ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Διερεύνηση της επίδρασης των νιτρωδών στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών αποθήκευσης γλυκογόνου σε συστήματα ενεργού ιλύος

Σιαμάνη Ελένη

Επιβλέπων:
Κωνσταντίνος Νουτσόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής

ΑΘΗΝΑ 2022

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας, νιώθω την ανάγκη να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε μια σειρά από ανθρώπους, που με καθοδήγησαν και με βοήθησαν στην υλοποίηση της. Πρώτα απ' όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Νουτσόπουλο, για την ανάθεση του θέματος καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση του καθ' όλη την διάρκεια των προπτυχιακών σπουδών μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Μαριάννα Γιολδάση, μέλος του εργαστηρίου για την σημαντικότατη καθοδήγηση και την συνεχή βοήθεια στο χώρο του εργαστηρίου.

Θα ήθελα επίσης να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα Δημήτρη Ανδρεαδάκη, για την πολύτιμη βοήθεια, την άψογη συνεργασία και στήριξή του.

Θα ήταν μεγάλη παράλειψη να μην αναφέρω τους συμφοιτητές και φίλους μου Στράτο, Γιώργο, Πέγκυ, Σμαράγδα, Ειρήνη, Κωνσταντίνο και Λυδία για την στήριξη και την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχαν καθ' όλη την διάρκεια των προπτυχιακών μου σπουδών.

Περίληψη

Στην παρούσα διπλωματική εργασία διερευνάται ο βαθμός επίδρασης των νιτρωδών στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών αποθήκευσης γλυκογόνου (Glycogen Accumulating Organisms) σε συστήματα ενεργού ιλύος.

Τα αστικά λύματα είναι πλούσια σε ρυπαντικά φορτία, μερικά εκ των οποίων είναι τα θρεπτικά συστατικά (άζωτο (N) και φώσφορος (P)) . Η επεξεργασία των λυμάτων αποσκοπεί στην απομάκρυνσή τους καθώς το αμμωνιακό άζωτο νιτροποιούμενο προκαλεί αποξυγόνωση, η μη ιονισμένη συνιστώσα του (NH_3) είναι τοξική στους υδρόβιους οργανισμούς ενώ το νιτρικό άζωτο (NO_3) αποτελεί τοξική συνιστώσα του πόσιμου νερού. Το άζωτο (αμμωνιακό και νιτρικό), αλλά και ο φώσφορος με τη μορφή των φωσφορικών μπορούν να κινητοποιήσουν φαινόμενα ευτροφισμού, καθώς και σε οργανική μορφή μπορούν να θεωρηθούν ως δυνητικοί παράγοντες ευτροφισμού, αφού οι οργανικές ύλες διασπώνται κατά το βιολογικό καθαρισμό και στους αποδέκτες των λυμάτων, αποδίδοντας το άζωτο και το φώσφορο σε ανόργανη μορφή.

Κατά την επεξεργασία των λυμάτων, μετά το στάδιο της αναερόβιας χώνευσης η οποία προηγείται της αφυδάτωσης της σταθεροποιημένης ιλύος, προκύπτει ένα ρεύμα στραγγιδίων με υψηλό φορτίο αζώτου και φωσφόρου. Λόγω της επανακυκλοφορίας των στραγγιδίων αυξάνεται σημαντικά το φορτίο των θρεπτικών συστατικών στον βιολογικό αντιδραστήρα. Αυτές οι συνθήκες δημιουργούν την ανάγκη επεξεργασίας των στραγγιδίων πριν την παροχέτευση τους στην είσοδο της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων.

Τα τελευταία χρόνια, δεδομένων των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν οι μέθοδοι βιολογικής απομάκρυνσης θρεπτικών, πραγματοποιούνται διαρκείς έρευνες ώστε να βελτιστοποιηθεί η εφαρμογή τους. Οι βιολογικές μέθοδοι αφορούν στην εναλλαγή αναερόβιων και αερόβιων συνθηκών, γεγονός το οποίο υποβοηθά την ανάπτυξη αερόβιων βακτηριδίων, τα οποία έχουν την ικανότητα να αποθηκεύουν φώσφορο σε ποσοστά μεγαλύτερα από αυτά που απαιτούνται για την ανάπτυξή τους. Ήδη υπάρχοντα συστήματα πραγματικής κλίμακας πραγματοποιούν επεξεργασία στραγγιδίων με βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου και ταυτόχρονη βιολογική απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης.

Η παρουσία νιτρώδους αζώτου, που προκύπτει από την οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη, μπορεί να επηρεάσει την ομαλή λειτουργία της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, αφού το νιτρώδες άζωτο αποτελεί σημαντικό αναχαιτιστικό παράγοντα για τα πολυφωσφορικά βακτήρια (PAOs), τα οποία συμβάλλουν στην απομάκρυνση φωσφόρου. Επιπλέον, υπάρχει άλλη μία κατηγορία μικροοργανισμών η οποία ονομάζεται Competibacter GAOs, ανταγωνίζεται τα PAOs, δεν συμβάλλει στην απομάκρυνση φωσφόρου και παρουσία αντίστοιχης συγκέντρωσης νιτρώδους αζώτου αναχαιτίζεται σε μικρότερο βαθμό από τα PAOs.

Η διερεύνηση που θέματος της παρούσα διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ. Δημιουργήθηκε

αντιδραστήρας διαλείποντος έργου εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας (Sequencing Batch Reactor – SBR) με ανάμικτο υγρό από την ΕΕΛ Ψυττάλειας, στον οποίο αναπτύχθηκε καθαρή καλλιέργεια GAOs. Η χρονική περίοδος κατά την οποία εκτελέστηκε η πειραματική εργασία διήρκησε από τις 12 Μαρτίου 2019 έως 31 Ιουλίου 2019. Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα γινόταν καθημερινά με συνθετικά λύματα.

Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων ασυνεχούς λειτουργίας (batch). Η πρώτη έγινε σε σταθερή τιμή pH ίση με 7 και περιλαμβάνει 4 batch πειράματα με συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου 20, 40, 60, 120 mg NO_2-N/L. Η δεύτερη σειρά εκτελέστηκε σε σταθερή τιμή pH ίση με 8 και αποτελείται από τρία πειράματα batch που εξετάστηκαν σε συγκεντρώσεις νιτρώδους αζώτου 35, 70, 140 mg NO_2-N/L.

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα αποδεικνύεται ότι για pH 7, μία συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 40 mg/L (FNA ≈10 μg HNO_2-N/L) προκαλεί 50% αναχαίτιση στην ανάπτυξη των GAOs, ενώ για συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 120 mg/L (FNA ≈ 27 μg HNO_2-N/L) αναχαιτίζεται πλήρως η ανάπτυξη των GAOs. Τέλος, η αύξηση του pH από το 7 στο 8 προκάλεσε μεγαλύτερη αναχαίτιση στην ανάπτυξη των GAOs.

Abstract

In this study it is investigated the degree of influence of nitrite nitrogen and pH on the aerobic growth of Glycogen Accumulating Organisms (GAOs) in activated sludge systems.

Urban wastewater is rich in pollutants, some of which are nutrients (nitrogen (N) and phosphorus (P)). Sewage treatment aims to remove them, as nitrified ammonia nitrogen causes deoxygenation, its non-ionized component (NH3) is toxic to aquatic organisms, while nitric nitrogen (NO3) is a toxic component for drinking water. Nitrogen (ammonia and nitrate), but also phosphorus in the form of phosphates, can lead to eutrophication, and can also be considered as potential eutrophication agents in organic form, since organic matter is decomposed during biological treatment and in wastewater recipients, yielding nitrogen and phosphorus in inorganic form.

Wastewater treatment results in a reject water with a high load of nitrogen and phosphorus, after the anaerobic digestion stage which precedes the dehydration of the stabilized sludge. Due to the recirculation of the reject water, there is a significant load of nutrients in the biological reactor. These conditions address the need to treat the reject water before it is directed into the entrance of the wastewater treatment plant.

Nowadays, due to the advantages of biological nutrient removal methods, continuous research is carried out in order to optimize their application. Biological methods involve the alternation of anaerobic and aerobic conditions, that aids the growth of aerobic bacteria, which have the ability to store phosphorus at higher levels than those required for their growth. Existing full-scale systems treat influents with biological phosphorus removal and simultaneous biological nitrogen removal by nitrification-denitrification.

The presence of nitrite, resulting from the oxidation of ammonia to nitrite, can affect the proper functioning of biological phosphorus removal, as nitrite is an important inhibitory factor for polyphosphate bacteria (PAOs), which contribute to phosphorus removal. In addition, there is another class of microorganisms called GAOs, which competes with PAOs, does not contribute to the removal of phosphorus and, in the presence of a corresponding concentration of nitrous nitrogen, is inhibited to a lesser degree than PAOs.

The investigation of the current topic was carried out in the Laboratory of Sanitary Engineering of NTUA. A Sequencing batch reactor – SBR was created with mixed liquor from the WWTP of Psuttaleia in which a population of GAOs was cultivated. The experimental period lasted from 20 June 2019 until 31 July 2019. The SBR was daily fed with synthetic wastewater.

Two series of batch experiments were performed. The first one was performed at a constant pH value of 7 and includes four batch experiments with nitrous nitrogen concentration 20, 40, 60, 120 mg NO_2-N/L The second one was performed at a constant pH of 8 and consisted of three batch experiments studying nitrous nitrogen concentrations 35, 70, 140 mg NO_2-N/L

Experimental results show that in the pH of 7, a nitrite concentration equal to 40 mg / L (FNA ≈10 μg HNO2-N / L) causes a 50% inhibition of GAO growth, while for a nitrite concentration equal to 120 mg / L (FNA ≈ 27 μg HNO2-N / L) completely inhibits the growth of GAOs. Finally, the increase in pH from 7 to 8 caused a greater inhibition in the growth of GAOs.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1 1
Εισαγωγή 1
Κεφάλαιο 2 4
Βιβλιογραφική Ανασκόπηση 4
2.1 Γενικά 4
2.2 Μεταβολισμός μικροοργανισμών 4
2.2.1Τρόποι με τους οποίους κατηγοριοποιούνται οι μικροοργανισμοί: 5
2.3 Οργανισμοί εμπλεκόμενοι στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου 7
2.3.1 Μεταβολισμός PAOs 7
2.3.2 Μεταβολισμός GAOs 9
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου 10
2.4.1 Επίδραση Τροφής 11
2.4.2 Επίδραση pH 13
2.4.3 Επίδραση Θερμοκρασίας 15
2.4.4 Επίδραση Αλατότητας 16
2.4.5 Επίδραση χρόνου παραμονής 16
2.4.6 Επίδραση Διαλυμένου Οξυγόνου 18
2.4.7 Επίδραση Αναχαιτιστικών ουσιών 19
Κεφάλαιο 3 24
3.1 Περιγραφή Πειραματικής Διάταξης 24
3.1.1 Περιγραφή συστήματος SBR (Sequential Batch Reactor) 24
3.1.2 Περιγραφή Τροφοδοσίας συστήματος 27
3.2 Έλεγχος καλλιέργειας μικροοργανισμών 27
3.2.1 1η μέθοδος: μέτρηση οργανικού φορτίου 27
3.2.2 2η μέθοδος: FISH (Fluorescent In Situ Hybridization – Μέθοδος φθορίζουσας επί τόπου Υβριδοποίηδης) 28
3.3 Διαδικασία πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας (Batch) 34
3.3.1 Μέτρηση ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS) και πτητικών αιωρούμενων στερεών (VSS) 35
3.3.2 Μέτρηση νιτρώδους αζώτου (NO_2-N) 39
3.3.3 Μέτρηση διαλυτού Χημικώς Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD: Chemical Oxygen Demand) 40
3.3.4 Μέτρηση pH, θερμοκρασίας και διαλυμένου οξυγόνου (DO: Dissolved Oxygen) 41
Κεφάλαιο 4 43

Αποτελέσματα και Ανάλυση πειραμάτων 43
4.1 Γενικά..... 43
4.2 Συνθήκες και παράμετροι συστήματος πειραματικής διαδικασίας..... 43
4.3 Ανάλυση μεθοδολογίας με την χρήση ενδεικτικού πειράματος 45
4.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της σειράς πειραμάτων 54
4.6 Πειραματική αξιολόγηση της επίδρασης του FA στη δραστηριότητα των GAOs..... 57
Κεφάλαιο 5.....57
Συμπεράσματα.....57
Αναφορές..... 59
Παράρτημα..... 65

Πίνακας περιεχομένων εικόνων

Εικόνα 2.1: Αναερόβια μετατροπή των οργανικών ενώσεων σε PHAs. (πηγή: Mino, 1998). .. 8
Εικόνα 2.2: Μετατροπές ενδοκυτταρικά αποθηκευμένων συστατικών κατά τον τυπικό αναερόβιο (αριστερά) και αερόβιο (δεξιά μεταβολισμό των PAOs (Πηγή: Bond and Rees, 1999)..... 9
Εικόνα 2.3: ΒΟΗΘΕΙΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ ΕΔΩΑπεικόνιση της επίδρασης του FNA στην βιολογική μετατροπή του άνθρακα και η ροή της ATP των GAOs. Illustration on the effects of FNA exposure on biological carbon transformation and ATP flow of GAO. Και της διαδικασίας μετατροπής της ATP σε ADP στα GAOs (πηγή: Ganda et al, 2016). 23
Εικόνα 3.4: Διάγραμμα Ροής τη μεθόδου FISH (πηγή: προσωπικό αρχείο). 29
Εικόνα 3.5: Μικροοργανισμοί με βάση τη μέθοδο FISH. (Πηγή: προσωπικό αρχείο). 33
Εικόνα 3.6: Διάταξη Batch Πειραμάτων (πηγή: προσωπικό αρχείο). 34
Εικόνα 3.7: Φίλτρα διήθησης Whatman GF/C διαμέτρου 1.2 μm (πηγή: scientificfilters.com). 35
Εικόνα 3.8: Φούρνος καύσης στερεών (διατήρηση θερμοκρασίας στους 103-105 oC), (πηγή: προσωπικό αρχείο). 36
Εικόνα 3.9: Ξηραντήρας με κατάλληλο αφυγραντικό μέσο (πηγή: προσωπικό αρχείο). 36
Εικόνα 3.10: Αναλυτικός Ηλεκτρονικός ζυγός (ακρίβεια ζύγισης 0,0001g), (πηγή: προσωπικό αρχείο)..... 37
Εικόνα 3.11: Φούρνος καύσης στερεών (θερμοκρασίας 550 0C), (πηγή: προσωπικό αρχείο). 38
Εικόνα 3.12: Αντιδραστήρια Nitriver 3 της εταιρείας HACH (πηγή:www.hach.com)..... 39
Εικόνα 3.13: Φασματοφωτόμετρο HACH DR 2800 (πηγή: προσωπικό αρχείο). 39
Εικόνα 3.14: Συσκευή χώνευσης (HACH). 40
Εικόνα 3.15: Αντιδραστήρια COD, εταιρείας HACH LCK314 (εύρος τιμών 15-150 mg/L). 41
Εικόνα 3.16: pH 3110 (HACH) (πηγή: προσωπικό αρχείο). 41
Εικόνα 3.17: Οξυγονόμετρο Multi 3510 IDS της εταιρείας WTW. 42
Εικόνα 4.1: In situ προσδιορισμό GAOs χρησιμοποιώντας Cy-3 GAOMIX. Με μπλε απεικονίζεται το σύνολο των μικροοργανισμών (στήλη a), με κόκκινο οι GAOs (στήλη b), με μωβ η σύνθεση των εικόνων (στήλη c). 44

Πίνακας Περιεχομένων Σχημάτων

Σχήμα 2.1: Ημερήσια διακύμανση συγκέντρωσης φωσφόρου στο τέλος της αναερόβιας και ανοξικής φάσης και η %επιτυχής απομάκρυνση φωσφόρου σε σύστημα SBR (Merzouki et al., 2001). 17
Σχήμα 4.1: Τυπική μεταβολή του COD κατά τον πρώτο ημερήσιο κύκλο. 44
Σχήμα 4.2: :Μεταβολή συγκέντρωσης VSS Control. 46
Σχήμα 4.3: Μεταβολή συγκέντρωσης VSS περιέκτη A παρουσία NO2-N=40mg/L. 46
Σχήμα 4.4: Μεταβολή συγκέντρωσης VSS περιέκτη B παρουσία NO2-N=40mg/L. 47
Σχήμα 4.5: Λογαριθμική μεταβολή VSS. 48
Σχήμα 4.6: Προσδιορισμός καθαρών ρυθμών ανάπτυξης GAOs σε κάθε αντιδραστήρα. 48
Σχήμα 4.7: Oxygen uptake (Control) ενδεικτικού πειράματος. 52
Σχήμα 4.8: Oxygen uptake (A) ενδεικτικού πειράματος……51
Σχήμα 4.9: Oxygen uptake (B) ενδεικτικού πειράματος……52
Σχήμα 4.10: : Σύγκριση της επίδρασης των νιτρωδών στην ανάπτυξη των GAOs, σε pH=7 και pH=853

Σχήμα 4.11: : Σύγκριση της επίδρασης του FNA στην ανάπτυξη των GAOs σε pH=7 και pH=8…….54

Σχήμα 4.12: Σύγκριση της επίδραση του FNA στην αερόβια PUR των PAOS και στην ανάπτυξη των GAOs……55

Πίνακας Περιεχομένων Πινάκων

Πίνακας 2.1: Αναχαίτιση FNA στον αερόβιο μεταβολισμό των GAOs και των PAOs (πηγές: (Pijuan et al, 2010) (Ye et al., 2010)). 22
Πίνακας 3.2: Μέτρηση του COD στην αρχή και το τέλος του αναερόβιου κύκλου του συστήματος SBR. 27
Πίνακας 4.1: Αρχικές συγκεντρώσεις των κύριων παραμέτρων σε κάθε περιέκτη. 45
Πίνακας 4.2: Καθαρές ταχύτητες ανάπτυξης (μ-b) ενδεικτικού πειράματος. 49
Πίνακας 4.3: Συγκεντρώσεις νιτρωδών στην αρχή και το τέλος ενδεικτικού πειράματος..... 50
Πίνακας 4.4: Μετρήσεις συγκεντρώσεων COD ενδεικτικού πειράματος..... 50
Πίνακας 4.5: Καταμερισμός ΔCOD για τις ανάγκες των μικροοργανισμών. 51
Πίνακας 4.6: Συγκριτική παρουσίαση των καθαρών ρυθμών ανάπτυξης των GAO υπό τη συγκέντρωση FA 1,7 mg NH_3-N (pH=7) και κάτω από τη συγκέντρωση FA 16,1 mg NH_3-N (pH=8)……..…….56

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Η περιβαλλοντική προστασία των υδάτων εξαρτάται άμεσα από την επεξεργασία των λυμάτων. Η επεξεργασία αστικών λυμάτων αποτελεί μια σύνθετη σειρά βιοχημικών αντιδράσεων που περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών. Οι ίδιοι οργανισμοί που εμφανίζονται φυσικά σε ποτάμια και ρέματα χρησιμοποιούνται, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, για την ταχεία οξείδωση της οργανικής ύλης στα λύματα σε αβλαβή τελικά προϊόντα που μπορούν να απορριφθούν με ασφάλεια στους υδάτινους αποδέκτες. Τα επεξεργασμένα λύματα, πλούσια σε άζωτο και φώσφορο, μπορούν να οδηγήσουν σε προβλήματα ευτροφισμού. Για αυτό το λόγο, απαιτείται περεταίρω επεξεργασία για την απομάκρυνση αυτών των θρεπτικών ουσιών πριν την τελική διάθεσή τους στους υδάτινους αποδέκτες (Gray, April 8, 2004).

Ο ευτροφισμός αποτελεί το περιβαλλοντικό φαινόμενο κατά το οποίο η υπέρμετρη αύξηση της συγκέντρωσης θρεπτικών στοιχείων, προάγει την αύξηση του πληθυσμού φυτοπλαγκτόν σε ένα υδάτινο σώμα. Τα θρεπτικά αυτά στοιχεία μπορεί να είναι νιτρικά και φωσφορικά ιόντα από λιπάσματα και απορρυπαντικά, από τη βιολογική αποσύνθεση των πρωτεϊνών και από την ουρία που απορρίπτεται (Γεωργόπουλος Α., 2013). Τα θρεπτικά, αποτελούν τη βασική τροφή για το φυτοπλαγκτόν και τα υδρόβια φυτά. Συνεπακόλουθο του φαινομένου άνθησης φυτοπλαγκτόν είναι η μείωση του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό. Η έλλειψη οξυγόνου, οδηγεί σε αναερόβιες συνθήκες μέσα στο νερό, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή τοξικών ουσιών όπως είναι το μεθάνιο, το υδρογόνο, η αμμωνία και το υδρόθειο.

Μία τυπική γραμμή επεξεργασίας αστικών λυμάτων περιλαμβάνει τα στάδια της προεπεξεργασίας, πρωτοβάθμιας, δευτεροβάθμιας και τριτοβάθμιας επεξεργασίας, ενώ ξεχωριστά πραγματοποιείται η επεξεργασία της ιλύος. Η προεπεξεργασία αποτελείται από τις μονάδες εσχάρωσης, εξάμμωσης και απολίπανσης (στις οποίες απομακρύνονται υλικά τα οποία επιπλέουν, βρίσκονται σε αιώρηση ή είναι μεγάλα σε όγκο). Η πρωτοβάθμια επεξεργασία αποτελείται από τις δεξαμενές πρωτοβάθμιας καθίζησης στις οποίες εισέρχονται τα ανεπεξέργαστα λύματα τα οποία περιέχουν σημαντικές ποσότητες αιωρούμενων σωματιδίων με ειδικό βάρος μεγαλύτερο του νερού, που λόγω της ροής των λυμάτων παραμένουν σε αιώρηση. Σκοπός της πρωτοβάθμιας επεξεργασίας είναι η απομάκρυνση ενός σημαντικού μέρους αυτών των σωματιδίων (50-60%) με καθίζηση σε δεξαμενές όπου επικρατούν συνθήκες σχετικής ηρεμίας. Καθώς σημαντικό μέρος των οργανικών ενώσεων βρίσκεται σε σωματιδιακή μορφή, αφαίρεση των αιωρούμενων στερεών έχει ως πρόσθετο αποτέλεσμα την αξιόλογη απομάκρυνση οργανικού φορτίου (25-40%). Η δευτεροβάθμια επεξεργασία περιλαμβάνει το βιολογικό αντιδραστήρα και τη δεξαμενή τελικής καθίζησης όπου επιτελείται σχεδόν η πλήρης απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών και του BOD και κατά περίπτωση μπορεί να γίνει και απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου. Το στάδιο της τριτοβάθμιας επεξεργασίας αποτελεί σύνθεση επιμέρους μονάδων στις οποίες επιτυγχάνεται η απομάκρυνση των

θρεπτικών συστατικών των λυμάτων (αζώτου N, φωσφόρου P), όταν δεν γίνεται στο στάδιο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας , με τη βοήθεια πρόσθετων βιολογικών διαδικασιών. Συγκεκριμένα κατά το στάδιο της επεξεργασίας της ιλύος (γνωστή και ως γραμμή ιλύος) εμπεριέχονται οι εγκαταστάσεις της πάχυνσης, χώνευσης, μεταπάχυνσης και αφυδάτωσης τόσο της πρωτοβάθμιας όσο και της δευτεροβάθμιας ιλύος. Ωστόσο, το υπερκείμενο υγρό (στραγγίδια – πλούσια σε ενώσεις αζώτου και φωσφόρου) που υπερχειλίζει από τις δεξαμενές της πάχυνσης και της αφυδάτωσης επανακυκλοφορεί στην εγκατάσταση προς περαιτέρω επεξεργασία με αποτέλεσμα να αυξάνει σημαντικά (κατά 10-35%) το εισερχόμενο φορτίο αζώτου και φωσφόρου στην εγκατάσταση, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο αστοχίας. Συνεπώς, η περεταίρω επεξεργασία αυτών των στραγγιδίων είναι απαραίτητη.

Η επεξεργασία των στραγγιδίων με στόχο την απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου μπορεί να υλοποιηθεί είτε με χημικές είτε με βιολογικές μεθόδους. Οι χημικές στοχεύουν στη δημιουργία αδιάλυτων ιζημάτων με τη χρήση κροκιδωτικών, ενώ οι βιολογικές αφορούν στην εκμετάλλευση των ιδιοτήτων συγκεκριμένων ομάδων μικροοργανισμών.

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε ένα σύστημα ενεργού ιλύος (EBPR) είναι μία βιολογική διαδικασία για την αποτελεσματική απομάκρυνση φωσφόρου από τα λύματα μέσω ενδοκυτταρικής αποθήκευσης πολυφωσφορικών από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια (PAOs) και επακόλουθης απομάκρυνσής τους από το σύστημα μέσω της απομάκρυνσης της ιλύος. Σε σύγκριση με τις φυσικοχημικές διεργασίες, η βιολογική μέθοδος παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, όπως υψηλή απόδοση αφαίρεσης, χαμηλό κόστος και μη παραγωγή χημικής λάσπης. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί πως τα συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης παρουσιάζουν έντονη αστάθεια λόγω της ανάπτυξης ανταγωνιστικών βακτηρίων (βακτήρια συσσώρευσης γλυκογόνου – GAOs) προς τα πολυφωσφορικά ή και λόγω της ύπαρξης ουσιών στο σύστημα που αναχαιτίζουν επίσης τη δράση τους.

Τα νιτρώδη δημιουργούν προβλήματα τοξικότητας στις δραστηριότητες των μικροοργανισμών που εκτελούν τις βιολογικές διεργασίες. Τόσο τα PAOs όσο και τα GAOs επηρεάζονται δηλαδή από την παρουσία των νιτρωδών στο σύστημα. Η επίδραση των νιτρωδών στα PAOs έχει μελετηθεί βιβλιογραφικά. Δεδομένου όμως ότι ο ανταγωνισμός των PAOs με τα GAOs αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες αστοχίας της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου έχει ενδιαφέρον να ερευνηθεί πως επιδρούν τα νιτρώδη και στα GAOs.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία γίνεται προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης των νιτρωδών στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών αποθήκευσης γλυκογόνου (GAOs) σε συστήματα ενεργού ιλύος.

Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει τα εξής σημεία:

- Την παρούσα εισαγωγή με τον σκοπό της διπλωματικής εργασίας.
- Τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, στην οποία αναλύεται η ερευνητική δραστηριότητα στο πεδίο ενδιαφέροντος μέχρι αυτή την στιγμή.
- Την παρουσίαση των εργαστηριακών μεθόδων και των πειραματικών πρωτοκόλλων.
- Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρακολούθηση του συστήματος και από τα batch πειράματα.
- Την σύγκριση αυτών των αποτελεσμάτων με προγενέστερες μελέτες και την διεξαγωγή συμπερασμάτων που προκύπτουν.

Κεφάλαιο 2

Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

2.1 Γενικά

Τα βακτήρια που εξετάζονται στην παρούσα διπλωματική είναι κυρίως τα GAOs (γένους Competibacter) . Η κύρια αιτία που καθιστά τα GAOs τόσο ενδιαφέροντα, είναι ο ανταγωνισμός τους σε σχέση με τα PAOs, τα οποία έχουν άμεση σχέση με την απομάκρυνση φωσφόρου. Παρακάτω θα γίνει μία συγκριτική αναφορά μεταξύ των δύο πληθυσμών και την επίδραση που έχουν σε αυτούς διάφοροι παράγοντες που αφορούν τη λειτουργία μιας εγκατάστασης επεξεργασίας, καθώς και τον ανταγωνισμό και την συνεργασία που αναπτύσσεται ανάμεσα στις διάφορες ομάδες.

2.2 Μεταβολισμός μικροοργανισμών

Αν και όλοι οι μικροοργανισμοί είναι διαφορετικοί μεταξύ τους, σχεδόν όλοι έχουν τη σύσταση $C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$. Στόχος κάθε μικροοργανισμού είναι να παράγει νέο κυτταρικό υλικό μέσω της διαδικασίας του καταβολισμού και του αναβολισμού που αποτελούν τον μεταβολισμό.

<u>Καταβολισμός</u>:

$$\pi\eta\gamma\acute{\eta}\ \epsilon\nu\acute{\epsilon}\rho\gamma\epsilon\iota\alpha\varsigma + \alpha\pi o\delta\acute{\epsilon}\kappa\tau\eta\varsigma\ e^- \rightarrow \pi\rho o\iota\acute{o}\nu\tau\alpha + \epsilon\nu\acute{\epsilon}\rho\gamma\epsilon\iota\alpha$$

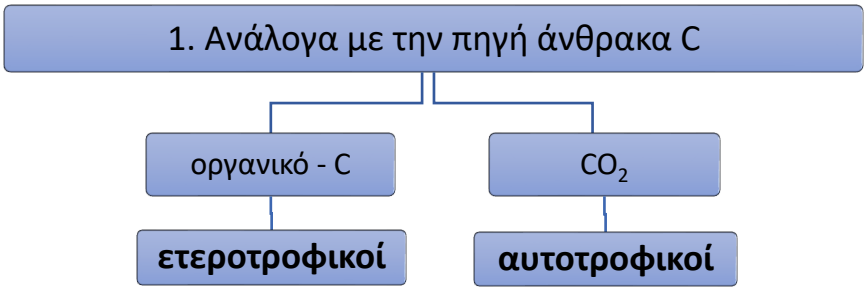
<u>Αναβολισμός</u>:

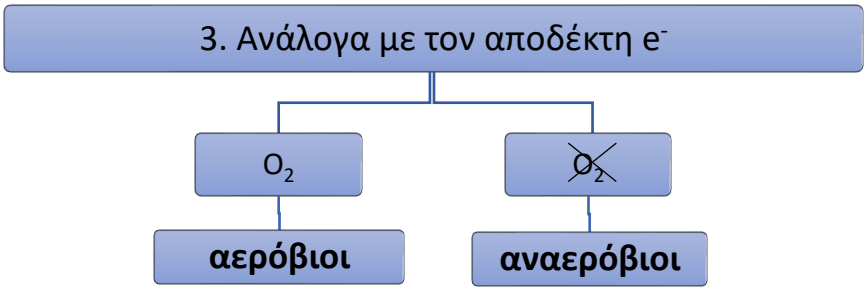
$$\pi\eta\gamma\acute{\eta}\ C + \theta\rho\epsilon\pi\tau\iota\kappa\acute{\alpha} + \epsilon\nu\acute{\epsilon}\rho\gamma\epsilon\iota\alpha \rightarrow C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$$

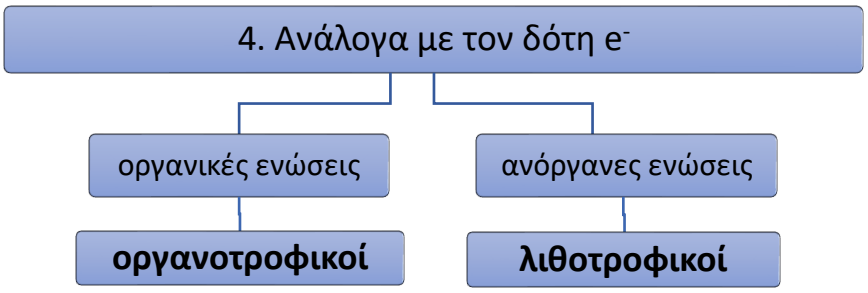
Συνεπώς το κύτταρο για να φτιάξει τα απαραίτητα συστατικά (πολυσακχαρίτες, νουκλεϊκά οξέα, λιπίδια, πρωτεΐνες και οργανικές ενώσεις) για τον διπλασιασμό του χρειάζεται:

1. Πηγή άνθρακα (C_{50})
2. Πηγή ενέργειας ($H_{70}O_{20}$)
3. Θρεπτικά ($N_{10}P_1$)

2.2.1 Τρόποι με τους οποίους κατηγοριοποιούνται οι μικροοργανισμοί:







Παρακάτω παρουσιάζεται ο τυπικός μεταβολισμός 5 κατηγοριών μικροοργανισμών:

<u>1η κατηγορία</u>

Αερόβιοι - Ετεροτροφικοί - Χημικοσυνθετικοί - Οργανοτροφικοί

$$\mathit{ορ\gamma.}\, C + O_2 \rightarrow\ CO_2 + 2H_2O + \mathit{ενέργεια}$$

$$\mathit{ορ\gamma.}\, C + N, P + \mathit{ενέργεια} \rightarrow C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$$

<u>2η κατηγορία</u>

Αναερόβιοι - Ετεροτροφικοί - Χημικοσυνθετικοί – Οργανοτροφικοί (Ανοξικοί)

$$\mathit{ορ\gamma.}\, C +\ NO_3 \rightarrow\ CO_2 + H_2O + N_2 \uparrow + \mathit{ενέργεια}$$

$$\mathit{ορ\gamma.}\, C + N, P + \mathit{ενέργεια} \rightarrow\ C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$$

<u>3η κατηγορία</u>

Παρόμοια της 2ης, με διαφορετικό αποδέκτη e^-

$$\mathit{ορ\gamma.}\, C + CO_2 \rightarrow CH_4 + CO_2 + \mathit{ενέργεια}$$

$$\mathit{ορ\gamma.}\, C + N, P + \mathit{ενέργεια} \rightarrow\ C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$$

<u>4η κατηγορία</u>

Αερόβιοι – Χημικοσυνθετικοί – Αυτότροφοι -Λιθοτροφικοί (Νιτροποιητές)

$$NH_4 + O_2 \rightarrow\ NO_3 + H_2O + \mathit{ενέργεια}$$

$$CO_2 + N, P + \mathit{ενέργεια} \rightarrow\ C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$$

<u>5η κατηγορία</u>

Αερόβιοι – Φωτοσυνθετικοί – Αυτότροφοι (π.χ. τα άλγη)

$$\mathit{ηλιακή\ ακτινοβολία} + \mathit{αποδέκτης}\ e^- \rightarrow \mathit{προϊόντα}(O_2) + \mathit{ενέργεια}$$

$$CO_2 + N, P + \mathit{ενέργεια} \rightarrow\ C_{50}H_{70}O_{20}N_{10}P_1$$

2.3 Οργανισμοί εμπλεκόμενοι στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

Τα πολυφωσφορικά βακτήρια (Polyphosphate Accumulating Organisms – PAOs) ήταν τα πρώτα βακτήρια τα οποία μελετήθηκαν και συνδέθηκαν άμεσα με την απομάκρυνση φωσφόρου στα λύματα ήδη από το δεύτερο μισό του 20ού αιώνα. Στις αρχικές έρευνες, η βακτηρική κοινότητα που θεωρούταν αρχικά υπεύθυνη για την απομάκρυνση του φωσφόρου ήταν τα Acinetobacter, γένους Tetrasphaera (Oehmen A. e., 2010). Σύμφωνα με τους Nguyen et al., (2011) αν και τα Tetrasphaera συχνά εμφανίζονται σε μεγαλύτερη αφθονία από τα PAOs στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, έχουν μόνο ένα φαινότυπο μερικού PAO καθώς προσλαμβάνουν φώσφορο και τον αποθηκεύουν με τη μορφή πολυφωσφορικών ενώσεων. Κατά συνέπεια, δεν λαμβάνουν VFAs, δεν αποθηκεύουν PHAs και θεωρούνται υποθετικοί PAOs. από Μετέπειτα έρευνες και πειραματικές μετρήσεις πάνω στην μικροβιολογία αυτών των οργανισμών, απέδειξαν πως δεν πληρούν τις απαραίτητες προϋποθέσεις και η εν λόγω δραστηριότητα αποδίδεται πλέον στα Betaproteobacteria γένους Candidatus Accumulibacter Phosphatis (Mino, (1998); Shen, (2016); Oehmen A. , (2007)). Πιο συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί πως τα Accumulibacter PAOs είναι επικρατέστερα σε πολλές καλλιέργειες σε συστήματα κλίμακας εργαστηρίου που εκτελούν βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου είτε είναι τροφοδοτούμενα με οξικό (Levantesi, (2002); Liu, (2001); Oehmen et al, (2004)) είτε με προπιονικό (Pijuan et al, Enhanced Biological Phosphorus Removal in a Sequencing Bath Reactor Using Propionate as the Sole Carbon Source, 2004); Liu, (2001); Levantesi, (2002)).

Τα μη πολυφωσφορικά βακτήρια (Glycogen Accumulating Organisms – GAOs) πολύ συχνά αποτελούν την αιτία αστοχίας μίας εγκατάστασης λόγω του ανταγωνισμού τους με τα PAOs. GAOs χαρακτηρίζεται το γένος Candidatus Competibacter της μικροβιακής κοινότητας Gamma proteobacteria, καθώς και τα γένη Defluviicoccus vanus και Sphingomonas της μικροβιακής κοινότητας Alpha proteobacteria (Shen, 2016) ; Oehmen A. e., (2010). Τα Competibacter συναντώνται συχνά σε αντιδραστήρες κλίμακας εργαστηρίου, τροφοδοτούμενοι με οξικό οξύ (Zeng et al. R. J., (2003) ;Crocetti et al., (2002) ; Oehmen et al, (2004)), αλλά έχουν ανιχνευθεί και σε συστήματα μεγάλης κλίμακας (Crocetti et al., (2002); Saunders et al., (2003). Τα Defluviicoccus ανιχνεύθηκαν επίσης σε συστήματα μεγάλης κλίμακας σε χαμηλή αφθονία (Burow et al., 2007). Συγκριτικά, η ανάπτυξη των Competibacter και Defluviicoccus vanus ευνοείται όταν η οργανική τροφή είναι οξικό και προπιονικό, αντίστοιχα. Τα Defluviicoccus vanus περιλαμβάνουν τέσσερα στελέχη: στέλεχος I και II (Meyer et al., 2006), το στέλεχος III (Nittami T et al, 2009) και το στέλεχος IV (R.J., 2009). Τα στελέχη 1, 4 και 5 των Competibacter, όπως και η ομάδα I των Defluviicoccus vanus μπορούν να χρησιμοποιήσουν μόνο τα νιτρικά, ενώ το στέλεχος 6 των Competibacter μπορεί να απονιτροποιήσει ανάγοντας είτε νιτρώδη είτε νιτρικά. Τέλος, τα στελέχη 3 και 7 των Competibacter και το στέλεχος II των Defluviicoccus vanus δεν έχουν τη δυνατότητα απονιτροποίησης (Oehmen A. e., 2010) (Wang Xiaolian et al., 2008).

