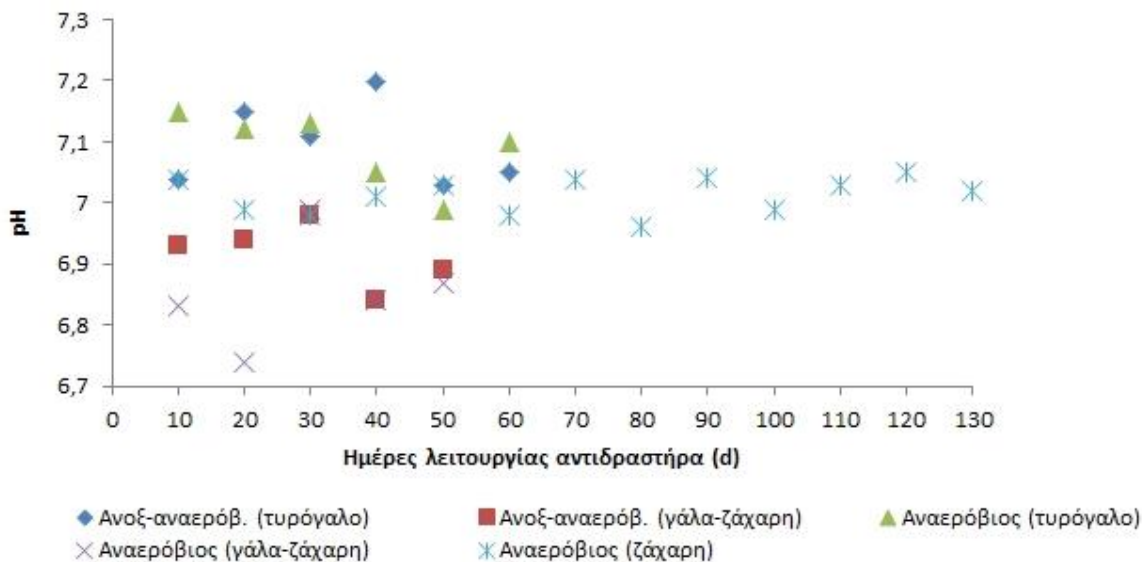


Διάγραμμα A5: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) (μg/L) και COD_{sol} (mg/L) στην έξοδο των αντιδραστήρων για όλη την περίοδο λειτουργίας τους

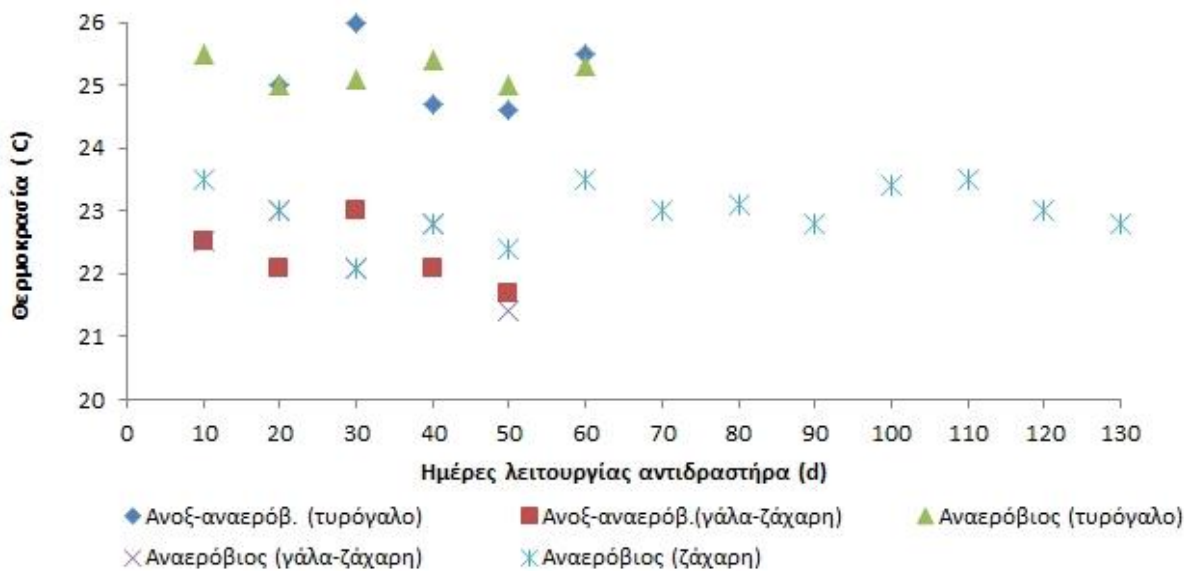


Διάγραμμα Α6: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS, TSS στο ανάμικτο νερό και στην έξοδο των αντιδραστήρων αντίστοιχα για όλη την περίοδο λειτουργίας τους (mg/L)

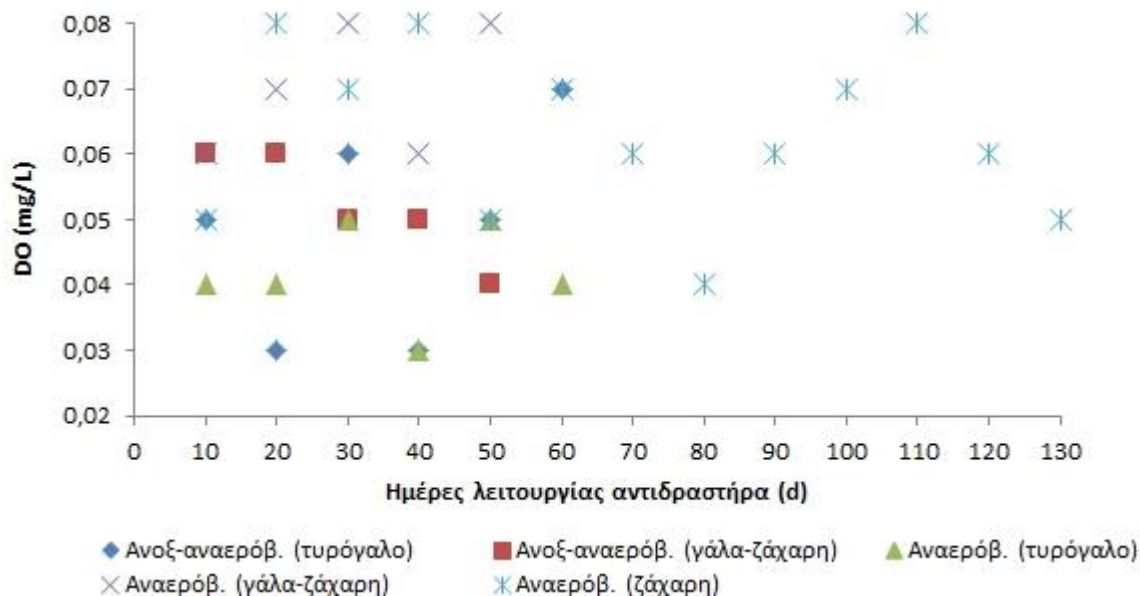
B1. Λειτουργικά χαρακτηριστικά υπό εξέταση αντιδραστήρων



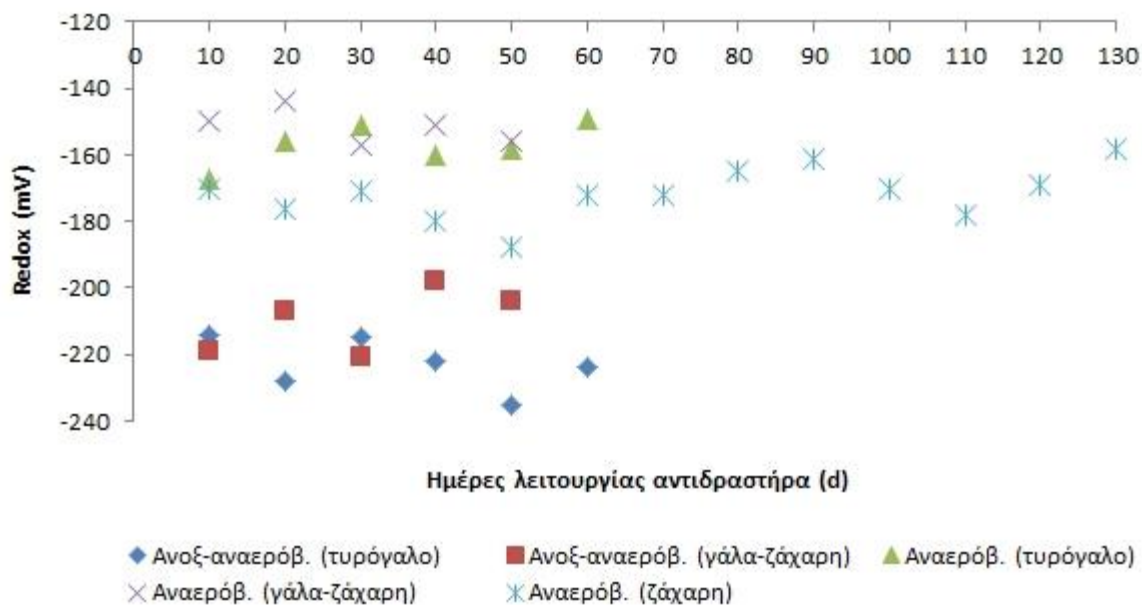
Διάγραμμα B1: Μέσος όρος μετρήσεων pH για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα



Διάγραμμα B2: Μέσος όρος μετρήσεων θερμοκρασίας (°C) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

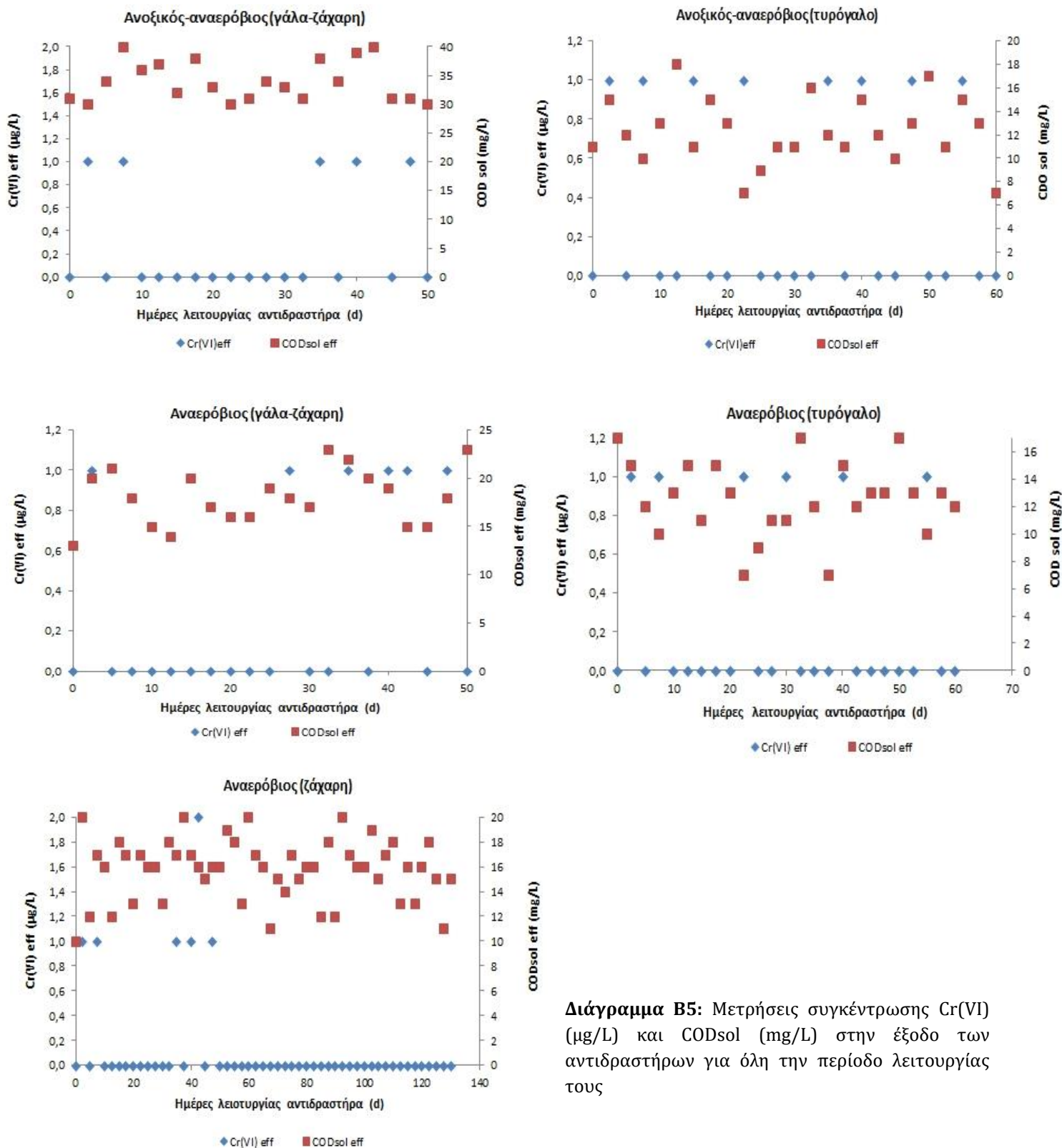


Διάγραμμα Β3: Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

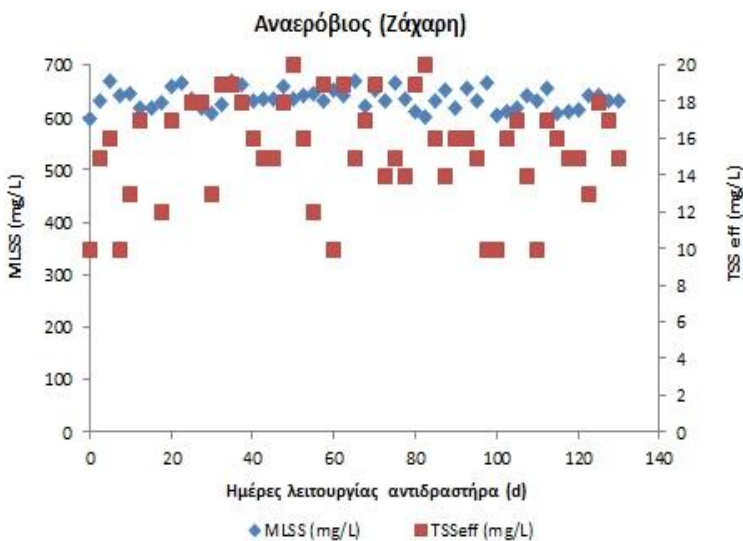
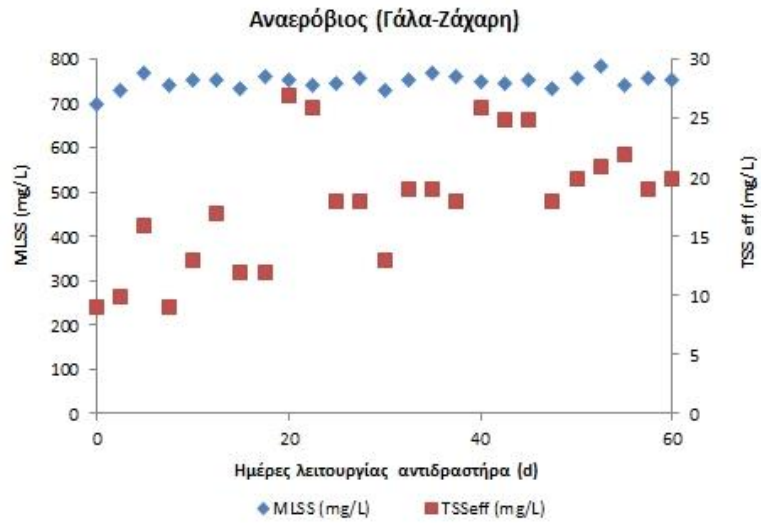
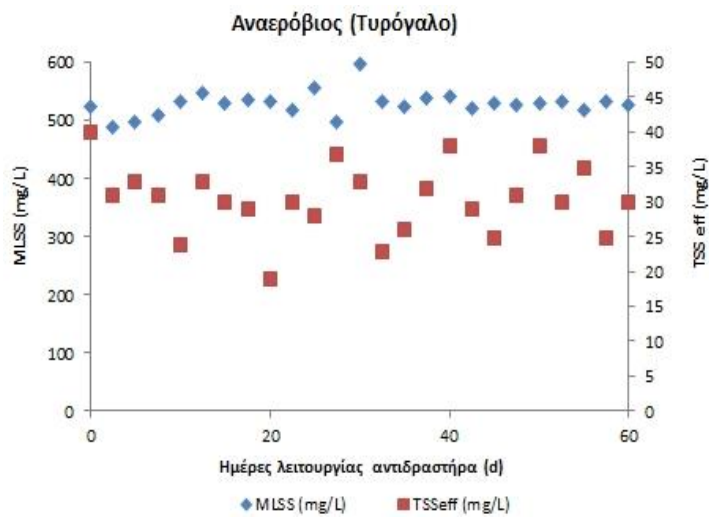
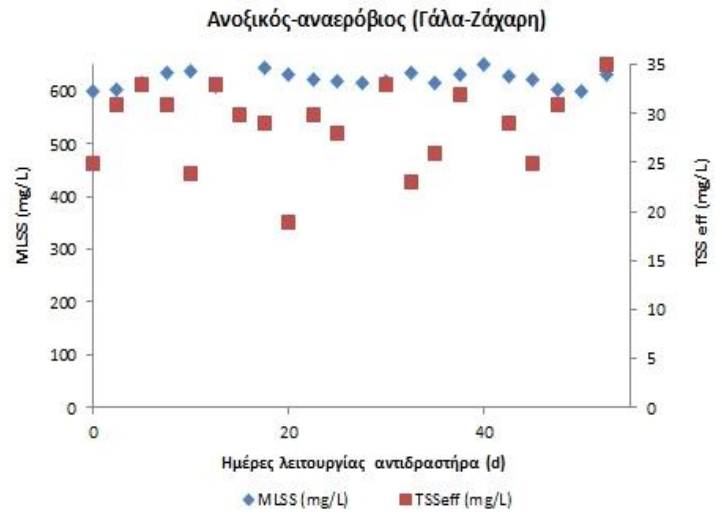
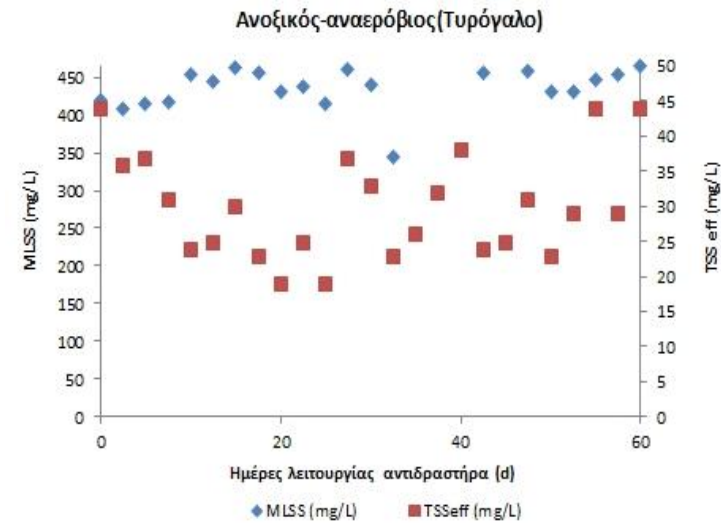


Διάγραμμα Β4: Μέσος όρος μετρήσεων οξειδοαναγωγής (mV) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

B2. Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αντιδραστήρων

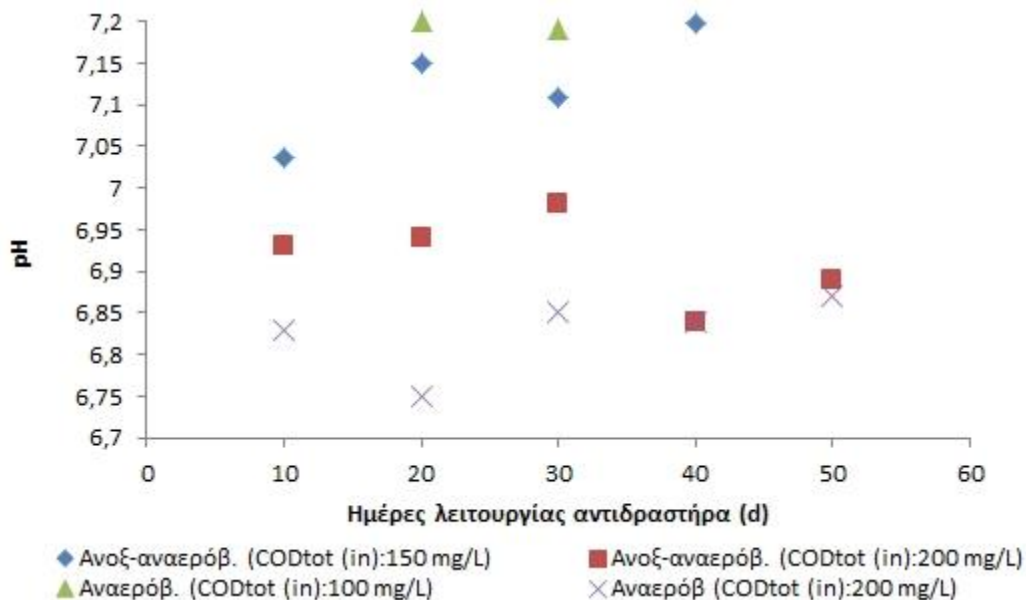


Διάγραμμα B5: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) (μg/L) και CODsol (mg/L) στην έξοδο των αντιδραστήρων για όλη την περίοδο λειτουργίας τους

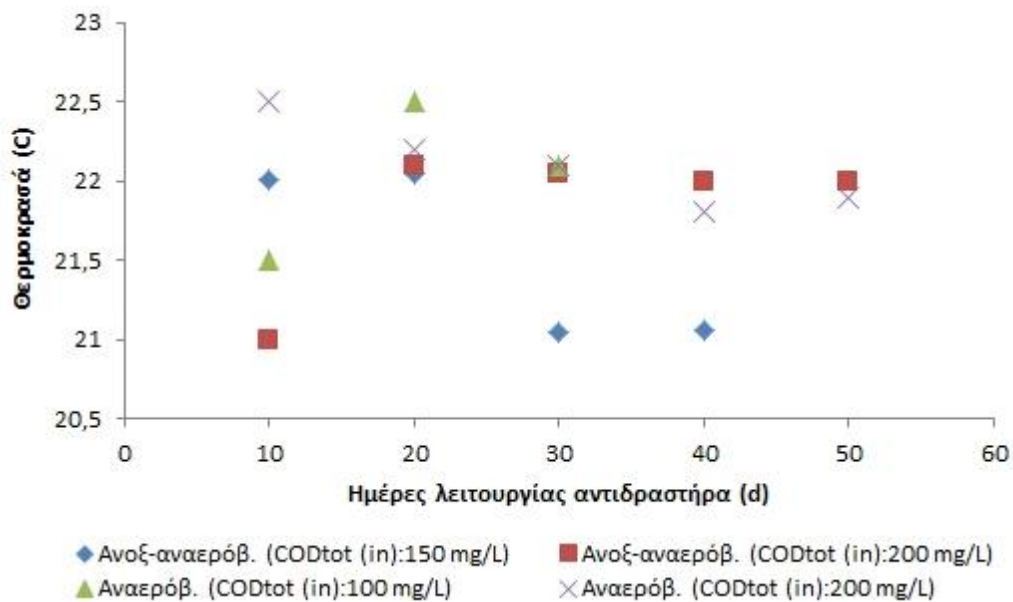


Διάγραμμα Β6: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS/TSS στο ανάμικτο νερό και στην έξοδο των αντιδραστήρων αντίστοιχα για όλη την περίοδο λειτουργίας τους (mg/L)

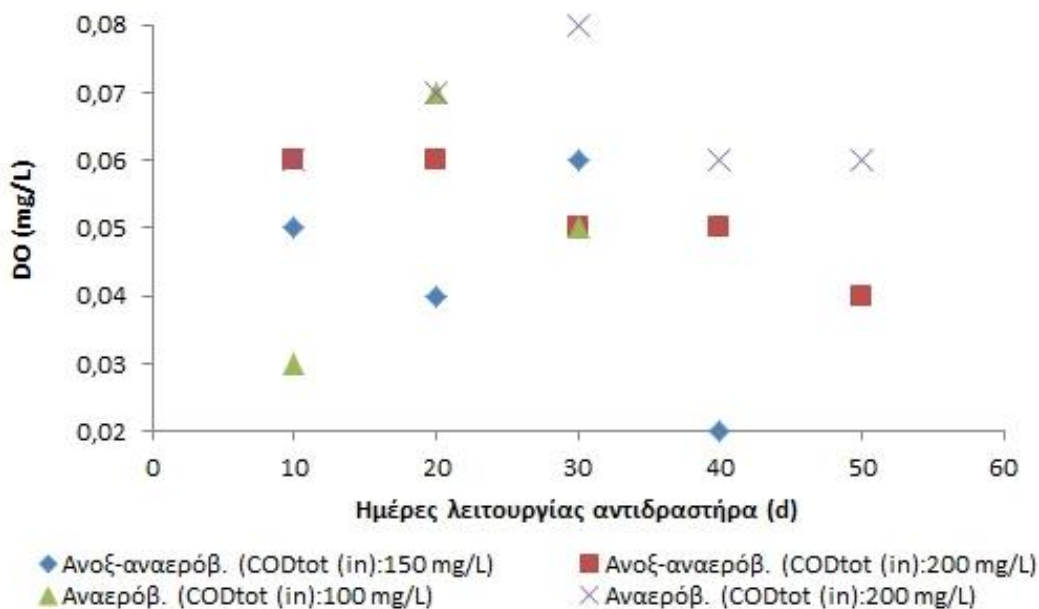
Γ1. Λειτουργικά χαρακτηριστικά υπό εξέταση αντιδραστήρων



