

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

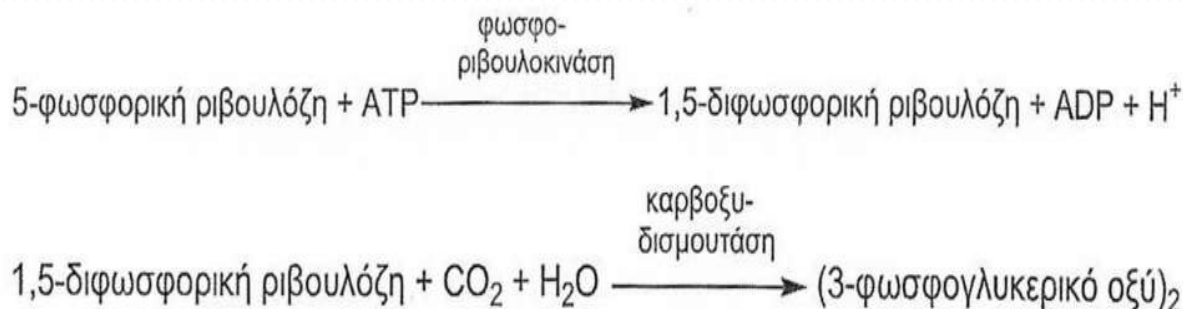
**Υποχρεωτικά αερόβιοι χημειοαυτότροφοι μικροοργανισμοί –
Αναπνοή με νιτρικά ιόντα**

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αυτότροφοι μικροοργανισμοί:
 - Οι χημειοαυτότροφοι ή χημειολιθότροφοι μικροοργανισμοί λαμβάνουν την απαιτούμενη ενέργεια από την οξείδωση ανηγμένων μορφών ανόργανων ιόντων και καλύπτουν τις απαιτήσεις τους σε άνθρακα μέσω του CO₂.
 - Σε μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται χημειοαυτότροφα παρατηρούνται υψηλά επίπεδα φωσφοριβουλοκινάσης και καρβοξυδισμουτάσης, δύο ενζύμων που καταλύουν τις ακόλουθες αντιδράσεις

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

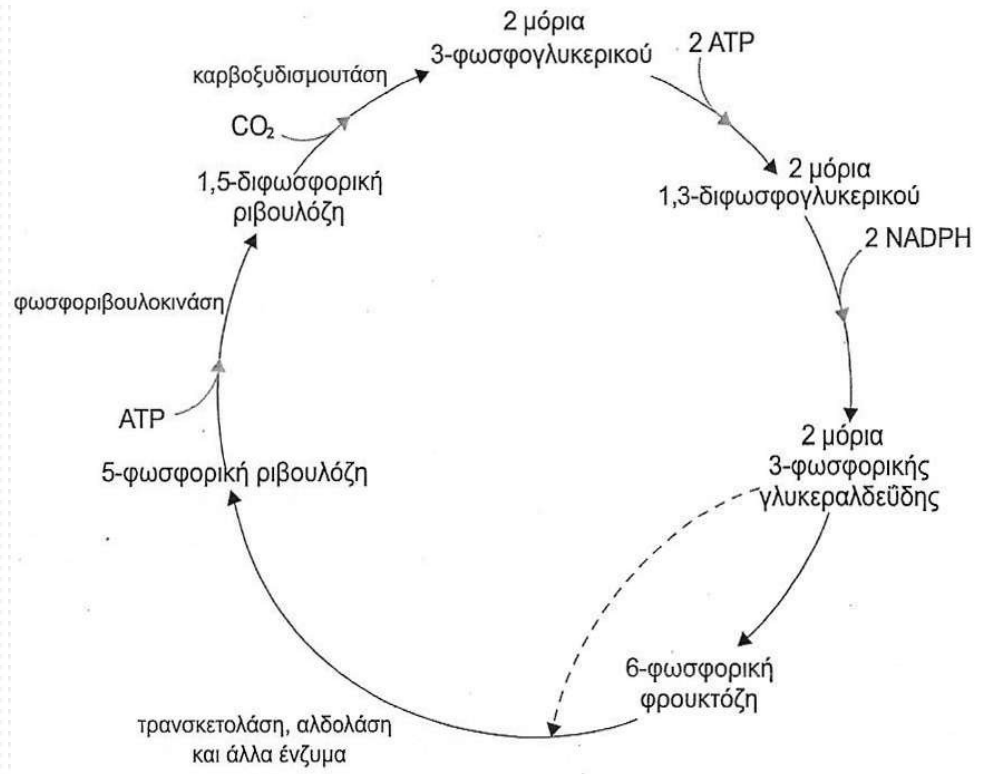
- Αυτότροφοι μικροοργανισμοί:



- Η αφομοίωση του CO_2 γίνεται μέσω του κύκλου του Calvin
- Ενδιαφέρον παρουσιάζει το ποσό ενέργειας που απαιτείται για τη σύνθεση μίας εξόζης. Δεδομένου ότι σε κάθε εφαρμογή του κύκλου του Calvin ανάγεται ένα άτομο άνθρακα, απαιτούνται έξι εφαρμογές του κύκλου για τη σύνθεση ενός μορίου εξόζης

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Κύκλος του Calvin:



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Κατάταξη μικροοργανισμών
 - Στους υποχρεωτικά αυτότροφους θειοβάκιλους και στα βακτήρια νιτροποίησης υπάρχουν καρβοξυσώματα που περιέχουν το ένζυμο καρβοξυδισμουτάση.
 - Στους προαιρετικά όμως αυτότροφους θειοβακίλους και στα βακτήρια υδρογόνου, η σύνθεση των ενζύμων φωσφοριβουλοκινάση και καρβοξυδισμουτάση αναστέλλεται όταν τα βακτήρια αυτά αναπτύσσονται ετεροτροφικά.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αερόβιοι μικροοργανισμοί (χημειοαυτότροφοι)

Κατηγορία		Ενεργειακό υπόστρωμα	Προϊόν οξειδω-σης	Τελικός Ηλεκτρονιακός Δέκτης
Βακτήρια νιτροποίησης	οξειδωτικά αμμωνίας	NH_3	NO_2^-	O_2
	οξειδωτικά νιτρώδους	NO_2^-	NO_3^-	O_2
οξειδωτικά θείου		$\text{S}^{2-}, \text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}, \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$	SO_4^{2-}	O_2 ή NO_3^-
οξειδωτικά σιδήρου		Fe^{2+}	Fe^{3+}	O_2
Βακτήρια υδρογόνου		H_2	H_2O	O_2

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Βακτήρια Νιτροποίησης
 - Αναφερόμαστε σε μικρού μεγέθους, ραβδοειδή, Gram (-) βακτήρια.
 - Η βιολογική οξείδωση της αμμωνίας λαμβάνει χώρα υπό αερόβιες συνθήκες σε δύο στάδια.
 - Αρχικά, μικροοργανισμοί γνωστοί ως νιτροδοποιητικά βακτήρια ή οξειδωτές της αμμωνίας (**Ammonium Oxidizing Bacteria-AOB**), που είναι κυρίως στελέχη του γένους *Nitrosomonas*, οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρώδες.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

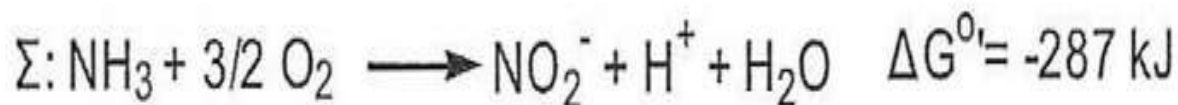
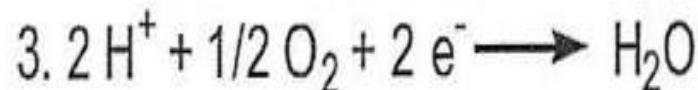
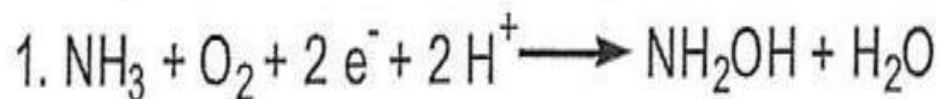
- Βακτήρια Νιτροποίησης
 - Εκτός του γένους *Nitrosomonas*, ένα άλλο μέλος της οικογένειας *Nitrosomonadaceae* (κλάση β -Proteobacteria), το γένος ***Nitrospira***, είναι ένας χαρακτηριστικός οξειδωτής της αμμωνίας.
 - Σε υδατικά οικοσυστήματα, στελέχη του γένους ***Nitrosococcus*** (κλάση γ -Proteobacteria) οξειδώνουν επίσης την αμμωνία σε νιτρώδες.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Βακτήρια Νιτροποίησης
 - Στο επόμενο στάδιο, οι οξειδωτές των νιτρωδών (**Nitrite Oxidizing Bacteria-NOB**), που είναι κυρίως Βακτήρια του γένους **Nitrobacter** (κλάση *α-Proteobacteria*), μετατρέπουν το νιτρώδες σε νιτρικό.
 - Άλλοι κύριοι οξειδωτές των νιτρωδών είναι στελέχη του γένους **Nitrospira** (φύλο *Nitrospiroae*)
 - Στελέχη των γενών **Nitrococcus** (κλάση *γ-Proteobacteria*) και **Nitrospina** (κλάση *δ-Proteobacteria*) είναι οξειδωτές των νιτρωδών που σπανίως ανιχνεύονται.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αντιδράσεις Νιτροποίησης
- Νιτροδοποιητικά Βακτήρια (Nitrosifying bacteria)



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αντιδράσεις Νιτροποίησης
- Νιτρικοποιητικά Βακτήρια (Nitrifying bacteria)



- Η ανάπτυξη στελεχών των γενών **Nitrosomonas** και **Nitrobacter** είναι βραδεία με ελάχιστο χρόνο διπλασιασμού τις 7-10 ώρες.
- Τα βακτήρια αυτά αναπτύσσονται σε ουδέτερο ή ελαφρά αλκαλικό περιβάλλον.

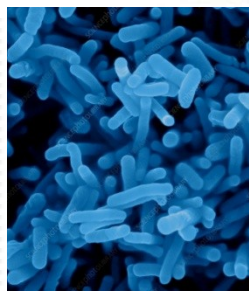
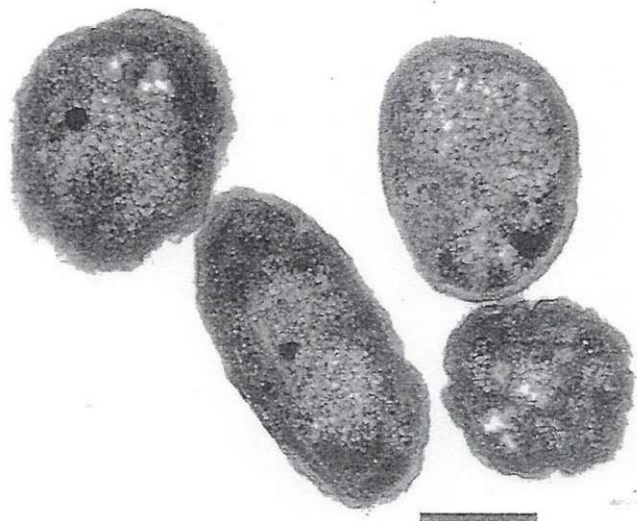
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Προϋποθέσεις Νιτροποίησης
 - Κατά την οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη από στελέχη του γένους *Nitrosomonas* παράγεται νιτρώδες οξύ που δημιουργεί την ανάγκη ρύθμισης του pH
 - Η χαμηλή τιμή του pH στα υγρά απόβλητα μπορεί να αναστείλει τη διαδικασία της νιτροποίησης
 - Το άριστο πλαίσιο pH για την ανάπτυξη των βακτηρίων νιτροποίησης είναι μεταξύ 7,5 και 7,8
 - Η άριστη θερμοκρασία για νιτροποίηση είναι μεταξύ 20 και 25°C, ενώ ο ρυθμός νιτροποίησης μειώνεται καθώς η θερμοκρασία ελαττώνεται

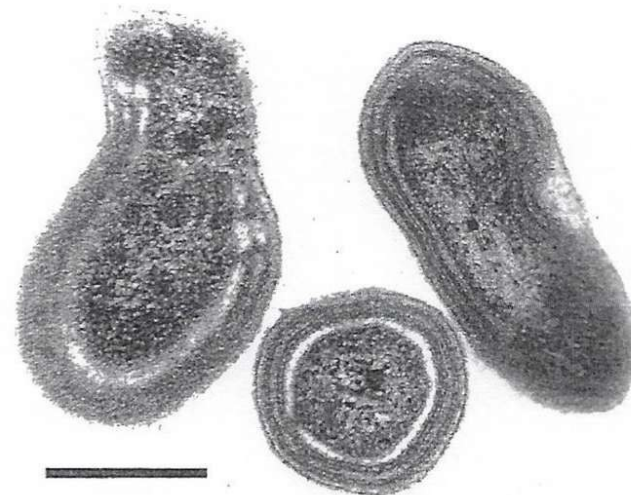
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- *Nitrosomonas sp.* & *Nitrobacter sp.*