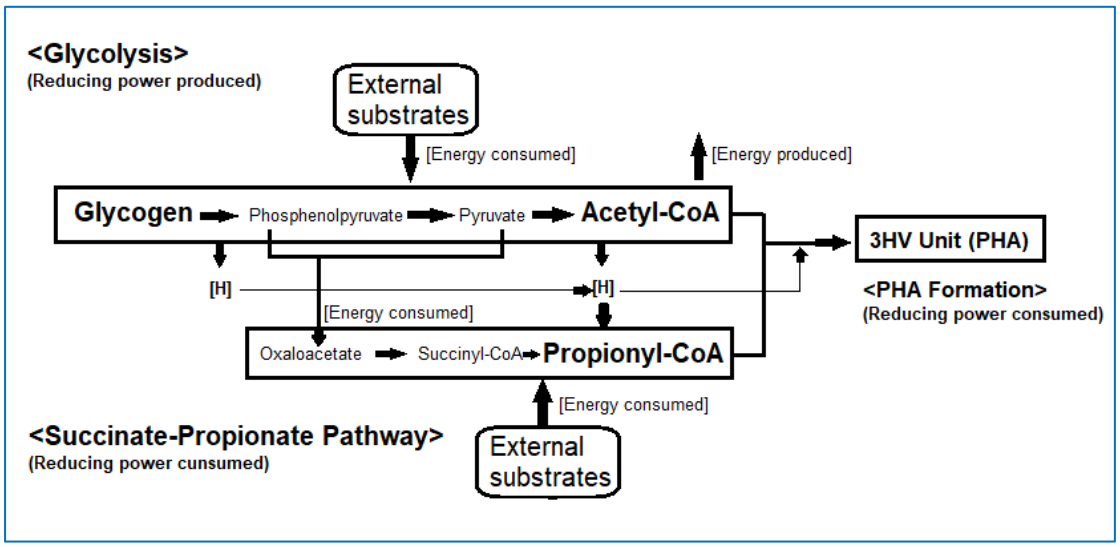
2.3.1 Μεταβολισμός PAOs

Τα PAOs είναι αερόβιοι και αναερόβιοι, ετεροτροφικοί , χημικοσυνθετικοί και οργανοτροφικοί οργανισμοί. Η ανάπτυξη τους ευνοείται όταν εναλλάσσονται οι συνθήκες σε αναερόβιες και αερόβιες διότι με αυτόν τον τρόπο ο δότης και ο αποδέκτης ηλεκτρονίων είναι διαχωρισμένοι. Κατά τον ανοξικό μεταβολισμό των

PAOs, δότης ηλεκτρονίων είναι τα νιτρώδη ή τα νιτρικά ενώ κατά τον αερόβιο είναι τον οξυγόνο.

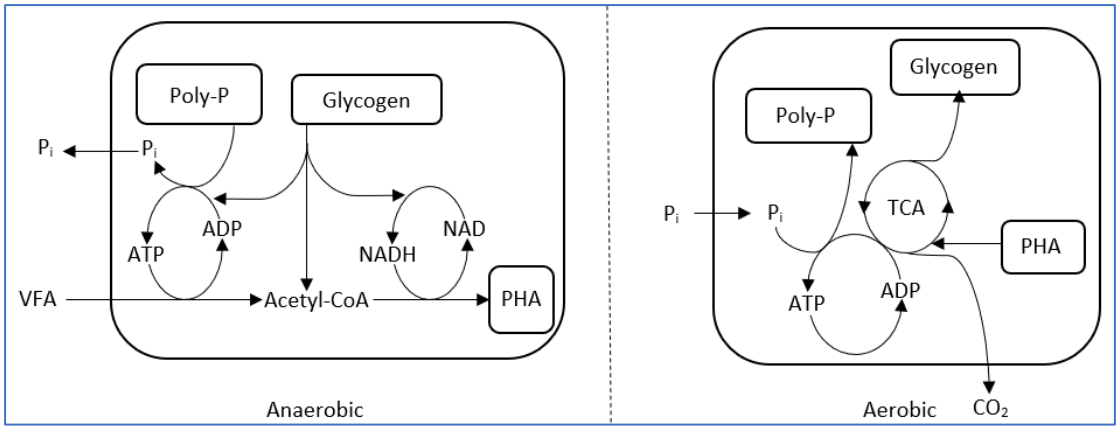
Σε αερόβιες συνθήκες, γίνεται η οξείδωση των αποθηκευμένων PHAs. Η διαδικασία της πρόσληψης της οργανικής τροφής που βρίσκεται διαλυμένη στα εισερχόμενα λύματα με τη μορφή πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) και η μετέπειτα αποθήκευσή τους ως πολυυδροξυαλκανοϊκά (PHAs) πραγματοποιείται σε αναερόβιες συνθήκες.

Τα PHAs είναι πολυεστέρες οι οποίοι προκύπτουν από τη ζύμωση των οργανικών ενώσεων. Στις αερόβιες συνθήκες, αποτελούν ταυτόχρονα την πηγή άνθρακα και ενέργειας, για την πρόσληψη των ορθοφωσφορικών και τον σχηματισμό των πολυφωσφορικών αλυσίδων, καθώς και την αναπλήρωση του γλυκογόνου, την συντήρηση των κυττάρων και την ανάπτυξη της βιομάζας (Mino, (1998); Filipe, (2001).



Εικόνα 2.1: Αναερόβια μετατροπή των οργανικών ενώσεων σε PHAs. (πηγή: Mino, 1998).

Η ενέργεια για τη μεταφορά και τη μετατροπή της παραπάνω αναερόβιας διαδικασίας αλλά και την συντήρηση του κυττάρου εξασφαλίζεται από την υδρόλυση των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων (Mino, 1998). Κατά την αντίδραση αυτή, η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) μετατρέπεται σε διφωσφορική (ADP) και οι πολυφωσφορικές αλυσίδες διαλύονται με τη μορφή ορθοφωσφορικών στην υγρή φάση (Panswad, (2003); Mino, (1998). Μέρος της απαιτούμενης ενέργειας για την μεταφορά των οργανικών ενώσεων εντός του κυττάρου προσφέρεται από τη γλυκόλυση (υδρόλυση του γλυκογόνου).



Εικόνα 2.2: Μετατροπές ενδοκυτταρικά αποθηκευμένων συστατικών κατά τον τυπικό αναερόβιο (αριστερά) και αερόβιο (δεξιά μεταβολισμό των PAOs (Πηγή: Bond and Rees, 1999).

Οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί για την υδρόλυση του γλυκογόνου από τα PAOs είναι η μέθοδος των Entner-Doudoroff (ED pathway) και η μέθοδος των Embden, Meyerhof και Parnas (EMP pathway) (Oehmen A. , 2007). Το δυναμικό αναγωγής εξασφαλίζεται από την αντίδραση της γλυκόλυσης και σε ένα μικρότερο ποσοστό (της τάξεως του 30%) από τον κύκλο του Krebs (TCA cycle). Η απαιτούμενη ενέργεια για την πρόσληψη των VFAs και τη μεταφορά τους εντός του κυττάρου καθώς και για τη συντήρησή του προσφέρεται από τη διάλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων και μερικώς από τη γλυκόλυση. Ενδοκυτταρικά, η οργανική τροφή μετατρέπεται στα ένζυμα acetyl-CoA (μέσω της γλυκόλυσης) και Propionyl-CoA (μέσω ης μεθόδου ηλεκτρικού-προπιονικού), τα οποία είναι οι πρόδρομοι των PHAs. Σε αντίθεση με τη γλυκόλυση που παράγει δυναμικό αναγωγής, η μέθοδος ηλεκτρικού-προπιονικού το καταναλώνει και έτσι διατηρείται η ισορροπία εντός του κυττάρου (Mino, 1998). Η έκλυση διοξειδίου του άνθρακα πιθανολογεί την συνεισφορά του κύκλου TCA στην παραγωγή δυναμικού αναγωγής (Mino, 1998) (Oehmen A. , 2007).

Ο μηχανισμός που χρησιμοποιείται από τα PAOs κατά τον αερόβιο μεταβολισμό είναι ο κύκλος του Krebs (TCA cycle) (Oehmen A. , 2007).

Συνολικά, η ενέργεια που παράγεται κατά τον ανοξικό μεταβολισμό είναι σημαντικά χαμηλότερη από αυτήν κατά τον αερόβιο μεταβολισμό. Συνεπώς, ο ρυθμός ανοξικής απομάκρυνσης φωσφόρου είναι χαμηλότερος από τον αερόβιο (Mino, 1998).

2.3.2 Μεταβολισμός GAOs

Τα GAOs είναι ετεροτροφικοί, χημικοσυνθετικοί οργανοτροφικοί μικροοργανισμοί. Σε αντίθεση με τα PAOs, τα βακτήρια αυτά δεν διαθέτουν πολυφωσφορικές αλυσίδες. Η ανάπτυξή τους ευνοείται έναντι των PAOs όταν ο δότης ηλεκτρονίων (οργανική τροφή) δε συνυπάρχει με τον αποδέκτη στο ίδιο διαμέρισμα του αντιδραστήρα.

Σε αερόβιες συνθήκες, γίνεται η οξείδωση των αποθηκευμένων PHAs για την αναπλήρωση του γλυκογόνου, την συντήρηση των κυττάρων και την ανάπτυξη της βιομάζας. Τα PHAs αποτελούν την πηγή άνθρακα και ενέργειας σε αυτή την αντίδραση, ενώ η αναπλήρωση του γλυκογόνου πραγματοποιείται μέσω της γλυκονεογένεσης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των Entner- Doudoroff (ED pathway)

(Oehmen A. , 2007). Η ίδια διεργασία ακολουθείται και κάτω από ανοξικές συνθήκες (Oehmen A. e., 2010).

Σε αναερόβιες συνθήκες τα GAOs προσλαμβάνουν τις οργανικές ενώσεις (VFAs) των εισερχόμενων λυμάτων του βιολογικού αντιδραστήρα και τις αποθηκεύουν ενδοκυτταρικά ως PHAs (Oehmen A. e., (2006); Filipe, (2001). Συνεπώς, τα GAOs πλεονεκτούν διότι ένα τυπικός ετεροτροφικός μικροοργανισμός για να αξιοποιήσει τις οργανικές ενώσεις πρέπει να εισέλθουν στο αερόβιο τμήμα (Filipe, 2001).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα GAOs δεν διαθέτουν πολυφωσφορικές αλυσίδες. Επομένως, η ενέργεια παρέχεται μόνο από τη γλυκόλυση (Dai, 2007). Το δυναμικό αναγωγής προσφέρεται επίσης κατά κύριο λόγο από τη γλυκόλυση και σε μικρότερο ποσοστό από τον κύκλο το Krebs (TCA cycle) (Oehmen A. , 2007).

Οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί για την υδρόλυση του γλυκογόνου από τα GAOs είναι οι ίδιοι με των PAOs, δηλαδή η μέθοδος των Entner-Doudoroff (ED pathway) και η μέθοδος των Embden, Meyerhof και Parnas (EMP pathway) (Oehmen A. , 2007). Το δυναμικό αναγωγής εξασφαλίζεται από την αντίδραση της γλυκόλυσης και ένα μέρος αυτού από τον κύκλο του Krebs (TCA cycle), (Oehmen A. , 2007). Δεδομένου ότι η μετατροπή των οργανικών ενώσεων (VFAs) σε PHAs πραγματοποιείται μέσω της γλυκόλυσης, ο μηχανισμός μετατροπής παρουσιάζεται παρακάτω.

Η απαιτούμενη ενέργεια για την πρόσληψη των VFAs και τη μεταφορά τους εντός του κυττάρου καθώς και για τη συντήρησή του προσφέρεται από τη γλυκόλυση και όχι από τη διάλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων όπως συνέβαινε με στα PAOs. Ενδοκυτταρικά, η οργανική τροφή μετατρέπεται στα ένζυμα acetyl-CoA (μέσω της γλυκόλυσης) και Propionyl-CoA (μέσω ης μεθόδου ηλεκτρικού-προπιονικού), τα οποία είναι οι πρόδρομοι των PHAs. Σε αντίθεση με τη γλυκόλυση που παράγει δυναμικό αναγωγής, η μέθοδος ηλεκτρικού-προπιονικού το καταναλώνει και έτσι διατηρείται η ισορροπία εντός του κυττάρου (Mino, 1998).

Συνολικά, αν οι συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη των GAOs, τα οποία δεν έχουν πολυφωσφορικές αλυσίδες και συνεπώς δεν συμμετέχουν στην απομάκρυνση θρεπτικών, υπάρχει μεγάλη πιθανότητα αστοχίας της εγκατάστασης. Το προαναφερθέν συμπέρασμα προκύπτει από το γεγονός ότι τα GAOs καταναλώνουν φώσφορο μόνο για τη συντήρηση και ανάπτυξή τους ενώ ταυτόχρονα ανταγωνίζονται τα PAOs για την πρόσληψη οργανικών ενώσεων.

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

Η Βιολογική Απομάκρυνση Φωσφόρου είναι μία απρόβλεπτη και ευαίσθητη μέθοδος επεξεργασίας, της οποίας η πρακτική εφαρμογή δύναται να αποδειχθεί αρκετά δυσχερής. Η ευαισθησία της μεθόδου έγκειται κυρίως στη μικροβιολογική της φύση και στην συνύπαρξη των διαφορετικών βακτηριακών πληθυσμών, οι οποίοι ανταγωνίζονται για την ανάπτυξή τους στο ίδιο σύστημα, οι συνθήκες του οποίου δεν ευνοούν ταυτόχρονα τις μεταβολικές ανάγκες κάθε πληθυσμού. Μια σειρά παραμέτρων επηρεάζουν άμεσα την επιτυχή (ή μη) εφαρμογή της μεθόδου. Οι παράμετροι αυτές επηρεάζουν τη διαδικασία της Βιολογικής Απομάκρυνσης

Φωσφόρου σε τέτοιο βαθμό, ώστε θα πρέπει να ληφθούν σοβαρά υπ' όψη, κάθε φορά που στόχος είναι ο σχεδιασμός και η λειτουργία μιας μονάδας επεξεργασίας υγρών αποβλήτων για συνδυασμένη αφαίρεση θρεπτικών συστατικών.

2.4.1 Επίδραση Τροφής

2.4.1.1 Πτητικά λιπαρά οξέα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, για μία αποτελεσματική Βιολογική Απομάκρυνση Φωσφόρου, είναι απαραίτητη η παρουσία πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs). Τα οξέα αυτά είτε προϋπάρχουν στο απόβλητο είτε σχηματίζονται στα πλαίσια ζυμώσεων από ετερότροφα βακτήρια. Ο Barnard J. L., (1993) ανέφερε ότι απαιτούνται 7-9 mg VFAs για την απομάκρυνση 1 mg P. Οι Satoh H. et al., (1996) σε έρευνά τους, έκαναν χρήση διαφορετικών οξέων, σε πειράματα με βιομάζα από μονάδα βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου πλήρους κλίμακας. Σε αυτή την έρευνα, με χρήση οξικού και προπιονικού οξέος παρατηρήθηκαν οι μέγιστοι ρυθμοί απελευθέρωσης P και ταυτόχρονα, οι μέγιστες ποσότητες ενδοκυτταρικά παραγόμενων PHAs. Παρατηρήθηκαν, επίσης, μειωμένοι ρυθμοί όταν έγινε χρήση γαλακτικού, ηλεκτρικού, μηλικού και πυροσταφυλικού οξέος. Εν γένει, για την ομαλή λειτουργία ενός συστήματος απομάκρυνσης φωσφόρου είναι προτιμότερη η χρήση απλών οργανικών ενώσεων (Short Chain Fatty Acids – SCFAs) που μπορούν να μεταβολιστούν πιο εύκολα από τα πολυφωσφορικά (Mino, 1998). Κάποιες από τις οργανικές ενώσεις που έχουν δοκιμαστεί ως σήμερα είναι το προπιονικό και το οξικό οξύ, η γλυκόζη, οι αλκοόλες, καθώς επίσης και πιο σύνθετες οργανικές ενώσεις, όπως η γλυκερόλη και άλλα οργανικά απόβλητα (Shen Nan et al., 2016). Οι Canizates et al., (1999) ανέφεραν ότι η παρουσία οξικού οξέος σε υγρά απόβλητα δύναται να επιφέρει προβλήματα στην καθιζησιμότητα της ιλύος συστημάτων Βιολογικής Απομάκρυνση Φωσφόρου. Οι έρευνες των (Pijuan et al, Enhanced Biological Phosphorus Removal in a Sequencing Bath Reactor Using Propionate as the Sole Carbon Source, 2004) έδειξαν ότι η χρήση προπιονικού έναντι οξικού οξέος προσδίδει το επιλεκτικό πλεονέκτημα στους PAOs έναντι των βασικών ανταγωνιστών, δηλαδή των βακτηρίων γλυκογόνου (GAOs). Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι το οξικό και το προπιονικό οξύ, ενώ οι Wang et al, (2010) παρατήρησαν ότι η γλυκόζη δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα GAOs. Στο παραπάνω συμπέρασμα έχουν καταλήξει και οι Oehmen A. et al, (2006), οι οποίοι παρατήρησαν ότι σε αντιδραστήρα με μόνη πηγή άνθρακα το προπιονικό, υλοποιήθηκε αποτελεσματικότερη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου απ' ότι σε έναν αντιδραστήρα που τροφοδοτήθηκε μόνο με οξικό, κυρίως λόγω του ανταγωνισμού των GAOs για την πρόσληψη οξικού οξέος. Συγκεκριμένα, παρατήρησαν πως στον αντιδραστήρα με το προπιονικό το ποσοστό των Competibacter ήταν μικρότερο του 1% των συνολικών βακτηρίων και επιτεύχθηκε υψηλό και σταθερό επίπεδο απομάκρυνση φωσφόρου, με χαμηλές συγκεντρώσεις φωσφόρου στην εκροή . Αντίθετα, στον αντιδραστήρα με οξικό οξύ, τα Competibacter ήταν άφθονα. Συνεπώς, τα Competibacter GAOs ανταγωνίζονται σε μεγάλο βαθμό τα Accumulibacter PAOs αλλά δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν το προπιονικό οξύ αναερόβια ή δεν είναι σε θέση να ανταγωνιστούν αποτελεσματικά

τα PAOs για την πρόσληψη του προπιονικού. Παρατηρήθηκε επίσης πως σε αντιδραστήρα που συνυπήρχαν PAOs και GAOs, με μοναδική πηγή άνθρακα το προπιονικό, η δραστηριότητα των PAOs αυξήθηκε καθώς επίσης κι ο πληθυσμός των PAOs αυξήθηκε από 47% σε 62%.

Τέλος, όσον αφορά την παρουσία γλυκόζης μαζί με άλλες πηγές άνθρακα στη τροφοδοσία δεν έχει παρατηρηθεί διαταραχή στην εκτέλεση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου (Carucci et al., 1999). Ωστόσο, όταν το μίγμα τροφοδοσίας χαρακτηρίζεται από υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης, η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου επιδεινώνεται (Tasli et al., 1997). Η αυξημένη αστάθεια της βιολογικής απομάκρυνσης αποδόθηκες στην υπόθεση ότι η τροφοδοσία του συστήματος με γλυκόζη, οδήγησε στον πολλαπλασιασμό των GAOs (Cech 1990). Επειδή τόσο τα PAOs όσο και τα GAOs υδρολύουν το γλυκογόνο, ένα μεγάλο εύρος στοιχείων υποδηλώνει ότι τα PAOs και τα GAOs είναι η ίδια ομάδα οργανισμών με αλληλεπικαλυπτόμενα μεταβολικά χαρακτηριστικά. Συνεπάγεται λοιπόν, ότι η επιδείνωση των συστημάτων βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, πιθανώς οφείλεται στα PAOs που μετατοπίζουν το μεταβολισμό τους από τη συσσώρευση φωσφόρου και γλυκογόνου μόνο στη συσσώρευση γλυκογόνου (Gebremariam et al., 2012).

2.4.1.2 Ρυθμός πρόσληψης οξικού-προπιονικού από τα βακτήρια

Ο ρυθμός πρόσληψης τόσο του οξικού όσο και του προπιονικού από τα πολυφωσφορικά βακτήρια παρουσιάζεται παρόμοιος περί τα 0.20 C-mol/C-mol/h. Όσον αφορά όμως τα βακτήρια, γλυκογόνου τα Competibacter GAOs συμπεριφέρονται διαφορετικά από τα Alphaproteobacteria GAOs. Πιο συγκεκριμένα, τα Competibacter GAOs προσλαμβάνουν το οξικό με τον ίδιο ρυθμό με τα Accumulibacter PAOs, ενώ το προπιονικό με πρακτικά αμελητέους ρυθμούς (Oehmen A. et al., (2006); Oehmen et al., (2005)). Αντιθέτως, τα Alphaproteobacteria GAOs, μπορούν να ανταγωνιστούν τα Accumulibacter PAOs για την πρόληψη προπιονικού (γιατί ο ρυθμός που το προσλαμβάνουν είναι παρόμοιος), αλλά δε μπορούν να ανταγωνιστούν για το οξικό (επειδή ο ρυθμός που το προσλαμβάνουν είναι βραδύτερος) (Dai, 2007).

Ακόμη, οι Oehmen et al, (2004) παρατήρησαν ότι σε μια καλλιέργεια PAOs εμπλουτισμένη με οξικό που στη συνέχεια άλλαξε πηγή οργανική τροφής σε προπιονικό, η ταχύτητα πρόσληψης φωσφόρου μειώθηκε. Πιθανώς, τα PAOs να μη μπορούν να οξειδώσουν τα PHAs με την ίδια ταχύτητα μετά από την αλλαγή της οργανικής τροφής. Όταν τα PAOs προσλαμβάνουν το οξικό οξύ, το αποθηκεύουν στη μορφή PHB , ενώ όταν προσλαμβάνουν προπιονικό οξύ, το αποθηκεύουν στη μορφή των PHV (Oehmen A. e., (2006) ;Oehmen et al., (2005)). Υπάρχει η πιθανότητα τα PAOs να μην μπορούν να αποικοδομήσουν τα PHV με την ίδια ταχύτητα που οξειδώνουν τα PHB.

Οι Lopez-Vazquez et al., (2009a) μελέτησαν μεικτή καλλιέργεια PAOs – GAOs αναλογίας 85-15 %, αντίστοιχα , όταν η τροφοδοσία υποστρώματος γίνεται σε

αναλογία 75-25% οξικού – προπιονικού. Παρατήρησαν ότι όταν τα δύο υποστρώματα τροφοδοτούνταν ταυτόχρονα κατά τη διάρκεια των πειραμάτων batch, το προπιονικό εξαντλούτανε πιο γρήγορα από το οξικό, με ένα ρυθμό πρόσληψης , ίδιο σε όλα τα batch πειράματα (0.18 ± 0.02 C-mol/ (C-mol biomass.h)), ενώ ο ρυθμός πρόσληψης του οξικού, μειώθηκε με την αύξηση του προπιονικού από 0.21 ± 0.02 σε 0.06 ± 0.01 C-mol/ (C-mol biomass.h). Συνεπώς, όταν συνυπάρχουν το οξικό και το προπιονικό, τα PAOs προτιμούν το προπιονικό. Ακόμη, ανέφεραν ότι οι αερόβιες κινητικές για την οξείδωση των PHAs, παραγωγή γλυκογόνου και για την πρόσληψη φωσφόρου, είναι σχετικά ανεξάρτητες από την συγκέντρωση του οξικού και του προπιονικού, δείχνοντας ότι οι μεταβολικές παράμετροι δεν αλλάζουν συναρτήσει τη πηγής VFA.

Οι Oehmen et al., (2005), σε μία καλλιέργεια Competibacter GAOs τροφοδοτούμενη μόνο με οξικό οξύ ως πηγή άνθρακα, παρατήρησαν ότι μετά την εναλλαγή σε προπιονικό, η πρόσληψη του προπιονικού έγινε με 5% περίπου του ρυθμού πρόσληψης του οξικού οξέος. Αντίθετα, όταν μελέτησαν την εναλλαγή από προπιονικό σε οξικό σε μια καλλιέργεια Alphaproteobacteria GAOs, παρατήρησαν ότι το οξικό οξύ καταναλώθηκε πλήρως αν και με πολύ βραδύτερο ρυθμό απ' ότι το προπιονικό (5% του ρυθμού πρόσληψης HPR). Συνεπώς, η ανταπόκριση και των δύο τύπων GAOs προς την εναλλαγή πηγής άνθρακα είναι πολύ αργή απ' ότι είναι στα PAOs. Ο περιορισμός των GAOs σε ένα σύστημα βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου θα μπορούσε επομένως να επιτευχθεί μέσω της αλλαγής τροφοδοσίας από οξικό σε προπιονικό, εκμεταλλευόμενοι την ικανότητα των PAOs να προσλαμβάνουν και τις δύο πηγές άνθρακα με τον ίδιο ρυθμό, όντας τα GAOs πιο ευαίσθητα στις εναλλαγές πηγής άνθρακα.

2.4.1.3 Ποσότητα διαθέσιμης οργανικής τροφής

Σύμφωνα με τους Vargas et al., (2013), όταν δεν εισέρχεται καθόλου οργανική τροφή στο σύστημα, τα PAOs επηρεάζονται σε μεγαλύτερο βαθμό από τα GAOs, διότι τα αποθέματα των PAOs σε πολυφωσφορικές αλυσίδες εξαντλούνται πιο γρήγορα σε σχέση με τα αποθέματα γλυκογόνου των GAOs, με αποτέλεσμα τα GAOs να έχουν τη δυνατότητα να παράγουν ενέργεια για την συντήρηση των κυττάρων τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η παραπάνω παρατήρηση σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα πολυφωσφορικά πραγματοποιούσαν μικρότερη παραγωγή PHAs, θέτει τα GAOs σε πλεονεκτική θέση. Αντίθετα, οι Carvalheira et al., (2014a) ανέπτυξαν πληθυσμό PAOs και GAOs σε ξεχωριστούς αντιδραστήρες, τροφοδοτούμενους με χαμηλές συγκεντρώσεις οργανικής τροφής και παρατήρησαν ότι ο ρυθμός φθοράς των GAOs ήταν περίπου τέσσερις φορές υψηλότερος από τον αντίστοιχο των PAOs. Απέδωσαν την τελευταία παρατήρηση στο γεγονός ότι τα PAOs δεν κατανάλωναν όλα τα αποθηκευμένα PHAs υπό αναερόβιες συνθήκες, συνεπώς διέθεταν αποθέματα ενέργειας για τη συντήρηση του κυττάρου σε αντίθεση με τα GAOs.

2.4.2 Επίδραση pH

Το pH αποτελεί φυσική ιδιότητα ενός διαλύματος (ή γενικότερα κάποιου μέσου) και εκφράζει την οξύτητα ή την αλκαλικότητά του. Χαμηλές τιμές του pH εκφράζουν όξινο περιβάλλον, ενώ υψηλές τιμές υποδηλώνουν αλκαλικότητα. Οι μικροοργανισμοί έχουν συγκεκριμένες αντοχές ως προς το εύρος τιμών του pH, στο

οποίο μπορούν να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν, συνεπώς ρυθμίζοντας το εύρος αυτό είναι δυνατό να δοθεί ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε κάποια μικροβιακή ομάδα έναντι των ανταγωνιστών της.

Το βέλτιστο πλαίσιο τιμών για τη μέθοδο ενεργού ιλύος κυμαίνεται από 6.5 έως 8.5 (Gray N., 1989). Αναφορικά με τη διαδικασία της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, αρκετές είναι οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί σχετικά με την επιρροή που ασκεί το pH στις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα υπό τις διαφορετικές συνθήκες (αναερόβιες, αερόβιες). Σε μια εμπλουτισμένη καλλιέργεια πολυφωσφορικών, αύξηση του pH από 5.5 σε 8.5 , υπό αναερόβιες συνθήκες, αύξησε ανάλογα τον λόγο απελευθέρωση φωσφόρου προς στην κατανάλωση οξικού (P_{rel}/HAC_{upt}) από 0.25 σε 0.75 mg P/ mg COD (Smolders et al, 1994a). Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε στο ότι αυξάνοντας τη διαφορά δυναμικού εντός και εκτός της κυτταρικής μεμβράνης (μέσω αύξησης του PH), απαιτείται περισσότερη ενέργεια για την δέσμευση οξικού από το κύτταρο και, συνεπώς, περισσότερο πολυφωσφορικό τείνει να αποπολυμεριστεί για την παραλαβή της ίδιας ποσότητας COD. Σύμφωνα με τους Liu et al., (1996) στο πλαίσιο τιμών pH 5.0-6.5, ο ρυθμός κατανάλωσης HAc αυξάνεται γραμμικά από 0 έως 50 mg C/g VSS/h και ο ρυθμός απελευθέρωσης φωσφόρου από 20 έως 50 mg P/g VSS/h. Αντίθετα, στο εύρος τιμών 6.5-8.0, ο ρυθμός κατανάλωσης Hac παρέμεινε σταθερός, ενώ ο ρυθμός απελευθέρωσης φωσφόρου συνέχισε να αυξάνεται. Σε τιμές pH άνω του 8 παρατηρήθηκε μείωση και των δύο ρυθμών. Η τιμή pH 6.8 ± 0.7 προτάθηκε ως η βέλτιστη για τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Ποιοτικά παρόμοια αποτελέσματα παρέλαβαν και οι Kuba et al, (1997a) , εξετάζοντας ιλύ από σύστημα Βιολογικής Απομάκρυνσης Φωσφόρου σε πλήρη κλίμακα. Παρατήρησαν αύξηση του λόγου P_{rel}/Hac_{upt} από 0.7, 1.1, σε 1.2 g P/ g C για τιμές pH 6, 7 και 8, αντίστοιχα. Οι Filipe et al, (2001a) και οι Filipe et al., (2001b) μελετώντας τον αναερόβιο μεταβολισμό των GAOs και των PAOs, αντίστοιχα, παρατήρησαν πως η αύξηση του pH αναχαίτιζε τη δραστηριότητα των GAOs, ενώ στην περίπτωση των πολυφωσφορικών βακτηρίων η επίδραση ήταν μηδαμινή.

Όσον αφορά την επιρροή που ασκεί το pH στον αερόβιο μεταβολισμό των PAOs, οι Filipe et al., (2001) δοκίμασαν τρεις διαφορετικές τιμές pH, 6.5, 7.0, 7.5, σε πειράματα με εμπλουτισμένη καλλιέργεια PAOs. Παρατήρησαν μικρή μεταβολή των ρυθμών δέσμευσης φωσφόρου, κατανάλωσης PHAs και ανάπτυξης της βιομάζας για τιμές 7.0 και 7.5, αλλά δραστική μείωση κατά 42%, 70% και 53%, αντίστοιχα, για pH=6.5. Οι Serralta et al, (2006) κατέδειξαν τιμές pH 7.3-7.6, ως τις βέλτιστες για αερόβια δέσμευση φωσφόρου. Στην ίδια έρευνα, ο ρυθμός δέσμευσης φωσφόρου βρέθηκε μειωμένος κατά 10% (συγκριτικά με τον βέλτιστο) σε τιμή pH = 8.0, κατά 20% για pH = 8.25, ενώ μεγαλύτερες τιμές pH οδήγησαν σε δραματική μείωση ρυθμού.

Η ερευνητική δραστηριότητα που έχει πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα υποδεικνύει πως το αλκαλικό περιβάλλον είναι πιο πρόσφορό για την ανάπτυξη καλλιέργειας από πληθυσμούς των PAOs, ενώ τα GAOs ευνοούνται περισσότερο από ουδέτερες και ίσως όξινες συνθήκες. Πράγματι, τα αποτελέσματα της μελέτης των Oehmen et al., (2005) αναδεικνύουν ότι τα PAOs μπορούν να ανταγωνιστούν πολύ πιο αποτελεσματικά τα alphaproteobacterial GAOs, ως προς την πρόσληψη προπιονικού, από τα Competibacter GAOs, ως προς την πρόσληψη οξικού αντίστοιχα. Επίσης,

επιτεύχθηκε υψηλότερο επίπεδο απομάκρυνσης φωσφόρου σε συστήματα με τροφοδοσία προπιονικού σε σύγκριση με ένα σύστημα που τροφοδοτήθηκε με οξικό. Συνολικά, ο έλεγχος και η κατάλληλη ρύθμιση του pH σε εγκαταστάσεις EBPR πλήρους κλίμακας μπορεί να βελτιώσει την απόδοση της αφαίρεσης φωσφόρου.

2.4.3 Επίδραση Θερμοκρασίας

Όσον αφορά την επίδραση της θερμοκρασίας στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, έχει παρατηρηθεί πως τα πολυφωσφορικά βακτήρια είναι ψυχρόφιλα και τα μη πολυφωσφορικά μεσόφιλα. Συνεπώς, σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 15°C ευνοείται η ανάπτυξη των PAOs, ενώ όταν η θερμοκρασία ξεπερνά τους 20°C παρατηρείται έντονη η παρουσία των GAOs. Αυτό το γεγονός αναδεικνύει πως η κατάλληλη ρύθμιση της θερμοκρασίας ενός βιολογικού αντιδραστήρα αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την επιτυχή ανάπτυξη των επιθυμητών μικροβιακών ομάδων και την ταυτόχρονη αναχαίτιση των ανταγωνιστών τους.

Η θερμοκρασία βρέθηκε τόσο καθοριστικός παράγοντας ώστε η επικράτηση των PAOs ή των GAOs στους 10°C και 30°C αντίστοιχα, να είναι ανεξάρτητη από το είδος της οργανικής τροφής και το pH (Lopez-Vazquez et al. C. M., 2009a). Ωστόσο, σε μέσες θερμοκρασίες αυτό δεν ισχύει, καθώς ο ανταγωνισμός εξαρτάται και επηρεάζεται και από του τρεις παραπάνω παράγοντες. Η ξεκάθαρη επικράτηση των GAOs στις υψηλές θερμοκρασίες εξηγείται από το γεγονός ότι σε θερμό περιβάλλον οι ενεργειακές απαιτήσεις των πολυφωσφορικών για την συντήρηση του κυττάρου τους αυξάνονται και ξεπερνούν κατά πολύ αυτές των GAOs. Αντίθετα, σε χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνονται οι απαιτήσεις των GAOs σε ενέργεια (Panswad et al., (2003); Lopez-Vazquez et al. C. , (2007)), ενώ ταυτόχρονα αναχαιτίζεται η διεργασία της γλυκόλυσης

Ο τύπος PAO II, και πιο συγκεκριμένα το IIF στέλεχός του, παρουσιάζει μεγάλη ανθεκτικότητα σε υψηλές θερμοκρασίες (Ong et al., (2014); Zeng et al. ,(2017b)).

Σχετικά με την αναερόβια επιρροή της θερμοκρασίας στη στοιχειομετρία των GAOs, έχει παρατηρηθεί ότι παραμένει ανεπηρέαστη στο διάστημα μεταξύ 15 °C και 35 °C. Ωστόσο, δεν μπορούν να ανταγωνιστούν τα PAOs σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 20 °C, καθώς έχουν χαμηλότερο ρυθμό πρόσληψης οργανικής τροφής. Επίσης, όταν η θερμοκρασία είναι πάνω από τους 35 °C, η διεργασία της γλυκόλυσης αναχαιτίζεται και κατά συνέπεια δεν μπορεί να διατηρηθεί η δραστηριότητα των GAOs (Lopez-Vazquez et al., 2009b). Σε μέσες θερμοκρασίες, εύρους 20-30 °C, είναι δυνατή η ανάπτυξη των PAOs.

Σύμφωνα με τους Lopez-Vazquez et al., (2009b) αερόβιος μεταβολισμός τόσο των PAOs όσο και των GAOs δεν φαίνεται να εξαρτάται από τη θερμοκρασία στο εύρος 10-30 °C, αν και όταν ξεπεράσει το άνω όριο οι ενεργειακές απαιτήσεις των GAOs για κυτταρική συντήρηση επηρεάζουν δραματικά την ανάπτυξη της βιομάζας, η οποία στους 40°C σταματάει εντελώς.

2.4.4 Επίδραση Αλατότητας

Τα πολυφωσφορικά βακτήρια αναχαιτίζονται λόγω της υψηλής αλατότητας με τον βαθμό της αναχαίτισης να μεταβάλλεται συναρτήσει της συγκέντρωσης των διαλυμένων στερεών στο ανάμεικτο υγρό. Η Welles, (2015), ύστερα από πειράματα σε βιομάζα ικανή να απομακρύνει φώσφορο βιολογικά, επισημαίνει ότι σε αναερόβιες συνθήκες τα PAOs αναχαιτίζονται πλήρως όταν η αλατότητα φτάσει το 4%. Στην ίδια έρευνα φαίνεται ότι το 50% της αναχαίτισης στην δράση των πολυφωσφορικών βακτηρίων σε αναερόβιες συνθήκες πραγματοποιείται όταν η αλατότητα είναι 0,6%.

Σύμφωνα με την έρευνα των Welles et al., (2014) τόσο τα PAOs όσο και τα GAOs είναι ευαίσθητα στην βραχυπρόθεσμη έκθεση στην αλατότητα. Συγκριτικά των δύο, τα PAOs είναι πιο ευαίσθητα. Οι συγκεντρώσεις αλατότητας κάτω από τις πραγματοποιήθηκε 50% αναχαίτιση της πρόσληψης HAc ήταν 0.6 και 1.2% για τα PAOs και GAOs, αντίστοιχα. Όταν η αλατότητα αυξήθηκε στο 1%, τα PAOs μείωσαν κατά 71% την πρόσληψη HAc, ενώ τα GAOs μόνο κατά 41%. Οι απαιτήσεις συντήρησης τόσο των PAOs όσο και των GAOs αυξήθηκαν όταν η αλατότητα αυξήθηκε μέχρι ένα ορισμένο όριο συγκέντρωσης πάνω από το οποίο σταμάτησε η δραστηριότητά τους. Ποσοστό αλατότητας μέχρι 0.6% παρουσίασε ταχύτερους ρυθμούς πρόσληψης HAc για τα PAOs απ' ότι για τα GAOs (pH=7 , T=20°C), ενώ πάνω από 0.6% ευνόησε τα GAOs. Επομένως, τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι τα GAOs μπορεί να ευνοούνται σε υψηλότερες αλατότητες στα λύματα.

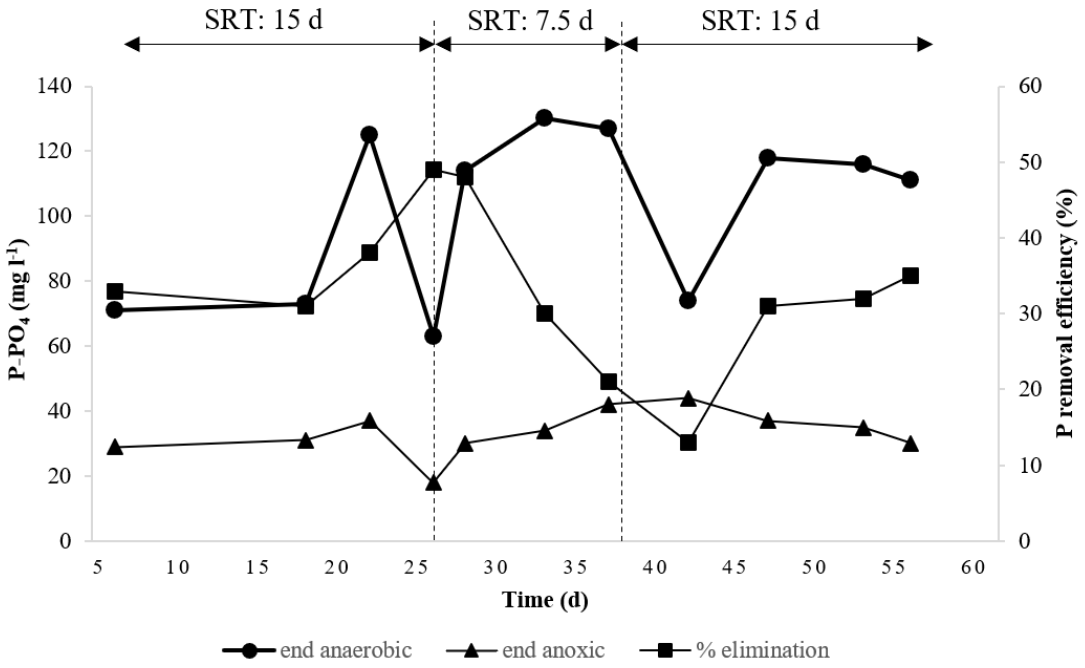
2.4.5 Επίδραση χρόνου παραμονής

2.4.5.1 Χρόνος Παραμονής Στερεών (Solid Retention Time-SRT)

Ο χρόνος παραμονής των στερεών ρυθμίζεται μέσω της περίσσειας ιλύος που αφαιρείται καθημερινά από το σύστημα. Ρυθμίζοντας τον χρόνο επαφής της βιομάζας με τα εισερχόμενα λύματα μπορεί να μεγιστοποιηθεί ο ρυθμός ανάπτυξης της επιθυμητής βακτηριακής ομάδας έναντι των υπολοίπων. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι ο SRT αποτελεί σημαντικό παράγοντα στον ανταγωνισμό μεταξύ PAOs και GAOs.

