

**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ &
ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»**



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ

«Σύγκριση της απόδοσης εναλλακτικών μεθόδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων»

ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ Γ. ΤΕΡΖΑΚΗΣ

ΧΑΝΙΑ ΙΟΥΛΙΟΣ 2009

Επταμελής επιτροπή

Ν. Καλογεράκης, Καθηγητής, ΠΚ, ΜΗΠΕΡ, Επιβλέπων καθηγητής

Αν. Καθ. Δ. Μαντζαβίνος, ΠΚ, ΜΗΠΕΡ

Επ. Καθ. Θ. Μανιός, ΤΕΙ – Κρήτης

Δ. Βενιέρη, Λέκτορας, ΠΚ, ΜΗΠΕΡ

Δ. Διαμαντόπουλος, Καθηγητής, ΠΚ, ΜΗΠΕΡ

Ν. Νικολαΐδης, Καθηγητής, ΠΚ, ΜΗΠΕΡ

Α. Ανδρεαδάκης, Καθηγητής, ΕΜΠ., Πολ. Μηχ.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα μου, καθηγητή του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος κ. Νικόλαο Καλογεράκη για την εμπιστοσύνη του στην ανάθεση της διατριβής αυτής, τις συμβουλές του και την έμπρακτη υποστήριξη του με κάθε δυνατό τρόπο ώστε να ολοκληρωθεί. Συγκεκριμένα τον ευχαριστώ θερμά, γιατί με βοήθησε με τις πολύτιμες κατευθυντήριες οδηγίες στο σχεδιασμό και την εκτέλεση των πειραμάτων. Με βοήθησε στο να μπορέσω να παρουσιάσω και να εξηγήσω τα αποτελέσματα μου διορθώνοντας τα λάθη μου και καλύπτοντας κάθε μου απορία, ενώ μου κάλυψε άμεσα κάποιες ελλείψεις που παρουσιάστηκαν στην υλικοτεχνική υποδομή αρκετών πειραμάτων. Επίσης ουσιαστική ήταν η συμβολή του, στο να μπορέσω να επισκεφτώ με υποτροφία μετακίνησης του Πολυτεχνείου Κρήτης το ερευνητικό Ινστιτούτο στη Λειψία, UFZ, όπου μπόρεσα να εκπαιδευτώ σε τεχνικές μοριακής βιολογίας σε σύγχρονες εγκαταστάσεις και με έμπειρους ερευνητές.

Σε όλη τη διάρκεια της διατριβής αυτής είχα την τύχη να έχω επίσης την συνεπίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή ΤΕΙ Κρήτης κυρίου Θρασύβουλου Μανιού. Εκτός από την αμέριστη συμπαράσταση του και την επιστημονική του καθοδήγηση, σε όλα τα βήματα αυτής της διατριβής, σε σχέση με το σχεδιασμό και την υλοποίηση των πιλοτικών μονάδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και των τεχνητών υγροβιοτόπων, στη βάση καθημερινής υποστήριξης και καθοδήγησης. Επιπλέον με βοήθησε να δημοσιεύσω τα αποτελέσματα μου, και μου πρόσφερε την απαραίτητη οικονομική και ψυχολογική υποστήριξη, ώστε να ολοκληρωθεί αυτή η διατριβή.

Ευχαριστώ ακόμη το κύριο Μαντζαβίνο Αναπληρωτή Καθηγητή του Πολυτεχνείου Κρήτης για τη βοήθεια του για την πραγματοποίηση πειραμάτων με χρήση υπερήχων, και για τις συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας μου.

Ευχαριστώ επίσης και τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής μου επιτροπής κυρία Δ. Βενιέρη και κ.κ. Δ. Διαμαντόπουλο, Ν. Νικολαΐδη και Α. Ανδρεαδάκη για τις παρατηρήσεις και υποδείξεις τους, που θα με βοηθήσουν να βελτιώσω την ποιότητα της δουλείας μου.

Πολύτιμος συνεργάτης και αληθινός συμπαραστάτης και φίλος μου στάθηκε σε όλη της διάρκεια της πορείας της εργασίας μου ο Δρ. Μιχάλης Φουντουλάκης, που με τις γνώσεις του και τις υποδείξεις του με βοήθησε να επιταχύνω σημαντικά όλα τα στάδια της διατριβής, από το σχεδιασμό μέχρι τη συγγραφή της.

Θα ήθελα να εκφράσω επίσης τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη στο Δρ Αντώνη Χατζηνώτα και φίλο μου πλέον, από το Ινστιτούτο Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, τόσο για τη φιλοξενία του και τις συζητήσεις μας κατά τη διάρκεια της επίσκεψης μου στη Λειψία, όσο και τη βοήθεια του για τη διεκπεραίωση των τεχνικών μοριακής βιολογίας και την ερμηνεία των δεδομένων που λήφθηκαν. Από το ίδιο ινστιτούτο θα ήθελα να ευχαριστήσω την Anett Heidtmann για τη βοήθεια της στην πραγματοποίηση των αναλύσεων με FISH και την κυρία Verena Jaschik για τη βοήθεια στην ανάλυση με T-RFLP.

Την μεγαλύτερη υπομονή, συμπαράσταση και βοήθεια που θα μπορούσα να έχω, την είχα από τη σύζυγο μου Νίκη, που εκτός των άλλων με βοήθησε στην πραγματοποίηση της ανάλυσης με τη τεχνική real-time PCR.

Η εργασία αυτή αφιερώνεται στο μόλις ενός μήνα γιο μου, που επανέφερε στην επιφάνεια του συνειδητού μας, την σωστότερη αντίληψη του τι είναι σημαντικό σε αυτήν τη ζωή, ώστε να ξεδιπλωθούν σε όλη τους την ένταση, την αγνότητα και την αλήθεια, ιδεατές έννοιες, όπως η ευτυχία και η ολοκλήρωση.

Περίληψη

Ο σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να εξεταστεί η απόδοση εναλλακτικών μεθόδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, να υπολογιστούν κινητικοί παράμετροι απομάκρυνσης ρύπων και θρεπτικών και να συγκριθούν οι μικροβιακές κοινότητες που εγκαθίστανται σε αυτά.

Κατασκευάστηκαν και παρακολουθήθηκαν για δυο χρόνια, δυο πιλοτικού μεγέθους ελεύθερης επιφανείας και δυο υποεπιφανειακής ροής, τεχνητοί υγροβιότοποι (TY), οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν στην επεξεργασία των απορροών αυτοκινητοδρόμων (χαμηλής ισχύος υγρά απόβλητα). Οι TY κάθε τύπου σχεδιάστηκαν ούτως ώστε να έχουν υδραυλικό χρόνο παραμονής τόσο 12h με μέγιστη ικανότητα επεξεργασίας $12.6 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, όσο και υδραυλικό χρόνο παραμονής 24 h και δυνατότητα επεξεργασίας $6.3 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ απορροών. Η απόδοση της επεξεργασίας για τις τέσσερις κλίμες δε διέφερε στατιστικά όπως έδειξε η ανάλυση με ANOVA ακολουθούμενη από μια δοκιμή Tukey ($p < 0.05$) για σχεδόν όλες τις παραπάνω φυσικοχημικές παραμέτρους, κάτι που μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι όλα τα συστήματα συμπεριφέρονταν με παραπλήσιο τρόπο. Όλα τα συστήματα τελικά πέτυχαν μια μέση τιμή απομάκρυνσης για τα δυο χρόνια που κυμαινόταν από 47% για το COD, 89% για τα TSS, 49% για το TN, 58% για τα N-NO_3^- , 60% για τον TP, 47% για το Cu, 23% για το Ni, 33% για το Pb, 61% για το Zn και 59% για το άθροισμα των 16 PAHs.

Με δεδομένο ότι οι δύο τύποι τεχνητών υγροβιότοπων είχαν παρόμοιες αποδόσεις χρησιμοποιήθηκαν ξανά και οι δύο τύποι, ώστε να γίνει σύγκριση της απόδοσης τους με συστήματα αντιδραστήρων βιοφίλμ (biofilm reactors). Έτσι κατασκευάστηκαν εκ νέου πέντε διαφορετικές πιλοτικού μεγέθους μονάδες, ώστε να εξεταστεί η καταλληλότητα της καθεμίας να επεξεργάζεται αστικά υγρά απόβλητα (υψηλής ισχύος υγρά απόβλητα). (α) Ένας ελεύθερης επιφάνειας τεχνητός υγροβιότοπος (FWS), (β) ένας οριζόντιας και υποεπιφανειακής ροής τεχνητός υγροβιότοπος (HSF), (γ) ένας περιστρεφόμενος βιολογικός δίσκος (RBC), (δ) ένας αντιδραστήρας σταθερής κλίμης που ήταν ένα βιολογικό φίλτρο διαβρέχουσας ροής συμπτυγμένης κλίμης (PBF). (ε) Ένα χαλκικό φίλτρο (GF). Όλες οι μονάδες λειτούργησαν παράλληλα σε διάφορες υδραυλικές φορτίσεις που κυμαινόταν από το 50 έως το 175% του σχεδιασμένου ορίου υδραυλικής τους φόρτισης. Η μελέτη διήρκεσε 8 μήνες και έδειξε ότι η απομάκρυνση του οργανικού φορτίου (COD) για τον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής ήταν συγκρίσιμη (>75%) σε σχέση με αυτό των βιοδίσκων και του φίλτρου διαβρέχουσας ροής, ενώ του υγροβιότοπου ελεύθερης επιφανείας ήταν μόνο 57%. Οι μέσες απομακρύνσεις σε θρεπτικά στοιχεία για τις μονάδες FWS, HSF, RBC και PBF ήταν 6%, 21%, 40% και 43%, αντίστοιχα για ολικό άζωτο και 21%, 39%, 41% και 42% αντίστοιχα για ολικό φώσφορο. Με τη βοήθεια τεχνικών μοριακής βιολογίας βρέθηκε ότι το καθορίζον την ταχύτητα βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου στάδιο, είναι η νιτροποίηση (χαμηλός αριθμός και μικρή ποικιλομορφία AOB όπως έδειξε η ανάλυση με FISH, και η ανάλυση με real time PCR για τον αριθμό των αντιγράφων amoA), στην περίπτωση των δυο τεχνητών υγροβιότοπων και η απονιτροποίηση στην περίπτωση των δυο αντιδραστήρων βιοφίλμ (σχετικά χαμηλός αριθμός αντιγράφων του λειτουργικού γονιδίου nosZ). Οι απομακρύνσεις των ολικών κολοβακτηριδίων ήταν χαμηλότερες στον FWS και το PBF ($1.3 \log$) και υψηλότερες στον HSF και RBC (2.3 και $2.6 \log$). Ο υποεπιφανειακής ροής TY βρέθηκε να έχει καλύτερη απόδοση στην απομάκρυνση δυο

κατηγοριών ξενοβιοτικών ουσιών. Πιο συγκεκριμένα, η μέση απομάκρυνση σε PAHs και LAS ήταν 79.2% και 55.5% για τον υποεπιφανειακής ροής TY ενώ ήταν 68.2 και 30.0% για τον ελεύθερης επιφάνειας νερού. Οι επιδόσεις στην απομάκρυνση ρύπων και της υπολογιζόμενης πρώτης τάξης κινητικής σταθεράς αποδόμησης k_v και για τους PAHs και για τα LAS μειώθηκαν με αυξανόμενη τη θερμοκρασία του νερού. Τα πειραματικά αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η προσρόφηση στη στερεή φάση είναι ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης των ξενοβιοτικών ουσιών ενώ η απόδοση του TY υποεπιφανειακής ροής είναι συγκριτικά καλύτερη από αυτή του υγροβιότοπου ελεύθερης επιφάνειας νερού ή του χαλικόφιλτρου. Παραπλήσια απόδοση στην απομάκρυνση ξενοβιοτικών ουσιών της τάξεως του 70% είχε και το σύστημα RBC, ενώ συγκριτικά ελαφρά καλύτερό ήταν το σύστημα PBF με απομακρύνσεις μεγαλύτερες από 85%. Γενικά ο τεχνητός υγροβιότοπος HSF έδειξε ελαφρώς χαμηλότερη ποιότητα εκροής από τα συστήματα RBC και PBF, αλλά τα κόστη κατασκευής και οι ενεργειακές απαιτήσεις αυτού του συστήματος είναι χαμηλότερες.

Έτσι η τελική απόφαση για πιο είναι το πιο κατάλληλο εναλλακτικό σύστημα επεξεργασίας εξαρτάται από τα κατασκευαστικά λειτουργικά έξοδα τις απαιτήσεις σε έκταση εδάφους και της ποιότητα της εκροής που θέλουμε να επιτύχουμε.

Abstract

Two Free Water Surface (FWS) and two Subsurface Flow (SSF) pilot-size constructed wetlands treating highway runoff (HRO) were monitored over a period of two years (September 2005 to August 2007). One FWS and one SSF were designed with a hydraulic retention time (HRT) of 12 h, named FWS12 and SSF12 respectively, with each one capable of treating a maximum HRO of 12.6 m³ d⁻¹. The other couple, named FWS24 and SSF24 respectively, was designed with an HRT of 24 h, with each receiving a maximum HRO of 6.3 m³ d⁻¹. The influent flowed from a highway section with a total surface 2,752 m² on the island of Crete, Greece, in the heart of the South-Central Mediterranean region. Influent and effluent were monitored for COD, TSS, Total N (TN), NO₃⁻ and Total P (TP) concentrations. Furthermore, removal efficiencies were examined for heavy metals (Cu, Ni, Pb, Zn) for both years, while polycyclic aromatic compounds (PAHs) were examined for the period between September 2006 and August 2007. The influent had a two-year average COD value of 101 mg L⁻¹, whereas the mean values for TSS, TN, N-NO₃⁻ and TP were 203, 4.30, 1.25 and 4.17 mg L⁻¹ respectively. For Cu, Ni, Pb and Zn the respective two-year mean influent concentrations were 56, 114, 49 and 250 µg L⁻¹. Mean concentration of total PAHs in runoff (ΣPAHs, 16 compounds) were 12.01 µg L⁻¹. The performance among the four beds was not significantly different according to ANOVA analysis followed by Tukey test (at p < 0.05) for almost all the above physicochemical parameters, suggesting that all systems performed in a similar way. All studied systems, achieved a mean of two-year removal efficiencies of 47% for COD, 89% for TSS, 49% for TN, 58% for N-NO₃⁻, 60% for TP, 47% for Cu, 23% for Ni, 33% for Pb, 61% for Zn and 59% for ΣPAHs (16 compounds).

Five different pilot-scale treatment units were constructed to compare the feasibility of treating domestic wastewater (high organic strength) in the City of Heraklio, Crete, Greece: (a) a free water surface (FWS) wetland system, (b) a horizontal subsurface flow (HSF) wetland system, (c) a rotating biological contactor (RBC), (d) a packed bed filter (PBF) and (e) a gravel filter (GF). All units operated in parallel at various hydraulic loading rates (HLR) ranging from 50% to 175% of designed operating HLR. The study was conducted during a 8 month period and showed that COD removal efficiency of HSF was comparable (>75%) to that of RBC and PBF, whereas that of the FWS system was only 57%. Average nutrient removal efficiencies for FWS, HSF, RBC and PBF were 6%, 21%, 40% and 43%, respectively for total nitrogen and 21%, 39%, 41% and 42%, respectively for total phosphorus. Applying molecular biology techniques, it was found that the rate determining step in the biological removal of nitrogen is nitrification in the two constructed wetlands (low number and abundance of AOB based on FISH results and qPCR targeting the amoA gene), and denitrification in the case of the two biofilm reactors (low nosZ copy numbers detected in qPCR). Removals of total coliforms were lowest in FWS and PBF (1.3 log units) and higher in HSF and RBC (2.3 to 2.6 log units). HSF showed slightly lower but comparable effluent quality to that of RBC and PBF systems, but the construction cost and energy requirements for this system are significantly lower.

Removal efficiencies of polycyclic aromatic compounds (PAHs), linear alkyl benzene sulfonates (LAS), COD, TSS, total nitrogen and total phosphorus were evaluated in a pilot scale constructed wetland (CW) system combining a free water surface wetland, a

subsurface wetland and a gravel filter in series. The effect of parameters such as temperature and mass loading rate was also examined. The subsurface constructed wetland system was found to have the best performance on pollutants removal. Specifically, for PAHs and LAS the average removal percentage was 79.2 and 55.5% for SSF (Subsurface Flow), 68.2 and 30.0% for FWS (Free Water Surface) and 73.3 and 40.9% for gravel filter, respectively. Removal efficiency and the first-order volumetric removal rate constant (kV) for both PAHs and LAS decreased with water temperature, yielding a low temperature coefficient (θ). This observation indicates that the absorption in solid media is the main mechanism for xenobiotics removal in constructed wetlands. The significantly better treatment performance in the SSF wetland system compared to that in FWS and gravel filter makes SSF the best low cost wastewater treatment option.

Overall the final decision for the best non-conventional wastewater treatment system depends on the construction and operation cost, the area demand and the required quality of effluent.

Δημοσιεύσεις σε επιστημονικά περιοδικά που προέκυψαν από την παρούσα Διδακτορική Διατριβή

<p>1. Constructed wetlands treating highway runoff in the central Mediterranean region (2008) Terzakis, S., Fountoulakis, M.S., Georgaki, I., Albantakis, D., Sabathianakis, I., Karathanasis, A.D., Kalogerakis, N., Manios, T.</p>	<p>2008</p>	<p>Chemosphere 72, pp. 141-149</p>
<p>2. Pilot-scale comparison of constructed wetlands and attached biofilm reactors for domestic wastewater treatment. M.S. Fountoulakis,, S. Terzakis,, A. Chatzinotas H. Brix, N. Kalogerakis and T. Manios</p>	<p>2009</p>	<p>Science of the Total Environment 407 (2996–3003)</p>
<p>3. Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Linear Alkylbenzene Sulfonates from domestic wastewater in pilot constructed wetlands and a gravel filter. M.S. Fountoulakis, S. Terzakis, N. Kalogerakis and T. Manios.</p>	<p>2009</p>	<p>Accepted in Ecological Engineering</p>
<p>4. Comparison of nitrifying, denitrifying, and overall microbial communities in two constructed wetlands and two compact attached biomass reactors treating domestic wastewater Terzakis S., Papageorgiou N., Fountoulakis M., Manios T., Kalogerakis N., Harms H. and Chatzinotas A.</p>	<p>2009</p>	<p>Under preparation</p>

Συντομογραφίες

ABS, alkylbenzene sulfonates, διακλαδισμένου αλκυλίου αλκυλοβενζοσουλφονικά άλατα.

ADVANTECH, ADVANced TEXTile, Βιολογικό φίλτρο συμπυκνής κλίνης της εταιρίας Orenco, με χρήση καινοτόμων συνθετικών ινών υφάσματος ως προσκολλητικού μέσου .

AOB, Ammonia Oxidizing Bacteria, βακτήρια που οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρώδη, νιτρωδοποιητές.

amoA, ammonia monooxygenase, αμμωνιακή μονοοξυγενάση.

nosZ, nitrous oxide reductase, αναγωγή του υποξειδίου του αζώτου

BOD/BOD₅, Biochemical Oxygen Demand, Βιοχημική Απαίτηση Οξυγόνου/Βιοχημική απαίτηση οξυγόνου 5 ημερών.

COD, Chemical Oxygen Demand, Χημική Απαίτηση οξυγόνου

GF, gravel filter, χαλικόφιλτρο

FISH, Fluorescence *In Situ* Hybridization, Φθορισμός με υβριδοποίηση *in situ*

FWS, Free Water Surface, τεχνητός υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας

IWA, International Water Association

HSF : Horizontal Subsurface Flow, τεχνητός υγροβιότοπος υποεπιφανειακής και οριζόντιας ροής

HPLC, High Performance (Pressure) Liquid Chromatography, Υψηλής Απόδοσης (Πίεσης) Υγρή Χρωματογραφία

HLR, hydraulic loading rate, ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης

HRT, hydraulic residence time, υδραυλικός χρόνος παραμονής

HRO, highway runoff, απορροές (όμβριων) αυτοκινητοδρόμων

LAS, Linear Alkylbenzene Sulfonates, Γραμμικά Αλκυλοβενζοσουλφονικά Άλατα

MRT, Mean Residence Time, Μέσος Χρόνος Παραμονής

MDS, Multi Dimensional Scaling

PAHs, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες

PBF, packed bed (bio)filter, βιολογικό φίλτρο συμπυκνής κλίνης

PCR, Polymerase Chain Reaction, Αλυσιδωτή Αντίδραση πολυμεράσης

Real-time PCR, Πραγματικού Χρόνου (ποσοτική) PCR

RBC, rotating biological contactor, περιστρεφόμενος βιολογικός δίσκος, σύστημα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, ή βιοδίσκος

SBR, sequencing batch reactor, αντιδραστήρας διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία

SF, Subsurface Flow, τεχνητός υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής.