Νιτρωδοποιητές



Νιτροποιητές



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

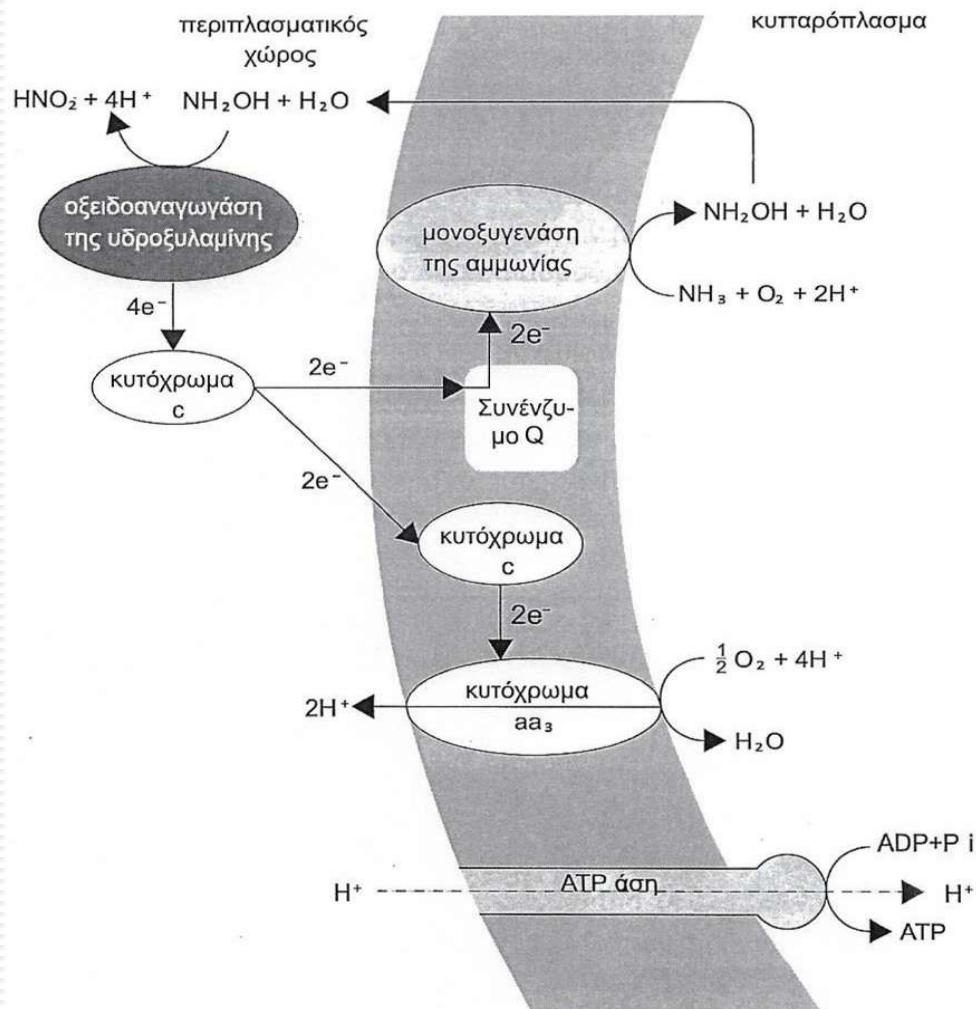
- Ένζυμα νιτροποίησης

- Παρά την περιορισμένη βιοποικιλότητα των οξειδωτών της αμμωνίας και των νιτρωδών, τα βακτήρια αυτά εμφανίζουν διαφοροποιήσεις σε ενδοκυτταρικούς σχηματισμούς που εντοπίζονται κάτω από τη μεμβράνη

- Έτσι, μερικά διαθέτουν ενδοκυτταρικούς σχηματισμούς που θυμίζουν σάκους, στρώματα ή σωλήνες, ενώ άλλα στερούνται παντελώς τέτοιων σχηματισμών.

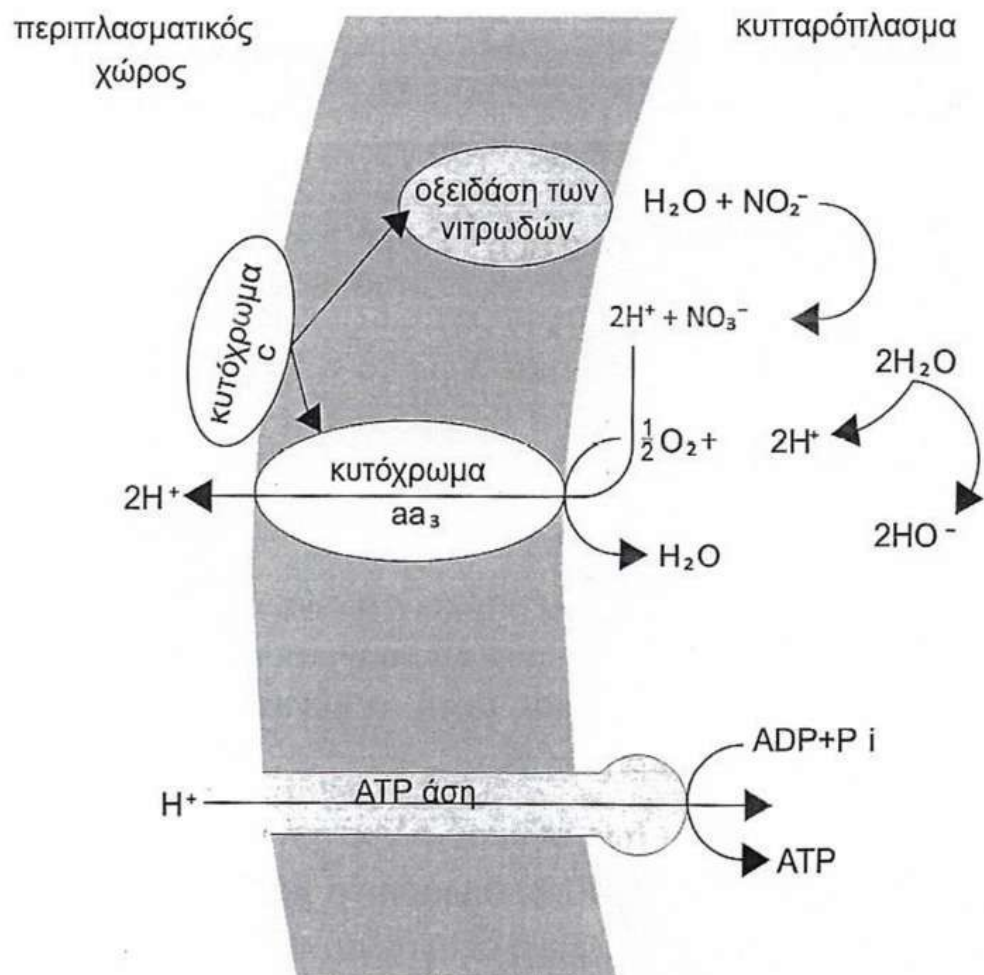
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Ένζυμα νιτροποίησης



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Ένζυμα νιτροποίησης



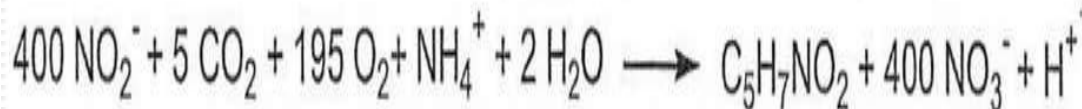
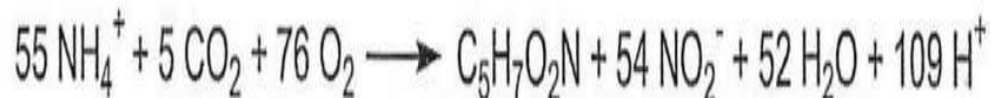
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Συνθήκες νιτροποίησης
 - Για την οξείδωση 1 g NH_4^+ απαιτούνται 3,31 g O_2 ,
 - Για κάθε mol NH_4^+ που μετατρέπεται προκύπτουν 1,98 mol H^+
 - Η μέγιστη εκλεκτικότητα ενσωμάτωσης βιομάζας ($Y_{(x/\Delta S)_{\max}}$) είναι 2-4 g/mol $\text{NH}_4^+\text{-N}$ και 0,3-0,5 g/mol $\text{NO}_2^-\text{-N}$, δηλαδή είναι σχετικά χαμηλή, γεγονός που εξηγείται από το σημαντικό βιοενεργητικό περιορισμό της αυτότροφης ανάπτυξης.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Στοιχειομετρία

- Λαμβάνοντας υπ' όψιν την παραγωγή βιομάζας, η επακριβής στοιχειομετρία της συνολικής αντίδρασης νιτροποίησης είναι:



- Κατά τη νιτροποίηση παράγονται επίσης αέριο οξείδιο και μονοξείδιο του αζώτου, μέσω αναγωγής των νιτρωδών, πιθανώς λόγω οξείδωσης της υδροξυλαμίνης


Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αναπνοή με νιτρικά ιόντα
 - Για πληθώρα μικροοργανισμών, το μοριακό οξυγόνο (O_2) είναι ο τελικός ηλεκτρονιακός δέκτης
 - Αντί του οξυγόνου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν άλλοι δέκτες ηλεκτρονίων (οξειδωμένες ενώσεις), όπως τα νιτρικά (NO_3^-) ή ακόμα και τα θειικά (SO_4^{2-}) ιόντα.
 - Η αναγωγή αυτών στα πλαίσια του ενεργειακού μεταβολισμού των μικροοργανισμών χαρακτηρίζεται ως αναερόβια (ανοξική) αναπνοή.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

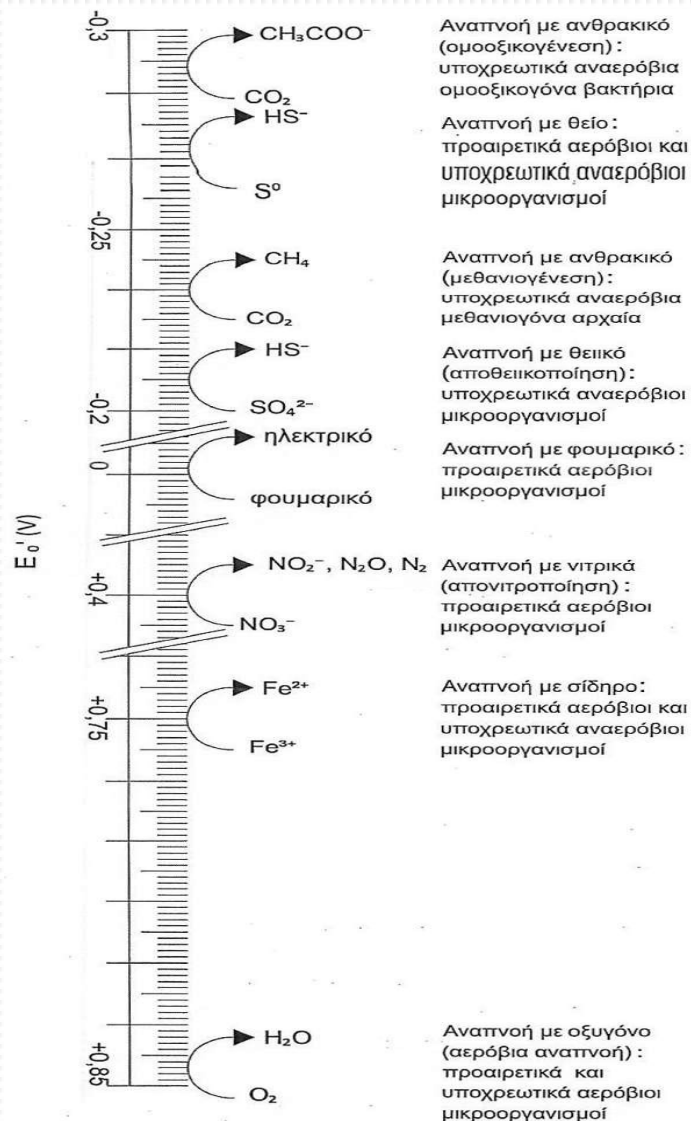
- Αναπνοή με νιτρικά ιόντα
 - Η αναπνοή με νιτρικό ονομάζεται **απονιτροποίηση** (denitrification), αφού το τελικό προϊόν της αναγωγής είναι το μοριακό άζωτο, που ως αέριο διαφεύγει στην ατμόσφαιρα
 - Αντίστοιχα, η αναπνοή με θειικό φέρει τον χαρακτηρισμό **αποθειικοποίηση** (desulfurication) με προϊόν αναγωγής το υδρόθειο (H_2S)
 - Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί που επιτελούν αναερόβια αναπνοή ανήκουν στην κατηγορία των χημειοοργανότροφων, όμως απαντώνται και χημειολιθότροφοι εκπρόσωποι