Με την αύξηση του χρόνου παραμονής των στερεών, μειώνεται το ποσοστό των πολυφωσφορικών βακτηρίων, αυξάνονται τα GAOs και ανταγωνίζονται τα PAOs επιτυχώς, οδηγώντας επομένως στην αναχαίτιση της απομάκρυνσης φωσφόρου (Rodrigo et al., (1999); Seviour et al., (1999)). Στην έρευνα των Yoon et al., (2004) και Li et al., (2008) παρατηρήθηκε μειωμένη απομάκρυνση φωσφόρου (<80%) σε χρόνους παραμονής στερεών μεγαλύτερους από 20 d. Εν αντιθέσει, υψηλή απομάκρυνση (>90%) παρατηρήθηκε και στους σχετικά μικρούς χρόνους παραμονής της τάξεως των 8.3d (Li et al., 2008). Επίσης, στα πειράματα των Tian et al., (2013) (SRT= 6 d) παρατηρήθηκε ότι για την ολοκλήρωση του μεταβολισμού των PAOs απαιτείται αερόβιος χρόνος παραμονής στερεών μεγαλύτερος των 6 d, αν και όταν αυξήθηκε στις 13.5 d ευνοήθηκε η ανάπτυξη των GAOs. Επομένως, μια βέλτιστη

τιμή χρόνου παραμονής στερεών που συστήνεται είναι οι 10 d (Carrera et al, 2001), (Chuang et al., 1996) και (Zheng et al., 2014), (Merzouki et al., 2001).



Σχήμα 2.1: Ημερήσια διακύμανση συγκέντρωσης φωσφόρου στο τέλος της αναερόβιας και ανοξικής φάσης και η %επιτυχής απομάκρυνση φωσφόρου σε σύστημα SBR (Merzouki et al., 2001).

Μετέπειτα έρευνες, συσχέτισαν την επιτυχία της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου με το χρόνο παραμονής στερεών συνδυαστικά με την θερμοκρασία. Οι Whang et al., (2006) ανέπτυξαν στην έρευνά τους τα PAOs στη βιομάζα χρησιμοποιώντας ευνοϊκές για αυτά συνθήκες (SRT=10d, T=20 ^{o}C) και έδειξαν πως η αύξηση της θερμοκρασίας στους 30 ^{o}C οδήγησε στην εξάλειψη των PAOs, ενώ οι Lopez-Vazquez et al., (2009b) πραγματοποίησαν τα πειράματά τους σε θερμοκρασίες μικρότερες των 20 ^{o}C δίνοντας ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα πολυφωσφορικά έναντι των GAOs αφού η ενέργεια από την οξείδωση των PHAs χρησιμοποιείται σχεδόν εξ ’ολοκλήρου για την παραγωγή γλυκογόνου από τα GAOs αφήνοντας μικρότερα ποσά ενέργειας για την συντήρηση του κυττάρου και τη σύνθεση βιομάζας. Ο ρυθμός ανάπτυξης των PAOs και των GAOs δεν παρουσιάζει διαφορές στις μέσες θερμοκρασίες.

2.4.5.2 Αναερόβιος Υδραυλικός Χρόνος Παραμονής (Hydraulic Retention Time-HRT)

Σύμφωνα με το μεταβολικό μοντέλο που περιγράφει τη διαδικασία της Βιολογικής Απομάκρυνσης Φωσφόρου, η καθαρή αφαίρεση P (net P uptake) συνδέεται άμεσα με την απελευθέρωση φωσφόρου υπό αναερόβιες συνθήκες. Ο χρόνος παραμονής υπό αναερόβιες συνθήκες (anaerobic contact time) αποτελεί μία από τις σημαντικότερες σχεδιαστικές παραμέτρους. Ο απαιτούμενος χρόνος παραμονής εξαρτάται από μία σειρά παραμέτρων όπως το διαθέσιμο εύκολα βιοδιασπώμενο οργανικό υπόστρωμα στην εισροή, η παρουσία VFAs, η επιθυμητή ποσότητα αφαίρεσης φωσφόρου και η

μέγιστη ικανότητα αποθήκευσης φωσφόρου από τους PAOs (Jansen et al., 2002). Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής είναι το αντίστροφο της ογκομετρικής υδραυλικής φόρτισης, δηλαδή $\theta[d] = \frac{V[m^3]}{Q[\frac{m^3}{d}]}$.

Σε καθαρά αναερόβιες συνθήκες, χωρίς την πιθανή εισαγωγή NO_3^- ή/και O_2 , δίνεται ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των GAOs για το οργανικό υπόστρωμα που εισάγεται στη βαθμίδα. Συνεπώς, τα PAOs πλεονεκτούν ως προς την αποθήκευση του οργανικού άνθρακα υπό αναερόβιες συνθήκες και χρήση των αποθηκευμένων οργανικών πολυμερών υπό τις ακόλουθες αερόβιες συνθήκες, για αφομοίωση φωσφόρου.

Σε αστικά λύματα που συλλέγονται σε μεγάλα δίκτυα αγωγών πίεσης ή σε εκροές βιομηχανικής προέλευσης, όταν ο η εισροή είναι πλούσια σε VFAs (VFAs>100mg COD/L), ο χρόνος παραμονής στην αναερόβια βαθμίδα ενός συστήματος βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου είναι δυνατό να περιοριστεί σε 0.5h. Σε τυπικά αστικά λύματα, όπου η παρουσία VFAs είναι περιορισμένη, ο απαραίτητος χρόνος παραμονής στην αναερόβια βαθμίδα είναι τουλάχιστον 1h καθώς η μερική οξεοποίηση του δύσκολα βιοδιασπώμενου μέρους του οργανικού υποστρώματος χρειάζεται αρκετό χρόνο (Jansen et al., 2002). Σύμφωνα με τους Matsuo, (1994) και Carrera et al, (2001), οι χρόνοι παραμονής μεγαλύτεροι από 1h βελτιώνουν την απόδοση αφαίρεσης φωσφόρου αλλά παρατηρήθηκε επίσης, ότι βραχυχρόνια αρκούν και μικρότεροι χρόνοι παραμονής ώστε να επέλθουν καλά αποτελέσματα. Επίσης, οι Coats et al, (2011) παρατήρησαν ότι σε υδραυλικό χρόνο παραμονής ίσο με 1 h, η πλήρης απομάκρυνση φωσφόρου απαιτούσε περισσότερο από 0.5h αερόβιας έκθεσης. Ωστόσο, οι μεγάλοι υδραυλικοί χρόνοι παραμονής στην αναερόβια ζώνη μπορεί να γίνουν αιτία για ανεπιθύμητα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, οι μεγάλοι χρόνοι παραμονής στην αναερόβια ζώνη μπορεί να οδηγήσουν σε εξάντληση του διαθέσιμου οργανικού υποστρώματος, με αποτέλεσμα να προκληθεί «δευτερεύουσα» απελευθέρωση φωσφόρου από τα PAOs, καθώς τα PAOs, ελλείψει διαθέσιμου υποστρώματος, διασπούν περαιτέρω ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες για την παραλαβή ενέργειας για λόγους συντήρησης του κυττάρου και όχι για την σύνθεση PHAs με αποτέλεσμα να ευνοείται η ανάπτυξη των GAOs.

2.4.6 Επίδραση Διαλυμένου Οξυγόνου

Το διαλυμένο οξυγόνο, DO (Dissolved Oxygen) είναι μία σημαντική παράμετρος για τη δραστηριότητα τόσο των ετεροτροφικών όσο και των αυτοτροφικών οργανισμών, που αναπτύσσονται σε μία εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων. Σύμφωνα με την Τσιφοδήμου, (2018) ενδεικτικά αναφέρεται πως το οξυγόνο διαλύεται ελάχιστα στο νερό (9 ppm στους 20 ^oC σε 1 atm (1013 mbar)).Επίσης, η διαλυτότητά του, όπως και άλλων αερίων, μειώνεται, όταν αυξάνεται η θερμοκρασία, ενώ αυξάνεται, όταν αυξάνεται η πίεση. Η έλλειψη οξυγόνου στους υδάτινους αποδέκτες συχνά υποδηλώνει μεγάλο ρυπαντικό φορτίο.

Συμβατικές μέθοδοι δευτεροβάθμιας επεξεργασίας απαιτούν τιμές DO ≥ 4 mg/L (για την οξείδωση του οργανικού άνθρακα και τη νιτροποίηση). Η ίδια τιμή DO απαιτείται και για τη βιολογική αφαίρεση φωσφόρου. Όταν παράλληλος στόχος είναι

η ικανοποιητική νιτροποίηση απαιτούνται τιμές μεταξύ 3-4 mg/L (Shehab, 1996). Οι Smolders et al., (1994b) ανέπτυξαν ένα μεταβολικό μοντέλο που περιγράφει τις μετατροπές υπό αερόβιες συνθήκες στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου και κατέληξαν στο ότι 0.31mg O_2 απαιτούνται για την δέσμευση 1 mol φωσφόρου. Η έρευνα των Brdjanovic et al, (1998) εξήγαγε ότι υπέρμετρη εφαρμογή αερισμού οδηγεί σε εξάντληση της αποθήκης PHB των PAOs, επηρεάζοντας μετέπειτα αρνητικά την διαδικασία βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου.

Η συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου (DO) στην ενεργό ιλύς αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα όσον αφορά τον ανταγωνισμό μεταξύ των PAOs και GAOs. Σύμφωνα με την έρευνα των Mónica Carvalheira et al., (2014) τα *Accumulibacter* PAOs ευνοούνται σε χαμηλά επίπεδα DO σε αντίθεση με τα *Competibacter* GAOs, τα οποία παρουσιάζουν μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης. Ενώ, αντίστοιχα, σε υψηλά επίπεδα DO αποδεικνύει ότι προάγεται η ανάπτυξη των GAOs έναντι των PAOs και κατά συνέπεια μειώνεται η απόδοση βιολογικής αφαίρεσης φωσφόρου. Οι Parnian Izadi et al., (2021) έδειξαν ότι η συγκέντρωση 0,8mg/L DO θα μπορούσε να επιτύχει 90% βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου λόγω της αύξησης του πληθυσμού των PAOs και της σημαντικής μείωσης των GAOs.

Οι Mónica Carvalheira et al., (2014) παρατήρησαν πως σε συγκέντρωση 0,6mg/L DO η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου παρουσίασε μία αναχαίτιση της τάξης του 20%, ενώ η ίδια αναχαίτιση για τα GAOs ήταν μεγαλύτερη (αναχαίτιση της παραγωγής γλυκογόνου περίπου 88%). Στην έρευνα των Keene, (2017), που η μείωση του οξυγόνου πραγματοποιήθηκε σταδιακά, ώστε να προλάβουν οι μικροοργανισμοί να εγκλιματιστούν, επιτεύχθηκε ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου ακόμα και σε συγκέντρωση 0,33mg/L DO.

2.4.7 Επίδραση Αναχαιτιστικών ουσιών

2.4.7.1 Επίδραση Νιτρωδών / FNA

Σε ένα σύστημα επεξεργασίας για αφαίρεση αζώτου και φωσφόρου, τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) εμφανίζονται ως ενδιάμεσα προϊόντα των διαδικασιών της νιτροποίησης και απονιτροποίησης. Η εμφάνιση νιτρωδών σε συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου συνδέεται με διαταραχές στη λειτουργία του συστήματος επεξεργασίας. Για αυτό το λόγο, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για τη διερεύνηση της επιρροής των νιτρωδών, τόσο υπό ανοξικές όσο και υπό αερόβιες συνθήκες.

Οι έρευνες των Meinhold et al., (1999b) και Saito et al., (2004) απέδειξαν πως τα NO_2^- είναι κατάλληλα για χρήση από τους DPAOs (Denitrifying Phosphorus Accumulating Organisms) για αφαίρεση φωσφόρου σε συνδυασμό με απονιτρωδοποίηση, μέχρι μιας ορισμένης συγκέντρωσης NO_2^-, άνω της οποίας η αφαίρεση φωσφόρου παρεμποδίζεται. Ωστόσο, οι έρευνες προτείνουν διαφορετικές μέγιστες επιτρεπτές συγκεντρώσεις νιτρωδών. Οι Meinhold et al., (1999b) πρότειναν ότι σε συγκεντρώσεις 4-5 mg N/L το NO_2^- μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς πρόβλημα για ανοξική αφαίρεση φωσφόρου, ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δρουν

ανασταλτικά στη δέσμευση φωσφόρου. Σύμφωνα με τους Saito T. et al., (2004), συγκεντρώσεις ακόμα και 2 mg NO_2^--N/L παρεμποδίζουν την αερόβια δέσμευση φωσφόρου, ενώ συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 6 mg την αναστέλλουν. Επίσης, ο ρυθμός της ανοξικής δέσμευσης P βρέθηκε μειωμένος κατά 65% με την παρουσία 12mg NO_2^--N/L. Ακόμη, έδειξαν να μην επηρεάζουν τη δέσμευση φωσφόρου υπό ανοξικές συνθήκες συγκεντρώσεις μέχρι 10mg NO_2^--N/L σύμφωνα με τους Lee et al., (2001), 35mg NO_2^--N/L σύμφωνα με τους Hu et al., (2003a) και 40mg NO_2^--N/L σύμφωνα με τους Ahn et al., (2001). Η πιθανότερη εξήγηση για αυτές τις αντιθέσεις στις διεξαγόμενες έρευνες είναι ότι βιομάζα εμπλουτισμένη με PAOs, με διαφορετικό βαθμό προσαρμογής στο NO2-, ανάλογα με το σύστημα στο οποίο αναπτύσσεται, είναι εύλογο να παρουσιάζει διαφορετική συμπεριφορά ως προς τη μέγιστη δυνατή (ανασταλτική) συγκέντρωση NO_2^- στην οποία υποβάλλεται (Sin et al., 2008).

Δεδομένου ότι η συσχέτιση της αναχαίτισης των PAOs με τα νιτρώδη παρουσιάζει μεγάλη μεταβλητότητα, οι Zhou et al., (2007) ανέδειξαν με την ερευνητική εργασία τους ότι ο πραγματικός παράγοντας τοξικότητας για την αφαίρεση φωσφόρου φαίνεται να είναι το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (Free Nitrous Acid - FNA). Κατά τη διεργασία της νιτρωδοποίησης παράγονται ιόντα υδρογόνου, που ρίχνουν το pH της υγρής φάσης. Τα νιτρώδη αντιδρούν με τα ιόντα υδρογόνου και σχηματίζουν το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (FNA), του οποίου αποτελούν τη συζυγή βάση (Zhou Yan et al., 2011), (Zheng et al., 2014) όπως φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση. Η συγκέντρωση του FNA εξαρτάται από τη συγκέντρωση των νιτρωδών, την τιμή του pH και τη θερμοκρασία. Όσο χαμηλότερο είναι το pH, τόσο μεγαλύτερη η συγκέντρωση του FNA (Philips et al., 2002).

$$NO_2^- + H^+ \leftrightarrow HNO_2$$

Σε συγκέντρωση 0,005mg HNO_2-N/L και 0,02mg HNO_2-N/L, η ανοξική δέσμευση φωσφόρου παρατηρήθηκε αναχαίτιση κατά 50% και 100%, αντίστοιχα (Zhou et al., 2007). Συνεπώς, ακολούθησαν έρευνες οι οποίες εξέτασαν τον ακριβή μηχανισμό της επίδρασης του FNA στον αερόβιο και ανοξικό μεταβολισμό των PAOs αλλά και των GAOS, ώστε να κατανοηθεί σε βάθος η φύση του ανταγωνισμού μεταξύ τους.

Αερόβια επίδραση FNA

Ο αερόβιος μεταβολισμός των PAOs παρατηρείται να επηρεάζεται περισσότερο από το FNA σε σχέση με τον αερόβιο μεταβολισμό των GAOs , γεγονός που εξηγεί την άμεση μείωση της αποδοτικότητας της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Όσον αφορά τη διαφοροποίηση της επίδρασης του FNA ως προς τις αναβολικές και καταβολικές διεργασίες των βακτηριδίων, οι αναβολικές είναι αυτές οι οποίες υπόκεινται σε μεγαλύτερη βλάβη (Ye et al., 2010).

Αερόβια επίδραση FNA στους PAOs

Αναφερόμενοι στις αναβολικές διεργασίες του αερόβιου μεταβολισμού των PAOs υποδηλώνονται οι: αερόβια δέσμευση φωσφόρου, κυτταρική ανάπτυξη και παραγωγή γλυκογόνου. Η καταβολική τους διεργασία είναι η οξείδωση των PHAs.

Όσον αφορά την αερόβια δέσμευση φωσφόρου, οι (Saito T. et al., 2004) παρατήρησαν 100% αναχαίτιση σε συγκέντρωση FNA=1.5μg/L, καθώς οι (Pijuan et

al, 2010) κατέγραψαν 50% αναχαίτιση σε συγκέντρωση FNA=0.52μg/L και100% αναχαίτιση σε συγκέντρωση FNA=4μg/L. Ο Fragkiskatos, (2018) και η Argyropoulou, (2018) παρατήρησαν 50% και 100% στο ρυθμό αερόβιας δέσμευσης φωσφόρου σε συγκεντρώσεις FNA=1.5μg/L και FNA=13.7μg/L. Τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρήθηκαν σε μη εγκλιματισμένες βιομάζες. Ωστόσο, ακόμη και ο όρος τους εγκλιματισμού είναι σχετικός και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η βιομάζα των Fragkiskatos, (2018) και Argyropoulou, (2018) μπορεί να θεωρηθεί εγκλιματισμένη. Άξιο σημείωσης είναι επίσης, πως η Argyropoulou, (2018) παρατήρησε ότι η ανεκτικότητα των πολυφωσφορικών στα νιτρώδη μειώνεται όσο χάνεται η επαφή μαζί τους. Συνεπώς, η παραπάνω παρατήρηση εξήγησε το γεγονός ότι η αναχαίτιση παρατηρείται σε όλο και μικρότερες συγκεντρώσεις νιτρωδών, όσο ο εγκλιματισμός της βιομάζας χάνεται με το πέρασμα του χρόνου.

Αντίστοιχες σημαντικές διαταραχές παρατηρήθηκαν και στη διαδικασία της κυτταρικής ανάπτυξης λόγω της ύπαρξης του FNA. Αρχικά, σε μη εγκλιματισμένη βιομάζα, από τους Pijuan et al, (2010) σημειώθηκαν αναχαιτίσεις 50% και 100% σε συγκεντρώσεις FNA=0.36μg/L και FNA=7μg/L, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, οι Zhou et al, (2012), σε εγκλιματισμένη καλλιέργεια, κατέγραψαν 100% αναχαίτιση όταν το FNA είχε την τιμή 0.9μg/L.

Τέλος, οι έρευνες ανέδειξαν πως οι καταβολικές διεργασίες επηρεάζονται λιγότερο από την ύπαρξη του FNA. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε 40%-50% αναχαίτιση του ρυθμού οξείδωση των PHAs για συγκέντρωση FNA=2μg/L, ο οποίος ωστόσο παρέμεινε σταθερός για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του FNA (Pijuan et al, 2010). Στην έρευνα των Zhou et al. , (2010) παρατηρήθηκες σταθερός ρυθμός οξείδωσης των PHAs από τα DPAOs στο 60% του αρχικού ρυθμού του για FNA=20÷70 μg/L.

<u>Αερόβια επίδραση FNA στους GAOs</u>

Αναφερόμενοι στις αναβολικές διεργασίες του αερόβιου μεταβολισμού των GAOs υποδηλώνονται οι: κυτταρική ανάπτυξη και αναπλήρωση γλυκογόνου, κοινές με τα PAOs. Σε αντίθεση με τα PAOs, τα GAOs δεν έχουν επιπλέον πηγή ενέργειας, η οποία πραγματοποιείται κάτω από αναερόβιες συνθήκες (έκλυση πολυφωσφορικών) και η οποία χρειάζεται αναπλήρωση κάτω από αερόβιες συνθήκες.

Σύμφωνα με έρευνα των Ye et al., (2010), η καλλιέργειά τους, πλούσια σε GAOs, αναχαιτίστηκε κατά 50% και 100% σε συγκέντρωση FNA=1.5 μg/L και FNA=7.1 μg/L, αντίστοιχα. Η παραγωγή γλυκογόνου μειώθηκε κατά 40%, ενώ η κατανάλωση πολύ-υδροξυαλκανοϊκών (PHAs), οι ενδοκυτταρικές πηγές άνθρακα και ενέργειας για τα GAOs, μειώθηκαν κατά 50% περίπου. Τόσο η αερόβια οξείδωση PHAs όσο και η παραγωγή γλυκογόνου μειώθηκαν σε αυξημένες συγκεντρώσεις FNA(>1.5 μg/L). Η διαδικασία της βιοσύνθεσης αναχαιτίστηκε από το FNA και συνεπάγεται άμεσα τη μειωμένη ανάπτυξη της βιομάζας και το σχηματισμό γλυκογόνου. Επομένως, έμμεσα προκαλείται μειωμένη χρήση των PHAs λόγω μειωμένης ζήτησης ενέργειας για βιοσύνθεση. Όταν αυξήθηκε η τιμή του FNA από 2.5μg/L σε 5.5 μg/L, παρατηρήθηκε απότομη μείωση στον ρυθμό ανάπτυξης των GAOs. Στα συμπεράσματά τους αναγράφουν πως το FNA αναστέλλει πιθανώς είτε τη μία είτε και τις δύο διεργασίες παραγωγής PHA και γλυκογόνου, αλλά σε πολύ μικρότερο βαθμό σε σύγκριση με την αναχαίτιση στην βακτηριακή ανάπτυξη.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται συγκεντρωτικά η αναχαίτιση των GAOs και των PAOs λόγω του ελεύθερου νιτρώδες οξέος.

Πίνακας 2.1: Αναχαίτιση FNA στον αερόβιο μεταβολισμό των GAOs και των PAOs (πηγές: (Pijuan et al, 2010) (Ye et al., 2010)).

	Accumulibacter (PAO)		Competibacter (GAO)	
	Ελεύθερο νιτρώδες οξύ (μg HNO_2-N/L)			
Αναχαίτιση %	**I_{50}**	**I_{100}**	**I_{50}**	**I_{100}**
Πρόσληψη P	0.52	4	-	-
Παραγωγή γλυκογόνου	0.48	2	9	Δεν πραγματοποιήθηκε. 30% της δραστηριότητας παρέμεινε ακόμη και στην πιο ψηλή συγκέντρωση FNA=25
Αποικοδόμηση PHA	Παρόμοια τάση παρατηρήθηκε και στους δύο πληθυσμούς με αρχική μείωση και σταθεροποίηση έως 40% της δραστικότητας αποικοδόμησης PHA			
Κατανάλωση NH_4^+	0.36	7	1.54	7

Εν κατακλείδι, η αναχαίτιση στην αερόβια πρόσληψη φωσφόρου στα PAOs είναι ισχυρότερη από την αερόβια σύνθεση γλυκογόνου στα GAOs. Συνεπώς, η ύπαρξη FNA ως αναχαιτιστικός παράγοντας δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα GAOs έναντι των PAOs κατά τη διάρκεια της αερόβιας φάσης και αποτελεί σημαντικό ανασταλτικό παράγοντα στην απόδοση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου.

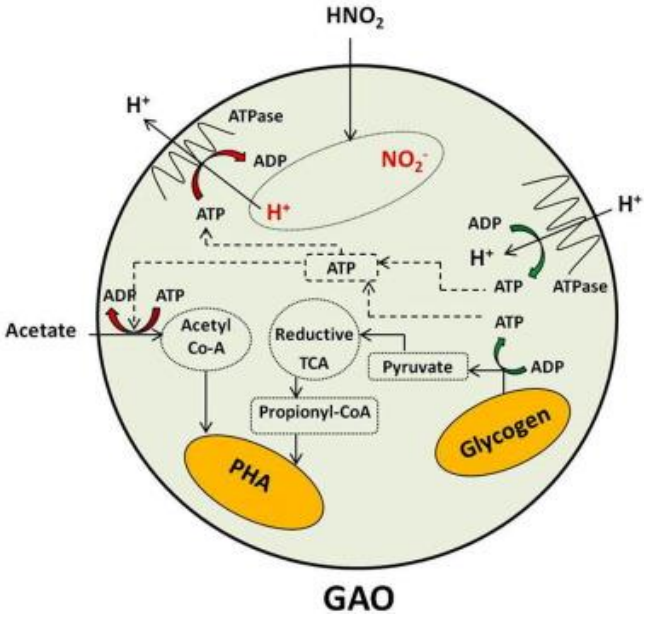
Αναερόβια επίδραση FNA

Το ελεύθερο νιτρώδες οξύ προκαλεί αναχαιτίσεις και στις αναερόβιες διεργασίες των PAOs και των GAOs. Το νιτρώδες άζωτο μπορεί να επανακυκλοφορήσει ή να διαρρεύσει στην αναερόβια φάση και να επηρεάσει τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs και των GAOs (Zhou Yan et al., 2011).

Οι Ye et al, (2013) πραγματοποίησαν πειράματα σε μη εγκλιματισμένες καλλιέργειες από PAOs και GAOs, ώστε να καταγράψουν την επίδραση του FNA στο ρυθμό πρόσληψης του οξικού οξέος, καθώς και τους ρυθμούς υδρόλυσης του γλυκογόνου και παραγωγής των PHAs. Παρατήρησαν ότι το FNA έχει ισχυρότερη δυσμενή επίδραση στην πρόληψη οξικού οξέος από τα PAOs παρά από τα GAOs. Η μέγιστη συγκέντρωση που εφαρμόστηκε ήταν FNA=22μg/L με αναχαίτιση στο ρυθμό αναερόβιας πρόληψης οξικού οξέος της τάξεως του 90% για τα PAOs και 45% για τα GAOs. Η παραπάνω διαφορά μπορεί να σχετίζεται με διαφορές στη μεταφορά οξέος στο κύτταρο. Κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος η έκλυση φωσφόρου μειώθηκε, ενώ ο λόγος P_{rel}/VFA_{up} αυξήθηκε περίπου 250%÷300%. Η παραπάνω παρατήρηση υποδηλώνει πως απαιτούνταν μεγαλύτερη ποσότητα ενέργειας για την πρόσληψη ίδιας ποσότητας οργανικής τροφής. Όσον αφορά την υδρόλυση του γλυκογόνου από τα GAOs, παρατηρήθηκε αύξηση της τάξεως του 30%. Ωστόσο, η παραγωγή PHAs αναχαιτίστηκε κατά 35%, στα PAOs, ενώ στην περίπτωση των GAOs δεν υπήρξε κάποια διαφορά.

Στην έρευνα των (Ganda et al., 2016) ο ρυθμός πρόσληψης οξικού οξέος από τα GAOs μειώθηκε καθώς αυξήθηκε η συγκέντρωση FNA. Ο ρυθμός πρόσληψης οξικού μειώθηκε απότομα για συγκέντρωσης FNA 0.00005 - 0.02 mg HNO_2-N/L, με

αναχαίτιση 50% σε συγκέντρωση FNA περίπου 0.0075 mg HNO_2-N/L (ισοδύναμο με 32.5 mg NO_2-N/L σε pH 7). Επίσης παρατήρησαν ότι η πρόσληψη οξικού δεν αναχαιτίστηκε πλήρως ακόμη και σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις FNA (0.02 - 0.08 mg HNO_2-N/L).



Εικόνα 2.3: Απεικόνιση της επίδρασης του FNA και της διαδικασίας μετατροπής της ATP σε ADP στα GAOs (πηγή: Ganda et al, 2016).

Κεφάλαιο 3

Πειραματική Διαδικασία

3.1 Περιγραφή Πειραματικής Διάταξης

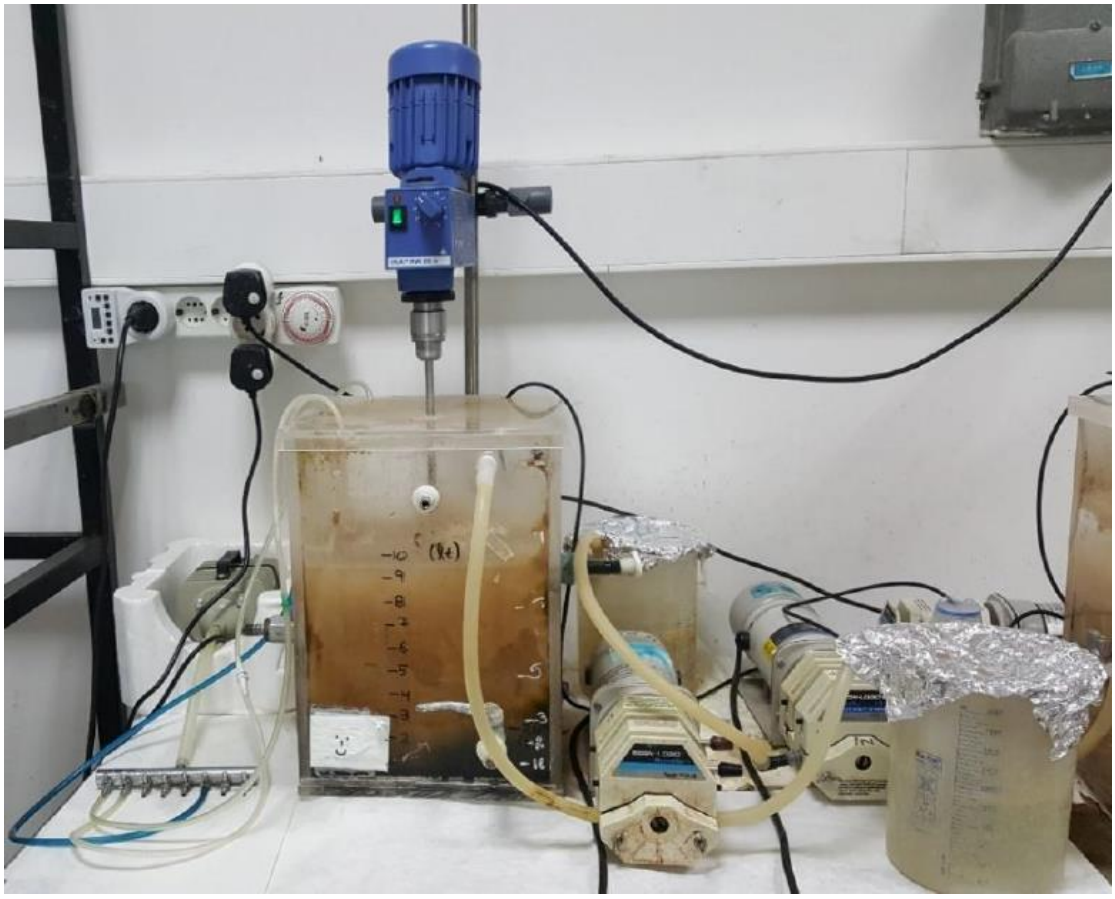
Η πειραματική διάταξη που διαμορφώθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ για την υλοποίηση της παρούσας διπλωματικής αποτελούταν από έναν αντιδραστήρα εναλλασσόμενης λειτουργίας (SBR) με ανάμεικτο υγρό από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας. Το σύστημα λειτούργησε από τις 12 Μαρτίου μέχρι τις 31 Ιουλίου 2019.

3.1.1 Περιγραφή συστήματος SBR (Sequential Batch Reactor)

Η μέθοδος SBR για τη βιολογική επεξεργασία λυμάτων βασίζεται σε ενεργό ιλύ (βιομάζα). Η διαφοροποίηση σε σχέση με την συμβατική σχεδίαση αντιδραστήρα ενεργού ιλύος είναι ότι στον αντιδραστήρα διαλείποντος έργου ή εναλλασσόμενης λειτουργίας (SBR), οι φάσεις της επεξεργασίας διαχωρίζονται χρονικά και όχι χωρικά, καθώς οι φάσεις της τροφοδοσίας, του αερισμού, της καθίζησης και της εκκένωσης, διαδέχονται η μία την άλλη. Έτσι, δεν απαιτούνται ξεχωριστές δεξαμενές αερισμού και καθίζησης, αλλά οι δύο αυτές διεργασίες πραγματοποιούνται σε μια κοινή δεξαμενή.

Ο αντιδραστήρας που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριο ήταν ορθογωνικής διατομής, κατασκευασμένος από plexiglass, με ειδικά διαμορφωμένο καπάκι για να διέρχονται ο αναδευτήρας και η παροχή οξυγόνου. Ο συνολικός όγκος του είναι 14 λίτρα, ενώ γινόταν πλήρωση και λειτουργούσε με τα 10 λίτρα. Η παροχή οξυγόνου πραγματοποιείται μέσω αεραντλίας, η οποία λειτουργεί με χρονοδιακόπτη. Η αεραντλία είναι συνδεδεμένη με τρεις λεπτούς πλαστικούς σωλήνες, οι οποίοι και αυτοί με τη σειρά τους είναι συνδεδεμένοι με πέτρες ενυδρείου οι οποίες μεταφέρουν το οξυγόνο στο ανάμικτο υγρό. Ο αναδευτήρας είναι στηριγμένος σε βάση στήριξης και διέρχεται, μέσω μίας οπής στο καπάκι, στο ανάμικτο υγρό και φτάνει σε κατάλληλο βάθος ώστε να πραγματοποιείται ικανοποιητική ανάδευση, χωρίς να έρχεται σε επαφή με τις πέτρες ενυδρείου. Με τον αναδευτήρα εξασφαλίζεται η διατήρηση συνθηκών πλήρους μίξης. Επίσης, ο μηχανικός αναδευτήρας είναι συνδεδεμένος με χρονοδιακόπτη για την έναρξη της καθίζησης.

Για τον έλεγχο του pH, έχει προβλεφθεί κατάλληλη οπή στη δεξαμενή για την εισαγωγή θειικού οξέος (2,5N), με αυτοματοποιημένη διαδικασία κατά την οποία μέσω ενός σωλήνα εισέρχονται 4 mL διαλύματος σε διάρκεια ενός λεπτού. Η διαδικασία εισαγωγής διαλύματος ξεκινάει μία ώρα μετά από την έναρξη κάθε αερόβιας φάσης, καθώς ο αερισμός προκαλεί αύξηση του pH.



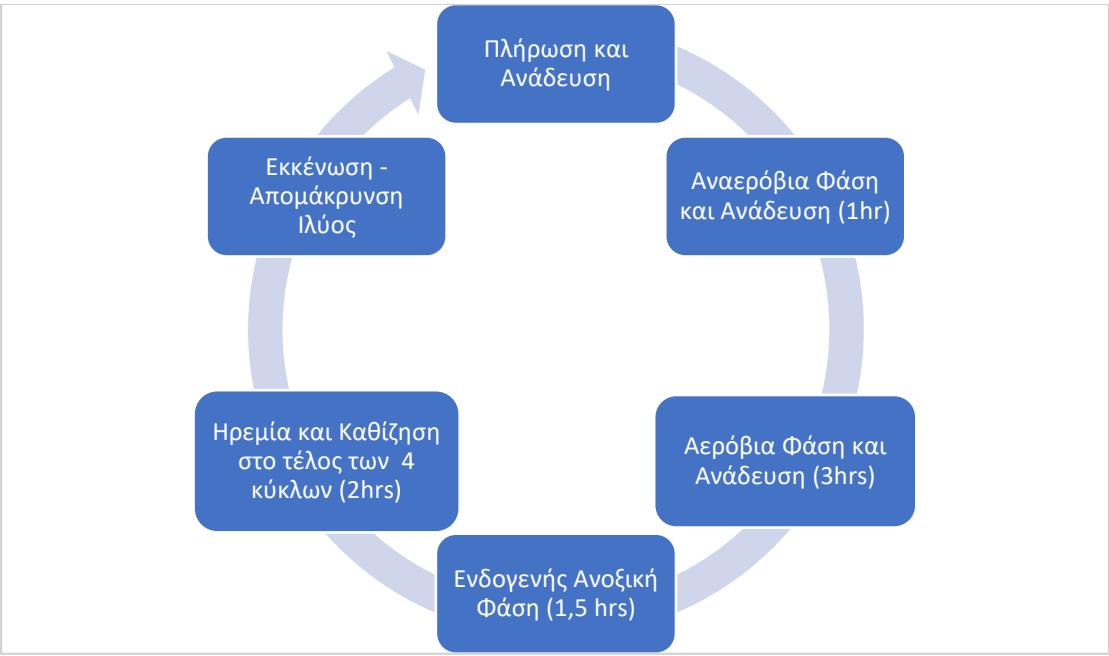
Εικόνα 3.1 : SBR (Sequential Batch Reactor) Εργαστηρίου Υγειονομικής Τεχνολογίας ΕΜΠ.

Ένας πλήρης κύκλος λειτουργίας ενός συστήματος SBR αποτελείται από τέσσερις διαδοχικές φάσεις:

1. Πλήρωση: εισέρχονται τα προς επεξεργασία λύματα στη δεξαμενή
2. Μίξη και αερισμός: φάση αντιδράσεων όπου ανάλογα με τις απαιτήσεις επεξεργασίας, γίνονται οι αναερόβιες, ανοξικές και αερόβιες διεργασίες με ενεργοποίηση και απενεργοποίηση των διατάξεων ανάμιξης και αερισμού
3. Ηρεμία και καθίζηση αιωρούμενων στερεών: μετά το πέρας της φάσης των αντιδράσεων, απενεργοποιείται το σύστημα ανάμιξης ή/και αερισμού για την επίτευξη συνθηκών ηρεμίας και την καθίζηση των καθιζήσιμων στερεών στον πυθμένα της δεξαμενής
4. Εκκένωση - απομάκρυνση ιλύος: αποτελεί και την τελευταία φάση όπου απομακρύνονται υπό συνθήκες ηρεμίας τα επεξεργασμένα. Στη ίδια φάση απομακρύνεται και η περίσσεια λάσπης

Όσον αφορά τη λειτουργεία του αντιδραστήρα κατά τη διάρκεια της ερευνητικής μελέτης στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας Ε.Μ.Π., περιλαμβάνει 4 ημερήσιους κύκλους λειτουργείας, διάρκειας 5,5 ωρών. Σε κάθε κύκλο επιμερίζονται διαφορετικά οι παραπάνω φάσεις. Επίσης, κάθε κύκλος περιλαμβάνει 1 ώρα

αναερόβιας φάσης, 3 ώρες αερόβιας φάσης και 1,5 ώρα ενδογενούς ανοξικής φάσης. Στο τέλος των ημερήσιων κύκλων πραγματοποιείται καθίζηση διάρκειας 2 ωρών.



Εικόνα 3.2: Κύκλοι Λειτουργίας SBR.

Πίνακας 3.1 Λειτουργικά χαρακτηριστικά SBR.

Παράμετρος	Σύμβολο	Μονάδες	Τιμή
Παροχή λυμάτων	Q	L/day	5
Υδραυλικός χρόνος παραμονής	HRT	days	2
Χρόνος παραμονής στερεών	SRT	days	12
Αερόβιος χρόνος παραμονής στερεών	aerSRT	days	6
Οργανική φόρτιση	F/M	gr COD/gr MLVSS/day	0.07
Αιωρούμενα πτητικά στερεά	MLVSS	mg/L	2500
Περίσσεια ιλύς [1]	W	L/day	0.6

[1] Τους καλοκαιρινούς μήνες η θερμοκρασία αυξήθηκε με αποτέλεσμα η περίσσεια ιλύς να γίνει 1L, ο χρόνος παραμονής στερεών 10 days και ο αερόβιος υδραυλικός χρόνος παραμονής 5 days.