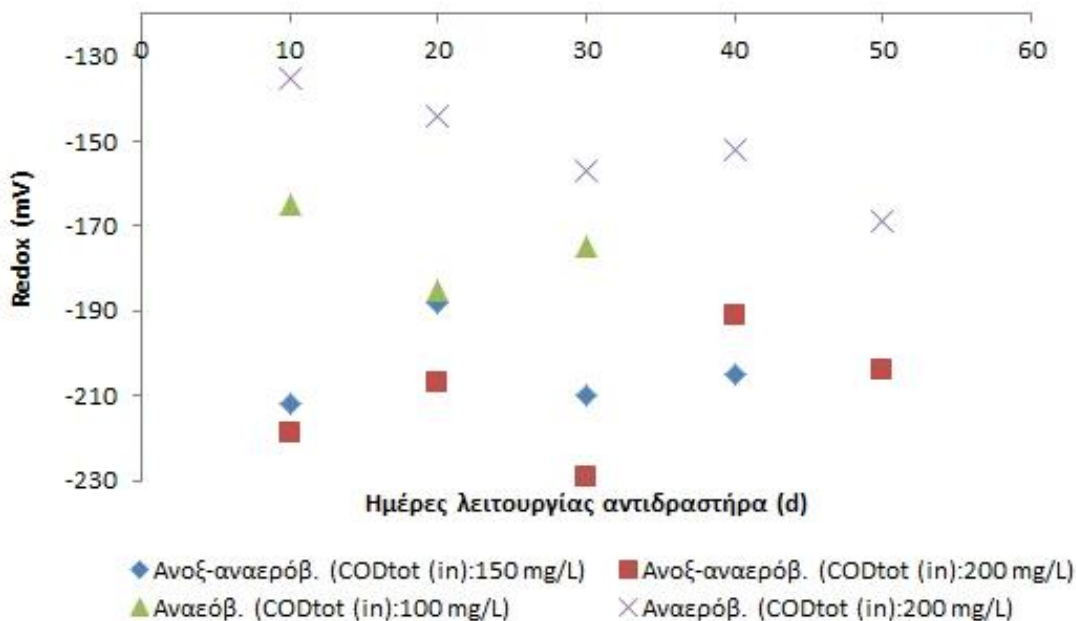
Διάγραμμα Γ1: Μέσος όρος μετρήσεων pH για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα



Διάγραμμα Γ2: Μέσος όρος μετρήσεων θερμοκρασίας (°C) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

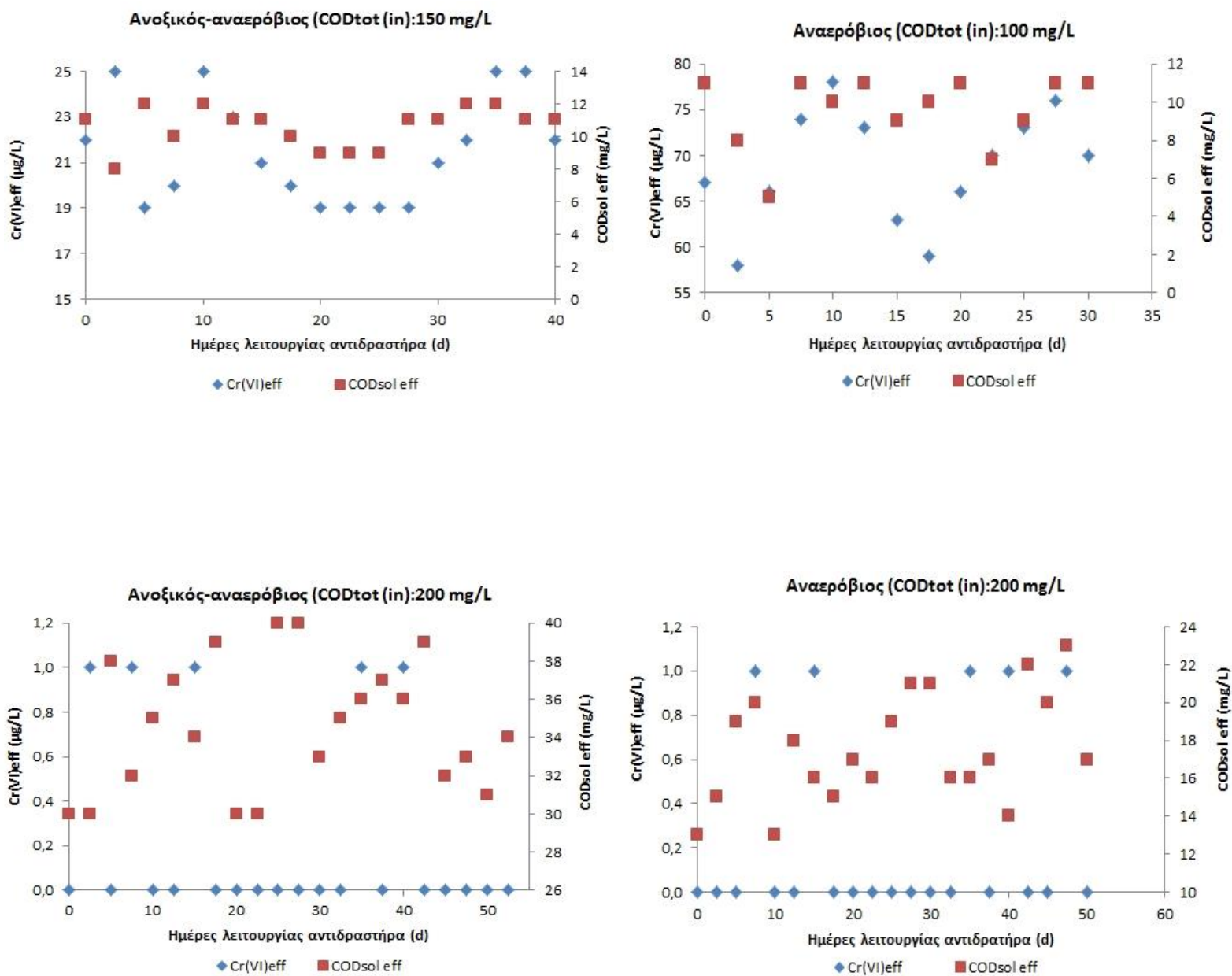


Διάγραμμα Γ3: Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

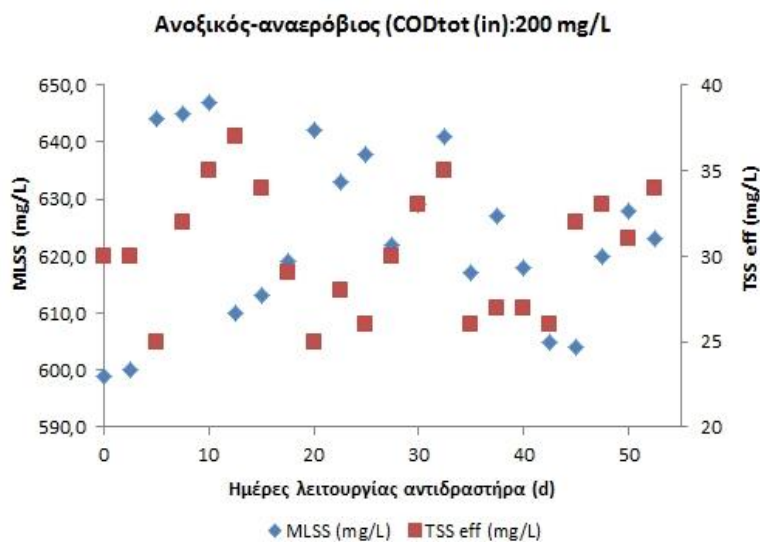
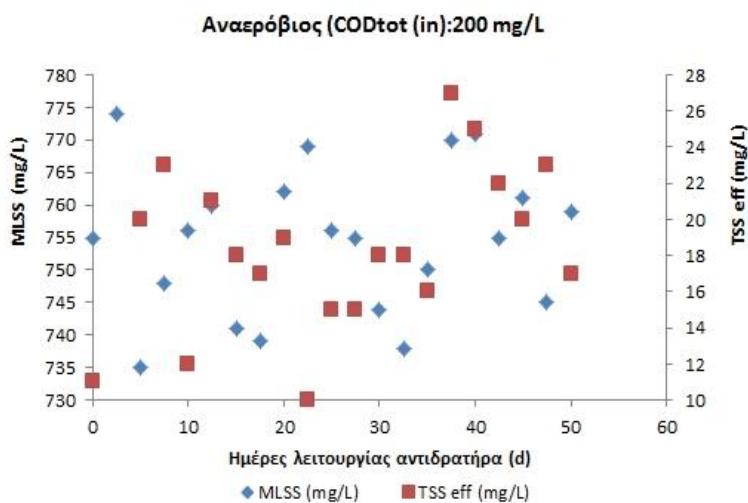
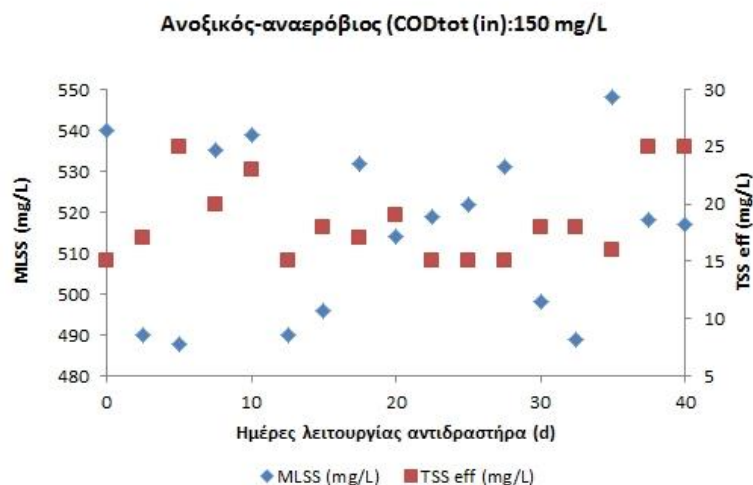
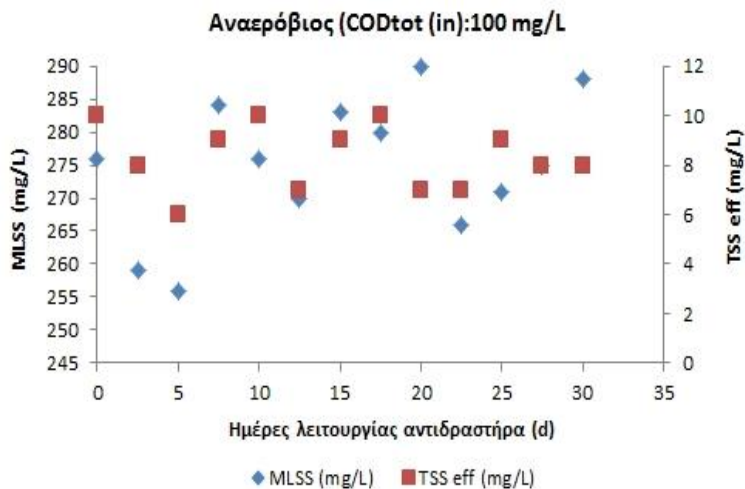


Διάγραμμα Γ4: Μέσος όρος μετρήσεων οξειδοαναγωγής (mV) για κάθε δέκα ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

Γ2. Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αντιδραστήρων

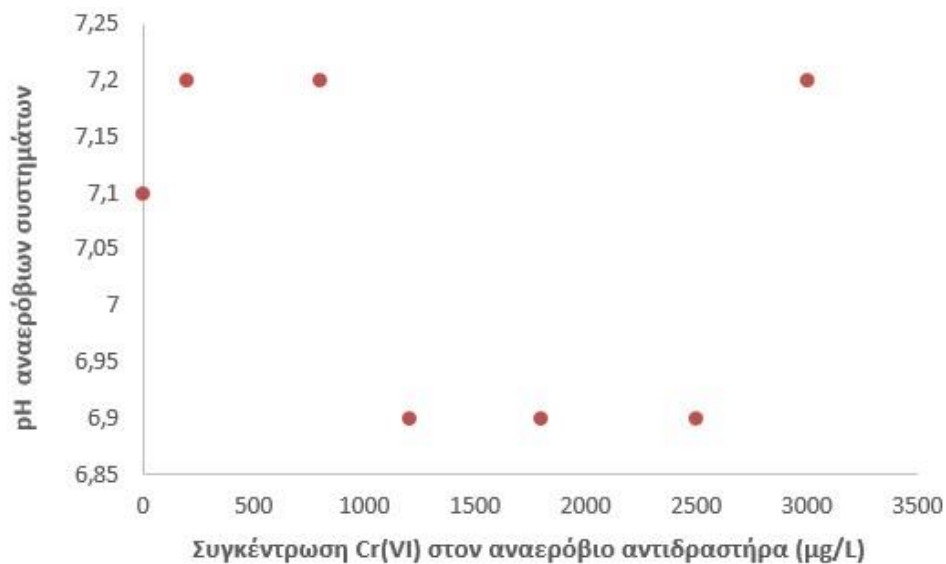


Διάγραμμα Γ5: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) (μg/L) και CODsol (mg/L) στην έξοδο των αντιδραστήρων για όλη την περίοδο λειτουργίας τους

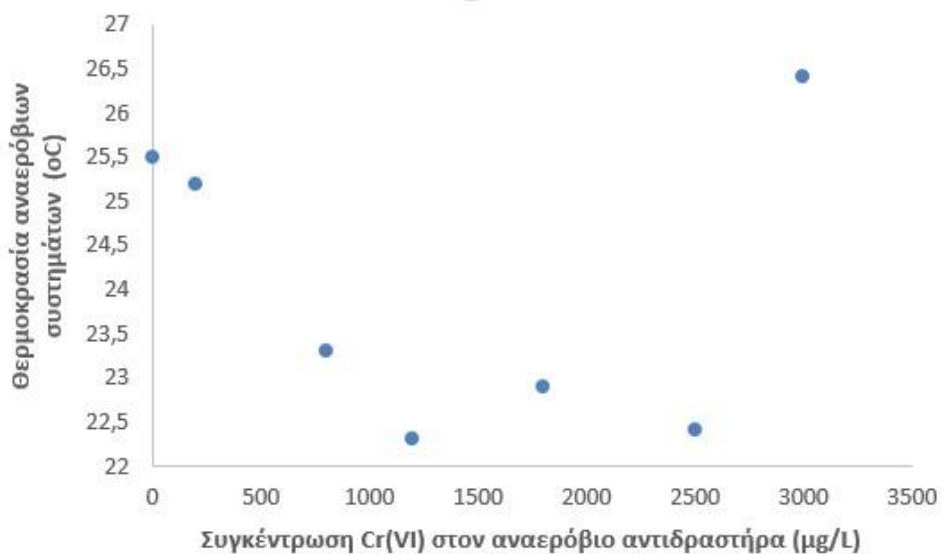


Διάγραμμα Γ6: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS/TSS στο ανάμικτο νερό και στην έξοδο των αντιδραστήρων αντίστοιχα για όλη την περίοδο λειτουργίας τους (mg/L)

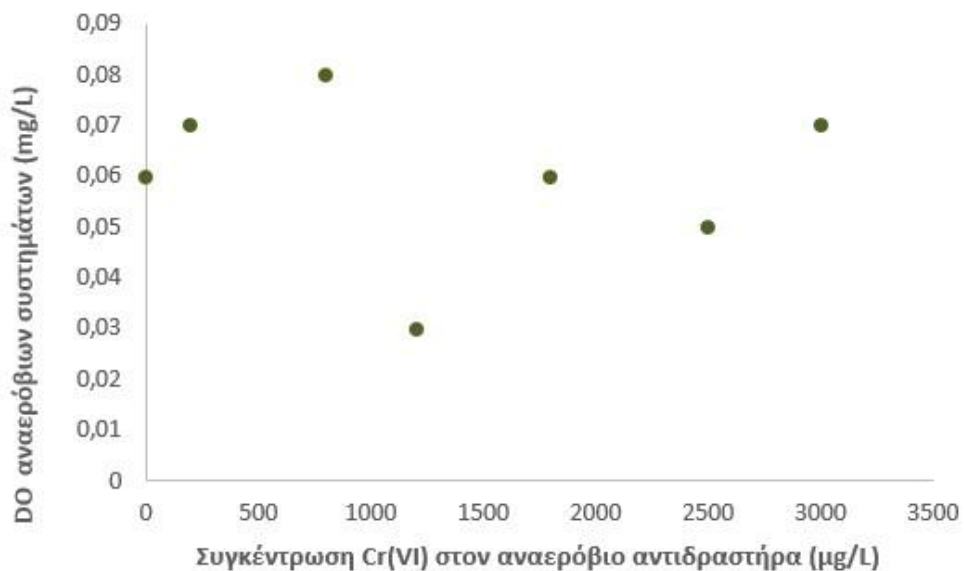
Δ1. Λειτουργικά και πειραματικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση αναερόβιων αντιδραστήρων



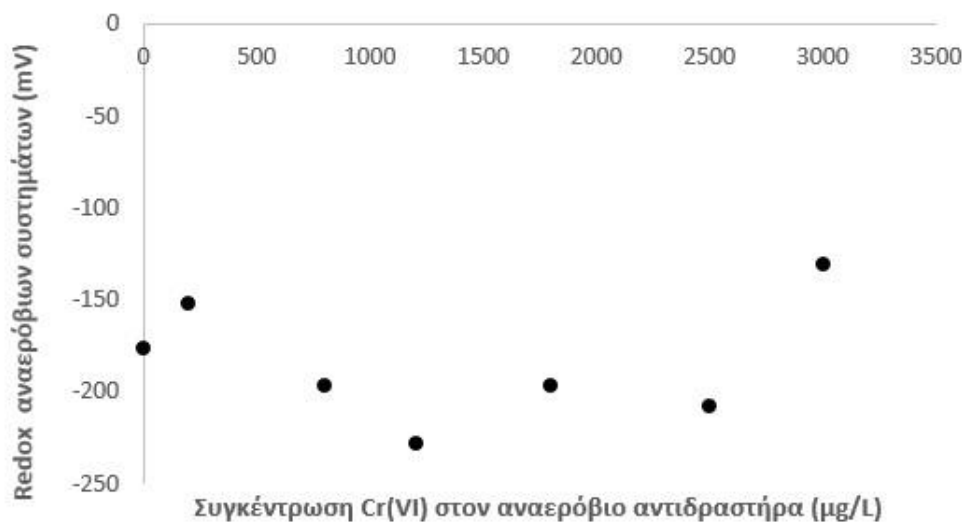
Διάγραμμα Δ1: Μέσος όρος μετρήσεων pH των αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



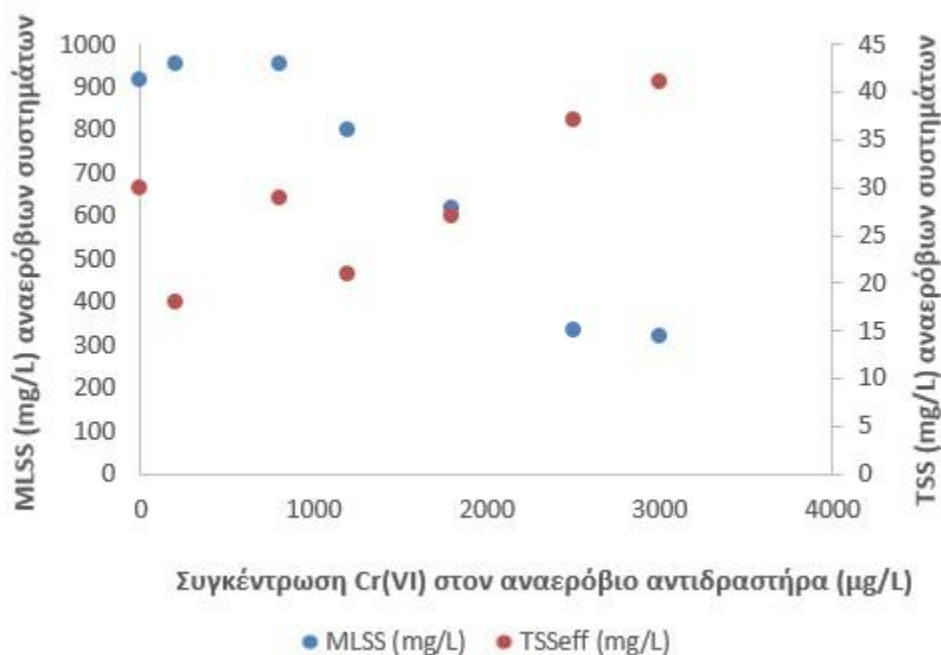
Διάγραμμα Δ2: Μέσος όρος μετρήσεων θερμοκρασίας (°C) των αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



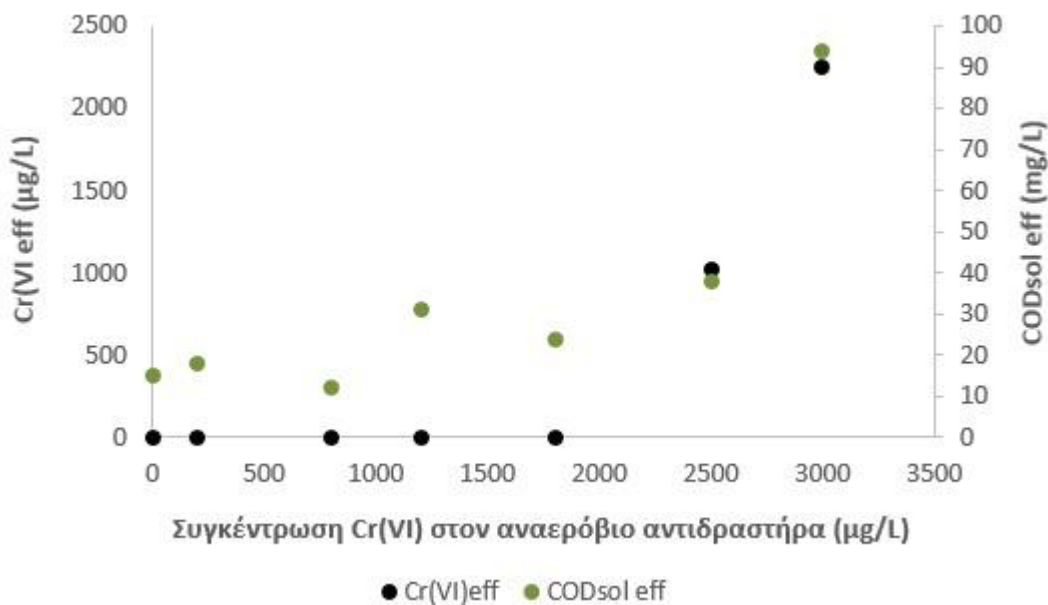
Διάγραμμα Δ3: Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) των αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



Διάγραμμα Δ4: Μέσος όρος μετρήσεων δυναμικού οξειδοαναγωγής (mV) των αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε

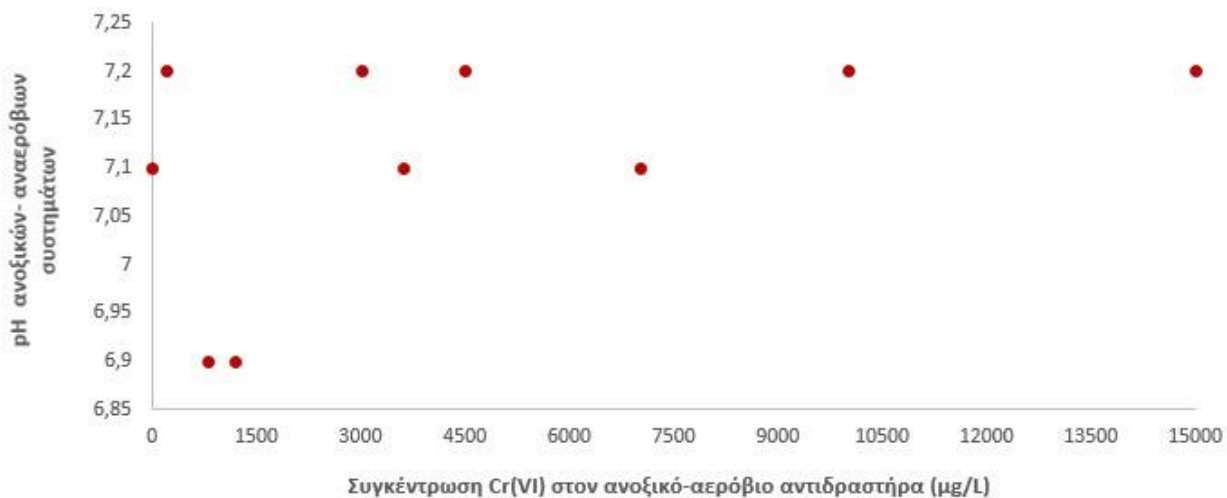


Διάγραμμα Δ5: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS/TSS στο ανάμικτο νερό και στην έξοδο των αναερόβιων αντιδραστήρων αντίστοιχα για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε

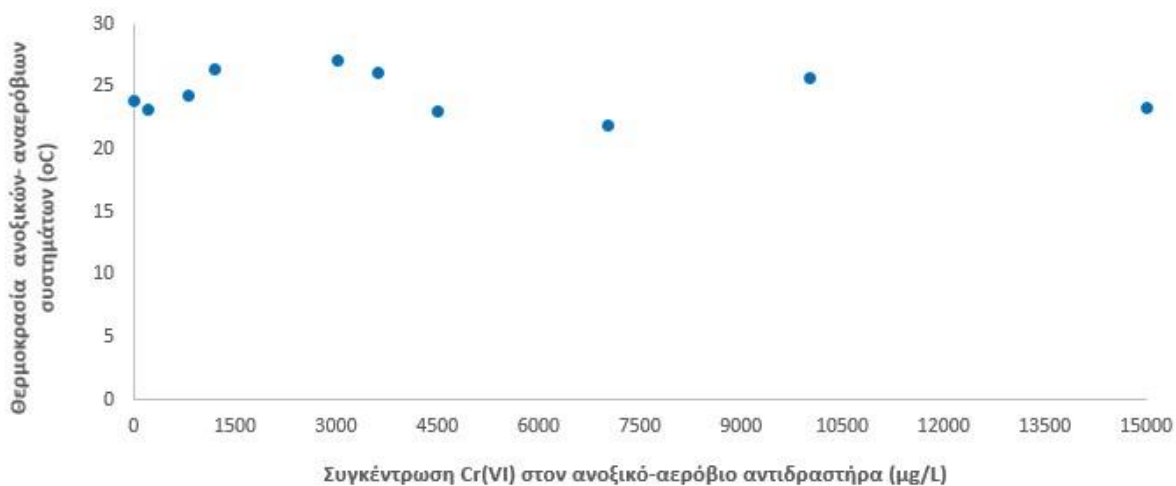


Διάγραμμα Δ6: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) και CODsol και στην έξοδο των αναερόβιων αντιδραστήρων αντίστοιχα για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε

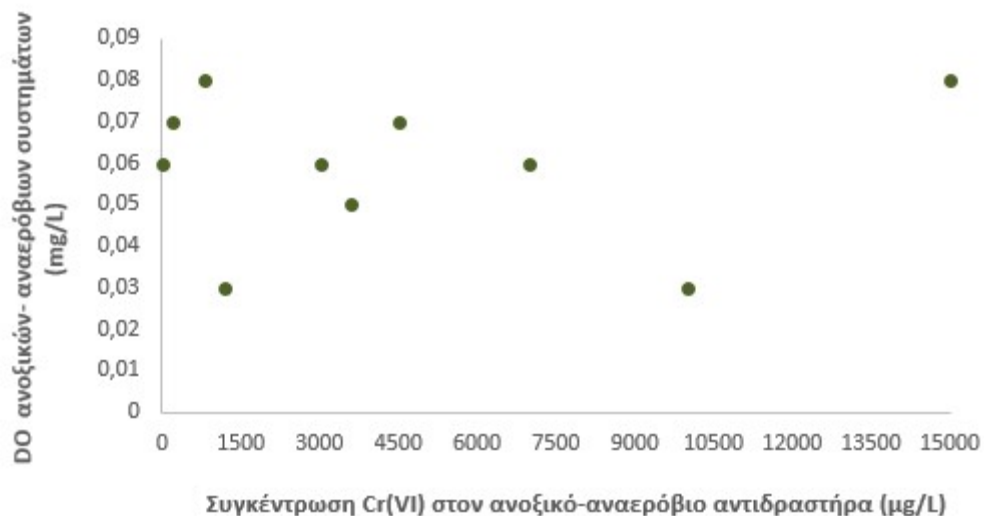
Δ2. Λειτουργικά και πειραματικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση ανοξικών-αναερόβιων αντιδραστήρων



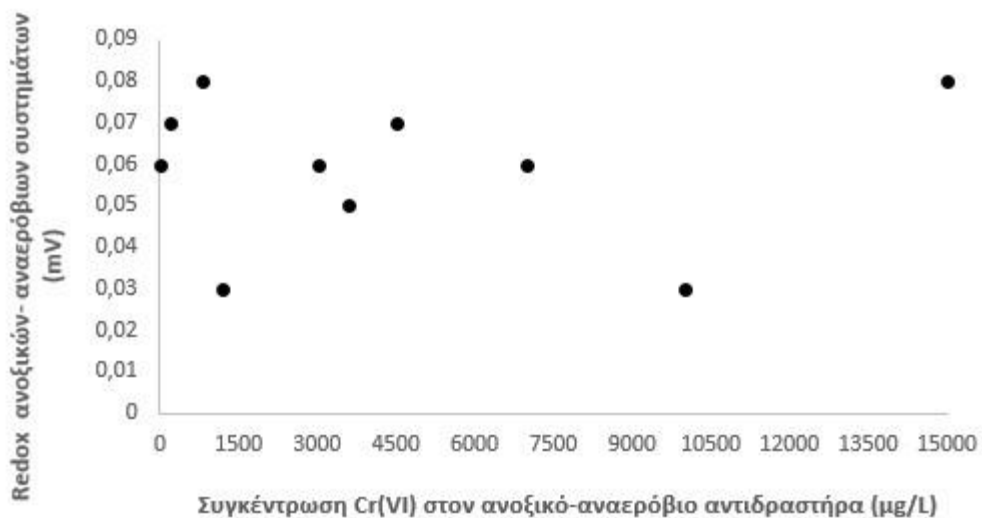
Διάγραμμα Δ7: Μέσος όρος μετρήσεων pH των ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



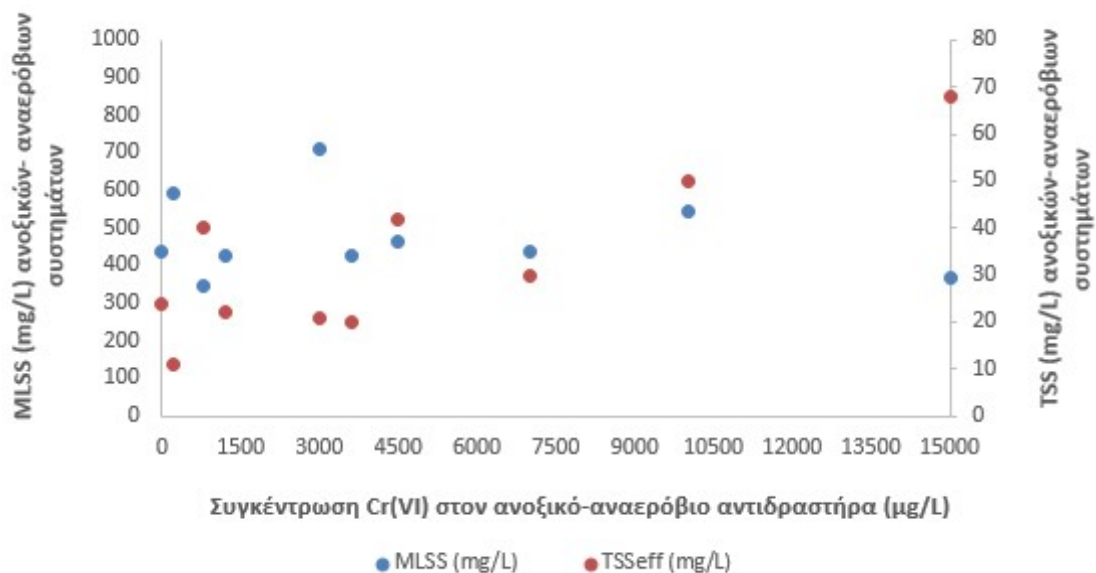
Διάγραμμα Δ8: Μέσος όρος μετρήσεων θερμοκρασίας (°C) των ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



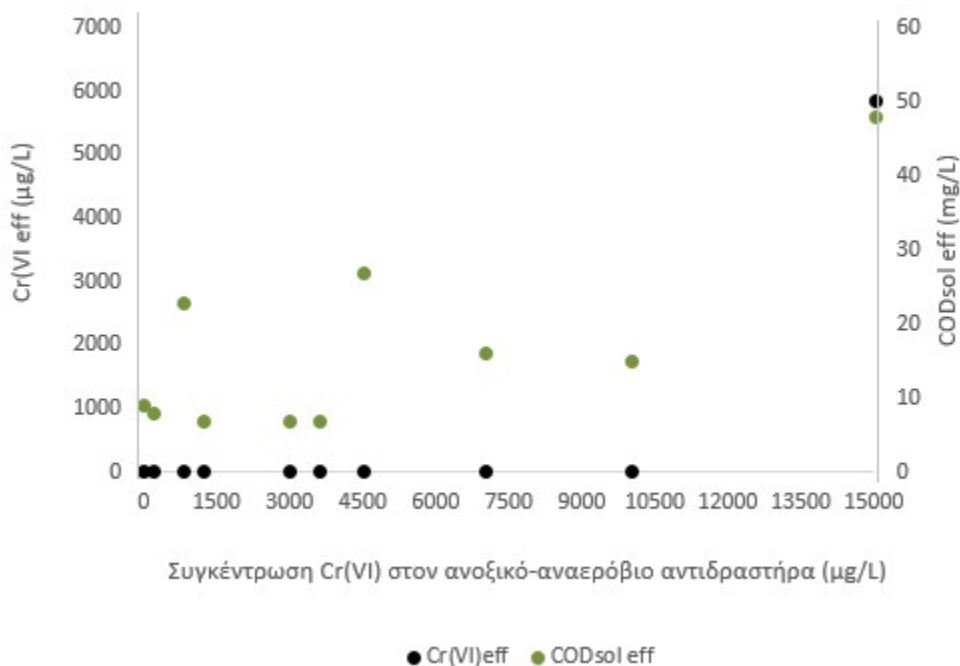
Διάγραμμα Δ9: Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) των ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



Διάγραμμα Δ10: Μέσος όρος μετρήσεων δυναμικού οξειδοαναγωγής (mV) των ανοξικών-αναερόβιων συστημάτων για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



Διάγραμμα Δ11: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS/TSS στο ανάμικτο νερό και στην έξοδο των ανοξικών-αναερόβιων αντιδραστήρων αντίστοιχα για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε



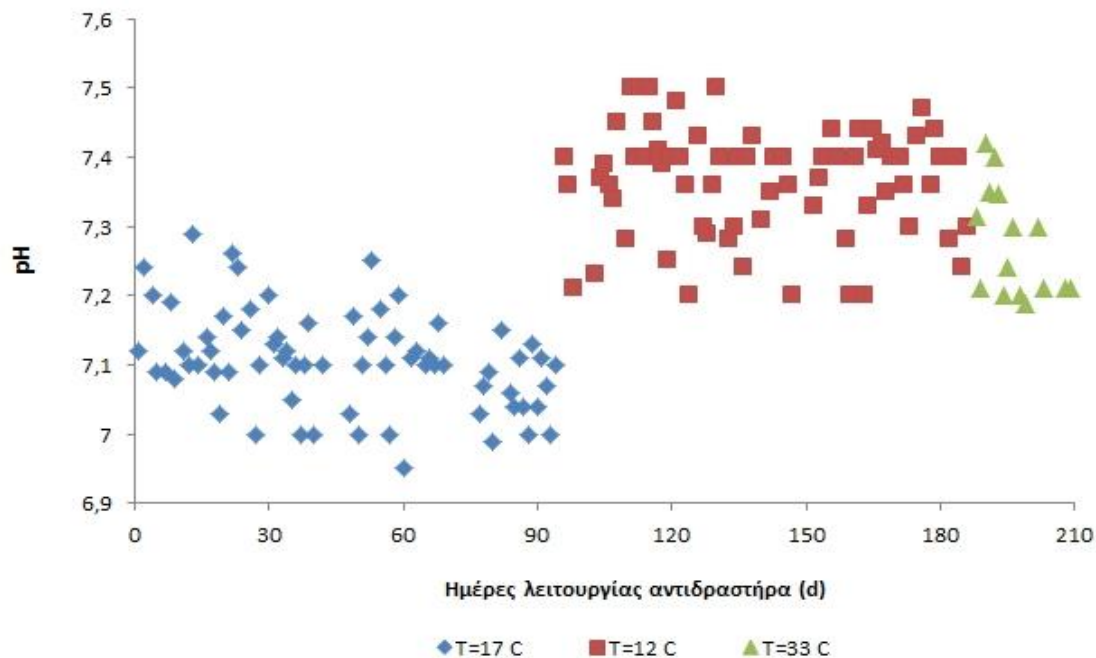
Διάγραμμα Δ12: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) και CODsol eff στην έξοδο των ανοξικών-αναερόβιων αντιδραστήρων αντίστοιχα για κάθε συγκέντρωση Cr(VI) εισόδου που εξετάστηκε

Δ3. Πειραματικά αποτελέσματα ως προς τη μέθοδο μικροσκοπίου FISH

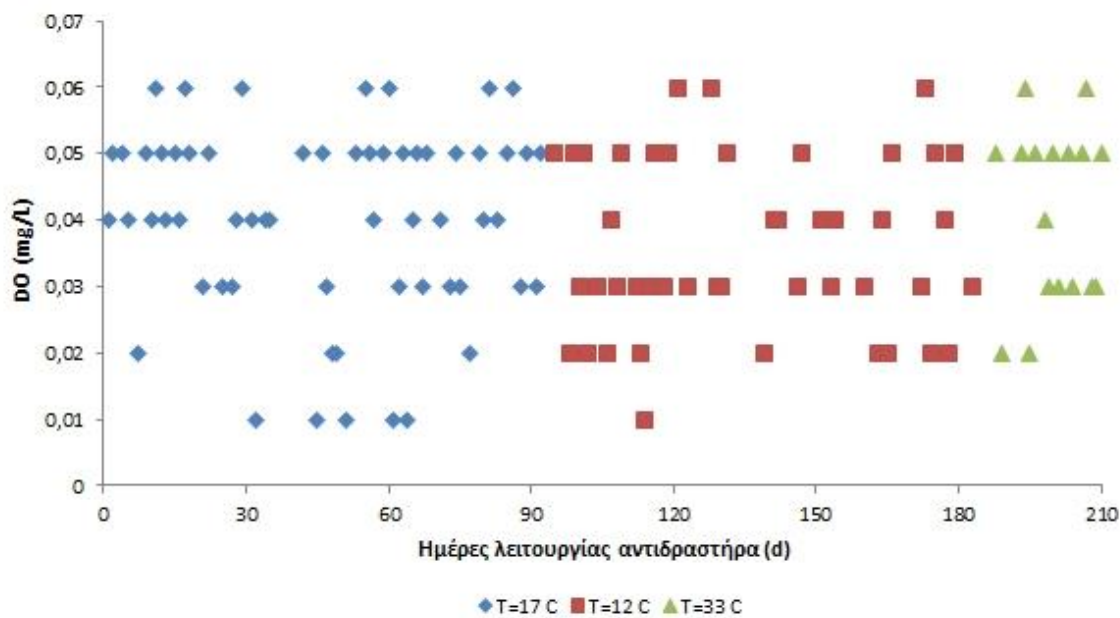
Πίνακας Δ1: Αποτελέσματα του ποσοστού των βακτηρίων που απομονώθηκαν στους υπό εξέταση αντιδραστήρες 1, 2, 3, 4

Ημ/νία.	Ημέρα	Cr (VI)	ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ 1 (ΕΙΔΟΣ ΔΟΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ: ΤΥΡΟΓΑΛΟ)								
Πειράμ.	Εγκλιματ.	mg/L	EUB	GAM	PAE	ARCH	MSMX	DELTA	DSBAC	Clost	AW
13/2/15	232	0,20	56%	4%	0%	3%	2%	28%	1%	3%	1%
7/4/2015	285		54%	6%	0%	3%	1%	23%	2%	6%	0%
21/4/25	299		59%	5%	0%	2%	1%	21%	2%	0%	0%
Ημ/νία.	Ημέρα	Cr (VI)	ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ 2 (ΕΙΔΟΣ ΔΟΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ: ΓΑΛΑ -ΖΑΧΑΡΗ)								
Πειράμ.	Εγκλιματ.	mg/L	EUB	GAM	PAE	ARCH	MSMX	DELTA	DSBAC	Clost	AW
13/2/15	6	2,5	54%	2%	0%	1%	1%	15%	2%	5%	6%
7/4/2015	1	0,20	41%	5%	0%	2%	0%	14%	2%	6%	3%
21/4/25	15		55%	4%	0%	4%	1%	7%	3%	0%	0%
Ημ/νία.	Ημέρα	Cr (VI)	ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΣ 3 (ΕΙΔΟΣ ΔΟΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ: ΖΑΧΑΡΗ)								
Πειράμ.	Εγκλιματ.	mg/L	EUB	GAM	PAE	ARCH	MSMX	DELTA	DSBAC	Clost	AW
13/2/15	92	0,20	56%	3%	0%	2%	1%	14%	2%	0%	1%
7/4/2015	145		67%	6%	0%	3%	1%	20%	1%	1%	1%
21/4/25	159		54%	7%	2%	1%	2%	15%	1%	0%	0%
Ημ/νία.	Ημέρα	Cr (VI)	ΑΝΟΞ.-ΑΝΑΕΡΟΒ.4 (ΕΙΔΟΣ ΔΟΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝ.: ΓΑΛΑ -ΖΑΧΑΡΗ)								
Πειράμ.	Εγκλιματ.	mg/L	EUB	GAM	PAE	ARCH	MSMX	DELTA	DSBAC	Clost	AW
13/2/15	11	7	56%	23%	4%	2%	1%	29%	5%	2%	7%
7/4/2015	64		42%	22%	4%	2%	0%	35%	1%	0%	4%
21/4/25	6	10	54%	10%	1%	5%	0%	21%	5%	4%	2%
30/5/15	12	15	54%	3%	1%	5%	0%	18%	5%	4%	2%

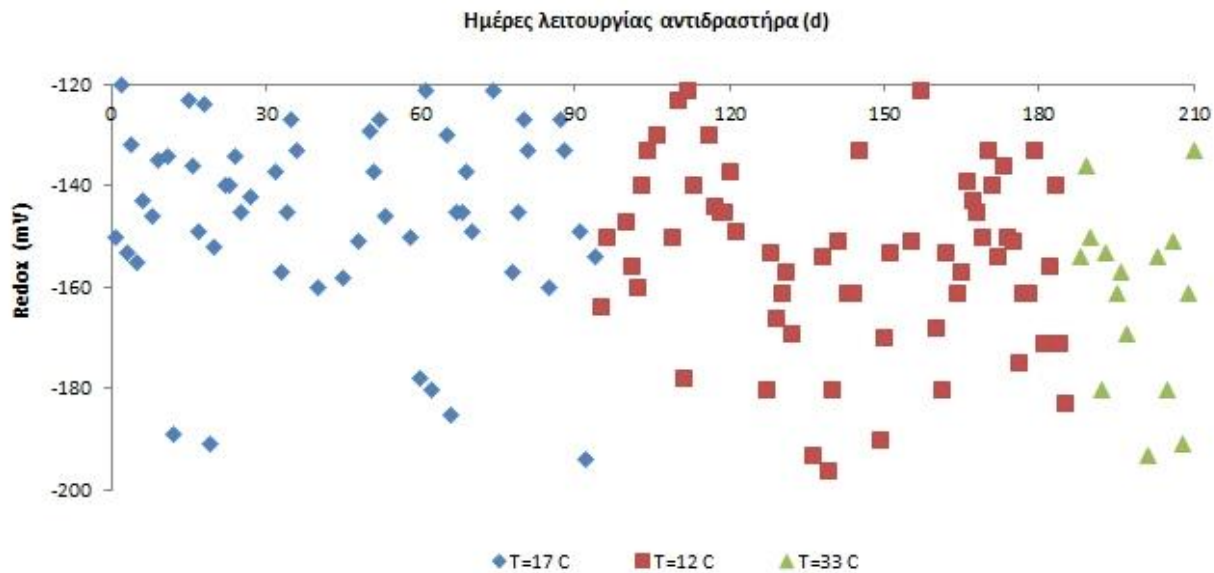
Ε1. Λειτουργικά χαρακτηριστικά υπό εξέταση αντιδραστήρων



Διάγραμμα Ε1: Μετρήσεις pH του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του

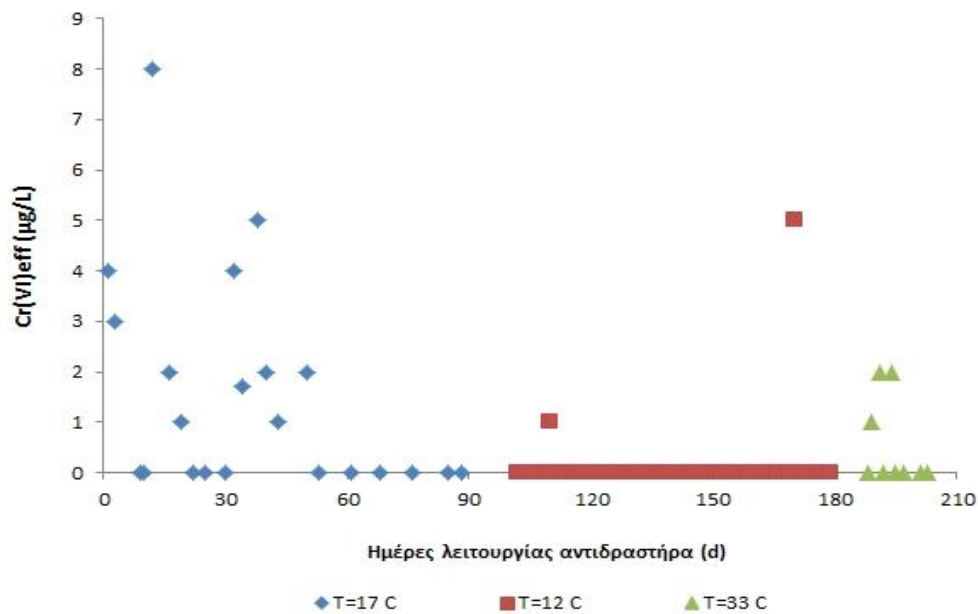


Διάγραμμα Ε2: Μετρήσεις διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του

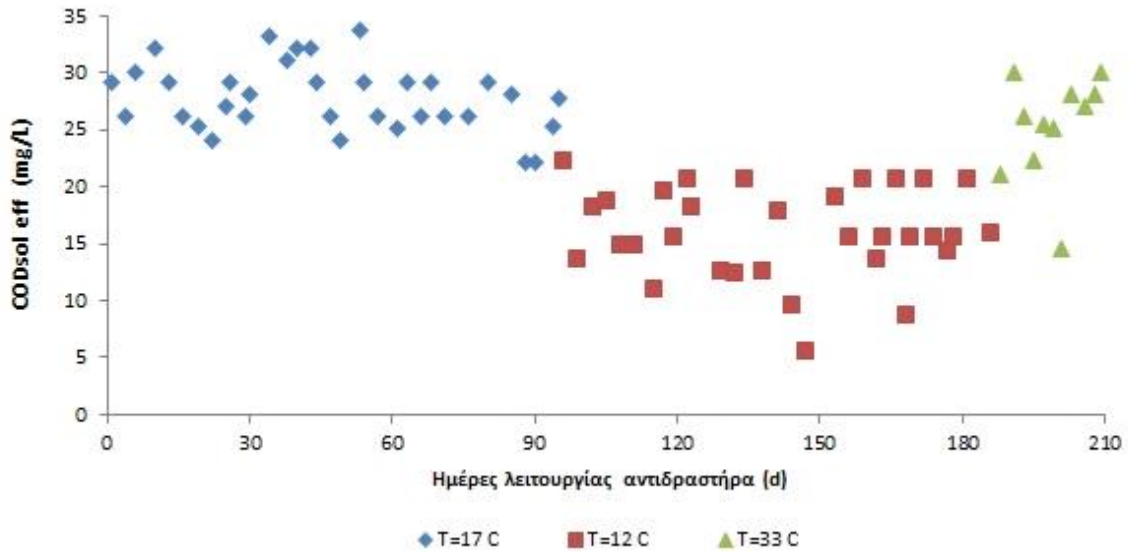


Διάγραμμα E3: Μετρήσεις οξειδοαναγωγικών συνθηκών (mV) του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του

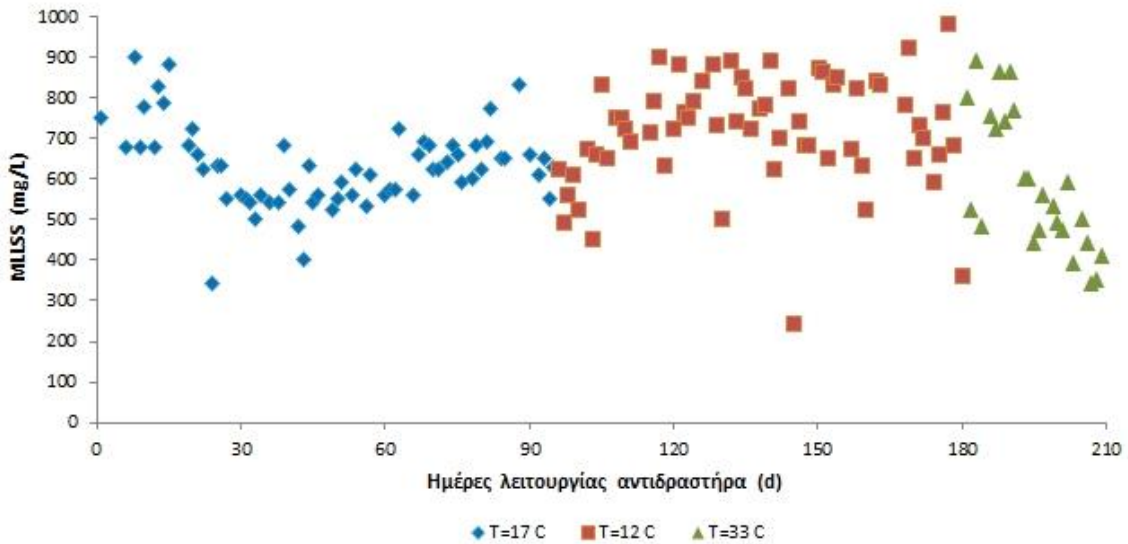
E2. Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αντιδραστήρων



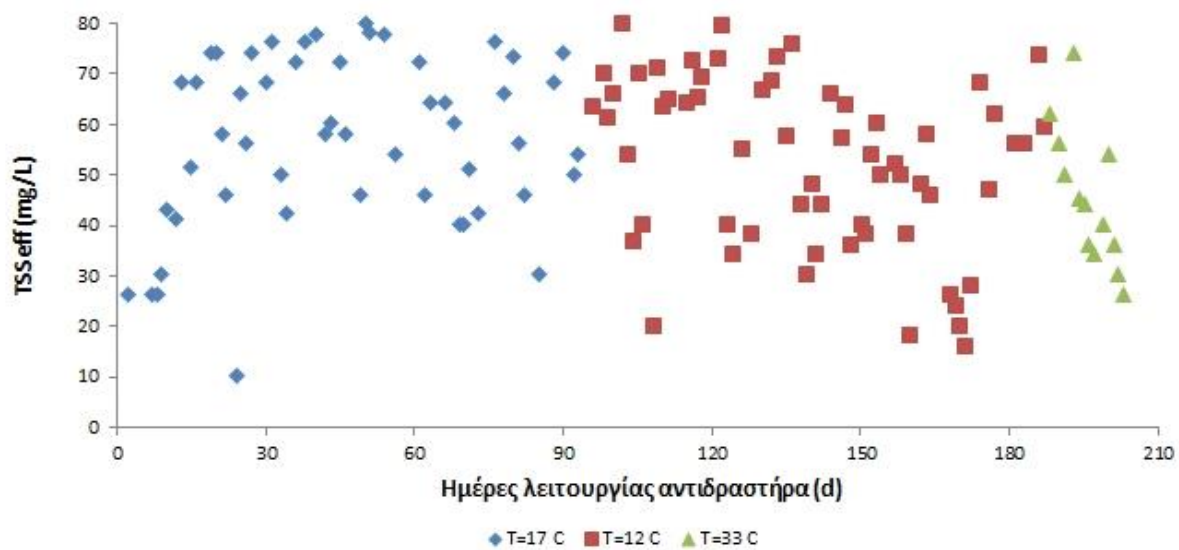
Διάγραμμα E4: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) (µg/L) στην έξοδο του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του