T-RFLP, Terminal Restriction Fragment Length polymorphism, Ανάλυση πολυμορφισμού τελικού θραύσματος, μετά από πέψη με περιοριστικά ένζυμα (ενδονουκλεάσες)

TY, Τεχνητοί Υγροβιότοποι

WWTPs, Wastewater Treatment Plants, Μονάδες επεξεργασίας Υγρών Αποβλήτων

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	23
1.1 Λόγοι που επιβάλλουν την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων	23
1.2 Συμβολή των αποτελεσμάτων της έρευνας από τη Διδακτορική Διατριβή σε νέα γνώση	24
1.3 Στόχοι Διδακτορικής Διατριβής.....	29
1.4 Ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν στη Διδακτορική Διατριβή.....	30
1.5 Πρωτοτυπία της μελέτης.....	32
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ	33
2.1 Εναλλακτικές μέθοδοι επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και τρόποι αξιολόγησής τους	34
2.1.1 Χωροταξικά κριτήρια	37
2.1.2 Τεχνολογικά κριτήρια	37
2.1.3 Περιβαλλοντικά κριτήρια	37
2.2 Τεχνητοί Υγροβιότοποι.....	38
2.2.1 Περιγραφή των Τεχνητών Υγροβιότοπων (<i>Constructed Wetlands, CW</i>)	38
2.2.2 Τύποι τεχνητών υγροβιότοπων	39
2.2.2.1 Συστήματα ελεύθερης επιφάνειας ή επιφανειακής ροής (<i>SF 'H FWS</i>)	39
2.2.2.2 Συστήματα υποεπιφανειακής ροής	41
2.2.3 Αυξανόμενες εφαρμογές των τεχνητών υγροβιότοπων που οδηγούνται από το κόστος των ορυκτών καυσίμων και των κλιματικών αλλαγών	43
2.2.4 Τεχνητός υγροβιότοπος: ένας σύνθετος βιολογικός αντιδραστήρας	44
2.2.5 Οφέλη και πλεονεκτήματα της χρήσης τεχνητών υγροβιότοπων ως μεθόδου επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων	44
2.2.6 Απόδοση και διεργασίες για τους τεχνητούς υγροβιότοπους	45
2.2.6.1 Απομάκρυνση BOD	45
2.2.6.2 Αποδόσεις σε απομακρύνσεις θρεπτικών	47
2.2.6.3 Μηχανισμοί της απομάκρυνσης αζώτου στα συστήματα Τεχνητών Υγροβιότοπων	49
2.2.6.3.1 Περιβαλλοντικοί παράγοντες που έχουν επιπτώσεις στην απόδοση απομάκρυνσης αζώτου	51
2.2.6.4 Αποδόσεις σε απομάκρυνση παθογόνων.....	52
2.2.6.5 Αποδόσεις σε απομάκρυνση μετάλλων	53
2.3 Αντιδραστήρες βιοφίλμ (<i>Biofilm Reactors</i>)	54
2.3.1 Δομή των βιοφίλμ στους αντιδραστήρες	54
2.3.2 Ιδιότητες των αντιδραστήρων βιοφίλμ	55
2.3.3 Μικροβιολογία των αντιδραστήρων βιοφίλμ	56
2.3.4 Νιτροποίηση και Απονιτροποίηση	57
2.3.6 Διαμορφώσεις των αντιδραστήρων βιοφίλμ	58
2.3.7 Αντιδραστήρες με βιοφίλμ σε σταθερό φορέα.....	58
2.3.7.1 Διασταλαγματικά φίλτρα (<i>βραδύ φίλτρα ή trickling filters</i>).....	58
2.3.8 Περιστρεφόμενοι βιολογικοί δίσκοι (<i>Rotating biological contactors</i>) ή σύστημα Βιοδίσκων	59
2.3.8.1 Περιγραφή των <i>RBCs</i>	59
2.3.8.2 Επίδραση ταχυτήτων φόρτισης στην απόδοση της επεξεργασίας	63
2.3.8.3 Επίδραση της ταχύτητας της περιστροφής.....	65
2.3.8.4 Επίδραση του λόγου των όγκων της δεξαμενής/της επιφάνειας των μέσων.....	66

2.3.8.5 Επίδραση των σταδίων επεξεργασίας	66
2.3.8.6 Επίδραση της οργανικής και υδραυλικής φόρτισης	66
2.3.8.7 Επίδραση της θερμοκρασίας	67
2.3.8.8 Επίδραση της επανακυκλοφορίας της εκροής	68
2.3.8.9 Μηχανικές βλάβες	69
2.3.8.10 Μέσα προσκόλλησης βιοφίλμ για RBCs	69
2.3.8.11 Κατανάλωση ισχύος RBCs	72
2.3.8.12 Μαθηματικά μοντέλα για την πρόβλεψη της απόδοσης των συστημάτων RBC	73
2.4 Συγκρινόμενη συμβατική τεχνολογία επεξεργασίας υγρών αποβλήτων	77
2.4.1 Αντιδραστήρας Διαλείποντος έργου με Περιοδική Λειτουργία (Sequencing Batch Reactor, SBR)	77
2.5.1 Αμμωνικοποίηση	80
2.5.2 Νιτροποίηση	81
2.5.3 Απονιτροποίηση	84
2.6 Παρουσία και απομάκρυνση ξενοβιοτικών ενώσεων ενδιαφέροντος στην σύγκριση όλων των μεθόδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων	87
2.6.1 Γραμμικά Αλκυλοβενζοσουλφονικά Άλατα (LAS), επιφανειοδραστικές ενώσεις	87
2.6.1.1 Χημικά χαρακτηριστικά των LAS	89
2.6.1.2 Βιοδιάσπαση και απομάκρυνση των LAS	90
2.6.2 Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ)	91
2.6.2.1 Παρουσία των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (ΠΑΥ) στα υγρά απόβλητα	94
2.6.2.2 Διάσπαση/απομάκρυνση των πολυαρωματικών υδρογονανθράκων στα υγρά απόβλητα	95
2.7.4 Αμμωνιακά ιόντα	99
2.7.5 Νιτρικά	100
2.7.6 Ολικός φώσφορος (TP)	100
2.7.7 Βαρέα μέταλλα	100
2.7.8 Μέτρηση pH	100
2.7.9 Ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC)	100
2.7.10 Καταμέτρηση παθογόνων	100
2.7.11 Αναλύσεις ξενοβιοτικών ουσιών	101
2.7.11.1 Ανάλυση πολυαρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs)	101
2.7.11.2 Ανάλυση γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS)	103
2.7.12 Στατιστικές μέθοδοι για τη σύγκριση των φυσικοχημικών αναλύσεων	104
2.7.13 Μοριακές μικροβιολογικές τεχνικές για τον χαρακτηρισμό μικροβιακών κοινοτήτων σε βιολογικά συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων	105
2.7.13.1 Σύγκριση μεταξύ των μεθόδων που στηρίζονται σε καλλιέργειες και επιλεγμένων τεχνικών ανάλυσης που δε στηρίζονται στις καλλιέργειες	105
2.7.13.2 EUB/DAPI	107
2.7.13.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης, Polymerase Chain Reaction (PCR)	107
2.7.13.4 Ποσοτική PCR Πραγματικού Χρόνου -Real-time PCR	109
2.7.13.4.1 Αναλυτικό Πρωτόκολλο ανάλυσης με ποσοτική πραγματικού χρόνου PCR	114
2.7.14 Ανάλυση πολυμορφισμού μήκους τελικών περιοριστικών θραυσμάτων (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP)	116
Πολυπαραγοντική ανάλυση	119
2.7.15 Υβριδοποίηση φθορισμού in situ, Fluorescence In Situ Hybridization, FISH	120
3. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΠΙΛΟΤΙΚΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ	124
3.1 Περιοχή και περιγραφή των υγροβιότοπων στην περιοχή χερσονήσου για την επεξεργασία των υδάτινων απορροών των αυτοκινητοδρόμων	124
3.1.1 Υπολογισμός θεωρητικού υδραυλικού χρόνου παραμονής HRT και σχεδιαστικών λειτουργικών παραμέτρων	125
3.1.2 Δειγματοληψία	126

3.2 Πιλοτικές μονάδες που κατασκευάστηκαν για τη σύγκριση της επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων.....	129
3.2.1 FWS.....	129
3.2.2 HSF.....	130
3.2.3 Χαλικόφιλτρο.....	131
3.2.4 Περιγραφή της πιλοτικής μονάδας βιοδίσκου.....	132
3.2.5 Σύστημα βιολογικού φίλτρου σε συμπυκνόμενη κλίνη (packed bed filter) προσκολλημένης βιομάζας - διασταλλαγματικό φίλτρο.....	133
3.2.6 Αμμόφιλτρο και μονάδα απολύμανσης UV.....	134
3.3 Πειραματικός σχεδιασμός – λειτουργία πιλοτικών μονάδων για την επεξεργασία αστικών αποβλήτων.....	140
3.4 Εργαστηριακής κλίμακας αντιδραστήρες διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία (SBR).....	141
3.4.1 Πειραματικός σχεδιασμός.....	141
3.4.2 Σύσταση του συνθετικού υγρού αποβλήτου.....	142
3.4.3 Λειτουργικές παράμετροι SBR.....	143
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	145
4.1 Σύγκριση της απόδοσης δυο τεχνητών υγροβιοτόπων που επεξεργάζονται τις υδάτινες απορροές αυτοκινητοδρόμων.....	145
4.1.1 Υδάτινες απορροές αυτοκινητοδρόμων (Highway runoff, HRO).....	145
4.1.2 Απομάκρυνση των COD, TSS, TN, NO ₃ ⁻ και TP που περιέχονται στις απορροές των αυτοκινητοδρόμων.....	147
4.1.3 Απομάκρυνση Cu, Ni, Pb και του Zn που περιέχονται στις υδάτινες απορροές των αυτοκινητοδρόμων.....	151
4.1.4 Απομάκρυνση των PAHs που περιέχονται στις υδάτινες απορροές των αυτοκινητοδρόμων.....	154
4.2 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΣΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ.....	162
4.2.1 Φυσικοχημική σύγκριση ποιοτικών παραμέτρων νερού.....	162
4.2.2 Γενικές παρατηρήσεις.....	162
4.2.3 Απομάκρυνση οργανικής ουσίας.....	163
4.2.4 Αφαίρεση θρεπτικών ουσιών.....	165
4.2.5 Απομάκρυνση παθογόνων.....	167
4.2.6 Προσομοίωση των αποτελεσμάτων στα πειραματικά μας δεδομένα και εκτίμηση του απαιτούμενου όγκου αντιδραστήρων ή διάστασεων υφροβιοτόπων για ικανή επεξεργασία.....	168
4.2.7 Κριτήρια για την εύρεση του βέλτιστου συστήματος επεξεργασίας.....	174
4.3 Σύγκριση της απομάκρυνσης PAHs και LAS μεταξύ των εναλλακτικών μονάδων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων.....	186
4.3.1 PAHs και LAS.....	186
4.3.2 Υπολογισμός της κινητικής σταθεράς της αντίδρασης και συντελεστές θερμοκρασίας.....	187
4.3.3 Απομάκρυνση των PAHs.....	188
4.3.4 Απομάκρυνση των LAS.....	189
4.3.5 Επίδραση της θερμοκρασίας.....	190
4.3.6 Η επίδραση της αλλαγής ταχύτητας στην οργανική φόρτιση.....	192
4.3.7 Απομακρύνσεις PAHs και LAS από τους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας.....	193
4.4 Σύγκριση των απομακρύνσεων PAHs και LAS με αντιδραστήρες διαλείποντος έργου περιοδικής λειτουργίας (Sequencing Batch Reactors, SBR).....	202
4.4.1 Εισαγωγή.....	202
4.4.2 Απόδοση και σταθερότητα των αντιδραστήρων σε σχέση με την προσθήκη ξενοβιοτικών.....	203
4.4.3 Απομάκρυνση των LAS.....	204
4.4.5 Απομακρύνσεις των PAHs.....	208

4.5 Σύγκριση των μικροβιακών κοινοτήτων των εναλλακτικών συστημάτων επεξεργασίας για την επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων με έμφαση στις ομάδες των νιτροποιητών και των απονιτροποιητών	209
4.5.1 Εισαγωγή	209
4.5.2 Συσχετίσεις με παραμέτρους ποιότητας νερού	210
4.5.3 Αποτελέσματα από την ανάλυση με T-RFLP	212
4.5.4 Αποτελέσματα της συσχέτισης με στατιστική ανάλυση (MDS) των δεδομένων της T-RFLP με τις φυσικοχημικές παραμέτρους	216
4.5.5 Συζήτηση για τα αποτελέσματα της ανάλυσης με MDS.....	220
4.5.6 Αποτελέσματα της ανάλυσης με πραγματικού-χρόνου PCR.....	220
4.5.7 Αποτελέσματα από την ανάλυση με FISH	223
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ.....	228
5.2 Εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων.....	229
5.3 Αντιδραστήρας διαλείποντος έργου	230
5.4 Χαρακτηρισμός μικροβιακών κοινοτήτων των συστημάτων	231
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	233

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

- Σχήμα 1.** Σύγκριση του οικονομικού κόστους λειτουργίας της ενεργής ιλύος, των περιστρεφόμενων βιολογικών δίσκων και διασταλλαγματικών φίλτρων (Patwardhan, 2003)
- Σχήμα 2.** Τεχνητός υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας (Tsihrintzis et al., 2007)
- Σχήμα 3.** Τεχνητός υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής (Tsihrintzis et al., 2007)
- Σχήμα 4.** Φορτίσεις σε BOD και οι αντίστοιχες ταχύτητες απομακρύνσεις σε τεχνητούς υγροβιότοπους (Knight et al., 1993)
- Σχήμα 5.** Φορτίσεις σε ολικό άζωτο και ταχύτητες απομάκρυνσης του από τεχνητούς υγροβιότοπους (Knight et al., 1993)
- Σχήμα 6.** Διαμόρφωση επιφάνειας βιοφίλμ μετά από ανάπτυξη 48 h.
- Σχήμα 7.** Τυπικό Διασταλλαγματικό φίλτρο
- Σχήμα 8.** (A) Διάταξη μιας μονάδας RBC. Παρουσιάζεται η δημιουργία του βιοφίλμ και του στρώματος του υγρού. (B) Διαφορετικά τύπου προσκολλητικά μέσα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε RBCs
- Σχήμα 9.** Σχηματική περιγραφή του τρόπου ανάπτυξης του μοντέλου των Famularo et al. και Mueller et al.
- Σχήμα 10.** Κύκλος λειτουργίας ενός αντιδραστήρα SBR.
- Σχήμα 11.** Διαφορετικές μορφές αζώτου και ροές αζώτου στους τεχνητούς υγροβιότοπους και γενικά στα συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων
- Σχήμα 12.** Μετασχηματισμοί αζώτου σε ένα τεχνητό υγροβιότοπο,
- Σχήμα 13.** Οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη από νιτρωδοποιητικά βακτήρια
- Σχήμα 14.** Διαδοχική πορεία αναγωγών της απονιτροποίησης, με επισήμανση της τοποθεσίας των ενζύμων σε σχέση με την κυτταροπλασματική μεμβράνη
Nar, nitrate reductase; Nir, nitrite reductase; Nor, nitric oxide reductase; Nos, nitrous oxide reductase (τροποποιημένο από Ye et al. [1994]) (Wallenstein et al., 2006).
- Σχήμα 15.** Δομή των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS)
- Σχήμα 16.** Διαδικασία εκχύλισης για την ανάλυση των PAHs σε υδατικά δείγματα
- Σχήμα 17.** Διαδικασία εκχύλισης για την ανάλυση των LAS σε περιβαλλοντικά δείγματα.
- Σχήμα 18.** Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
- Σχήμα 19.** Αρχή των μεθόδων ανίχνευσης στην qPCR

Σχήμα 20. Εκθετική ενίσχυση του στόχου *amoA* (λειτουργικό γονίδιο των νιτροδωποιητικών βακτηρίων, (AOB)), με πραγματικού χρόνου ποσοτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης.

Σχήμα 21. Εκθετική ενίσχυση του στόχου *nosZ* (λειτουργικού γονιδίου των απονιτροποιητικών βακτηρίων), με πραγματικού χρόνου ποσοτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης.

Σχήμα 22. Χαρακτηριστικά ηλεκροφερογραφήματα αποτελέσματα της ανάλυσης με T-RFLP, σε ενισχυμένα PCR προϊόντα των γονιδίων AOB 16S rRNA.

Σχήμα 23. Ένα γενικό σχεδιάγραμμα των τεσσάρων υγροβιοτόπων και της δεξαμενής εξισορότησης για την επεξεργασία των υδάτινων απορροών των αυτοκινητοδρόμων.

Σχήμα 24. Υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας (FWS)

Σχήμα 25. Υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής (SSF).

Σχήμα 26. Χαλικόφιλτρο.

Σχήμα 27. Η πειραματική διάταξη του εργαστηριακής κλίμακας SBR

Σχήμα 28. Οι συγκεντρώσεις TSS και COD στις εκροές των τεσσάρων υγροβιότοπων σε σχέση με τις τιμές των συγκεντρώσεων εισροής στους τέσσερις υγροβιότοπους σε σχέση με αυτό της εισροής για τα δυο χρόνια που παρακολουθούνταν τα συστήματα.

Σχήμα 29. Οι συγκεντρώσεις TN και TP στις εκροές των τεσσάρων υγροβιοτόπων σε σχέση με τις τιμές εισόδου δηλ. των εισροών στα συστήματα.

Σχήμα 30. Η διακύμανση των PAHs στην είσοδο των τεχνητών υγροβιοτόπων κατά τη διάρκεια λειτουργίας ενός χρόνου.

Σχήμα 31. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για τον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής (SSF).

Σχήμα 32. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για τον υγροβιότοπο επιφανειακής ροής (FWS).

Σχήμα 33. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για τον βιοδίσκο.

Σχήμα 34. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για την μονάδα Advantex.

Σχήμα 35. Διακύμανση των COD, TSS, TN, TP, $N-NH_4^+$ και $N-NO_3^-$ στην είσοδο και έξοδο των διαφορετικών συστημάτων επεξεργασίας κατά τη διάρκεια λειτουργίας με

ταχύτητες φορτίσεων 50%, 75%, 100%, 125%, 150% και 175 % των σχεδιασμένων κανονικών ονομαστικών ταχυτήτων πλήρης φόρτισης.

Σχήμα 36. Ποσοστό απομάκρυνσης για κάθε μια εφαρμοζόμενη ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης και κάθε ένα σύστημα.

Σχήμα 37. Διακύμανση του pH, της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και της θερμοκρασίας αέρα κατά τη διάρκεια λειτουργίας.

Σχήμα 38. Διαγράμματα συσχετίσεων των συγκεντρώσεων εκροών και των φορτίσεων ρύπων COD, TSS, TN and TP.

Σχήμα 39. Η σχέση μεταξύ της σταθερά k_v για την απομάκρυνση των PAHs και της θερμοκρασίας του νερού σε α) Στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) Στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής SSF, και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF.

Σχήμα 40. Οι σχέσεις μεταξύ k_v για την απομάκρυνση των PAHs και τη θερμοκρασία του νερού α) Στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, β) Στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF.