3.1.2 Περιγραφή Τροφοδοσίας συστήματος

Στα πλαίσια προηγούμενων διπλωματικών εργασιών (Θέμελη, (2019) και Καλλή, (2019)) το σύστημα αρχικά λειτούργησε με 500 mL πρωτοβάθμιας ιλύος από το ΚΕΛ Ψυττάλειας και με προσθήκη κατάλληλης ποσότητας διαλυμάτων:

- οξικού οξέος ($CH_3COOHNa$), συγκέντρωσης 50 g/L,
- αμμωνιακού αζώτου στη μορφή χλωριούχου αμμωνίου (NH_4Cl), συγκέντρωσης 10 g/L και
- φωσφορικών στη μορφή μονοβασικού φωσφορικού νατρίου (NaH_2PO_4), συγκέντρωσης 5 g/L.

Στη συνέχεια, για να υλοποιηθεί η μελέτη της παρούσας διπλωματικής εργασίας χρειάστηκε να γίνει έκπλυση των PAOs για δύο εβδομάδες, με σκοπό να επικρατήσουν τα βακτήρια συσσώρευσης γλυκογόνου (GAOs). Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε τροφοδοτώντας το σύστημα πριν την απομάκρυνση της εκροής και της περίσσειας ιλύος, ώστε να απομακρύνεται μαζί με την εκροή ο φώσφορος που εκλύαν τα PAOs.

Για την επιτυχή έκπλυση των PAOs, διακόπηκε η προσθήκη φωσφόρου, αμμωνιακού αζώτου και πρωτοβάθμιων λυμάτων (αποφυγή εισαγωγής ανεπιθύμητων μικροοργανισμών από το ΚΕΛ Ψυττάλειας) αλλά έγινε προσθήκη 50 mL θειουρίας (αναχαίτιση των νιτροποιητών).

3.2 Έλεγχος καλλιέργειας μικροοργανισμών

Για την επαλήθευση της επιτυχούς ανάπτυξης των επιθυμητών μικροοργανισμών (GAOs) πραγματοποιήθηκε έλεγχος με τις ακόλουθες δύο μεθόδους:

3.2.1 1η μέθοδος: μέτρηση οργανικού φορτίου

Σε εργαστηριακό επίπεδο η μέτρηση οργανικού φορτίου έγινε με μέτρηση του COD στην αρχή και το τέλος του αναερόβιου κύκλου του συστήματος SBR. Παρατηρήθηκε πως μετά το πέρας των πρώτων τεσσάρων εβδομάδων το οργανικό φορτίο είχε καταναλωθεί σε μεγάλο βαθμό και είχε αναπτυχθεί μεγάλος ρυθμός κατανάλωσης COD. Συνεπώς, υπήρξε η πρώτη ένδειξη πως έχει αναπτυχθεί μία καλλιέργεια με υψηλή συγκέντρωση βακτηρίων συσσώρευσης γλυκογόνου. Ενδεικτικά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων την 2η και την 4η εβδομάδα.

Πίνακας 3.2: Μέτρηση του COD στην αρχή και το τέλος του αναερόβιου κύκλου του συστήματος SBR.

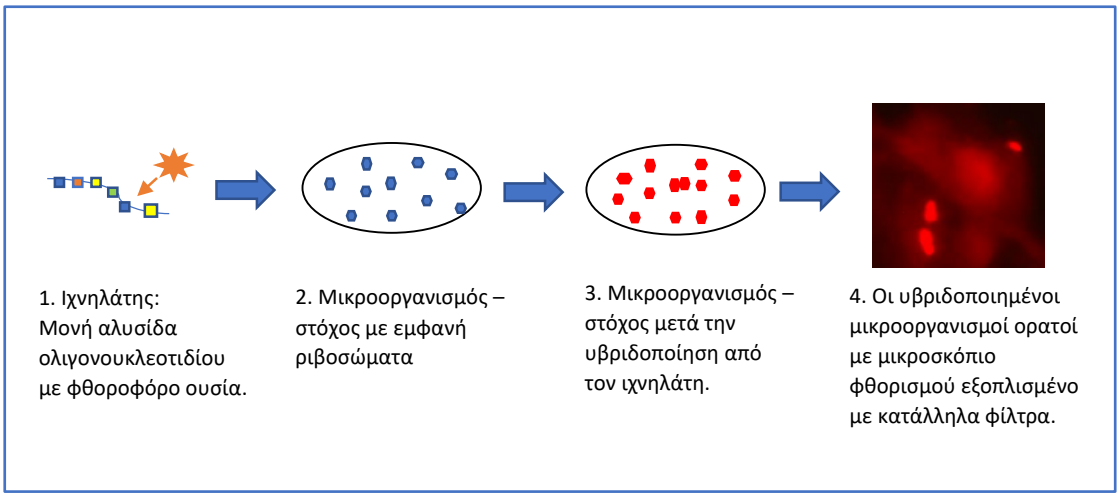
Ημερομηνία	**COD (mg/L)**		**ΔCOD (m**	**mgCOD/g**
	Αρχή Αναερόβιας	Τέλος Αναερόβιας		

			g/L)	rVSS/hr
26 Μαρτίου 2019	112	107.8	4.2	1.98
2 Απριλίου 2019	190.75	68	122.75	67.45

3.2.2 2η μέθοδος: FISH (Fluorescent In Situ Hybridization – Μέθοδος φθορίζουσας επί τόπου Υβριδοποίηδης)

Η μοριακή μέθοδος FISH στηρίζεται στη μοναδικότητα της αλληλουχίας των ολιγονουκλεοτιδίων στο ριβοσωμικό ριβονουκλεϊκό οξύ (16S rRNA) για ορισμένες ομάδες μικροοργανισμών, ορισμένα γένη, ή ακόμα και για συγκεκριμένα είδη (Amann R.I., 1990b). Επομένως, με αυτή την συνθήκη, καθίσταται εφικτή η αναγνώριση των μικροβιακών ομάδων σε περιβαλλοντικά δείγματα σύμφωνα με το γενότυπο αντί του φαινοτύπου του μικροοργανισμού. Στην όλη διαδικασία αναγνώρισης, απαραίτητα είναι τα μοριακά εργαλεία, αποκαλούμενα ως ιχνηλάτες τα οποία αποτελούνται από μία σύντομη μονή αλυσίδα ολιγονουκλεοτιδίου.

Ο ιχνηλάτης εισάγεται στο δείγμα και εισχωρεί στο εσωτερικό του κυττάρου για να υβριδοποιήσει τη συμπληρωματική της ακολουθία RNA. Στην άκρη του ιχνηλάτη, μετά την αλληλουχία των βάσεων, είναι προσκολλημένη μία φθοροφόρος ουσία, η οποία παράγει σήμα υπό φθορίζον φως, με αποτέλεσμα να βοηθά στην αναγνώριση των ριβονουκλεοτιδίων του μικροοργανισμού-στόχου. Όταν δεν υπάρχει η συμπληρωματική ακολουθία RNA , τότε δεν πραγματοποιείται η υβριδοποίηση και οι ιχνηλάτες απομακρύνονται στο στάδιο καθαρισμού. Παρακάτω παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της μεθόδου FISH.



Εικόνα 3.4: Διάγραμμα Ροής τη μεθόδου FISH (πηγή: προσωπικό αρχείο).

3.2.2.1 Πρωτόκολλο ανάλυσης FISH

Για τη μέθοδο απαιτείται η παρασκευή διαλύματος 4% w/v PFA/PBS. Το διάλυμα αυτό, παρασκευάζεται κάτω από τον απαγωγό προσθέτοντας 4 gr παραφορμαλδεΰδης (PFA) σε 80 mL υπερκάθαρου νερού και ταυτόχρονα θερμαίνεται στους 60°C για περίπου 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθενται 3 σταγόνες 1M NaCl για να καθαρίσει και αφήνεται να κρυώσει. Μετά, προστίθενται 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος (PBS) συγκέντρωσης 1 M (αραίωση 1/10 συγκεντρωμένου PBS 10M), μια μικρή ποσότητα 5M θειικού οξέος ωσότου το pH φτάσει 7.2 καθώς και ο απαραίτητος όγκος υπερκάθαρου νερού ώστε ο τελικός όγκος να είναι 100 mL. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C για λιγότερο από 24 ώρες ή στους 20°C.

Στη συνέχεια ακολουθεί, η σταθεροποίηση των δειγμάτων. Αρχικά, συλλέγονται δύο δείγματα όγκου 0.4 mL για Gram αρνητικούς μικροοργανισμούς και 0.6 mL για Gram θετικούς από κάθε καλλιέργεια και μεταφέρονται σε φιαλίδια των 1.5 mL. Για την επίτευξη του βέλτιστου φθορισμού, η σταθεροποίηση των Gram αρνητικών μικροοργανισμών πραγματοποιείται με την προσθήκη 0.8 mL διαλύματος παραφορμαλδεΰδης και ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος (4% w/v PFA/PBS), ενώ των Gram θετικών με 0.6 mL καθαρής αιθανόλης (98%). Τα δείγματα αποθηκεύονται στους 4°C για 4-16 ώρες. Στη συνέχεια, υπόκειντο σε φυγόκεντρη διαδικασία για 5-10 λεπτά και το υπερκείμενο αφαιρείται. Για την εκ νέου διάλυση των 93 δειγμάτων, προστίθεται 1.2 mL 1M PBS. Οι διαδικασίες της φυγόκεντρης αφαίρεσης υπερκειμένου επαναλαμβάνονται και πραγματοποιείται επιπλέον εκ νέου διάλυση σε 1.2 mL μείγματος αναλογίας 50%/50% κατ' όγκο 1M PBS/αιθανόλης. Το δείγμα φυλάσσεται στους -20°C έως 3 μήνες. Στη συνέχεια, το δείγμα αφήνεται να έρθει σε υγρή μορφή και αναταράσσεται για να ξανά διαλυθεί. Έπειτα, 10 μL του δείγματος τοποθετούνται σε μια θέση του μικροσκοπικού πλακιδίου και απλώνονται με την άκρη της πιπέτας σε όλη την επιφάνεια. Όταν συμπληρωθούν οι 12 θέσεις του πλακιδίου, τοποθετείται στον φούρνο στους 46°C μέχρι να στεγνώσουν τα δείγματα. Μετέπειτα, τα πλακίδια τοποθετούνται κάθετα σε ειδικό δοχείο (Coplin 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 λεπτά. Στη συνέχεια, τα πλακίδια μεταφέρονται διαδοχικά σε

δεύτερο και τρίτο δοχείο με διαλύματα αιθανόλης συγκέντρωσης 80% v/v και 98% v/v για 3 λεπτά στο καθένα και αφήνονται να στεγνώσουν.

Σε σκοτεινό μέρος πρέπει να παρασκευαστεί το διάλυμα υβριδοποίησης, το οποίο αποτελείται από 360 μL NaCl (5M), 40 μL Tris-HCl (1M) και από φορμαμίδιο αναλόγως τον ιχνηλάτη που θα χρησιμοποιηθεί. Τέλος, στο καπάκι του φιαλιδίου, προστίθενται 2 μL SDS (10% v/v) για την αποφυγή καθίζησης. Σε κάθε θέση του πλακιδίου, προστίθενται 8 μL διαλύματος υβριδοποίησης, 1 μL ιχνηλάτη και 1 μL 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI), αλλιώς παρασκευάζεται σε φιαλίδιο 500 μL, η ποσότητα που απαιτείται σύμφωνα με τον αριθμό των δειγμάτων και αναλογία 80%:10%:10% διάλυμα υβριδοποίησης/DAPI/ιχνηλάτης. Έπειτα, τα πλακάκια εισάγονται σε υγρό και σκοτεινό θάλαμο και αφήνονται για 2 ώρες στους 46°C.

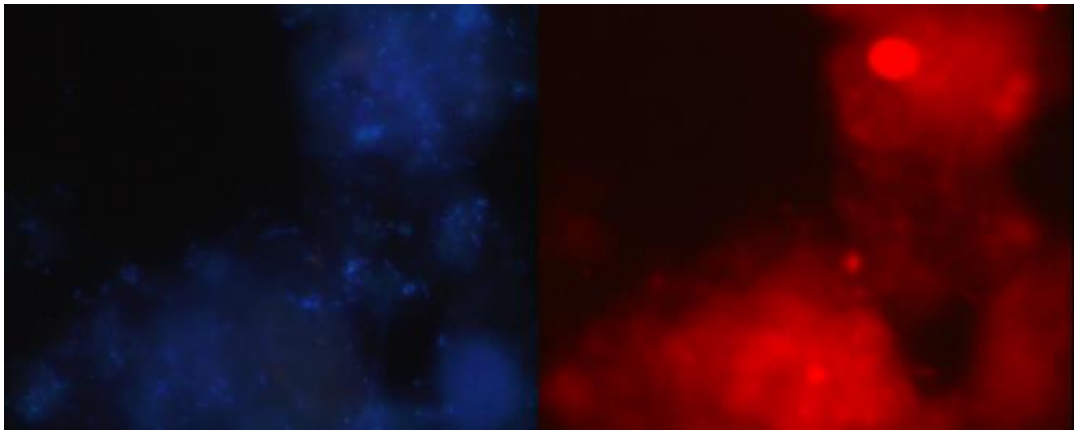
Στη συνέχεια, σε κωνοειδές φιαλίδιο 50 mL προστίθενται 1000 mL Tris-HCl (1M), NaCl και EDTA σύμφωνα με τη συγκέντρωση φορμαμιδίου όπου εισάχθηκε στο βήμα της υβριδοποίησης. Έπειτα, γίνεται προσθήκη υπερκάθαρου νερό μέχρι τα 50 mL. Τέλος, γίνεται προσθήκη 50 μL SDS (10%). Μετέπειτα, τα πλακίδια εκπλένονται μέσα σε σκοτεινό και θερμαινόμενο λουτρό για 20 λεπτά στους 48°C. Ακολουθεί, η έκπλυση με υπερκάθαρο νερό και αφήνονται να στεγνώσουν σε σκοτεινό μέρος. Για να αποθηκευτούν τα πλακίδια, αρχικά, γίνεται προσθήκη 2-3 σταγόνων αντι-αποχρωστικής ουσίας (Citifluor) και στη συνέχεια καλύπτονται με καλυπτρίδες σε χαμηλό φωτισμό και φυλάσσονται στους -20°C σε ειδικά δοχεία.

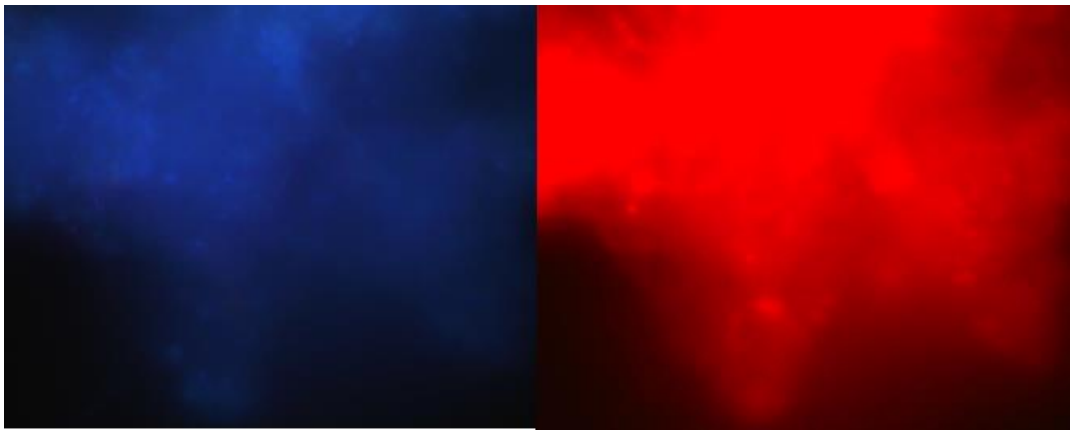
3.2.2.2 Παρατήρηση και Καταμέτρηση των δειγμάτων

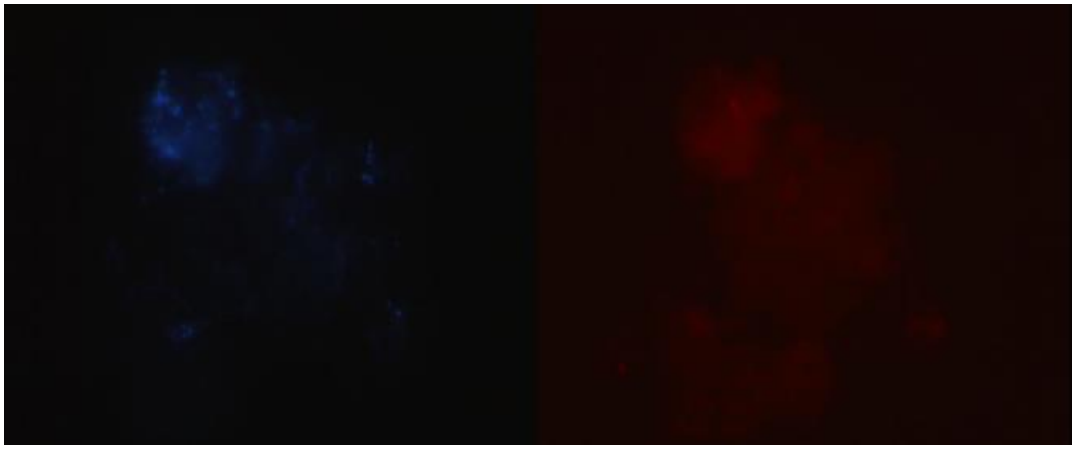
Τα πλακίδια παρατηρούνται στο μικροσκόπιο υπό φθορισμό με το κατάλληλο φίλτρο (Cy3 ή TexasRed), το οποίο είναι συμβατό με τη φθοροφόρο ουσία του ιχνηλάτη, για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων μικροοργανισμών στόχων και μετά με το φίλτρο DAPI για την εύρεση του συνόλου των μικροοργανισμών. Για κάθε δείγμα, λαμβάνονται 20 περίπου ζεύγη φωτογραφιών (Cy3-DAPI ή TexasRed-DAPI) και χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση του ποσοστού γένους ή κλάσης του ποσοστού των μικροοργανισμών με τη χρήση του προγράμματος Image-Pro.

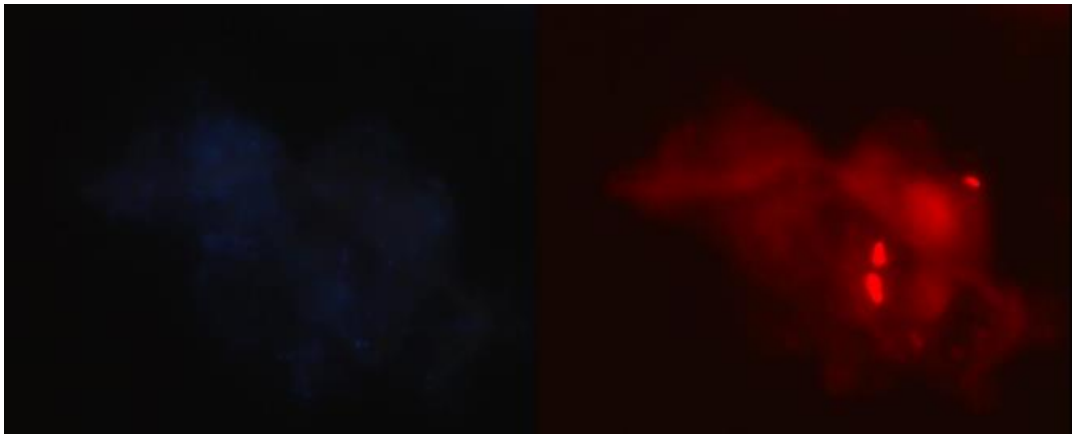
3.2.2.3 Ταυτοποίηση - Ανάλυση αποτελεσμάτων μεθόδου

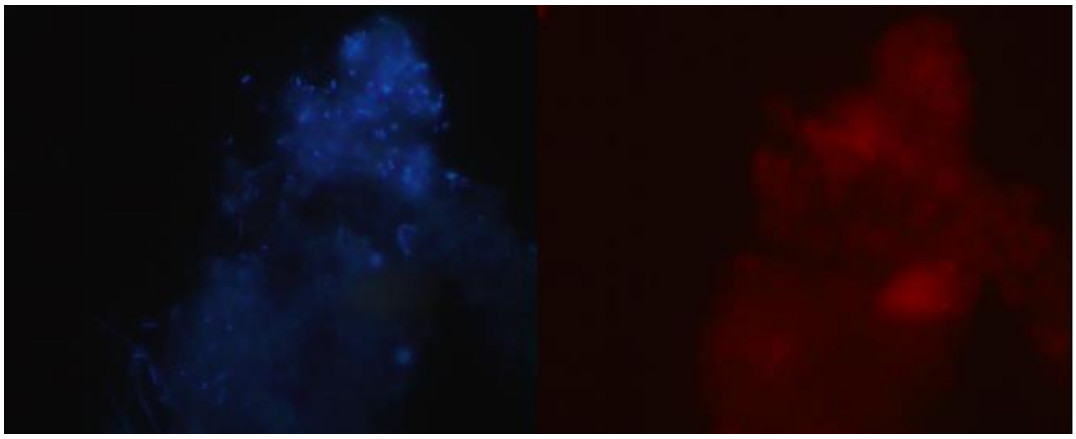
Στις 29 Ιουνίου 2019 πραγματοποιήθηκε ανάλυση FISH σε δείγμα από τον SBR για την εξακρίβωση της επικράτησης των GAOs καθώς για την αποτελεσματική διεξαγωγή συμπερασμάτων ήταν απαραίτητη η ύπαρξη μιας ισχυρά εμπλουτισμένης καλλιέργειας GAOs. Για τον προσδιορισμό των GAOS, χρησιμοποιήθηκαν οι ιχνηλάτες GAOMIX όπου περιλαμβάνουν ίσες ποσότητες ιχνηλατών GAOQ431 και GAOQ989 (Crocetti Gregory R., 2002), που στοχεύουν την ομάδα των Candidatus Competibacter phosphatis, η οποία αποτελεί την κυριότερη μορφή των οξικοτροφικών GAOs. Παρακάτω παρατίθενται οι φωτογραφίες που αντλήσαμε μέσω της μεθόδου FISH για την βιομάζα που μελετήθηκε.

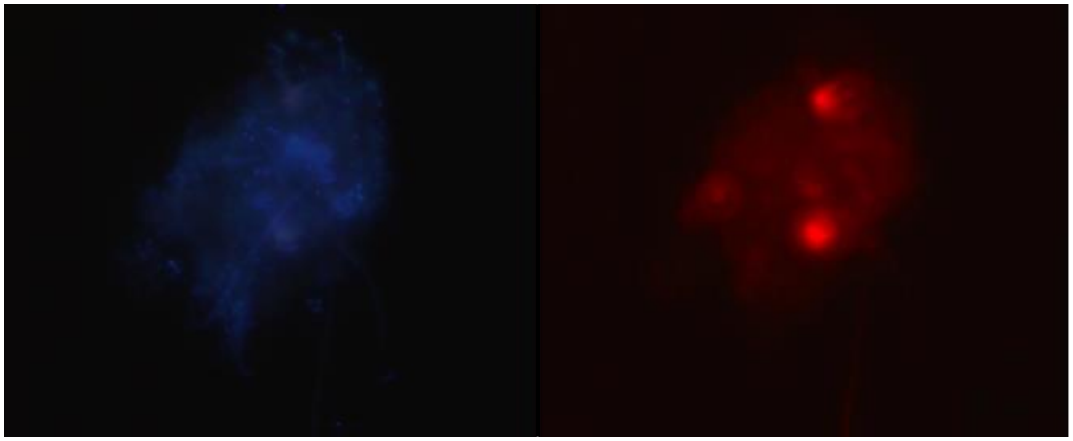


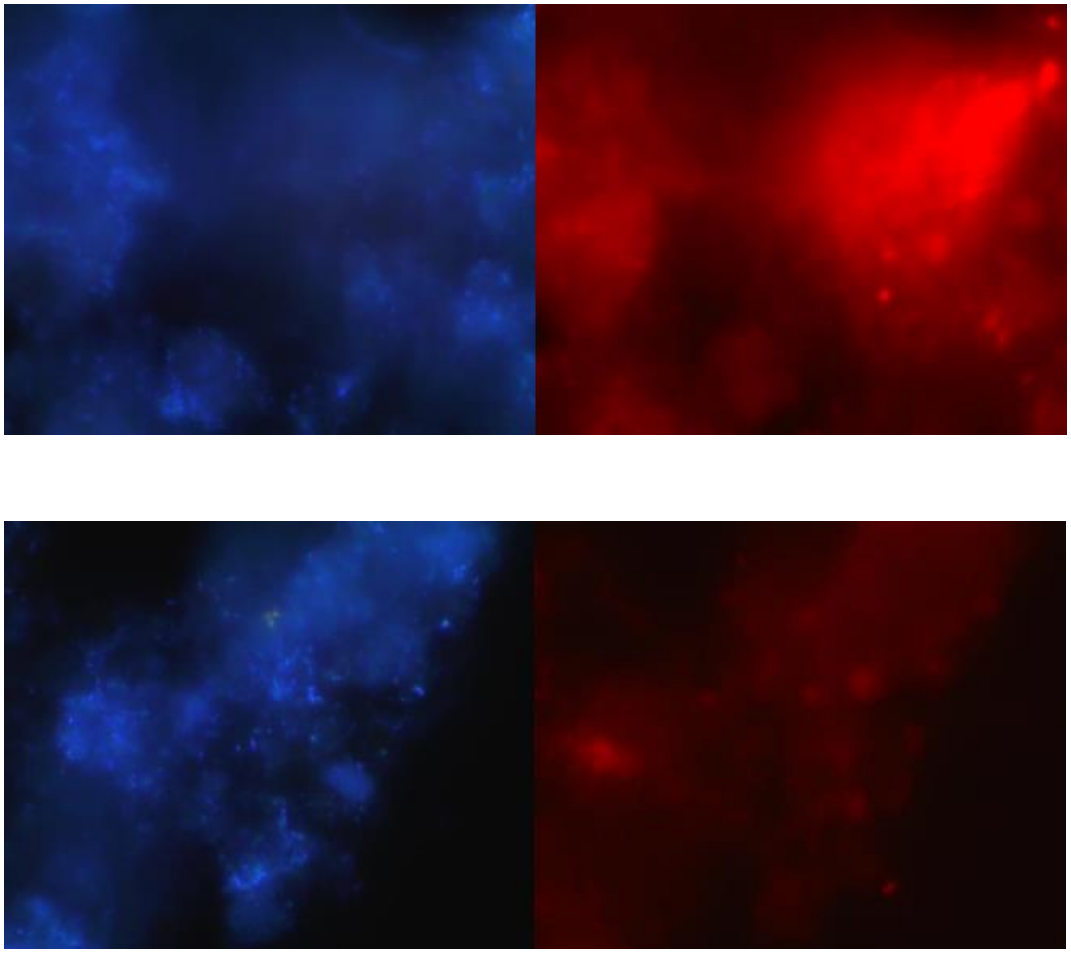












Εικόνα 3.5: Μικροοργανισμοί με βάση τη μέθοδο FISH. (Πηγή: προσωπικό αρχείο).

Συμπερασματικά, η ανάλυση των αποτελεσμάτων μέσω των φωτογραφιών αναδεικνύει το γεγονός ότι η βιομάζα είναι πλούσια σε GAOs, όπως παρατηρήθηκε και από την υψηλή αναερόβια κατανάλωση COD αλλά και την αμελητέα μεταβολή του φωσφόρου σε αναερόβιες και αερόβιες συνθήκες.

3.3 Διαδικασία πειραμάτων ασυνεχούς τροφοδοσίας (Batch)

Σε συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας, πραγματοποιήθηκαν batch πειράματα για την εξέταση της επίδρασης της συγκέντρωσης των νιτρωδών στην αναχαίτηση και την ανάπτυξη των βακτηριδίων συσσώρευσης γλυκογόνου, GAOs. Πραγματοποιήθηκαν τρία 24ωρα πειράματα με σταθερό pH 7 και τρία 24ωρα πειράματα με σταθερό pH 8. Ενδεικτικά παρουσιάζεται η διαδικασία εκτέλεσης του πρώτου πειράματος που εκτελέστηκε στις 10 Ιουλίου 2019.

Για την διεξαγωγή του πειράματος λήφθηκαν 100ml ανάμεικτου υγρού από τον αντιδραστήρα SBR, στο τέλος της καθίζησης. Το ανάμεικτο υγρό μεταφέρθηκε σε γυάλινο ογκομετρικό κύλινδρο, όγκου ίσο με 1L. Προστέθηκαν 60ml οξικού οξέος συγκέντρωσης 1000mg/L, 30ml NH_4-N συγκέντρωσης 10000mg/L, 10ml PO_4-P συγκέντρωσης 5000mg/L, 10ml Thiourea και 790ml νερό βρύσης. Χρησιμοποιήθηκαν 3 δοχεία για την βέλτιστη παρακολούθηση του πειράματος. Το πρώτο δοχείο ονομαζόμενο και ως Control δεν περιείχε καθόλου νιτρώδη ενώ τα δοχεία A,B περιείχαν 10ml NO_2 και 780ml νερού βρύσης, αντί των 790ml που είχε το Control, ώστε να αναφέρονται και τα 3 δοχεία σε τελικό όγκο πλήρωσης 1L. Για την διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας ίσης με 25 ^oC, τοποθετούνται παγοκύστες περιμετρικά των δειγμάτων, ενώ ταυτόχρονα υπόκεινται σε ανάμιξη με μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίησή τους. Τέλος, με πέτρες ενυδρείου, συνδεδεμένες μέσω σωληνάριων με την παροχή οξυγόνου, εξασφαλίζεται ο ομαλός αερισμός των δειγμάτων.

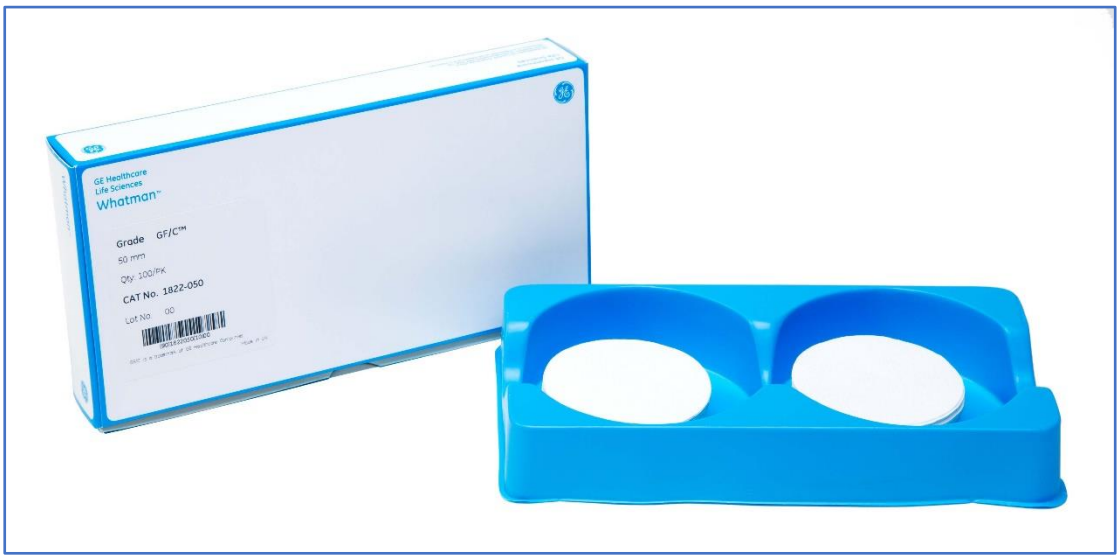
Εικόνα 3.6: Διάταξη Batch Πειραμάτων (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η μέθοδος των πειραμάτων περιλάμβανε την μέτρηση της συγκέντρωσης νιτρωδών και του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD; Chemical Oxygen Demand) στην αρχή και το τέλος κάθε 24ώρου. Επίσης, υλοποιούνταν περιοδική μέτρηση των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS), των πτητικών αιωρούμενων στερεών (VSS) καθώς και του OUR σε όλα τα δείγματα. Για την βέλτιστη παρακολούθηση του πειράματος, γινόταν περιοδική επανάληψη της διαδικασίας κάθε μία ώρα. Η έναρξη της διαδικασίας μεταξύ των τριών δειγμάτων είχε διαφορά φάσης 10 λεπτά ώστε να είναι εφικτή η εκτέλεση όλων των επιμέρους εργασιών καθώς και ο καθαρισμός των οργάνων μέτρησης.

3.3.1 Μέτρηση ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS) και πτητικών αιωρούμενων στερεών (VSS)

Ο προσδιορισμός των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών (TSS και VSS αντίστοιχα) γινόταν σύμφωνα με τη μέθοδο 2540 D του (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: 2540 D, Total Suspended Solids Dried at 103-105 0C, 2540 E, Fixed and Volatile Solids Dried at 550 0C , 2012).

TSS (Total Suspended Solids) είναι το ποσό των ολικών στερεών που συγκρατούνται από φίλτρο με πόρους διαμέτρου 1,2 μm. Τα TDS (Total Dissolved Solids) είναι το ποσό των στερεών που διέρχονται μέσα από φίλτρο με πόρους 2,0 μm ή και μικρότερους, ενώ τα TS (Total Solids) είναι το σύνολο των στερεών σε ένα δείγμα (διαλυτά και αιωρούμενα).



Εικόνα 3.7: Φίλτρα διήθησης Whatman GF/C διαμέτρου 1.2 μm (πηγή: scientificfilters.com).

Η διαδικασία περιλαμβάνει τα στάδια της διήθησης, της εξάτμισης, της καύσης, της ξήρανσης και της ζύγισης. Αρχικά το απαραίτητο πλήθος φίλτρων τοποθετείται με χρήση λαβίδας σε ένα κομμάτι αλουμινόχαρτο και μεταφέρεται στο φούρνο καύσης στερεών, σε θερμοκρασία 103-105 ^{o}C , όπου παραμένει για χρονικό διάστημα 60 λεπτών. Κατόπιν, τοποθετούνται στον ξηραντήρα ώστε να επανέλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι να χρησιμοποιηθούν. Αμέσως πριν τη διήθηση του δείγματος το προξηραμένο φίλτρο ζυγίζεται στον αναλυτικό ηλεκτρονικό ζυγό και η τιμή αυτή σημειώνεται ως $M_{φίλτρου}$.

Εικόνα 3.8: Φούρνος καύσης στερεών (διατήρηση θερμοκρασίας στους 103-105 oC), (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Εικόνα 3.9: Ξηραντήρας με κατάλληλο αφυγραντικό μέσο (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Εικόνα 3.10: Αναλυτικός Ηλεκτρονικός ζυγός (ακρίβεια ζύγισης 0,0001g), (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Έπειτα, το φίλτρο τοποθετείται στη συσκευή διήθησης, όπου με χρήση κενού αέρος διηθείται μέσω αυτού γνωστός όγκος δείγματος. Ο όγκος δείγματος που επιλέγεται να διηθηθεί εξαρτάται από την συγκέντρωση των αιωρούμενων στερεών στο δείγμα και πρέπει να είναι τέτοιος ώστε το ξηρό προϊόν να κυμαίνεται μεταξύ 2,5-200mg. Για τον προσδιορισμό των στερεών, επιλέχθηκε όγκος δείγματος ίσος με 15 mL, ο οποίος συλλεγόταν με αυτόματη πιπέτα. Ο όγκος δείγματος που διηθήθηκε καταγράφεται ως $V_{δείγματος}$.

Μετά τη διήθηση του δείγματος, αφαιρείται το φίλτρο από τη συσκευή διήθησης με τη βοήθεια λαβίδας, τοποθετείται προσεκτικά πάνω σε ένα κομμάτι αλουμινόχαρτου και μεταφέρεται στο πυριαντήριο θερμοκρασίας 103-105 ^{o}C. Το φίλτρο παραμένει στο πυριαντήριο για 60 λεπτά, αποφεύγοντας το άνοιγμα της πόρτας του κατά την ξήρανση.

Το φίλτρο αφαιρείται από το πυριαντήριο με τη χρήση λαβίδας και τοποθετείται στον ξηραντήρα για 10 λεπτά, ώστε να επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ζυγίζεται στον αναλυτικό ηλεκτρικό ζυγό και καταγράφεται η ένδειξή του ως M_{105}.

Για το προσδιορισμό των πτητικών αιωρούμενων στερεών, το ίδιο φίλτρο εισέρχεται στο στάδιο της καύσης και τοποθετείται στο φούρνο των 550°C για 15 λεπτά. Κατόπιν τοποθετείται στον ξηραντήρα μέχρι να κρυώσει και ζυγίζεται. Η τιμή αυτή σημειώνεται ως M_{550}.

Η συγκέντρωση των ολικών αιωρούμενων στερεών TSS αλλά και των πτητικών αιωρούμενων στερεών VSS, υπολογίζεται βάσει των ακόλουθων τύπων αντίστοιχα:

$$TSS\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{M_{105} - M_{φίλτρου}}{V_{δείγματος}} * 1000$$

$$VSS\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{M_{105} - M_{550}}{V_{\delta\varepsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}} * 1000$$

όπου: $M_{\varphi\acute{\iota}\lambda\tau\rho o\upsilon}$, M_{105}, M_{550} μετρούνται σε mg, $V_{\delta\varepsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}$ μετράται σε mL.

Εικόνα 3.11: Φούρνος καύσης στερεών (θερμοκρασίας 550 0C), (πηγή: προσωπικό αρχείο).

3.3.2 Μέτρηση νιτρώδους αζώτου (NO_2-N)

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των νιτρωδών υλοποιήθηκε στην αρχή και το τέλος κάθε 24ώρου πειράματος. Για τον προσδιορισμό των νιτρωδών, το δείγμα διηθείται και αραιώνεται, εάν απαιτείται. Από το δείγμα αυτό, λαμβάνονται 10 mL και προστίθενται σε κυψελίδα. Στη συνέχεια, προστίθεται το αντιδραστήριο σε μορφή σκόνης και ανακινείται καλά μέχρι να διαλυθεί πλήρως και παραμένει για 20 λεπτά εντός της κυψελίδας. Κατόπιν μετράται στο φασματοφωτόμετρο, αφού πρώτα γίνει μηδενισμός με απιονισμένο νερό. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι τα Nitriver 3 της εταιρείας HACH.

Εικόνα 3.12: Αντιδραστήρια Nitriver 3 της εταιρείας HACH (πηγή:www.hach.com).

Η τιμή που αποδίδεται από το φασματοφωτόμετρο είναι η συγκέντρωση του δείγματος σε (mg/L). Σε περίπτωση που γίνει αραίωση στο δείγμα, η τιμή εμφάνισης του φασματοφωτόμετρου πολλαπλασιάζεται με το συντελεστή της αραίωσης.

Εικόνα 3.13: Φασματοφωτόμετρο HACH DR 2800 (πηγή: προσωπικό αρχείο).

3.3.3 Μέτρηση διαλυτού Χημικώς Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD: Chemical Oxygen Demand)

Ως χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (COD) ορίζεται η ποσότητα οξυγόνου που απαιτείται για την πλήρη χημική οξείδωση της οργανικής ύλης σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Ο προσδιορισμός του χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου COD (Chemical Oxygen Demand) είναι μια μέτρηση του ισοδύναμου οξυγόνου αυτού του τμήματος της οργανικής ύλης σ' ένα δείγμα, που είναι επιδεκτικό σε οξείδωση από ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσο (Βλυσίδης, 2015). Η μέτρηση του διαλυτού COD πραγματοποιείται προκειμένου να προσδιοριστεί το οργανικό φορτίο των λυμάτων (βιοδιασπάσιμο και μη). Η διαδικασία αποτελείται από τη διάσπαση των οργανικών ενώσεων σε CO_2, H_2O, NH_4^{+1}, PO_4^{-3}, SO_4^{-3} και του διχρωμικού ανιόντος (Cr^{+6}) σε χρωμικό (Cr^{+3}). Προϋπόθεση για την ανωτέρω διεργασία είναι το όξινο περιβάλλον. Γι' αυτόν τον λόγο γίνεται προσθήκη 50% $H_2SO_4^-$ παρουσία καταλύτη Ag_2SO_4 και χώνευση σε θερμοκρασία 150 ^{O}C για δύο ώρες.