Διάγραμμα Ε5: Μετρήσεις συγκέντρωσης CODsol (mg/L) στην έξοδο του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του

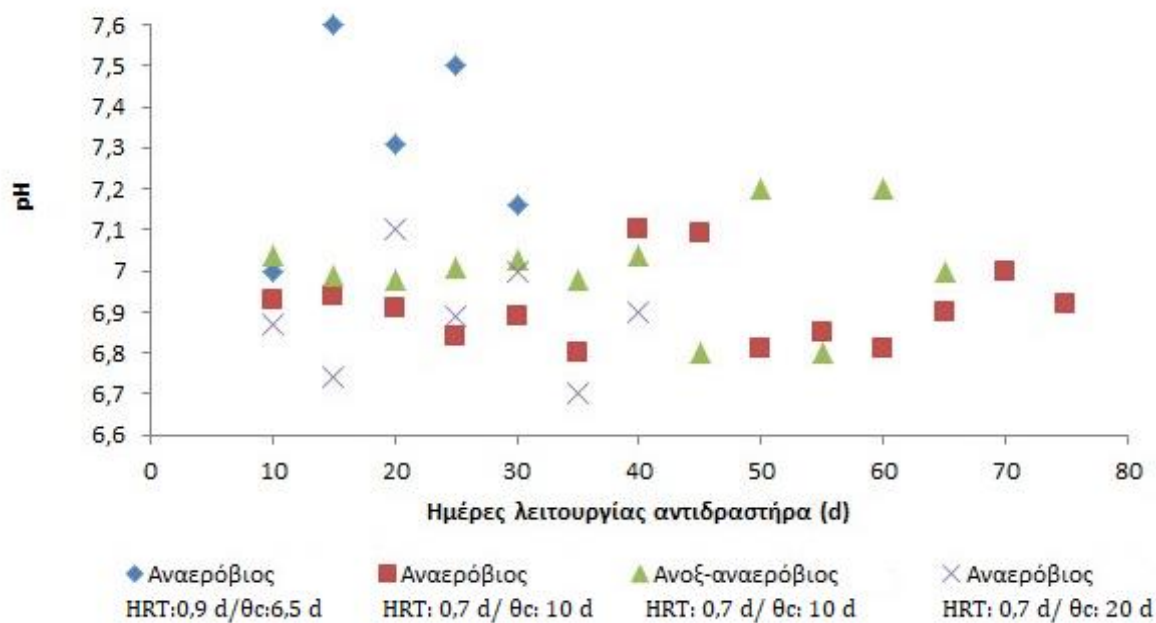


Διάγραμμα Ε6: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS (mg/L) στο ανάμικτο νερό του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του

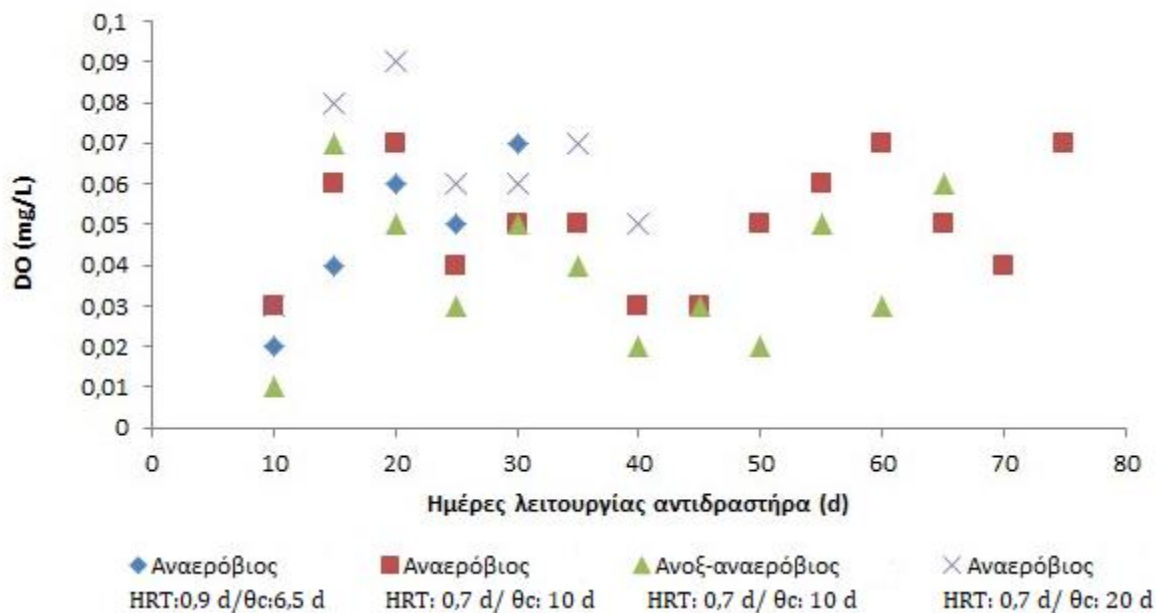


Διάγραμμα Ε7: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών TSS (mg/L) στην έξοδο του αναερόβιου αντιδραστήρα για κάθε θερμοκρασιακή συνθήκη λειτουργίας του

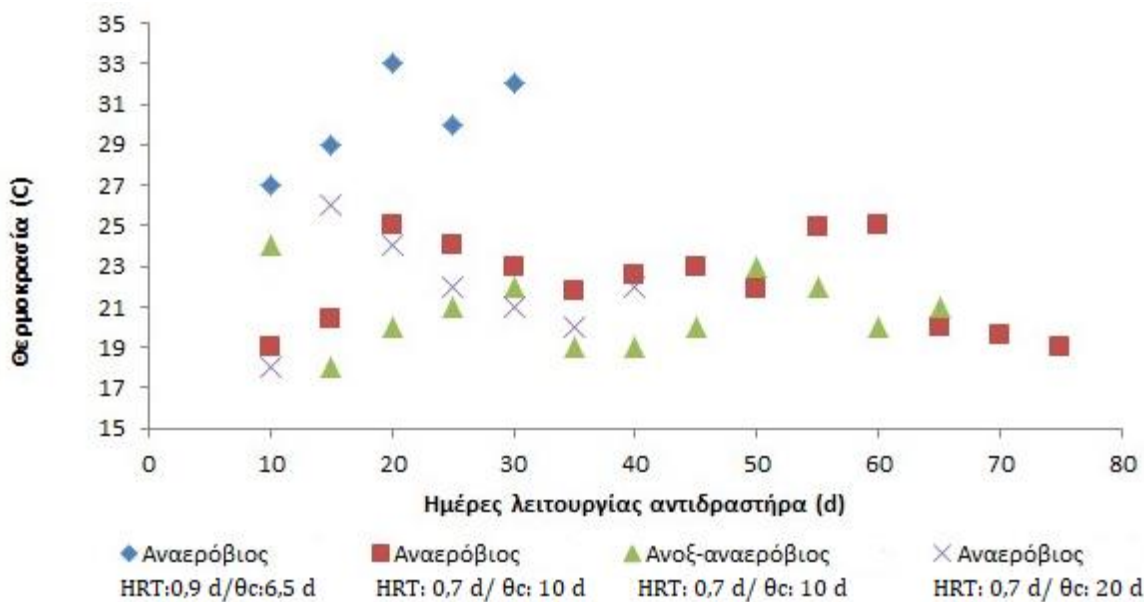
Z1. Λειτουργικά χαρακτηριστικά υπό εξέταση αντιδραστήρων



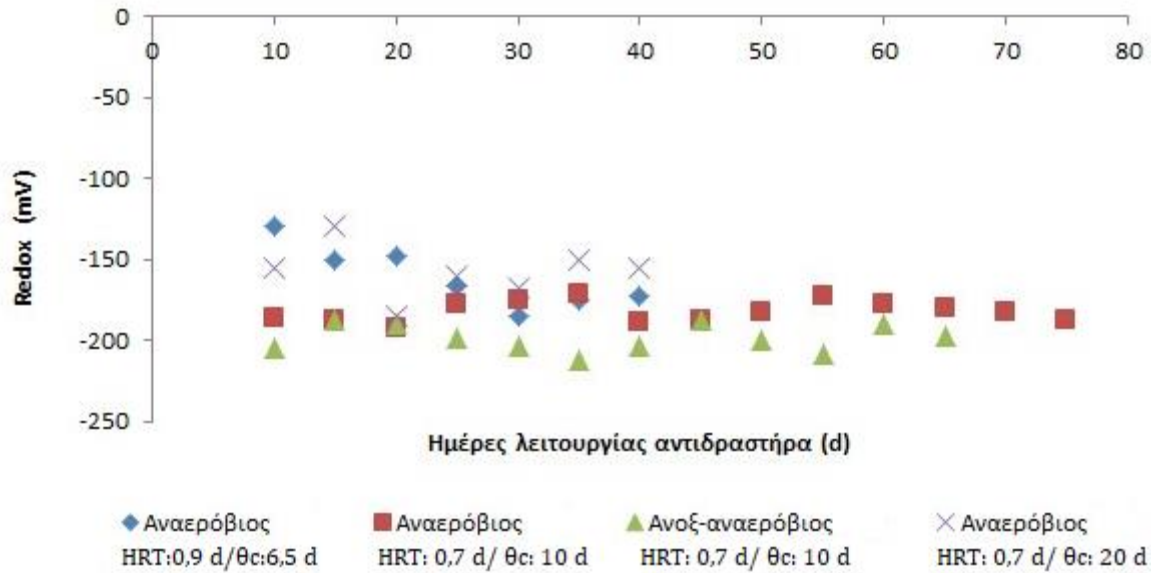
Διάγραμμα Z1.: Μέσος όρος μετρήσεων pH για κάθε πέντε ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα



Διάγραμμα Z2: Μέσος όρος μετρήσεων διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) για κάθε πέντε ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

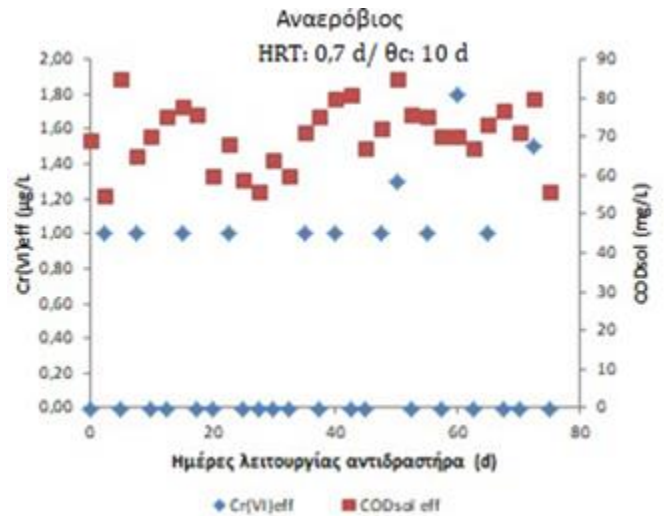
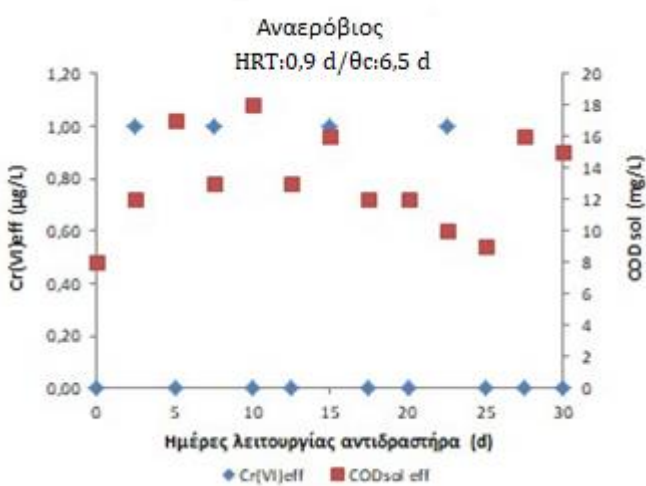


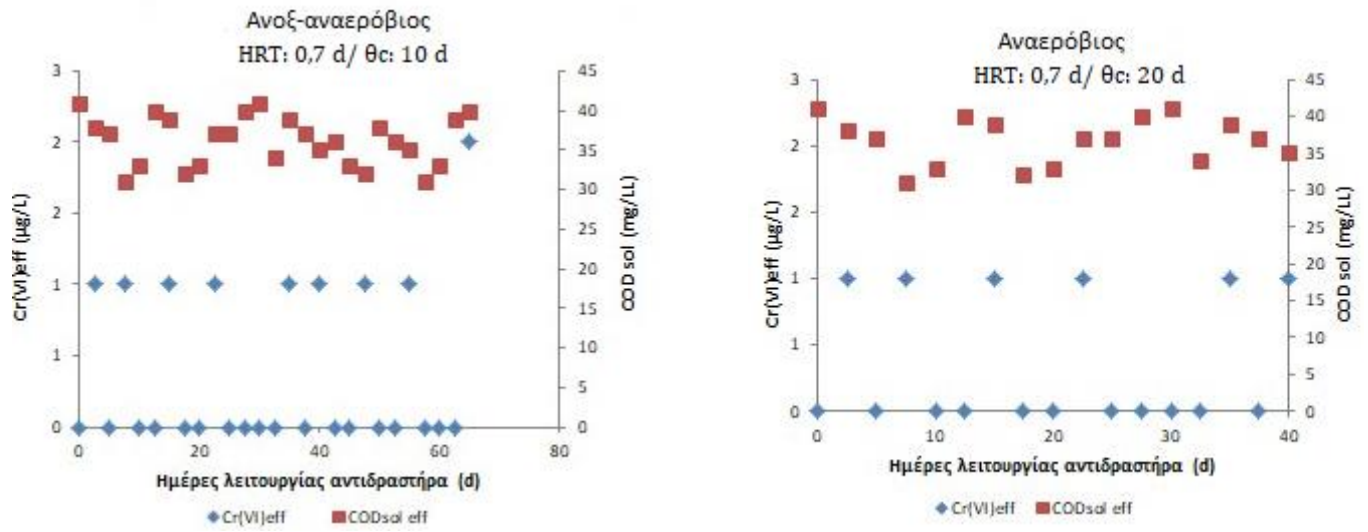
Διάγραμμα Z3: Μέσος όρος μετρήσεων θερμοκρασίας (°C) για κάθε πέντε ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα Μετρήσεις οξειδοαναγωγικών συνθηκών (mV)



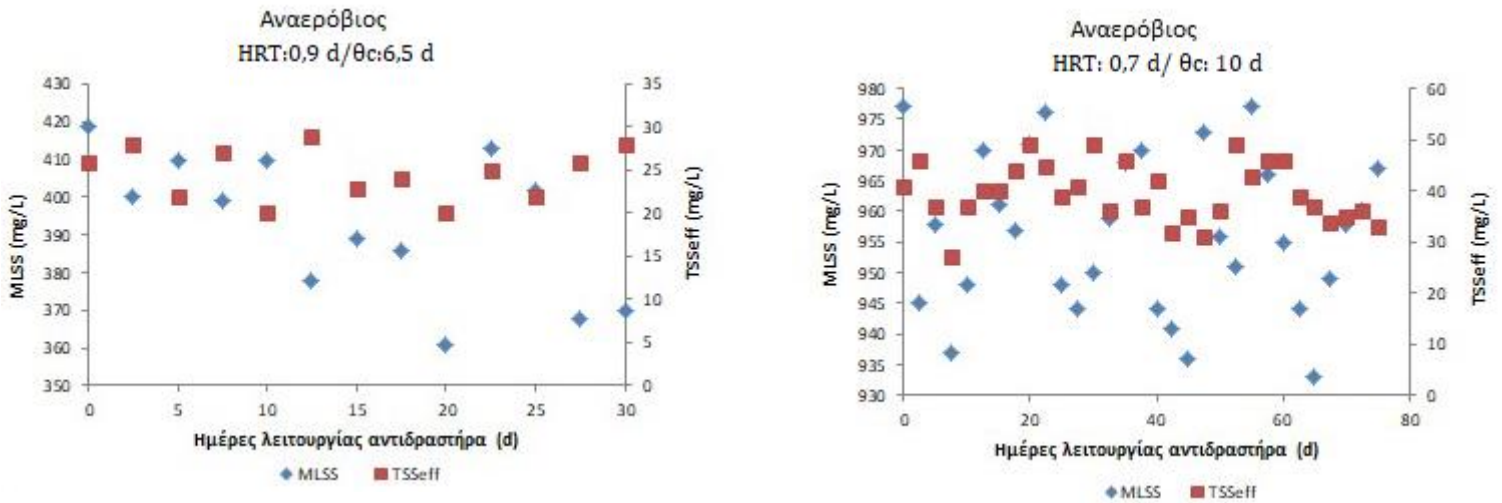
Διάγραμμα Z4: Μέσος όρος μετρήσεων οξειδοαναγωγικών συνθηκών (mV) για κάθε πέντε ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

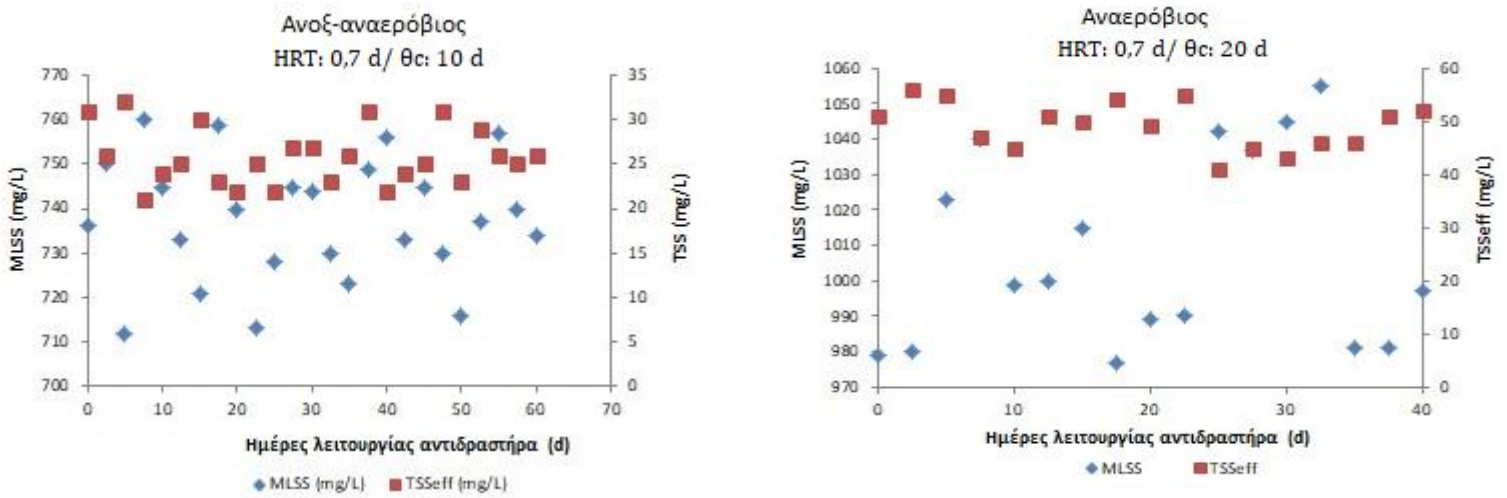
Z2. Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αντιδραστήρων





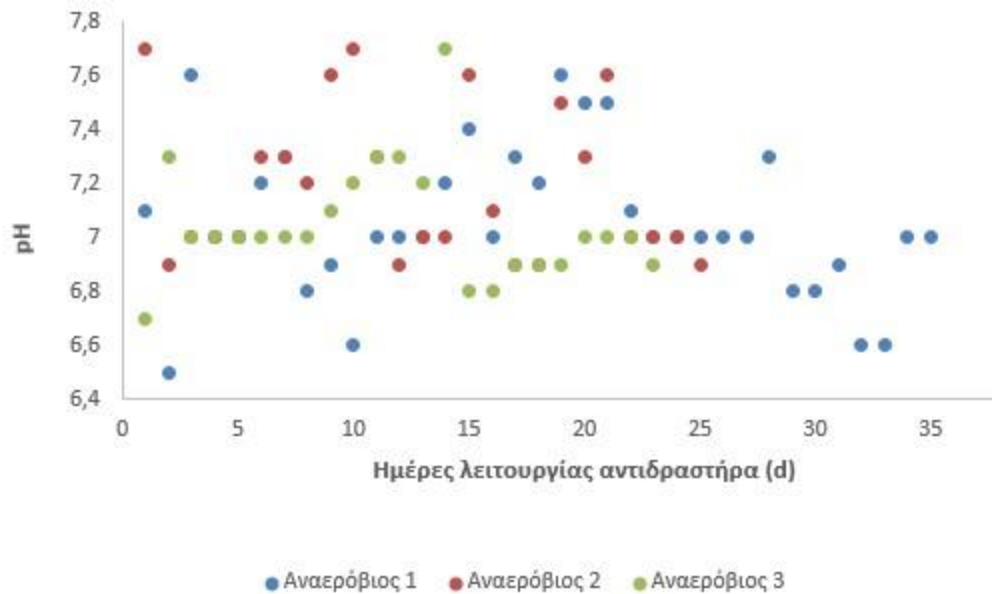
Διάγραμμα Ζ5: Μετρήσεις συγκέντρωσης Cr(VI) (μg/L) και CODsol (mg/L) στην έξοδο των αντιδραστήρων για όλη την περίοδο λειτουργίας τους



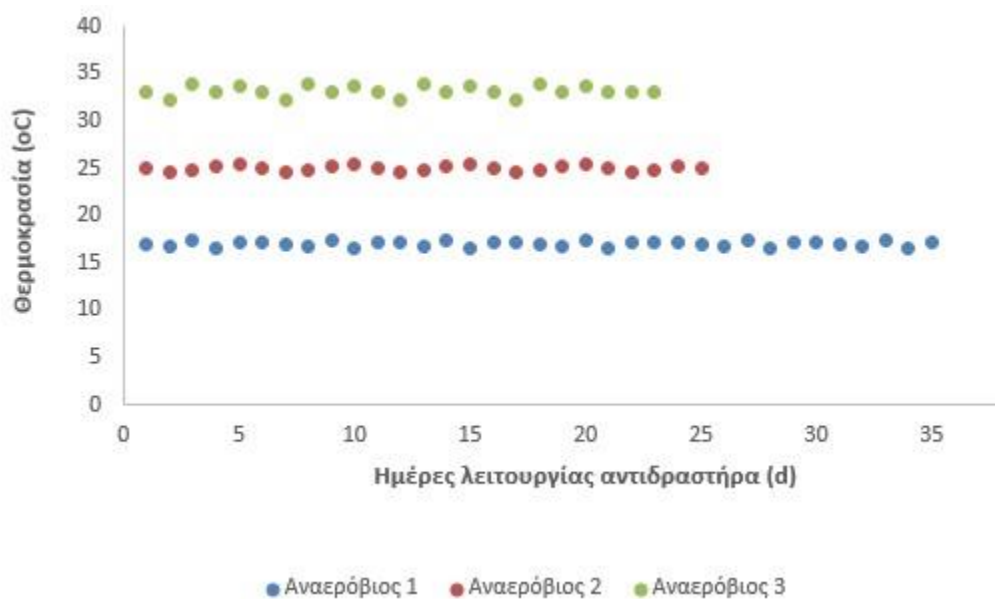


Διάγραμμα Z6: Μετρήσεις συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών MLSS/TSS στο ανάμικτο νερό και στην έξοδο των αντιδραστήρων αντίστοιχα για όλη την περίοδο λειτουργίας τους (mg/L)

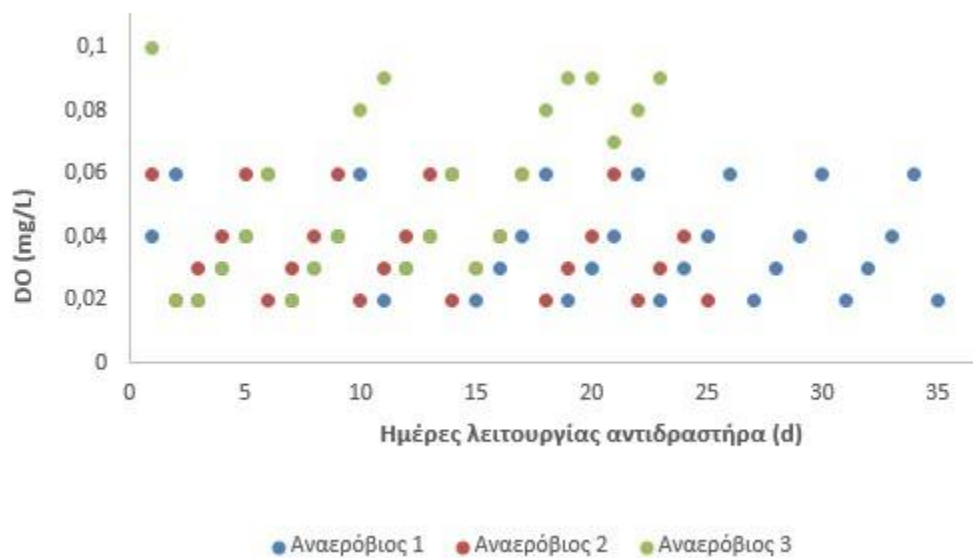
H1. Λειτουργικά χαρακτηριστικά υπό εξέταση αντιδραστήρων