Σχήμα 41. Σχέση μεταξύ k_v για την απομάκρυνση των LAS και της θερμοκρασίας του νερού α) στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, SSF και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF. Οι τιμές των k_{v20} και θ έχουν υπολογιστεί με την προσαρμογή της καμπύλης (R =συντελεστής παλινδρόμησης).

Σχήμα 42. Απομάκρυνση των μαζών PAHs α) στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, SSF και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF, σε σχέση με τις ταχύτητες φορτίσεων σε μάζες. Οι κουκκίδες αναπαριστούν σημεία όπου θα είχαμε 100% απομάκρυνση.

Σχήμα 43. Οι απομακρύνσεις της μάζας των LAS α) στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, SSF και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF, σε σχέση με τις ταχύτητες φορτίσεων σε μάζες. Οι κουκκίδες αναπαριστούν σημεία όπου θα είχαμε 100% απομάκρυνση.

Σχήμα 44. Διακύμανση της συγκέντρωσης των LAS στη λάσπη

Σχήμα 45. Διακύμανση της συγκέντρωσης των PAHs στη λάσπη

Σχήμα 46. Συγκεντρώσεις των LAS στην εκροή κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου

Σχήμα 47. συγκεντρώσεις των PAHs στην εκροή κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου

Σχήμα 48. Ποσοστό απομάκρυνσης των LAS στην εκροή

Σχήμα 49. Ποσοστό απομάκρυνσης των PAHs στην εκροή

Σχήμα 50: Ανάλυση σε ομάδες των δεδομένων από την ανάλυση με T-RFLP χρησιμοποιώντας ευκλείδειες αποστάσεις μετά την πέψη γονιδίων 16S rRNA ενισχυμένων με παγκόσμιου εναρκτές.

Σχήμα 51: Ανάλυση σε ομάδες των δεδομένων από την ανάλυση με T-RFLP χρησιμοποιώντας ευκλείδειες αποστάσεις μετά την πέψη γονιδίων 16S rRNA των AOB.

Σχήμα 52. Δείγματα της T-RFLP, με 16S rRNA χωρίς τα δείγματα από την ανοξική ζώνη του FWS

Σχήμα 53. Ταυτόχρονη ανάλυση MDS όλων των δειγμάτων 16S rRNA

Σχήμα 54. Ταυτόχρονη ανάλυση MDS μόνο των δειγμάτων από ιζήματα, γονιδίων 16S rRNA βακτηρίων

Σχήμα 55. Ταυτόχρονη ανάλυση MDS μόνο των δειγμάτων από υγρά απόβλητα των συστημάτων με 16S rRNA (χρησιμοποιώντας παγκόσμιους εναρκτές)

Σχήμα 56. Αποτελέσματά από την ανάλυση με FISH στα υγρά απόβλητα από τα διαφορετικά συστήματα που επεξεργάζονταν αστικά απόβλητα για κύτταρα (DAPI), βακτήρια (EUB338) και νιτρωδοποιητές (AOB). Τιμές σε εκατομμύρια κύτταρα ανά mL. LL low load (50% της σχεδιασμένης πλήρους HLR), HL high load (150% της σχεδιασμένης πλήρους HLR)

Σχήμα 57. Αποτελέσματά από την ανάλυση με FISH στα ιζήματα από διαφορετικά περιβάλλοντα και από διαφορετικά συστήματα που επεξεργάζονταν αστικά απόβλητα για κύτταρα (DAPI), βακτήρια (EUB338) και νιτρωδοποιητές (AOB). Τιμές σε εκατομμύρια κύτταρα ανά g. LL low load (50% της σχεδιασμένης πλήρους HLR), HL high load (150% της σχεδιασμένης πλήρους HLR).

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Σύγκριση τριών μεθόδων επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων, της ενεργής ιλύος (συμβατική μέθοδος) και δυο εναλλακτικών μεθόδων επεξεργασίας Πηγή: Αραβώσης κ.α. (2006)

Πίνακας 2. Σύγκριση των χαρακτηριστικών των τεχνητών υγροβιότοπων και των συμβατικών εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων.

Πίνακας 3. Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες ορισμένων πολυαρωματικών υδρογονανθράκων.

Πίνακας 4. Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης για την ανάλυση των PAHs

Πίνακας 5. Το πρόγραμμα ρύθμισης του ανιχνευτή φθορισμού κατά την ανάλυση των PAHs

Πίνακας 6. Σύσταση συνθετικών υγρών αποβλήτων

Πίνακας 7. Συγκέντρωση ξενοβιοτικών ουσιών στην είσοδο

Πίνακας 8. Συσχέτιση μεταξύ ταχύτητας φόρτισης σε λάσπη, δείκτη ανάπτυξης λάσπης και πυκνότητας λάσπης τιμές SS αιωρούμενων στερεών

Πίνακας 9 . Ημερήσια λειτουργία αντιδραστήρα SBR

Πίνακας 10. Χαρακτηριστικές τιμές των ποιοτικών παραμέτρων για την εισροή και την εκροή από κάθε υγροβιότοπο για την περίοδο από Σεπτέμβριος 2006 - Αύγουστος 2007

Πίνακας 11. Μέσα ποσοστά (%) απομακρύνσεων μη –σημειακών ρύπων

Πίνακας 12. Μέσα ποσοστά (%)απομάκρυνσης βαρέων μετάλλων και PAHs

Πίνακας 13. Βέλτιστες τιμές των σταθερών k_{20} και θ για όλα τα συστήματα.

Πίνακας 14. Δεδομένα λειτουργικών παραμέτρων των μελετημένων μονάδων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων.

Πίνακας 15. Η μέση σύνθεση των υγρών αστικών αποβλήτων, που φορτιζόταν τα πιλοτικά συστήματα επεξεργασίας σε όλη τη μελέτη και αποτελέσματα της μιας κατεύθυνσης ANOVA (P-values) για τη σύγκριση των διαφορών των μέσων τιμών μεταξύ των έξι διαφορετικών φορτίσεων ($n = 0$ αριθμός των δειγμάτων).

Πίνακας 16. Μέσες τιμές των ποιοτικών παραμέτρων για τις εκροές του κάθε συστήματος επεξεργασίας για διαφορετικές HLRs.

Πίνακας 17.. Αποτελέσματα της διπλής κατεύθυνσης ANOVA (F-ratios) χρησιμοποιούμενη στη δοκιμή για τις σύγκριση των διαφορών στην ποιότητα νερού

εκροής μεταξύ των τεσσάρων δοκιμασμένων συστημάτων (κυρίως παράγοντας το 'Σύστημα') και τα έξι ποσοστά φόρτισης (κύριος παράγοντας 'Φόρτιση') και η αλληλεπίδρασή τους (Σύστημα x Φόρτιση).

Πίνακας 18. Συγκεντρώσεις εισόδου εκροής, και αποδόσεις απομάκρυνσης για τις μικροβιολογικές παραμέτρους για κάθε σύστημα επεξεργασίας.

Πίνακας 19. Ταχύτητες απομακρύνσεις και κόστη από το κάθε ένα σύστημα επεξεργασίας.

Πίνακας 20. Συγκεντρώσεις εισόδου και εκροής των τριών συστημάτων επεξεργασίας που εξετάστηκαν και οι μέσες απομακρύνσεις για κάθε ρύπο.

Πίνακας 21. Μια περίληψη των πρώτης τάξης κινητικών παραμέτρων σε σχέση με τη θερμοκρασία σύμφωνα με διαφορετικούς ερευνητές.

Πίνακας 22. Μηδενικής τάξης και πρώτης τάξης ογκομετρικές κινητικές σταθερές για τους τεχνητούς υγροβιότοπους και το χαλικόφιλτρο, για την απομάκρυνση PAHs και LAS μαζί με τους συντελεστές συσχετισμού τους.

Πίνακας 23. Συγκεντρώσεις εισόδου-εξόδου και ποσοστά απομάκρυνσης ξενοβιοτικών ουσιών στα εξεταζόμενα συστήματα.

Πίνακας 24: Αποτελέσματα της πραγματικού χρόνου ποσοτικής PCR

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Γενική άποψη του υγροβιότοπου και των αντιδραστήρων προσκολλημένων βιοφίλμ.

Εικόνα 2. Φωτογραφίες των ενεργών κομματιών των συστημάτων επεξεργασίας α) Υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας β) Υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής γ) περιστρεφόμενος βιολογικός δίσκος, δ) αντιδραστήρας συμπτυγμένης κλίνης.

Εικόνα 3. Υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας (FWS) με ενδιάμεση ανοξική ζώνη

Εικόνα 4. Υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής (SSF).

Εικόνα 5. Σύστημα βιολογικής επεξεργασίας με τεχνολογία προσκολλημένης βιομάζας Advantex.

Εικόνα 6. Σύστημα βιολογικής επεξεργασίας με τεχνολογία βιοδίσκων EKOL.

Εικόνα 7. Σύστημα απολύμανσης UV με σκέπαστρο και ροόμετρα

Εικόνα 8. Άποψη του χαλικόφιλτρου.

Εικόνα 9. Άποψη του αμμόφιλτρου.

Εικόνα 10. Εργαστηριακής κλίμακας αντιδραστήρας SBR

Εικόνες 11-17. Εικόνες που λήφθηκαν με την ανάλυση με FISH. Το μπλε χρώμα αντιστοιχεί σε χρώση DAPI, το πράσινο σε χρώση EUB και το κόκκινο αντιστοιχεί σε *Nitrosomonas marina*-like ammonia-oxidizing bacteria

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Λόγοι που επιβάλλουν την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων

Η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων είναι μια αναπόφευκτη διαδικασία που επιβάλλεται να γίνεται με αποδοτικά σωστό τρόπο και με τον μικρότερο περιβαλλοντικό αντίκτυπο, όχι μόνο στις μεγάλες αστικές πόλεις αλλά και σε μικρούς και απομονωμένους οικισμούς, για τους παρακάτω λόγους:

(α) Η φύση από μόνη της έχει την ικανότητα αυτοκαθαρισμού ως ένα βαθμό, όμως ανθρωπογενείς πηγές ρύπανσης σήμερα τόσο σημειακές όσο και διάχυτες ανακόπτουν την δυνατότητα των μηχανισμών του νερού να επανέλθει στην αρχική του κατάσταση. Οι μηχανισμοί αυτοκαθαρισμού μπορεί να είναι φυσικοί (αραίωση, καθίζηση, προσρόφηση, απορρόφηση, ιοντοανταλλαγή κ.λ.π.), είτε χημικοί (οξειδοαναγωγή, συμπλοκοποίηση, δημιουργία χημικών ενώσεων, καταβύθιση, συσσωμάτωση, υδρόλυση κ.λ.π.), είτε βιολογικοί (βακτηριακή αποσύνθεση διαλυτών ουσιών, κατανάλωση από ανώτερους φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς). Οι μηχανισμοί αυτοί δεν επαρκούν πλέον να επαναφέρουν τα ύδατα στην πρότερη τους κατάσταση, γι' αυτό γίνεται μια προσπάθεια από τον άνθρωπο να χρησιμοποιήσει τους ίδιους αυτούς μηχανισμούς βελτιώνοντας την απόδοση και εφαρμογή τους στα διάφορα διαθέσιμα συστήματα επεξεργασίας.

(β) Εξαιτίας της ολοένα μεγαλύτερης χρήσης αποθεμάτων γλυκού νερού λόγω της αύξησης του πληθυσμού της γης και της ανόδου του βιοτικού επιπέδου πρέπει να εξοικονομηθούν και να προστατευτούν οι υπάρχοντες υδατικοί πόροι και υδατοαποδέκτες. Το διαθέσιμο γλυκό νερό για άμεση χρήση αποτελεί μόνο το 0.014% της συνολικής ποσότητας του παγκόσμιου νερού, και το απόθεμα τους ελαττώνεται όλο και περισσότερο και πρέπει να προστατευτεί, ιδίως σε ορισμένα ξηρικά οικοσυστήματα, αλλά και σε όλο περισσότερες περιοχές εξαιτίας της ερημοποίησης) με την επεξεργασία και επαναχρησιμοποίηση υγρών αποβλήτων πετυχαίνετε εξοικονόμηση των πολύτιμων υδατικών πόρων ή και σε ορισμένες περιπτώσεις θρεπτικών ουσιών.

(γ) Η αύξηση της τοξικότητας των υγρών αποβλήτων λόγω νέων συνθετικών τοξικών ουσιών (οργανικών/οργανοχλωριωμένων, βιοκτόνων, φυτοφαρμάκων

οργανομεταλλικών, επιφανειοδραστικών), που προέρχονται από αστικές, βιομηχανικές ή/ και γεωργικές και κτηνοτροφικές πηγές προέλευσης. Αν και αρκετές είναι ανθεκτικές, η συγκέντρωσή τους στα υγρά απόβλητα μπορεί να μειωθεί αρκετά μετά από την επεξεργασία. Πολλές από τις ουσίες αυτές χαρακτηρίζονται ως ξενοβιοτικές, μια και είναι σε χαμηλές τιμές συγκεντρώσεων ή εντελώς ανύπαρκτες στα φυσικά οικοσυστήματα. Οι ουσίες αυτές μπορεί να είναι καρκινογόνες ή είναι μιμητές φυσικών ορμονών ή μπορεί να παρουσιάζουν γενικά αυξημένη τοξικότητα (Kolpin et al., 2002).

(δ) Η συσσώρευση υγρών αποβλήτων σε ένα φυσικό υδατοαποδέκτη ή στο έδαφος, μπορεί να οδηγήσει στην αλλαγή της σύστασης του εδάφους, προβλήματα τοξικότητας ή παραγωγή δύσσομων αερίων εξαιτίας της αποσύνθεσης του οργανικού υλικού των αποβλήτων ή/και ανάπτυξη αναερόβιων συνθηκών (Metcalf & Eddy, 1991)

(ε) Η διαφύλαξη της δημόσιας υγείας από την μετάδοση μολυσματικών ασθενειών εξαιτίας της παρουσίας στα υγρά απόβλητα παθογόνων μικροοργανισμών.

(στ) Η παρουσία μεγάλων συγκεντρώσεων θρεπτικών υλικών, κυρίως αζώτου και φωσφόρου στα υγρά απόβλητα, που διατίθενται στους υδάτινους αποδέκτες, οδηγεί στο φαινόμενο του ευτροφισμού, δηλαδή στην υπέρμετρη αύξηση της πρωτογενούς παραγωγικότητας.

1.2 Συμβολή των αποτελεσμάτων της έρευνας από τη Διδακτορική Διατριβή σε νέα γνώση

Η επεξεργασία των υγρών αστικών αποβλήτων είναι πρωτεύουσας σημασίας, όπως διαφάνηκε από τους λόγους που εκτέθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο. Αποτελεί επιτακτική ανάγκη, να εφαρμοστεί η αποδοτικότερη δυνατή επεξεργασία των αστικών υγρών απόβλητου από μικρούς οικισμούς, όπως επιβάλλεται από την Οδηγία Πλαίσιο για τα ύδατα, 2000/60/ΕΚ (Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της ΕΕ, 2000). ώστε να επιτευχθούν οι ελάχιστες τουλάχιστον τιμές ποιοτικών παραμέτρων τελικής εκροής για συμβατικούς όσο και μή συμβατικούς οργανικούς ρύπους. Όμως, το ανά κάτοικο κόστος για την εφαρμογή της συμβατικής επεξεργασίας με ενεργή ιλύ, στις μικρές κοινότητες είναι πολύ υψηλότερο από αυτό για τις μεγάλες πόλεις. Επομένως μη συμβατικές τεχνολογίες που περιλαμβάνουν τα απλά χαμηλής βιολογικής ταχύτητας συστήματα

όπως τις λίμνες σταθεροποίησης, τους τεχνητούς υγροβιότοπους και τα αμμοδιυλιστήρια καθώς και αντιδραστήρων αιωρούμενων και σε σταθερό φορέα βιοφίλμ (biofilm reactors), πρέπει να αξιολογηθούν σύμφωνα με την απόδοση επεξεργασίας το οικολογικό τους αντίκτυπο, την αξιοπιστία και σταθερότητα της λειτουργίας τους, το αρχικό κόστος εγκατάστασης και το κόστος λειτουργίας (Boller, 1997; Colmenarejo et al., 2006; Fahd et al., 2007).

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι (CWs) χρησιμοποιούνται παγκοσμίως για την επεξεργασία των αστικών υγρών αποβλήτων (Brix, 1994a; He and Mankin, 2002; Nitorisavut and Klomjek, 2005; Paing and Voisin, 2005; Brix and Arias, 2005; Chung et al., 2008). Τα συστήματα τεχνητών υγροβιοτόπων βασίζονται στις λειτουργίες των φυσικών οικοσυστημάτων και οι διαδικασίες επεξεργασίας περιλαμβάνουν σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του χώματος, του νερού, των φυτών και των μικροοργανισμών. Οι τεχνητοί υγροβιότοποι είναι γενικά αποδοτικά συστήματα επεξεργασίας για την απομάκρυνση της οργανικής ουσίας (BOD) και των αιωρούμενων στερεών (SS), αλλά η απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου είναι συχνά σχετικά χαμηλή (Verhoeven and Meuleman, 1999; Tanner et al., 1999; Kuschik et al., 2003; Vymazal, 2007). Η δυνατότητα των τεχνητών υγροβιοτόπων να αποτελέσουν μια οικονομικά βιώσιμη μέθοδος περιορίζεται από το γεγονός ότι οι υγροβιότοποι απαιτούν μια χαρακτηριστικά μικρή ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης (HLR) και έναν μεγάλο υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT) ώστε να επιτευχθεί η απαιτούμενη απομάκρυνση ρύπων. Αυτό σημαίνει ότι η μέθοδος επεξεργασίας με τεχνητούς υγροβιότοπους απαιτεί μια μεγάλη περιοχή εδάφους. Ο περιβαλλοντικός φορέας USEPA έχει συστήσει ότι η οργανική ταχύτητα φόρτισης δεν πρέπει να υπερβεί τα $6 \text{ g BOD m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ σε τεχνητούς υγροβιότοπους τύπου HSF (USEPA, 2000) και $11,2 \text{ g BOD m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ σε ΤΥ τύπου FWS (USEPA, 1988). Αυτές οι συστάσεις πιθανόν όμως να μην μπορούν να εφαρμοστούν όταν το κόστος του εδάφους είναι μεγάλο ή δεν υπάρχει διαθεσιμότητα εδάφους. Η χρησιμοποίηση υψηλών τιμών φόρτισης HLR μπορεί ενδεχομένως να μειώσει την απαιτούμενη περιοχή. Εκτός από τα αστικά υγρά απόβλητα οι τεχνητοί υγροβιότοποι έχουν χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία πολλών ειδών υγρών αποβλήτων συμπεριλαμβανομένων και των υδάτινων απορροών (από τις βροχοπτώσεις) των αυτοκινητοδρόμων. Όμως η απόδοση διαφορετικών τύπων

υγροβιοτόπων, με διαφορετικές λειτουργικές παραμέτρους όπως διαφορετικούς υδραυλικούς χρόνους παραμονής δεν έχει διερευνηθεί ακόμη διεξοδικά, ειδικά στο Μεσογειακό επίπεδο.

Κατά τα τελευταία έτη μελετάται η απόδοση των τεχνητών υγροβιοτόπων κάτω από υψηλές τιμές φόρτισης (HLRs). Οι Caselles-Osorio et al. (2007a) διαπίστωσαν ότι δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά στην απομάκρυνση COD μεταξύ δύο συστημάτων HSF που λειτούργησαν με τιμές φόρτισης HLR 6 g COD m⁻² d⁻¹ και 23 g COD m⁻² d⁻¹. Μια άλλη μελέτη στη Γαλλία κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπερφορτίσεις ακόμα και μέχρι δέκα φορές κατά την ξηρή περίοδο στους κάθετους ροής τεχνητούς υγροβιοτόπους είναι δυνατές επιτυγχάνοντας εκροές που συμμορφώνεται με τα ευρωπαϊκά πρότυπα (Molle et al., 2006). Επιπλέον οι, Lin et al (2005) παρουσίασαν μια μονάδα που αποτελείται από μονάδες και FWS και HSF και επεξεργάζεται υγρά απόβλητου εντατικής υδατοκαλλιέργειας γαρίδας, η οποία απομάκρυνε αποτελεσματικά τα TSS, BOD και το NH₄ - N υπό υψηλές υδραυλικές ταχύτητες φόρτισης (157-195 g BOD m² d⁻¹).