Για την εκτέλεση της μέτρησης ακολουθείται η μέθοδος 5220 D "Closed Reflux Colorimetric Method" του Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition, 2012. Το δείγμα αρχικά διηθείται και αραιώνεται καταλλήλως, ώστε η τελική συγκέντρωση του COD να είναι εντός των ορίων (15 – 150 mg/L) κατά των οποίων είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί μέτρηση με την συγκεκριμένη μέθοδο. Στη συνέχεια, προστίθενται 2ml στα αντιδραστήρια (εταιρείας HACH) για τον προσδιορισμό του διαλυτού COD και τοποθετούνται στην συσκευή χώνευσης (εταιρείας HACH) για δύο ώρες. Μετά το πέρας των δύο ωρών κι αφού τα φιαλίδια αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος, τοποθετούνται στο φασματοφωτόμετρο και προσδιορίζεται η συγκέντρωση του διαλυτού COD.

Εικόνα 3.14: Συσκευή χώνευσης (HACH).

Εικόνα 3.15: Αντιδραστήρια COD, εταιρείας HACH LCK314 (εύρος τιμών 15-150 mg/L).

3.3.4 Μέτρηση pH, θερμοκρασίας και διαλυμένου οξυγόνου (DO: Dissolved Oxygen)

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων batch, το pH διατηρούνταν συνεχώς σταθερό σε συγκεκριμένη τιμή. Επίσης, γινόταν καθημερινός έλεγχος της τιμής του pH στην εκροή του αντιδραστήρα. Για τον προσδιορισμό του pH και της θερμοκρασίας χρησιμοποιήθηκε φορητό pHμετρό pH 3110 της εταιρείας WTW. Για την ορθή μέτρηση του pH και της θερμοκρασίας, το διάλυμα βρισκόταν σε συνεχή ανάμειξη.

Εικόνα 3.16: pH 3110 (HACH) (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Ο προσδιορισμός του διαλυμένου οξυγόνου (DO) ήτανε απαραίτητος κατά τη διάρκεια των πειραμάτων OUR. Ο προσδιορισμός του DO πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του φορητού οξυγονόμετρου Multi 3510 IDS της εταιρείας WTW (Εικόνα 10.17), το οποίο δίνει και την τιμή της θερμοκρασίας. Για τη σωστή μέτρηση του διαλυμένου οξυγόνου, έπρεπε το διάλυμα να βρίσκεται σε συνεχή ανάμειξη.

Εικόνα 3.17: Οξυγονόμετρο Multi 3510 IDS της εταιρείας WTW (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Κεφάλαιο 4

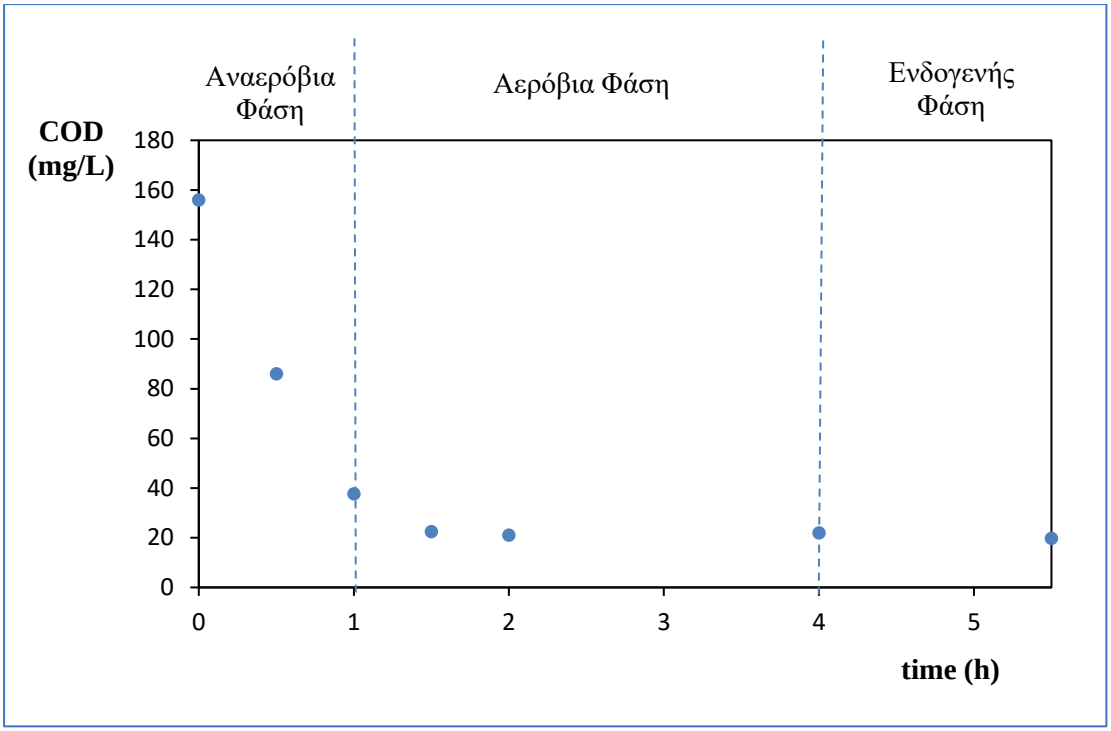
Αποτελέσματα και Ανάλυση πειραμάτων

4.1 Γενικά

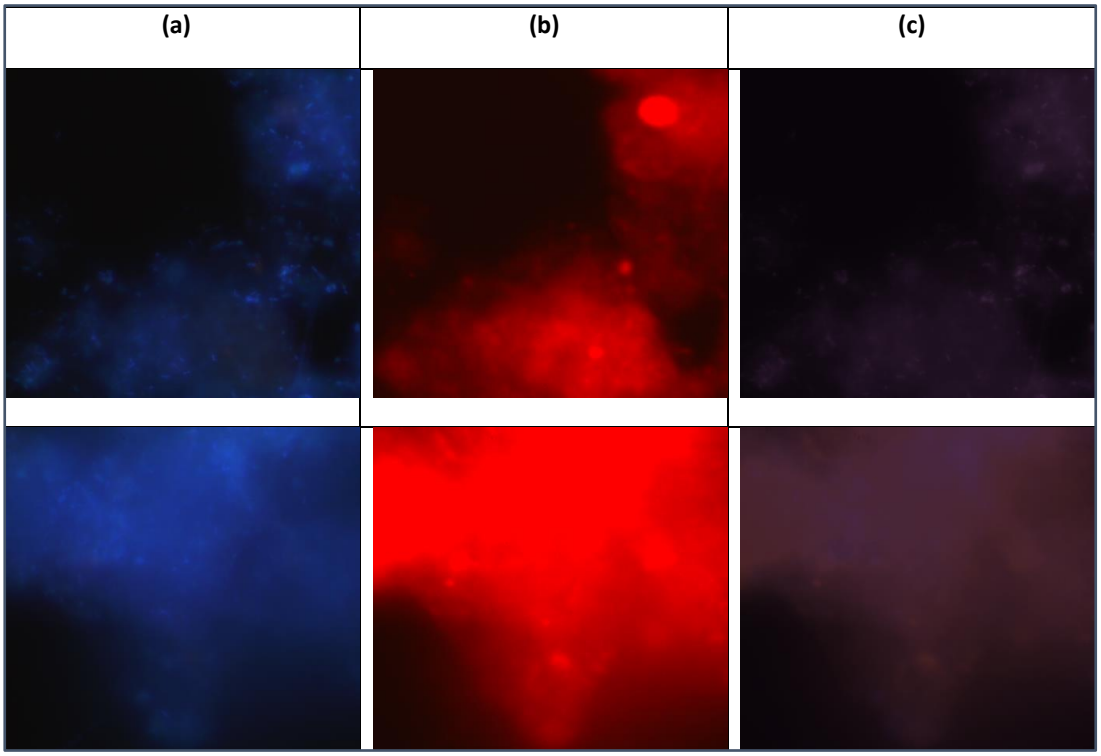
Πολλές φορές, οι λειτουργικές συνθήκες μια εγκατάστασης θέτουν τα πολυφωσφορικά βακτήρια σε μειονεκτική έναντι των κύριων ανταγωνιστών τους, των GAOS. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι μικροοργανισμοί αυτοί έχουν παρόμοιο μεταβολισμό με τα PAOs χωρίς όμως να έχουν τη δυνατότητα δέσμευσης του διαλυτού φωσφόρου οδηγώντας το σύστημα σε αστοχία. Επιπλέον, τα GAOs είναι σε γενικές γραμμές πιο ανθεκτικά από τα πολυφωσφορικά. Πολύ σημαντικός είναι επίσης και ο παράγοντας της τοξικότητας στην αναχαίτηση της δραστηριότητας των PAOs. Το νιτρώδες άζωτο και ιδιαίτερα η πρωτονιωμένη μορφή του, το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (FNA), έχει αρνητική επίδραση στο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών. Η βιομάζα μιας γραμμής επεξεργασίας στραγγιδίων έρχεται σε επαφή με ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας, με αποτέλεσμα οι μικροοργανισμοί να πρέπει να διεξάγουν όλες τις κυτταρικές λειτουργίες τους παρουσία της τοξικής δράσης του FNA (Free-Nitrous-Acid). Η επίδραση των νιτρωδών στο μεταβολισμό των πολυφωσφορικών βακτηρίων, έχει μελετηθεί σε παλαιότερες διπλωματικές εργασίες του τομέα Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ. Σε συνέχεια αυτών των εργασιών, για τον καθορισμό των βέλτιστων λειτουργικών συνθηκών μια εγκατάστασης που πραγματοποιεί βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων, σε αντιδραστήρες ασυνεχούς τροφοδοσίας (Batch), που μελετά την επίδραση των νιτρωδών στο μεταβολισμό των GAOs.

4.2 Συνθήκες και παράμετροι της πειραματικής διάταξης

Το σύστημα, που παρουσιάστηκε στο κεφάλαιο 3, ήταν πετυχημένο στο να αναπτύξει μία πάρα πολύ πλούσια καλλιέργεια σε GAOs. Το παραπάνω επιβεβαιώθηκε μέσω του COD (Σχήμα 4.1) το οποίο καταναλωνόταν σχεδόν όλο στην αναερόβια φάση (αφήνοντας διαθέσιμα προς οξείδωση κατά την αερόβια φάση περίπου 15 mg/L) αλλά και από το γεγονός ότι δεν καταναλώθηκε ούτε και απελευθερώθηκε φώσφορος κατά τη διάρκεια του αερισμού (κάτι το οποίο είναι ενδεικτικό της δραστηριότητας των PAOs). Επίσης, η ποσοτικοποίηση που έγινε με την FISH (Εικόνα 4.1), έδειξε ότι έχουμε έναν πληθυσμό GAOs μεγαλύτερο από το 90% του πληθυσμού. Κατά την λειτουργία του SBR, η θερμοκρασία διατηρήθηκε στους 20 ± 2°C ενώ το pH διακυμάνθηκε από 7.5 έως 8.2. Λόγω της καταστολής των AOB και NOB από τη θειουρία, οι συγκεντρώσεις των νιτρωδών στον SBR δεν ξεπέρασαν τα 0.5 mg NO_2-N/L, ενώ τα νιτρικά δεν ανιχνεύθηκαν. Συνεπώς τα πειράματα σχετικά με την επίδραση των νιτρωδών στη βιομάζα που αναπτύχθηκε στον SBR μπορούν να παρέχουν ακριβείς πληροφορίες για την επίδρασή τους στα GAOs.



Σχήμα 4.1: Τυπική μεταβολή του COD κατά τον πρώτο ημερήσιο κύκλο.



Εικόνα 4. 0.1: In situ προσδιορισμός των GAOs χρησιμοποιώντας Cy-3 GAOMIX. Με μπλε απεικονίζεται το σύνολο των μικροοργανισμών (στήλη a), με κόκκινο οι GAOs (στήλη b), με μωβ η σύνθεση των εικόνων (στήλη c).

4.3 Ανάλυση μεθοδολογίας με την χρήση ενδεικτικού πειράματος

Έχοντας αναπτύξει μια πλούσια καλλιέργεια σε GAOs, μια σειρά από πειράματα εκτελέστηκαν για να διερευνηθεί η επίδραση του FNA στην ανάπτυξη των GAOs.

Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά οι μετρήσεις από το πρώτο batch πείραμα το οποίο εκτελέστηκε για την συγκέντρωση των 40 mg NO_2-N στο pH του 7. Οι επιλεχθείσες και ταυτόχρονα επιθυμητές συγκεντρώσεις κάθε παραμέτρου στην αρχή του πειράματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1: Αρχικές συγκεντρώσεις των κύριων παραμέτρων σε κάθε περιέκτη.

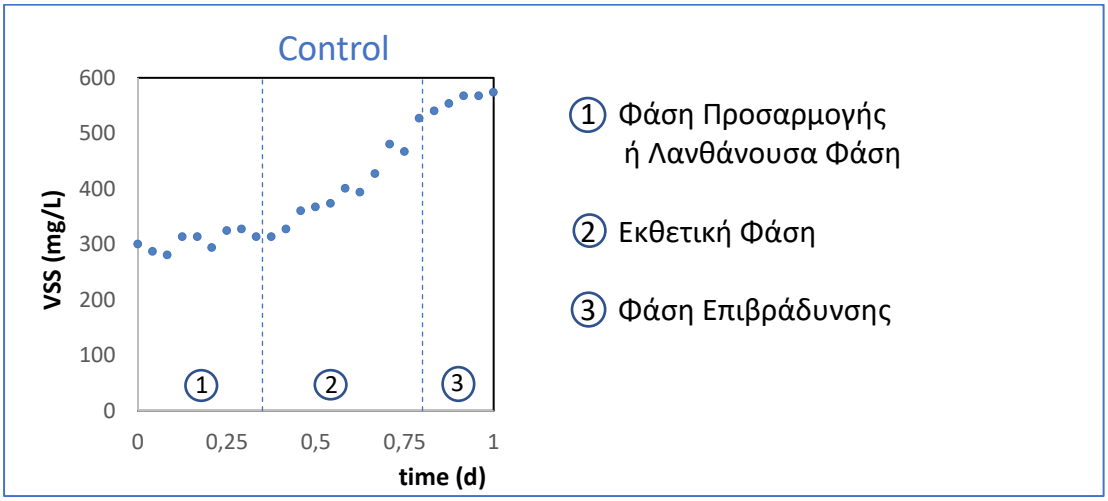
VSS (mg/L)	300
COD (mg/L)	3000
NH_4-N (mg/L)	300
PO_4-P (mg/L)	50

Η επιλογή υψηλής αναλογίας Τροφής: Μικροοργανισμούς = 10 σε συνδυασμό με την αφθονία θρεπτικών έγινε με σκοπό να παρέχει τις βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης. Με αυτή την οπτική, η αρχική συγκέντρωση του αμμωνίου επιλέχθηκε να είναι 10% του αρχικού COD και του φωσφόρου λίγο πάνω από το 1.5%, που θα αντιστοιχούσε στις τυπικές στοιχειομετρικές απαιτήσεις για μικροβιακή ανάπτυξη

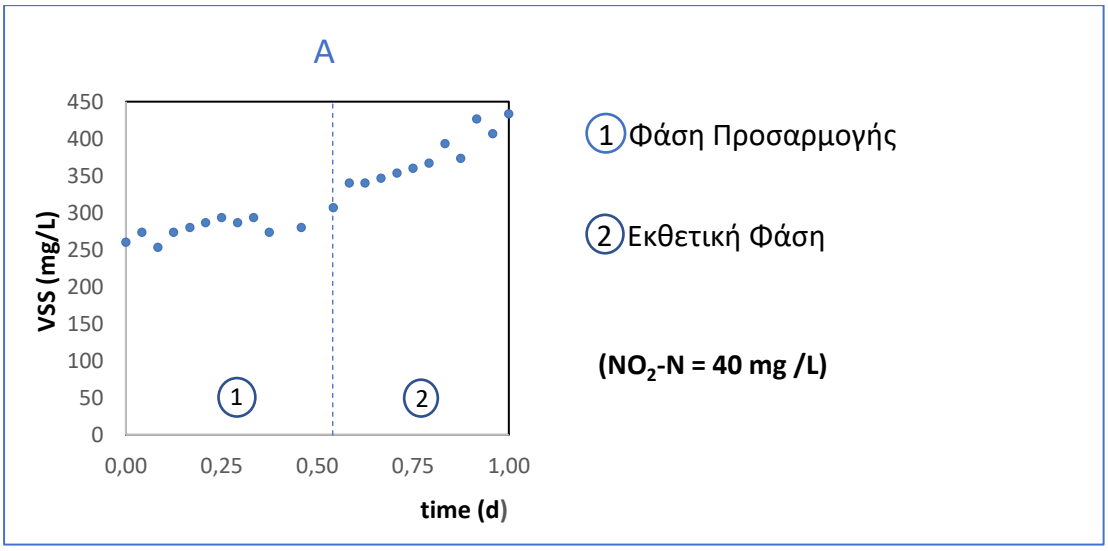
Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, σε κάθε πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 3 περιέκτες: Control, A και B. Στο Control δε γινόταν προσθήκη νιτρωδών και αποτελεί τον αντιδραστήρα αναφοράς βάσει του οποίου υπολογίζεται η ποσοστιαία αναχαίτηση. Στους A και B πραγματοποιούταν προσθήκη κατάλληλης ποσότητας νιτρωδών. Ουσιαστικά το πείραμα B αποτελεί την επανάληψη του A. Οι περιέκτες αερίζονταν για διάρκεια 26 ωρών, υπό σταθερό pH και θερμοκρασία (25°C). Γινόταν μέτρηση των VSS κάθε περιέκτη κάθε μία ώρα, ενώ ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβάνονταν δείγματα για την μέτρηση των νιτρωδών για να επαληθευτεί η σταθερή τους συγκέντρωση.

Συνολικά εκτελέστηκαν 4 πειράματα με συγκεντρώσεις νιτρωδών 20, 40, 60 και 120 mg NO_2-N/L σε pH 8 και 3 πειράματα με συγκεντρώσεις νιτρωδών 35, 70, 140 mg NO_2-N/L σε pH 8. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις του FNA συναρτήσει του pH και της θερμοκρασίας ήταν 4, 8.5, 13 και 27 μg HNO_2-N/L και 0.787, 1.574, 3.14 μg HNO_2-N/L . Σε κάθε πείραμα υπολογίστηκαν οι κλίσεις για την εξέλιξη της συγκέντρωσης VSS κατά την εκθετική φάση ανάπτυξης, προσδιορίζοντας τους καθαρούς ρυθμούς ανάπτυξης (μ-b) σε κάθε περιέκτη. Στη συνέχεια, γινόταν σύγκριση του ρυθμού ανάπτυξης του Control με κάθε ένα από τους άλλους δύο περιέκτες (A,B), καθορίζοντας έτσι ένα ποσοστό αναχαίτισης για κάθε συγκέντρωση νιτρωδών. Η μεθοδολογία για τον προσδιορισμό της αναχαίτισης της ανάπτυξης των GAOs λόγω των νιτρωδών αναλύεται παρακάτω με τη χρήση ενός ενδεικτικού πειράματος.

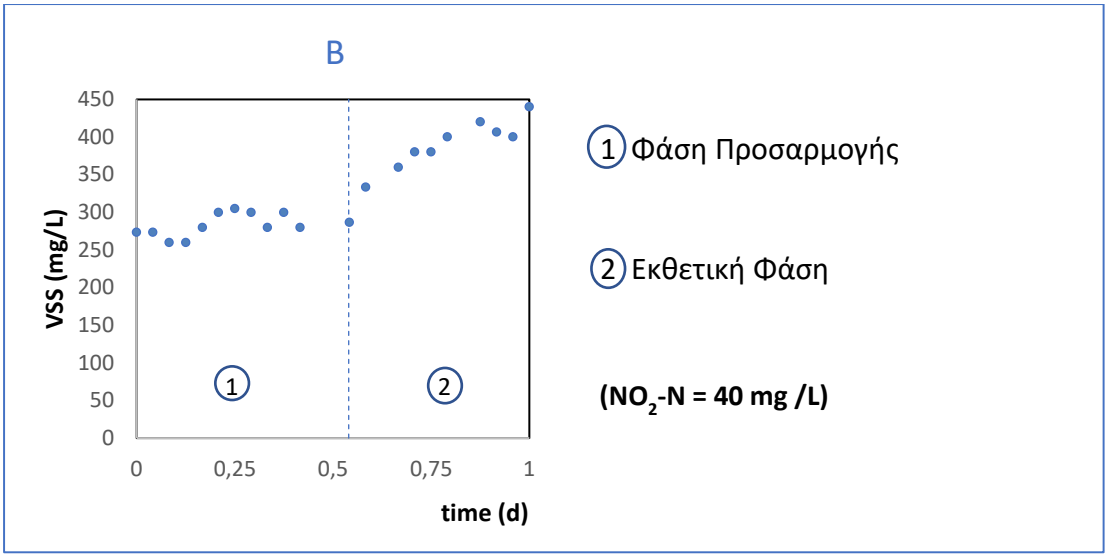
Τα Σχήματα 4.3 και 4.4 παρουσιάζουν τα αποτελέσματα που προέκυψαν για την ανάπτυξη των GAOs με συγκέντρωση νιτρωδών 40 mg/L. Πιο συγκεκριμένα, το Σχήμα 4.2 δείχνει την μεταβολή της συγκέντρωσης των VSS του Control κατά τη διάρκεια εκτέλεσης του πειράματος. Τις πρώτες 8-10 ώρες, πρακτικά δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη, αφού η βιομάζα εγκλιματιζόταν στις νέες συνθήκες (Λανθάνουσα Φάση). Στη συνέχεια, ακολούθησε εκθετική ανάπτυξη της βιομάζας (Εκθετική Φάση) και γενικά θα έφτανε σε ένα ανώτατο όριο κατά το τέλος του πειράματος (Φάση Επιβράδυνσης). Δεδομένου ότι στους περιέκτες A,B υπήρχε αναχαιτιστική ουσία, η ανάπτυξη της βιομάζας επιβραδύνθηκε, με αποτέλεσμα να μην προλάβει να φτάσει την Φάση Επιβράδυνσης μέχρι το τέλος του πειράματος.



Σχήμα 4.2: :Μεταβολή συγκέντρωσης VSS Control.



Σχήμα 4.3: Μεταβολή συγκέντρωσης VSS περιέκτη A παρουσία NO2-N=40mg/L.



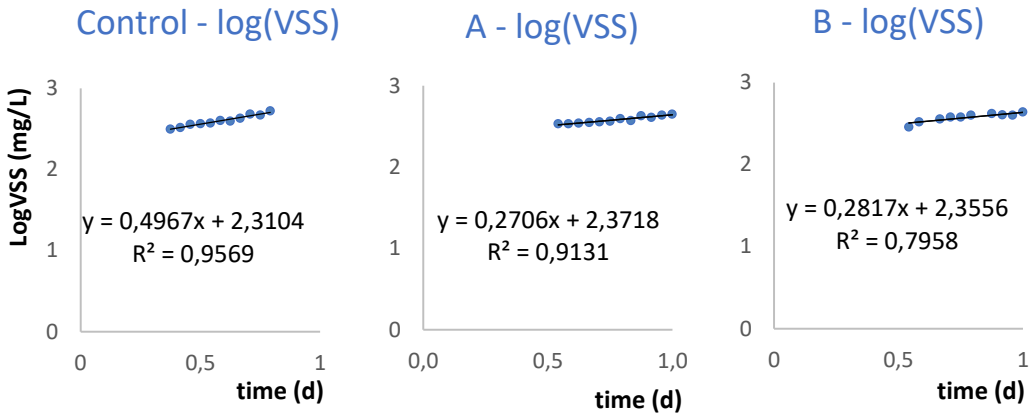
Σχήμα 4.4: Μεταβολή συγκέντρωσης VSS περιέκτη B παρουσία NO2-N=40mg/L.

Όπως είναι αναμενόμενο σε όλα τα συστήματα, παρατηρείται πως υπάρχει μία φάση προσαρμογής για όλα τα πειράματα, Control, A, B. Η χρονική περίοδος προσαρμογής για τον Control είναι από την αρχή του πειράματος έως την χρονική στιγμή t ≈ 0,35 d. Αντίστοιχα, για τα A και B αυτή η περίοδος διαρκεί περίπου μέχρι την χρονική στιγμή t ≈ 0,5.

Στη συνέχεια, υπάρχει η έναρξη της εκθετικής φάσης τις χρονικές περιόδους t ≈ 0,35 d έως t ≈ 0,8 d για το Control και t ≈ 0,54 d έως και το τέλος του πειράματος για τα A, B.

Στο Control κάποιος περιοριστικός παράγοντας αποτελεί την βασική αιτία έναρξης της μειωμένη φάσης ανάπτυξης από την χρονική στιγμή t ≈ 0,8 days έως το τέλος του πειράματος. Συχνά, η έλλειψη του απαραίτητου υποστρώματος για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών αποτελεί τον προαναφερθέντα περιοριστικό παράγοντα.

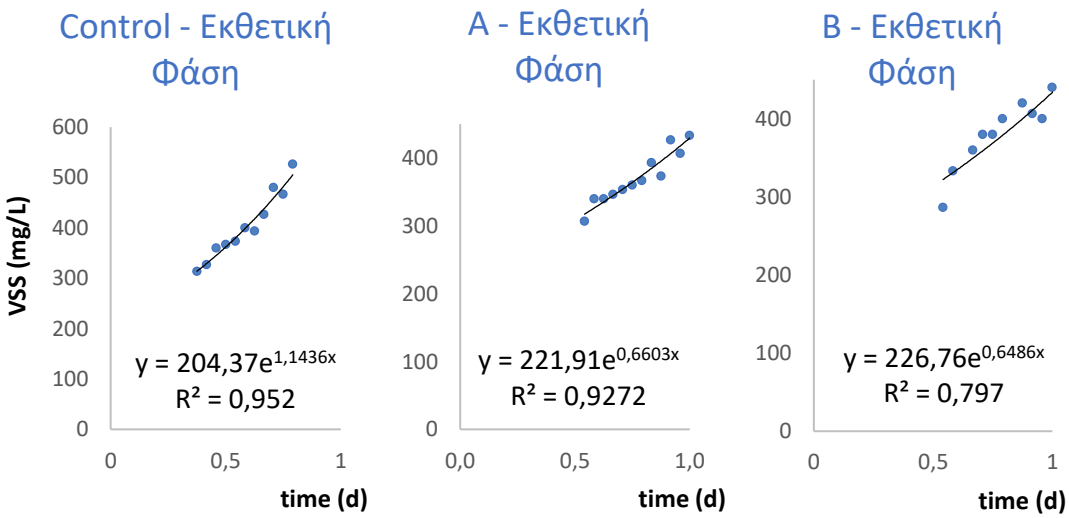
Επειδή καμιά φορά ήταν δύσκολο να παρατηρηθεί η εκθετική φάση, έγινε έλεγχος με την κατασκευή διαγράμματος Log(VSS) προς time. Το διάστημα όπου μεταβάλλεται γραμμικά ο λογάριθμος των VSS, είναι το διάστημα εκθετικής ανάπτυξης.



Σχήμα 4.5: Λογαριθμική μεταβολή VSS.

Η εκθετική φάση φαίνεται ξεκάθαρα να διαρκεί στο Control από την 0,38d έως την 0,8d. Αντίστοιχα, στα A και B φαίνεται να ξεκινάει την 0,54d, ενώ δεν παρατηρείται η ολοκλήρωση της εκθετικής φάσης στη διάρκεια του πειράματος.

Επίσης, παρατηρείται πως η εκθετική φάση ανάπτυξης των GAOs στα πειράματα A και B πραγματοποιείται σε μεταγενέστερο χρόνο και με μικρότερο ρυθμό από αυτή των GAOs στο Control. Η συγκεκριμένη παρατήρηση επιβεβαιώνει το γεγονός πως τα νιτρώδη, που τοποθετήθηκαν στα A και B, λειτουργούν ως αναχαιτιστικός παράγοντας στην ανάπτυξη των GAOs. Παρακάτω παρουσιάζεται λεπτομερώς η εκθετική φάση κάθε πειράματος καθώς και η εξίσωση που περιγράφει το καθένα.



Σχήμα 4.6: Προσδιορισμός καθαρών ρυθμών ανάπτυξης GAOs σε κάθε αντιδραστήρα.

Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών στην εκθετική φάση περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - bX$$

η οποία μετά από κατάλληλη ολοκλήρωση δίνει:

$$X = X_0 * e^{(\mu - b)*t}$$

Όπου:
X: η συγκέντρωση των GAOs τη χρονική στιγμή t (τα VSS- mg/L),

X_0: η αρχική συγκέντρωση των GAOs σε περίπτωση που γινόταν αμέσως η έναρξη της εκθετικής φάσης (τα VSS – mg/L),

μ: η ταχύτητα ανάπτυξης των GAOs (d^{-1})

b: η ταχύτητα φθοράς των GAOs (d^{-1})

Από τα διαγράμματα αντλούνται οι εξής πληροφορίες:

Πίνακας 4.2: Καθαρές ταχύτητες ανάπτυξης (μ-b) ενδεικτικού πειράματος.

	(μ - b) (d^{-1})
Control	1,1436
A	0,6603
B	0,6486

Average (A , B)	0,6545

Η ταχύτητα ανάπτυξης μ περιγράφεται από την εξίσωση Monod:

$$\mu = \mu_{max} \frac{F}{K_F + F} \frac{DO}{K_{DO} + DO} \frac{NH}{K_{NH} + NH} \frac{P}{K_P + P} \dots\dots\dots\dots$$

Οι τελίτσες αντιπροσωπεύουν κλάσματα – «διακόπτες» άλλων απαραίτητων ιχνοστοιχείων. Στην περίπτωση του Control, μπορεί να θεωρηθεί ότι το μ που παρατηρούμε είναι το μmax (για την δεδομένη θερμοκρασία και pH) καθώς η τροφή και τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία είναι σε μεγάλη περίσσεια.

Παρουσία αναχαιτιστικής ουσίας όπως το FNA, η ταχύτητα ανάπτυξης θα είναι:

$$\mu = \mu_{max} \frac{F}{K_F + F} \frac{DO}{K_{DO} + DO} \frac{NH}{K_{NH} + NH} \frac{P}{K_P + P} \dots\dots\dots\dots * (1 - Αναχ_{FNA})$$

$Αναχ_{FNA}$: Η αναχαίτιση που προκαλεί μια δεδομένη συγκέντρωση FNA στα GAOS.

Για μέση ανάπτυξη των A,B: $\mu\text{-}b_{(A,B)}$=0,6545 d^{-1} :

$$Αναχ_{FNA} = \frac{(\mu - b)_C - (\mu - b)_{A,B}}{(\mu - b)_C} * 100\% = 42{,}7\%$$

Κατά την αρχή και το τέλος των πειραμάτων μετρήθηκε το COD και τα NO_2, τα οποία καταναλώθηκαν σε όλα τα δοχεία όπως φαίνεται στους πίνακες 4.3 και 4.4.

Πίνακας 4.3: Συγκεντρώσεις νιτρωδών στην αρχή και το τέλος ενδεικτικού πειράματος.

NO_2-N	Control (mg/L)	A (mg/L)	B (mg/L)
Αρχή πειράματος	0,176	39,2	39
Τέλος πειράματος	0,044	39,4	38

Δεδομένου ότι διατηρείται πρακτικά σταθερή η συγκέντρωση των νιτρωδών στα A, B κατά τη διάρκεια του πειράματος, υπολογίστηκε η συγκέντρωση του FNA κάνοντας χρήση της εξίσωσης που προτάθηκε από τους (Anthonisen et al., 1976):

$$[HNO_2 - N] = \frac{[NO_2^- - N]}{10^{PH} * exp(-\frac{2300}{273 + T})}$$

Για συγκέντρωση νιτρωδών περίπου ίση με 40mg/L, pH=7 και θερμοκρασία ίση με 25°C προέκυψε η συγκέντρωση FNA ίση με 8.5 mg HNO_2-N/L

Πίνακας 4.4: Μετρήσεις συγκεντρώσεων COD ενδεικτικού πειράματος.

COD	Control (mg/L)	A (mg/L)	B (mg/L)
Αρχή πειράματος	2444	2336	2338
Τέλος πειράματος	1314	1836	1840
ΔCOD	1130	500	498
		499	

Κάνοντας έναν δεύτερο έλεγχο για την αναχαίτιση των GAOs μέσω της χημικής απαίτησης οξυγόνου υπολογίζεται:

$$Αναχ'_{FNA} = (1 - \frac{\Delta COD_C - \Delta COD_{A,B}}{\Delta COD_C}) * 100\% = 44{,}2\%$$

Από το συνολικό ΔCOD που υπολογίστηκε στον πίνακα 4.4 ότι έχει καταναλωθεί, ένα μέρος του έχει καταναλωθεί για τις ενεργειακές απαιτήσεις των μικροοργανισμών, το οποίο πρακτικά είναι η κατανάλωση οξυγόνου όπως αυτή

υπολογίζεται από το ολοκλήρωμα των καμπυλών στα: Σχήμα 4.7 , Σχήμα 4.8 και Σχήμα 4,9. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η φθορά των μικροοργανισμών είναι αμελητέα, το υπόλοιπο COD έχει καταναλωθεί για σύνθεση νέου κυτταρικού υλικού, το οποίο ταυτίζεται με τη μεταβολή των VSS στο σύνολο του πειράματος.

Πίνακας 4.5: Καταμερισμός ΔCOD για τις ανάγκες των μικροοργανισμών.

(mg/L)	Control	A	B
ΔCOD(πίνακα 4.4)	1130	500	498
$\int \boldsymbol{Oxygen\ uptake}$ ≈ΔCOD$_{ενεργ.}$	808	316.2	346.96
ΔVSS ≈ΔCOD$_{σύνθεση}$	273	173	167

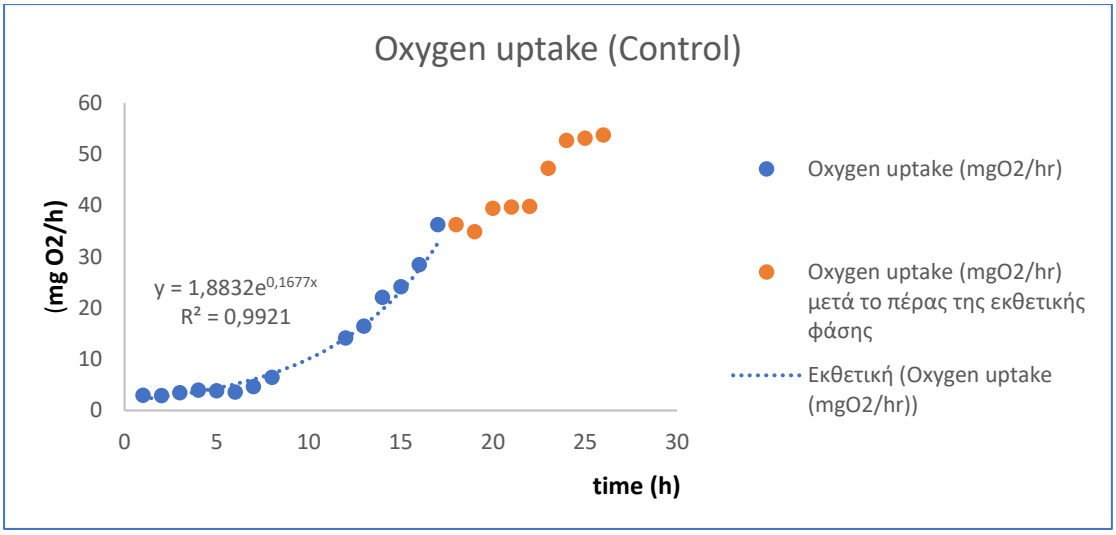
Εμβαθύνοντας στη συμπεριφορά των A, B που περιέχουν την αναχαιτιστική ουσία, ο συντελεστής απόδοσης ετεροτροφικής βιομάζας Y_H εκφράζει τη μάζα που σχηματίζεται από την κατανάλωση συγκεκριμένης ποσότητας εύκολα βιοδιασπάσιμης οργανικής ύλης. Οι μονάδες μέτρησης του συντελεστή είναι gr δημιουργούμενου κυττάρου COD / gr οξειδωμένου COD. Στο παρόν πείραμα, ο συντελεστής μετατροπής βιομάζας υπολογίζεται ως εξής:

$$Y_{A,B} = \frac{\Delta COD_{(A,B)(\pi\acute{\iota}\nu\alpha\kappa\alpha\ 4.4)} - Average\ Oxygen\ Uptake_{(A,B)(\pi\acute{\iota}\nu\alpha\kappa\alpha\ 4.5)}}{\Delta COD_{(\pi\acute{\iota}\nu\alpha\kappa\alpha\ 4.4)}} = 33{,}5\%$$

Στη βιβλιογραφία οι συνήθεις τιμές του Y κυμαίνονται μεταξύ 50% ÷ 70%. Στο παρόν πείραμα η μικρή τιμή του Y μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι παρουσία αναχαιτιστικής ουσίας, η ενέργεια που απαιτείται για την ανάγκη της σύνθεσης είναι περισσότερη.

Σε αντιστοιχία με την ανάπτυξη των GAOs, στα παρακάτω σχήματα παρουσιάζεται η ζήτηση οξυγόνου κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Εξετάζοντας πιο προσεκτικά τα αποτελέσματα της απαίτησης οξυγόνου και πιο συγκεκριμένα την εξίσωση που περιγράφει κάθε πείραμα, τα στοιχεία του πίνακα 4.5 προκύπτουν από τα παρακάτω:

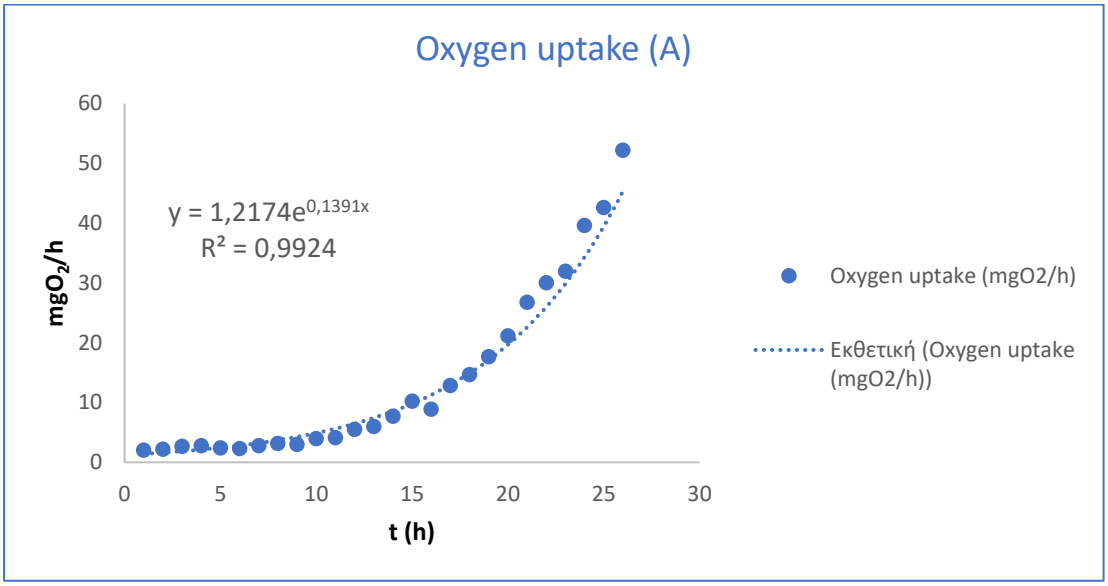


Σχήμα 4.7: Oxygen uptake (Control) ενδεικτικού πειράματος.