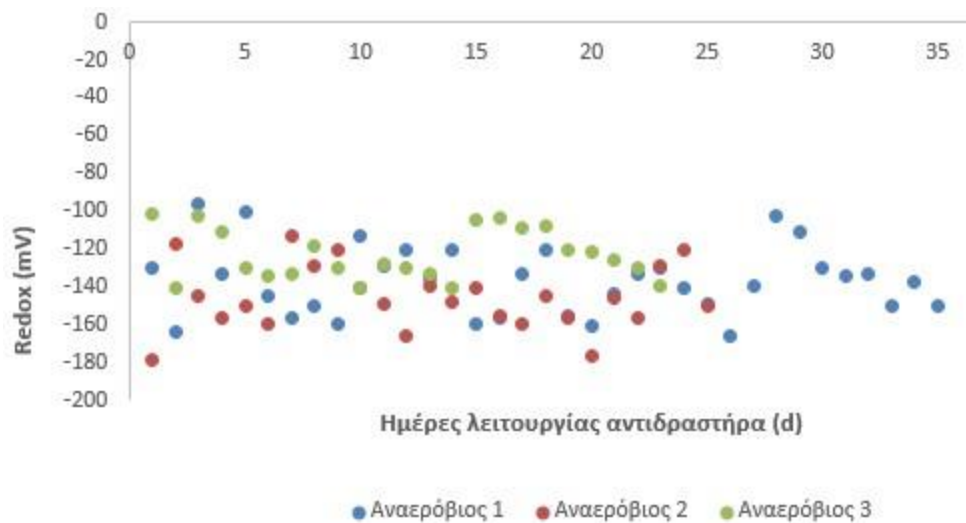
Διάγραμμα H1: Μετρήσεις pH για τις ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα



Διάγραμμα Η2: Μετρήσεις θερμοκρασίας (oC) για τις ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

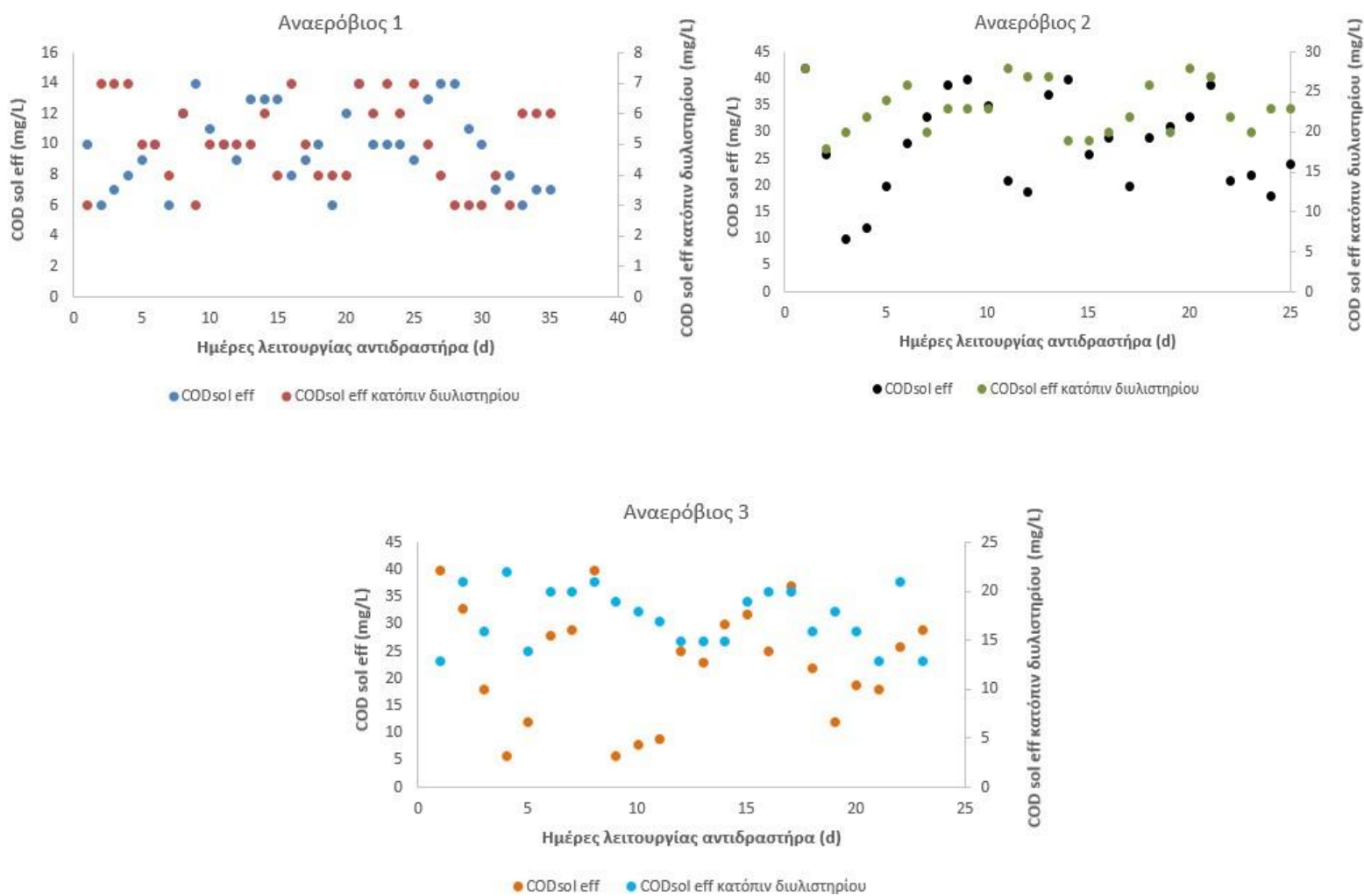


Διάγραμμα Η3: Μετρήσεις διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) για τις ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

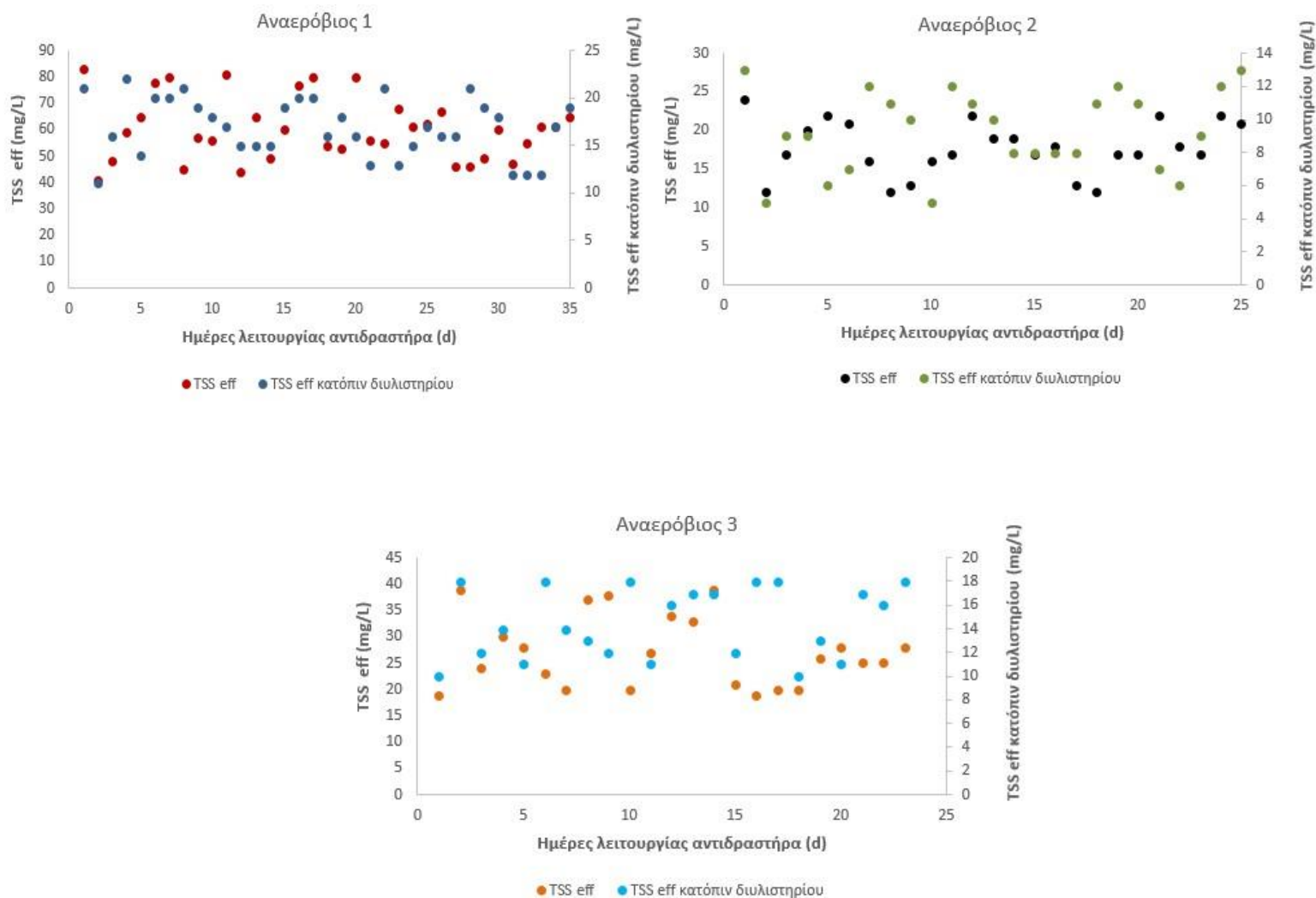


Διάγραμμα Η4: Μετρήσεις δυναμικού οξειδοαναγωγής (mV) για τις ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

H2. Πειραματικά αποτελέσματα των υπό εξέταση αντιδραστήρων



Διάγραμμα Η5: Μετρήσεις διαλυτού COD (mg/L) στην έξοδο και διαλυτού COD (mg/L) μετά τη διέλευση από το αμμόφιλτρο, για τις ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα



Διάγραμμα Η6: Μετρήσεις ολικών αιωρούμενων στερεών TSS (mg/L) στην έξοδο και διαλυτού TSS (mg/L) μετά τη διέλευση από το αμμόφιλτρο, για τις ημέρες λειτουργίας του έκαστου αντιδραστήρα

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Ackerley, D.F., Barak, Y., Lynch, S.V., Curtin, J., Matin, A. (2006). Effect of chromate stress on *Escherichia coli* K-12, *Journal of Bacteriol.* 188 (9), pp 3371–3381.
- Ackerley, D.F., Gonzalez, C.F., Park, C.H., Blake II, R., Keyhan, M., Matin, A. (2004a). Chromate-reducing properties of soluble flavoproteins from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*, *Journal of Environ. Microbiol*, 70 (2), pp 873-882.
- Ackerley, D.F., Gonzalez, C.F., Keyhan, M., Blake, R., Matin, A. (2004b). Mechanism of chromate reduction by the *Escherichia coli* protein, NfsA and the role of different chromate reductases in minimizing oxidative stress during chromate reduction, *Journal of Environ. Microbiol.* 6 (8), pp 851-860.
- Adriano, D.C. (2001). Trace elements in terrestrial environments, *Journal of Biochemistry, bioavailability and risks of metals* (2nd ed.). New York, NY: Springer.
- Ahmed, Z., and Abdul, R. (2009). Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater, *Journal of Environmental Sciences* 21, pp 814-820.
- Alvarez, A.H., Moreno-Sanchez, R., and Cervantes, C. (1999). Chromate efflux by means of the ChrA chromate resistance protein from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriol.* 181 (23), pp 7398-7400.
- Alvarino, T., Katsou, E., Malamis, S., Suarez, S., Omil, F., Fatone, F. (2013). Inhibition of biomass activity in the via nitrite nitrogen removal processes by veterinary pharmaceuticals, *Journal of Bioresource Technology* 152, pp 477- 483.
- Andres, Y., Thouand, G., Boualam, M., Mergeay, M. (2000). Factors influencing the biosorption of gadolinium by microorganisms and its mobilization from sand. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 54 (2), pp 262–267.
- Angelidaki, I., and Ahring, B. (1993). Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia, *Journal of Microbol Biotechnol.*, 38, pp 560-564.
- Ajmal, M., Nomani, A.A., and Ahmad, A. (1984). Acute toxicity of chromate electroplating wastes to microorganisms: adsorption of chromate and chromium (VI) on a mixture of clay and sand. *Journal of Water Air Soil Pollut.*, 23(2), pp 119.
- Albadarin, A.B., Al-Muhtaseb, A.H., Walker, G.M., Allen, S.J., Ahmad, M.N.M. (2011a). Retention of toxic chromium from aqueous phase by H₃PO₄-activated lignin: effect of salts and desorption studies. *Journal of Desalination* 274, pp 64-73.
- Albadarin, A.B., Al-Muhtaseb, A.H., Al-laqtah, N.A., Walker, G.M., Allen, S.J., Ahmad, M.N.M. (2011b). Biosorption of toxic chromium from aqueous phase by lignin: mechanism, effect of other metal ions and salts. *Journal of Chemical Engineering* 169, pp 20-30.

- Albadarin, A.B., Mangwandi, C., Walker, G.M., Allen, S.J., Ahmad, M.N.M. (2011c). Biosorption characteristics of sawdust for the removal of Cd(II) ions: mechanism and thermodynamic studies. *Journal of Chemical Engineering Transactions* 24, pp 1297-1302.
- Almanza, G., Cruz, L.E., Diaz-Baez, M.C. (1996). Rapid toxicity assessment of water-soluble chemicals using a fed-batch reactor technique. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal* 11, pp 273-276.
- Alvarez, A.H., Moreno-S´anchez, R., and Cervantes, C. (1999). Chromate efflux by means of the ChrA chromate resistance protein from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriol.*, 181, pp 7398–7400.
- Amacher, M.C., and Baker, D.E. (1982). Redox reactions involving chromium, plutonium and manganese in soils. Final Report DOE/DP/04515-1, Pennsylvania State Univ., Inst. for Research on Land and Water Resources.
- Anger, G., Halstenberg, J., Hochgeschwender K., Scherhag C., Korallus U., Knopf H., Schmidt P., Ohlinger M. (2000). Chromium Compounds, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim. [doi:10.1002/14356007.a07_067](https://doi.org/10.1002/14356007.a07_067)
- Apel, W.A., and Turick, C.E. (1991). Bioremediation of hexavalent chromium by bacterial reduction, in *Mineral Bioprocessing*, Smith, R. W. and Misra, M., Eds., The Minerals, Journal of Metals, and Materials Society, Pittsburgh, PA, pp 387.
- APHA (2012). Standard methods for examination of water and wastewater, American Public Health Association, 22nd Edition, Washington D.C.
- Ashby, M.F., and Jones, D.R.H. (1998). *An introduction to microstructures, processing, and design*", Oxford, Pergamon Press.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), (2000). Toxicological profile for chromium. US department of Health and Human Services, Atlanta, US.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), (2008). Case Studies in Environmental Medicine (CSEM) Chromium Toxicity, U.S. Department OF Health and Human Services.
- Avigad, G., and Dey, P.M. (1997). Carbohydrate metabolism: Storage carbohydrates, in: *plant biochemistry* (ed. Dey PM & Harborne JB). Academic Press pp 143-204.
- Bae, W.C., Kang, T.G., Kang, I.K., Won, T.I., Jeong, B.C. (2000). Reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli* ATCC33456 in batch and continuouscultures. *Journal of Microbiol.*, 38, pp 36–39.
- Bae, W.C., Lee, H.K., Choe, Y.C., Jahng, D.K., Lee, S.H., Kim, S.J., Lee, J.H., Jeong, B.C. (2005). Purification and characterization of NADPH dependent Cr (VI) reductase from *Escherichia coli* ATCC 33456. *Journal of Microbiol.* 43 (1), pp 21-27.
- Baes, C.F., and Mesmer, R.E. (1976). *The Hydrolysis of Cations*, Wiley, New York.
- Bailey, S.E., Olin, T.J., Bricka, R.M., Adrian, D.D. (1999). A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals, *Journal of Water Resources*, 33, 11, pp 2469–2479.

- Bagby, M.M., and Sherrard, J.H. (1981). Combined effects of cadmium and nickel on the activated sludge process, *Journal of Water Pollut. Control Federation* 53 (11), pp 1609–1619.
- Ball, J.W., and Nordstrom, D.K. (1998). Critical evaluation and selection of standard state thermodynamic properties for chromium metal and its aqueous ions, hydrolysis species, oxides, *Journal of Chem. Engng. Data* 43, pp 895-918.
- Barrera-Diaz, C.E., Lugo-Lugo, V., and Bilyeu, B. (2012). A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction. *Journal of Hazard., Mater.* 223-224, pp 1-12.
- Barth, E.F., Ettinger, M.B., Salotto, B.V., McDermott, G.N. (1965). Summary report on the effects of heavy metals on the biological treatment processes. *Journal of Water Pollut. Control Fed.*, 37(1), pp 86.
- Barth, E.F. (1975). The effects and removal of heavy metals in biological treatment, in: P.A. Krenkel (Ed.), *Heavy Metals in Aquatic Environment*, Pergamon Press, Oxford.
- Bartlett, R.J., and Kimble, J.M. (1976). Behavior of chromium in soils, I. Trivalent forms, II. Hexavalent forms, *Journal of Environ. Qual.*, vol. 5, pp 379–386.
- Bartlett, R. J., and James, B. (1979). Behavior of chromium in soils. II. Oxidation. *Journal of Envir. Qual.* 8, pp 3-35.
- Bartlett, R.J. (1991). Chromium cycling in soils and water: links, gaps and methods, *Journal of Environ. Health Pers.* 92, pp 17–24.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist H., Vavilin V.A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1), *Journal of Water Science and Technology* Vol 45 No 10, pp 65–73.
- Battistoni, P., Fava, G., Stanzini, C., Cecchi, F., Bassetti, A. (1993). Feed and digester operative conditions as parameters affecting the rheology of digested municipal solid wastes, *Journal of Water Science and Technology*, 27(2), pp 37-45.
- Benjamin, M.M., and Bloom, N.S. (1981). Effect of strong binding of anionic adsorbates on adsorption of trace metals on amorphous iron oxyhydroxide, in *Adsorption from Aqueous Solution*, Tewari, P.H., Ed., Plenum Press, New York, NY, pp 41–60.
- Bitton, G. (1999). *Wastewater microbiology*, Wiley-Liss, 3rd Edition, New York, USA, pp. 46-49, pp 62-68.
- Blowes, D.W., and Ptacek, C.J. (1992). Geochemical Remediation of Groundwater by Permeable Reactive Walls: Removal of Chromate by Reaction with Iron-Bearing Solids. *Proceeding of the Subsurface Restoration Conference*, June 21-24, Dallas, TX: pp 214-216.
- Brodie, E., Joyner, D.C., Faybishenko, E., Conrad, B., Rios-Velazquez, M.E., Malave, C., Martinez, J., Mork, R., Willett, B., Koenigsberg, A., Herman, S., Firestone, D.J., Hazen, M.K., (2011). Microbila community response to addition of polylactate compounds to stimulate hexavalent chromium 399 reduction in groundwater. *Journal of Chemosphere* 85, pp 660 – 665.

- Bopp, L.H. (1984). Microbial Removal of Chromate from Contaminated Waste Water. U.S. Patent No 4, pp 461-468.
- Brookins, D.G. (1987). Eh-pH Diagrams for Geochemistry, Springer-Verlag, New York, pp 176.
- Brandhuber, P., Frey, M., McGuire, M.J., Chao, P.F., Seidel, C., Amy, G., Yoon, J., McNeill, L., Banerjee, K. (2005). Low Level Hexavalent Chromium Treatment Options: Bench Scale Evaluation, Publisher AwwaRF.
- Brown, M.J., and Lester, J.N. (1982). Role of bacterial extracellular polymers in metal uptake in pure bacterial culture and activated sludge. I. Effects of metal concentration, Journal of Water Res., 16, pp 1539.
- Brunauer, S., Emmett, P.H., and Teller, E., (1938). Adsorption of Gases in Multimolecular Layers, Journal of Am. Chem. Soc., vol. 60, no. 2, pp 309–319.
- Busch, P.L., and Stumm, W. (1968). Chemical interactions in the aggregation of bacteria-biofoculation in waste treatment. Journal of Env. Sci. Tech. 2, pp 49-53.
- Cabrero, A., Fernandez, S., Mirada, F., Garcia, J. (1998). Effects of copper and zinc on the activated sludge bacteria growth kinetics. Journal of Water Res. 32, pp 1355-1362.
- Calder, L.M. (1988). Chromium contamination of groundwater, in Nriagra, J.O. and Nieber, E., Eds., Chromium in the Natural and Human Environments, Wiley Series in Advances in Environmental Science and Technology, Vol 20, John Wiley & Sons, New York, pp 215–229.
- Camargo, F.A.O., Okeke, B.C., Bento F.M., Frankenberger, W.T. (2005). Diversity of chromium-resistant bacteria isolated from soils contaminated with dichromate. Journal of Appl. Soil Ecol., 29, pp 193-202.
- Campos, J., Martinez-Pacheco, M., and Cervantes, C. (1995). Hexavalent-chromium reduction by chromate-resistant *Bacillus* sp. Strain, *Antonie von Leeuwenhoek*, vol. 68, pp 203–208.
- Caravelli, H.A., Giannuzzi L., and Zaritzky, E.N. (2008). Reduction of hexavalent chromium by *Sphaerotilus natans* a filamentous micro-organism present in activated sludges, *Journal of Hazardous Materials* 156 , pp 214-222.
- Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Modest, E.J. (1970). Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents, *Journal of Chromosoma*, 30, 2, pp 215-227.
- Cervantes, C., Campos-Garcia, J., Devars, S., Gutierrez-Corona, F., Loza-Tavera, H., Torres-Guzman, J.C., Moreno-Sanchez, R. (1994). Interactions of Cr with microorganisms and plants, *FEMS Microbiology Reviews*, in *Heavy Metals*, De Filippis, L.F. and Pallaghy, C.K., Sources and Biological Effects, in *Advances in Limnology Series*, *Algae and Water Pollution*, pp 31–37.
- Cervantes, C., Campos-Garcia, J., Devars, S., Gutierrez-Corona, F., Loza-Tavera, H., Torres-Guzman, J.C., Moreno-Sanchez, R. (2001). Interactions of Cr with microorganisms and plants”, *FEMS Microbiology Reviews*, 25, pp 335–347.

- Cervantes, C., Ohtake, H., Chu, L., Misra, T.K., Silver, S. (1990). Cloning, nucleotide sequence, and expression of the chromate resistance determinant of *Pseudomonas aeruginosa* plasmid pUM505. *Journal of Bacteriol.* 172 (1), pp 287-291.
- Chang, S.Y., Huang, J.C., and Liu, Y.C. (1986). Effects of Cd(II) and Cu(II) on a biofilm system. *Journal of Environ Eng ASCE*, 112. Pp 94–104.
- Chardin, B., Dolla, A., Chaspoul, F., Fardeau, M.L., Gallice, P., Bruschi, M. (2002). Bioremediation of chromate: thermodynamic analysis of the effects of Cr(VI) on sulfatereducing bacteria. *Journal of Microbiol. Biotechnol.*, 60, pp 352–360.
- Chardin, B., Giudici-Orticoni, M.T., De Luca, G., Guigliarelli, B., Bruschi, M. (2003). Hydrogenases in sulfate-reducing bacteria function as chromium reductase. *Journal of Microbiol. Biotechnol.* 63 (3), pp 315-321.
- Chen, G.H. (2004). Electrochemicals technologies in wastewater treatment. *Sep. Purif. Journal of Technol.* 38 (1), pp 11–41.
- Chen, Y., and Gu, G. (2005a). Preliminary studies on continuous chromium(VI) biological removal from wastewater by anaerobic–aerobic activated sludge process, *Journal of Bioresource Technology* 96, pp 1713–1721.
- Chen, Y., and Gu, G. (2005b). Short-term batch studies on biological removal of chromium from synthetic wastewater using activated sludge biomass, *Journal of Bioresource Technology* 96, pp 1722–1729.
- Chen, J. M., and Hao, O. J. (1996). Environmental factors and modeling in microbial chromium (VI) reduction. *Journal of Water Environ. Res.*, 68(7), pp 1156.
- Chen, J.M., Hao, O.J. (1997). Biological removal of aqueous hexavalent chromium. *Journal of Chem. Technol. Biotechnol.* 69, pp 70–76.
- Chen, J.M., and Hao, O.J. (1998). Microbial Chromium (VI) Reduction, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 28:3, pp 219-251.
- Cheung, K.H., Lai, H.Y., Gu, J.D. (2006). Membrane-associated hexavalent chromium reductase of *Bacillus megaterium* TKW3 with induced expression. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 16, pp 855–862.
- Cheung, K.H., and Gu, J.D. (2007). Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review, *International Biodeterioration & Biodegradation* 59 (1), pp 8-15.
- Chien, S.H., Clayton, W.R., and McClellan, G.H. (1980a). Kinetics of dissolution of phosphate rocks in Soil, *Journal of Sci. Soc. Am* 44, pp 260-264.
- Chirwa, E.N., and Wang, Y.-T. (2000). Simultaneous chromium(VI) reduction and phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria. *Journal of Water Res.* 34 (8), pp 2376–2384.
- Choubert, J.M., Marquot, A., Stricker, A.E., Racault, Y., Gillot, S., Héduit, A. (2008). Anoxic and aerobic values for the yield coefficient of the heterotrophic biomass: Determination at full-scale plants and consequences on simulations, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, pp 34-37.