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αναπνοή με νιτρικά ιόντα
 - Σε πολλές περιπτώσεις, όπως στους απονιτροποιητικούς μικροοργανισμούς, συναγωνίζονται η αερόβια και η αναερόβια αναπνοή.
 - Το πλέον οξειδωτικό είναι το O_2 , ακολουθούμενο κατά φθίνουσα σειρά από
 - τον Fe^{3+} ,
 - το NO_3^- ,
 - το NO_2^-
 - το SO_4^{2-}
 - το CO_2
- 

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αναπνοή με νιτρικά ιόντα
 - οξειδοαναγωγικά ζεύγη
 - δυναμικό οξειδοαναγωγής

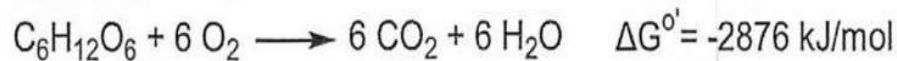


Περιβαλλοντική μικροβιολογία

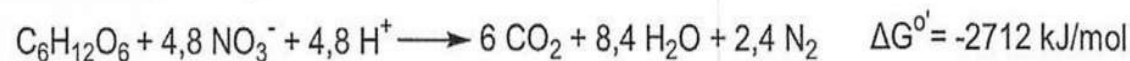
- Κυτταρική αναπνοή

- αντιδράσεις αναπνοής με ηλεκτρονιακούς δέκτες

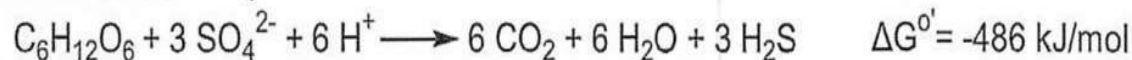
Αναπνοή με O_2



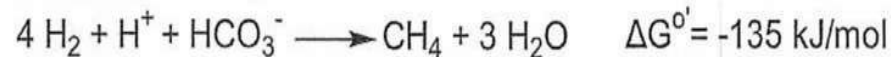
Αναπνοή με NO_3^-



Αναπνοή με SO_4^{2-}



Αναπνοή με CO_2



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Απονιτροποίηση

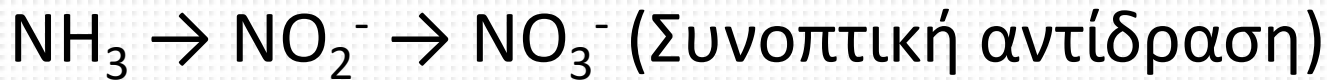
- Κατά την αναερόβια αναπνοή με νιτρικά, πραγματοποιείται μετατροπή των NO_3^- σε NO_2^- , NO , N_2O και N_2 .

- Στα πλαίσια του ενεργειακού μεταβολισμού, τα προϊόντα αναγωγής του νιτρικού είναι αέρια που διαφεύγουν στην ατμόσφαιρα, με συνέπεια να μιλούμε για απονιτροποίηση

- Στην επεξεργασία αποβλήτων όμως, η απονιτροποίηση είναι αναγκαία, διότι αποφεύγεται ο ευτροφισμός φυσικών υδάτων.

Διαδικασία νιτροποίησης

Amo



- οξειδωτές της αμμωνίας (AOB)
- οξειδωτές των νιτρωδών (NOB)

Αργή διαδικασία λόγω της αυτότροφης ανάπτυξης

Διαδικασία απονιτροποίησης

Nir

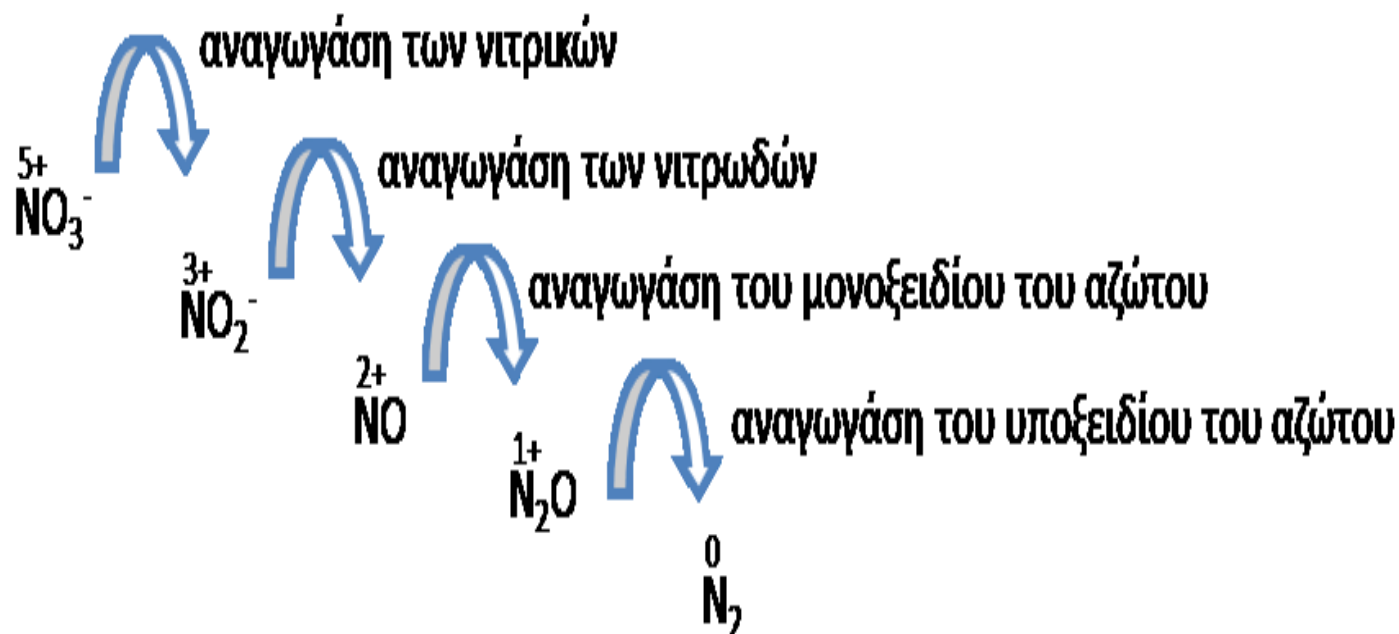


(Συνοπτική αντίδραση)

- ιδιαιτέρως εξώθερμες διεργασίες
- χημειοτερότροφοι μικροοργανισμοί
- τελικός δέκτης ηλεκτρονίων τα νιτρικά ή τα νιτρώδη
- ενζυμο κλειδί στη διαδικασία: Nir

Διαδικασία απονιτροποίησης

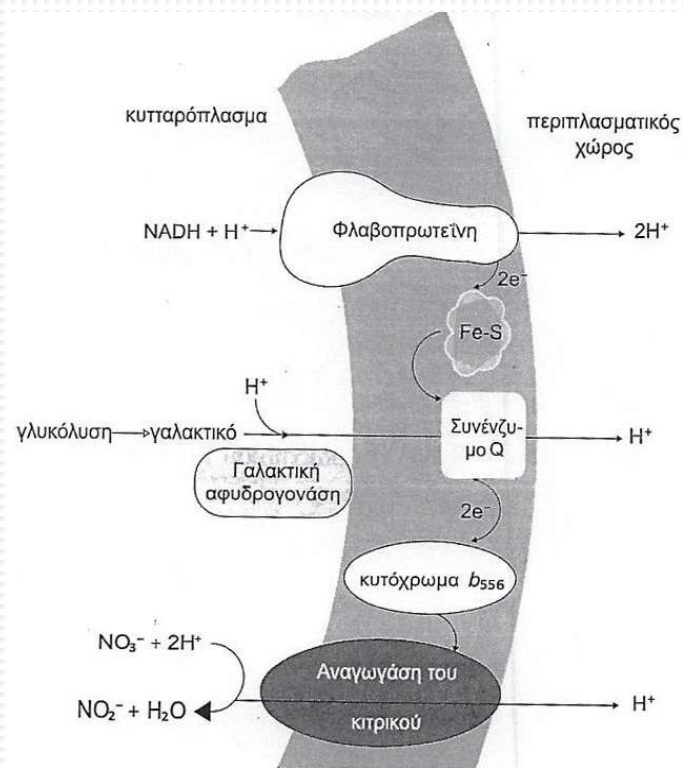
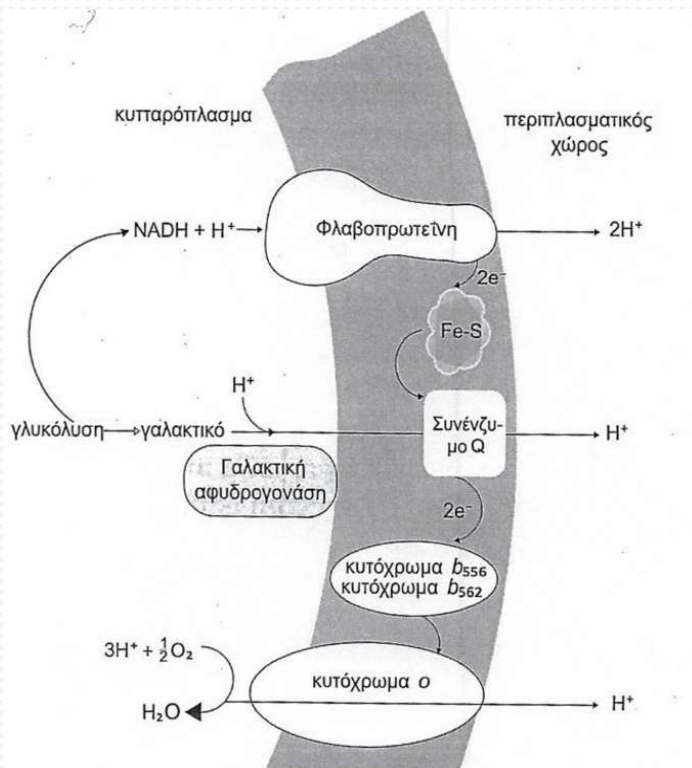
Απονιτροποίηση



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

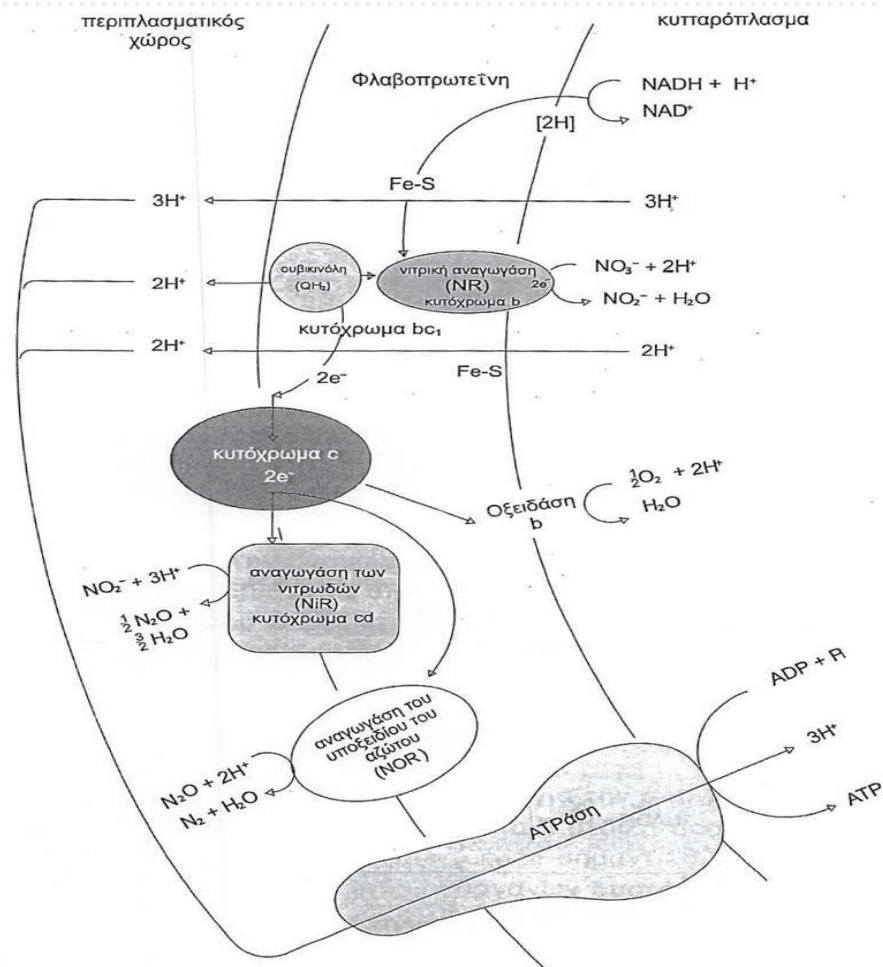
- Απονιτροποίηση

- Αναπνευστική αλυσίδα *Escherichia coli* αερόβια και ανοξικά



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Απονιτροποίηση



Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, *Paracoccus denitrificans*