Από την άλλη μεριά, υπάρχουν επίσης διάφορα μικρής απαίτησης χώρου “συμπυκνόμενα” (compact) συστήματα επεξεργασίας που χρησιμοποιούν αντιδραστήρες σταθερής και κινητής κλίνης, με υψηλή δυνατότητα απομάκρυνσης του BOD, των SS και του αζώτου, και που μπορούν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν για μικρούς οικισμούς. Αυτά τα συστήματα γενικά έχουν καλή σταθερότητα στη λειτουργία τους, μικρότερα επιπτώσεις στο περιβάλλον σε σχέση με τους τεχνητούς υγροβιοτόπους και σταθερά υψηλό ποσοστό απομάκρυνσης ρύπων (Helmer και Kunst, 1998 Gebara, 1999 Sirianuntariboon, 2006). Διαφορετικοί τύποι αντιδραστήρων τεχνολογίας βιομάζας έχουν εφαρμοστεί ευρέως ως μικρής κλίμακας εγκαταστάσεις, συμπεριλαμβανομένων των σταθερής κλίνης αντιδραστήρων βιοφίλμ (Mann και Stephenson, 1997, Aesoy et Al, 1998, Schubert et Al 2001) και των περιστρεφόμενων βιολογικών δίσκων (Hansford et al, 1978, Ayoub και Saikaly, 2004, Tawfik et al, 2006). Αυτά τα συστήματα επιτυγχάνουν γενικά υψηλές αποδόσεις κατά την επεξεργασία υγρών αποβλήτων 25-500 ισοδύναμων κατοίκων (IK), εντούτοις το κεφάλαιο για την

εγκατάσταση και λειτουργία σε μικρές πόλεις (1000-5000 ΙΚ) μπορεί να είναι πολύ υψηλό.

Στο άμεσο μέλλον ο αριθμός τέτοιων εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων μικρής κλίμακας, που είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για την εξυπηρέτηση κοινοτήτων σε μικρούς και απομονωμένους οικισμούς, θα αυξηθεί πολύ. Αυτό θα είναι φυσικό επακόλουθο δυο συνυπαρχόντων κινήτρων. Το πρώτο και αμεσότερο είναι η εναρμόνιση των εθνικών νομοθεσιών με κοινοτικές οδηγίες και περιβαλλοντικά πρότυπα. Το δεύτερο και ίσως σημαντικότερο κίνητρο είναι η εξεύρεση επιπλέον ποσοτήτων υδατικών πόρων που να πληρούν κριτήρια καταλληλότητας για επαναχρησιμοποίηση, εξαιτίας παγκόσμιων περιβαλλοντικών ανησυχιών που προκαλούν το φαινόμενο του θερμοκηπίου και η ερημοποίηση. Τα κίνητρα αυτά θα ανατροφοδοτούν τη ζήτηση για όλο και περισσότερες πληροφορίες των βιωσιμότερων και πιο προτιμητέων βάσει οικονομικών και περιβαλλοντικών κυρίως κριτηρίων, διαδικασιών και τεχνολογιών. Οι διαθέσιμες τεχνικές εναλλακτικές λύσεις (που όπως αναφέρθηκε συμπεριλαμβάνουν τόσο τα μηχανικά, όσο και απλά βιολογικά μικρής ροής συστήματα, όπως οι λίμνες σταθεροποίησης, τα αμμόφιλτρα και οι κλίνες με υδροχαρή φυτά (τεχνητοί υγροβιότοποι), αλλά και τους σύνθετους, υψηλής ταχύτητας αντιδραστήρες, προσκολλημένης βιομάζας), πρέπει να αξιολογηθούν σύμφωνα με το μέγεθος εγκαταστάσεών τους, την ασφάλεια λειτουργίας τους, την αξιοπιστία τους, την τυχόν απαίτηση για δαπάνες εξειδικευμένου προσωπικού, και άλλα οικονομικά μεγέθη επένδυσης και λειτουργίας (Boller, 1997). Πολλές μικρής κλίμακας δημοτικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας είναι σε λειτουργία στην Ευρωπαϊκή Ένωση αλλά ένας σημαντικός αριθμός τους δεν λειτουργεί ικανοποιητικά. Παραδείγματος χάριν, οι Tsagarakis et al., (2001) πραγματοποίησαν μια έρευνα για μικρής κλίμακας δημοτικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (MWWTPs) στην Ελλάδα. Διαπιστώθηκε ότι από τις 71 MWWTPs, το 55% ήταν λειτουργικές. Από αυτές, το 21% λειτουργούσε σε αρκετά ικανό βαθμό, το 51% λειτουργούσε με μέτρια απόδοση και 28% λειτουργούσε σε μη-ικανοποιητικό βαθμό. Οι Lee et Al (2004) επίσης μελέτησαν μικρού μεγέθους σταθμούς εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων που βρίσκονται σε αγροτικές κοινότητες στην Κορέα που είχαν ως σκοπό να απομακρύνουν μόνο την οργανική ουσία και τα αιωρούμενα στερεά. Βρήκαν πολλή μεγαλύτερη

διακύμανση στην ποιότητα της εισροής των λυμάτων σε σχέση με τις MWWTPs. Η απόδοση στην απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου καθώς επίσης και της οργανικής ουσίας ήταν χαμηλή. Οι ερευνητές αυτοί πρότειναν ένα αυτόματο σύστημα ελέγχου από απόσταση, για να διατηρήσουν σε σταθερή απόδοση λειτουργίας παρά τις οποιαδήποτε πιθανές αλλαγές στην ταχύτητα οργανικής φόρτισης. Αερόβιες βιολογικές διαδικασίες έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην επεξεργασία των αστικών υγρών απόβλητων σε μικρές κοινότητες. Οι τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται στις μικρής κλίμακας εγκαταστάσεις επεξεργασίας είναι βασισμένες σε διαφορετικές παραλλαγές της ενεργής ιλύς και των σταθερών και κινητών κλινών αντιδραστήρων. Αρκετά άρθρα επισκόπησης έχουν παρουσιάσει τη γενικευμένη εφαρμογή της συμβατικής διαδικασίας ενεργής ιλύος και του εκτεταμένου αερισμού για μικρής κλίμακας ("συμπαγείς") μονάδες (Tench, 1994, Berklay and Ellis, 1997 Boller, 1997, Belanche et al., 1999, Tsagarakis et al, 2001, Teichgraber et al, 2001, Lee et al, 2004). Οι ονομαστικές αποδόσεις σε απομακρύνσεις για το BOD₅ σε αυτές τις εγκαταστάσεις είναι μεγαλύτερες από 90% μόνο όταν λειτουργούν επαρκώς. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η απόδοση του καθαρισμού που επιτύγχαναν περιοριζόταν από την έλλειψη οξυγόνου. Οι Teichgraber et al. (2001), παρουσίασαν μια μελέτη μικρής κλίμακας MWWTPs βασισμένη σε διαδοχικούς αντιδραστήρες διαλείποντος έργου, περιοδικής λειτουργίας (SBR). Η εμπειρία από τη λειτουργία των μονάδων αυτών, έδειξε ότι οι εγκαταστάσεις αυτές απαιτούν ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό. Οι εγκαταστάσεις μικρής κλίμακας παράγουν μια ποιότητα εκροής συγκρίσιμη με εκείνης των εγκαταστάσεων συνεχής ροής. Επιπλέον, τεχνολογίες που χρησιμοποιούν σταθερής και κινητής κλίνης αντιδραστήρες έχουν εφαρμοστεί σε μικρής κλίμακας εγκαταστάσεις, παραδείγματος χάριν, σε κλίνες τύρφης (Couillard, 1994, Lens et al., 1994, McNevin and Bardford, 1998 Viraraghavan and Kikkeri, 1998 Perez et al., 2005) και βιοδίσκους (Hansford et al., 1978, Kargi and Eker, 2002, Andreadakis et al 1984, Andreadakis 1987, Gavalakis and Andreadakis 2004). Σε αυτές τις μονάδες, οι αποδόσεις απομάκρυνσης σε BOD₅, ήταν γενικά χαμηλότερες από 90%. Αυτό οφείλεται στο μικρό υδραυλικό χρόνο παραμονής, που ήταν σε πολλές περιπτώσεις μικρότερος από μια ώρα. Άλλες λειτουργικές παράμετροι των εναλλακτικών συστημάτων μικρής κλίμακας (εκτός από τον υδραυλικό χρόνο παραμονής), όπως η ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης, η ταχύτητα οργανικής φόρτισης, η διαδοχική λειτουργία όμοιων μονάδων σε σειρά, ο λόγος της

επανακυκλοφορίας (σε συστήματα που έχουν τη δυνατότητα να κάνουν επανακυκλοφορία και να ρυθμίζεται), η κατανάλωση της ισχύος (ηλεκτρικής), ο αερισμός, ο γενικότερος σχεδιασμός των συστημάτων είναι κάποιοι από τους παράγοντες που μαζί με τις κλιματολογικές συνθήκες πρέπει να ελέγχονται ώστε να εξασφαλίζεται η αποτελεσματική επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Παρά την ύπαρξη στην βιβλιογραφία κάποιων αναφορών που εξετάζουν την απόδοση μεμονωμένων μονάδων, λίγες είναι οι αναφορές όπου εξετάζονται κινητικές παράμετροι απομάκρυνσης μη συμβατικών ρύπων (PAHs – LAS) και των θρεπτικών, σε πιλοτικές μονάδες διαφορετικών εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, οι οποίες λειτουργούν παράλληλα δεχόμενες την ίδια ποιότητα υγρών αποβλήτων, ώστε να μπορεί να γίνει μια απευθείας σύγκριση. Επίσης γίνεται μια προσπάθεια χαρακτηρισμού των μικροβιακών κοινωνιών που εμφανίζονται σε αυτά. Τέτοια δεδομένα έρχεται να συμπληρώσει με τα αποτελέσματά της, προσθέτοντας νέα στοιχεία η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή.

1.3 Στόχοι Διδακτορικής Διατριβής

Ο κύριος στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να εξεταστούν η απόδοση και λειτουργία διαφορετικών μικρής κλίμακας εγκαταστάσεων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων, σε σχέση με την ποιότητα των υγρών αποβλήτων στην τελική εκροή τους, στις παραμέτρους που ορίζει η ευρωπαϊκή οδηγία προτύπων του Συμβουλίου της Ε.Ε. για την τελική διάθεση της εκροής (ΕΕΚ, 1991, 1998 ΕΕ, 1999), και ιδιαίτερα ως προς την απομάκρυνση μη συμβατικών ρύπων. Σχεδόν όλα τα συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων έχουν σχεδιαστεί βάση πραγματικών δεδομένων επεξεργασίας που βασίζονται στις μετρήσεις παραμετρών όπως το βιοχημικά (ή χημικά) απαιτούμενο οξυγόνο, τα αιωρούμενα στερεά κλπ (Blackburn, 1987). Αυτοί οι παράμετροι είναι χρήσιμοι για τη βελτιστοποίηση της επεξεργασίας, όμως η σύγχρονη τάση είναι τα όρια των εκροών να μην περιορίζονται σε αυτούς τους συμβατικούς ρύπους (BOD, COD, SS κλπ) αλλά και σε συγκεκριμένους ξεχωριστούς τοξικούς ρύπους προτεραιότητας. Στην πραγματικότητα όρια έχουν ήδη καθιερωθεί για μερικούς από αυτούς τους ρύπους (Byrns, 2001; European Union Draft Directive on sewage sludge, 2000; European Commission, 2001). Η παρουσία και το γίνεσθαι τέτοιων ρύπων είναι το θέμα αρκετών

επιστημονικών δημοσιεύσεων. (Petrasek et al., 1983; Rogers, 1996; Pham and Proulx, 1997; Alcock et al., 1999; Blanchard et al., 2004; Katsoyiannis and Samara, 2004), υπάρχουν όμως σε αυτές αρκετές ασυνέπειες, και αναφέρονται κυρίως σε συμβατικά συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων που βασίζονται στην ενεργή ιλύ. Υπολογίστηκαν κινητικές παραμέτροι της απομάκρυνσης δυο κατηγοριών ξενοβιοτικών ουσιών (PAHs και LAS), ώστε να γίνει η σύγκριση πιο άμεση, ενώ έγινε μια προβολή των περιβαλλοντικών παραμέτρων με τις μικροβιακές κοινότητες των συστημάτων.

Εξετάστηκαν συνολικά οι εξής εναλλακτικές μέθοδοι επεξεργασίας σε σχέση με τα προαναφερόμενα τεχνολογικά και περιβαλλοντικά κριτήρια:

Συστήματα τεχνητών υγροβιοτόπων ελεύθερης επιφάνειας και υποεπιφανειακής ροής, πιλοτικής κλίμακας, για την επεξεργασία υδάτινων απορροών αυτοκινητοδρόμων, και αστικών αποβλήτων.

Συστήματα αντιδραστήρων βιοφίλμ (biofilm reactors) και συγκεκριμένα ένα σύστημα περιστρεφόμενου βιολογικού δίσκου (biological rotating contactor), ένα βιολογικό φίλτρο συμπυκνής κλίνης (packed bed filter) και ένα χαλικόφιλτρο. Τα πιλοτικής κλίμακας συστήματα αυτά δέχονταν παράλληλες φορτίσεις, μαζί με δυο νέους τεχνητούς υγροβιότοπους που κατασκευάστηκαν δίπλα τους, από πρωτοβάθμια επεξεργασμένα αστικά απόβλητα.

1.4 Ερευνητικά ερωτήματα που τέθηκαν στη Διδακτορική Διατριβή

Τα ακόλουθα ερευνητικά ερωτήματα τέθηκαν στην παρούσα Διδακτορική Διατριβή

- Να προσδιοριστούν οι απομακρύνσεις και οι τιμές για κινητικές μηδενικής και πρώτης τάξης τόσο για συμβατικούς όσο και για μη συμβατικούς ρύπους. Οι τελευταίοι εξετάζονται μια και υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη διάχυση και συσσώρευση των συχνής εμφάνισης ρύπων σημειακή ή μη σημειακής πηγής - PAHs και LAS αντίστοιχα) για τους λόγους της τοξικότητας, της εμφάνισης αφρισμού (στην περίπτωση των LAS) και πιθανής καρκινογένεσης σε ανθρώπους ή ζώα (στην περίπτωση των PAHs), όταν ρυπαίνονται υδατικοί αποδέκτες ή το έδαφος.

- Ποια η σταθερότητα της λειτουργίας και η απόδοση των εξεταζόμενων εναλλακτικών συστημάτων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (με έμφαση τους τεχνητούς υγροβιοτόπους), για την επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων, και πως διαφοροποιούνται οι ποιοτικοί παράμετροι εκροής, όταν διαφοροποιούνται κάποιοι από τις λειτουργικές τους παραμέτρους τους όπως η υδραυλική ταχύτητα φόρτισης; Ποια η απόδοση των τεχνητών υγροβιοτόπων στην επεξεργασία των υδάτινων απορροών των αυτοκινητοδρόμων.
- Ποιος μηχανισμός βιολογικός ή φυσικός είναι σε κάθε περίπτωση πιο πιθανός στο να περιγράφει καλύτερα την απομάκρυνση συγκεκριμένων οργανικών ρύπων (PAH και LAS) σε κάθε σύστημα; Ποιας τάξης κινητική περιγράφει τις διεργασίες απομάκρυνσης των ρύπων αυτών σε αυτές καλύτερα;
- Πως συγκρίνονται η απομακρύνσεις των ίδιων οργανικών ρύπων (PAHs και LAS), με μια άλλη μέθοδο επεξεργασίας αυτή του αντιδραστήρα διαλείποντος έργου περιοδικής λειτουργίας (SBR) που κατά βάση στηρίζεται στη τεχνολογία της συμβατικής επεξεργασίας της ενεργού ιλύος και ποια είναι η σταθερότητα στη λειτουργία και απόδοση του συστήματος επεξεργασίας αυτού στην περίπτωση ύπαρξης ακραίων (τοξικών) συγκεντρώσεων ξενοβιοτικών ενώσεων στα υγρά απόβλητα;
- Πως διαφοροποιούνται οι μικροβιακές κοινότητες αυτών των συστημάτων επεξεργασίας μεταξύ τους και ποιες αλλαγές παρουσιάζονται στις κατανομές τους, όταν αλλάζουν κάποιες λειτουργικές παράμετροι στα συστήματα, όπως η υδραυλική ταχύτητα φόρτισης; Ποιες φυσικοχημικές παράμετροι των υγρών αποβλήτων καθορίζουν τη σύσταση των μικροβιακών κοινοτήτων;

Για να απαντηθούν τα ερωτήματα αυτά όσο το δυνατόν καλύτερα χρειάστηκε να γίνει παραγοντικός σχεδιασμός αρκετών σύνθετων πειραμάτων όπου να μεταβάλλονται η υδραυλική ταχύτητα φόρτισης, η ποιότητα της εισόδου και το περιεχόμενο σε οργανικό

φορτίο, θρεπτικά, και ξενοβιοτικές ενώσεις σε αρκετά διαφορετικά εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας.

1.5 Πρωτοτυπία της μελέτης

Στη βιβλιογραφία όπως αναφέρθηκε, υπάρχουν ελάχιστες αναφορές στις οποίες να εξετάζονται συγκριτικά, η απομακρύνσεις σε PAHs και LAS, σε σχέση με λειτουργικές παραμέτρους, ταυτόχρονα με την απόδοση στην απομάκρυνση συμβατικών ρύπων, και να εφαρμόζονται μικροβιολογικά βασισμένοι μέθοδοι (μοριακής βιολογίας), για τον χαρακτηρισμό των μικροβιακών κοινοτήτων και την κατανομή συγκεκριμένων ομάδων, ειδικά σε ακραίες τιμές ταχυτήτων φόρτισης.

Συγκεκριμένα στη διατριβή αυτή όπως αναφέρθηκε εξετάστηκαν 5 διαφορετικές μη συμβατικές τεχνολογίες επεξεργασίας, δυο διαφορετικοί τύποι τεχνητών υγροβιότοπων (ελεύθερης επιφάνειας και υποεπιφανειακής ροής), ένα χαλικόφιλτρο, ένα σύστημα προσκολλημένων βιοφίλμ με στερεά κλίση, ένα σύστημα περιστρεφόμενου βιολογικού δίσκου (τεχνολογίας βιοδίσκων) και ένας αντιδραστήρας διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία. Λόγω της αδυναμίας που έχουν οι τεχνητοί υγροβιότοποι να επιτυγχάνουν πάντα υψηλές αποδόσεις στην απομάκρυνση αζώτου, εξετάστηκε επιπλέον η επίδραση λειτουργικών παραμέτρων στα προαναφερόμενα συστήματα επεξεργασίας, στη μικροβιακή κοινότητα, με έμφαση σε λειτουργικές ομάδες βακτηρίων που επιτελούν την νιτροποίηση και την απονιτροποίηση.

Τέλος σε όλα τα εναλλακτικά συστήματα αυτά και επιπλέον σε ένα αντιδραστήρα διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία, (SBR), εργαστηριακής κλίμακας μελετήθηκε η απομάκρυνση δυο κατηγοριών ξενοβιοτικών ουσιών, των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAH) και των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS). Η επιλογή των ενώσεων αυτών έγινε δεδομένου ότι υπάρχουν σε αστικά υγρά απόβλητα, δημιουργώντας προβλήματα τόσο στην τοξικότητας όσο και στην ίδια τη βιολογική επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων και υδάτινων απορροών αυτοκινητοδρόμων (δυο κατηγορίες υγρών αποβλήτων που εξετάστηκαν σε αυτήν τη διατριβή) σε σημαντικές συγκεντρώσεις και γιατί αποτελούν πολύ καλά μελετημένες

ενώσεις (model compounds), οπότε βάση της βιοαποδόμησης και ρόφησης τους στα εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας μπορεί να γίνει πρόβλεψη για την τύχη άλλων κατηγοριών ξενοβιοτικών ενώσεων που μπορεί να ενδιαφέρουν.