Όπου το ολοκλήρωμα της καμπύλης προκύπτει:

$$\int_{0}^{17} 1{,}8832e^{0{,}1677t}dt + \int_{17}^{26} f(t)dt = 183 + 625 = 808\, mg\ O_2$$

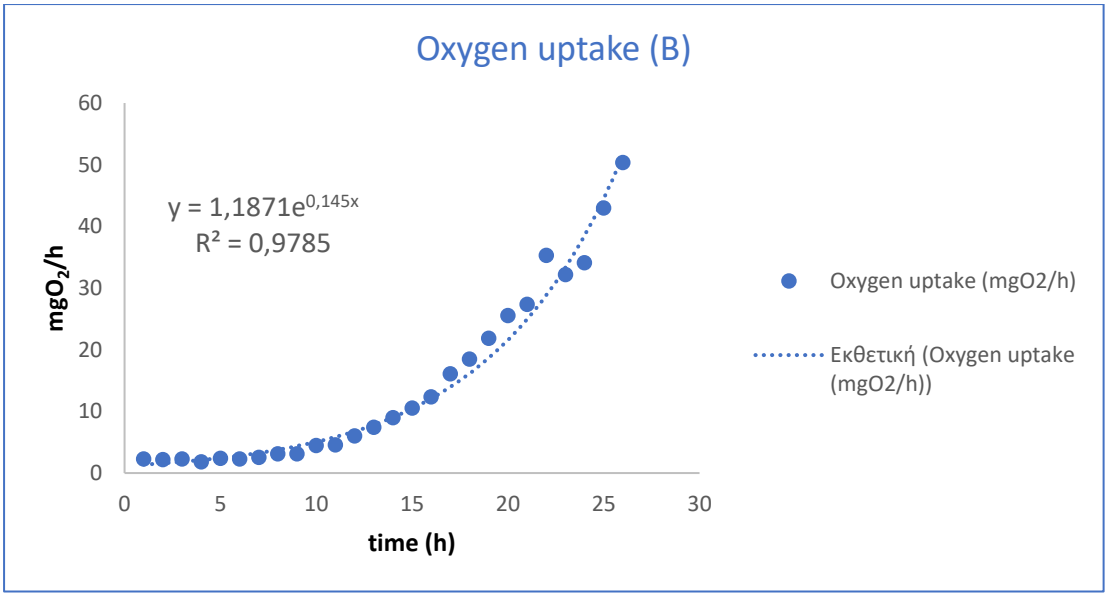
Το ΔCOD_C=1130 mg/L (από την αρχή μέχρι το τέλος του πειράματος)



Σχήμα 4.8: Oxygen uptake (A) ενδεικτικού πειράματος.

$$\int_{0}^{26} 1.2174e^{0.1391t}dt = 316.2\, mg\ O_2$$

Το ΔCOD_A μέσω της μέτρησης COD, προκύπτει 500 mg/L



Σχήμα 4.9: Oxygen uptake (B) ενδεικτικού πειράματος.

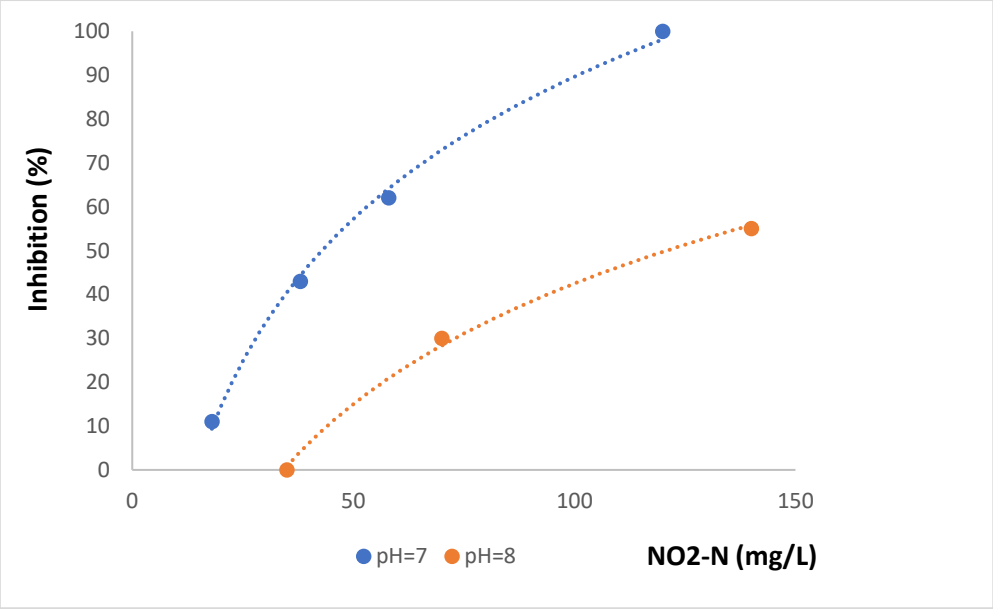
$$\int_0^{26} 1.1871e^{0.145t}dt = 346.961mg\ O_2$$

Το ΔCOD_B= 498 mg/L

Εν κατακλείδι, για σταθερή συγκέντρωση νιτρωδών, υπολογίστηκε το FNA= 8.5 μg HNO_2-N/L κατά τη διάρκεια του πειράματος, το οποίο οδηγεί σε 43% αναχαίτιση της ανάπτυξης των GAOs.

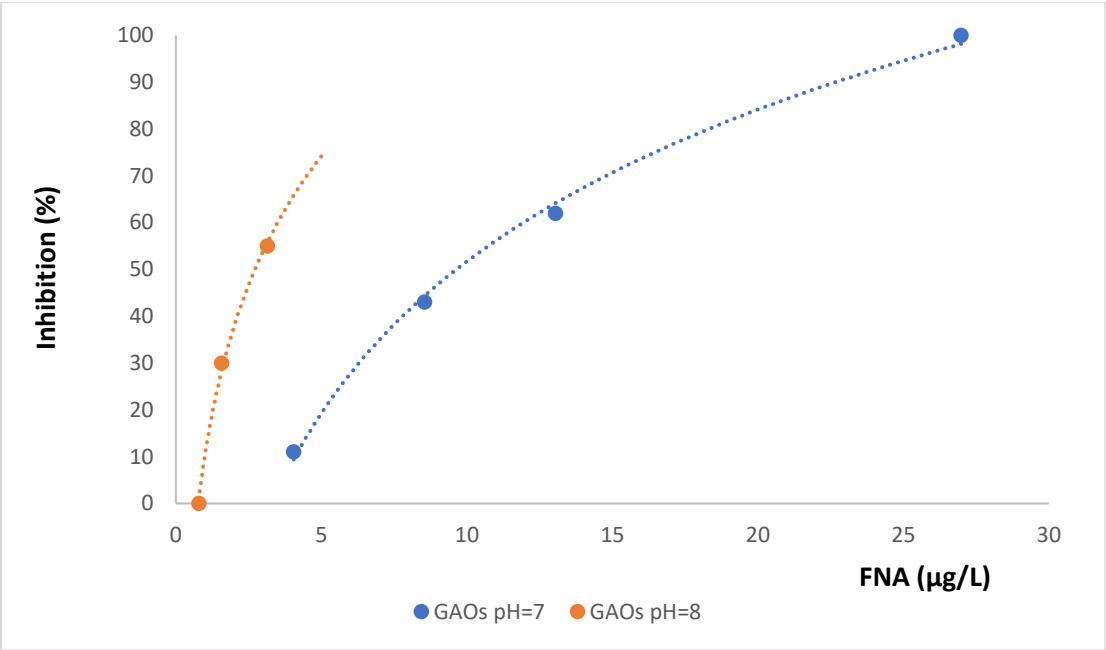
4.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της σειράς πειραμάτων

Στο σχήμα 4.10 γίνεται συγκεντρωτική παρουσίαση της επίδρασης των νιτρωδών σε κάθε ένα από τα πειράματα που εκτελέστηκαν σε pH 7 και pH 8. Όπως είναι αναμενόμενο παρατηρείται πως στο pH του 7 για δεδομένη συγκέντρωση νιτρωδών έχουμε μεγαλύτερη αναχαίτιση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι στο pH του 7 είναι πιο πολύ το FNA, συγκεκριμένα στο pH του 7 είναι δεκαπλάσιο απ' ότι στο pH του 8. Επομένως προκαλείται μεγαλύτερη αναχαίτιση στην ανάπτυξη των GAOs.



Σχήμα 4.10: : Σύγκριση της επίδρασης των νιτρωδών στην ανάπτυξη των GAOs, σε pH=7 και pH=8.

Ανάγοντας σε FNA προκύπτει το Σχήμα 4.11 με τις ποσότητες που υπολογίστηκαν παραπάνω. Φαίνεται ότι παρόλο που έχει αναχθεί ως προς το FNA, υπάρχει διαφορετική επίδραση σε διαφορετικά pH.



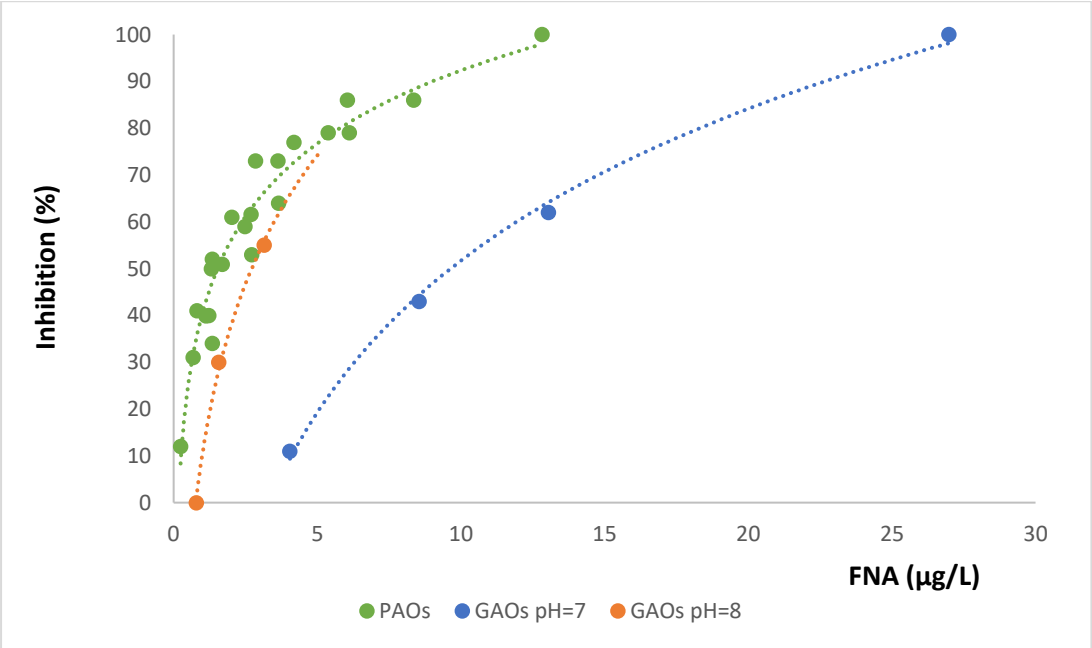
Σχήμα 4.11: : Σύγκριση της επίδρασης του FNA στην ανάπτυξη των GAOs σε pH=7 και pH=8.

Το σχήμα 4.11 παρουσιάζει την επίδραση του FNA στα PAOs, όπως έχει διερευνηθεί από προηγούμενες μελέτες (Andreadakis et al., 2021) και των GAOs όπως υπολογίστηκε στην παρούσα έρευνα. Αρκετά ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση πως η αύξηση του pH από το 7 στο 8 προκάλεσε μεγαλύτερη αναχαίτιση στην ανάπτυξη των GAOs. Παρόμοια εξάρτηση της επίδρασης του FNA από το pH έχει επίσης αναφερθεί από τους Stein et al., (1998) για τη δραστηριότητα των AOB. Οι ερευνητές παρέχουν πειραματικά στοιχεία που τονίζουν ότι παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων νιτρωδών η επίδραση στην οξείδωση της αμμωνίας αυξάνεται σταδιακά με την αύξηση του pH από το 7 στο 8, καταλήγοντας έτσι στο συμπέρασμα ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ νιτρωδών και pH θα πρέπει να είναι πιο περίπλοκες από αυτές που περιγράφονται με την παραδοσιακή χημεία των νιτρωδών. Επίσης σημαντική παρατήρηση στα πειράματα που διεξήχθησαν ήταν πως ο μέγιστος καθαρή ταχύτητα ανάπτυξης (μ-b) που μετρήθηκε στο Control τόσο στο pH 7 όσο και στο 8 ήταν σχεδόν πανομοιότυπος (1.13 ± 0.02 d^{-1} σε pH 7 και 1.1 ± 0.06 d^{-1} σε pH 8), γεγονός που αποδεικνύει ότι η επίδραση του pH απουσία νιτρωδών είναι πρακτικά ελάχιστη.

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα αποδεικνύεται ότι για pH=7, μια συγκέντρωση FNA περίπου ίση με 10 μg/L HNO_2-N/L προκαλεί 50% αναχαίτιση στην ανάπτυξη των GAOs, ενώ για συγκέντρωση FNA ίση με περίπου 27 μg/L HNO_2-N/L αναχαιτίζεται πλήρως η ανάπτυξη των GAOs. Παρόμοιες συγκεντρώσεις έχουν αναφερθεί και από τους Ganda et al., (2016), οι οποίοι παρατήρησαν αναχαίτιση 50% και 100% όταν οι συγκεντρώσεις του FNA ήταν 10 μg HNO_2-N/L και 25 μg HNO_2-N/L, αντίστοιχα. Επίσης, αναφέρουν ότι ο ρυθμός πρόσληψης του οξικού από τα GAOs μειώθηκε κατά 50% σε συγκέντρωση FNA 7.5 μg/L HNO_2-N/L , και έφτασε το 70% για συγκέντρωση FNA έως 80 μg/L HNO_2-N/L. Η μελέτη των Ganda et al., 2016 πραγματοποιήθηκε για διάφορες τιμές pH μεταξύ 6.5 και 8 με το FNA των πειραμάτων στο pH 8 είναι <1.8 μg/L HNO_2-N/L και διεξήχθη χωρίς να έχουν πραγματοποιηθεί δοκιμές ελέγχου σε κάθε τιμή που εξετάστηκε. Οι Ye et al.,

(2010) αναφέρουν αναχαίτιση 50% και 100% σε συγκεντρώσεις FNA 1.5 μg HNO_2-N/L και 7.1 μg HNO_2-N/L, αντίστοιχα. Ακόμη, στην υψηλότερη συγκέντρωση FNA παρατήρησαν ότι η παραγωγή γλυκογόνου μειώθηκε κατά 40%, ενώ η κατανάλωση PHA αναστάλθηκε κατά 50%. Παρόμοια με την προαναφερθείσα έρευνα, οι Ye et al., 2010 πραγματοποίησαν τα πειράματά τους σε τιμές pH 6.5-8 αλλά τα πειράματα στο pH 8 διεξήχθησαν με χαμηλή συγκέντρωση FNA. Πιο συγκεκριμένα στο pH 8 παρατήρησαν αναχαίτιση της τάξεως του 60% σε συγκέντρωση FNA 1.88 μg HNO_2-N/L, η οποία είναι πολύ κοντά στην τιμή της παρούσας μελέτης όταν το FNA = 3 μg HNO_2-N/L. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολούθησαν οι παραπάνω συγγραφείς, ήταν διαφορετικό από αυτό της παρούσας μελέτης. Στην παρούσα, γίνεται άμεση μέτρηση του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης για τον προσδιορισμό της επίδρασης του FNA, ενώ στις παραπάνω προσδιορίστηκε έμμεσα μέσω της κατανάλωσης του $NH4^+$-N από τη βιομάζα.

Το Σχήμα 4.12 αναδεικνύει επίσης την αυξημένη ανθεκτικότητα των GAOs στο FNA σε σύγκριση με τα PAOs, τουλάχιστον για το pH 7. Για παράδειγμα στο PH 7, όταν η συγκέντρωση FNA είναι 4 μg HNO_2-N/L βρέθηκε να αναστέλλει τα GAOs λίγο περισσότερο από 10% και τα PAOs περίπου 75%. Συνεπώς, η παρουσία FNA μπορεί να επηρεάσει έντονα τον ανταγωνισμό μεταξύ των GAOs και των PAOs, δίνοντας ανταγωνιστικό πλεονέκτημα υπέρ των GAOs. Αυτό μπορεί να μην ισχύει όταν το pH αυξάνεται σε τιμές γύρω από το 8, καθώς φαίνεται πως τόσο τα PAOs όσο και τα GAOs επηρεάζονται σε παρόμοιο βαθμό από την παρουσία FNA. Επομένως, αναμένεται ότι ο έλεγχος του pH σε ένα σύστημα EBPR επεξεργασίας λυμάτων με χαμηλό λόγο C/N (συνήθως στην επεξεργασία στραγγιδίων) μπορεί να είναι μία ωφέλιμη στρατηγική έναντι του ανταγωνισμού των PAOs – GAOs.



Σχήμα 4.12: Σύγκριση της επίδραση του FNA στην αερόβια PUR των PAOS και στην ανάπτυξη των GAOs.

4.6 Πειραματική αξιολόγηση της επίδρασης του FA στη δραστηριότητα των GAOs.

Δεδομένου ότι η αρχική συγκέντρωση αμμωνίας σε κάθε περιέκτη ήταν 300 mg NH_4^+-N/L, οι αρχικές συγκεντρώσεις FA μπορούσαν να υπολογιστούν 1.63 mg NH_3-N/L σε pH 7 και 16.13 mg NH_3-N/L σε pH 8. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων προέκυψε η καθαρή ταχύτητα ανάπτυξης (στο Control, απουσία νιτρωδών) ίση με 1.13 ± 0.02 d^{-1} σε pH 7 και 1.1 ± 0.06 d^{-1} σε pH 8. Η παραπάνω παρατήρηση υποδηλώνει ότι η επίδραση του FA στην ανάπτυξη των GAOs είναι αμελητέα καθώς παρατηρείται παρόμοια ταχύτητα ανάπτυξης υπό την συγκέντρωση των 16.13 mg NH_3-N/L με αυτή των 1.63 mg NH_3-N/L, δηλαδή σχεδόν του 1/10 αυτής. Συγκεντρώσεις FA αυτής της εμβέλειας έχουν βρεθεί να αναστέλλουν τα PAOs περισσότερο από 50%. Συμπερασματικά, η παρουσία FA μπορεί να επηρεάσει έντονα τον ανταγωνισμό PAOs – GAOs υπέρ των GAOs. Το τελευταίο, υποστηρίζεται επίσης από τα πειραματικά αποτελέσματα των Zheng et al. (2013), οι οποίοι ανέφεραν ότι συγκεντρώσεις FA της τάξεως των 18 mg NH_3-N/L μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τις ισορροπίες ενός συστήματος EBPR, δίνοντας πλεονέκτημα στους GAOs.

Πίνακας 4.6: Συγκριτική παρουσίαση των καθαρών ρυθμών ανάπτυξης των GAO υπό τη συγκέντρωση FA 1,7 mg NH_3-N (pH=7) και κάτω από τη συγκέντρωση FA 16,1 mg NH_3-N (pH=8).

	pH 7	pH 8
FA	1.63 mg NH_3-N/L	16.13 mg NH_3-N/L
(μ-b)Control	1.13 ± 0.02 (d-1)	1.1 ± 0.06 (d-1)

Κεφάλαιο 5

Συμπεράσματα

Τα κύρια συμπεράσματα της παρούσας εργασίας μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

- Η παρουσία νιτρωδών αναχαιτίζει την ανάπτυξη των οξικοτροφικών GAOs με τον βαθμό αναχαίτισης να αυξάνεται λογαριθμικά με την συγκέντρωση των νιτρωδών για δεδομένο pH.
- Η αναχαίτιση των GAOs από το νιτρώδες άζωτο φαίνεται πιο ισχυρή σε χαμηλότερα pH, υποδεικνύοντας ότι η πρωτονιωμένη μορφή του FNA ενδέχεται να είναι ο πραγματικός αναχαιτιστικός παράγοντας, του οποίου η αναχαιτιστική δράση είναι γνωστή σε άλλους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, η σύγκριση του βαθμού αναχαίτισης με την συγκέντρωση του FNA έδειξε ότι τα GAOs αναχαιτίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό από το FNA σε υψηλά pH.
- Στο pH του 8, τα οξικοτροφικά GAOs φέρονται να αναχαιτίζονται από το FNA σε παρόμοιο βαθμό με αυτόν που έχει παρατηρηθεί για τα PAOs σε προηγούμενες μελέτες, ενώ στο pH του 7 εμφανίζουν σημαντικά μεγαλύτερη ανθεκτικότητα. Επομένως, η διατήρηση του pH σε υψηλές τιμές θα μπορούσε να δώσει πλεονέκτημα στα PAOs απέναντι στα GAOs.
- Η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας, που πλέον είναι γνωστή αναχαιτιστική ουσία για τα PAOs, φαίνεται πως δεν επηρεάζει τα GAOs σε υπολογίσιμο βαθμό έως και την συγκέντρωση των 16 mg N/L (συγκέντρωση που έχει βρεθεί να αναχαιτίζει τα PAOs πάνω από 50%). Δεδομένου ότι το ποσοστό του αμμωνιακού αζώτου στην μορφή του FA αυξάνεται με το pH, η στρατηγική ρύθμισης του pH σε υψηλές τιμές, σύμφωνα με την προηγούμενη παρατήρηση, ενδέχεται να μην είναι αποτελεσματική για συστήματα υψηλής φόρτισης αζώτου.
- Καθώς τα οξικοτροφικά GAOs φαίνεται να ευνοούνται σε σχέση με τα PAOs από τις συνθήκες ενός τυπικού συστήματος επεξεργασίας που βασίζεται στις διεργασίες νιτρωδοποίησης/απονιτρωδοποίησης, η επιλογή του οξικού οξέος ως πηγή άνθρακα για την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου ενδέχεται να μην είναι αποτελεσματική. Κατά προέκταση, κρίνεται σκόπιμη η διερεύνηση της επίδρασης του FNA και του FA σε άλλες ομάδες των GAOs, η οποία δεν κατέστη εφικτή στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Αναφορές

Adrian Oehmen, M. T. (2005, September). The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Research*, σσ. 3727-3737.

Ahn et al. (2001). Metabolic behavior of denitrifying phosphate accumulating organisms under nitrate and nitrite electron acceptor conditions. *Journal of Bioscience an Bioengineering*, σσ. 442-446.

Amann R.I., L. K. (1990b, February 2). Fluorescent-oligonucleotide probing of. *Journal of Bacteriology*, σσ. 762-770.

Andreadakis et al. (2021, 11 1). Inhibition of free nitrous acid and free ammonia on polyphosphate accumulating organisms: Evidence of insufficient phosphorus removal through nitritation-denitritation. *Journal of Environmental Management*.

Anthonisen et al. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, σσ. 835-852.

Argyropoulou, K. (2018). Επίδραση της αναχαιτιστικής δράσης των νιτρωδών στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. *NTUA*.

Barnard J. L. (1993, July 12-14). Prefermentation in biological nutrient removal plants. *National Conference on Environmental Engineering*, σσ. 1767-1774.

Burow et al., L. (2007). Abundance and ecophysiology of Defluviicoccus spp., glycogen accumulating organisms in full scale wastewater treatment processes. *Microbiology-SGM*, σσ. 178-185.

Canizates et al. (1999). Effect of wastewater composition on the development of an activated sludge biological phosphorus removal system. *Environmental Technology*, σσ. 159-169.

Carrera et al. (2001). Effect of different operational parameters in the enhanced biological phsphorus removal process. Experimental design and results. *Environmental Technology*, σσ. 1439-1446.

Chuang et al. (1996). Kinetic competition between phosphorus release and denitrification on sludge under anoxic condition. *Water Research*, σσ. 2961-2968.

Coats et al. (2011). Effect of Anaerobic HRT on Biological Phosphorus Removal and the Enrichment of Phosphorus Accumulating Organisms.

Crocetti et al., G. R. (2002, 1 1). Glycogen accumulating organisms in laboratory scale and full scale wastewater treatment processes. *Microbiology*, σσ. 353-3364.

Crocetti Gregory R., J. F. (2002, November). Glycogen-accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes. *PubMed*, σσ. 3353-3364.

Dai, Y. e. (2007). Anaerobic metabolism of Defluviicoccus vanus related glycogen accumulating organisms (GAOs) with acetate and propionate as carbon sources. *Water Research*, σσ. 1885-1896.

Filipe, C. D. (2001). Effects of pH on the rates pf aerobic metabolism of phosphate-accumulating and glycogen-accumulating organisms. *Water Environment Research*, σσ. 213-222.

Fragkiskatos, G. (2018). Διερεύνηση της επίδρασης του νιτρώδους αζώτου στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε σύστημα επεξεργασίας στραγγιδίων μέσω νιτρωδών. *NTUA*.

Ganda et al. (2016, 3 1). Free nitrous acid inhibition on carbon storage microorganisms: Accumulated inhibitory effects and recoverability. *Chemical Engineering Journal*, σσ. 285-291.

Gray, N. F. (April 8, 2004). *Biology Of Wastewater Treatment (Second Edition).* Imperial College Press.

Hu et al. (2003a). A new method for characterizing denitrifying phosphorus removal bacteria by using three different types of electron acceptors. *Water Research*, σσ. 3463-3471.

Jansen et al. (2002). Biological Phosphorus Removal. Manual for design and operation. *Foundation for Applied Water Research*.

Keene, N. e. (2017, December 15). Pilot plant demonstration of stable and efficient high rate biological nutrient removal with low dissolved oxygen conditions. *Water Research*, σσ. 72-85.

Lee et al. (2001). Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Research*, σσ. 3968-3976.

Levantesi, C. (2002, 10 1). Analysis of the microbial community structure and function of a laboratory scale enhanced biological phosphorus removal reactor. *Environmental Microbiology*, σσ. 559-569.

Li et al. (2008). Effects of Solide Retention Time (SRT) on SLudge Characteristics in Enhanced Biological Phosphorus REmoval (EBPR) Reactor. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, σσ. 453-458.

Liu, W. T. (2001). In situ identification of polyphosphate-and polyhydroxyalkanoate-accumulating traits for microbial populations in a biological phosphorus removal process. *Environmental Microbiology*, σσ. 110-122.

Lopez-Vazquez et al. (2009b). Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *Water Research*, σσ. 2852-2864.

Lopez-Vazquez et al., C. (2007). Short-term temperature effects on the anaerobic metabolism of glycogen accumulating organisms. *Biotechnology and bioengineering*, σσ. 483-495.

Lopez-Vazquez et al., C. M. (2009a). Modeling the PAO-GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature. *Water Research*, σσ. 450-462.

Matsuo. (1994). Effect of the anaerobic solids retention time on enhanced biological phosphorus removal. *Water Science and Technology*, σσ. 193-202.

Meinhold J., A. E. (1999b). Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge. *Water Research*, σσ. 1871-1883.

Merzouki et al. (2001). Biological denitrifying phosphorus removal in SBR: effect of added nitrate concentration and sludge retention time. *Water Science and Technology*, σσ. 191-194.

Meyer et al., R. S. (2006, 2 1). Putative glycogen-accumulating organisms belonging to the Alphaproteobacteria identified through rRNA-based stable isotope probing. *Microbiology*, σσ. 419-429.

Mino, T. M. (1998). Microbiology and biochemistry of the enchanced biological phosphate removal process. *Water Research 32.11*, σσ. 3193-3201.

Mónica Carvalheira et al., A. O. (2014, December 1). The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Research*, σσ. 296-307.

Nguyen et al., H. (2011). High diversity and abundance of putative polyphosphate-accumulatin Tetraspaera-related bacteria in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Ecology*, σσ. 256-267.

Nittami T et al. (2009). Candidatus Monilibacter spp., common bulking filaments in activated sludge, are members of Cluster III Defluviicoccus. *Systematic and Applied Microbiology*, σσ. 480-489.

Oehmen, A. (2004). Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulaing organisms. *Water Science and Technology*, σσ. 139-144.

Oehmen, A. (2007). Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale. *Water Reasearch 41.11*, σσ. 2271-2300.

Oehmen, A. e. (2005, 7 20). Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulatting organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnology and Bioengineering*, σσ. 162-168.

Oehmen, A. e. (2006). Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. *Journal of Biotechnology*, σσ. 22-32.

Oehmen, A. e. (2010). Incorporating microbial ecology into the metabolc modelling of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulatin organissms. *Water Reasearch 44.17*, σσ. 4992-5004.

Ong et al., Y. H. (2014). High-temperature EBPR process: The performance, analysis of PAOs and GAOs and the fine-scaale population study of Candidatus "Accumulibacter phosphatis". *Water Research*, σσ. 102-112.

Panswad et al. (2003). Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Research*, σσ. 409-415.

Panswad, T. A. (2003). Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Research*, σσ. 409-415.

Parnian Izadi, P. I. (2021, February). Understanding microbial shift of Enhanced Biological Phosphorus Removal process (EBPR) under different Dissolved Oxygen (DO) concentrations and Hydraulic Retention Time (HRTs). *Biochemical Engineering Journal*.

Philips et al. (2002). Origin, causes and effects of increased nitrite concetrations in aquatic environment. *Reviews in environmental science and biotechnology*, σσ. 115-141.

Pijuan et al. (2010). Free nitrous acid inhibition on the aerobic metabolism of poly-phosphate accumulating organisms. *Water Research*, σσ. 6063-6072.

Pijuan et al. (2004, 1 5). Enhanced Biological Phosphorus Removal in a Sequencing Bath Reactor Using Propionate as the Sole Carbon Source. *Biotechnology and Bioengineering*, σσ. 56-67.

Pijuan et al. (2009). Polyhydroxyalkanoate synthesis using different carbon sources by two enhanced biological phosphorus removal microbial communities. *Process Biochemistry*, σσ. 97-105.

R.J., M. S. (2009). Elucidating further phylogenetic diversity among the Defluviicoccus-related glycogen-accumulating organisms in activated sludge. *Environmental Microbiology Reports*, σσ. 563-568.

Rodrigo et al. (1999). The effect of the sludge age on the deterioration of the enhanced biological hosphorus removal. *Environmental Technology*, σσ. 1055-1063.

Saito T. et al., B. D. (2004). Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Research*, σσ. 3760-3768.

Satoh H., e. a. (1996). Anaerobic substrate yptake by the enhanced biological phosphorus removal activated sludge treating real sewage. *Water Science and Technology*, σσ. 9-16.

Saunders et al., A. (2003). The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (anhanced biological phosphorus removal) plants. *Water Science and Technology*, σσ. 37-43.

Seviour et al. (1999). *The Microbiology of Activated Sludge.* Netherlands: Dordrecht : Springer.

Shen Nan et al. (2016). Enhanced biological phosphorus removal with different carbon sources. *Applied microbiology and biotechnology*, σσ. 4733-4745.

Shen, N. Y. (2016). Enhanced biological phosphorus removal with different carbon sources. *Applied microbiology and biotechnology 100.11*, σσ. 4735-4745.

Sin et al. (2008). Nitrite effect on the phosphorus uptake accumulating organisms (PAOs) in pilot scale SBR and MBR reactors. *Water SA*, σσ. 249-260.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: 2540 D, Total Suspended Solids Dried at 103-105 0C, 2540 E, Fixed and Volatile Solids Dried at 550 0C . (2012). *22nd Edition*.

Stein et al. (1998). Loss of ammonia monooxygenase activity in Nitrosomonas europaea upon exposure to nitrite. *Applied Environmental Microbiology*, σσ. 4098-4102.

Tian et al. (2013). Occurrence of PAOI in a low temperature EBPR system. *Chemosphere*, σσ. 1314-1320.

Wang et al, Y. (2010). The long-term effect of carbon source on the competition between polyphosphorus accumulating organisms and glycogen accumulating organism in a continuous plug-flow anaerobic/aerobic (A/O) process. *Bioresource technology*, σσ. 98-104.

Wang Xiaolian et al. (2008). The denitrification capability of cluster 1 Defluviicoccus vanus-related glycogen-accumulating organisms. *Biotechnology and bioengineering*, σσ. 1329-1336.

Welles, L. (2015). *Enhanced Biological Phosphorus Reemoval: Metabolic Insights and Salinity Effects.* Nederlands: CRC Press/Balkema.

Whang et al. (2006). Competition between polyphosphate-and glycogen-accumulating organisms in enhanced-biological-phosphorus-removal systems: effect of temperature and sludge age. *Water Environment Research*, σσ. 4-11.

Ye et al. (2013). The effect of free nitrous acid on key anaerobic processes in enhanced biological phosphorus removal systems. *Bioresource technology*, σσ. 382-389.

Ye et al., L. M. (2010). The effect of free nitrous acid on the anabolic and catabolic processes of glycogen accumulating organisms. *Water Research*, σσ. 2901-2909.

Yoon et al. (2004, 10 15). Comparison of ilot scale performances between membrane bioreactor and hybrid conventional wastewater treatment systems. *Journal of Membrane Science*, σσ. 5-12.

Zeng et al., R. J. (2003, 1 5). Metabolic Model for Glycogen-Accumulating Organisms in Anaerobic/Aerobic Activated Sludge Systems. *Biotechnology and Bioengineering*, σσ. 92-105.

Zeng et al., W. (2017b). Population of "Candidatus Accumulibacter phosphatis" under the modes of complete nitrification and partial nitrification (nitritation) in domestic wastewater treatment system. *Biochemical engineering journal*, σσ. 69-77.

Zheng et al. (2014). Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR) - a mini review. *Process Biochemistry*, σσ. 2207-2213.

Zhou et al. (2012). Response of poly-phosphate accumulating organisms to free nitrous acid inhibition under anoxic and aerobic conditions. *Bioresource technology*, σσ. 340-347.

Zhou et al. (2007). Free nitrous acid inhibition on anoxic phosphorus uptake and denitrification by poly-phosphate accumulating organisms. *Biotechnology an Bioengineering*, σσ. 903-912.

Zhou et al., Y. (2010). Free nitrous acid (FNA) inhibition on denitrifying poly-phosphate accumulating organisms (DPAOs). *Applied microbiology and biotechnology*, σσ. 359-369.

Zhou Yan et al. (2011, 10 1). The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants. *Water Research*, σσ. 4672-4682.

Βλυσίδης, Α. (2015). *Υγρή Βιομηχανική Ρύπανση.* Αθήνα: Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ.

Γεωργόπουλος Α., Ν. Κ. (2013). *ΓΗ, ένας μικρός και εύθραυστος πλανήτης.* Αθήνα. σελ. 597.

Θέμελη, Ε. (2019). *Διερεύνηση μεθόδων ανάπτυξης πολυφωσφορικών βακτηρίων υπό συνθήκες υψηλού φορτίου αζώτου με παράλληλη νιτρωδοποίηση - απονιτρωδοποίηση.* Αθήνα.

Καλλή, Μ. (2019). *Διαρεύνηση της επίδρασης της ελέυθερης αμμωνίας στην δράση των μικροοργανισμών που σχετίζονται με την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου.* Αθήνα.

Τσιφοδήμου, Ε. (2018). *Σύγκριση της απόδοσης διαφόρων συστημάτων επεξεργασίας λυμάτων με απομάκρυνση θρεπτικών αλάτων(φωσφόρου και αζώτου) από αστικά υγρά απόβλητα. Προτάσεις για βελτιστοποίηση σχεδιασμού των μονάδων αυτών.* Πάτρα: Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο.