Διαδικασία απονιτροποίησης

Απονιτροποίηση

- Σε επιβαρυμένα απόβλητα οι υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας και κατά συνέπεια νιτρικών προς αναγωγή, προϋποθέτουν τη διαθεσιμότητα ικανής ποσότητας δότη ηλεκτρονίων που συχνά δεν είναι πλήρως διαθέσιμος στο επεξεργαζόμενο υγρό απόβλητο
- Η απονιτροποίηση καταναλώνει περίπου 3,7 g ευκόλως βιοδιασπώμενου COD ανά g NO_3^- -N, σχηματίζοντας ταυτόχρονα 0,45 g νέα κύτταρα και 3,57 g αλκαλικότητας

Διαδικασία απονιτροποίησης

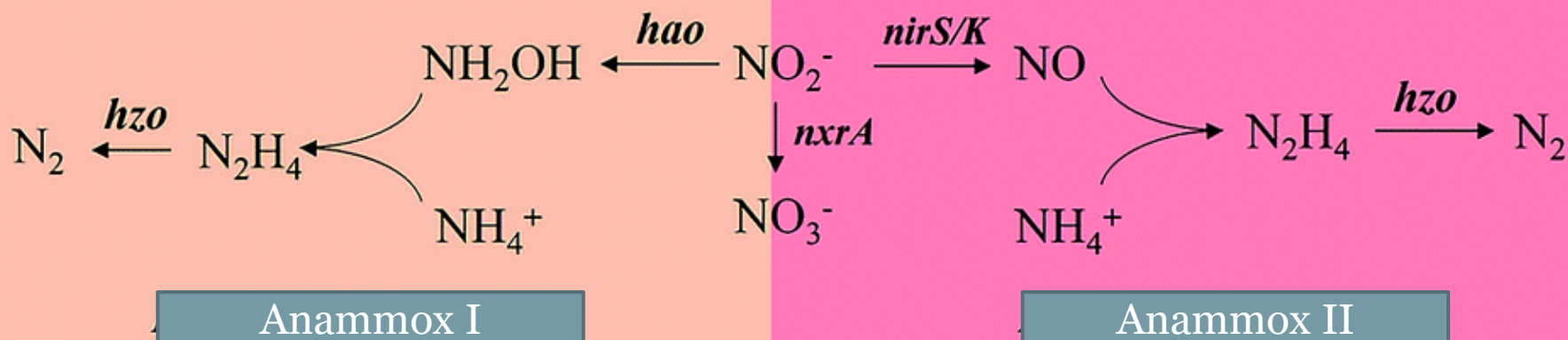
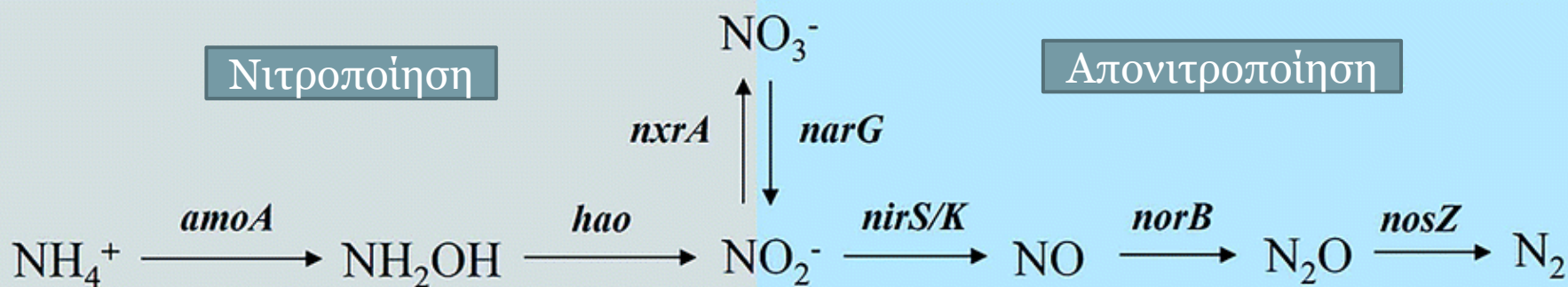
Απονιτροποίηση

• Ενδεικτικά αναφέρονται οι συντελεστές M/N που εκφράζουν την ποσότητα του ηλεκτρονιακού δότη που είναι απαραίτητος για την απονιτροποίηση 1g νιτρικού αζώτου

- $M_{\text{CH}_3\text{OH}}/\text{N}$: 2,47g $\text{CH}_3\text{OH}/\text{g NO}_3^- \text{-N}$
- $M_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}/\text{N}$: 2,01g $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{g NO}_3^- \text{-N}$
- $M_{\text{CH}_3\text{COOH}}/\text{N}$: 3,51g $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{g NO}_3^- \text{-N}$
- M_{H_2}/N : 0,48g $\text{H}_2/\text{g NO}_3^- \text{-N}$

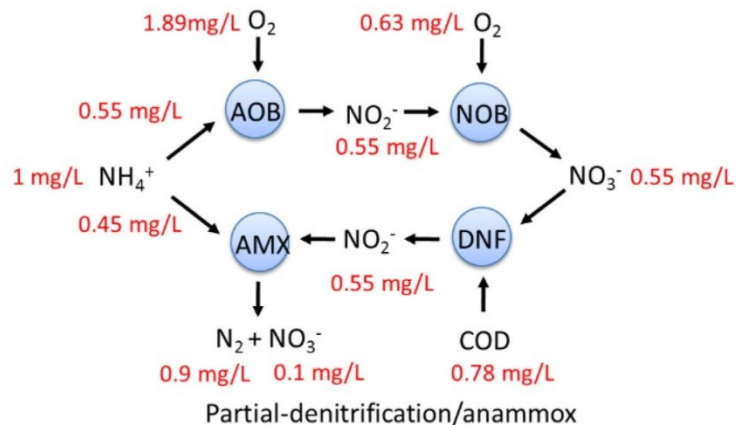
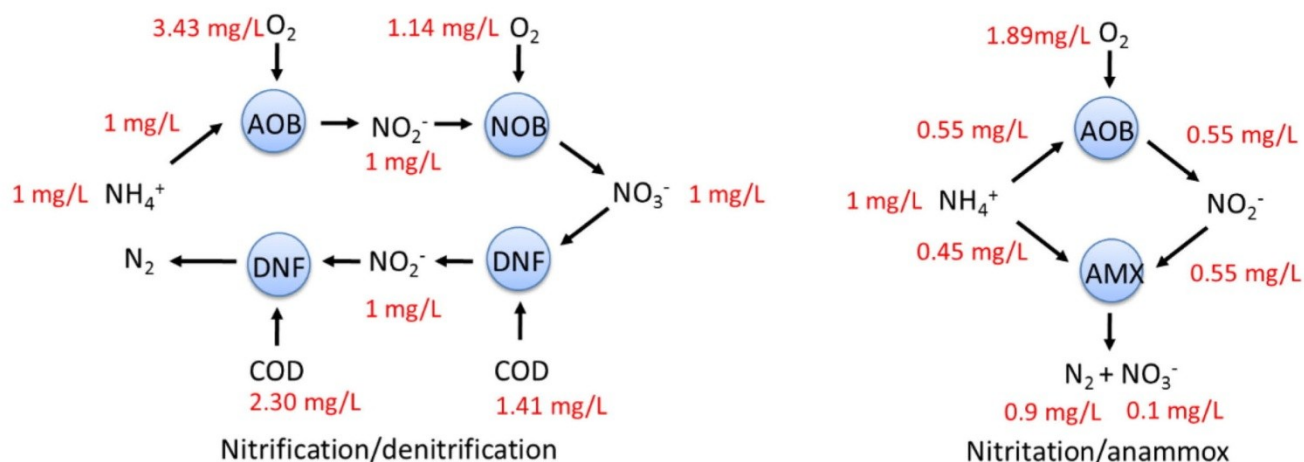
Αφαίρεση θρεπτικών αζώτου - Ένζυμα

Νιτροποίηση-Απονιτροποίηση-Αναμμοξ



Αφαίρεση θρεπτικών αζώτου - Ένζυμα

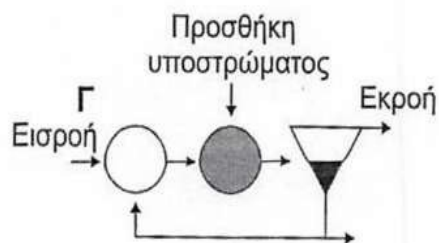
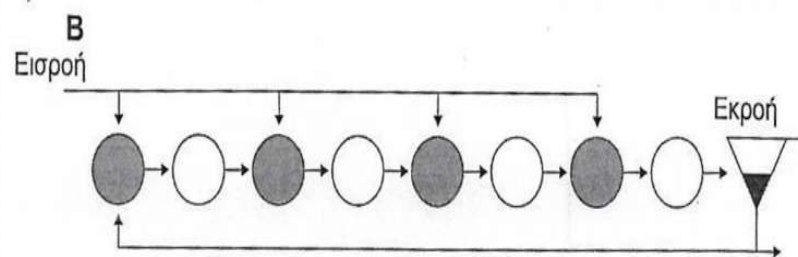
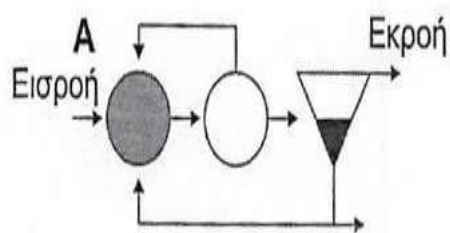
Νιτροποίηση-Απονιτροποίηση-Αναμμοξ



Διαδικασία απονιτροποίησης

Συστήματα Απονιτροποίησης

- Μέθοδοι βιολογικής αφαίρεσης αζώτου Α. Προτεταμένη απονιτροποίηση Β. Σε συστοιχία Γ.ακολουθούσα

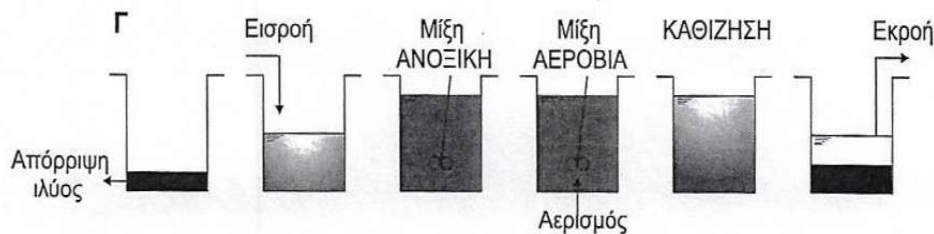
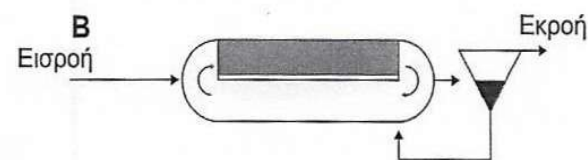
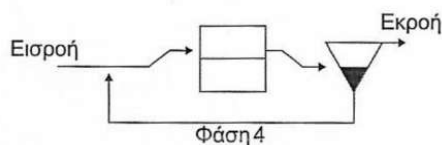
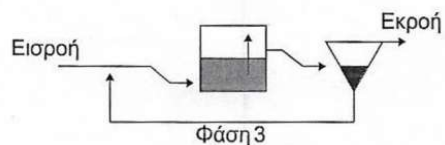
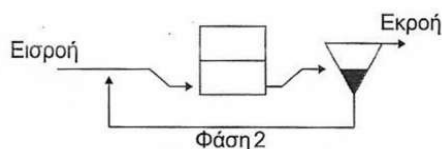
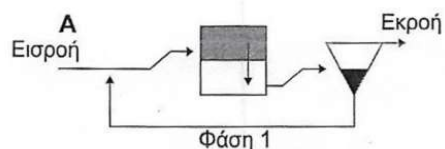


Διαδικασία απονιτροποίησης

Συστήματα Απονιτροποίησης

- Κυκλικές μέθοδοι για τη βιολογική αφαίρεση αζώτου

A. BioDenitro B. Οξειδωτική τάφρος Γ. SBR

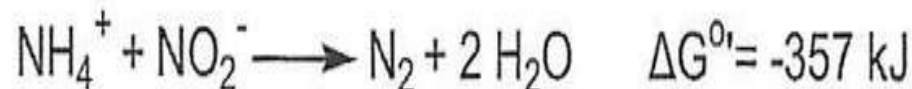


Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Anammox – Αναερόβια οξείδωση αμμωνίας

- Αν και η οξείδωση της αμμωνίας από τα νιτροποιητικά βακτήρια είναι μία αερόβια διεργασία, η οξείδωση αυτής μπορεί να επιτευχθεί και σε αναερόβιες συνθήκες (κατ' ουσίαν ανοξικές).