2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ

2.1 Εναλλακτικές μέθοδοι επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και τρόποι αξιολόγησής τους

Τα υγρά απόβλητα που συλλέγονται από δήμους και οικισμούς πρέπει τελικά να επιστρέψουν στους υδάτινους αποδέκτες από όπου παρελήφθησαν αρχικά ή στο έδαφος ή να επαναχρησιμοποιηθούν. Το σύνθετο ερώτημα που αντιμετωπίζει ο σχεδιαστής μηχανικός και οι υπεύθυνοι για την δημόσια υγεία είναι το εξής: ποια επίπεδα επεξεργασίας πρέπει να επιτευχθούν και ποια από τις διαθέσιμες μεθόδους να χρησιμοποιηθεί, σε μία δεδομένη εφαρμογή ώστε να ικανοποιηθούν οι απαιτούμενες προδιαγραφές των εκροών προκειμένου να διασφαλιστεί η προστασία της δημόσιας υγείας και του περιβάλλοντος. Η απάντηση σε αυτό το ερώτημα απαιτεί την λεπτομερή ανάλυση των τοπικών συνθηκών και αναγκών, την εφαρμογή της επιστημονικής γνώσης και των αρχών της μηχανικής από προηγούμενη εμπειρία και την θεώρηση των ευρωπαϊκών, κρατικών και τοπικών κανονισμών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, απαιτείται λεπτομερής εκτίμηση της επικινδυνότητας. Στην συνέχεια παρουσιάζονται μέθοδοι σχετικά με την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων.

Πολλές και διαφορετικές οι μέθοδοι χρησιμοποιούνται τόσο για την επεξεργασία όσο και τη σταθεροποίηση/αποτοξικοποίηση των υγρών αποβλήτων. Οι πιο συνηθισμένες διαδικασίες είναι (Μαρκαντωνάτος, 1990 και Βαβίζος, 1995):

- Επεξεργασία ενεργής ιλύος
- Περιστρεφόμενος βιολογικός δίσκος (RBC ή βιολογικοί δίσκοι ή σύστημα βιοδίσκων)
- Τεχνητοί υγροβιότοποι (φυσικές μέθοδοι).

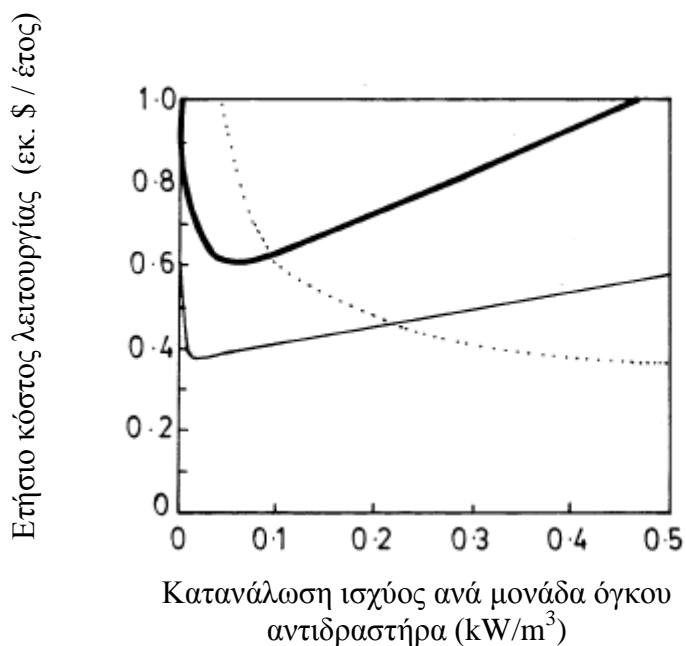
Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου για κάθε οικισμό εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, οι οποίοι μπορεί να είναι: οι απαιτήσεις στην ποιότητα των επεξεργασμένων λυμάτων, το μέγεθος του εξυπηρετούμενου πληθυσμού, η έκταση της εγκατάστασης καθώς και το κόστος της εγκατάστασης και λειτουργίας. Στον πίνακα δίδονται τα χαρακτηριστικά τριών μεθόδων επεξεργασίας, ώστε να μπορεί να γίνει συνοπτικά μια σύγκριση μεταξύ τους. Επίσης στο διάγραμμα που ακολουθεί γίνεται μια οικονομική σύγκριση τριών αντίστοιχα μεθόδων επεξεργασίας (Padwardhan, 2003). Από τη σύγκριση αυτή φαίνεται καθαρά πως τα εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας έχουν αρκετά πλεονεκτήματα έναντι της ενεργούς ιλύος που είναι η συμβατική

μέθοδος επεξεργασίας, και ειδικά βάση οικονομικών κριτηρίων, μπορεί να είναι αρκετά πιο κατάλληλα για μικρού μεγέθους οικισμούς, των οποίων ο πληθυσμός υπόκειται σε εντονότερες εποχικές αυξομειώσεις (δυνατότητα επεξεργασίας φορτίων αιχμής).

Πίνακας 1. Σύγκριση τριών μεθόδων επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων, της ενεργής ιλύος (συμβατική μέθοδος) και δυο εναλλακτικών μεθόδων επεξεργασίας Πηγή:

Αραβώσης κ.α. (2006)

ΜΕΘΟΔΟΙ / ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΕΝΕΡΓΗ ΙΛΥΣ	ΒΙΟΔΙΣΚΟΙ	ΤΕΧΝΗΤΟΙ ΥΔΡΟΒΙΟΤΟΠΟΙ
Η/Μ εξοπλισμός	+++++	+++	-
Δυνατότητα επεξεργασίας φορτίων αιχμής	+	++++	++++
Συντήρηση – έλεγχος λειτουργίας	+++++	+++	+
Εξάδα λειτουργίας	++++	++	-
Έξοδα κατασκευής	+++++	+++	+++
Ανάγκη σε επιφάνεια	+++	++	+++++
Πεδίο εφαρμογής	+++++	++	+
Θόρυβος	+++	+	-
Οσμές – όχληση στην ευρύτερη περιοχή	+++	+	++++



Σχήμα 1. Σύγκριση του οικονομικού κόστους λειτουργίας της ενεργή ιλύος (—), των περιστρεφόμενων βιολογικών δίσκων (---), και διασταλλαγματικών φίλτρων (.....)
πηγή: Patwardhan, 2003

Σύμφωνα με τους Αραβώσης κ.α. (2006), η επιλογή των κριτηρίων για την επιλογή του καταλληλότερου συστήματος, στηρίζεται στην τήρηση (5) βασικών αρχών: της πληρότητας, της λειτουργικότητας, της ανεξαρτησίας, της απουσίας πλεονασμάτων, και του ελάχιστου μεγέθους (Keeney και Raiffa, 1976).

Η κάθε μέθοδος επεξεργασίας υγρών απόβλητων πρέπει να αξιολογηθεί σύμφωνα με την συμπεριφορά της σε (2) μεγάλες κατηγορίες κριτηρίων:

Κατηγορία (Α): η οποία αφορά χωροταξικά, τεχνολογικά, περιβαλλοντικά και κοινωνικά κριτήρια

Κατηγορία (Β): η οποία αφορά κριτήρια οικονομικής αξιολόγησης.

Κάθε κατηγορία με την σειρά της σε ειδικά κριτήρια, τα οποία επίσης αναλύονται παρακάτω (Αραβώσης κ.α. 2006).

2.1.1 Χωροταξικά κριτήρια

Με τα κριτήρια αυτά αξιολογείται το σύστημα διάθεσης υγρών απόβλητων με βάση την παράμετρο του χώρου. Η επιλογή της θέσης εγκατάστασης του βιολογικού καθαρισμού καθορίζεται από διάφορα κριτήρια:

- Αισθητικά κριτήρια (τουριστική περιοχή, βιοτεχνική περιοχή κ.λπ.)
- Η ύπαρξη φυσικού αποδεκτή
- Η διαθεσιμότητα κατάλληλου χώρου (οι χρίσεις γης, το ιδιοκτησιακό καθεστώς κ.λπ.)
- Το τοπογραφικό ανάγλυφο
- Η προσβασιμότητα της περιοχής
- Η ελάχιστη απόσταση από τα όρια του οικισμού.

2.1.2 Τεχνολογικά κριτήρια

Ο παράγοντας της τεχνολογίας και τα τεχνικά χαρακτηριστικά του συστήματος διάθεσης υγρών απόβλητων προσδιορίζουν την ευελιξία και την λειτουργικότητα του. Η ευελιξία στην αλλαγή και την σύσταση των λυμάτων, η πολυπλοκότητα της διαδικασίας, η διαθέσιμη τεχνογνωσία, η ασφάλεια και η απόδοση του συστήματος, αποτελούν τα κριτήρια που αξιολογούνται στο επίπεδο αυτό.

2.1.3 Περιβαλλοντικά κριτήρια

Σε κάθε παρέμβαση η περιβαλλοντική διάσταση είναι πλέον αναγνωρισμένη και λαμβάνεται σοβαρά υπόψη στη λήψη αποφάσεων. Ειδικότερα, εξετάζονται οι επιπτώσεις κάθε εναλλακτικού σεναρίου στην προστασία του αέρα και των υδάτων, στο θέμα διαχείρισης ιλύος, στην εξοικονόμηση ενέργειας, η επίδραση των κλιματολογικών παραγόντων στη διαδικασία της επεξεργασίας, η απαίτηση σε χημικά, το πρόβλημα του θορύβου κ.λ.π.

2.2 Τεχνητοί Υγροβιότοποι

Ένα από τα φυσικά συστήματα επεξεργασίας που έχουν χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία μικρών και απομονωμένων οικισμών είναι οι τεχνητοί υγροβιότοποι. Έχουν χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία των περισσότερων ειδών υγρών απόβλητων, όπως βιομηχανικά, γεωργικές και αστικές απορροές, τα διασταλάζοντα υγρά χωματερών, κλπ. Απόβλητα που περιέχουν οργανικές, αζωτούχες ή άλλες τοξικές ενώσεις που μπορούν να προκαλέσουν διάφορα αρνητικά φαινόμενα στα υδατικά περιβάλλοντα, π.χ. βλάβες σε υδρόβιους οργανισμούς, στην περίπτωση τοξικότητας ή/και να προκαλέσουν μείωση του διαθέσιμου οξυγόνου από το βιοτικό κόσμο [Taylor et al., 2005]. Στους υγροβιότοπους για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων, η απόδοση της αφαίρεσης οργανικής ουσίας εκπληρώνει συχνά τις εφαρμοζόμενες σχεδιαστικές μελέτες, αλλά η απόδοση της απομάκρυνσης αζώτου είναι συνήθως μικρή. Στα ευρωπαϊκά συστήματα παραδείγματος χάριν, τα τυπικά ποσοστά απομάκρυνσης του αμμωνιακού-αζώτου σε μια μεγάλου διαστήματος παρακολούθηση της λειτουργίας τους είναι μόνο 35% μέχρι 50%, ποσοστό που επιτυγχάνεται μόνο αφότου γίνονται συγκεκριμένες σχεδιαστικές βελτιώσεις για την καλύτερη απομάκρυνση αζώτου [Verhoeven and Meuleman, 1999 , Luederitz et al., 2001]. Ομοίως, οι υγροβιότοποι που επεξεργάζονται βρόχινες απορροές αφαιρούν χαρακτηριστικά μόνο περίπου το 45% του συνολικού αζώτου, το μεγαλύτερο μέρος του οποίου αποτελείται από σωματιδιακό οργανικό άζωτο [Taylor et al., 2005]. Προκειμένου να γίνει κατανοητή και να βελτιωθεί η απόδοση των υγροβιότοπων, είναι απαραίτητο να εξεταστεί εν συντομία η τεχνολογία αυτή και να εξεταστούν οι μηχανισμοί των απομακρύνσεων ρύπων.

2.2.1 Περιγραφή των Τεχνητών Υγροβιότοπων (*Constructed Wetlands, CW*)

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι είναι μια σχετικά νέα τεχνολογία, ένα σύστημα σχεδιασμένο από μηχανικούς, που είναι συνδυασμός βιολογικού φίλτρου (εδαφικού ή με χαλίκι πορώδους μέσου) και φυτών, μαζί με ένα σύστημα υγρότοπου, και η περιγραφή αυτή δικαιολογεί και την ετυμολογία της ονομασίας του. Είναι μια οικονομικά βιώσιμη, φυσική εναλλακτική λύση στις συμβατικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών

αποβλήτων. Ένας άλλος ορισμός είναι πως ο τεχνητός υγροβιότοπος ορίζεται ως ένα κατασκευασμένο σύστημα με σκοπό να μιμηθεί έναν φυσικό υγρότοπο για την επεξεργασία αποβλήτων ή άλλους λόγους [Nuttall et al., 1998]. Στην Ευρώπη, οι τεχνητοί υγροβιότοποι είναι επίσης γνωστοί ως κλίνες με καλάμια. Η εξέλιξη της τεχνολογίας των τεχνητών υγροβιότοπων είναι συγκριτικά σύντομη (τα θεμέλια τέθηκαν από μερικούς πρωτοπόρους ερευνητές, ειδικότερα δύο γερμανικοί επιστήμονες: ο Δρ Kathe Seidel και ο Δρ Reinhold Kickuth). Οι έρευνες για την εξέλιξή τους ήταν σπάνιες, έως ότου διοργανώθηκε η δεύτερη Διεθνής Διάσκεψη σχετικά με τους τεχνητούς υγροβιότοπους το 1990 στο Κέμπριτζ, Ηνωμένο Βασίλειο [Cooper et al., 1990]. Ως εκ τούτου, η ιστορία της ερευνητικής ανάπτυξης των τεχνητών υγροβιότοπων είναι σχετικά πρόσφατη, σε σύγκριση με τα από χάλυβα και σκυρόδεμα συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (για παράδειγμα η διαδικασία ενεργής ιλύος χρονολογείται από το 1913).

2.2.2 Τύποι τεχνητών υγροβιότοπων

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι είναι ταξινομημένοι σε δύο σημαντικούς τύπους σύμφωνα με τα υδραυλικά χαρακτηριστικά ροής του νερού στο σύστημα:

Ελεύθερης επιφάνειας ή Επιφανειακής ροής (Surface Flow, SF, Σχήμα 2) και υποεπιφανειακής ροής (Subsurface Flow, SSF, Σχήμα 3).

2.2.2.1 Συστήματα ελεύθερης επιφάνειας ή επιφανειακής ροής (SF ή FWS))

Τα βάθη του νερού στα συστήματα SF ποικίλλουν μεταξύ 0,2 και 0,6 μέτρα, και αυτά τα συστήματα υπάρχει πυκνή φυτοκάλυψη [Kadlec and Knight 1996]. Ο πυθμένας του υγροβιότοπου μπορεί να είναι διαπερατός, επιτρέποντας εν μέρη τη στράγγιση του ύδατος.

Πίνακας 2. Σύγκριση των χαρακτηριστικών των τεχνητών υγροβιότοπων και των συμβατικών εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων.

		Οικονομικές εκτιμήσεις			Απόδοση σε απομακρύνσεις, %				
		ΚΟΣΤΟΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ	ΜΕΓΕΘΟΣ	BOD	SS	TN	TP	ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ
		ΰ	ΚΟΣΤΟΣ ΰ/Υ	m ³					
Τεχνητοί υγροβιότοποι	Φόρτιση 100m ³ /d	220000	300	800	80–90	80–90	40– 50	50– 60	Μερική απομάκρυνση βαρέων μετάλλων, E. coli
Συμβατικές μονάδες επεξεργασίας		300000	2000	450	80–99	70–80	20– 30	<20	

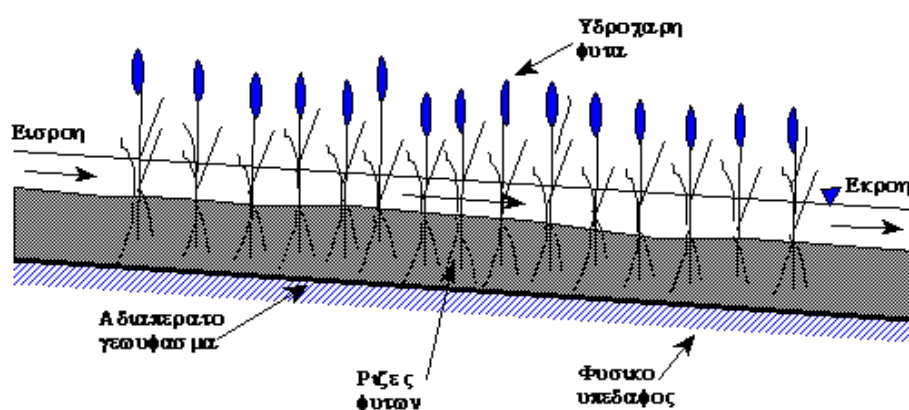
Σε αυτό το σύστημα, τα υγρά απόβλητα περνούν πάνω από το υπόστρωμα υποστήριξης, μεταξύ των μίσχων των φυτών και διαμέσου οποιουδήποτε αποσαθρωμένου υλικού της επιφάνειας συναντήσουν. Το φως του ήλιου διαπερνά το στρώμα του νερού μέχρι το κατώτατο σημείο, μέσω μιας ρηχής λεκάνης, έτσι ώστε μπορεί να προκαλέσει μια αύξηση της ταχύτητας της ανάπτυξης άλγεων και ενεργού αντίδρασης φωτοσύνθεσης. Τα συστήματα SF χρησιμοποιούνται συχνά στη Βόρεια Αμερική [Reed and Crites 1995]. Αυτά πλεονεκτούν στο χαμηλό κόστος κατασκευής, αλλά έχουν γενικά μια χαμηλότερη απόδοση απομάκρυνσης ρύπων, έναντι των συστημάτων SSF. Έχει υπάρξει μια πρόσφατη προσπάθεια να αναπτυχθεί μια ζώνη ανοικτού-ύδατος, χωρίς βλάστηση, για να βελτιωθεί η απόδοση της απομάκρυνσης αζώτου, να προωθηθεί η καλύτερη ροή της εισροής, και να παρασχεθούν ευκολότερα προσεγγίσιμοι βιότοποι άγριας φύσης [Jang et al., 2007].

2.2.2.2 Συστήματα υποεπιφανειακής ροής

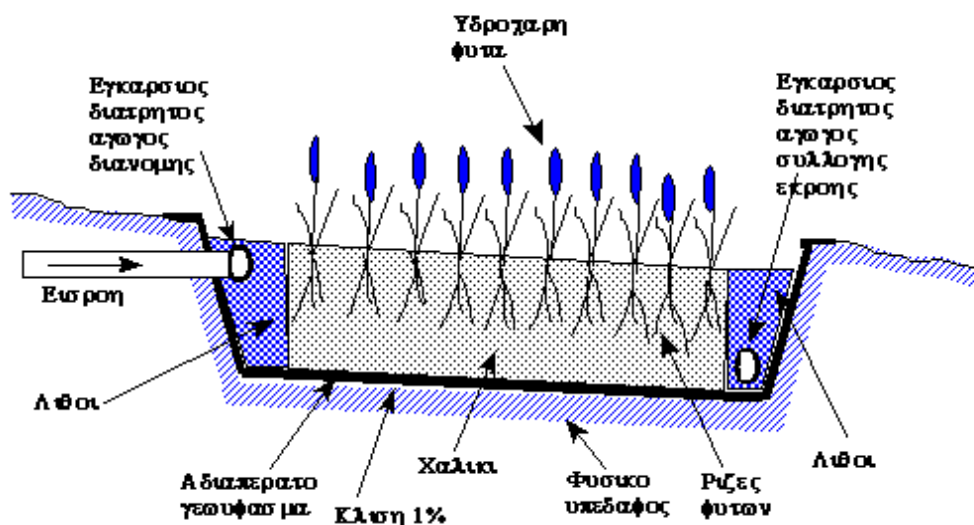
Τα συστήματα SSF αποτελούνται χαρακτηριστικά από μια τάφρο ή μια κλίνη, που σφραγίζεται από μια στεγανή μεμβράνη για να εμποδιστεί η διαρροή, και υπόστρωμα που είναι κορεσμένο με νερό που βοηθά την ανάπτυξη των φυτών. Το υπόστρωμα αποτελείται κυρίως από χαλίκια ή θραστό υλικό διαμέτρου 10 - 15mm, ή διαφορετικά έδαφος, ή σε διάφορους συνδυασμούς τα παραπάνω [Reed and Crites 1995, Kaseva 2004]. Γενικά για λόγους διατήρησης της υδραυλικής αγωγιμότητας σε ικανοποιητικά επίπεδα, με τη μεγαλύτερη δυνατότητα αυτοκαθαρισμού του φίλτρου (αυτόν τον ρόλο παίζει το υπόστρωμα), τα χαλίκια προτιμώνται. Στην πλευρά της εισόδου των λυμάτων υπάρχει διάτρητος πλαστικός σωλήνα με οπές 5 με 20mm ανά 2 με 3 μέτρα. Η κλίνη στα πρώτα 1-2 μέτρα της πλευράς εισόδου πληρούται με κροκαλοπαγή πετρώματα διαμέτρου 50-200mm, για να επιτυγχάνεται η σχεδόν άμεση ομοιόμορφη εισαγωγή των εισερχόμενων υγρών αποβλήτων στην κυρίως κλίνη, η κίνηση της ροής αυτής υποβοηθείται λόγω της ύπαρξης κλίσης 0,5 – 1%. Αυτό το σύστημα χαρακτηρίζεται για τη δυνατότητά του να απομακρύνει διάφορους ρύπους όπως το βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνου (BOD), το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (COD), τα μέταλλα, τα αιωρούμενα στερεά, το άζωτο, τον φώσφορο καθώς επίσης και παθογόνα [Khatiwada

and Polprasert 1999]. Τα συστήματα SSF χρησιμοποιούνται κυρίως στην Ευρώπη, και τη Νότια Αφρική.