- Chourey, K., Thompson, M. R., Morrell-Falvey, J., VerBerkmoes, N. C., Brown, S. D., Shah, M. (2006). Global molecular and morphological effects of 24- hour chromium(VI) exposure on *Shewanella oneidensis* MR-1. *Journal of Environ Microbiol.*, 72, pp 6331–6344.
- Chua, H. (1998). Effects of trace chromium on organic adsorption capacity and organic removal in activated sludge. *Journal of The Science of the Total Environment* 214, pp 239-245.
- Chudoba, P., Capdeville, B., Chudoba, J. (1992). Explanation of biological meaning of So/Xo ratio in batch cultivation. *Journal of Water Sci Technol*, 26, pp 743–51.
- Chudoba, P., Chevalier, J. J., Chang, J., Chpdeville, B. (1991). Effect of anaerobic stabilization of activated sludge on its production under batch conditions at various So/Xo ratio. *Journal of Water Sci. Tech.* 23, pp 917-926.
- Clay, R.E. (1992). Multimedia Environmental Distribution of Gaseous, Dissolved and particle-Bound Pollutant, Master of Science Thesis, Chemical Engineering Department, University of California Los Angeles (UCLA).
- Contreras, E.M., Ferro Orozco, A.M., and Zaritzky, N.E. (2011). Biological Cr(VI) removal coupled with biomass growth, biomass decay, and multiple substrate limitation. *Journal of Water Research* 45, pp 3034 – 3046.
- Corbett, G.E., Finley, B.L., Paustenbach, D.J., Kerger, B.D. (1997). Systemic uptake of chromium in human volunteers following dermal contact with hexavalent chromium (22 mg/L). *Journal of Expo Anal Environ Epidemiol.* Apr-Jun;7(2), pp 179-89.
- Costa, M. (2003). Potential hazards of hexavalent chromium in our drinking water. *Journal of Toxicology and Applied Pharmacology* 188, pp 1-5.
- Cotton, F.A., and Wilkinson, G. (1980). Chromium. In: *Advanced Inorganic Chemistry, a Comprehensive Text*, 4th Edition. John Wiley, N.Y, pp 719-736.
- Cremer, T., Lichter, P., Borden, J., Ward, D.C., Manuelidis, L. (1988). Detection of chromosome aberrations in metaphase and interphase tumor cells by in situ hybridization using chromosome-specific library probes, *Journal of Human Genetics*, 80, 3, pp 235-246.
- Crites, R., and Tchobanoglous, G. (1998). *Small and decentralized wastewater management systems*, WCB Mc Graw-Hill, U.S.A, pp 397-450.
- Cunningham, S., and Berti, W. (1993). Remediation of contaminated soils with green plants: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 29, pp 207-212.
- Czako-Ver, K., Batie, M., Raspor, P., Sipiczki, M., Pesti, M. (1999). Hexavalent chromium uptake by sensitive and tolerant mutants of *Schizosaccharomyces pombe*. *FEMS Microbiology Letters* 178, pp 109–115.
- Da Flora, C., Bagnasco M., and Batie, M. (1990). Genotoxicity of chromium compounds. A review, *Mutation Research* 238(2), pp 99-172.
- Davis, J.A., and Leckie, J.O. (1980). Surface ionization and complexation at the oxide/water interface: III. Adsorption of anions, *Journal of Colloid Interface Sci.*, vol. 74, pp 32–43.
- Davis A., and Olsen, R.L. (1995). The geochemistry of chromium migration and remedation in the subsurface”, *Journal of Groundwater*, pp 33.

- Das, S., and Chandra, A.L. (1990). Chromate reduction in *Streptomyces*. *Experientia* 46,73 pp 1-733.
- Das, S., Mishra, J., Das, S.K., Pandey, S., Rao, D.S., Chakraborty, A., Sudarshan, M., Das, N.N., Thatoi, H.N. (2014). Investigation on mechanism of Cr(VI) reduction and removal by *Bacillus amyloliquefaciens*, a novel chromate tolerant bacterium isolated from chromite mine soil. *Journal of Chemosphere* 96, pp 112-121.
- DeFilippi, L. (1994). New process cleans contaminated groundwater. *Journal of Water Eng. Manage.*, 141(3), pp 16.
- DeLeo, P.C., and Ehrlich, H.L. (1994). Reduction of hexavalent chromium by *Pseudomonas fluorescens* LB300 in batch and continuous cultures, *Journal of Microbiol. Biotechnol.*, vol. 40, pp 756-759.
- Demir, A., and Arisoy, M. (2007). Biological and chemical removal of Cr(VI) from waste water: cost and benefit analysis, *Journal of Hazard. Mater.*, doi: 10.1016/i.hazmat.2006.12.076
- Demirbas, E., Kobya, M., Senturk, E., Ozkan, T. (2004). Adsorption kinetics for the removal of chromium (VI) from aqueous solutions on the activated carbons prepared from agricultural wastes, *Journal of Water SA*, 30, 4, pp 533-540.
- Dennis, J.K., and Such, T.E. (1993). *History of Chromium Plating. Nickel and Chromium Plating.* Woodhead Publishing. pp 9-12. ISBN 978-1-85573-081-6
- Dermatas, D., Chrysochoou, M., Moon, D.H., Grubb, D.G., Wazne, M. (2006). Ettringite-induced heave in chromite ore processing residue (CORP) upon ferrous sulphate treatment. *Journal of Environ. Sci. Technol.* 40:57, pp 86-92.
- Dermatas, D., Chrysochoou, M., Moon, D.H. (2008a). Geoenvironmental Characterization to Assess Waste Stabilization/Solidification Treatment Performance and Sustainability, *Geotechnics of Waste Management and Remediation*, ASCE, Geotechnical Special Publication 177, pp 660-667.
- Desai, C., Jain, K., and Madamwar, D. (2008). Hexavalent chromate reductase activity in cytosolic fractions of *Pseudomonas* sp. G1DM21 isolated from Cr(VI) contaminated industrial landfill. *Proc. Journal of Biochem.*, 43, pp 713-721.
- Satarupa, D., and Paul, A.K. (2013). Hexavalent chromium reduction by aerobic heterotrophic bacteria indigenous to chromite mine overburden, *Brazilian Journal of Microbiology* 44, 1, pp 307-315.
- Dhal, B., Thatoi, H.N., Das, N., Pandey, B.D. (2013). Reduction of hexavalent chromium by *Bacillus* sp. isolated from chromite mine soils and characterization of reduced product. *Journal of Chem. Technol. Biotechnol.* 85 (11), pp 1471-1479.
- Dilek, F.B., Gokcay, C.F., Yetis, U. (1998). Combined effects of Ni(II) and Cr(VI) on activated sludge. *Journal of Water Research* 32, pp 303-312.
- Dmitrenko, G.N., Konovalova, V.V., and Gvozdyak, P.I. (2001). The use of a membrane bioreactor for the reduction of hexavalent chromium. *Khim. Tekhnol. Vody*, 5, pp 552-562.

- Doenmez, G., and Aksu, Z. (2001). Bioaccumulation of copper (II) and nickel (II) by the non-adapted and adapted growing *Candida* sp. *Journal of Water Res.*, 35, pp 1425–1434.
- Donocik, A., Ledin, M., Pedersen, K., Allard, B. (1996). Accumulation of zinc and cadmium by *Cytophaga johnsonae*. *Journal of Biometals* 9 (2), pp 169–175.
- Ducklow, H.W., and Shiah, F.K. (1993). Bacterial production in estuaries. In *Aquatic Microbiology, An Ecological Approach* (edited by Ford T.E), Blackwell Scientific Publications, Boston, USA.
- Dudman, W.F., and Wilkinson, J.F. (1956). The composition of the extracellular polycaccharides of *Aerobacter-Klebsiella* strains. *Journal of Biochem*, 62, pp 289-295.
- Eary, L.E., and Rai, D. (1987). Kinetics of chromium(III) oxidation to chromium(VI) by reaction with manganese dioxide. *Journal of Environmental Science and Technology*. 21, pp 1187-1193.
- Eary, L.E., and Rai, D. (1988). Chromate removal from aqueous wastes by reduction with ferrous iron. *Journal of Environmental Science and Technology*. 22, pp 972-977.
- Eastman, J.A., and Ferguson, J.F. (1981). Solubilization of Particulate Organic Carbon during the Acid Phase of Anaerobic Digestion, *Journal (Water Pollution Control Federation)* Vol. 53, No. 3, Part I, pp. 352-366.
- Elangovan, R., and Philip, L. (2009). Performance evaluation of various bioreactors for the 1 removal of Cr(VI) and organic matter from industrial effluent. *Journal of Biochemical Engineering Journal* 44(2-3), pp 174-186.
- Elangovan, R., Philip, L., and Chandraraj, K. (2010). Hexavalent chromium reduction by free and immobilized cell-free extract of *Arthrobacter rhombi*-RE. *Journal of Biochem. Biotechnol.* 160 (1), pp 81-97.
- Espejo-Herrera, N., Cantor, N., Kenneth P., Malats, N., Silverman, D.T., Tardon, A., Garcva-Closas, R., Serra, C., Kogevinas, M., Villanueva, C.M. (2015). Nitrate in drinking water and bladder cancer risk in Spain. *Journal of Environ. Res.* 137, pp 299–307.
- Evanko, C.R., and Dzombak, D.A. (1997). Remediation of Metals-contaminated Soils and Groundwater, Technology Evaluation Report, TE-97-01. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, Pittsburg, PA.
- Environmental Protection Agency, (1984). Health Assessment Document for Chromium, Final Report. EPA 600/8–83–014F. Washington, D.C.
- Environmental Protection Agency, (2000). In situ treatment of soil and groundwater contaminated with chromium, Technical Resource Guide
- Environmental Protection Agency, (2006). Engineering issue. In situ and ex situ biodegradation technologies for remediation of contaminated sites. EPA-625-R- 06-015. pp. 22.
- Fadali, O.A., Magdy, Y.H., Daifullah, A.A.M., Ebraheim, E.E., Nassar, M.M. (2004). Removal of chromium from tannery effluents by adsorption. *Journal of Environ. Sci. Hlth., Part A*, 39, pp 465-472.

- Faisal, M., and Hasnain, S. (2004). Comparative study of Cr(VI) uptake and reduction in industrial effluent by *Ochrobactrum intermedium* and *Brevibacterium* sp. *Biotechnol. Lett.*, 26, pp 1623–1628.
- Fantonini, D., Brozzo, G., Canepa, M., Cipolli, F., Marini, L., Ottonello, G., Zuccolini, M. (2002). Natural hexavalent chromium in ground waters interacting with ophiolitic rocks. *Journal of Environmental Geology*, 42 (8), pp 871-882.
- Farrell, S.O., and Ranallo, R.T. (2000). *Experiments in biochemistry. A hands-on approach.* Orlando, FL: Saunders College
- Fein, J.B., Kemner, K., Fowle, D.A., Cahill, J., Boyanov, M., Bunker, B. (2001). Nonmetabolic reduction of Cr(VI) by bacterial surfaces under nutrient-absent conditions, *Geomicrobiology Journal*, (in press).
- Finley, B.L, Williams, M.D., Vermeul, V.R., Amonette, J.E. (1996). Assessment of Airborne Chromium VI in home following use of contaminated tap water”, *Journal of Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 6 (2), pp 229-245.
- Forrest, W.W. (1969). Energetic aspects of microbial growth. In *Microbial Energetics*, pp. 65–86. Cambridge University Press, London
- Francis, C.A., Obratzosva, A.Y., and Tebo, B.M. (2000). Dissimilatory metal reduction by the facultative anaerobe *Pantoea agglomerans* SP1. *Journal of Environmental Microbiology*, 66, pp 543-548.
- Freundlich, H. (1907). Ueber die Adsorption in Loesungen. *Z.Phys. Chem.* 57. Pp 385-447
- Fruchter, J.S., Cole, C.R., Williams, M.D., Vermeul, V.R., Amonette, J.E., Szecsody, J.E., Istok, J.D., Humphrey, M.D. (2000). Creation of a subsurface permeable treatment barrier using in situ redox manipulation, *Groundwater Monitoring and Remediation Review*.
- Fujie, K., Toda, K., and Ohtake, H. (1990). Bacterial reduction of toxic hexavalent chromium using a fed-batch culture of *Enterobacter cloacae* strain HO1. *J. Ferment. Bioengr.*, 69(6), pp 465.
- Fujie, K., Tsuchida, T., Urano, K., Ohtake, H. (1994). Development of a bioreactor system for the treatment of chromate wastewater using *Enterobacter cloacae* HO1. *Journal of Water Sci. Technol.*, 30(3), pp 235.
- Gadd, G.M. (1990). Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms. *Experientia*, 46, pp 834–840.
- Gadd G.M., 1992. Metals and microorganisms: A problem of definition, *FEMS Microbiology Letters* 100, pp 197-204
- Gadd, G.M., White, C. (1993). Microbial treatment of metal pollution--a working biotechnology. *Journal of Trends in Biotechnology* 11 (8), pp 353–359.
- Gandhi, S., Schnoor, J.L., and Alvarez, P.J.J. (2002). Degradation of TCE, Cr(VI), sulfate, and nitrate mixtures by granular iron in flow through columns under different microbial conditions. *Journal of Water Res.*, 36, pp 1973–1982.
- Garbisu, C., Alkorta, I., Llama, M.J., Serra, J.L. (1998). Aerobic chromate reduction by *Bacillus subtilis*. *Journal of Biodegradation* 92, pp 133-141.

- Garcia-Toledo A., Babici, H., Stotzky, G. (1985). Training *Rhizopus stolonifera* and *Cunninghamella blakesleeana* to copper: cotolerance to cadmium, cobalt, nickel and lead, *Can. Journal of Microbiol.* 31, pp 485–492.
- Gettens, R.J. (1966). *Chrome yellow. Painting Materials: A Short Encyclopaedia.* Courier Dover Publications. pp 105–106. ISBN 978-0-486-21597-6.
- Ghafari, S., Hasan, M., and Aroua, M.K. (2009). Effect of carbon dioxide and bicarbonate as inorganic carbon sources on growth and adaptation of autohydrogenotrophic denitrifying bacteria. *Journal of Hazard. Mater.* 162, pp 1507-1513.
- Ghigliazza, R., Lodi, A., Converti, A., Nicoletta, C., Rovatti, M. (1996). Influence of the ratio of the initial substrate concentration to biomass concentration on the performance of a sequencing batch reactor, *Journal of Bioprocess Eng.*, 14 pp 131–137.
- Gikas, P., and Romanos, P. (2006). Effects of tri-valent (Cr(III)) and hexa-valent (Cr(VI)) chromium on the growth rate of activated sludge. *Journal of Hazardous Materials B133*, pp 212-217.
- Goldberg, S., Louise J., Criscentib, D., Turnerc, R., David, J.A., Cantrell, K.J. (2007). Adsorption–Desorption Processes in Subsurface Reactive Transport Modeling, *Soil Science Society*, pp 345-367.
- Gopalan, R., and Veeramani, H. (1994). Development of a *Pseudomonas sp.* for aerobic chromate reduction. *Journal of Biotechnol. Technol.*, 8(7), pp 521.
- Goulhen, F., Gloter, A., Guyot, F., Bruschi, M. (2006). Cr(VI) detoxification by *Desulfovibrio vulgaris* strain Hildenborough: Microbe-metal interactions studies. *Journal of Microbiol. Biotechnol.* 71, pp 892-897.
- Grady, C.P.L., Smets, B.F., and Barbeau, D.S. (1996). Variability in kinetic parameter estimates: A review of possible causes and a proposed terminology. *Journal of Water Res.* 30, pp 742-748.
- Grady, C.P.L., Daigger, G.T., and Lim, H.C. (1999). *Biological Wastewater Treatment.* 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York.
- Gray, N.F. (1990). *Activated Sludge: Theory and Practise,* Oxford University Press, N.Y, U.S.A
- Greenwood, N.N., and Earnshaw, A. (1984). *Chemistry of the Elements,* Pergamon Press, Oxford, pp 1187-1200.
- Gokcay, C.F., and Yetis, U. (1991). Effect of chromium(VI) on activated sludge. *Journal of Water Res.* 25, pp 65–73.
- Gonzalez, C.F., Ackerley, D.F., Lynch, S.V., Matin, A. (2005). ChrR, a soluble quinone reductase of *Pseudomonas putida* that defends against H₂O₂. *Journal of Biol. Chem.* 280 (24), pp 2590-2595.
- Gonzalez, S.M.I. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Journal of Bioresource Technology* 57, pp 1-11.
- Guha, H., Jayachandran, K., and Maurrasse, F. (2001). Kinetics of chromium (VI) reduction by a type strain *Shewanella alga* under different growth conditions, *Environmental Pollution*, 115, 2, pp 209-218.

- Gupta, S., and Babu, B.V. (2009). Removal of toxic metal Cr (VI) from aqueous solutions using sawdust as adsorbent: Equilibrium, kinetics and regeneration studies, *Journal of Chemical Engineering*, 150, 2, pp 352-365.
- Guo, J., Lian, J., Xu, Z., Xi, Z., Yang, J., Jefferson, W., Liu, C., Li, Z., Yue, L. (2012). Reduction of Cr(VI) by *Escherichia coli* BL21 in the presence of redox mediators. *Journal of Bioresource Technol.* 123, pp 713-716.
- Gvozdyak, P.L., Mogilavich, N.F., Rylskii, A.F., Grishchenko, N.I. (1986). Reduction of hexavalent chromium by collection strains of bacteria. *Mikrobiologiya*, 55(6), pp 962-965.
- Hafiane, A., Lemordant, D., and Dhahbi, M. (2000). Removal of Cr(VI) by nanofiltration, *Journal of Desalination*, 130, pp 305–312.
- Han, R., Geller, J.T., Yang, L., Brodie, E.L., Chakraborty, R., Larsen, J.T., Beller, H.R. (2010). Physiological and transcriptional studies of Cr(VI) reduction under aerobic and denitrifying conditions by an aquifer-derived pseudomonad. *Journal of Environ. Sci. Technol.* 44, pp 7491–7497.
- Handa, B.K. (1988). Occurrence and distribution of chromium in natural waters of India, in *Chromium in Natural and Human Environments*, Nriagu, J.O. and Nieboer, E., Eds., Wiley Interscience, New York, NY, pp 189–215.
- Hanel, L. (1988). *Biological Treatment of Sewage by the Activated Sludge Process*. Ellis Horwood, Chichester, U.K.
- Hardoyo, K.J. and Ohtake, H. (1991). Effects of heavy metal cations on chromate reduction by *Enterobacter cloacae* strain HO1. *Journal of Gen. Appl. Microbiol.*, 37(5), pp 519-523.
- Hashim, M.A., Mukhopadhyay, S., Sahu, J.N., Sengupta, B. (2011). Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater, *Journal of Environmental Management* 92, pp 2355-2388.
- Hawley, E.L., Deeb, R.A., Kavanaugh, M.C., Jacobs, J. (2004). Overview of Treatment Technologies for Chromium(VI). In *Chromium(VI) Handbook*. [written by Independent Environmental Technical Evaluation Group (IETEG)], edited by Jacobs J., Guertin J. and Avakian C., CRC Press
- He, D., Maosheng, Z., Tao M., Can Li, Jinren Ni, 2015. Interaction of Cr(VI) reduction and denitrification by strain *Pseudomonas aeruginosa* PCN-2 under aerobic conditions, *Journal of Bioresource Technology* 185, pp346–35
- He, M., Li, X., Guo, L., Miller, S.J., Rensing, C., Wang, G. (2010). Characterization and genomic analysis of chromate resistant and reducing *Bacillus cereus* Strain SJ1. *BMC, Journal of Microbiol.* 10 (221), pp 1-10.
- He, M., Li, X., Liu, H., Miller, S.J., Wang, G., Rensing, C. (2011). Characterization and genomic analysis of a highly chromate resistant and reducing bacterial strain *Lysinibacillus fusiformis* ZC1. *Journal of Hazard. Mater.*, 185, pp 682–688.
- Hem, J.D. (1977). Reactions of metal ions at surfaces of hydrous iron oxide, *Journal of Geochem.Cosmochem. Acta*, 41, pp 527–538.
- Hem, J.D. (1989). *Study and Interpretation of the Chemical Characteristics of Natural Water*,

- 3rd ed., U.S. Geological Survey Water Supply Paper 2254, U.S. Government Printing Office, Washington D.C., pp 263-267.
- Henriques, I.D.S., and Love, N.G. (2007). The role of extracellular polymeric substances in toxicity response of activated sludge bacteria to chemical toxins, *Journal of Water Research* 41 (18): pp 4177-4185.
- Henriques, I.D.S., Holbrook, R.D., Richard, T.K., Love, N.G. (2005). The impact of floc size on respiration inhibition by soluble toxicants—a comparative investigation, *Journal of Water Research*, 39, 12, pp 2559–2568.
- Hingston, J., Holbrook, R.D., Richard, T.K., Love, N.G. (2001). Leaching of chromated copper arsenate wood preservatives: a review. *Journal of Environmental Pollution* 111 (1), pp 53–66.
- Ho, Y.S. (2004). Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions, *Journal of Scientometrics*, Vol. 59, No. 1, pp 17-177.
- Ho, Y.S. (2006). Second-order kinetic model for the sorption of cadmium onto tree fern: A comparison of linear and non-linear methods. *Journal of Water Research* 40, pp 119–125.
- Ho, Y.S., McKay, G., Wase, D.A.J., Foster, C.F. (2000). Study on the sorption of divalent metal ions onto peat, *Adsorpt.Sci. Technol.* 18, pp 639–650.
- Horitsu, H., Nishita, H., Kato, H., Tomoyeda, M. (1978). Isolation of potassium chromate tolerant bacterium and chromate uptake by the bacterium. *Journal of Agric. Biol. Chem.*, 42(11), pp 2037-2038.
- Horitsu, H., Futo, S., Ozawa, K., Kawai, K. (1983). Comparison of characteristics of hexavalent chromium-tolerant bacterium, *Pseudomonas ambigua* G-1, and its hexavalent chromium-sensitive mutant. *Journal of Agricultural and Biological Chemistry* 47 (12), pp 2907–2908.
- Horitsu, H., Tuto, S., Miyazawa, Y., Ogal, S., Kawai, K. (1987). Enzymatic reduction of hexavalent chromium tolerant *Pseudomonas ambigua* G-1. *Journal of Agric. Biol. Chem.*, 51(12), pp 2417-2419.
- Hoyle, B., and Beveridge, T.J. (1983). Binding of metallic ions to the outer membrane of *Escherichia coli*. *Journal of Appl. Environ. Microbiol.* 46, pp 749-752.
- Hu, P., Brodie, E.L., Suzuki, Y., Mc Adams, H.H., Andersen, G.L. (2005). Whole-genome transcriptional analysis of heavy metal stresses in *Caulobacter crescentus*. *Journal of Bacteriol.* 187 (24), pp 8437-8449.
- Hug, S.J., Buerge, I.J., and Weiler, P.G. (1997). Transformation of chromium in the environment. *Analusius* 25 (7), pp 12-15.
- Hughes, M.N., and Poole, R.K. (1989) *Metals and Microorganisms*. Chapman-Hall, London. U.K., pp 1-38.
- Hughes, M.N., and Poole, R.K. (1991). Metal speciation and microbial growth—the hard (and soft) facts. *Journal of Gen. Microbiol.* 137, pp 725-734.

- Hwang, I., Batchelor, B., Schlautman, M.A., Wang, R. (2002). Effects of ferrous iron and molecular oxygen on chromium (VI) redox kinetics in the presence of aquifer solids. *Journal of Hazard. Mater.* 92 (2), pp 143-159.
- IARC, (1990). Chromium and chromium compounds. In *Chromium, Nickel and Welding. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, vol. 49. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp 49-256.
- IARC, (2012). Chromium (VI) compounds. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, vol. 100C. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, Vol 100C, pp 148-167.
- Ibrahim, A.S.S., El-Tayeb, M.A., Elbadawi, Y.B., Al-Salamah, A.A. (2011). Bioreduction of Cr(VI) by potent novel chromate resistant alkaliphilic *Bacillus* sp. strain KSUCr5 isolated from hypersaline Soda lakes. *African Journal of Biotechnol.*, 10, pp 7207–7218.
- Ignatiadis I., Morin D., Ragot C., Oudin J.C., and Dueso N. (2005). Development and in situ implementation of a chemical process for immobilisation of the chromate contained in an industrial ground, *Proc. 9th Int. Conference on Contaminated Soil (ConSoil 2005)*, B
- Imai, A., and Gloyna, E.F. (1990). Effects of pH and oxidation state of chromium on the behavior of chromium in the activated sludge process. *Journal of Water Res.* 24, 1143–1150. ordeau, pp 2555-2564.
- Imai A., and Gloyna E.F. (1993). Cr(III) in activated sludge, *Journal of Environ. Eng.* 119, pp 137–158.
- Ishibashi, Y., Cervantes, C., and Silver, S. (1990). Chromium reduction in *Pseudomonas putida*. *Journal of Appl. Environ. Microbiol.* 56, pp 2268-2270.
- Ivankovic, S., and Preussmann, R. (1975). Absence of Toxic and Carcinogenic Effects After Administration of High Doses of Chromic Oxide Pigment in Subacute and LongTerm, Feeding Experiments in Rats, *Journal of Food Cosmetic Toxicology*, 13, pp 347–351.
- Jacobs, J., Hardison, R.L., and Rouse, J.V. (2001). In-situ remediation of heavy metals using sulfur-based treatment technologies, *Journal of Hydrovisions*, 10, 2, pp 1–4.
- Jacobs, J., and Testa, S. (2004). Overview of Chromium (VI) in the Environment: Background and History. In *Chromium(VI) Handbook*. [written by Independent Environmental Technical Evaluation Group (IETEG)], edited by Jacobs J., Guertin J. and Avakian C., CRC Press
- James, B.R. (2001). Remediation by reduction strategies for chromate contaminated soils, *Journal of Environ. Geochem. Health* 23, pp 175–179.
- Jasso-Chavez, R., Pacheco-Rosales, A., Lira-Silva, E., Gallardo-Perez J., Garcia, N., (2010). Toxic effects of Cr(VI) and Cr(III) on energy metabolism of heterotrophic *Euglena gracilis*. *Journal of Aquatic Toxicology* 100, pp 329–338.
- Jiwani, A., Graham, N.J.D., and Day, M.C. (1997) Activated sludge process control via particle monitoring. *Journal of Water Sci. Technol.* 36, pp 269-277.
- John, H.A., Bilrnstiel, M.L., and Jones, K.W. (1969). RNA-DNA Hybrids at the Cytological Level, *Journal of Nature* 223, pp 582 – 587.