- Η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας ή anammox (anaerobic ammonia oxidation), είναι έντονα εξώεργη διεργασία, κατά την οποία το νιτρώδες είναι ο ηλεκτρονιακός δέκτης, ενώ το αποτέλεσμα αυτής είναι η έκλυση μοριακού αζώτου:



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Anammox – Αναερόβια οξείδωση αμμωνίας
 - Οι μικροοργανισμοί που επιτελούν την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας (anammox) είναι χημειοαυτότροφα βακτήρια που ανήκουν στο φύλο *Planctomycetes*
 - Βάσει της φυλογενετικής τους θέσης, έχουν προταθεί ως σήμερα πέντε (5) «υποψήφια» γένη βακτηρίων που επιτελούν την αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

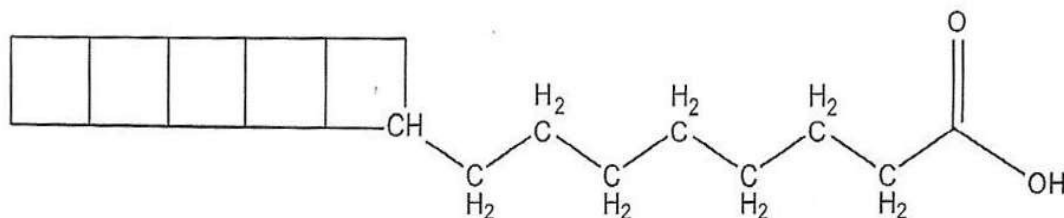
- Anammox – Αναερόβια οξείδωση αμμωνίας
 - Τα τέσσερα από αυτά
 - ❖ *Candidatus Brocadia*,
 - ❖ *Candidatus Kuenenia*,
 - ❖ *Candidatus Anammoxoglobus*
 - ❖ *Candidatus Jettenia*, έχουν ανιχνευτεί σε περιβάλλοντα γλυκών υδάτων
 - το δε πέμπτο
 - ❖ *Candidatus Scalindua* έχει ταυτοποιηθεί σε θαλάσσια περιβάλλοντα

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Anammox – Αναερόβια οξείδωση αμμωνίας
 - Η αντίδραση anammox λαμβάνει χώρα σε μια ενδοκυτταρική δομή που ονομάζεται anammoxosome
 - Η μεμβράνη των anammox βακτηρίων αποτελείται από μέλη μιας μοναδικής, για τους μικροοργανισμούς, κατηγορίας λιπιδίων, που ονομάζεται ladderanes
 - Λόγω της ύπαρξης δύο ή περισσότερων συντηγμένων κυκλοβουτανίων στο άκρο της λιπόφιλης αλυσίδας, σχηματίζοντας μία δομή παρόμοια με σκάλα

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Anaerobes – Αναερόβια οξείδωση αμμωνίας
 - Η ύπαρξη τέτοιων λιπιδίων στη μεμβράνη των anaerobes βακτηρίων εξασφαλίζει τη συνοχή της.



Παράδειγμα laddderane

- Το pH ανάπτυξης των anaerobes βακτηρίων κυμαίνεται μεταξύ 6.5 και 9, με βέλτιστο το pH 8.
- Η αναερόβια οξείδωση της αμμωνίας επιτελείται βέλτιστα σε θερμοκρασία 37°C.

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Αναμμοχ – Αναερόβια οξείδωση αμμωνίας
 - Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των αναμμοχ βακτηρίων είναι ο εξαιρετικά μικρός ρυθμός ανάπτυξής τους, όπου ο χρόνος διπλασιασμού τους είναι περίπου 11 ημέρες
 - Ο αργός ρυθμός ανάπτυξης των αναμμοχ βακτηρίων καθιστά δύσκολη τη σταθεροποίηση της αναμμοχ στο στάδιο της εκκίνησης μονάδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, με αποτέλεσμα στο στάδιο αυτό συνήθως να απαιτείται προσθήκη αρκετής ποσότητας προσαρμοσμένης αναμμοχ βιομάζας

Περιβαλλοντική Μικροβιολογία

Συστήματα μεμβρανών

- Οι βιοαντιδραστήρες μεμβρανών στηρίζονται στη βιολογική αποδόμηση των θρεπτικών συστατικών του υγρού αποβλήτου που τίθεται υπό επεξεργασία μέσω της
 - ❖ μικρο-
 - ❖ νανο-
 - ❖ υπερ-διήθησης
 - ❖ αντίστροφης ώσμωσης

Περιβαλλοντική Μικροβιολογία

Συστήματα μεμβρανών

- Βάσει του πορώδους τα κυριότερα είδη μεμβρανών είναι:
 - ❖ Μεμβράνες μικροδιήθησης (MF)
 - ❖ Μεμβράνες Υπερδιήθησης (UF)
 - ❖ Μεμβράνες Νανοδιήθησης (NF)
 - ❖ Μεμβράνες Αντίστροφης Όσμωσης (RO)

Περιβαλλοντική Μικροβιολογία

Συστήματα μεμβρανών

- για την μικροδιήθηση το μέγεθος των πόρων της μεμβράνης κυμαίνεται μεταξύ 0,1-10 μm ώστε το διήθημα να περιλαμβάνει νερό και διαλυτά σε αυτό συστατικά,
- για την υπερδιήθηση το μέγεθος αυτό κινείται μεταξύ 0,01-0,1 μm με το διήθημα να περιέχει νερό και διαλυτά μόρια,
- μειώνεται στην νανοδιήθηση, όπου οι πόροι βρίσκονται μεταξύ 0,001-0,01 μm
- για την αντίστροφη ώσμωση το μέγεθος των πόρων είναι ακόμη μικρότερο, μεταξύ 0,0001-0,001 μm

Περιβαλλοντική Μικροβιολογία

Συστήματα μεμβρανών

- Τα κύρια υλικά κατασκευής των μεμβρανών αποτελούνται από μεγαλομοριακές ενώσεις όπως:

1. Πολυπροπυλένιο
2. Ακρυλονιτρίλιο
3. Πολυβινυλοφθορίδιο
4. Πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Teflon)
5. Αλειφατικά πολυαμίδια (Nylon)
6. Αρωματικά πολυαμίδια

Περιβαλλοντική Μικροβιολογία

Συστήματα μεμβρανών

- Πλεονεκτήματα

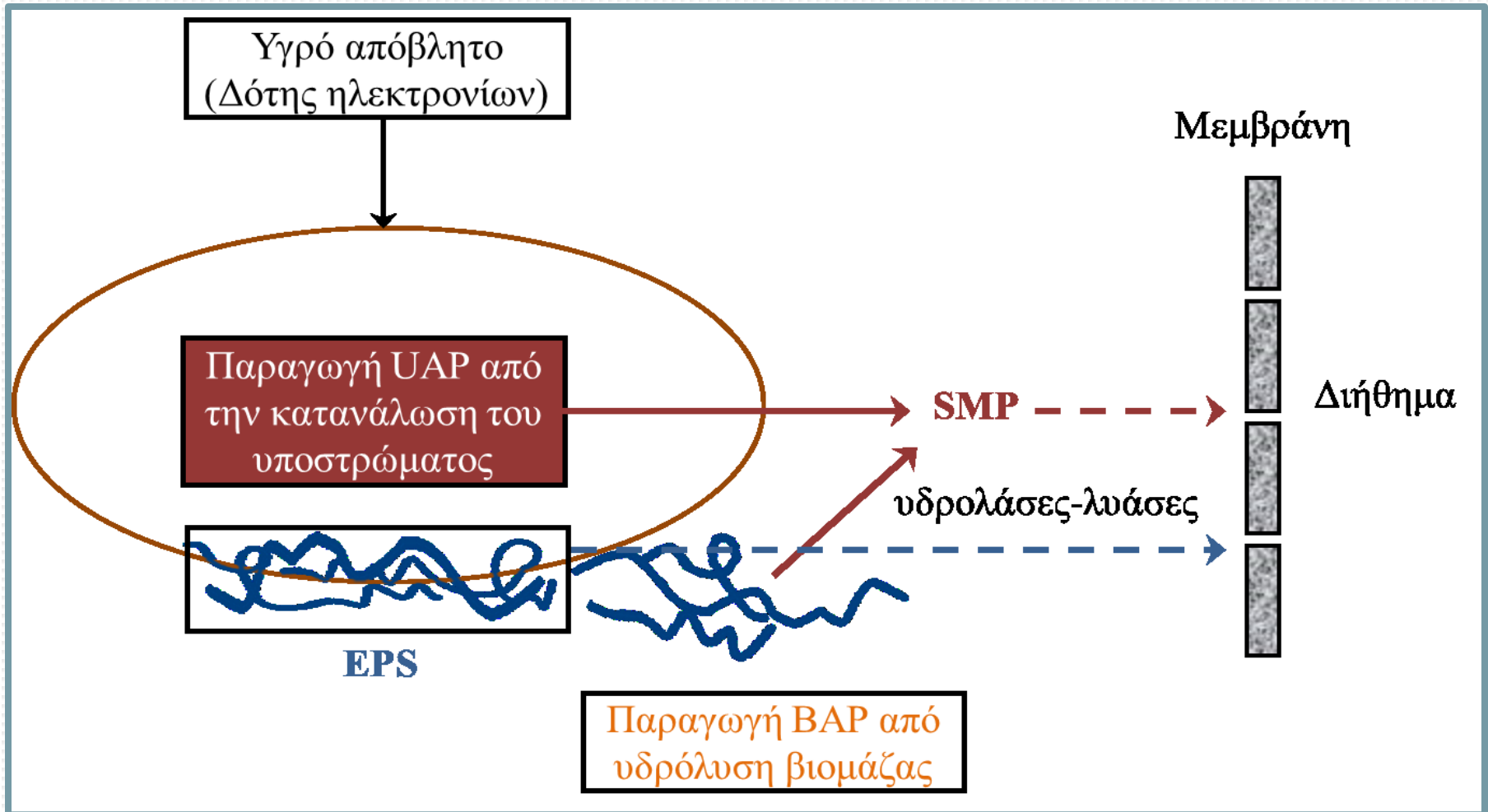
α) η παραλαβή εκροής με μειωμένα θρεπτικά συστατικά (BOD, COD, ολικό άζωτο) σε ένα μόνο στάδιο,

β) ηλικία της ιλύος (SRT) που παρέχει έλεγχο των βιολογικών διεργασιών και πλούσια σε μικροοργανισμούς προσαρμοσμένη βιομάζα,

γ) ο έλεγχος διακυμάνσεων στο εισερχόμενο οργανικό φορτίο και η αντιμετώπιση των μεταβολών αυτών από τη βιομάζα

δ) η μειωμένη και ελεγχόμενη παραγωγή ιλύος σε σχέση με άλλες αερόβιες διεργασίες

Έμφραξη της μεμβράνης



Εξωκυτταρικά βιοπολυμερή

- Η έμφραξη οργανικής προέλευσης προκαλείται από την εναπόθεση βιοπολυμερών στην επιφάνεια της μεμβράνης, όπως είναι:
 - οι πρωτεΐνες
 - οι πολυσακχαρίτες
 - τα νουκλεϊκά οξέα
 - τα φωσφολιπίδια
 - τα εξωκυτταρικά ένζυμα



Λόγω του μικρού τους μεγέθους και της εύκολης μεταφοράς τους κατά τη διήθηση του μικτού υγρού δημιουργούν ανάσχεση της ροής διαμέσου των πόρων της μεμβράνης

Εξωκυτταρικά βιοπολυμερή

- Τα συστατικά που ελευθερώνονται κατά τη μικροβιακή δραστηριότητα στο μικτό υγρό, εξαιτίας της:
 - ❖ σύνθεσης και της λύσης των κυττάρων
 - ❖ διάχυσής τους από την κυτταρική μεμβράνη
 - ❖ έκκρισής τους κατά τις αλληλεπιδράσεις των οργανισμών

αποτελούν στο σύνολό τους το διαλυτό μικροβιακό προϊόν

Soluble Microbial Product - SMP

Εξωκυτταρικά βιοπολυμερή

Extracellular polymeric substances - EPS

- Τα EPS αποτελούνται κατά κύριο λόγο από:
 - ❖ πολυσακχαρίτες, οι οποίοι είναι πολυμερή μονομερών γλυκοζιτών, όπως γλυκόζη, μανόζη, ριβόζη και γαλακτόζη
 - ❖ πρωτεΐνες, που η πρωτοταγής τους δομή προέρχεται από τη σύνδεση αμινοξέων, όπως γλουταμινικό, ασπαρτικό, αλανίνη, λευκίνη και κυστεΐνη
 - ❖ λιπίδια, νουκλεϊκά και χουμικά οξέα μπορούν επίσης να εντοπιστούν σε μικρότερο βαθμό