Παράρτημα: Πίνακες

- Μετρήσεις 10/7/2019 : pH 7, 25 ℃, 10 ml NO_2-N

Time (h)	Μφιλ (g)			M105 ℃(g)			**TSS (mg/L)**			M550 ℃ (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
0	0,0884	0,0887	0,0909	0,0943	0,0936	0,0962	**393**	**327**	**353**	0,0898	0,0897	0,0921	**300**	**260**	**273**
1	0,0894	0,0897	0,0917	0,0947	0,0946	0,0965	**353**	**327**	**320**	0,0904	0,0905	0,0924	**287**	**273**	**273**
2	0,0885	0,0903	0,0908	0,0937	0,0947	0,0959	**347**	**293**	**340**	0,0895	0,0909	0,092	**280**	**253**	**260**
3	0,0878	0,0873	0,089	0,0935	0,0921	0,0936	**380**	**320**	**307**	0,0888	0,088	0,0899	**313**	**273**	**247**
4	0,0892	0,0897	0,0899	0,0958	0,0944	0,0948	**440**	**313**	**327**	0,0911	0,0902	0,0906	**313**	**280**	**280**
5	0,0887	0,0906	0,0901	0,0943	0,0954	0,095	**373**	**320**	**327**	0,0899	0,0911	0,0905	**293**	**287**	**300**
6	0,0883	0,0897	0,0904	0,0943	0,095	0,0958	**400**	**353**	**360**	0,08944	0,0906	0,0911	**324**	**293**	**313**
7	0,0902	0,088	0,0894	0,0961	0,0931	0,0947	**393**	**340**	**353**	0,0912	0,0888	0,0902	**327**	**287**	**300**
8	0,0892	0,09	0,0906	0,0951	0,0952	0,0957	**393**	**347**	**340**	0,0904	0,0908	0,0915	**313**	**293**	**280**
9	0,092	0,09	0,0917	0,0974	0,095	0,0965	**360**	**333**	**320**	0,0927	0,0909	0,092	**313**	**273**	**300**
10	0,0892	0,0884	0,0889	0,0952	0,0954	0,0938	**400**	**467**	**327**	0,0903	0,0892	0,0896	**327**	**413**	**280**
11	0,09	0,0895	0,0903	0,0964	0,0946	0,0968	**427**	**340**	**433**	0,091	0,092	0,0912	**360**	**173**	**373**
12	0,0906	0,091	0,0889	0,0978	0,0957	0,0928	**480**	**313**	**260**	0,0923	0,0882	0,0915	**367**	**500**	**87**
13	0,0904	0,09	0,0899	0,0974	0,0955	0,0949	**467**	**367**	**333**	0,0918	0,0909	0,0906	**373**	**307**	**287**
14	0,0894	0,0895	0,09	0,0964	0,0959	0,0964	**467**	**427**	**427**	0,0904	0,0908	0,0914	**400**	**340**	**333**
15	0,0904	0,0906	0,0901	0,0975	0,0969	0,0958	**473**	**420**	**380**	0,0916	0,0918	0,0919	**393**	**340**	**260**
16	0,0888	0,089	0,0903	0,0965	0,0956	0,0972	**513**	**440**	**460**	0,0901	0,0904	0,0918	**427**	**347**	**360**
17	0,0898	0,0897	0,0906	0,0987	0,0964	0,0978	**593**	**447**	**480**	0,0915	0,0911	0,0921	**480**	**353**	**380**
18	0,0901	0,0896	0,0894	0,0982	0,0961	0,0968	**540**	**433**	**493**	0,0912	0,0907	0,0911	**467**	**360**	**380**
19	0,0889	0,09	0,0881	0,0981	0,0969	0,0957	**613**	**460**	**507**	0,0902	0,0914	0,0897	**527**	**367**	**400**
20	0,089	0,0912	0,0889	0,0988	0,0983	0,0958	**653**	**473**	**460**	0,0907	0,0924	0,0902	**540**	**393**	**373**
21	0,0894	0,0903	0,0895	0,0995	0,0962	0,0984	**673**	**393**	**593**	0,0912	0,0906	0,0921	**553**	**373**	**420**
22	0,0924	0,0903	0,0906	0,1023	0,0978	0,0979	**660**	**500**	**487**	0,0938	0,0914	0,0918	**567**	**427**	**407**
23	0,092	0,0904	0,0916	0,1021	0,0973	0,0986	**673**	**460**	**467**	0,0936	0,0912	0,0926	**567**	**407**	**400**
24	0,0894	0,0888	0,09	0,0995	0,097	0,0986	**673**	**547**	**573**	0,0909	0,0905	0,092	**573**	**433**	**440**
25	0,0899	0,0901	0,0884	0,1009	0,0978	0,0956	**733**	**513**	**480**	0,0915	0,0911	0,0893	**627**	**447**	**420**
26	0,0911	0,0903	0,0883	0,1012	0,0976	0,0955	**673**	**487**	**480**	0,0929	0,0913	0,0894	**553**	**420**	**407**

➢ Μετρήσεις 16/7/2019 : pH 7, 25 °C, 20 ml NO_2-N

Time (h)	Μφιλ (g)			M105 °C (g)			**TSS (mg/L)**			M550 °C (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
0	0,0915	0,0891	0,0902	0,0954	0,0923	0,0932	**260**	**213**	**200**	0,0921	0,0898	0,0905	**220**	**167**	**180**
1	0,0895	0,0905	0,0903	0,0935	0,0936	0,0934	**267**	**207**	**207**	0,0904	0,0911	0,0908	**207**	**167**	**173**
2	0,0902	0,0894	0,0903	0,094	0,0926	0,0931	**253**	**213**	**187**	0,0908	0,0896	0,0906	**213**	**200**	**167**
3	0,0904	0,0888	0,0904	0,0944	0,0919	0,094	**267**	**207**	**240**	0,0911	0,0891	0,0911	**220**	**187**	**193**
4	0,0898	0,0885	0,0881	0,0937	0,0918	0,091	**260**	**220**	**193**	0,0903	0,0887	0,0884	**227**	**207**	**173**
5	0,0891	0,0885	0,0906	0,0926	0,0921	0,094	**233**	**240**	**227**	0,0895	0,0892	0,0912	**207**	**193**	**187**
6	0,089	0,0891	0,0891	0,093	0,0925	0,0922	**267**	**227**	**207**	0,0899	0,0897	0,0899	**207**	**187**	**153**
7	0,0894	0,0903	0,0892	0,093	0,0925	0,0922	**240**	**147**	**200**	0,0898	0,0907	0,0894	**213**	**120**	**187**
8	0,0895	0,0898	0,0904	0,0933	0,093	0,0937	**253**	**213**	**220**	0,0899	0,0901	0,0909	**227**	**193**	**187**
9	0,0908	0,088	0,0901	0,0943	0,0913	0,0936	**233**	**220**	**233**	0,0911	0,0882	0,0909	**213**	**207**	**180**
10	0,0906	0,0887	0,091	0,0946	0,092	0,0943	**267**	**220**	**220**	0,0911	0,0891	0,0913	**233**	**193**	**200**
11	0,0866	0,0877	0,0898	0,0909	0,091	0,0931	**287**	**220**	**220**	0,087	0,0882	0,0902	**260**	**187**	**193**
12	0,0889	0,0894	0,0901	0,0931	0,0928	0,094	**280**	**227**	**260**	0,0894	0,0896	0,0905	**247**	**213**	**233**
13	0,088	0,0887	0,0882	0,0933	0,0928	0,0916	**353**	**273**	**227**	0,0889	0,0894	0,0885	**293**	**227**	**207**
14	0,0925	0,0903	0,091	0,0975	0,0942	0,0946	**333**	**260**	**240**	0,0935	0,0907	0,0915	**267**	**233**	**207**
15	0,0894	0,0897	0,0891	0,0943	0,0934	0,0933	**327**	**247**	**280**	0,0901	0,0899	0,0898	**280**	**233**	**233**
16	0,0879	0,0903	0,0911	0,0934	0,095	0,0951	**367**	**313**	**267**	0,0889	0,091	0,0915	**300**	**267**	**240**
17	0,0904	0,088	0,0909	0,0961	0,0923	0,095	**380**	**287**	**273**	0,0913	0,0885	0,0914	**320**	**253**	**240**
18	0,0913	0,0897	0,0902	0,0972	0,0941	0,0946	**393**	**293**	**293**	0,0922	0,0906	0,091	**333**	**233**	**240**
19	0,0891	0,0877	0,0904	0,095	0,0922	0,0955	**393**	**300**	**340**	0,0902	0,0884	0,0917	**320**	**253**	**253**
20	0,0887	0,0906	0,0891	0,0951	0,0953	0,0941	**427**	**313**	**333**	0,0899	0,0913	0,0897	**347**	**267**	**293**
21	0,0884	0,0885	0,0891	0,0943	0,0927	0,0939	**393**	**280**	**320**	0,0897	0,0889	0,0898	**307**	**253**	**273**
22	0,0901	0,0883	0,0911	0,0972	0,0935	0,0955	**473**	**347**	**293**	0,0913	0,0895	0,0914	**393**	**267**	**273**
23	0,0894	0,0899	0,0896	0,0955	0,0945	0,0939	**407**	**307**	**287**	0,09	0,0904	0,0899	**367**	**273**	**267**
24	0,0883	0,0915	0,0885	0,0949	0,0965	0,093	**440**	**333**	**300**	0,0893	0,092	0,0893	**373**	**300**	**247**
25	0,0907	0,0917	0,0895	0,0973	0,0969	0,0941	**440**	**347**	**307**	0,0919	0,0925	0,0901	**360**	**293**	**267**
26	0,0899	0,0898	0,0881	0,0966	0,0953	0,0928	**447**	**367**	**313**	0,0911	0,0906	0,0888	**367**	**313**	**267**
27	0,0904	0,0888	0,0893	0,0976	0,0943	0,0944	**480**	**367**	**340**	0,0916	0,0897	0,0901	**400**	**307**	**287**
28	0,0883	0,0894	0,0892	0,0951	0,095	0,094	**453**	**373**	**320**	0,0895	0,0903	0,0899	**373**	**313**	**273**

➢ Μετρήσεις 18/7/2019 : pH 7, 25 ℃, 5 ml NO_2-N

Time (d)	Μφιλ (g)			M105 ℃ (g)			**TSS (mg/L)**			M550 ℃ (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
1	0,089	0,0898	0,0891	0,0938	0,094	0,0923	**320**	**280**	**213**	0,0897	0,0908	0,0895	**273**	**213**	**187**
2	0,0889	0,0891	0,0912	0,0932	0,0934	0,0956	**287**	**287**	**293**	0,0901	0,0897	0,0923	**207**	**247**	**220**
3	0,0899	0,0897	0,0886	0,0944	0,0933	0,0926	**300**	**240**	**267**	0,0904	0,09	0,0891	**267**	**220**	**233**
4	0,0885	0,088	0,0903	0,0927	0,0917	0,0943	**280**	**247**	**267**	0,0891	0,0884	0,0907	**240**	**220**	**240**
5	0,0907	0,09	0,0906	0,0951	0,0937	0,0945	**293**	**247**	**260**	0,0913	0,0907	0,091	**253**	**200**	**233**
6	0,0875	0,0913	0,0892	0,0921	0,0952	0,0932	**307**	**260**	**267**	0,0883	0,0918	0,0901	**253**	**227**	**207**
7	0,0873	0,0916	0,0894	0,0917	0,0955	0,0937	**293**	**260**	**287**	0,0884	0,0921	0,0901	**220**	**227**	**240**
8	0,0889	0,0837	0,0888	0,0938	0,0937	0,0933	**327**	**667**	**300**	0,0902	0,0903	0,0896	**240**	**227**	**247**
9	0,0908	0,088	0,0896	0,0945	0,0929	0,0941	**247**	**327**	**300**	0,0909	0,089	0,0902	**240**	**260**	**260**
10	0,0909	0,0895	0,088	0,0956	0,0938	0,0934	**313**	**287**	**360**	0,0916	0,09	0,0896	**267**	**253**	**253**
11	0,0911	0,0902	0,09	0,0959	0,0945	0,0945	**320**	**287**	**300**	0,0919	0,0906	0,0906	**267**	**260**	**260**
12	0,0907	0,0905	0,0915	0,0957	0,0949	0,0961	**333**	**293**	**307**	0,0915	0,091	0,0923	**280**	**260**	**253**
13	0,0881	0,0879	0,0906	0,0936	0,0922	0,095	**367**	**287**	**293**	0,0888	0,0885	0,0912	**320**	**247**	**253**
14	0,0888	0,0886	0,0901	0,0944	0,0928	0,0953	**373**	**280**	**347**	0,0898	0,0891	0,0915	**307**	**247**	**253**
15	0,088	0,0894	0,0875	0,0936	0,0942	0,0921	**373**	**320**	**307**	0,0889	0,0904	0,0882	**313**	**253**	**260**
16	0,0912	0,09	0,0903	0,0968	0,0954	0,0967	**373**	**360**	**427**	0,092	0,0909	0,0918	**320**	**300**	**327**
19	0,0894	0,0904	0,0901	0,0963	0,0958	0,0949	**460**	**360**	**320**	0,0908	0,0913	0,0903	**367**	**300**	**307**
20	0,089	0,0897	0,0885	0,0954	0,0959	0,0945	**427**	**413**	**400**	0,0904	0,091	0,0894	**333**	**327**	**340**
21	0,0888	0,0883	0,0891	0,0947	0,0932	0,0945	**393**	**327**	**360**	0,0897	0,0888	0,0901	**333**	**293**	**293**
22	0,0884	0,0883		0,0952	0,094	0,0968	**453**	**380**		0,0897	0,0892	0,0917	**367**	**320**	**340**
23	0,0882	0,0897	0,0877	0,0955	0,0955	0,0948	**487**	**387**	**473**	0,09	0,0905	0,0891	**367**	**333**	**380**
24	0,0909	0,0908	0,0888	0,0982	0,0961	0,0952	**487**	**353**	**427**	0,0923	0,0918	0,0898	**393**	**287**	**360**
25	0,0889	0,0891	0,0905	0,0957	0,0951	0,0971	**453**	**400**	**440**	0,0899	0,0902	0,0914	**387**	**327**	**380**
26	0,0889	0,0896	0,0914	0,0955	0,0958	0,0972	**440**	**413**	**387**	0,0902	0,0904	0,0923	**353**	**360**	**327**

- Μετρήσεις 21/7/2019 : pH 7, 25 ℃, 60 ml NO_2-N
  (*Υπήρξε διακοπή ρεύματος → παύση αερισμού και παύση ανάδευσης)

Time (h)	Μφιλ (g)			M105 ℃ (g)			**TSS (mg/L)**			M550 ℃ (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
0	0,0889	0,0893	0,0888	0,0945	0,0943	0,0934	**373**	**333**	**307**	0,0896	0,09	0,0895	**327**	**287**	**260**
1,5	0,0877	0,0902	0,0889	0,0931	0,0952	0,0941	**360**	**333**	**347**	0,089	0,0912	0,09	**273**	**267**	**273**
3	0,0897	0,0909	0,0907	0,0949	0,0958	0,0954	**347**	**327**	**313**	0,0908	0,0918	0,0916	**273**	**267**	**253**
4,5	0,0892	0,0886	0,0877	0,0954	0,0934	0,0924	**413**	**320**	**313**	0,0907	0,0896	0,0888	**313**	**253**	**240**
6	0,0891	0,0894	0,0923	0,0949	0,0948	0,0976	**387**	**360**	**353**	0,0907	0,0906	0,0938	**280**	**280**	**253**
7,5	0,088	0,0894	0,0892	0,0929	0,0943	0,0937	**327**	**327**	**300**	0,0891	0,0906	0,0901	**253**	**247**	**240**
9	0,0902	0,0902	0,0892	0,0961			**393**			0,0914			**313**		
13	0,0898	0,0919	0,0932	0,0949	0,0969	0,094	**340**	**333**	**53**	0,0907	0,0927	0,0902	**280**	**280**	**253**
14	0,089	0,0915	0,0925	0,0948	0,0967	0,0971	**387**	**347**	**307**	0,0902	0,0926	0,0933	**307**	**273**	**253**
15	0,0886	0,0889	0,0907	0,0942	0,0939	0,0953	**373**	**333**	**307**	0,0898	0,0897	0,0916	**293**	**280**	**247**
16	0,0893	0,0897	0,0881	0,0956	0,0952	0,0938	**420**	**367**	**380**	0,0908	0,091	0,0899	**320**	**280**	**260**
17	0,0901	0,0901	0,0887	0,0954	0,095	0,0931	**353**	**327**	**293**	0,0909	0,0908	0,0895	**300**	**280**	**240**
18	0,0895	0,0893	0,0907	0,0958	0,0942	0,0955	**420**	**327**	**320**	0,0909	0,0904	0,0919	**327**	**253**	**240**
19	0,0898	0,0895	0,0893	0,0959	0,0942	0,0937	**407**	**313**	**293**	0,0911	0,0905	0,0903	**320**	**247**	**227**
20	0,0887	0,0876	0,0915	0,0951	0,0888	0,0957	**427**	**80**	**280**	0,0898	0,0852	0,0921	**353**	**240**	**240**
21	0,0899	0,09	0,0888	0,0965	0,0947	0,0929	**440**	**313**	**273**	0,0912	0,091	0,0896	**353**	**247**	**220**
22	0,0905	0,091	0,0898	0,0971	0,096	0,0939	**440**	**333**	**273**	0,0915	0,0921	0,0908	**373**	**260**	**207**
23	0,0887	0,0895	0,0888	0,0957	0,0938	0,0929	**467**	**287**	**273**	0,0898	0,0901	0,0896	**393**	**247**	**220**
24	0,0904	0,0893	0,0898	0,0964	0,0951	0,0931	**400**	**387**	**220**	0,0907	0,0905	0,0899	**380**	**307**	**213**

➢ Μετρήσεις 23/7/2019 : pH 8, 25 ℃, 30 ml NO_2-N

Time (h)	Μφιλ (g)			M105 ℃ (g)			**TSS (mg/L)**			M550 ℃ (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
0	0,0904	0,0895	0,0883	0,0968	0,0959	0,0941	**427**	**427**	**387**	0,0923	0,0917	0,0901	**300**	**280**	**267**
1,5	0,0879	0,0896	0,0884	0,0945	0,0961	0,0956	**440**	**433**	**480**	0,0897	0,0913	0,0906	**320**	**320**	**333**
3	0,089	0,0898	0,0891	0,0955	0,0958	0,0956	**433**	**400**	**433**	0,0907	0,0915	0,0908	**320**	**287**	**320**
4,5	0,0905	0,0893	0,0898	0,0975	0,0959	0,0964	**467**	**440**	**440**	0,0925	0,0914	0,0918	**333**	**300**	**307**
6,5	0,0908	0,088	0,0904	0,0979	0,0946	0,0975	**473**	**440**	**473**	0,0929	0,0898	0,0923	**333**	**320**	**347**
8,5	0,0912	0,09	0,0917	0,0987	0,0967	0,0984	**500**	**447**	**447**	0,0952	0,0918	0,0936	**233**	**327**	**320**
10	0,0886	0,0865	0,0885	0,0965	0,0943	0,0953	**527**	**520**	**453**	0,0908	0,0891	0,0906	**380**	**347**	**313**
11	0,0894	0,0903	0,0898	0,0978	0,0973	0,0973	**560**	**467**	**500**	0,0912	0,0918	0,0914	**440**	**367**	**393**
12	0,0898	0,0908	0,0918	0,0986	0,0979	0,0991	**587**	**473**	**487**	0,0918	0,0924	0,0937	**453**	**367**	**360**
13	0,0895	0,0904	0,0892	0,0967	0,0974	0,0962	**480**	**467**	**467**	0,0907	0,092	0,0909	**400**	**360**	**353**
14	0,0898	0,0901	0,0885	0,0985	0,0971	0,0952	**580**	**467**	**447**	0,0922	0,0918	0,0901	**420**	**353**	**340**
15	0,0911	0,0878	0,0905	0,1	0,0954	0,0979	**593**	**507**	**493**	0,0932	0,0899	0,0924	**453**	**367**	**367**
16	0,0887	0,0895	0,0907	0,0977	0,0973	0,0978	**600**	**520**	**473**	0,0905	0,0917	0,0925	**480**	**373**	**353**
17	0,0909	0,0889	0,0901	0,1004	0,0963	0,0975	**633**	**493**	**493**	0,0932	0,0903	0,092	**480**	**400**	**367**
18	0,0904	0,0905	0,0891	0,1003	0,0984	0,0966	**660**	**527**	**500**	0,0925	0,0927	0,0911	**520**	**380**	**367**
19	0,0893	0,09	0,0906	0,0999	0,0972	0,0982	**707**	**480**	**507**	0,0913	0,0911	0,0918	**573**	**407**	**427**
20	0,0908	0,0904	0,0886	0,1018	0,098	0,0966	**733**	**507**	**533**	0,0932	0,0923	0,0905	**573**	**380**	**407**
21	0,0901	0,0892	0,0887	0,1016	0,0972	0,0968	**767**	**533**	**540**	0,0924	0,091	0,0908	**613**	**413**	**400**
22	0,0898	0,0881	0,0891	0,1012	0,0975	0,0973	**760**	**627**	**547**	0,0918	0,0912	0,0909	**627**	**420**	**427**
23	0,0901	0,0887	0,0913	0,1022	0,0973	0,1001	**807**	**573**	**587**	0,0921	0,0905	0,0935	**673**	**453**	**440**
24	0,0909	0,0902	0,0881	0,1027	0,0981	0,0973	**787**	**527**	**613**	0,0929	0,0917	0,0907	**653**	**427**	**440**

➢ Μετρήσεις 25/7/2019 : pH 8, 25 ℃, 15 ml NO_2-N

Time (h)	Μφιλ (g)			M105 ℃ (g)			**TSS (mg/L)**			M550 ℃ (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
0	0,0904	0,0891	0,0894	0,0956	0,0937	0,0943	**347**	**307**	**327**	0,0921	0,09	0,0904	**233**	**247**	**260**
2	0,0907	0,0872	0,0906	0,0966	0,0918	0,0954	**393**	**307**	**320**	0,0924	0,0883	0,0919	**280**	**233**	**233**
4	0,09	0,0893	0,0895	0,096	0,0942	0,0946	**400**	**327**	**340**	0,0919	0,0908	0,091	**273**	**227**	**240**
6	0,0908	0,0911	0,091	0,0966	0,0961	0,0962	**387**	**333**	**347**	0,0923	0,0921	0,092	**287**	**267**	**280**
8	0,0904	0,0901	0,0883	0,096	0,0949	0,0933	**373**	**320**	**333**	0,0913	0,0912	0,0895	**313**	**247**	**253**
10	0,0913	0,0898	0,0889	0,0986	0,0952	0,0953	**487**	**360**	**427**	0,0929	0,0912	0,0903	**380**	**267**	**333**
12	0,0918	0,0885		0,0994	0,0942	0,0966	**507**	**380**		0,0938	0,09	0,0922	**373**	**280**	**293**
13	0,0899	0,0906	0,0895	0,0969	0,0965	0,096	**467**	**393**	**433**	0,0914	0,0922	0,0914	**353**	**287**	**307**
14	0,0889	0,088	0,0906	0,0967	0,0929	0,0962	**527**	**327**	**373**	0,0907	0,0887	0,0916	**573**	**280**	**307**
15	0,0914	0,087	0,0898	0,0993	0,0927	0,0964	**573**	**380**	**440**	0,093	0,0883	0,0915	**360**	**293**	**327**
16	0,0898	0,0906	0,0884	0,0984	0,0966	0,0952	**580**	**400**	**453**	0,0919	0,0921	0,0902	**340**	**300**	**333**
17	0,0883	0,0913	0,0894	0,097	0,0973	0,0962	**593**	**400**	**453**	0,0902	0,0927	0,0912	**507**	**307**	**333**
18	0,0889	0,089	0,0878	0,0978	0,0955	0,0948	**613**	**433**	**467**	0,0907	0,0907	0,0895	**633**	**320**	**353**
19	0,091	0,0915	0,0904	0,1002	0,098	0,0974	**667**	**433**	**467**	0,0929	0,0929	0,0921	**473**	**340**	**353**
20	0,09	0,0878	0,0883	0,1	0,0945	0,0953	**613**	**447**	**467**	0,0924	0,0892	0,0897	**507**	**353**	**373**
21	0,0912	0,0904	0,0882	0,1004	0,0971	0,0962	**667**	**447**	**533**	0,0926	0,0917	0,0902	**520**	**360**	**400**
22	0,0895	0,0883	0,0901	0,0995	0,0954	0,0981	**667**	**473**	**533**	0,0916	0,0898	0,0921	**527**	**373**	**400**
23	0,0911	0,0899	0,0897	0,1015	0,0975	0,0974	**693**	**507**	**513**	0,0934	0,0916	0,0917	**540**	**393**	**380**
24	0,089	0,0913	0,0878	0,0991	0,0986	0,0956	**673**	**487**	**520**	0,0911	0,0929	0,0901	**533**	**380**	**367**

➢ Μετρήσεις 31/7/2019 : pH 8, 25 ℃, 7,5 ml NO_2-N

Time (h)	Μφιλ (g)			M105 ℃ (g)			**TSS (mg/L)**			M550 ℃ (g)			**VSS (mg/L)**		
	Control	A	B	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**	Control	A	B	**Control**	**A**	**B**
0	0,0912	0,0903	0,0881	0,0962	0,095	0,0926	**333**	**313**	**300**	0,0928	0,0916	0,089	**227**	**227**	**240**
1	0,0897	0,0906	0,091	0,0947	0,0954	0,0959	**333**	**320**	**327**	0,091	0,092	0,092	**247**	**227**	**260**
2	0,091	0,0897	0,09	0,0961	0,0939	0,0946	**340**	**280**	**307**	0,0925	0,0908	0,0914	**240**	**207**	**213**
4	0,0886	0,0866	0,0888	0,0939	0,0911	0,0934	**353**	**300**	**307**	0,0898	0,0877	0,0899	**273**	**227**	**233**
6	0,0876	0,0869	0,0864	0,0934	0,0916	0,091	**387**	**313**	**307**	0,0895	0,0885	0,0878	**260**	**207**	**213**
8	0,0863	0,0872	0,0874	0,0917	0,0919	0,092	**360**	**313**	**307**	0,0881	0,0885	0,0889	**240**	**227**	**207**
10	0,0865	0,085	0,0859	0,092	0,0899	0,0906	**367**	**327**	**313**	0,0882	0,0864	0,0871	**253**	**233**	**233**
11	0,0878	0,0884	0,0863	0,0937	0,0934	0,0911	**393**	**333**	**320**	0,0895	0,0899	0,0881	**180**	**233**	**200**
12	0,0863	0,0869	0,0886	0,0922	0,0912	0,0938	**393**	**287**	**347**	0,0878	0,0878	0,0898	**393**	**227**	**267**
13	0,0877	0,0889	0,0867	0,0937	0,0937	0,0922	**400**	**320**	**367**	0,0892	0,0901	0,0882	**327**	**240**	**267**
14	0,0881	0,086	0,0877	0,0941	0,0915	0,0928	**400**	**367**	**340**	0,0895	0,0874	0,0889	**253**	**273**	**260**
15	0,0869	0,091	0,0906	0,0933	0,0966	0,096	**427**	**373**	**360**	0,0885	0,0925	0,092	**467**	**273**	**267**
16	0,0886	0,0889	0,0887	0,0955	0,0946	0,0946	**460**	**380**	**393**	0,0902	0,0902	0,0901	**-6013**	**293**	**300**
17	0,0901	0,0865	0,0859							0,0915		0,0871	**253**		
18	0,0873	0,0884	0,086	0,0953	0,0943	0,0921	**533**	**393**	**407**		0,0898	0,0875		**300**	**307**
19	0,086	0,0865	0,0866	0,0937	0,0927	0,0925	**513**	**413**	**393**	0,0894			**287**		
20	0,086	0,0847	0,0866	0,0945	0,0911	0,093	**567**	**427**	**427**	0,0883	0,0862	0,0882	**413**	**327**	**320**
21	0,0878	0,0884	0,0851	0,0964	0,0949	0,0917	**573**	**433**	**440**	0,0897	0,0896		**447**	**353**	
22	0,0878	0,0882	0,0854	0,0958	0,0948	0,0919	**533**	**440**	**433**	0,0887	0,0896	0,0869	**473**	**347**	**333**

➢ Μετρήσεις OUR 10/7/2019, pH 7, 25 °C, 10 ml NO_2-N:

OUR												Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C1	7,88	7,87	7,85	7,83	7,8	7,77	7,74	7,71	7,69	7,65	7,63	3		
A1	7,83	7,83	7,82	7,8	7,78	7,75	7,74	7,72	7,71	7,69	7,66		2,04	
B1	7,88	7,86	7,85	7,83	7,81	7,79	7,76	7,75	7,72	7,7	7,69			2,28
C2	7,97	7,96	7,94	7,92	7,87	7,84	7,83	7,79	7,77	7,75	7,73	2,88		
A2	7,96	7,96	7,94	7,92	7,9	7,88	7,88	7,85	7,83	7,81	7,78		2,16	
B2	7,93	7,92	7,9	7,87	7,87	7,84	7,82	7,81	7,78	7,77	7,75			2,16
C3	7,79	7,77	7,74	7,72	7,68	7,66	7,62	7,59	7,56	7,53	7,5	3,48		
A3	7,76	7,72	7,71	7,7	7,68	7,65	7,64	7,61	7,6	7,57	7,54		2,64	
B3	7,78	7,76	7,74	7,71	7,71	7,7	7,67	7,64	7,64	7,61	7,59			2,28
C4	7,82	7,78	7,76	7,72	7,68	7,64	7,61	7,6	7,55	7,52	7,49	3,96		
A4	7,83	7,82	7,79	7,77	7,75	7,73	7,7	7,68	7,66	7,64	7,6		2,76	
B4	7,79	7,83	7,8	7,79	7,76	7,75	7,71	7,71	7,68	7,67	7,64			1,8
C5	7,73	7,7	7,67	7,62	7,6	7,57	7,53	7,49	7,45	7,43	7,41	3,84		
A5	7,79	7,77	7,75	7,72	7,7	7,68	7,67	7,64	7,62	7,6	7,59		2,4	
B5	7,83	7,81	7,79	7,77	7,75	7,73	7,71	7,68	7,67	7,66	7,63			2,4
C6	7,78	7,75	7,74	7,7	7,66	7,64	7,6	7,57	7,54	7,51	7,48	3,6		
A6	7,77	7,75	7,74	7,72	7,7	7,67	7,65	7,64	7,62	7,59	7,58		2,28	
B6	7,81	7,79	7,76	7,74	7,72	7,71	7,68	7,67	7,66	7,64	7,62			2,28
C7	7,77	7,73	7,71	7,67	7,62	7,58	7,55	7,5	7,47	7,44	7,38	4,68		
A7	7,82	7,8	7,76	7,75	7,72	7,71	7,69	766	7,64	7,6	7,59		2,76	
B7	7,81	7,77	7,75	7,73	7,71	7,7	7,67	7,65	7,64	7,61	7,6			2,52
C8	7,66	7,61	7,54	7,49	7,44	7,38	7,33	7,26	7,21	7,18	7,12	6,48		
A8	7,78	7,76	7,73	7,71	7,67	7,64	7,63	7,58	7,57	7,54	7,52		3,12	
B8	7,73	7,71	7,69	7,65	7,63	7,61	7,58	7,55	7,53	7,52	7,47			3,12
C9	7,63	7,59	7,54	7,51	7,47	7,43	7,39	7,34	7,3	7,28	7,24			
A9	7,83	7,8	7,79	7,76	7,74	7,72	7,69	7,66	7,63	7,61	7,58		3	
B9	7,77	7,74	7,72	7,68	7,65	7,63	7,61	7,58	7,55	7,52	7,51			3,12
C10	7,81	7,79	7,77	7,73	7,71	7,68	7,66	7,62	7,59	7,53	7,51			
A10	7,74	7,72	7,68	7,64	7,62	7,57	7,54	7,51	7,47	7,44	7,41		3,96	
B10	7,68	7,64	7,61	7,59	7,55	7,5	7,47	7,44	7,41	7,33	7,31			4,44
C11	7,57	7,51	7,42	7,36	7,27	7,21	7,14	7,07	7	6,93	6,86			
A11	7,95	7,92	7,88	7,85	7,81	7,78	7,74	7,72	7,69	7,66	7,61		4,08	
B11	7,9	7,85	7,82	7,79	7,74	7,8	7,67	7,64	7,6	7,56	7,52			4,56
C12	7,33		7,08	6,94	6,83	6,71	6,6	6,5	6,38	6,27	6,15	14,16		
A12	7,71	7,66	7,61	7,56	7,52	7,48	7,42	7,57	7,32	7,29	7,25		5,52	
B12	7,7	7,65	7,6	7,54	7,5	7,44	7,4	7,34	7,29	7,24	7,2			6
C13	7,38	7,24	7,09	6,95	6,83	6,69	6,54	6,42	6,28	6,14	6,01	16,44		
A13	7,67	7,63	7,59	7,53	7,47	7,43	7,38	7,33	7,27	7,22	7,17		6	

B13	7,7	7,65	7,57	7,51	7,46	7,4	7,34	7,28	7,21	7,14	7,08			7,44
C14	7,26	7,08	6,89	6,71	6,51	6,33	6,15	5,97	5,77	5,6	5,42	22,08		
A14	7,52	7,46	7,4	7,33	7,26	7,2	7,13	7,07	7,01	6,94	6,88		7,68	
B14	7,52	7,43	7,37	7,29	7,22	7,13	7,06	6,99	6,9	6,83	6,77			9
C15	6,99	6,79	6,57	6,38	6,16	5,26	5,77	5,57	5,37	5,18	4,98	24,12		
A15	7,49	7,41		7,22	7,15	7,06	6,97	6,88	6,8	6,73	6,64		10,2	
B15	7,5	7,41	7,32	7,23	7,13	7,05	6,97	6,88	6,78	6,71	6,62			10,56
C16	7,3	7,05	6,81	6,57	6,33	6,09	5,86	5,63	5,39	5,16	4,93	28,44		
A16	7,86	7,78	7,71	7,64	7,56	7,48	7,42	7,34	7,26	7,2	7,12		8,88	
B16	7,46	7,38		7,15	7,05	6,95	6,84	6,74	6,63	6,52	6,43			12,36
C17	7,02	6,7	6,39	6,09	5,76	5,47	5,17	4,88	4,58	4,3	4	36,24		
A17	7,34	7,24	7,12	7,03	6,91	6,8	6,7	6,58	6,48	6,38	6,27		12,84	
B17	7,01	6,88	6,74	6,6	6,47	6,34	6,2	6,07	5,94	5,8	5,67			16,08
C18	6,88	6,61	6,32		5,75	5,43	5,14	4,84	4,53	4,27	3,97	34,92		
A18	6,99	6,85	6,74	6,61	6,48	6,36	6,25	6,12	6,01	5,88	5,77		14,64	
B18	7,01	6,84	6,69	6,54	6,38	6,23	6,08	5,93	5,77	5,62	5,47			18,48
C19	6,79	6,42	6,07	5,75	5,42	5,1	4,77	4,44	4,13	3,82	3,5	39,48		
A19	6,97	6,82	6,67	6,52	6,38	6,23	6,09	5,94	5,79	5,63	5,5		17,64	
B19	6,81	6,63	6,45	6,24	6,07	5,89	5,7	5,52	5,34	5,17	4,99			21,84
C20	6,43	6,2	5,79	5,43	5,1	4,75	4,41	4,09	3,76	3,45	3,12	39,72		
A20	6,98	6,79	6,62	6,44	6,26	6,09	5,92	5,73	5,57	5,39	5,22		21,12	
B20	6,65	6,42	6,21	6	5,79	5,59	5,37	5,15	4,95	4,73	4,52			25,56
C21		6,55	6,13	5,75	5,34	4,98	4,62	4,27	3,92	3,57	3,23	39,84		
A21	6,68	6,46	6,23	6	5,77	5,55	5,32	5,11	4,88	4,66	4,45		26,76	
B21	6,37	6,13	5,9	5,66	5,44	5,21	4,98	4,76	4,53	4,31	4,09			27,36
C22	6,67	6,25	5,85	5,45	5,05	4,4	4,25	3,88	3,48	3,11	2,73	47,28		
A22	6,39	6,12	5,86	5,61	5,36		4,86	4,62	4,37	4,12	3,89		30	
B22	6,75	6,46	6,17	5,86	5,57	5,29	4,97		4,41	2,97	3,81			35,28
C23	6,93	6,55	6,07	5,62	5,17	4,71	4,27	3,84	3,4		2,54	52,68		
A23	7,15	6,83	6,56	6,3	6,02	5,75	5,5	5,24	4,99	4,69	4,49		31,92	
B23	7,11	6,84	6,56	6,28	6,02	5,74	5,48	5,21	4,96	5,04	4,43			32,16
C24	7,05	6,53	6,07	5,62	5,21	4,75	4,32	3,89	3,46	3,61	2,62	53,16		
A24	6,58	6,21	5,86	5,54	5,19	4,9	4,56	4,23	3,92	3,24	3,28		39,6	
B24	6,35	6,5	6,18	5,83	5,49	5,16	4,81	4,49	4,17	3,74	3,51			34,08
C25	6,14	5,71	5,25	4,8	4,35	3,9	3,45	3,01	2,55	2,11	1,66	53,76		
A25	5,81	5,47	5,14	4,78	4,43	4,09	3,74	3,32	3,03	2,67	2,26		42,6	
B25	6,52	6016	5,81	5,44	5,09	4,72	4,36	4	3,64	3,29	2,94			42,96
C26	5,62	5,16	4,72	4,27	3,84	3,41	2,98	2,55	2,12	1,7	1,27	52,2		
A26	5,98	5,55	5,1	4,66	4,24	3,81	3,38	2,95	2,5	2,06	1,63		52,2	
B26	5,18	4,76	4,33	3,91	3,48	3,04	2,63	2,22	1,82	1,4	0,985			50,34

➢ Μετρήσεις OUR /16/7/2019, : pH 7, 25 °C, 20 ml NO_2-N

OUR												Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C1	7,91	7,88	7,86	7,84	7,81	7,79	7,78	7,76	7,76	7,72	7,71	2,4		
A1	7,93	7,9	7,89	7,89	7,89	7,88	7,86	7,86	7,86	7,85	7,84		1,08	
B1	7,9	7,88	7,88	7,87	7,84	7,84	7,83	7,81	7,81	7,79	7,79			1,32
C2	7,86	7,83	7,83	7,82	7,8	7,79	7,78	7,75	7,75	7,74	7,71	1,8		
A2	7,91	7,89	7,89	7,88	7,88	7,87	7,87	7,85	7,85	7,83	7,83		0,96	
B2	7,97	7,97	7,95	7,95	7,94	7,93	7,93	7,91	7,91	7,9	7,89			0,96
C3	7,82	7,79	7,8	7,78	7,76	7,76	7,74	7,73	7,73	7,69	7,68	1,68		
A3	7,86	7,86	7,85	7,84	7,82	7,83	7,82	7,81	7,81	7,79	7,77		1,08	
B3	7,91	7,88	7,88	7,87	7,85	7,85	7,83	7,84	7,84	7,8	7,8			1,32
C4	7,84	7,84	7,82	7,8	7,79	7,77	7,76	7,75	7,75	7,72	7,7	1,68		
A4	8,01	8	7,99	7,97	7,98	7,97	7,97	7,96	7,96	7,95	7,94		0,84	
B4	7,95	7,94	7,94	7,94	7,92	7,91	7,9	7,91	7,91	7,89	7,88			0,84
C5	7,88	7,88	7,85	7,84	7,83	7,81	7,8	7,78	7,78	7,76	7,73	1,8		
A5	7,97	7,95	7,96	7,95	7,94	7,92	7,93	7,92	7,92	7,9	7,89		0,96	
B5	7,97	7,96	7,97	7,95	7,96	7,93	7,93	7,92	7,92	7,9	7,91			0,72
C6	7,88	7,87	7,84	7,84	7,82	7,8	7,77	7,76	7,76	7,73	7,72	1,92		
A6	7,78	7,77	7,76	7,76	7,74	7,75	7,73	7,72	7,72	7,71	7,69		1,08	
B6	7,82	7,81	7,8	7,79	7,77	7,77	7,77	7,76	7,76	7,73	7,72			1,2
C7	7,88	7,86	7,84	7,81	7,8	7,78	7,76	7,74	7,74	7,71	7,69	2,28		
A7	7,9	7,88	7,87	7,85	7,84	7,84	7,82	7,81	7,81	7,79	7,79		1,32	
B7	7,94	7,92	7,91	7,9	7,9	7,89	7,88	7,87	7,87	7,84	7,83			1,32
C8	7,68	7,67	7,64	7,61	7,6	7,58	7,54	7,52	7,49	7,46	7,44	2,88		
A8	7,83	7,82	7,79	7,78	7,77	7,75	7,74	7,72	7,72	7,7	7,68		1,8	
B8	7,96	7,94	7,92	7,91	7,91	7,88	7,86	7,86	7,85	7,83	7,81			1,8
C9	7,63	7,6	7,56	7,53	7,49	7,45	7,41	7,38	7,34	7,3	7,26	4,44		
A9	7,75	7,73	7,71	7,68	7,66	7,65	7,62	7,6	7,57	7,55	7,53		2,64	
B9	7,86	7,82	7,81	7,77	7,77	7,75	7,74	7,71	7,69	7,67	7,64			2,64
C10	7,52	7,47	7,42	7,37	7,32	7,27	7,21	7,17	7,12	7,07	7,03	5,88		
A10	7,59	7,56	7,53	7,5	7,45	7,43	7,39	7,35	7,32	7,3	7,26		3,96	
B10	7,82	7,78	7,76	7,73	7,69	7,67	7,65	7,61	7,58	7,56	7,52			3,6
C11	7,71	7,62	7,55	7,48	7,41	7,35	7,29	7,22	7,15	7,09	7,01	8,4		
A11	7,67	7,62	7,57	7,53	7,49	7,44	7,4	7,35	7,31	7,27	7,21		5,52	
B11	7,86	7,82	7,77	7,73	7,69	7,66	7,61	7,56	7,53	7,49	7,45			4,92
C12	7,72	7,65	7,56	7,5	7,42	7,35	7,27	7,17		7,03	6,95	9,24		
A12	7,52	7,36	7,19	7,13	7,06	7	6,94	6,88	6,83	6,77	6,7		9,84	
B12	7,67	7,63	7,57	7,52	7,47	7,41	7,35	7,3	7,23	7,18	7,12			6,6
C13	7,61	7,48	7,39	7,29	7,19	7,09	7	6,9	6,82	6,71	6,63	11,76		
A13	7,46	7,39	7,32	7,23	7,15	7,08	7,01	6,94	6,87	6,79	6,71		9	
B13	7,42	7,35	7,28	7,21	7,13	7,04	6,96	6,9	6,82		6,66			9,12