- Jonsson, K., Aspichueta, E., De la Sota, A., Jansen, J.I.C. (2001). Evaluation of nitrification-inhibition measurements. *Journal of Water Science and Technology* 43, pp 201-208.
- Kang, K-H., Shin, H.S., and Park, H. (2002). Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water Research* 36, pp 4023-4025.
- Kappeer, J., and Gujer, W. (1992). Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge modelling, *Journal of Water Science Technology*, 25 (6), pp 125-127.
- Kathiravan, M.N., Karthick, R., Muthu, N., Muthukumar, K., Velan, M. (2010a). Sonoassisted microbial reduction of chromium. *Journal of Appl Biochem Biotechnol.*, 160, pp 2000–2013.
- Kavita, B., Limbachia, J., and Keharia, H. (2011). Hexavalent chromium sorption by biomass of chromium tolerant *Pythium* sp. *Journal of Basic Microbiology* 51, pp 173-182.
- Kent, D.B., Davis, J.A., Maest, A.S., Rea B.A. (1989). Field and laboratory studies of transport of reactive solutes in groundwater, in *Proc 6th Int. Conf. Water-Rock Interaction*, Miles, D.L., Ed., Miles, Balkema, Rotterdam, Netherlands, pp 381-383.
- Kieber, R.J., and Helz, G.R. (1992). Indirect photoreduction of aqueous chromium(VI). *Journal of Environ Sci Tech* 26, pp 307–312.
- Kappeler, J., and Gujer, W. (1992). Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge. *Journal of Wat. Sci. Tech.* 26, pp 125-139.
- Khitrov, G. and Jaeger, R. (2001). Chromium Toxicity, The Ronald O. Perlman Department of Dermatology, Department of Toxicology NYU Grad School of Arts and Science
- Klot, M.G. (2015). Fluorescent in situ hybridization for the localization of viruses, bacteria and other microorganisms in insect and plant tissues, Elsevier-Methods (article in press)
- Klonowska, A., Clark, M.E., Thieman, S.B., Giles, B.J., Wall, J.D., Fields, M.W. (2008). Hexavalent chromium reduction in *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough causes transitory inhibition of sulfate reduction and cell growth. *Journal of Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 78, pp 1007–1016.
- Kolb, B., and Ettre, L.S. (1997). *Static headspace – gas chromatography*, Wiley-VCH.
- Komori, K., Wong, P., and Ohtake, H. (1989). Factors affecting chromate reduction in *Enterobacter cloacae* strain H01. *Journal of Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 31, pp 567–570.
- Komori, K., Rivas, A., Toda, K., Ohtake, H. (1990a). Biological removal of toxic chromium using an *Enterobacter cloacae* strain that reduces chromates under anaerobic conditions. *Journal of Biotechnol. Bioeng.*, 35(4), pp 951-955.
- Konovalova, V., Nigmatullin, R., Dmytrenko, G., Pobigay, G. (2008). Spatial sequencing of microbial reduction of chromate and nitrate in membrane bioreactor. *Journal of Bioprocess Biosyst. Eng.* 31, pp 647–653.
- Kotaś, J., and Stasicka, Z. (2000). Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation, Elsevier, *Journal of Environmental Pollution*, 107(3), pp 263-283.

- Kimbrough, D.E., Cohen, Y., Winer, A.M., Creelman, L., Mabuni, C. (1999). A Critical Assessment of Chromium in the Environment, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 29 (1), pp 1-46.
- Kümmerer, K. (2004). Resistance in the environment. *Journal of Antimicrob. Chemother.* 54 (2), pp 311-320.
- Kumpiene, J., Ore, S., Renella, G., Mench, M., Lagerkvist, A., Maurice, C. (2006). Assessment of zerovalent iron for stabilization of chromium, copper, and arsenic in soil, *Journal of Environ Pollut*, 144 (1), pp 62-69.
- Kvasnikov, E.I., Klyushnikova, T.M., Kasatkina, T.P., Stepanyuk, V.V., Kuberskaya, S. L. (1988). Chromium-reducing bacteria in nature and industrial sewage. *Journal of Mikrobiologiya*, 57(4), pp 680-685.
- Kwak, Y.H., Lee, D.S., Kim, H.B. (2003). *Vibrio harveyi* nitroreductase is also a chromate reductase. *Journal of Appl. Environ. Microbiol.* 69 (8), pp 4390-4395.
- Lagergren, S. (1898). Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. Handlingar*, 24 (4) : pp 1-39.
- Lamb, A. and Tollefson, E.L. (1973). Toxic effects of cupric, chromate and chromic ions on biological oxidation. *Journal of Water Res.* 7, pp 599-613.
- Lancy, L.E. (1966). Treatment of spent cooling waters, U.S Patent No 3,294, pp 960-966.
- Langley, S., and Beveridge, T.J. (1999). Effect of O-side chain-Lipopolysaccharide chemistry on metal binding. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* 65 (2), pp 489-498.
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica, and platinum, *J. Am. Chem. Soc.*, 40 (9), pp 1361-1403.
- Largo, L.L., and Fleming, R.W. (1977). Effects of chromate and cadmium on most probable number estimates of nitrifying bacteria in activated sludge., *Journal of Bull. Environ. Contam.Toxic.*, 18(3), pp 350-357.
- Larson, B., and Schaeffer, S. (1982). A rapid method for determining the toxicity of chemicals to activated sludge. *Journal of Water Res.* 16, pp 675-680.
- Lawrence, A.W., and McCarty, P.L. (1970). Unified basis for biological treatment design and operation. *Journal of Sanit Eng Div ASCE*;96 (SA3), pp 757-78.
- Laxman, R.S., and More, S. (2002). Reduction of Hexavalent Chromium by *Streptomyces griseus*. *Journal of Minerals Engineering*, 15, pp 831-833.
- Lebedeva, E.V., and Lyalikova, N.N. (1979). Reduction of crocoite by *Pseudomonas chromatophila* sp. *Journal of Mikrobiologiya* 48, pp 517-522.
- Lee, S.E., Lee, J.U., Chon, H.T., Lee, J.S. (2008). Microbiological reduction of hexavalent chromium by indigenous chromium-resistant bacteria in sand column experiments. *Journal of Environ. Geochem. Health*, 30, pp 141-145.
- Levsky, J.M., and Singer, R.H. (2003). Fluorescence in situ hybridization: past, present and future, *Journal of Cell Science* 116, pp 2833-2838.
- Lewandowski, Z. (1985). Denitrification by packed bed reactors in the presence of chromium (VI): resistance to inhibition. *Journal of Water Res.*, 19(5), pp 589-595.
- Lewandowski, Z., Janta, K., and Mazierski, J. (1985). Inhibition coefficient (K_i) determination in activated sludge. *Journal of Water Res.* 19, pp 671-674.

- Lide, D.R. (1995). Handbook of chemistry and physics. Florida, USA: CrC Press.
- Lin, Y.H., Wu, C.L., Li, H.L., Hsu, C.H. (2011). Verification of model for adsorption and reduction of chromium(VI) by *Escherichia coli* 33456 using chitosan bead as a supporting medium, Journal of Applied Mathematical Modelling, 35, 6, pp 2736-2751.
- Liu, Y.G., Xu, W.H., Zeng, G.M., Li, X., Gao, H. (2006). Cr(VI) reduction by *Bacillus* sp. isolated from chromium landfill. Proc. Journal of Biochem., 41, pp 1981-1986.
- Liu, Y.G., Chen, G.H., and Paul, E. (1998). Effect of the S₀/X₀ ratio on energy uncoupling in substrate-sufficient batch culture of activated sludge, Journal of Water Research, 32, 10, pp 2883-2888.
- Llagostera, M., Garrido, S., Guerrero, R., Barbe, J. (1986). Induction of SOS genes of *Escherichia coli* by chromium compounds. Journal of Environ. Mutagen. 8 (4), pp 571-577.
- Llovera, S., Bonet, R., Simon-Pujol, M. D., Congregado, F. (1993a). Chromate reduction by resting cells of *Agrobacterium radiobacter* EPS-916. Journal of Appl. Environ. Microbiol. 59,35, pp 3516-3518.
- Llovera, S., Bonet, R., Simon-Pujol, M.D., and Congregado, F., Effect of culture medium ions on chromate reduction by resting cells of *Agrobacterium radiobacter*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 39(3), 424, 1993b.
- Lonergan, D.J., Jenter, H., Coates, J.D., Phillips, E.J.P., Schmidt, T., Lovely, D.R. (1996). Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe(III) reducing bacteria. Journal of Bacteriol. 178 (8), pp 2402-2408.
- Lovley, D.R., and Coates, J.D. (1997). Bioremediation of metal contamination, Curr. Opin. Journal of Biotechnol. 8, pp 285-289.
- Lovley, D.R., Coates, J.D., Saffarini, D.A., Lonergan, D.J., Winkelman, C.J. (1997). Iron and Related Transition Metals in Microbial Metabolism. Harwood Academic Publishers, Switzerland, pp 187-215.
- Lovley, D. R., and Phillips, E.J.P. (1994). Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* (Hildenborough) and its c, cytochrome. Journal of Appl. Environ. Microbiol. 60, pp 726-728.
- Losi, M.E., and Frankenberger, W. (1994). Chromium-resistant microorganisms isolated from evaporation ponds of a metal processing plant. Journal of Water Air Soil Poll., 74, pp 405-413.
- Loyaux-Lawniczak, S., Lecomte P., and Ehrhardt, J. (2001). Behaviour of hexavalent chromium in a polluted groundwater: redox processes and immobilization in soils. Journal of Environmental Science and Technology, 35, pp 1350-1357.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker J. (2003). Brock Biology of Microorganisms, 10th edition, Pearson Education Inc
- Mabrouk Mona, E.M. (2008). Statistical optimization of medium components for chromate reduction by halophilic *Streptomyces* sp. MS-2. Afr. Journal of Microbiol. Res., 2, pp 103-109.

- Mamais, D., Noutsopoulos, C., Kavallari, I., Nyktari, E., Kaldis, A., Panousi, E., Nikitopoulos, G., Antoniou, K., Nasioka, M. (2016). Biological groundwater treatment for chromium removal at low hexavalent chromium concentrations. *Journal of Chemosphere*, 152, pp 238 – 244.
- Mangaiyarkarasi, M.M., Vincent, S., Janarthanan, S., Subba Rao, S.T., Tata, B.V.R. (2011). Bioreduction of Cr(VI) by alkaliphilic *Bacillus subtilis* and interaction of the membrane groups. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18, pp 157–167.
- Marison, L.W. (1988a). Growth kinetics, In: *Biotechnology for Engineers: Biological Systems in Technological Processes*, A. Scragg, Ed., Ellis Horwood, Chichester, U.K., pp. 184–217.
- Martins, M., Faleiro, M.L., Chaves, S., Tenreiro, R., Santos, E., Costa, M.C. (2010). Anaerobic bio-removal of uranium (VI) and chromium(VI): Comparison of microbial community structure, *Journal of Hazardous Materials*, 176, 1–3, pp 1065-1072.
- Mazierski, J. (1994). Effect of chromium (CrVI) on the growth rate of denitrifying bacteria. *Journal of Water Res.*, 28(9), pp 1981.
- Mazierski, J. (1995). Effect of chromium (CrVI) on the growth rate of activated sludge bacteria. *Journal of Water Res.*, 29(6), pp 1479.
- McCarthy, P.L. (1964). Anaerobic waste treatment fundamentals, Part III. Toxic materials and their control, *Public Works* 95 (11), pp 91–99.
- McCarty, P.L. (1971). Energetics and Kinetics of Anaerobic Treatment In *Anaerobic Biological Treatment Processes*, *Advan. Journal of Chem. Ser.*, 105, pp 91.
- McClintock, S.A., Sherrard, J.H., Novak, J.T., Randall, C.W. (1988). Nitrate versus oxygen respiration in the activated sludge process. *J WPCF*;60(3), pp 342–350.
- McLean, J.S., and Beveridge, T.J. (1999). Chromate removal from contaminated groundwater using indigenous bacteria, in *Bioremediation of Metals and Inorganic Compounds*, Fifth International In-Situ and On-Site Bioremediation Symposium, San Diego, CA, Battelle Press.
- McLean, J., Beveridge, T.J., and Phipps, D. (2000). Isolation and characterization of a chromium-reducing bacterium from a chromate copper arsenate contaminated site. *Journal of Environ. Microbiol.* 2 (6), pp 611-619.
- McLean, J., and Beveridge, T.J. (2001). Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 67, pp 1076-1079.
- MacLeod, R.A., Kuo, S.C., Gelinas, R. (1967). Metabolic injury to bacteria. *Journal of Bacteriology* 93, pp 961-969.
- MacNaughton, M.G. (1975). Adsorption of chromium(VI) at the oxide-water interface, Interim Report: *Envir. Chem. Div., Environics Directorate, Air Force Civil Eng.Center, Tyndal AFB, FL.*
- Mawson, A.J. (1994). “Bioconversions for whey utilization and waste abatement”. *Journal of Bioresource Technology* 47, pp 195-203.
- Megharaj, M., Avudainayagam, S., and Naidu, R. (2003). Toxicity of hexavalent chromium and its reduction by bacteria isolated from soil contaminated with tannery waste, *Curr. Journal of Microbiol.* 47, pp 51–54.
- Meric, S., Tunay, O., and Ali San, H. (2001). A new approach to modelling substrate inhibition, *Journal of Environmental Technology*, vol 23, pp 163-177.
- Mertz, W., (1979). *Chromium nutrition and metabolism*, Elsevier, Holland Publish. Co., pp 1-14.

- Metcalf, E. (2003). Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill
- Miranda, A.T., Gonzalez, M.V., Gonzalez, G., Vargas, E., Campos-Garcia, J., Cervantes, C. (2005). Involvement of DNA helicases in chromate resistance by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Mutat. Res.* 578 (1-2), pp 202-209.
- Mishra, S., Barik, S.K., Ayyappan, S., Mohapatra, B.C. (2000). Fish bioassay for evaluation of raw and bioremediated dairy effluent. *Bioresource Technology* 72, pp 213-218.
- Mohan, D., and Pittman, Jr.C. (2006). Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water, *Journal of Hazardous Materials B137*, pp 762-811.
- Monod, J. (1949) The growth of bacterial cultures. *Ann. Rev. Microbiol.* 3, pp 371-393.
- Moter, A., and Göbel, U.B. (2000). Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms, *Journal of Microbiological Methods*, 41, 2, pp 85-112.
- Motzer, W.E., and Engineers, T. (2004). Overview of Chemistry, Geochemistry, and Geology of Chromium and Chromium Compounds. In *Chromium(VI) Handbook*. [written by Independent Environmental Technical Evaluation Group (IETEG)], edited by Jacobs J., Guertin J. and Avakian C., CRC Press
- Mowat, A. (1976). Measurement of metal toxicity by biochemical oxygen demand. *Journal of Water Pollution Control Federation* 48, pp 853- 866.
- Mulligan, C.N. (2002). Environmental Bio treatment, Technologies for Air, Water, Soil and Wastes. ABS consulting, Government Institutes, Maryland, USA.
- Murphy, V., Hughes, H., McLoughlin, P. (2008). Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass. *Journal of Chemosphere* 70, pp 1128-1134.
- Myers, C.R., Carstens, B.P., Antholine, W.E., Myers, J.M. (2000). Chromium (VI) reductase activity is associated with the cytoplasmic membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. *Journal of Appl. Microbiol.* 88 (1), pp 98-106.
- Narayani, M., and Shetty, K.V. (2013). Chromium-Resistant Bacteria and Their Environmental Condition for Hexavalent Chromium Removal: A Review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43:9, pp 955-1009.
- Neijssel, O.M., Tempest, D.W. (1975). The regulation of carbohydrate metabolism in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 organisms, growing in chemostat culture. *Journal of Microbiol.*, 10, pp 251-258.
- Neu, T.R., and Lawrence, J.R. (1999). In situ characterization of extracellular polymeric substances (EPS) in biofilm systems. Edited by J. Wingender, T.R. Neu and H.-C Flemming, pp 21-48, Springer Verlag, Berlin, Germany
- Nieboer, E., and Jusys, A.A. (1988). Biologic chemistry of chromium. In: Nriagu, J.O., Nieboer, E. (Eds.), *Chromium in Natural and Human Environments*. Wiley Interscience, New York, pp 21-81.
- Nielsen, P.H. (2002). The activated sludge floc, In Britton, G. (ed.), *Encyclopedia in Environmental Microbiology*, Wiley, Chichester, England.

- Nies, A., Nies, D.H., and Silver, S. (1990). Nucleotide sequence and expression of a plasmid-encoded chromate resistance determinant from *Alcaligenes eutrophus*. *Journal of Biol. Chem.* 265 (10), pp 5648-5653.
- Nies, D.H., and Silver, S. (1989). Plasmid-determined inducible efflux is responsible for resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus*. *Journal of Bacteriol.*, 171(2), pp 896.
- Novak, L., Larrea, L., Wanner, J. (1994). Estimation of maximum specific growth rate of heterotrophic and autotrophic biomass: a combined technique of mathematical modelling and batch cultivations. *Journal of Water Sci Technol*;30, pp 171-180.
- Nriagu, J.O., and Niebbore, E. (1988). Chromium in the natural and human environment, Wiley Interscience, New York.
- Ngwenya, N., and Chirwa, E.M.N. (2011). Biological removal of cationic fission products from nuclear wastewater. *Journal of Water Sci. Technol.* 63 (1), pp 124-128.
- Nilson, J.R. (1981). Effects of copper on phagocytosis in *Tetrahymena*. *Journal of Protoplasma* 109, pp 359-370.
- Ohtake, H., Cervantes, C., and Silver, S. (1987). Decreased chromate uptake in *Pseudomonas fluorescens* carrying a chromate resistance plasmid. *Journal of Bacteriology* 169, pp 3853-3856.
- Ohtake, H., Fujii, E., and Toda, K. (1990). A survey of effective electron donors for reduction of toxic hexavalent chromate by *Enterobacter cloacae* (strain H01). *J. Gen. Appl. Microbiol.* 36, pp 203-208.
- Ohtake, H., Fujii, E., and Toda, K. (1990b). Bacterial reduction of hexavalent chromium: kinetic aspects of chromate reduction by *Enterobacter cloacae* H01. *Journal of Biocatalysis*, 4(2), pp 227.
- Ohtake, H., Fujii, E., and Toda, K. (1990c). Reduction of toxic chromate in an industrial effluent by use of a chromate-reducing strain of *Enterobacter cloacae*. *Journal of Environ. Technol.*, 11(6), pp 663.
- Ohtake, H., Fujii, E., and Toda, K. (1990d.) A survey of effective electron-donors for reduction of toxic hexavalent chromium by *Enterobacter cloacae* (strain H01). *Journal of Gen. Appl. Microbiol.*, 36(3), pp 203.
- Ohtake, H., and Hardoyo, J.K. (1992). New biological method for detoxification and removal of hexavalent chromium. *Journal of Water Sci. Tech.*, 25(11), pp 395.
- Ohtake, H., and Silver, S. (1994). Bacterial detoxification of toxic chromate. In: Chaudhry, G.R. (Ed.), *Biological Degradation and Bioremediation of Toxic Chemicals*. Chapman & Hall, London.
- Okeke, B.C. (2008). Bioremoval of hexavalent chromium from water by a salt tolerant bacterium *Exiguobacterium* sp. GS1. *Journal of Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 35, pp 1571-1579.
- Önal, Y. (2006). Kinetics of adsorption of dyes from aqueous solution using activated carbon prepared from waste apricot, *Journal of Hazard Mater.*, 137(3), pp 1719-1728.

- Ono, B.J. (1988). Genetic approaches in the study of chromium toxicity and resistance in yeast and bacteria, p. 232-263. In O.Nriagu and E.Nieboer (ed.), Chromium in the natural and human environments. John Wiley & Sons, New York.
- Oude, E., Visser, A., Hulshoff, P., Stams, A.J.M. (1994). Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. Journal of Microbiol. Rev., 15, pp 119 – 136.
- Orozco, A.M.F., Contreras, E.M., and Zaritzky, N.E. (2010). Cr(VI) reduction capacity of activated sludge as affected by nitrogen and carbon sources, microbial acclimation and cell multiplication, Journal of Hazardous Materials 176, pp 657–665.
- Ozturk, S., Aslim, B., and Suludere, Z. (2009). Evaluation of chromium(VI) removal behaviour by two isolates of *Synechocystis* sp. in terms of exopolysaccharide (EPS) production and monomer composition, Journal of Bioresource Technology, 100, 23, pp 5588-5593.
- Pal, A., and Paul, A.K. (2004). Aerobic, chromate reduction by chromium-resistant bacteria isolated from serpentine soil. Journal of Microbiol. Res., 159, pp 347–354.
- Palmer, C.D., and Puls, R.W. (1994). Natural Attenuation of Hexavalent Chromium in Groundwater and Soils, EPA/540–94/505, USEPA, Washington, D.C., 12 p.
- Palmer, C.D., and Wittbrodt, P.R. (1991). Processes affecting the remediation of chromium-contaminated sites. Environmental Health Perspectives, 92, pp 25-40.
- Panousi, E., Mamais, D., Noutsopoulos, C., Antoniou, K., Koutoula, K., Mastrantoni, S., Koutsogiannis, C., Gkioni, A. (2016). Biological treatment of groundwater with a high hexavalent chromium content under anaerobic and anoxic conditions. Journal of Chem Technol Biotechnol, DOI 10.1002/jctb.4973.
- Panousi E., Mamais D., Noutsopoulos C., Mpertoli K., Kantzavelou C., Nyktari E., Kavallari I., Nasioka M., Kaldis, A. (2017). Biological groundwater treatment for hexavalent chromium removal at low chromium concentrations under anoxic conditions, Journal of Environmental Technology
- Parameswari, E., Lakshmanan, A., and Thilagavathi, T. (2009). Chromate resistance and reduction by bacterial isolates. Aust. Journal of Basic Appl. Sci., 3, pp 1363–1368.
- Pardue, M.L., and Gall, J.G. (1969). Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 64, pp 600–604.
- Park, C.H., Keyhan, M., Wielinga, B., Fendorf, S., Matin, A. (2000). Purification to homogeneity and characterization of a novel *Pseudomonas putida* chromate reductase. Journal of Appl. Environ. Microbiol. 66 (5), pp 1788-1795.
- Park, C.H., Gonzalez, D., Ackerley, D., Keyhan, M., Matin, A. (2002). Molecular engineering of soluble bacterial proteins with chromate reductase activity. In: Pellei, M., Porta, A., Hinchee, R.E. (Eds.), Remediation and Beneficial Reuse of Contaminated Sediments, vol. 3. Batelle Press, Columbus, OH.
- Park, D., Yun, Y.S., Park, J.M. (2005). Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp., Journal of Chemosphere., 60(10), pp 1356-1364.

- Parmar, A.N., Oosterbroek, T., Del Sordo, S., Segreto, A., Santangelo, A., Dal Fiume, D., Orlandini, M. (2000). Broad-band BeppoSAX observation of the low-mass X-ray binary X 1822-371. *Journal of Astron. Astrophys.* 356, pp 175-180.
- Patra, R.C., Malik, B., Beer, M., Megharaj, M., Naidu, R. (2010). Molecular characterization of chromium (VI) reducing potential in gram positive bacteria isolated from contaminated sites. *Journal of Soil Biol. Biochem.* 42 (10), pp 1857-1863.
- Pei, Q.H., Shahir, S., and Santhana, A.S. (2009). Chromium (VI) resistance and removal by *Acinetobacter haemolyticus*. *World Journal of Microbiol. Biotechnol.* 25 (6), pp 1085-1093.
- Pesti, M., Gazdag, Z., and Belagyi, J. (2000). In vivo interaction of trivalent chromium with yeast plasma membrane as revealed by EPR spectroscopy. *FEMS Microbiology Letters* 182, pp 375-380.
- Pettine, M., and Millero, F.J. (1990). Chromium speciation in sea water: the probable role of hydrogen peroxide. *Limnol. Journal of Oceanogr.* 35, pp 730-736.
- Pettine, M., Dottone, L., Campanella, L., Millero, F.J., Passino, R. (1998). The reduction of chromium(VI) by iron(II) in aqueous solutions. *Journal of Geochim. Cosmochim. Acta* 62, pp 1509-1519.
- Philip, L., Iyengar, L., and Venkobachar, C. (1998). Cr(VI) reduction by *Bacillus coagulans* isolated from contaminated soils, *Journal of Environ. Eng.* 124, pp 1165-1170.
- Pitter, P., and Chudoba, J. (1990) *Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment*. CRC Press, Boca Raton, U.S.A
- Polak, L. (1983). Immunology of chromium. In: *Chromium: metabolism and toxicity*. Burrows, D, ed. Boca Raton, FL: CRC Press,: pp 51-135.
- Poljsak, B., Pocsí, I., Raspor, P., Pesti, M. (2010). Interference of chromium with biological systems in yeast and fungi: a review. *Journal of Basic Microbiol.* 50 (1), pp 21-36.
- Ponder, S.M., Darab, J.G., and Mallouk, T.E. (2000). Remediation of Cr(VI) and Pb(II) aqueous solutions using supported, nanoscale zero-valent iron, *Journal of Environmental Science and Technology*, 34, 12, pp 2564-2569.
- Priester, J.H., Olson, S.G., Webb, S.M., Neu, M.P., Hersman, L.E., Holden, P.A. (2006). Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* unsaturated biofilms. *Journal of Appl. Environ. Microbiol.* 72 (3), pp 1988-1996.
- Prokisch, J., Kovács, N., Palencsár, A.J., Szegvári, I., Gyori, Z. (2000). Yttrium normalization: A new tool for detection of chromium contamination in soil samples, *Journal of Environ. Geochem. Health*, 22, pp 317-323.
- Puzon, G.J., Petersen, J.N., Roberts, A.G., Kramer, D.M., Xun, L. (2002). A bacterial flavin reductase system reduces chromates(III)- NAD⁺ complex. *Biochem. Journal of Biophys. Res.* 294 (1), pp 76-81.
- Puzon, G.J., Roberts, A.G., Kramer, D.M., Xun, L. (2005). Formation of soluble organochromium (III) complexes after chromate reduction in the presence of cellular organics, *Journal of Environ. Sci. Technol.* 39, pp 2811-2817.