Εξωκυτταρικά βιοπολυμερή

Extracellular polymeric substances - EPS

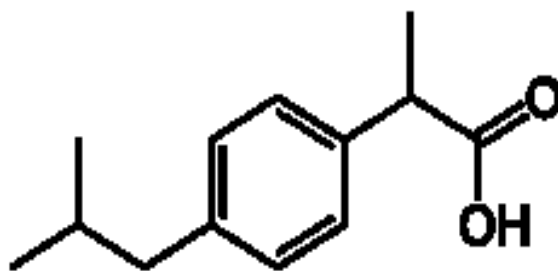
- Τα εξωκυτταρικά πολυμερή:
 - ❖ περιλαμβάνουν ένα ισχυρά προσκολλημένο στη βιομάζα τμήμα και
 - ❖ ένα εξωτερικό, το οποίο παρουσιάζει ένα ασθενέστερο δεσμό με τη νιφάδα
 - ❖ Συνήθως, τα προσκολλημένα πρωτεϊνικά συστατικά αποτελούν μέρος του εσωτερικού τμήματος των EPS, ενώ οι πολυσακχαρίτες εντοπίζονται στο εξωτερικό τμήμα

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

Η βιοδιάσπαση της ιβουπροφαίνης και ο προσδιορισμός του μικροβιακού πληθυσμού σε βιοαντιδραστήρα ακινητοποιημένης βιομάζας

Περιβαλλοντική μικροβιολογία

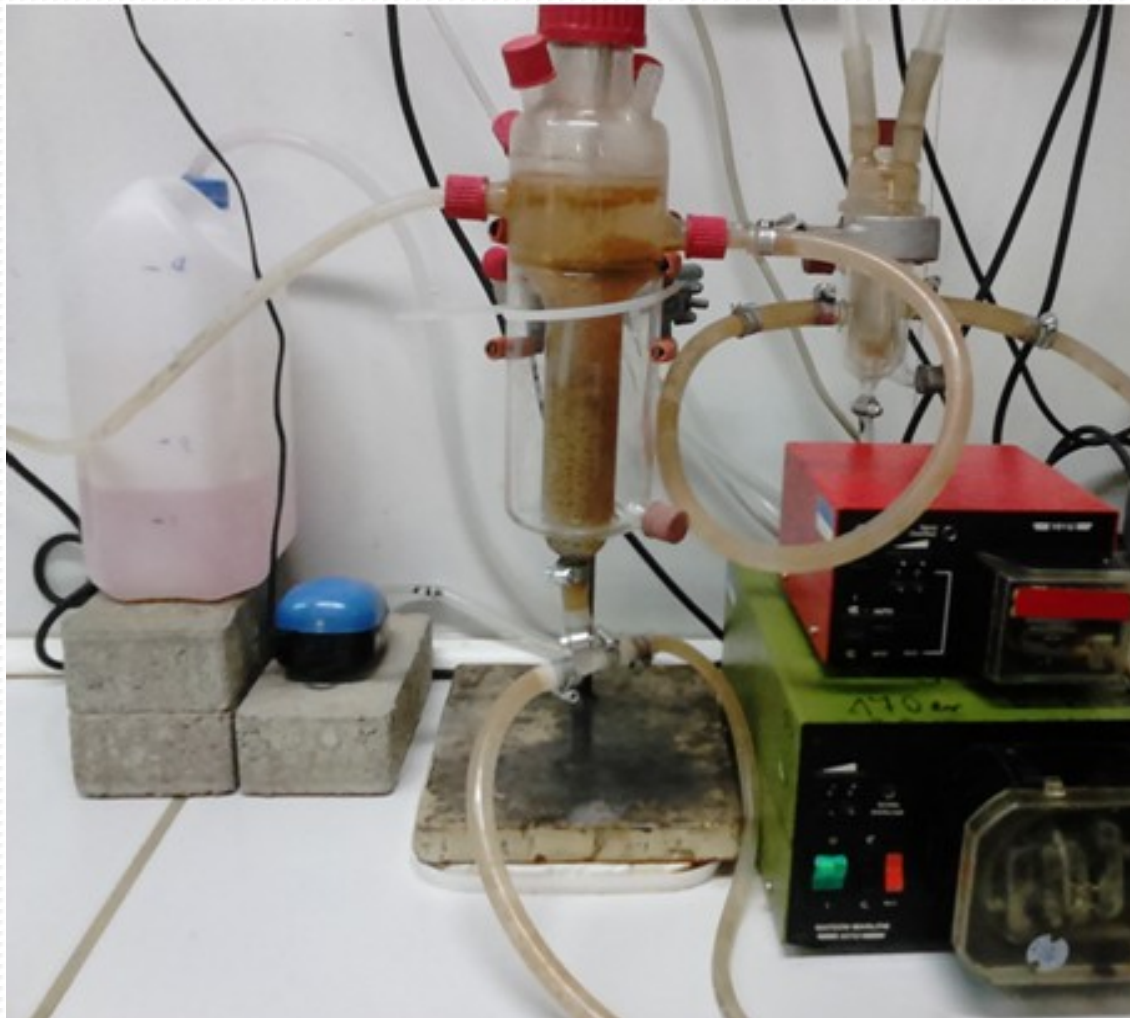
- Η ιβουπροφαίνη, γνωστή κατά IUPAC ως (RS)-2-(4-ισοβουτυλ-φαινυλ)-προπιονικό οξύ, αποτελεί ένα από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (Μ.Σ.Α.Φ.).
- Οι πιο κοινές θεραπευτικές ιδιότητες της ιβουπροφαίνης περιλαμβάνουν τη δράση της έναντι φλεγμονών της αρθρίτιδας και του πονόδοντου, καθώς και την αντιμετώπιση εμπύρετων καταστάσεων



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Ενίσχυση του μικροβιακού πληθυσμού της ενεργού ιλύος που ήταν ικανός να βιοδιασπά την ιβουπροφαίνη,
- Διαδικασία εμπλουτισμού, υψηλή συγκέντρωση ιβουπροφαίνης εισερχόταν στο βιολογικό σύστημα κατά την τροφοδοσία συνθετικού υγρού αποβλήτου
- Αξιολόγηση της απόδοσης του βιοσυστήματος κατά την εφαρμογή υψηλής συγκέντρωσης ιβουπροφαίνης για παρατεταμένη περίοδο
- Προσδιορισμός της δομής των μικροβιακών κοινοτήτων στην εμπλουτισμένη βιομάζα, χρησιμοποιώντας τεχνικές προσδιορισμού αλληλουχίας υψηλής απόδοσης (Illumina αλληλούχιση).

Περιβαλλοντική μικροβιολογία



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Ο βιοαντιδραστήρας ακινητοποιημένης βιομάζας κατά το στάδιο εκκίνησης εμβολιάστηκε με 50 mL ενεργού ιλύος, προερχόμενη από βιοαντιδραστήρα μεμβρανών (MBR) που επεξεργαζόταν αστικά υγρά απόβλητα
- Το συνθετικό υγρό απόβλητο που περιείχε ιβουπροφαίνη παρασκευάστηκε αρχικά με προσθήκη ενός εμπορικά διαθέσιμου δισκίου ιβουπροφαίνης 600 mg διαλυμένο σε 1 L απεσταγμένου νερού
- Προστέθηκαν 0,2 g/L εκχυλίσματος ζύμης και 8 mg/L NH_4Cl , προκειμένου να ευνοηθεί η μικροβιακή ανάπτυξη.

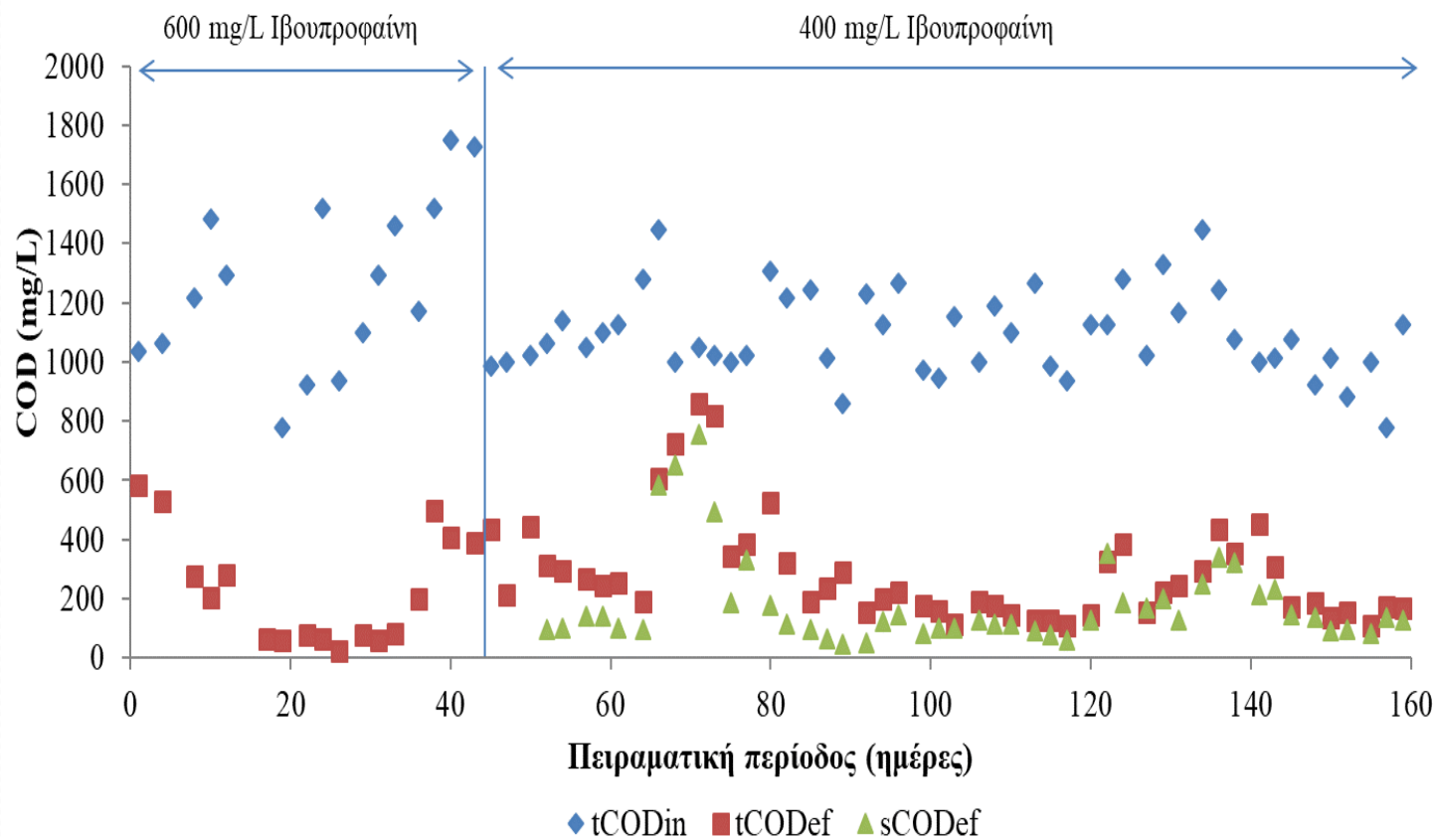
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές 27F (5'-AGR GTT TGATCM TGG CTC AG 3') και 519R (5'GTN TTA CNG CGG CKG CTG-3') για την ενίσχυση της περιοχής V1-V3 του γονιδίου 16S rRNA του βακτηριακού πληθυσμού
- Για την ενίσχυση της περιοχής ITS2 του πληθυσμού μυκήτων έλαβε χώρα χρήση των εκκινητών ITS3F (5'-GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC-3') και ITS4R (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3').