Τα συστήματα SSF υποδιαιρούνται στα οριζόντια και κάθετα συστήματα ροής σύμφωνα με την κατεύθυνση της ροής των υγρών αποβλήτων. Μεταξύ των διάφορων τύπων συστημάτων υγροβιότοπου SSF, ο οριζόντιος τύπος SSF είναι αυτός που έχει χρησιμοποιηθεί συνηθέστερα. Σε έναν οριζόντιο υγροβιότοπο SSF, τα πρωτοβάθμια επεξεργασμένα υγρά απόβλητα διατρέχουν οριζόντια κατά μήκος την κλίση του υγροβιότοπου που αποτελείται από ρίζες, χαλίκια ή/και άμμο. Η σύνθετη μήτρα αυτή φιλοξενεί και στρώματα προσκολλημένων μικροοργανισμών [Merz, 2000]. Αυτήν την περίοδο, μερικοί ερευνητές αναπτύσσουν νέα συστήματα τεχνητών υγροβιότοπων, που εφαρμόζουν χαρακτηριστικά γνωρίσματα διαφορετικών τύπων υγρότοπου προκειμένου να επιτευχθεί η υψηλότερη απόδοση στην αφαίρεση ρύπων, π.χ. με εφαρμογή ενός είδους παλιρροιακής ροής (Sun et al., 2005, Sun et al., 2006) ή με τη χρησιμοποίηση ενός τροποποιημένου υγροβιότοπου που εξοπλίζεται με υποβρύχια αντλία αερισμού για να ενισχυθεί η μικροβιακή αποσύνθεση της οργανικής ουσίας (Kim et al., 2006). Η επιλογή του πιο κατάλληλου τύπου υγροβιότοπου εξαρτάται από τους στόχους σε ρύπους, το διαθέσιμο έδαφος, και το αποδεκτό επίπεδο συντήρησης και διαχείρισης. Όμως και άλλα ζητήματα όπως η αλληλεπίδραση με τα υπόγεια νερά επίσης πρέπει να εξεταστούν.



Σχήμα 2. Τεχνητός υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας (Tsihrintzis et al., 2007)



Σχήμα 3. Τεχνητός υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής (Tsihrintzis et al 2007)

Τα πλεονεκτήματα μιας τέτοιας εγκατάστασης επεξεργασία υγρών μπορούν να συνοψιστούν στα εξής (Αραβώσης κ.α. 2000): (i) Χαμηλό κόστος κατασκευής, λειτουργίας και συντήρησης (δευτεροβάθμια & τριτοβάθμια επεξεργασία). (ii) Μεγάλη διάρκεια ζωής (30 έως 50 χρόνια). (iii) Ελάχιστη κατανάλωση ενέργειας (το 10% ενός συμβατικού Βιολογικού). (iv) Ελάχιστο κόστος συντήρησης (δεν απαιτείται η παρουσία μόνιμου προσωπικού). (v) Δυνατότητα επέκτασης οποιαδήποτε χρονική στιγμή (ευελιξία στη διαστασιολόγηση). (vi) Δυνατότητα καταργήσης της χλωρίωσης. (vii) Έλλειψη απαίτησης ηλεκτρομηχανικού εξοπλισμού. (viii) Το σύστημα αφ' εαυτού εμπεριέχει και τριτοβάθμια επεξεργασία με ποσοστό ανάκτησης του 60% του όγκου του νερού, έτοιμοι για άρδευση.

Μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η μεγάλη απαιτούμενη επιφάνεια και η έλλειψη εμπειρίας στη χώρα μας για την κατασκευή τέτοιων εγκαταστάσεων

2.2.3 Αυξανόμενες εφαρμογές των τεχνητών υγροβιότοπων που οδηγούνται από το κόστος των ορυκτών καυσίμων και των κλιματικών αλλαγών

Από τη δεκαετία του '90 και μετά, οι εφαρμογές των τεχνητών υγροβιότοπων έχουν γνωρίσει αξιοσημείωτη αποδοχή, λόγω του αυξανόμενου κόστους των ορυκτών καυσίμων και της αυξανόμενης ανησυχίας για τις κλιματικές αλλαγές, λόγοι οι οποίοι οδηγούν ένα οικονομικό κίνητρο, στην εφαρμογή αυτής της "πράσινης" τεχνολογίας, χαμηλής κατανάλωσης ενέργειας.

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στην επεξεργασία διάφορων υγρών αποβλήτων όπως τα αστικά απόβλητα, τις αστικές και βρόχινες απορροές, τα βιομηχανικό και γεωργικό υγρά απόβλητα, και τα στραγγίσματα συμπεριλαμβανομένων και των διασταλαζόντων υγρών χωματερών [Scholz and Lee 2005].

2.2.4 Τεχνητός υγροβιότοπος: ένας σύνθετος βιολογικός αντιδραστήρας

Ένας τεχνητός υγροβιότοπος θεωρείται ένας σύνθετος βιολογικός αντιδραστήρας. Διάφορες φυσικές, χημικές, και βιολογικές διαδικασίες στις μικροβιακές κοινότητες, τα υδροχαρή φυτά, το χώμα, και τα ιζήματα που συσσωρεύονται στον κατώτερο στρώμα τους πραγματοποιούνται σε αυτά τα συστήματα.

2.2.5 Οφέλη και πλεονεκτήματα της χρήσης τεχνητών υγροβιοτόπων ως μεθόδου επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων

Οι τεχνητοί υγροβιότοποι παρέχουν μια σειρά από οφέλη στην επεξεργασία των υγρών αποβλήτων. Η χρησιμοποίηση υγροβιοτόπων εξοικονομεί πόρους, καθώς στηρίζεται σε φυσικές μεθόδους επεξεργασίας που έχουν χαμηλότερα κόστη, σε σχέση με την κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας και ανθρώπινη εργασία, και έχουν χαμηλότερες δαπάνες κατασκευής και συντήρησης από τις συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας, συμπεριλαμβανομένων των εξόδων που προκύπτουν από χρήση χημικών ουσιών, καυσίμων, υπηρεσιών και γενικότερα της λειτουργίας μια μονάδας επεξεργασίας (Rousseau et al., 2008). Επιπλέον, προσφέρουν ευέλικτη επιλογή περιοχών, εύκολη λειτουργία και συντήρηση, παρέχουν ένα βιότοπο για την εγκαθίδρυση άγριας φύσης καθώς επίσης έχουν και υψηλή σταθερότητα υπό μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές

συνθήκες. Οι τεχνητοί υγροβιότοποι είναι συνηθέστερα μεγάλα παθητικά συστήματα, με μεγάλους υδραυλικούς χρόνους παραμονής. Αντιθέτως, οι συμβατικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων στηρίζονται σε εντατική και ενεργοβόρα λειτουργία με χαμηλούς υδραυλικούς χρόνους παραμονής. Τα συμβατικά συστήματα επεξεργασίας έχουν το μειονέκτημα της υπερβολικής παραγωγής λάσπης, της υψηλής ενεργειακής ζήτησης, και του υψηλού κόστους για τη λειτουργία και συντήρηση.

Επίσης, τα επεξεργασμένα απόβλητα που παράγονται στους τεχνητούς υγροβιότοπους είναι κατάλληλα για επαναχρησιμοποίηση. Παραδείγματος χάριν, η επαναχρησιμοποίηση για άρδευση λαμβάνει χώρα στο 30% των αυστραλιανών τεχνητών υγροβιότοπων [Merz 2000]. Οι τεχνητοί υγροβιότοποι μπορούν επίσης να παρέχουν ευκαιρίες για περιβαλλοντική εκπαίδευση, ψυχαγωγικές και δραστηριότητες άσκησης, ταυτόχρονα ενεργώντας ως υδρολογικός ισοσταθμιστής/ ρυθμιστής ή μια δεξαμενή εξισορόπησης, αφαιρώντας ταυτόχρονα τους παθογόνους οργανισμούς [Knight et al 2001, Siracusa et al., 2006]. Σε ένα χαρακτηριστικό συμβατικό σύστημα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, κατασκευασμένο από χάλυβα ή /και σκυρόδεμα το ποσοστό απομάκρυνσης ρύπων κυμαίνεται μεταξύ 80-95% για τη βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο (BOD), 70-80% για τα αιωρούμενα στερεά (SS), 20-30% για το ολικό άζωτο (TN), και λιγότερο από 20% για το ολικό φώσφορο (TP) [Ahmed and Hazem, 2001]. Αντίθετα, η απόδοση της απομάκρυνσης αζώτου στους τεχνητούς υγροβιότοπους είναι συγκριτικά υψηλότερη, αν και πολλές φορές επίσης είναι το αδύνατο σημείο της επεξεργασίας τους. Οι τεχνητοί υγροβιότοποι λοιπόν παρουσιάζουν συνολικά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών εγκαταστάσεων επεξεργασίας όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 1 και 2 (Brrix, 1994, Hammer, 1992).

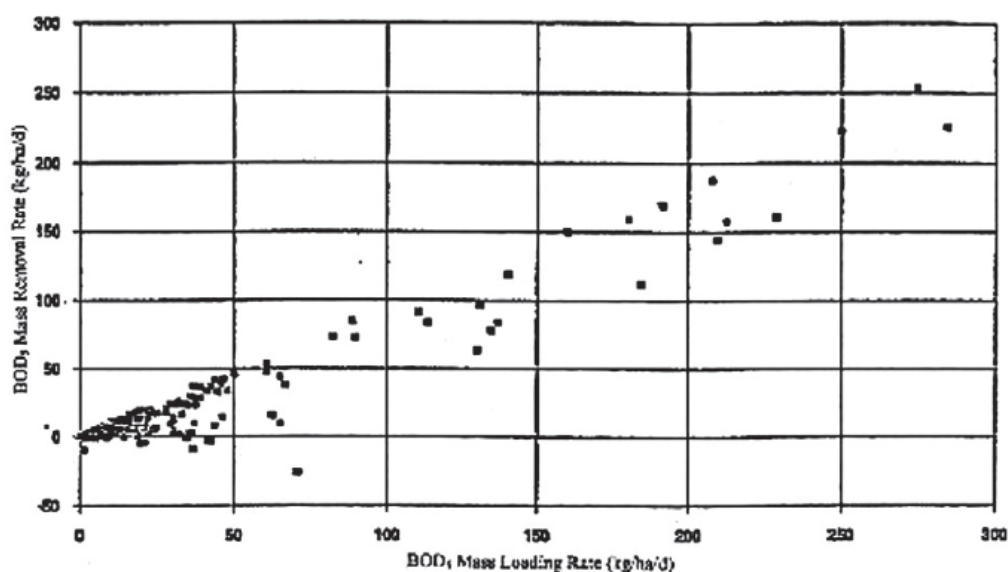
2.2.6 Απόδοση και διεργασίες για τους τεχνητούς υγροβιότοπους

2.2.6.1 Απομάκρυνση BOD

Μια και τα πλούσια σε οργανικές ενώσεις, άζωτο, φώσφορο, παθογόνα και μέταλλο, αστικά υγρά απόβλητα είναι υπεύθυνα για μια ποικιλία περιβαλλοντικών

προβλημάτων, η βελτιστοποίηση της απομάκρυνσης αυτών των ρύπων είναι ένας κρίσιμος στόχος και κάποιες διεργασίες και μηχανισμοί συζητούνται παρακάτω.

Η βάση δεδομένων της Β. Αμερικής αναφέρει ότι τυπικές απομακρύνσεις BOD για συστήματα υδροβιότοπων είναι της τάξης του 70% ή μεγαλύτερες για φορτίσεις μαζών έως και 280 kg ha⁻¹d⁻¹. (US EPA, 1993) Στο Σχήμα 4 παρουσιάζεται η σχέση μεταξύ των φορτίσεων σε BOD και της μάζας σε BOD που απομακρύνεται.



Σχήμα 4. Φορτίσεις σε BOD και οι αντίστοιχες ταχύτητες απομακρύνσεις σε τεχνητούς υδροβιότοπους (Knight et al., 1993)

Στην Αυστρία από 30 τεχνητούς υδροβιότοπους που εξετάστηκαν βρέθηκαν οι τύπου κάθετης ροής να έχουν μέση απομάκρυνση 96% ενώ οι υπόλοιποι που ήταν υποεπιφανειακής ροής είχαν μέση απομάκρυνση 93% (Haberl et al., 1998). Στην Αυστραλία ένας πιλοτικής κλίμακας υδροβιότοπος με χαλίκι είχε απομάκρυνση TSS και BOD σταθερά πάνω από 90% (Davis et al., 1996).

Στο Βέλγιο μια μέση ταχύτητα απομάκρυνσης BOD 83% αν και μεγάλο μέρος αποδόθηκε από τους Cadelli et al., στην αραίωση λόγω της έντονης βροχόπτωσης σε αυτή τη χώρα, όμως αυτή η απομάκρυνση είναι αξιοσημείωτη μια και η υδραυλική ταχύτητα φόρτισης στην περίπτωση αυτή είναι περίπου 2,5 φορές μεγαλύτερη από την αρχικά σχεδιασμένη.

Οι οργανικές ταχύτητες φόρτισης στην Τσεχία κυμαίνονται από 50 έως 240Kg BOD ha⁻¹d⁻¹ και παρόλα αυτά επιτυγχάνεται το όριο από την εθνική τους νομοθεσία των 45 mg L⁻¹. Επίσης η μείωση των αιωρούμενων στερεών ήταν ικανοποιητική λαμβάνοντας μια τελική συγκέντρωση επίσης εντός των ορίων (40mg L⁻¹) (Vymazal 1998).

Στη Δανία από 134 υδροβιότοπους οι ταχύτητες φορτίσεων κυμαινόταν από 1 έως 240 kg/ha⁻¹ d⁻¹ και το 98% των συστημάτων επιτύχανε συγκέντρωση BOD μικρότερη από 20mg/L (Brix 1998). Τα αιωρούμενα στερεά μειώνονταν επίσης σημαντικά με συγκεντρώσεις κάτω από 20mg L⁻¹ για πάνω από 92% των συστημάτων.

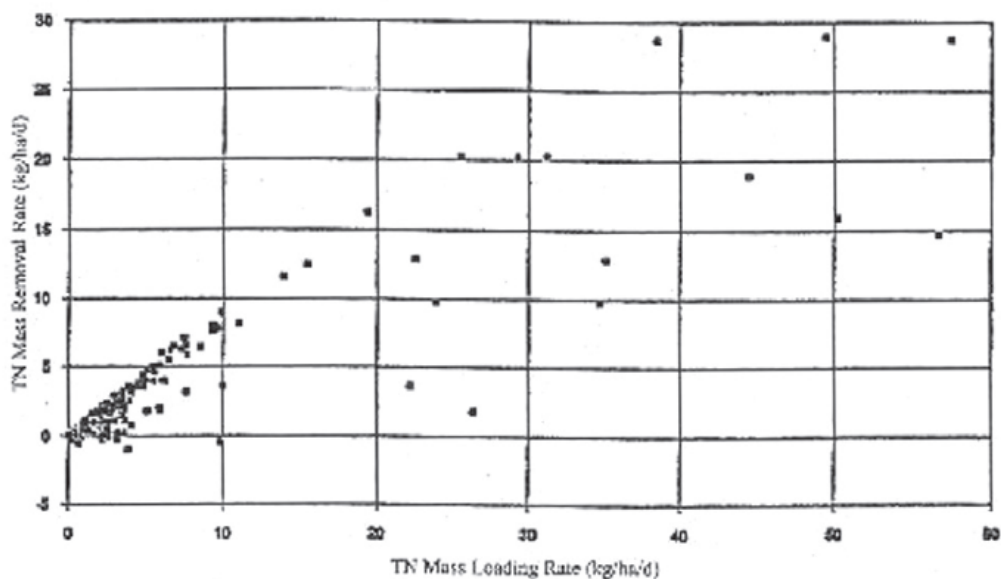
Σε νεο-εγκατεστημένο υδροβιότοπο στη Νικαράγουα υπό τροπικές συνθήκες το επίπεδο του BOD διατηρήθηκε κάτω από 5 mg L⁻¹ για τους πρώτους 17 μήνες λειτουργίας (Platzer και Ramirez, 1998).

Στην Ινδία ένας τεχνητός υδροβιότοπος με υδραυλική ταχύτητα φόρτισης 5 cm m⁻² d⁻¹ αναφέρθηκε ότι είχε μια απόδοση απομάκρυνσης του BOD της τάξεως από 78 έως 91%. (Juwarkar et al., 1995). Στο Νεπάλ ένα πραγματικής κλίμακας σύστημα τεχνητού υδροβιότοπου το οποίο επεξεργάζεται αστικά υγρά απόβλητα είχε απομακρύνσεις BOD της τάξης του 97 με 99% (Shreshta et al., 2000).

2.2.6.2 Αποδόσεις σε απομακρύνσεις θρεπτικών

Σχετικά με τις απομακρύνσεις θρεπτικών έχουν αναφερθεί ακραίες διακυμάνσεις. Για παράδειγμα για τον φώσφορο όταν οι φορτίσεις είναι της τάξεως των 5 g m⁻² γ⁻¹ τότε οι απομακρύνσεις κυμαίνονται από 65 έως 95% όμως οι απομακρύνσεις αυτές μειώνονται σε ποσοστά της τάξης των 30-40% όταν οι φορτίσεις σε φώσφορο είναι μεγαλύτερες από 10-15g m² γ⁻¹ (Faulkner and Richardson, 1993). Σε μια μελέτη (Brix, 1994b) αναφέρεται ότι υδροβιότοποι με κλίνες χαλικιού μπορούν να βελτιστοποιηθούν με αποδόσεις απομακρύνσεων περίπου 50% για το N και 40% για το P για συστήματα με χαμηλές τιμές φορτίσεων περίπου 800 ισοδύναμων κατοίκων ανά εκτάριο.

Η σχέση μεταξύ της φόρτισης σε μάζα και των ταχυτήτων απομάκρυνσης ολικού αζώτου φαίνεται στο Σχήμα 5 (από δεδομένα 200 υδροβιοτόπων USEPA 1993).



Σχήμα 5. Φορτίσεις σε ολικό άζωτο και ταχύτητες απομάκρυνσης του από τεχνητούς υγροβιοτόπους (Knight et al., 1993)

Μπορεί σε αυτό κανείς να διακρίνει ότι οι απομακρύνσεις μειώνονται σε ταχύτητες φορτίσεων μεγαλύτερες από 20 kg ha⁻¹ d⁻¹.