- Quan, X., Tan, H., Zhao, Y., Hu, Y. (2006). Detoxification of chromium slag by chromate resistant bacteria Original Research Article Journal of Hazardous Materials, 137, 2, pp 836-841.
- Quintana, M., Curutchet, G., and Donati, E. (2001). Factors Affecting the Chromium(VI) Reduction by *Thiobacillus ferrooxidans*. Journal of Biochem. Eng., 9, pp 11.
- Rai, D., Zachara, J.M., Eary, L.E., Girvin, D.C., Moore, D.A., Resch, C.T., Sass, B.M., Schmidt R.L. (1986). Geochemical behavior of chromium species. Electric Power Research Institute, Palo Alto, California, EA -4544.
- Rai, D., Sass, B.M., and Moore, D.A. (1987). Chromium(III) hydrolysis constants and solubility of chromium hydroxide. Journal of Inorg. Chem. 26, pp 345-349.
- Rai, D., Zachara, J.M., Eary, L.E., Ainsworth, C.C., Amonette, J.E., Cowan, C.E., Szelmeczka, R.W., Resch, C.T., Schmidt, R.L., Girvin, D.C., Smith, S.C. (1988). Chromium reactions in geologic materials, Electric Power Research Institute, Palo Alto, California, EA-5741
- Rai, D., Eary, L.E., Zachara, J.M. (1989). Environmental chemistry of chromium. Journal of The Science of the Total Environment, 86, pp15-23.
- Rai, L.C., and Raizada, M. (1989). Effect of Bimetallic combinations of Ni, Cr, and Pb on growth, uptake of nitrate and ammonia ¹⁴CO₂ fixation, and nitrogenase activity of nostoc muscorum. Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety 17, pp75-85.
- Ramakrishnaiah, C.R., and Prathima, B. (2012). Hexavalent chromium removal from industrial wastewater by chemical precipitation method, International Journal of Engineering Research and Applications, 2, Issue 2, pp 599-603.
- Ramirez-Diaz, M.I., Diaz-Perez, C., Vargas, E., Riveros-Rosas, H., Campo-Garcia, J., Cervantes, C. (2008). Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. Journal of Biometals 21 (3), pp 321-332.
- Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A., and Tsezos, M. (2007). A systematic study of chromium solubility in the presence of organic matter: consequences for the treatment of chromium-containing wastewater. Journal of Chem Technol Biotechnol. 82, pp 802 – 808.
- Revati, W., Kodam, K., Gawai, K., Dhakephalkar, P. (2007). Chromate reduction by *Burkholderia cepacia* MCMB-821, isolated from the pristine habitat of alkaline Crater Lake. Journal of Appl. Microbiol. Biotechnol., 75, pp 627–632.
- Richard, F.C., and Bourg, A.C.M. (1991). “Aqueous geochemistry of chromium. A review”, Journal of Water Resources, 25, 7, pp 807-816.
- Robins, K.J., Hooks, D.O., Rehm, B.H.A., Ackerley, D.F. (2013). *Escherichia coli* Nema is an efficient chromate reductase that can be biologically immobilized to provide a cell free system for remediation of hexavalent chromium. PLoS ONE 8 (3), pp 1-8.
- Roldan, M.D., Perez-Reinado, E., Castillo, F., Moreno-Vivian, C. (2008). Reduction of polynitroaromatic compounds: the bacterial nitroreductases. FEMS Journal of Microbiol. Rev. 32 (3), pp 474-500.
- Romanenko, V.I., and Korenkov, V.N. (1977). A pure culture of bacteria utilizing chromates and dichromates as hydrogen acceptors in growth under anaerobic conditions. Journal of Mikrobiologigya, 46(3), pp 414.

- Ross, D.S., and Bartlett, R.J. (1981). Evidence of non microbial oxidation of manganese in soil, *Journal of Soil Science* 132, pp 153-160.
- Sadettin, S., and Dönmez, G. (2007). Simultaneous bioaccumulation of reactive dye and chromium(VI) by using thermophil *Phormidium* sp., *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, 41, 1-2, pp 175-180.
- Saha, B., and Orvig, C. (2010). Biosorbents for hexavalent chromium elimination from industrial and municipal effluents, *Coordination Chemistry Reviews* 254, pp 2959-2972.
- Saha, R., Nandi, R., and Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. Department of Chemistry, The University of Burdwan, Burdwan - 713104, WB, India.
- Saida, S., and Abdelkader, G. (1994). Inhibition of chromium(III) on the activated sludge activity. *Journal of Environmental Technology* 15, pp 255-262.
- Saleh, F.Y., Parkerton, T.F., Lewis, R.V., Huang, J.H., Dickson, K.L. (1989). Kinetics of chromium transformation in the environment. *Journal of Sci. Tot. Environ.* 86, pp 25-41.
- Salminen, R., Batista, M.J., Bidovec, M., Demetriades, A., De Vivo, B., De Vos, W., Duris, M., Gilucis, A., Gregorauskiene, V., Halamić, J., Heitzmann, P., Jordan, G., Klaver, G., Klein, P., Lis, J., Locutura, J., Marsina, K., Mazreku, A., O'Connor, P.J., Olsson, S.A., Ottesen, R.-T., Petersell, V., Plant, J.A., Reeder, S., Salpeteur, I., Sandström, H., Siewers, U., Steenfelt, A., Tarvainen, T., (2005). *Geochemical Atlas of Europe, Part 1, Background Information, Methodology and Maps.* Geological Survey of Finland, Espoo. Pp 526.
- Saunders, F.M., and Dick, R.I. (1981). Effect of mean-cell residence time on organic composition of activated sludge effluents. *J. Water Pollution. Control, Fed.* 53, pp 201-215.
- Sass, B.M., and Rai, D. (1987). Solubility of amorphous chromium(III)±iron(III) hydroxide solid solutions. *Journal of Inorg. Chem.* 26, pp 2228-2232.
- Schildhaus, H.U., Heukamp, L.C., Merkelbach-Bruse, S., Riesner, K., Schmitz, K., Binot, E. (2012). Definition of a fluorescence in-situ hybridization score identifies high- and low-level FGFR1 amplification types in squamous cell lung cancer, *Journal of Modern Pathology* 25, pp 1473-1480.
- Schmieman, E.A., Yonge, D.R., Rege, M.A., Petersen, J.N., Turick, C.E., Johnstone, D.L., Apel W.A. (1998). Comparative kinetics of bacterial reduction of chromium *Journal of Environmental Engineering*, 124, pp 449-455.
- Schröder, D.C., and Lee, G.F. (1975). Potential transformations of chromium in natural waters. *Journal of Wat. Air Soil Pollut.* 4, pp 355-365.
- Seaman, J.C., Bertsch, P.M., and Schwallie, L. (1999). In-situ Cr(VI) reduction within coarse-textured, oxide-coated soil and aquifer systems using Fe(II) solutions, *Journal of Environmental Science and Technology*, 33, 6, pp 938-944.
- Sedlak, D.L., and Chan, P. (1997) Reduction of hexavalent chromium by ferrous iron. *Journal of Geochim. Cosmochim. Acta*, 61, pp 2185-2192.
- Selinger, C.I., Rogers, T.M., Russell, P.A., O'Toole, S., Yip, P.Y., Wright, G.M., Wainer, Z. (2013). Testing for ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicenter

comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization, *Journal of Modern Pathology* 26, pp 1545–1553.

- Sperandio, M., Urbain, V., Audic J.M., Paul, E. (1999). Use of carbon dioxide evolution rate for denitrifying heterotrophic yield and characterizing denitrifying biomass. *Journal of Water Sci Technol*;39(1), pp 139–146.
- Seviour, R., and Nielsen, P.H. (2010). *Microbial ecology of activated sludge*, IWA Publishing, London, UK
- Shen, H., and Wang, Y.T. (1993). Characterization of enzymatic reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli*. *Journal of Appl. Environ. Microbiol.* 59, pp 3771-3777.
- Shen, H., and Wang, Y.T. (1994a). Biological reduction of chromium by *E. coli*. *Journal of Environmental Engineering* 120, pp 560–572.
- Shen, H., and Wang, Y.T. (1994b). Modeling hexavalent chromium reduction in *Escherichia coli* 33456. *Journal of Biotechnol. Bioeng.*, 43(4), pp 293-300.
- Shen, H., and Wang, Y.T. (1995). Hexavalent chromium removal in two-stage bioreactor system, *Journal of Environ. Chem.* 121, pp 798-804.
- Shi, X., and Dalal, N.S. (1994). Generation of hydroxyl radical by chromate in biologically relevant systems: role of Cr(V) complexes versus tetraperoxochromate (V). *Environ. Health Perspect.* 102 (3), pp 231-236.
- Shriver, D.F., Atkins, P.W., and Langford, C.H. (1994). *Inorganic Chemistry 2nd Edition*, (App. 2, B14) Oxford University Press, Oxford
- Simmons, P., and Singleton, I. (1996). A method to increase silver biosorption by an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 45 (1–2), pp 278–285.
- Singh, V.P. (2005). *Toxic metals and environmental issues*, published by Sarup & Sons, New Delhi.
- Singh, R., Kumar, A., Kirrolia, A., Kumar, R., Yadav, N., Bishnoi, N. R., Lohchab, R. K. (2011). Removal of sulphate, COD and Cr(VI) in simulated and real wastewater by sulphate reducing bacteria enrichment in small bioreactor and FTIR study, *Journal of Bioresource Technology* 102 , pp 677–682.
- Smith, W.L., and Gadd, G.M. (2000). Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulfate reducing bacterial biofilm. *Journal of Appl. Microbiol.* 88 (6), pp 983-991.
- Soni, S.K., Singh, R., Awasthi, A., Singh, M., Kalra, A. (2012). In vitro Cr (VI) reduction by cell-free extracts of chromate-reducing bacteria isolated from tannery effluent irrigated soil. *Journal of Environ. Sci. Pollut. Res.* 20 (3), pp 1661-1674.
- Speece, R.E., Engelbrecht, R.S., Aukamp, D.R. (1973). Cell replication and biomass in the activated sludge process, *Journal of Water Res.*, 7 pp 361–374.
- Sperling, M. (2005). *Chromium*, Elsevier, pp 113-125, University of Münster, Münster, Germany.

- Srivastavaa, S., and Thakur, I.S. (2006). Isolation and process parameter optimization of *Aspergillus* sp. for removal of chromium from tannery effluent, *Journal of Bioresource Technology*, 97, 10, pp 1167–1173.
- Stams, A.J.M., Oude Elferink, S.J.W.H., and Westermann, P. (2003). Metabolic interactions between methanogenic consortia and anaerobic respiring bacteria. *Journal of Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 81, pp 151–203.
- Stanin, F.T., and Pirnie, M. (2004). The Transport and Fate of Cr(VI) in the Environment. In *Chromium(VI) Handbook*. [written by Independent Environmental Technical Evaluation Group (IETEG)], edited by Jacobs J., Guertin J. and Avakian C., CRC Press
- Stasinakis, A.S., Mamais, D., Thomaidis, N.S., Lekkas, T.D. (2002). Effect of chromium(VI) on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge, *Journal of Water Research* 36, pp 3341–3349.
- Stasinakis, A.S., Mamais, D., Papanikolaou, E.C., Tsakon, A., Lekkas, T.D. (2003). Effects of chromium (IV) addition on activated sludge process, *Journal of Water Res.* 37, pp 2140–2148.
- Stasinakis, A.S, Thomaidis, N.S, Mamais, D., Karivali, M., Lekkas T.D. (2003b). Chromium species behaviour in the activated sludge process. *Journal of Chemosphere* 52, pp 1059–1067.
- Stasinakis, A.S, Thomaidis, N. S., Mamais, D., Lekkas, T.D. (2004). Investigation of Cr(VI) reduction in continuous-flow activated sludge systems, *Journal of Chemosphere* 57, pp 1069–1077.
- Stollenwerk, K.G., and Grove, D.B. (1985). Adsorption and desorption of hexavalent chromium in an alluvial aquifer near Telluride, Colorado, *Journal of Environ. Qual.*, vol. 14, pp 150–155.
- Stouthamer, A.H. (1977). Energetic aspects of the growth microorganisms. In *Microbial Energetics*, eds. B. A. Haddock and W. A. Hamilton, pp 285–315. Cambridge University Press, London
- Summer, M.E. (1999). *Handbook of Soil Science*, CPC Press, LLC
- Sultan, S., and Hasnain, S. (2007). Reduction of toxic hexavalent chromium by *Ochrobactrum* intermedium strain SDCr-5 stimulated by heavy metals. *Journal of Bioresour. Technol.*, 98, pp 340–344.
- Suzuki, Y., Homma, K., and Minami, M. (1984). Simultaneous determination of chromium in rats exposed to hexavalent chromium and trivalent chromium aerosols. *Journal of Ind Health* 22, pp 261-267.
- Suzuki, T., Miyata, N., Horitsu, H., Kawai, K., Takamizawa, K., Tai, Y., Okazaki, M. (1992). NAD(P)H-dependent chromium (VI) reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1: a Cr(V) intermediate is formed during the reduction of Cr(VI) to Cr(III). *Journal of Bacteriol.* 174 (16), pp 5340-5345.
- Sykes, R.M. (1975). Theoretical Heterotrophic Yields " *Jour. Water Poll. Control Fed.*, 47, pp 591.

- Tchobanoglous, G., Burton, F.L., and Stensel, H.D. (2003). Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. ed by Metcalf, E. 4th Edition, New York.
- Tebo, B.M., and Obraztsova, A.Y. (1998). Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as electron acceptors. FEMS Journal of Microbiology Letters 162, pp 193–198.
- Tekerlekopoulou, G., Tsiamis, G., Dermou, E., Siozios, S., Bourtzis, K., Vayenas, D.V. (2010). The Effect of Carbon Source on Microbial Community Structure and Cr(VI) Reduction Rate, Journal of Biotechnology and Bioengineering, 107, (3), pp 478-487.
- Thacker U., Parikh R., Shouche Y., Madamwar D. (2007). Reduction of chromate by cell-free extract of *Brucella* sp. isolated from Cr(VI) contaminated sites, Journal of Bioresource Technology, 98, 8, pp 1541-1547.
- Thatoi, H., Das, S., Mishra, J., Rath, B.P., Das, N. (2014). Bacterial chromate reductase, a potential enzyme for bioremediation of hexavalent chromium: A review, Journal of Environmental Management 146, pp 383-399.
- Thornton, E.C., and Amonette, J.E. (1999). Hydrogen sulfide gas treatment of Cr(VI)-contaminated sediment samples from a plating-waste disposal site—implications for in-situ remediation, Environmental Science and Technology, 33, 22, pp 4096–4101.
- Tuovinen, O.H., Puhakka, J., Hiltunen, P., Dolank, M. (1985). Silver toxicity to ferrous iron and pyrite oxidation and its alleviation by yeast extract in cultures of *Thiobacillus ferrooxidans*. Journal of Biotechnology Letters 7, pp 389-394.
- Turick, C.E., Apel, W.A., and Carmiol, N.S. (1996). Isolation of hexavalent chromium-reducing anaerobes from hexavalent chromium-contaminated and noncontaminated environments. Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 44, pp 683–688.
- Twigg, M.V.E. (1989). The Water-Gas Shift Reaction, Catalyst Handbook, ISBN 978-0-7234-0857-4.
- Uday, E.S., Ozen, S., Orhon, D., Henze, M. (1998). Metric analysis of activated sludge behaviour—I Assessment of the readily biodegradable substrate. Water Res;32(2):461–75.
- USDOE, (1996). Subsurface Contaminants Focus Area Report, (08/96) DOE/EM-0296. Office of Science and Technology, Springfield, VA.
- U.S. Filter Recovery Services, Inc., (2001). The Removal of Cr from Groundwater Using Ion Exchange, Locus Technologies Project #98–002, FMC–Fresno Site, prepared for Locus Technologies, Inc.
- USEPA, Reviews of the environmental effects of pollutants.III. chromium. EPA 600/1-78023. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1978.
- USEPA, The drinking water criteria document on chromium.EPA 440/5-84-030. US Environmental Protection Agency, Office of Drinking Water, Washington, DC, 1990
- Vankova, S., Kupec, J., and Hoffmann, J. (1999). Toxicity of Chromium to Activated Sludge, Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety 42, pp 16-21.
- Velma, V., and Tchounwou, P.B. (2010). Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *carassius auratus*, Journal of Elsevier, 698, 1–2, pp 43-51.

- Venetsaneas, N., Antonopoulou, G., Stamatelatou, K., Kornaros, M., Lyberatos, G. (2009) Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Journal of Bioresource Technology* 100 (15), pp 3713-3717.
- Verma, S.K., and Singh, S.P. (1995). Multiple metal resistance in the cyanobacterium, *Nostoc muscorum*. *Bull. Journal of Environ. Contam. Toxicol.*, 54, pp 614–619.
- Viamajala, S., Peyton, B.M., Apel, W.A., Petersen, J.N. (2002). Chromate/nitrite interactions in *Shewanella oneidensis* MR-1: evidence for multiple hexavalent chromium [Cr(VI)] reduction mechanisms dependent on physiological growth conditions. *Journal of Biotechnol. Bioeng.* 78, pp 770–778.
- Viamajala, S., Smith, W.A., Sani, R.K., Apel, W.A., Petersen, J.N., Neal, A.L. (2007). Isolation and characterization of Cr(VI) reducing *Cellulomonas* spp. from subsurface soils: Implications for long-term chromate reduction. *Journal of Bioresour. Technol.*, 98, pp 612–622.
- Vincent, J.B. (1994). Chromium: biological relevance. In: King, R.B. (Ed.), *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, Second ed. vol. 2. Wiley, New York.
- Volesky, B. (1990). *Biosorption of Heavy Metals*. CRC press, Boca Raton, FL.
- Vrionis, H.A., Anderson, R.T., Ortiz-Bernad, I., O'Neill, K.R., Resch, C.T., Peacock, A.D., Dayvault, R., White, D.C., Long, P.E., Lovley, D.R. (2005). Microbiological and geochemical heterogeneity in an In situ uranium bioremediation field site. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 71, pp 6308-6318.
- Wang, Y.T. (2000). Microbial reduction of chromate. In: Lovley, D.R.(Ed.), *Environmental Microbe–Metal Interactions*. American Society for Microbiology Press, Washington DC.
- Wang, P.C., Mori, T., Komori, K., Sasatsu, M., Toda, K., Ohtake, H. (1989). Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions. *Journal of Appl. Environ. Microbiol.* 55 (7), pp 1665-1669.
- Wang, P.C., Mori, T., Toda, K., Ohtake, H. (1990). Membrane-associated chromate reductase activity from *Enterobacter cloacae*. *Journal of Bacteriol.*, 172(3), pp 1670-1672.
- Wang, P.C., Toda, K., Ohtake, H., Kusaka, I., Yabe, I. (1991). Membrane-bound respiratory system of *Enterobacter cloacae* strain HO1 grown anaerobically with chromate. *FEMS Journal of Microbiol. Lett.* 78 (1), pp 11-15.
- Wang, Y.T., and Chirwa, E.M. (1998). Simultaneous removal of Cr(VI) and phenol in chemostat culture of *E. coli* ATCC 33456 and *P. putida* DMP-1. *Journal of Water Science and Technology*, 38, 8-9, pp 113-119.
- Wang, Y.T., and Shen, H. (1995). Bacterial reduction of hexavalent chromium. *Journal of Industrial Microbiology* 14, pp 159–163.
- Wang, Y.T., and Shen, H. (1997). Modelling Cr(VI) reduction by pure bacteria cultures, *Journal of Water Res.* 31, pp 727-732.
- Wang, Y.T., and Xiao, C. (1995). Factors affecting hexavalent chromium reduction in pure cultures of bacteria, *Journal of Water Research*, 29, 11, pp 2467-2474.

- Weckhuysen, B., Schoonheydt, M., and Robert, A. (1999). Olefin polymerization over supported chromium oxide catalysts. *Catalysis Today* 51 (2), pp 215–221.
- Wenbo, Q., Reiter, R.J., Tan, D.X., Garcia, J.J., Manchester, L.C., Karbownik, M., Calvo, J.R. (2000). Chromium (III)-induced 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA and its reduction by antioxidants: comparative effects of melatonin, ascorbate, and vitamin E. *Journal of Environ. Health Perspect.* 108 (5), pp 399-402.
- Whittleston, R.A. (2009) Chromium Contamination: Processes Affecting Subsurface Contaminant Mobility *Earth & Environment: 4*, pp 83-113.
- WHO, International Agency for Research on Cancer, (1997). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 49: chromium, nickel and welding
- Wielinga, B., Mizuba, M.M., Hansel, C.M., Fendorf, S. (2001). Iron promoted reduction of chromate by dissimilatory iron-reducing bacteria. *Journal of Environmental Science and Technology* 35, pp 522–527.
- Williams, S.M., Criddle, C.S., and Dybas, M.J. (2004). Assessing the Potential for Biological Cr(VI) Reduction in an Aquifer Contaminated with Mixed Wastes, *Chromium(VI) Handbook*, pp 346-350.
- Wong, P.K., and So, C.M. (1993). Copper accumulation by a strain of *Pseudomonas putida*. *Journal of Microbios* 73 (295), pp 113–121.
- Xia, L., and McCreery, R. (1998). Chemistry of a chromate conversion coating on aluminum alloy AA2024-T3 probed by vibrational spectroscopy. *Journal of the Electrochemical Society*, 145, pp 3083-3089.
- Xu, X.R., Li, H.B., Gu, J.-D., 2004. Reduction of hexavalent chromium by ascorbic acid in aqueous solutions. *Journal of Chemosphere* 57, 609–613.
- Xu, X.R., Li, H.B., Gu, J.D., Li, X.Y. (2005). Kinetics of the reduction of chromium (VI) by vitamin C. *Journal of Environmental Toxicology and Chemistry* 24, pp 1310–1314.
- Xu, W.H., Liu, Y.G., Zeng, G.M., Li, X., Song, H.X., Peng, Q.Q. (2009). Characterization of Cr(VI) resistance and reduction by *Pseudomonas aeruginosa*. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, 19, pp 1336–1341.
- Xu L., Luo M., Li W., Wei X., Xie K., Liu L., Jiang C. Liu H. (2011). Reduction of hexavalent chromium by 20 *Pannonibacter phragmitetus* LSSE-09 stimulated with external electron donors under alkaline 21 conditions. *Journal of Hazard. Mater.* 185, pp 1169 – 1176.
- Yetis, U., and Gokcay, C.F. (1989). Effect of Nickel(II) on activated sludge. *Water Res.* 23, pp 1003-1007.
- Zahoor, A., and Rehman, A. (2009). Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. *Journal of Environmental Sciences*, vol. 21, no. 6, pp 814-820.
- Zeng, A.P., and Deckwer, W.D. (1995). A kinetic model for substrate and energy consumption of microbial growth under substrate-sufficient conditions, *Journal of Biotechnol. Prog.*, 11, pp 71–79.

- Zenno, S., Koike, H., Kumar, A.N., Jayaraman, R., Tanokura, M., Saigo, K. (1996). Biochemical characterization of NfsA, the Escherichia coli major nitroreductase exhibiting a high amino acid sequence homology to Frp, a Vibrio harveyi Flavin oxidoreductase. Journal of Bacteriol 178, pp 4508-4514.
- Zenno, S., Kobori, T., Tanokura, M., Saigo, K. (1998). Conversion of NfsA, the major Escherichia coli nitroreductase, to a flavin reductase with an activity similar to that of Frp, a flavin reductase in Vibrio harveyi, by a single amino acid substitution. Journal of Bacteriol. 180 (2), pp 422-425.
- Zhang, K., and Li, F. (1997). Cancer Mortality in a Chinese Population Exposed to Hexavalent Chromium in Water, Journal of Occupational and Environmental Medicine, 39, 4, pp 315-319.
- Zhang, K., and Li, F. (2011). Isolation and characterization of a chromium-resistant bacterium *Serratia* sp. Cr-10 from a chromate-contaminated site. Journal of Appl. Microbiol. Biotechnol., 90, pp 1163–1169.
- Zhitkovich, A. (2011). Chromium in drinking water: sources, metabolism and cancer risk. Journal of Chem. Res. Toxicol. 24, pp 1617-1629.
- Zumft, W.G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. Journal of Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61, pp 533–616.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αντωνόπουλος, Β. (1999). Υδρολογία της Ακόρεστης Ζώνης του Εδάφους. Υπηρεσία Δημοσιευμάτων Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη.
- Ανυφαντάκης, Ε. (2004). Τυροκομία Χημεία-Φυσικοχημεία-Μικροβιολογία, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.
- Καλογήρου, Μ., Μπομπότη Ν., Μπουντάς Ν., Σάκαλης Α., Τρανού Σ. (2013). Χρώμιο στο Περιβάλλον, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Διατμηματικό – Διεπιστημονικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Εργασία στα πλαίσια του μαθήματος: Διαχείριση Επικίνδυνων Αποβλήτων, Αθήνα.
- Μάντης, Α. (2000). Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του, Εκδόσεις Κυριακίδη.
- Στασινάκης, Α.Σ. (2002). Διερεύνηση Τοξικότητας και Μελέτη Συμπεριφοράς Χημικών Μορφών Μετάλλων σε Συστήματα Ενεργού Ιλύος με Έμφαση στο Χρώμιο, Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Αιγαίου.
- Τερζίδης, Γ., και Καραμούζης, Δ. (1985). Υδραυλική Υπόγειων Νερών. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.

Πηγές από το Διαδίκτυο

- ΕΛ.ΙΝ.Υ.Α.Ε: <http://www.elinyae.gr/el/index.jsp>
- ΕΕΧ
- Όξενκιουν-Πετροπούλου, (2007): www.ntua.gr/gr_announce/pdf/20070309_water.pdf
- Chromium: isotope data. Διαθέσιμο στο διαδίκτυο <http://www.webelements.com/chromium/isotopes.html>
- ChemIDplus, (2008) Chromium and compounds. Bethesda, MD: National Library of Medicine. Διαθέσιμο στο διαδίκτυο: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>
- Health Protection Agency, (2007): <https://www.gov.uk/government/publications/chromium-general-information-incident-management-and-toxicology>
- Microbiology, Westminster College: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/microbiology/deck/10254287>
- Science photo library: <http://www.sciencephoto.com/media/460725/view>
- The Stainless Steel Information Center, "Stainless steel overview: How it is produced", (2007): <http://www.ssina.com/overview/how.html>
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21: <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=17477>
- WIKIPEDIA: <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A7%CF%81%CF%8E%CE%BC%CE%B9%CE%BF>