C14	7,64	7,54	7,45	7,33	7,23	7,13	7,01	6,95	6,82	6,74	6,63	12,12		
A14	7,27	7,17	7,07	6,99	6,92	6,81	6,73	6,64	6,56	6,47	6,39		10,56	
B14	7,71	7,62	7,53	7,44	7,35	7,26	7,18	7,1	7,01	6,93	6,84			10,44
C15	7,52	7,39	7,27	7,16	7,04	6,92	6,81	6,69	6,58	6,46	6,36	13,92		
A15	7,15	7,05	6,95	6,85	6,75	6,66	6,56	6,47	6,37	6,28	6,18		11,64	
B15	7,39	7,32	7,21	7,08	6,95	6,86	6,75	6,65	6,55	6,44	6,34			12,6
C16	7,37	7,25	7,12	6,99	6,85	6,72	6,59	6,45	6,32	6,2	6,08	15,48		
A16	7,12	6,99	6,86	6,75	6,64	6,52	6,4	6,28	6,16	6,05	5,93		14,28	
B16	7,4	7,3	7,2	7,09	6,96	6,87	6,76	6,64	6,54	6,44	6,33			12,84
C17	7,31	7,15	7	6,86	6,71	6,58	6,43	6,29	6,14	6	5,86	17,4		
A17	7,09	6,97	6,84	6,73	6,6	6,48	6,36	6,24	6,13	6,01	5,88		14,52	
B17	7,28	7,16	7,03	6,9	6,77	6,64	6,51	6,4	6,26	6,14	6,02			15,12
C18	7,21	7,05	6,88	6,72	6,56	6,41	6,25	6,1	5,95	5,8	5,65	18,72		
A18	7,05	6,9	6,77	6,64	6,49	6,36	6,24	6,09	5,95	5,82	5,69		16,32	
B18	7,2	7,07	6,93	6,8	6,66	6,52	6,38	6,25	6,11	5,98	5,84			16,32
C19	7,07	6,9	6,74	6,57	6,4	6,25	6,08	5,92	5,76	5,59	5,44	19,56		
A19	7,14	7	6,85	6,71	6,57	6,43	6,3	6,15	6,01	5,88	5,74		16,8	
B19	7,1	7,95	6,77	6,63	6,47	6,32	6,15	5,99	5,84	5,69	5,53			18,84
C20	7,19	7,01	6,84	6,67	6,5	6,33	6,16	6,01	5,85	5,68	5,53	19,92		
A20	7,18	7	6,86	6,71	6,56	6,43	6,27	6,15	6	5,87	5,74		17,28	
B20	7,3	7,14	7,03	6,84	6,69	6,54	6,38	6,25	6,11	5,95	5,8			18
C21	7,21	7,02	6,83	6,66	6,47	6,29	6,11	5,94	5,75	5,58	5,41	19,32		
A21	7,24	7,04		6,73	6,58	6,43	6,28	6,13	5,98	5,85	5,7		18,48	
B21	7,36	7,16	6,97	6,8	6,61	6,44	6,27	6,1	5,92	5,75	5,57			21,48
C22	7,19	6,93	6,72	6,52	6,33	6,15	5,97	5,81		5,46	5,31	22,56		
A22	6,79	6,59	6,4	6,22	6,05	5,88	5,72	5,54	5,37	5,21	5,05		20,88	
B22	6,76		6,4	6,22	6,03	5,86		5,51	5,34	5,17	5			21,12
C23	7,38	7,22	7,03	6,87	6,69	6,52	6,37	6,19	6,03	5,89	5,75	19,56		
A23	6,68	6,5	6,34	6,18	6,01	5,88	5,72	5,58	5,44	5,29	5,15		18,36	
B23	6,48	6,3	6,12	5,95	5,77		5,43	5,26	5,1	4,93	4,75			20,76
C24	7,25	7,08	6,91	6,74	6,58	6,42	6,26	6,11	5,96	5,82	5,68	18,84		
A24	6,3	6,12	5,93	5,77	5,61	5,44	5,28	5,11	4,97	4,81	4,66		19,68	
B24	6,97	6,93	6,76	6,61	6,45	6,3	6,18	6,02	5,89	5,77	5,63			16,08
C25	6,17	5,96	5,75	5,54	5,34	5,14	4,96	4,77	4,59	4,4	4,23	23,28		
A25	6	5,74	5,51	5,27	5,03	4,8	4,57	4,34	4,11	3,89	3,65		28,2	
B25	6,22	6	5,8	5,61	5,41	5,21	5,01	4,82	4,62	4,42	4,23			23,88
C26	6,46	6,28	6,09	5,9	5,73	5,55	5,37	5,19	5,02	4,85	4,69	21,24		
A26	6,35	6,04	5,81	5,58	5,34	5,12	4,91	4,68	4,47	4,24	4,03		27,84	
B26	7,2	7	6,8	6,6	6,39	6,18	6	5,81	5,62	5,44	5,25			23,4
C27	6,74	6,53	6,3	6,08	5,86	5,64	5,42	5,21	5	4,79	4,58	25,92		
A27	5,13	4,85	4,59	4,33	4,06	3,8	3,55	3,31	3,07	2,83	2,59		30,48	
B27	6,83	6,63	6,41	6,21	6,01	5,81	5,61	5,41	5,21	5,03	4,84			23,88
C28	6,77	6,51	6,25	5,94	5,72	5,47	5,22	4,98	4,74	4,49	4,26	30,12		
A28	6,15	5,78	5,49	5,22	4,97	4,69	4,44	4,16	3,94	3,71	3,46		32,28	
B28	6,34	6,11	5,88	5,66	5,43	5,22	5,02	4,78	4,61	4,38	4,15			26,28

➢ Μετρήσεις OUR 18/7/2019: , pH 7, 25 °C, 5 ml NO_2-N:

OUR												Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C1	8,02	7,99	7,99	7,99	7,99	7,97	7,97		7,93	7,91	7,9	1,44		
A1	8,05	8,05	8,05	8,04	8,03	8,01	8,02	8	7,99	7,99	7,98		0,84	
B1	8,03	8,02	8	8	7,98	7,97	7,97	7,95	7,93	7,93	7,92			1,32
C2	7,92	7,9	7,89	7,87	7,86	7,85	7,85	7,82	7,81	7,79	7,78	1,68		
A2	8,01	8,01	7,99	7,97	7,97	7,96	7,94	7,94	7,94	7,93	7,92		1,08	
B2	7,96	7,96	7,94	7,94	7,92	7,91	7,9	7,9	7,88	7,87	7,86			1,2
C3	7,87	7,85	7,83	7,81	7,8	7,78	7,77	7,75	7,73	7,71	7,72	1,8		
A3	8,04	8,03	8,03	8	8	7,99	7,99	7,97	7,95	7,94	7,94		1,2	
B3	8,03	8	8	7,97	7,97	7,95	7,96	7,93	7,93	7,9	7,9			1,56
C4	8,04	8,04	8,01	8	7,97	7,96	7,93	7,91	7,92	7,88	7,87	2,04		
A4	7,98	7,96	7,95	7,94	7,93	7,91	7,91	7,89	7,89	7,87	7,87		1,32	
B4	7,96	7,96	7,93	7,92	7,91	7,9	7,88	7,86	7,85	7,81	7,82			1,68
C5	7,87	7,83	7,82	7,78	7,77	7,74	7,71	7,69	7,67	7,64	7,62	3		
A5	7,86	7,84	7,83	7,82	7,79	7,78	7,77	7,76	7,74	7,72	7,72		1,68	
B5	7,83	7,81	7,78	7,77	7,74	7,73	7,7	7,68	7,66	7,63	7,61			2,64
C6	7,78	7,75	7,71	7,68	7,64	7,62	7,57	7,53	7,5	7,46	7,42	4,32		
A6	7,8	7,79	7,78	7,75	7,73	7,7	7,69	7,66	7,64	7,62	7,61		2,28	
B6	7,75	7,73	7,68	7,66	7,63	7,59	7,55	7,52	7,49	7,45	7,42			3,96
C7	7,62	7,57	7,51	7,46	7,42	7,38	7,33	7,27	7,22	7,17	7,14	5,76		
A7	7,79	7,75	7,71	7,68	7,66	7,63	7,6	7,56	7,54	7,52	7,48		3,72	
B7	7,72	7,67	7,62	7,59	7,53	7,48	7,43	7,4	7,35	7,28	7,25			5,64
C8	7,39	7,33	7,26	7,2	7,13	7,06	7	6,93	6,86	6,8	6,73	7,92		
A8	7,57	7,52	7,48	7,43	7,39	7,33	7,31	7,25	7,21	7,16	7,13		5,28	
B8	7,6	7,53	7,47	7,39	7,33	7,26	7,19	7,12	7,06	7	6,93			8,04
C9	7,44	7,35	7,28	7,2	7,1	7,03	6,93	6,86	6,77	6,67	6,61	9,96		
A9	7,36	7,3	7,23	7,18	7,11	7,05	6,99	6,93	6,87	6,82	6,74		7,44	
B9	7,45	7,37	7,29	7,21	7,14	7,06	6,98	6,89	6,82	6,75	6,66			9,48
C10	7,33	7,22	7,11	7	6,91	6,81	6,7	6,6	6,5	6,39	6,29	12,48		
A10	7,31	7,24	7,16	7,08	7	6,95	6,85	6,79	6,72	6,64	6,56		9	
B10	7,18	7,08	6,97	6,89	6,8	6,71	6,61	6,51	6,43	6,34	6,24			11,28
C11	7,19		6,94	6,82	6,7	6,58	6,47	6,35	6,25	6,13	6,02	14,04		
A11	7,23	7,17	7,09	7	6,92	6,84	6,76	6,67	6,59	6,52	6,43		9,6	
B11	7,18	7,06	6,95	6,86	6,75	6,64	6,54	6,42	6,32	6,22	6,12			12,72
C12	7,04	6,89	6,75	6,64	6,5	6,37	6,23	6,11	5,97	5,84	5,71	15,96		
A12	7,13	7,03	6,94	6,84	6,75	6,66	6,56	6,47	6,38	6,29	6,2		11,16	
B12	6,9	6,77	6,65	6,52	6,41	6,28	6,18	6,05	5,93	5,82	5,68			14,64
C13	7,04	6,9	6,75	6,61	6,48	6,33	6,18	6,04	5,91	5,77	5,63	16,92		

A13	7,29	7,19	7,08	6,97	6,87	6,77	6,66		6,46	6,35	6,26		12,36	
B13	6,79	6,67	6,56	6,43	6,33	6,2	6,09	5,95	5,83	5,73	5,62			14,04
C14	6,76	6,61	6,45	6,33	6,19	6,04	5,89	5,72	5,61	5,46	5,34	17,04		
A14	7,3	7,16	7,05	6,93	6,81	6,68	6,57	6,45	5,33	6,22	6,1		14,4	
B14	6,78	6,65	6,51	6,38	6,26	6,13	6	5,88	5,75	5,62	5,49			15,48
C15	7,29	6,98	6,81	6,64	6,48	6,31	6,13	5,97	5,81	5,64	5,48	21,72		
A15	7,35	7,17	7,05	6,92		6,08	6,55	6,43	6,31	6,2	6,08		15,24	
B15	6,89	6,71	6,55	6,4	6,25	6,13	5,98	5,83	5,7	5,56	5,43			17,52
C16														
A16														
B16														
C17														
A17														
B17														
C18	7,34	7,23	7,1	6,98	6,85		6,68	6,48	6,38	6,26	6,13	14,52		
A18	7,06	6,93	6,82	6,68	6,55		6,29	6,17	6,05	5,92	5,78		15,36	
B18	7	6,85	6,7	6,56		6,29	6,17	6,03	5,9	5,78	5,65			16,2
C19	7,21	7,06	6,92	6,78	6,65	6,5	6,36	6,23	6,09	5,95	5,83	16,56		
A19	7,23	7,12	7	6,88	6,77	6,65	6,53	6,49	6,32	6,22	6,11		13,44	
B19	7,59		7,52	7,18	7,07	6,95	6,82	6,7	6,58	6,45	6,32			15,24
C20	6,77	6,59	6,43	6,27	6,11	5,96	5,81	5,66	5,51	5,36	5,22	18,6		
A20	7,07	6,91	6,83	6,69	6,57	6,45	6,33	6,21	6,08	5,97	5,86		14,52	
B20	6,99	6,84	6,67	6,52	6,37	6,22	6,07	5,93	5,78	5,64	5,5			17,88
C21	6,73	6,59	6,45	6,3	6,17	6,01	5,87	5,73	5,59	5,46	5,33	15,12		
A21	7,08	6,96	6,84	6,72	6,61	6,49		6,26	6,15	6,03	5,9		14,16	
B21	6,82	6,67	6,5	6,34	6,19	6,04	5,89	5,75	5,59	5,45	5,31			18,12
C22	7,14	7,01	6,87	6,74	6,6	6,48	6,35	6,22	6,11	5,97	5,84	15,6		
A22	7,14	7,01	6,88	6,75	6,62	6,49	6,37	6,26	6,13	6	5,9		14,88	
B22	6,32	6,14		5,77	5,6	5,44	5,26	5,08	4,91	4,75	4,58			20,88
C23	6,84	6,64	6,45	6,26	6,08	5,89	5,71	5,52	5,34	5,16	4,98	22,32		
A23	7,17	7,04	6,91	6,8	6,68	6,57	6,46	6,35	6,26	6,14	6,04		13,56	
B23	6,52	6,37		6,03	5,84	5,67	5,49	5,34	5,16	4,99	4,83			20,28
C24	6,8	6,59	6,39	6,22	6,02	5,87	5,63	5,43	5,26	5,06	4,87	23,16		
A24	7,5	7,39	7,27	7,18	7,08	6,97		6,77	6,65	6,55	6,44		12,72	
B24	6,38	6,17	5,98	5,74	5,54	5,34	5,14	4,94	4,74	4,55	4,36			24,24
C25	6,81	6,63	6,45	6,27	6,09	5,9	5,74	5,57	5,4	5,24	5,08	20,76		
A25	6,87	6,72	6,56	6,4	6,26		5,97	5,84	5,7	5,56	5,44		17,16	
B25	6,14	5,9	5,69	5,48	5,28	5,08	4,88	4,68	4,5	4,31	4,12			24,24

Μετρήσεις OUR 21/7/2019: pH 7, 25 °C, 60 ml NO_2-N
(*Υπήρξε διακοπή ρεύματος → παύση αερισμού και παύση ανάδευσης)

	OUR											Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C1,5	7,75	7,74	7,71	7,69	7,67	7,65	7,63	7,61	7,6	7,58	7,55	2,4		
A1,5	7,89	7,89	7,89	7,89	7,88	7,88	7,87	7,87	7,86	7,85	7,85		0,48	
B1,5	7,98	7,97	7,97	7,97	7,96	7,95	7,96	7,94	7,94	7,95	7,94			0,48
C3	7,95	7,93	7,92	7,89	7,88	7,86	7,85	7,84	7,82	7,8	7,79	1,92		
A3	8,19	8,19	8,18	8,18	8,18	8,17	8,16	8,16	8,16	8,15	8,15		0,48	
B3	8,2	8,2		8,19	8,19	8,19	8,18	8,18	8,17	8,17	8,17			0,36
C4,5	7,89	7,88	7,86	7,85	7,82	7,8	7,8	7,78	7,76	7,74	7,75	1,68		
A4,5	8,05	8,05	8,04	8,04	8,05	8,05	8,04	8,03	8,02	8,02	8,02		0,36	
B4,5	8,03	8,02	8,01	8,02	8,01	8	8	8,01	7,99	8	7,99			0,48
C6	8,02	8,01	7,99	7,96	7,93	7,91	7,88	7,86	7,84	7,84	7,8	2,64		
A6	8,07	8,07	8,07	8,07	8,06	8,06	8,06	8,06	8,05	8,05	8,04		0,36	
B6	7,92	7,91	7,91	7,91	7,91	7,91	7,91	7,91	7,9	7,9	7,9			0,24
C7,5	7,86	7,84	7,81	7,78	7,76	7,72	7,7	7,69	7,65	7,64	7,61	3		
A7,5	8,01	8,01	8,01	8,02	8,01	8,01	8	7,99	8	8,01	8		0,12	
B7,5	8,01	8	8	8	7,99	7,98	7,98	7,98	7,97	7,98	7,97			0,48
C9	7,57	7,53	7,5	7,47	7,41	7,38	7,36	7,33	7,29	7,26	7,21	4,32		
A9													0	
B9														0
C13	7,59	7,48	7,41	7,35	7,28	7,2	7,12	7,06	6,99	6,91	6,85	8,88		
A13	8,18	8,17	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,15	8,15	8,14		0,48	
B13	8,01	8,01	8,01		8	8	7,99	8	8	7,99	8			0,12
C14	7,33	7,26	7,18	7,1	7,04	6,95	6,88	6,81	6,73	6,65	6,59	8,88		
A14	8,13	8,13	8,13	8,14	8,13	8,14	8,13	8,12	8,13	8,12	8,12		0,12	
B14	8,06	8,06	8,06	8,05	8,06	8,06	8,06	8,05	8,04	8,05	8,04			0,24
C15	7,29	7,19	7,1	7	6,89	6,81	6,71	6,6	6,5	6,41	6,32	11,64		
A15	8,04	8,05	8,04	8,03	8,02	8,03	8,02	8,02	8,01	8,02	8,01		0,36	
B15	8,09	8,08	8,07	8,08	8,08	8,06	8,07	8,06	8,06	8,05	8,05			0,48
C16	6,81	6,7	6,59	6,48	6,36	6,27	6,15	6,05	5,93	5,82	5,71	13,2		
A16	7,92	7,93	7,91	7,91	7,9	7,9	7,89	7,89	7,89	7,9	7,89		0,36	
B16	8,02	8,02	8,03	8,01	8,01	8,01	8	8	8	8,01	8			0,24
C17	7,01	6,88	6,74	6,6	6,47	6,33	6,2	6,07	5,93	5,79	5,67	16,08		
A17	8,03	8,04	8,04	8,03	8,02	8,03	8,02	8,03	8,01	8,01	8,02		0,12	
B17	8,06	8,05	8,05	8,05	8,05	8,05	8,05	8,05	8,04	8,04	8,04			0,24
C18	7,04	6,9	6,74	6,59	6,44	6,29	6,13	5,99	5,82	5,69	5,55	17,88		
A18	7,96	7,96	7,96	7,95	7,95	7,94	7,94	7,94	7,93	7,93	7,93		0,36	
B18	7,94	7,93	7,94	7,93	7,93	7,93	7,92	7,91	7,92	7,92	7,92			0,24
C19	6,13	5,96	5,8	5,63	5,47	5,31	5,22	5,11	5,01	4,84	4,48	19,8		

A19	8,11	8,11	8,1	8,11	8,09	8,1	8,09	8,07	8,07	8,08	8,07		0,48	
B19	8,03	8,01	8,01	8,01	8	8	7,99	8	7,99	7,99	7,99			0,48
C20	6,61	6,43	6,25	6,07	5,87	5,71	5,52	5,32	5,16	4,98	4,81	21,6		
A20	8,09	8,08	8,07	8,08	8,07	8,07	8,06	8,06	8,05	8,05	8,05		0,48	
B20	8,09	8,1	8,09	8,09	8,1	8,09	8,08	8,08	8,08	8,07	8,07			0,24
C21	5,08	4,86	4,64	4,44	4,23	4,02	3,82	3,57	3,39	3,18	2,97	25,32		
A21	8,01	8	8	8	7,99	7,98	7,98	7,97	7,97	7,96	7,95		0,72	
B21	7,99	7,99	7,98	7,98	7,98	7,99	7,96	7,96	7,97	7,95	7,96			0,36
C22	6,37		5,97	5,78	5,4	5,19	5,02	4,84	4,65	4,45	4,25	25,44		
A22	8,1	8,08	8,07	8,07	8,06	8,06	8,05	8,04	8,04	8,03	8,02		0,96	
B22	8,17	8,16	8,18	8,17	8,15	8,15	8,15	8,15	8,14	8,12	8,13			0,48
C23	4,45	4,27	4,07	3,88	3,69	3,49	3,29	3,11	2,92	2,73	2,54	22,92		
A23	7,98	7,97	7,96	7,96	7,94	7,91	7,92	7,92	7,9	7,89	7,88		1,2	
B23	8,06	8,06	8,05	8,04	8,04	8,03	8,02	8,01	8	8,01	8			0,72
C24	5,29	5,06	4,87	4,65	4,45	4,26	4,06	4,85	3,66	3,46	3,26	24,36		
A24	7,83	7,8	7,79	7,78	7,77	7,76	7,73	7,73	7,72	7,7	7,69		1,68	
B24	7,98	7,97	7,95	7,95	7,94	7,93	7,93	7,92	7,92	7,91	7,9			0,96

➢ Μετρήσεις OUR 23/7/2019, pH 8, 25 °C, 30 ml NO_2-N:

OUR												Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C1,5	7,71	7,66	7,61	7,56	7,51	7,46	7,41	7,37	7,31	7,26	7,21	6		
A1,5	7,89	7,81	7,78	7,75	7,72	7,69	7,66	7,62	7,6	7,56	7,53		4,32	
B1,5	8,1	8,07	8,03	8	7,97	7,94	7,91	7,89	7,86	7,82	7,8			3,6
C3	7,54	7,49	7,44	7,39	7,34	7,29	7,24	7,19	7,14	7,09	7,04	6		
A3	7,95	7,91	7,88	7,86	7,83	7,8	7,75	7,71	7,69	7,66	7,64		3,72	
B3	7,79	7,76	7,74	7,7	7,68	7,64	7,61	7,58	7,55	7,53	7,49			3,6
C4,5	7,36	7,3	7,25	7,19	7,14	7,07	7,01	6,96	6,9	6,85	6,79	6,84		
A4,5	7,93	7,91	7,89	7,85	7,83	7,8	7,77	7,74	7,7	7,68	7,65		3,36	
B4,5	7,98	7,94	7,91	7,89	7,85	7,83	7,8	7,77	7,74	7,7	7,68			3,6
C6,5	7,2	7,14	7,07	6,99	6,91	6,84	6,77	6,71	6,62	6,56	6,48	8,64		
A6,5	7,76	7,73	7,7	7,66	7,63	7,6	7,56	7,53	7,49	7,45	7,43		3,96	
B6,5	7,48	7,44	7,39	7,36	7,33	7,28	7,24	7,2	7,16	7,13	7,1			4,56
C8,5	7,17	7,09	7	6,91	6,83	6,74	6,65	6,55	6,46	6,38	6,29	10,56		
A8,5	7,72	7,68	7,66	7,59	7,56	7,53	7,49	7,44	7,39	7,36	7,32		4,8	
B8,5	7,93	7,89	7,84	7,81	7,76	7,72	7,69	7,65	7,61	7,58	7,53			4,8
C10	6,91	6,79	6,67	6,56	6,45	6,35	6,23	6,11	6	5,9	5,78	13,56		
A10	7,65	7,61	7,56	7,5	7,46	7,41	7,36	7,31	7	7,27	7,23		5,04	
B10	7,59	7,55	7,51	7,45	7,4	7,35	7,31	7,25	7,2	7,16	7,11			5,76
C11	6,19	5,97	5,84	5,71	5,59	5,46	5,35	5,21	5,1	4,97	4,84	16,2		
A11	7,76	7,74	7,69	7,63	7,59	7,74	7,51	7,26					5	
B11	7,56	7,5	7,44	7,37	7,32	7,27	7,21	7,15	7,1	7,03	6,98			6,96
C12	6,39	6,24	6,06	5,9	5,75	5,58	5,41	5,25	5,09	4,93	4,76	19,56		
A12	7,76	7,71	7,64	7,59	7,53	7,47	7,42	7,37	7,3	7,24	7,18		6,96	
B12	7,68	7,62	7,54	7,48	7,43	7,36	7,31	7,24	7,19	7,13	7,06			7,44
C13	6,2	5,99	5,83	5,65	5,45	5,28	5,09	4,91	4,73	4,54	4,34	22,32		
A13	7,65	7,59	7,52		7,38	7,3	7,21	7,13		6,98	6,9		9	
B13	7,78	7,73		7,6	7,53	7,47	7,41	7,35	7,27	7,21	7,15			7,56
C14	7,01	7		6,92	6,87	6,84	6,79	6,75	6,71	6,65	6,6	4,92		
A14	7,38	7,29	7,2		7,04	6,94	6,86	6,77	6,69	6,6	6,52		10,32	
B14	7,27	7,2	7,11	7,04	6,98	6,88	6,81	6,74	6,67	6,6	6,53			8,88
C15	5,45	5,24	5,03	4,82	4,61	4,38	4,2	3,99	3,78	3,58	3,38	24,84		
A15	7,38	7,29	7,2	7,1	7	6,92	6,8	6,72	6,62	6,53	6,43		11,4	
B15	7,31	7,21	7,15	7,07	6,97	6,9	6,81	6,74	6,66	6,58	6,5			9,72
C16	5,82	5,59	5,36	5,14	4,91	4,66	4,47	4,22	4,02	3,8	3,58	26,88		
A16	7,39	7,27	7,17	7,06	6,97	6,86	6,76	6,66	6,55	6,45	6,35		12,48	
B16	7,65	7,55	7,47	7,38	7,3	7,21	7,13	7,03	6,96	6,86	6,78			10,44
C17	5,8	5,55	5,3	5,06	4,81	4,57	4,31	4,08	3,84	3,59	3,35	29,4		

A17	7,25	7,12	7,03	6,91	6,8	6,69	6,58	6,47	6,36	6,26	6,15		13,2	
B17	7,44	7,33	7,23	7,14	7,05	6,94	6,86	6,76	6,67	6,57	6,48			11,52
C18	4,64	4,42	4,18	3,97	3,73	3,5	3,28	3,04	2,83	2,61	2,39	27		
A18	7,2	7,03	6,92	6,79	6,68	6,57	6,45	6,33	6,23	6,11	6		14,4	
B18	7,09	6,98	6,88	6,78	6,66	6,56	6,45			6,13	6,03			12,72
C19	4,37	4,12	3,87	3,61	3,37	3,12	2,87	2,63	2,38	2,14	1,9	29,64		
A19	7,12	7,01	6,88	6,75	6,63	6,51	6,37	6,26	6,13	6,01	5,89		14,76	
B19	7,28	7,16	7,05	6,94	6,82	6,7	6,59	6,47	6,36	6,25	6,13			13,8
C20	5,91	5,58	5,29	5,04	4,77	4,5	4,22	3,96	3,7	3,44	3,17	32,88		
A20	7,24	7,09	6,944	6,79	6,66	6,52	6,38	6,25	6,11	5,96	5,83		16,92	
B20	7,16	7,03	6,89	6,77	6,63	6,51	6,38	6,24	6,11	5,98	5,86			15,6
C21	4,69	4,41	4,16	3,9	3,65	3,4	3,15	2,9	2,65	2,41	2,16	30,36		
A21	7,71	7,56	7,42	7,28	7,14	7	6,87	6,72	6,6	6,47	6,34		16,44	
B21	6,54	6,42	6,27	6,13	6	5,87	5,74	5,61	5,48	5,35	5,23			15,72
C22	1,36	1,1	0,905	0,651	0,429	0,223	0,09	0,037	0,03	0,03	0,03	15,98		
A22	6,75	6,59	6,44	6,29	6,13	5,99	5,83	5,68	5,55	5,39	5,26		17,88	
B22	6,3	6,16	6,02	5,87	5,74	5,59	5,45	5,31	5,16	5,04	4,89			16,92
C23	6,82	6,48	6,17	5,84	5,53	5,22	4,92	4,61	4,28	3,99	3,66	37,92		
A23	6,43	6,25	6,09	5,91	5,76	5,59	5,41	5,27	5,11	4,95	4,79		19,68	
B23	6,69	6,54	6,37	6,25	6,1	5,95	5,81	5,65	5,51	5,37	5,22			17,64
C24	4,68	3,94	3,56	3,29	2,99	2,69	2,38	2,08	1,78	1,47	1,17	42,12		
A24	6,55	6,38	6,2	6,03	5,86	5,69	5,53	5,36	5,19	5,03	4,86		20,28	
B24	6,31	6,16	6,01	5,85	5,7	5,54	5,38	5,24	5,08	4,93	4,78			18,36

➢ Μετρήσεις OUR 25/7/2019, pH 8, 25 °C, 15 ml NO_2-N :

OUR												Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C2	7,79	7,73	7,69	7,64	7,6	7,56	7,51	7,47	7,42	7,38	7,33	5,52		
A2	7,85	7,84	7,81	7,78	7,77	7,74	7,72	7,7	7,68	7,65	7,63		2,64	
B2	7,7	7,68	7,65	7,62	7,58	7,55	7,52	7,5	7,47	7,44	7,41			3,48
C4	7,61	7,56	7,51	7,45	7,39	7,35	7,29	7,24	7,19	7,14	7,07	6,48		
A4	7,66	7,63	7,61	7,58	7,55	7,52	7,49	7,46	7,43	7,4	7,37		3,48	
B4	7,64	7,61	7,56	7,52	7,49	7,45	7,42	7,38	7,35	7,31	7,28			4,32
C6	7,14	7,07	7	6,92	6,84	6,76	6,7	6,62	6,54	6,46	6,39	9		
A6	7,71	7,67	7,63	7,61	7,56	7,53	7,5	7,47	7,43	7,4	7,36		4,2	
B6	7,53	7,49	7,44	7,4	7,36	7,31	7,28	7,23	7,18	7,13	7,09			5,28
C8	7,21	7,11	7,02	6,92	6,82	6,73	6,62	6,53	6,44	6,34	6,24	11,64		
A8	7,25		7,16	7,1	7,05	7	6,97	6,92	6,86	6,81	6,77		5,76	
B8	7,24	7,18	7,11	7,04		6,91	6,84	6,79	6,71	6,65	6,59			7,8
C10	6,41	6,09	6,15	6,03	5,89	5,77	5,63	5,49	5,36	5,24	5,1	15,72		
A10	7,18	7,13	7,05	6,97	6,91	6,85	6,79	6,72	6,65	6,58	6,51		8,04	
B10	7,27	7,2	7,11	7,04	6,95	6,87	6,79	6,71	6,64	6,56	6,49			9,36
C12	7,01	6,88	6,73	6,6	6,45		6,19	6,05	5,91	5,78	5,14	22,44		
A12	7,06	6,98	6,91	6,82	6,75	6,67	6,59	6,51	6,44	6,35	6,28		9,36	
B12	7,17	7,07	6,97	6,87	6,78	6,67	6,59	6,5	6,41	6,32	6,23			11,28
C13	7,24	7,09	6,95	6,77	6,63	6,47	6,31	6,16	6,02	5,86	5,71	18,36		
A13	6,78	6,68	6,59		6,4	6,31	6,22	6,13	6,04	5,95	5,85		11,16	
B13	6,55		6,34	6,23	6,13	6,03	5,92	5,82	5,71	5,61	5,51			12,48
C14	7,03	6,85	6,69	6,51	6,36	6,19	6,02		5,69	5,53	5,36	20,04		
A14	6,79	6,68	6,57	6,46	6,34	6,22	6,1	5,99	5,86	5,76	5,65		13,68	
B14	6,45	6,34	6,22	6,09	5,98	5,87	5,75	5,64	5,53	5,42	5,3			13,8
C15		6,82	6,62	6,43	6,26	6,08	5,89	5,71	5,54	5,37	5,18	19,68		
A15	6,66		6,39	6,24	6,12	5,99	5,86	5,73	5,59	5,46	5,34		15,84	
B15	6,22	6,1	5,97	5,85	5,72	5,61	5,48	5,37	5,24	5,12	5,01			14,52
C16	6,41	6,19	5,98	5,78	5,57	5,36	5,17	4,97	4,76	4,58	4,36	24,6		
A16	6,59	6,44	6,3	6,16	6,01	5,88	5,73	5,59	5,44	5,31	5,17		17,04	
B16	6,28	6,14	6,01	5,88	5,75	5,63	5,5	5,38	5,25	5,14	5,01			15,24
C17	6,18	5,98	5,77	5,56	5,35	5,15	4,95	4,75	4,54	4,34	4,15	24,36		
A17	6,08	5,92	5,76	5,61	5,45	5,28	5,13	4,99	4,83	4,67	4,52		18,72	
B17	6	5,86	5,73	5,6	5,47	5,34	5,21	5,08	4,95	4,83	4,71			15,48
C18	6,93	6,61	6,4	6,19	5,97	5,76	5,56	5,34	5,13	4,92	4,71	26,64		
A18	6,11	5,93	5,77	5,6	5,43	5,26	5,1	4,92	4,76	4,58	4,42		20,28	
B18	5,9	5,75	5,61	5,46	5,33	5,2	5,05	4,92	4,77	4,64	4,5			16,8
C19	6,51	6,28	6,05	5,83	5,5	5,39	5,17	4,95	4,73	4,51	4,3	26,52		

A19	6,31	6,12	5,96	5,77	5,6	5,43	5,26	5,09	4,9	4,73	4,55		21,12	
B19	6	5,85	5,71	5,56	5,1	5,27	5,13	4,98	4,83	4,69	4,55			17,4
C20	6,37	6,14	5,91	5,67	5,47	5,25	5,02	4,8	4,58	4,36	4,14	26,76		
A20	6,52	6,32	6,14	5,96	5,77	5,6	5,42	5,24	5,07	4,88	4,71		21,72	
B20	6,31	6,16	6,01	5,85	5,71	5,56	5,42	5,27	5,11	4,97	4,82			17,88
C21	6,07	5,85	5,63	5,41	5,19	4,98	4,76	4,54	4,32	4,11	3,89	26,16		
A21	6,52	6,32	6,13	5,94	5,75	5,55	5,37	5,18	4,99	4,8	4,61		22,92	
B21	6,19	6	5,83	5,68	5,53	5,37	5,22	5,06	4,91	4,76	4,6			19,08
C22	6,75	6,53	6,08	5,86	5,64	5,42	5,21	5	4,78	4,57	4,36	28,68		
A22	6	5,8	5,59	5,39	5,1	4,99	4,78	4,57		4,17	3,98		24,24	
B22	5,87	5,72	5,54	5,39	5,23	5,07	4,9	4,75	4,59	4,43	4,27			19,2
C23	6,37	6,16	5,52	5,48	5,27	5,05	4,83	4,62	4,41	4,21	4	28,44		
A23	6,05	5,83	5,64	5,43	5,24	5,03	4,83	4,63	4,44	4,23	4,04		24,12	
B23	6,36	6,12	5,94	5,77	5,59	5,43	5,25	5,08	4,92	4,75	4,59			21,24
C24	6,4	6,27	6,03	5,8	5,56	5,32	5,08	4,86	4,62	4,39	4,16	26,88		
A24	5,58			4,94	4,73	4,5	4,29	4,08	3,88	3,67	3,46		25,44	
B24	6,03	5,79	5,61	5,44	5,24	5,08	4,9	4,73	4,54	4,38	4,2			21,96

➢ Μετρήσεις OUR 31/7/2019 , pH 8, 25 °C, 7,5 ml NO_2-N:

OUR												Oxygen uptake (mgO2/hr)		
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	Control	A	B
Co														
Ao														
Bo														
C1	7,78	7,75	7,72	7,72	7,68	7,65	7,63	7,61	7,58	7,56	7,53	3		
A1	7,87	7,86	7,85	7,82	7,81	7,8	7,79	7,77	7,75	7,74	7,71		1,92	
B1	7,94	7,92	7,91	7,89	7,86	7,85	7,84	7,82	7,79	7,78	7,75			2,28
C2	8,11	8,09		8,04	8,03	8	7,99	7,97	7,94	7,93	7,9	2,52		
A2	8,04	8,02	8,01	8	7,97	7,97	7,94	7,92	7,92	7,89	7,87		2,04	
B2	7,97	7,95		7,93	7,9	7,87	7,86	7,85	7,84	7,81	7,79			2,16
C3	7,81	7,77	7,75	7,73	7,7	7,68	7,66	7,61	7,6	7,57	7,55	3,12		
A3	7,96	7,93	7,92	7,9		7,87	7,84	7,83	7,81	7,8	7,77		2,28	
B3	7,81	7,78	7,76	7,73	7,73	7,69	7,68	7,66	7,63	7,61	7,61			2,4
C4	7,51	7,49	7,43	7,41	7,37	7,33	7,3	7,26	7,24	7,2	7,16	4,2		
A4	8,04	8	7,99	7,97	7,94	7,92	7,9	7,87	7,86	7,84	7,82		2,64	
B4	7,76	7,72	7,7	7,67	7,63	7,61	7,58	7,55	7,51	7,49	7,47			3,48
C5	7,52	7,47	7,43	7,37	7,32	7,28		7,19	7,14	7,09	7,05	5,64		
A5	7,47	7,44	7,41	7,36	7,33	7,3	7,26	7,23	7,19	7,16	7,13		4,08	
B5	7,62	7,57	7,53	7,49	7,45	7,4	7,36	7,33	7,28	7,24	7,2			5,04
C6	7,42	7,39	7,32	7,27	7,2	7,14	7,08	7,02	6,96	6,89	6,83	7,08		
A6	7,6	7,54	7,51		7,48	7,39	7,34	7,3	7,26	7,22	7,18		5,04	
B6	7,47	7,42	7,37	7,33	7,29	7,23	7,19	7,13	7,1	7,04	7			5,64
C7	7,09	7,01	6,95	6,88	6,82	6,74	6,68	6,6	6,55	6,47	6,41	8,16		
A7	7,47	7,42	7,37	7,34	7,27	7,23	7,18	7,13	7,09	7,04	6,99		5,76	
B7	7,6	7,53	7,49	7,44	7,37	7,31	7,26	7,19	7,15	7,09	7,03			6,84
C8	7,3	7,23	7,14	7,06	6,99	6,9	6,83	6,74	6,66	6,59	6,51	9,48		
A8	7,27	7,21	7,17	7,11	7,05	7	6,94	6,,88	6,84	6,77	6,73		6,48	
B8	7,6	7,53	7,46	7,4	7,33	7,26	7,21	7,15	7,07	7,02	6,95			7,8
C9	7,18	7,08	6,98	6,89	6,78	6,68	6,59	6,49	6,39	6,3	6,2	11,76		
A9	7,63	7,55	7,5	7,44	7,38	7,32	7,26	7,2	7,14	7,08	7,03		7,2	
B9	7,44	7,37	7,3	7,23		7,1	7,04	6,96	6,89	6,83	6,77			8,04
C10	7,12	7,01	6,89	6,87	6,67	6,56	6,45	6,35	6,23	6,12	6,02	13,2		
A10	7,27	7,2		7,13	7,06	6,99	6,91	6,83	6,76	6,7			6,27	
B10	7,28	7,2	7,12	7,04	6,96	6,87	6,8	6,72	6,64	6,56	6,48			9,6
C11														
A11														
B11														
C12	6,74	6,57	6,43	6,3	6,16	6,02	5,87	5,75	5,6	5,48	5,34	16,8		
A12	7,01	6,92	6,85	6,75	6,67	6,58	6,49	6,41	6,33	6,24	6,15		10,32	
B12	7,06	6,97	6,86	6,75		6,53	6,43	6,31	6,21	6,1	6			12,72
C13														

A13														
B13														
C14	6,74	6,69		6,39	6,25	6,09	5,96	5,8	5,66	5,52	5,37	16,44		
A14	7,4	7,3	7,21	7,12	7,02	6,93	6,84	6,76	6,66	6,57	6,48		11,04	
B14	7,09	6,98	6,86	6,75	6,63	6,52	6,41	6,29	6,18	6,07	5,96			13,56
C15														
A15														
B15														
C16	6,2	6,01	5,81	5,62	5,41	5,22	5,03		4,65	4,45	4,26	23,28		
A16	7,01	6,89	6,78	6,66	6,53	6,42	6,3	6,2	6,08	5,97	5,85		13,92	
B16	6,97	6,84	6,71	6,58	6,45	6,32	6,19	6,06	5,93	5,8	5,67			15,6
C17	6,19	5,28		5,58	5,38	5,19	4,99	4,79	4,58	4,39	4,2	23,88		
A17	6,8	6,65	6,52	6,39		6,1	5,97	5,83	5,7	5,57	5,44		16,32	
B17	6,56	6,41	6,26	6,12	5,98	5,83	5,68	5,55	6,4	5,26	5,12			17,28
C18	5,88	5,66	5,45	5,22	5,01	4,8	4,59	4,37		3,94	3,79	25,08		
A18	6,41	6,26	6,11	5,95	5,78	5,63	5,47	5,32	5,17	5,01	4,86		18,6	
B18	6,47	6,32	6,14	5,97	5,81	5,65	5,48	5,31		4,99	4,83			19,68