Παρόλα αυτά απομακρύνσεις ολικού αζώτου έχουν αναφερθεί μέχρι και 79% για ταχύτητες φόρτισης 44kg ha⁻¹ d⁻¹ (Watson et al., 1990).

Οι μέσες απομακρύνσεις ολικού αζώτου και φωσφόρου για συστήματα κάθετης ροής ήταν 36 και 60% αντίστοιχα, ενώ οι απομακρύνσεις για συστήματα οριζόντιας ροής ήταν 51 και 70% στην Αυστρία (Haberl et al., 1998).

Οι απομακρύνσεις αζώτου σε 45 τεχνητούς υγροβιοτόπους στη Γερμανία είχαν μια μέση τιμή 54% η απόδοση σε απομάκρυνση φωσφόρου είχε μια μέση τιμή 21% η οποία ήταν ένας μέσος όρος από 74 ενεργά συστήματα από τα οποία υπήρχαν δεδομένα μακρόχρονης λειτουργίας (Borner et al., 1998). Η εμπειρία με υγροβιοτόπους SSF στη Δανία έχει δείξει ότι συστήματα που φορτίζονται με ποσότητες 800 ισοδύναμων κατοίκων ανά εκτάριο είχαν επίσης απομακρύνσεις 35% N και 25% για το φώσφορο (Schierup et al., 1990).

Τα δεδομένα που προέρχονται από τροπικές χώρες παρουσιάζουν μια πολύ πιο ποικιλομορφία τιμών που περικλείουν ένα ευρύ φάσμα τιμών. Έτσι για παράδειγμα ένα πλήρους μεγέθους σύστημα που επεξεργάζεται αστικά υγρά απόβλητα στο Bhubaneshwar στην Ινδία είχε απομάκρυνση αζώτου 70% και φωσφόρου 43%

αντίστοιχα (Juwarakar et al., 1995). Μια πιλοτικού επίσης μεγέθους εφαρμογή στην κεντρική Ινδία είχε πάλι σχετικά υψηλές απομακρύνσεις της τάξεως του 58 και 65% αντίστοιχα (Billore et al 1999). Αντίθετα μια εξαιρετικά μεγάλη διακύμανση φωσφόρου αναφέρεται σε πλήρης κλίμακας σύστημα στο Νεπάλ από 5 έως 69% ενώ η απομάκρυνση N ήταν συνεχώς υψηλή της τάξεως του 80 με 99% (Shreshtha et al., 2000).

Μέχρι πρόσφατα, η ενεργή ιλύς και οι διαδικασίες με χρήση αντιδραστήρων βιοφίλμ ήταν η κύρια εστίαση για τη βιολογική απομάκρυνση αζώτου. Εντούτοις, αυτές οι διαδικασίες είναι ακριβές, ιδιαίτερα όταν υιοθετούνται στις μέσες και μικρές κοινότητες. Οι τεχνητοί υγροβιότοποι έχουν αποδείξει τη δυνατότητα για απομάκρυνσης και βελτιστοποίησης της απόδοσης όσον αφορά το άζωτο, αλλά η απόδοση τους δεν είναι ικανοποιητική και σταθερή, λόγω και της σχετικά ανεπαρκούς παρατήρησης των μηχανισμών μετασχηματισμού και αφαίρεσης οργανικών ενώσεων και αζώτου [Cooper et al., 1996, Sundaravadivel and Vigneswaran, 2001, Griffin, 2003 and Senzia et al., 2003]. Υπάρχουν ακόμα πολλοί άγνωστοι παράμετροι, σχετικά με τους τεχνητούς υγροβιότοπους, τις διαφορετικές διαδικασίες και παραμέτρους λειτουργίας, ιδίως σε σχέση με τις απαιτήσεις σε επίπεδα μείωσης του αζώτου [May and Bigambo, 2005, Wallace and Knight 2006]. Επομένως, είναι απαραίτητο να ερευνηθούν οι ακριβείς μηχανισμοί μετασχηματισμού αζώτου βασισμένοι στην εκτίμηση των κινητικών και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροβιακών κοινοτήτων και των αναπτυγμένων σε αυτούς φυτικών ειδών. Για το λόγο αυτό εξετάστηκαν οι κύριες ομάδες βακτηρίων που εμπλέκονται στην νιτροποίηση και την απονιτροποίηση και οι διαδικασίες αυτές αναλύονται διεξοδικά παρακάτω.

2.2.6.3 Μηχανισμοί της απομάκρυνσης αζώτου στα συστήματα Τεχνητών Υγροβιοτόπων

Η απομάκρυνση οργανικών ουσιών στους τεχνητούς υγροβιότοπους, όπως αναφέρθηκε είναι της τάξης του 80–90%, είναι ικανοποιητική λόγω της βαθμιαίας βελτίωσης τους πάνω από δύο δεκαετίες. Εντούτοις, τα ποσοστά απομάκρυνσης αζώτου δεν είναι συχνά ικανοποιητικά. Ποικίλες μορφές αζώτου στους τεχνητούς

υγροβιότοπους μπορούν να απομακρυνθούν μέσω των συγκεκριμένων διαδικασιών επεξεργασίας, όπως η βιολογική νιτροποίηση-απονιτροποίηση και η καθίζηση, ιδιαίτερα στη διεπαφή ιζήματος-ύδατος και φυτικών ειδών-ύδατος (Taylor et al., 2005).

Η απομάκρυνση αζώτου επιτυγχάνεται από δύο σημαντικές διεργασίες, φυσικοχημικές και βιολογικές. Η διαδικασία απομάκρυνσης των ρύπων στο σύστημα υγροβιότοπου SSF είναι σύνθετη και δυναμική, με πολλές μεταβλητές. Πολλές μελέτες ανέφεραν ότι οι μηχανισμοί καθαρισμού των υγρών αποβλήτων στους τεχνητούς υγροβιότοπους επιτυγχάνονται από τα υδροχαρή φυτά και τους μικροοργανισμούς γύρω από τη ρίζα των φυτών (ριζόσφαιρα), μαζί με τη φυσική καθίζηση (Kadlec, 1996, Mitsch and Gosselink 2000). Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί για την απομάκρυνση του αζώτου στους τεχνητούς υγροβιότοπους περιλαμβάνουν μικροβιακές αλληλεπιδράσεις με το άζωτο, καθίζηση, χημική προσρόφηση, και πρόσληψη από τα φυτά (Khatiwada and Polprasert). Η κύρια πορεία για την απομάκρυνση αζώτου στους τεχνητούς υγροβιότοπους είναι η νιτροποίηση που ακολουθείται από τη απονιτροποίηση (Spieles and Mitsch 2000). Στους τεχνητούς υγροβιότοπους, η απομάκρυνση αζώτου κυμαίνεται από 25 ως 85% [U. S. EPA, 1988].

Στους τεχνητούς υγροβιότοπους για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων, η διαδικασία της απονιτροποίησης μπορεί να απομακρύνει το 60-70% του συνολικού αζώτου και του 20-30% που προέρχεται από τη πρόσληψη των φυτών (Spieles and Mitsch 2000, Reddy and D'Angelo 1997). Το ποσοστό του αζώτου που απομακρύνεται από τους υγροβιότοπους στην περίπτωση των βρόχινων απορροών, θεωρείται αρκετά χαμηλότερο (Taylor et al., 2006). Ένα ισοζύγιο μάζας για τις θρεπτικές ουσίες δείχνει ότι το 14% προέρχεται από φυσική διαδικασία επεξεργασίας και ένα 8,6% από τη πρόσληψη των φυτών, δηλαδή το απορροφημένο ποσό αζώτου στα φυτά είναι μικρό, αλλά το προσροφημένο άζωτο υποκινεί τις διάφορες οικολογικές δραστηριότητες.

Οι μηχανισμοί αφαίρεσης αζώτου στους τεχνητούς υγροβιότοπους είναι γνωστό ότι περιλαμβάνουν την αμμωνικοποίηση, την νιτροποίηση-απονιτροποίηση, τη πρόσληψη από τα φυτά, και φυσικοχημικές μεθόδους όπως καθίζηση, η απαέρωση της αμμωνίας, η χλωρίωση, και η ιοντική ανταλλαγή (Kadlec and Knight, 1996, U. S. EPA, 1993).

2.2.6.3.1 Περιβαλλοντικοί παράγοντες που έχουν επιπτώσεις στην απόδοση απομάκρυνσης αζώτου

Θεωρώντας ότι οι ρύποι αφαιρούνται με ποικίλες φυσικοχημικές και βιολογικές διαδικασίες στους τεχνητούς υγροβιότοπους και τα συστήματα προσκολλημένης βιομάζας, πολύ περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την απομάκρυνση του αζώτου. Σημαντικοί παράγοντες περιλαμβάνουν τη θερμοκρασία, τον υδραυλικό χρόνο παραμονής HRT, ο τύπος και η πυκνότητα της βλάστησης, τα χαρακτηριστικά των μικροβιακών κοινοτήτων, το κλίμα, τη διανομή των υγρών αποβλήτων και τα χαρακτηριστικά της εισρέουσας ροής, κ.λπ. Αυτοί οι παράγοντες συσχετίζονται συχνά, και μια αλλαγή σε έναν παράγοντα μπορεί να προκαλέσει μια αλλαγή σε άλλων (Sirivedhin and Gray 2006). Μεταξύ αυτών, δύο από τους σημαντικότερους παράγοντες είναι θερμοκρασία και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής HRT (Kusch et al., 2003).

Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία, ως βασικός περιβαλλοντικός παράγοντας, είναι σημαντικός σε σχέση με τις δραστηριότητες της νιτροποίησης των βακτηρίων και της δυνατότητας απονιτροποίησης στους υγροβιότοπους [Langergraber 2007]. Η βιολογική απομάκρυνση αζώτου είναι η αποδοτικότερη στους 20-25°C, και οι θερμοκρασίες έχουν επιπτώσεις και στη μικροβιακή δραστηριότητας και στη διάχυση του οξυγόνου στους τεχνητούς υγροβιότοπους [Phipps and Crumpton 1994]. Οι μικροβιακές δραστηριότητες σχετικές με τη νιτροποίηση και τη απονιτροποίηση μπορούν να μειωθούν αρκετά σε θερμοκρασίες υδάτων κάτω από 15 ή επάνω από 30°C, αν και οι περισσότερες μικροβιακές κοινότητες που συνεισφέρουν στην απομάκρυνση αζώτου ευνοούνται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 15 °C [Kusch et al 2003]. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η δραστηριότητα των απονιτροποιητικών βακτηρίων σε ιζήματα τεχνητών υγροβιοτόπων είναι γενικά πιο σημαντική την άνοιξη και το καλοκαίρι απ'ότι το φθινόπωρο και το χειμώνα (Herkowitz et al 1986), και η συνολική ταχύτητα απομάκρυνσης νιτρικών είναι υψηλότερη το καλοκαίρι απ'ότι το χειμώνα [J. van Oostrom and Russell,]. Ενώ η απονιτροποίηση θεωρείται συνήθως ότι αναστέλλεται σε θερμοκρασίες κάτω από 5°C, μερικές μελέτες έχουν καταδείξει

δραστηριότητα απονιτροποίησης σε 4 °C ή και χαμηλότερη, αν πραγματοποιείται σε χαμηλές ταχύτητες (Richardson et al 2004). Ο Vymazal (2007) ανέφερε ότι το βέλτιστο εύρος θερμοκρασιών για τη νιτροποίηση είναι 30–40°C στα εδάφη, και η βέλτιστη θερμοκρασία αμμωνικοποίησης είναι 40-60°C, ενώ το βέλτιστο pH είναι μεταξύ 6,5 και 8,5. Σε χαμηλή θερμοκρασία, η νιτροποίηση μπορεί να είναι ανεπαρκής να αποτρέψει την αύξηση στη συγκέντρωση της αμμωνίας λόγω της αμμωνικοποίησης [Akratos and Tsihrintzis 2007].

Υδραυλικός χρόνος παραμονής

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) διαδραματίζει έναν κρίσιμο ρόλο στην απόδοση απομάκρυνσης αζώτου. Οι Huang et al., [2000] περιγράφουν ότι τα αμμωνιακά και συγκεντρώσεις του TKN μειώνονται εντυπωσιακά με την αύξηση του υδραυλικού χρόνου παραμονής των υγρών αποβλήτων. Στα περισσότερα συστήματα υγροβιότοπων, η απομάκρυνση αζώτου απαιτεί ένα μεγαλύτερο χρόνο HRT έναντι αυτού που απαιτείται για την απομάκρυνση των BOD και COD. Συνεπώς, η απόδοση στην απομάκρυνση αζώτου ποικίλλει πολύ με τις συνθήκες ροής και το HRT (Taylor et al., 2005). Οι Akratos και Tsihrintzis (2007) ανέφεραν ότι σε έναν υγροβιότοπο SSF, με HRT 8 ημερών σε θερμοκρασίες άνω των 15°C συστήνονται ως βέλτιστοι χρόνοι HRT 14-20 ημερών.

2.2.6.4 Αποδόσεις σε απομάκρυνση παθογόνων

Οι Gesberg et al., (1990) αξιολόγησαν την απομάκρυνση/απενεργοποίηση των ολικών κολοβακτηριδίων σε ένα πιλοτικό τεχνητό υγροβιότοπο με κλίση από χαλίκια. Το σύστημα δεχόταν πρωτοβάθμια επεξεργασμένα υγρά απόβλητα με υδραυλική ταχύτητα φόρτισης 5 cm m² d⁻¹. Η μελέτη περιλάμβανε και οριζόντιας ροής και κάθετης ροής τεχνητούς υγροβιότοπους. Ενώ τα συμβατικά συστήματα επεξεργασίας χωρίς απολύμανση δεν επιτυγχάνουν απολύμανση μεγαλύτερη από ένα λογάριθμο, οι τεχνητοί υγροβιότοποι αυτοί επιτύγχαναν εύκολα έως και 2 λογαρίθμους μείωση των κολοβακτηριδίων. Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι τα φυτεμένα συστήματα

πέτυχαν μεγαλύτερα ποσοστά απομάκρυνσης των κυττάρων των κολοβακτηριδίων αυτών. Αντίθετα σε μια μελέτη στην Αυστραλία αποδείχθηκε ότι λόγω εμποδίων της ροής στα φυτεμένα συστήματα το νερό διερχόταν γρηγορότερα κατά μήκος τους και έτσι απαιτούνταν τριπλάσιος υδραυλικός χρόνος παραμονής στα φυτεμένα συστήματα (τρεις μέρες στους 20oC), για να απενεργοποιηθεί/απομακρυνθεί το ίδιο ποσοστό κολοβακτηριδίων δηλαδή 1 λογάριθμος.

Σε μια μελέτη οι Rivera et al., (1995) έδειξαν ότι οι υδροβιότοποι που είχαν χώμα αν ήταν φυτεμένοι είχαν μεγαλύτερα ποσοστά απομάκρυνσης κολοβακτηριδίων και απομάκρυναν κάποια πρωτόζωα και παράσιτα σε ποσοστό που μπορεί να έφτανε και το 100%) σε σχέση με τα μη φυτεμένα συστήματα που είχαν μικρότερη απόδοση.

Μια άλλη εργασία στην Ισπανία (Garcia and Becares, 1997), έδειξε ότι η απομακρύνσεις σε παθογόνα για τεχνητούς υδροβιότοπου ήταν μεγαλύτερες από λίμνες σταθεροποίησης, και λίμνες υψηλής ταχύτητας αναπτύξεως αλγέων με ποσοστά 99,48, 98,8 και 98,67% για ολικά κολοβακτηρίδια, κοπρανώδη κολοβακτηρίδια και κοπρανώδεις στρεπτόκοκκους. Οι Green et al., ανέφεραν απομακρύνσεις E. coli και ολικών κολοβακτηριδίων 1,5 έως 2,1 λογαρίθμους αντίστοιχα, εφαρμόζοντας υδραυλικούς χρόνους παραμονής περίπου 30h σε υδροβιότοπους επίσης στο Ηνωμένο Βασίλειο. Στην Ολλανδία μια μελέτη έδειξε ότι οι ιοί τα κύτταρα E. coli και οι κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι απομακρυνόταν τουλάχιστον κατά 3 λογάριθμους σε ένα υποεπιφανειακής ροής υδροβιότοπο που λειτουργούσε για 10 χρόνια.

2.2.6.5 Αποδόσεις σε απομάκρυνση μετάλλων

Σε ένα επιφανειακής ροής τεχνητό υδροβιότοπο στην Πολιτεία Αλαμπάμα των ΗΠΑ αναφέρθηκαν απομακρύνσεις Μολύβδου και Νικελίου 94 και 88% αντίστοιχα (Sanford 1999). Σε ένα παρόμοιο σύστημα στην Μινεσότα των ΗΠΑ αναφέρθηκαν απομακρύνσεις σιδήρου ψευδαργύρου, μαγγανίου, αρσενικού και υδραργύρου σε ποσοστά 97%, 93%, 91%, 89% and 75% αντίστοιχα (Loer et al., 1999). Οι Strecker et al. (1994) ανέφεραν ποσοστά περίπου της τάξης του 50% για το ψευδάργυρο and 60% για το μόλυβδο σε έναν υδροβιότοπο που επεξεργάζονταν όμβρια ύδατα. Οι μειώσεις σε συγκεντρώσεις σε χρώμιο κυμαίνονται από περίπου 0% σε χαμηλής εισόδου συγκεντρώσεις μέχρι και 87,5 % σε συγκεντρώσεις της τάξεως των 160 $\mu\text{g L}^{-1}$. (Kadlec

and Knight, 1996). Οι φορτίσεις σε μάζα χρωμίου που δέχεται ένας υγροβιότοπος που επεξεργάζεται αστικά υγρά απόβλητα εκτιμώνται σε $7.2 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{yr}^{-1}$.

2.3 Αντιδραστήρες βιοφίλμ (*Biofilm Reactors*)

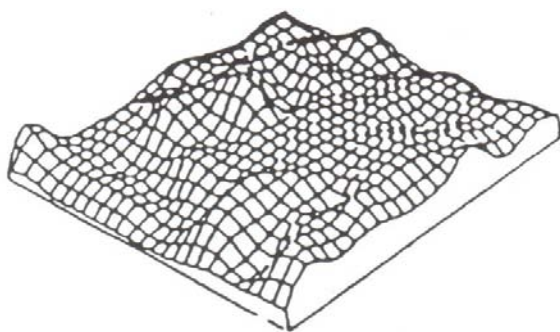
Η τεχνολογία μικροβιακών υμενίων έχει αναπτυχθεί γρήγορα τις τελευταίες δυο δεκαετίες και χρησιμοποιείται συχνά για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Τα βιοφίλμ (biofilms) που αναφέρονται επίσης στην ελληνική βιβλιογραφία ως βιοφίλμ ή βιοεπικαθήσεις είναι μια σύνθετη δομή κυττάρων και κυτταρικών προϊόντων, όπως είναι τα εξωκυτταρικά πολυμερή που είναι προσαρτημένα σε στερεές επιφάνειες ή υποστρώματα. Η ακινητοποίηση των βακτηρίων και άλλων μικροοργανισμών ως βιοφίλμ μπορεί να γίνει με φυσικό ή τεχνητό τρόπο. Υπό συγκεκριμένες φυσικές συνθήκες οι μικροοργανισμοί σχηματίζουν βιοφίλμ αυθόρμητα. Η βακτηριακή ανάπτυξη σε επιφάνειες είναι ένα φυσικό φαινόμενο, εξαιτίας του ότι οι μικροοργανισμοί στο περιβάλλον συσχετίζονται και προσκαλούνται σε συγκεκριμένες στερεές επιφάνειες. Σε ρυάκια και ποταμούς ένα μεγάλο μέρος της μικροβιακής δραστηριότητας λαμβάνει χώρα σε προσκολλημένα υμένια. Αυτή η μικροβιακή δραστηριότητα είναι υπεύθυνη για την αυτοαπορρυπαντική ικανότητα των ποταμών με τον μετασχηματισμό και την αποδόμηση φυσικών και ανθρωπογενών παραγόμενων ενώσεων στο νερό (Tijhuis 1994). Ο τεχνητός τρόπος ακινητοποίησης των κυττάρων για μικροβιακές διεργασίες επεξεργασίας μπορεί να ταξινομηθεί σε τρεις κύριες κατηγορίες όπως προσκόλληση σε κινητό φορέα (carrier binding), παγίδευση (entrapment) και δια-συγκόλληση (cross-linking).