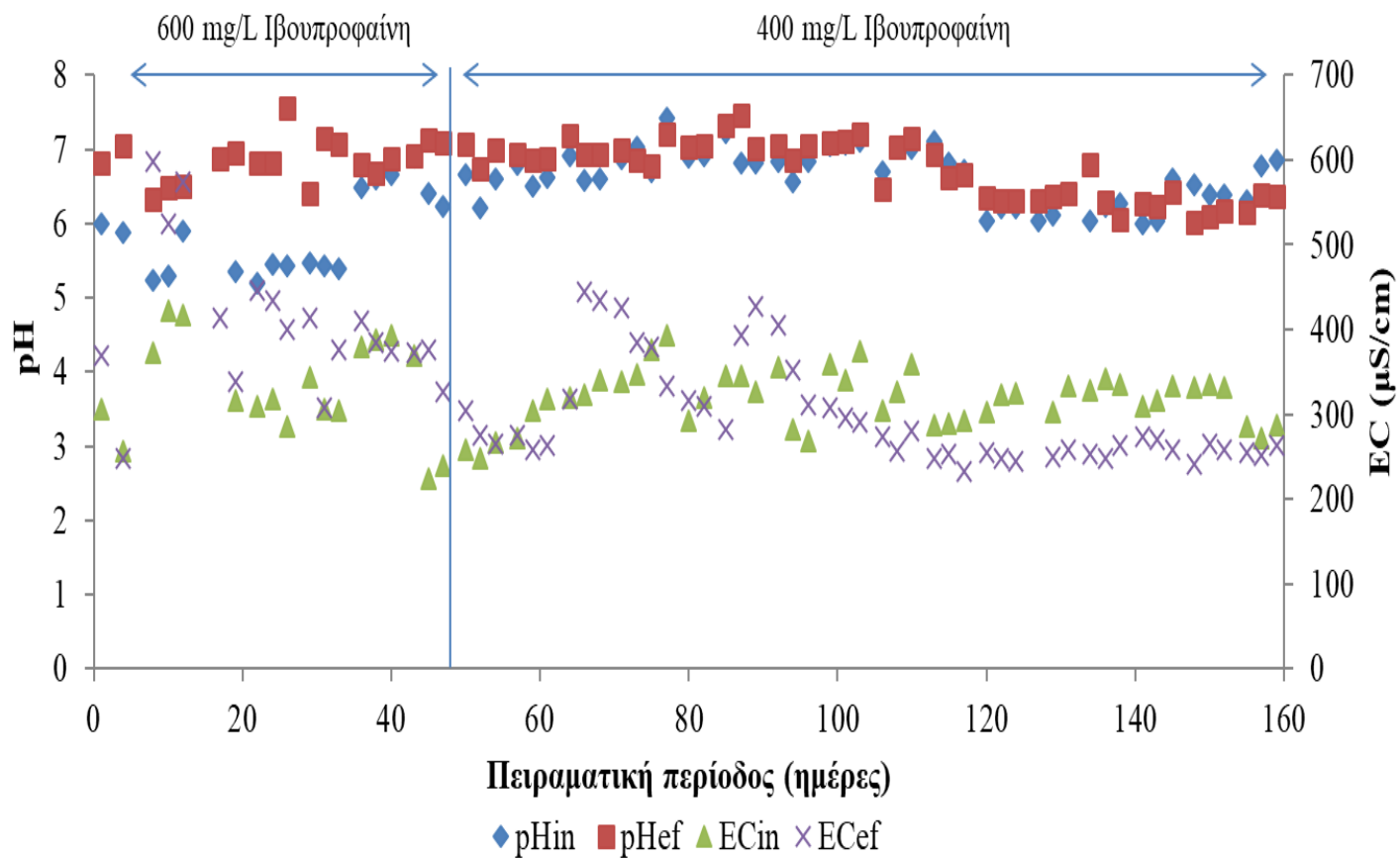
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

- Θερμικό πρόγραμμα αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης
 - Αρχικό στάδιο 3 min στους 94 °C, ως στάδιο αποδιάταξης του DNA
 - 28 κύκλοι
 - Κάθε κύκλος περιλάμβανε 30 sec στους 94 °C, 40 sec στους 53 °C και 1 min επιμήκυνση νουκλεοτιδικών αλληλουχιών στους 72 °C
 - Τέλος, περιλήφθηκε ένα τελικό στάδιο επιμήκυνσης στους 72 °C για 5 min

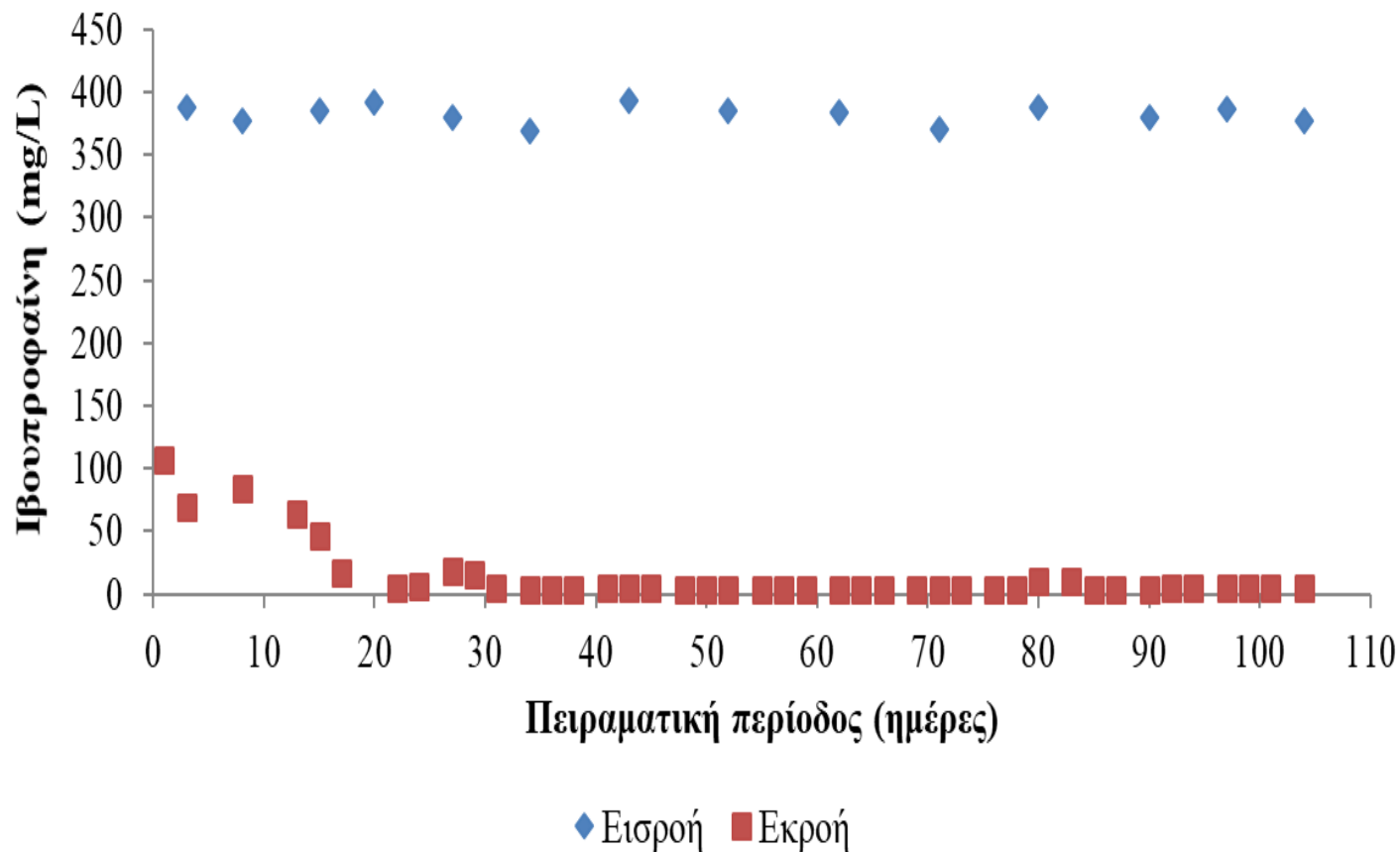
Περιβαλλοντική μικροβιολογία



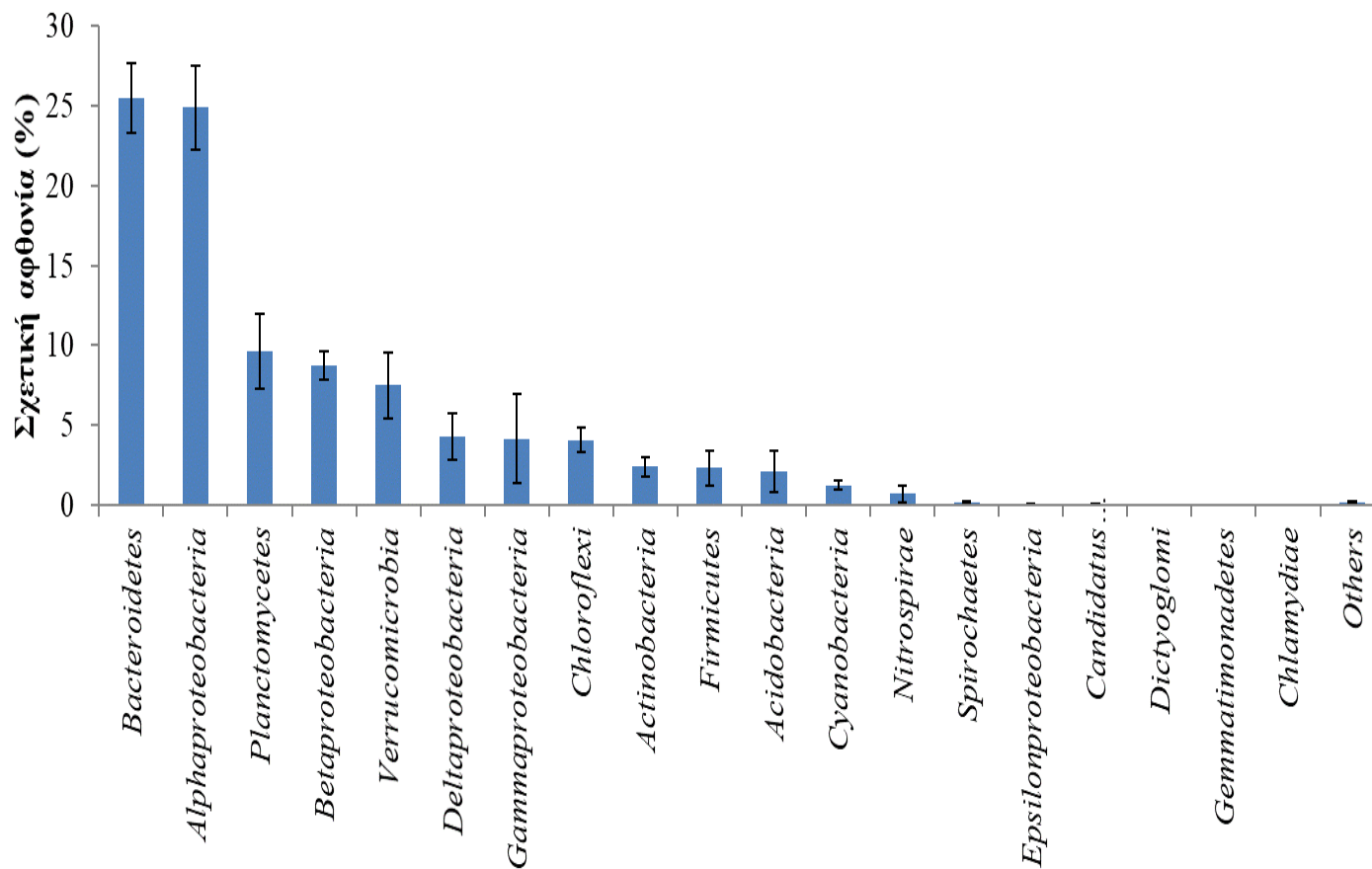
Περιβαλλοντική μικροβιολογία



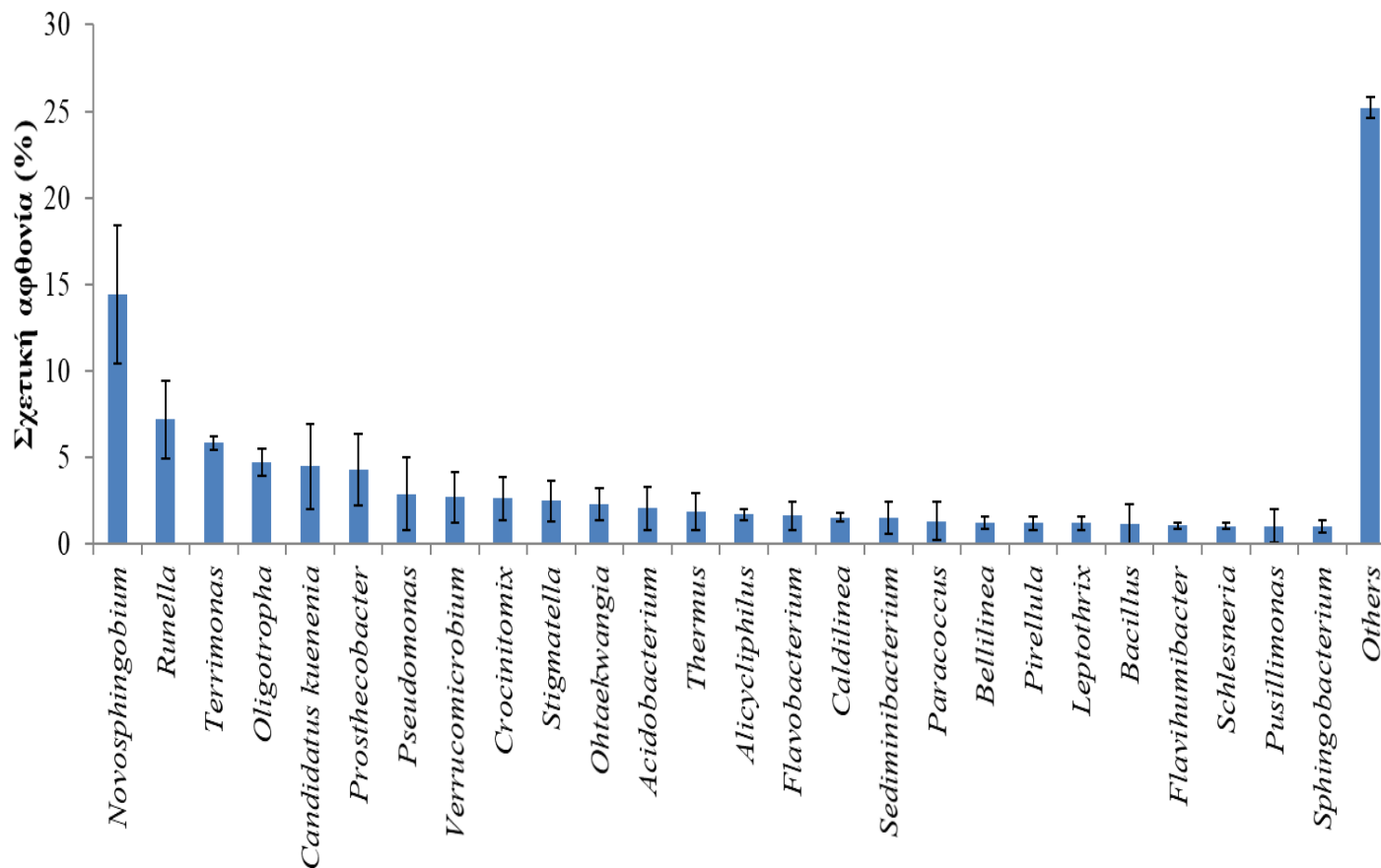
Περιβαλλοντική μικροβιολογία



Περιβαλλοντική μικροβιολογία



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

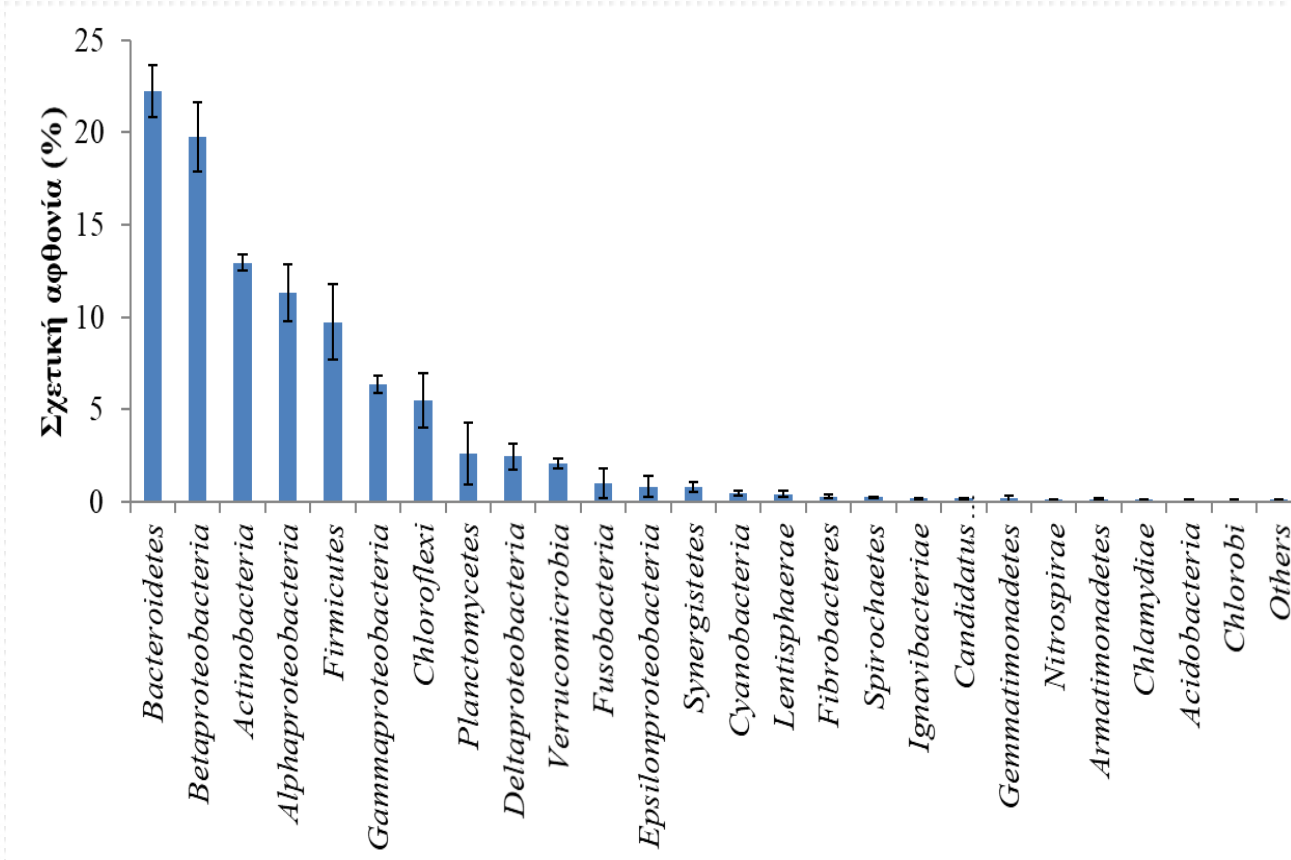


Περιβαλλοντική μικροβιολογία

	Δισκία IBU	Καθαρή IBU		Δισκία IBU	Καθαρή IBU
<i>Achromobacter</i> *	0,0	0,4	<i>Gordonia</i> **	0,4	0,1
<i>Alicyclophilus</i> **	1,7	0,0	<i>Hydrogenophaga</i> *	0,3	0,0
<i>Angustibacter</i> **	0	0,3	<i>Isosphaera</i> **	0,6	0,0
<i>Arthrospira</i> **	0,0	1,8	<i>Leptothrix</i> **	1,2	0,0
<i>Bellilinea</i> **	1,3	0,0	<i>Methylibium</i> **	0,5	0,1
<i>Blastopirellula</i> **	0,4	0,1	<i>Methylosinus</i> **	0,0	1,1
<i>Bradyrhizobium</i> **	0,0	1,4	<i>Nakamurella</i> **	0,0	0,6
<i>Caldilinea</i> **	1,5	0,1	<i>Oligotropha</i> **	4,7	0,2
<i>Candidatus Kuenenia</i> *	4,5	0,0	<i>Pirellula</i> **	1,2	0,0
<i>Chloroflexus</i> **	0,7	0,0	<i>Polyangium</i> *	0,6	0,0
<i>Conexibacter</i> **	0,5	0,0	<i>Propionicimonas</i> *	0	0,4
<i>Crocinitomix</i> **	2,7	0,0	<i>Ramlibacter</i> **	0,4	0,0
<i>Derxia</i> **	0,5	0,0	<i>Reyranella</i> *	0,0	0,4
<i>Devosia</i> **	0,8	0,0	<i>Rhizobium</i> *	0,0	2,4
<i>Dokdonella</i> *	0,1	3,9	<i>Rhodanobacter</i> **	0	25,1
<i>Dongia</i> **	0,1	1,2	<i>Rhodopseudomonas</i> **	0,0	4,4
<i>Dyella</i> **	0	0,5	<i>Runella</i> **	7,2	0,0
<i>Enterococcus</i> **	0	0,3	<i>Saccharibacter</i> *	0,2	1,0
<i>Eubacterium</i> **	0,6	0,0	<i>Schlesneria</i> **	1,0	0,1
<i>Filomicrobium</i> *	0	0,3	<i>Sphingopyxis</i> *	0,1	0,9
<i>Flaviumibacter</i> **	1,1	0,0	<i>Spirulina</i> **	0,9	0,0
<i>Flavobacterium</i> *	1,6	0,1	<i>Terrimonas</i> **	5,8	0,0
<i>Gemmata</i> **	0,6	0,1	<i>Thauera</i> **	0,4	0,0
<i>Gloeobacter</i> *	0,3	2,0	<i>Verrucomicrobium</i> *	2,7	0,1

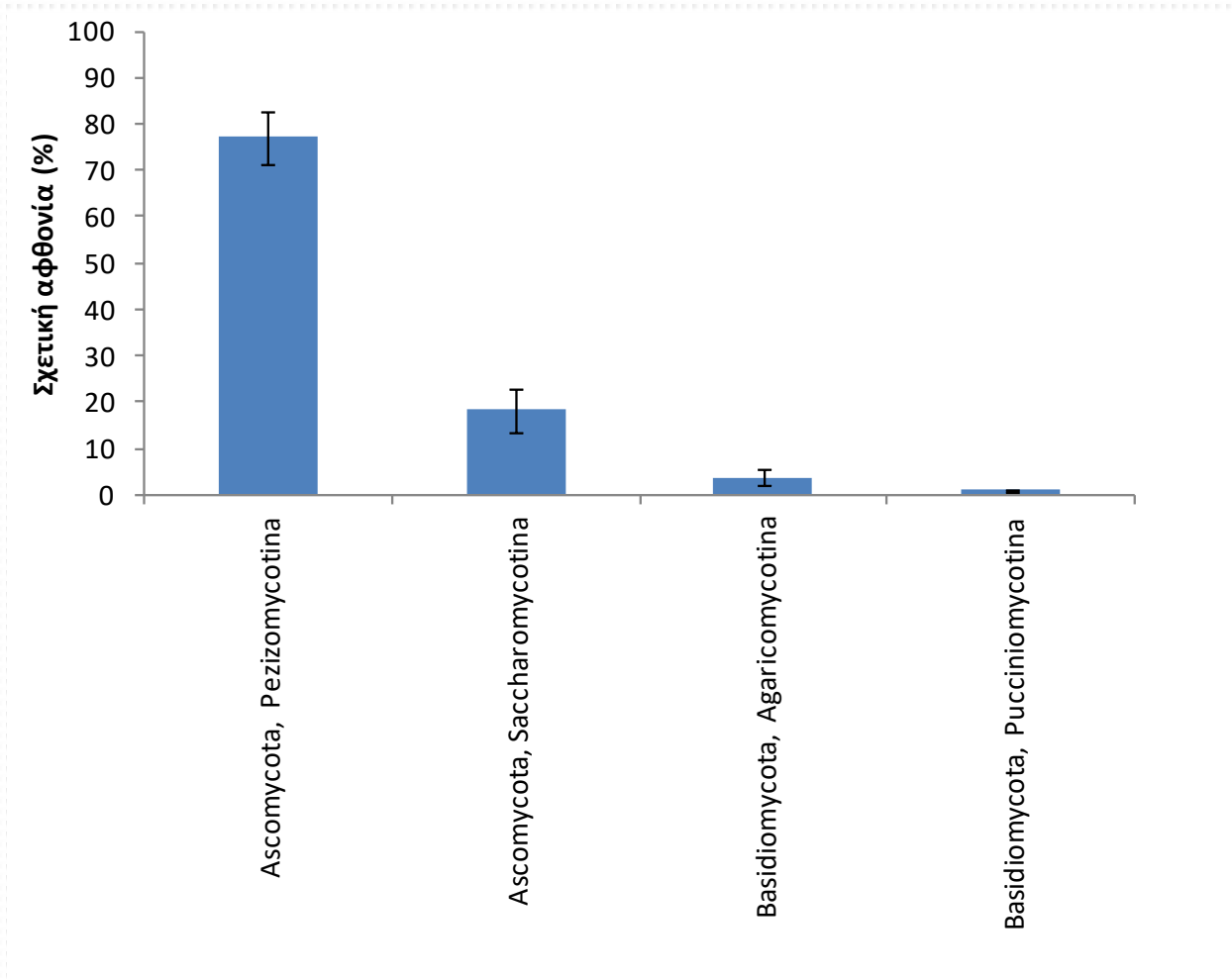
Περιβαλλοντική μικροβιολογία

Προσδιορισμός των κύριων βακτηριακών ομάδων σε επίπεδο φύλου/κλάσης στην ενεργό ιλύ, με την οποία εμβολιάστηκε ο βιοαντιδραστήρας ακινητοποιημένης βιομάζας



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

Ποικιλομορφία μυκήτων σε επίπεδο φύλου/υποφύλου



Περιβαλλοντική μικροβιολογία

Ποικιλομορφία μυκήτων σε επίπεδο γένους