2.3.1 Δομή των βιοφίλμ στους αντιδραστήρες

Πρακτικώς τα βιοφίλμ παρουσιάζουν περιοδικές διακυμάνσεις στο πάχος τους και στη συγκέντρωση βιομάζας ανά περιοχή υποστρώματος, εξαιτίας της μικροβιακής ανάπτυξης και της μείωσης της βιομάζας λόγω της διάβρωσης και της αποσάθρωσης, διεργασίες που όλες λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα. Η διάβρωση μπορεί να οριστεί ως η συνεχής απώλεια μικρών τμημάτων από το σώμα ενός βιοφίλμ, ενώ η αποσάθρωση ως η αποκοπή μεγαλύτερων κομματιών από το σώμα ενός βιοφίλμ. Σε φυσικά βιοφίλμ,

εκτός από τη διάχυση και τις διεργασίες ανάπτυξης, αποκόλληση ολόκληρου του βιοφίλμ μπορεί να λάβει χώρα και η επιφάνεια και δομή του βιοφίλμ μπορεί να μην είναι τότε αρκετά στερεή. Συνήθως τα βιοφίλμ αναπτύσσονται με ένα σιγμοειδή τρόπο ο οποίος μπορεί να υποδιαιρεθεί σε πέντε φάσεις. Αυτές είναι: η πρόσδεση του μικροοργανισμού σε μια επιφάνεια, εκθετική φάση ανάπτυξης, μείωση της ταχύτητας αναπτύξεως, και κατάσταση ισορροπίας που διαταράσσεται από αποσάθρωση και ανανέωση των κυτταρικών δομών.

Η φύση των βιοφίλμ είναι τέτοια που κάνει δύσκολη την μεταφορά μαζών των παραγόμενων προϊόντων εκτός του βιοφίλμ. Τα βιοφίλμ δεν έχουν πάντα λεπτές δομές που αναπτύσσονται καλύπτοντας επίπεδα στερεά τοιχώματα. Τα βιοφίλμ πολύ συχνά γίνονται τριχοειδή σε συνθήκες υψηλής ροής. (Nagaoka and Sugio 1994). Η δομή των βιοφίλμ επηρεάζεται από εξωτερικές διατμητικές δυνάμεις, εσωτερική κατανομή φαινομένων διάχυσης, και μικροβιακό ανταγωνισμό. Οι διατμητικές δυνάμεις καθορίζουν το πάχος του υμενίου, αλλά επίσης και τη δομή της επιφάνειας του υμενίου. Στα περισσότερα συστήματα αντιδραστήρων με αντιδραστήρες βιοφίλμ οι διατμητικές τάσεις δεν είναι ομοιόμορφες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα σε μια ανομοιόμορφο σχηματισμό δομών βιοφίλμ όπως αυτό του Σχήματος 6, όπου απεικονίζεται η δομή της επιφάνειας ενός βιοφίλμ μετά από ανάπτυξη 48h.



Σχήμα 6. Διαμόρφωση επιφάνειας βιοφίλμ μετά από ανάπτυξη 48 h.

2.3.2 Ιδιότητες των αντιδραστήρων βιοφίλμ

Η ανάπτυξη βιοφίλμ στην επιφάνεια ενός ακίνητου φορέα λαμβάνει χώρα με την πρόσληψη υποστρώματος με τη μορφή οργανικής ουσίας, οξυγόνου, ιχνοστοιχείων

κλπ., που απαιτούνται για τη βιολογική δραστηριότητα από την υγρή φάση με την οποία έρχεται σε επαφή. Σύμφωνα με τους Zhang και Bishop (1994) η συνολική διαδικασία της αφομοίωσης/χρησιμοποίησης του υποστρώματος στα βιοφίλμ μπορεί να περιγραφεί εν συντομία με τρία κύρια βήματα: μεταφορά υποστρώματος από την υγρή φάση στην εξωτερική επιφάνεια του βιοφίλμ, διάχυση του υποστρώματος στην εσωτερική επιφάνεια του βιοφίλμ και κατανάλωση του υποστρώματος από τους μικροοργανισμούς εντός του βιοφίλμ. Το πρώτο βήμα είναι και το πιο σημαντικό αν και είναι ένα καθαρά φυσικό φαινόμενο, εξαιτίας του ότι υπό συνθήκες μόνιμης κατάστασης, η ταχύτητα της συνολικής αντίδρασης καθορίζεται σχεδόν εξίσου σαν μέση τιμή από την ταχύτητα μόνο του πρώτου σταδίου και την ταχύτητα αθροιστικά των δυο τελευταίων σταδίων (μια και οι δυο επιμέρους ταχύτητες αυτές είναι περίπου ίσες).

Κολλοειδή ή αιωρούμενα συστήματα που περιέχουν οργανική ουσία δεν μπορούν να διαχυθούν μέσα στο βιουμένιο απευθείας. Αυτά πρέπει να υδρολυθούν σε χαμηλότερου μοριακού βάρους οργανικές ενώσεις ώστε να μπορεί η διάχυση να λάβει χώρα. Τα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού των συστάδων μικροοργανισμών από τα βιοφίλμ στη συνέχεια μεταφέρονται στην υγρή φάση. Όταν κάποιο βασικό θρεπτικό στοιχείο δεν παρέχεται στους μικροοργανισμούς οι βιολογικές αντιδράσεις επηρεάζονται. Έτσι αν κάποιο από αυτά τα θρεπτικά εξαντληθεί σε οποιοδήποτε βάθος του βιοφίλμ, οι βιολογικές αντιδράσεις δεν θα πραγματοποιηθούν από το σημείο αυτό και προς το εσωτερικό του. Έτσι η ένωση που θα εξαντληθεί πρώτα καθορίζει το ενεργό βάθος του βιοφίλμ (Iwai and Kitao 1994). Το στοιχείο αυτό ονομάζεται περιοριστικός παράγοντας. Παρόλα αυτά θρεπτικά όπως το άζωτο, ο φώσφορος και άλλα ιχνοστοιχεία είναι απίθανο να βρεθούν ότι είναι περιοριστικοί παράγοντες γιατί συνήθως υπάρχουν υψηλές τους συγκεντρώσεις στα υγρά απόβλητα.

2.3.3 Μικροβιολογία των αντιδραστήρων βιοφίλμ

Τα βιοφίλμ είναι γνωστά ως σύνθετες δομές μικροβιακών κυττάρων και εξωκυτταρικών πολυμερών. Όλοι οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται σε υγρά απόβλητα, τόσο σε αστικά όσο και σε βιομηχανικά μπορούν επίσης να βρεθούν σε βιοφίλμ τα οποία

έρχονται σε επαφή με υγρά απόβλητα. Η διαστρωμάτωση της διάχυσής θα επηρεάσει την ταχύτητα ανάπτυξης και τον ανταγωνισμό διαφορετικών μικροοργανισμών. Γενικά είναι αποδεκτό ότι οι βραδέως αναπτυσσόμενοι οργανισμοί όπως για παράδειγμα οι νιτροποιητές, ή οι μικροοργανισμοί οι οποίοι αναπτύσσονται παρουσία ξενοβιοτικών ουσιών θα βρεθούν βαθύτερα μέσα σε ένα βιουμένιο από ότι οι ταχέως αναπτυσσόμενοι ετερότροφοι. Η κατανομή των οργανισμών σε βιουμένιο μπορεί να μελετηθεί με απ' ευθείας παρατήρηση της συνεστιακή μικροσκόπια με λέιζερ. Οι Van Loosdrecht et al. (1994) μελέτησαν την κατανομή πληθυσμών νιτροποιητών και ετερότροφων σε ανοδικής ροής αντιδραστήρων και ανέφεραν την παρουσία μία διαστρωμάτωσης νιτροποιητών και ετερότροφων σε αυτά τα βιοφίλμ. Οι ανακαλύψεις τους έδειξαν ότι μία μη- κανονική κατανομή ειδών υπάρχει μέσα στα βιοφίλμ.

2.3.4 Νιτροποίηση και Απονιτροποίηση

Υπάρχουν πάρα πολλές αναφορές πλέον για ταυτόχρονη νιτροποίηση και απονιτροποίηση σε συστήματα βιολογικών φίλτρων και μια από αυτές είναι των Watanabe et al. (1994) σε ένα επίσης ανοδικής ροής αεριζόμενο βιολογικό φίλτρο. Συμπέραναν ότι εξαιτίας της δυνατότητας επίτευξης υψηλών συγκεντρώσεων διαλυτού οξυγόνου σε χαμηλές ταχύτητες αερισμού η ταυτόχρονη οξείδωση της οργανικής ύλης και η νιτροποίηση προχωρούσε γρήγορα μαζί την απονιτροποίηση στη φάση των αιωρούμενων στερεών.

2.3.5 Απομάκρυνση φωσφόρου από τα βιοφίλμ

Οι περισσότερες μελέτες για απομάκρυνση φωσφόρου με βιολογικά φίλτρα ήταν βασισμένες σε φυσικοχημική κατακρήμνιση. Η βιολογική απομάκρυνση φωσφορικών σε αντιδραστήρες βιοφίλμ παραμένει περιορισμένη σε μερικά εργαστηριακής κλίμακας πειράματα. Όμως εξαιτίας των χαρακτηριστικών συγκριτικών τους πλεονεκτημάτων όπως συμπαγές κλειστή δομή και σχετικά μικρή απαίτηση σε χώρο μαζί με λειτουργική ευελιξία και ευκολία, η απομάκρυνση φωσφόρου με βιολογικά φίλτρα έχει χρησιμοποιηθεί αρκετά. Πειράματα με ανοδικής ροής βιοφίλτρα έδειξαν ότι είναι

δυνατόν να προσαρμοστεί μια βιολογική διαδικασία βιολογικού φίλτρου ώστε να επιτευχθεί σημαντική απομάκρυνση φωσφόρου, με την εισαγωγή ενός ή περισσότερων αναερόβιων χρόνων έκθεσης κατά τη διάρκεια του φιλτραρίσματος μεταξύ δυο αντίστροφης ροής εκπλύσεων του βιοφίλτρου. Οι Goncalves et al. (1994) έχουν αναφέρει ταυτόχρονη νιτροποίηση απονιτροποίηση και βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

2.3.6 Διαμορφώσεις των αντιδραστήρων βιοφίλμ

Διαφορετικά είδη αντιδραστήρων έχουν αναπτυχθεί για να εκμεταλλευτούμε τα οφέλη των διεργασιών βιοφίλμ. Σύμφωνα με τον Tijhuis (1994), οι αντιδραστήρες βιοφίλμ μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο κατηγορίες: βιοφίλμ σταθερού υποστρώματος σε ακίνητο φορέα, και βιοφίλμ σε αιωρούμενα σωματίδια.

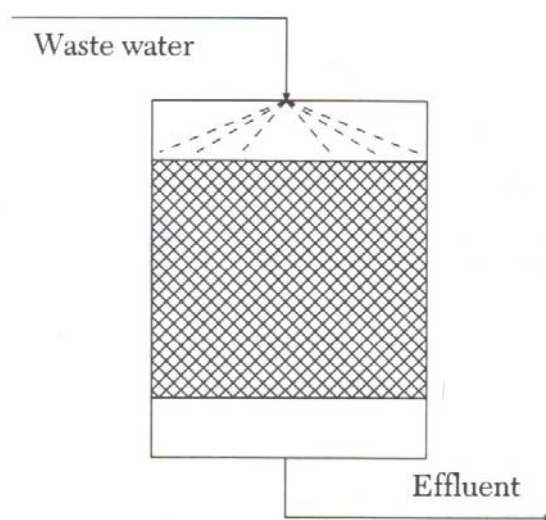
2.3.7 Αντιδραστήρες με βιοφίλμ σε σταθερό φορέα

Τα συστήματα αντιδραστήρων με σταθερά υποστρώματα χρησιμοποιούνται ευρέως για την επεξεργασία διαφορετικών ειδών υγρών απόβλητου. Οι διατμητικές δυνάμεις που ενεργούν στα βιοφίλμ είναι χαμηλές, έτσι τα βιοφίλμ αυξάνονται και γίνονται πολύ πυκνά, στα αργής ροής φίλτρα και πάχους περίπου 1 cm, στους περιστρεφόμενους βιολογικούς δίσκους, αλλά μόνο ένα μικρό μέρος της βιομάζας διατηρείται στην αερόβια φάση και είναι μεταβολικά ενεργό.

2.3.7.1 Διασταλαγματικά φίλτρα (βραδύ φίλτρα ή *trickling filters*)

Τα διασταλαγματικά φίλτρα είναι η παλαιότερου τύπου χρησιμοποιούμενοι βιοαντιδραστήρες. Αυτά αποτελούνται από μια κλίνη με ένα υλικό υποστήριξης πάνω από το οποίο διανέμονται τα υγρά απόβλητα με επιφανειακές ταχύτητες φόρτισης 0.5-2.5 m³/m² ανά ώρα (Σχήμα 7). Τα υγρά απόβλητα διεισδύουν πάνω από τα αναπτυσσόμενα βιοφίλμ που προσκολλώνται στο υλικό του φορέα υποστήριξης της

κλίνης. Στο παρελθόν τα περισσότερα τέτοια βιολογικά φίλτρα χρησιμοποιούσαν χαλίκι ή πέτρες διαμέτρου 25-100 mm. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας ειδικής επιφάνειας της τάξεως (ωφέλιμης στην επεξεργασία) των 50-100 m²/m³. Το ύψος ενός τέτοιου φίλτρου είναι περίπου 2 m. Περισσότερο από μια δεκαετία όμως πλέον χρησιμοποιούνται χαμηλής πυκνότητας πλαστικά μέσα υποστήριξης/προσάρτησης των μικροοργανισμών όπως το πολυστυρένιο και το πολυβινυλοχλωρίδιο, τα οποία έχουν μια ειδική επιφάνεια της τάξεως των 300 m²/m³. Σήμερα, τέτοιοι αντιδραστήρες μπορούν να έχουν ύψος μέχρι 12m.



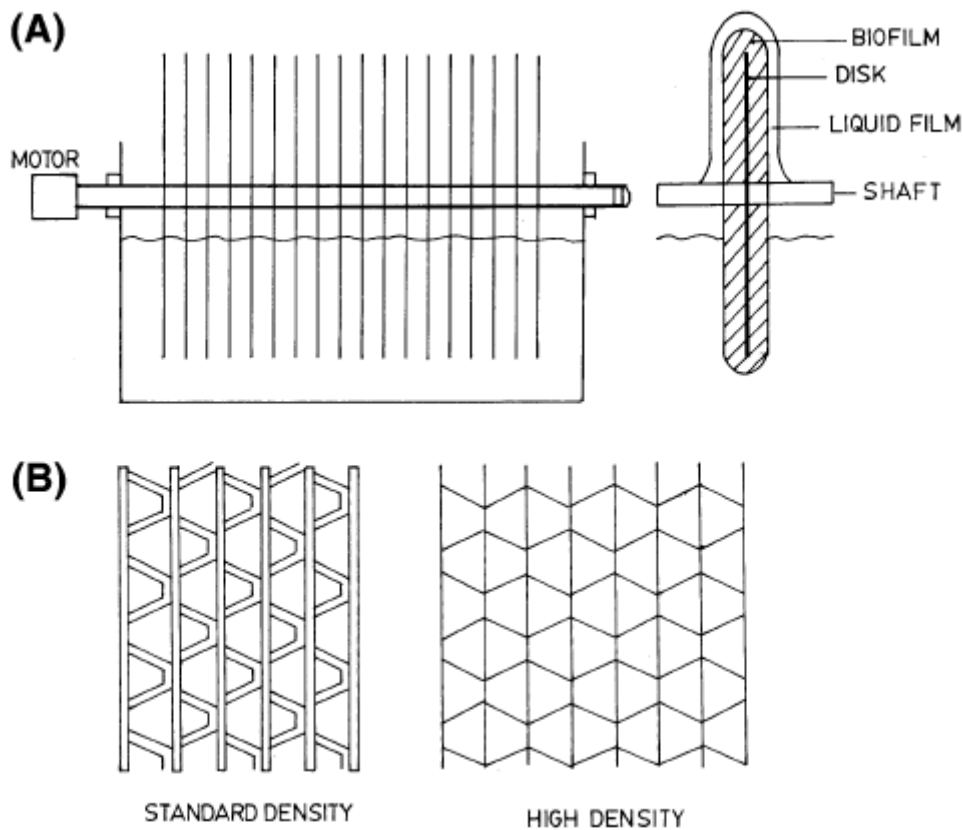
Σχήμα 7. Τυπικό Διασταλλαγματικό φίλτρο

2.3.8 Περιστρεφόμενοι βιολογικοί δίσκοι (Rotating biological contactors) ή σύστημα Βιοδίσκων

2.3.8.1 Περιγραφή των RBCs

Οι περιστρεφόμενοι βιολογικοί δίσκοι (Rotating biological contactors, RBCs) έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Οι RBCs αποτελούνται ουσιαστικά από ένα σύνολο δίσκων που τοποθετούνται σε έναν οριζόντιο άξονα. Οι δίσκοι εμβαπτίζονται εν μέρει (40-45%) στα υγρά απόβλητα ενώ ταυτόχρονα εκτίθενται εν μέρει στον αέρα. Το σύνολο του στροφέα αποτελείται από έναν άξονα με τους συνημμένους δίσκους περιστρέφονται με ταχύτητα 1-10

περιστροφές/λεπτό με τη βοήθεια μιας μηχανής ή συμπιεσμένου αέρα. Η περιστροφή των δίσκων παράγει ένα στρώμα υγρού στην επιφάνεια κάθε δίσκου. Δεδομένου ότι ο δίσκος περιστρέφεται, το στρώμα αυτό εκτίθεται στον αέρα, κάτι που επιτρέπει τον αερισμό των υγρών αποβλήτων και επιτρέπει στους αερόβιους οργανισμούς που προσκολλώνται στην επιφάνεια του δίσκου να αποδομούν τις οργανικές ενώσεις των αποβλήτων. Το σύνολο δίσκων στο οποίο η βιομάζα αναπτύσσεται αποτελεί το μέσο του συστήματος. Κατά συνέπεια, σε γενικές γραμμές, αυτοί οι βιολογικοί επαφείς (contactors) επιτρέπουν την επαφή μεταξύ της αέριας και της υγρής φάσης. Οι διατμητικές δυνάμεις που ασκούνται στη βιομάζα κατά τη διάρκεια της κίνησης του δίσκου μέσα στα υγρά απόβλητα αναγκάζουν την περίσσεια της βιομάζας να αποκολληθεί από το μέσο και να αναμειγνύεται με το υπόλοιπο υγρό. Έτσι αποτρέπεται η απόφραξη των μέσων και διατηρείται ένας σταθερός πληθυσμός μικροοργανισμών. Τα προσκολλητικά μέσα εξυπηρετούν τις ακόλουθες λειτουργίες: (I) παρέχεται μια ικανή επιφάνεια για την ανάπτυξη μιας σταθερής βιολογικής καλλιέργειας, (II) επιτρέπουν την επαφή των υγρών αποβλήτων με τον αέρα, με αυτόν τον τρόπο αερίζοντας τα υγρά απόβλητα. Ένα σύνολο δίσκων διατηρείται σε ταυτόχρονη λειτουργία σε μια μονάδα, και περισσότερες της μιας τέτοιες μονάδες μπορούν να συνδυαστούν σε σειρά ή παράλληλα. Η βιολογική μεμβράνη και το στρώμα της υγρής φάσης που παράγονται από την περιστροφή δίσκων παρουσιάζονται στο Σχήμα 8.



Σχήμα 8. (A) Διάταξη μιας μονάδας RBC. Παρουσιάζεται η δημιουργία του βιοφίλμ και του στρώματος του υγρού. (B) Διαφορετικά τύπου προσκολλητικά μέσα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε RBCs

Όπως αναφέρθηκε οι διατμητικές δυνάμεις όταν υπερνικούν τις δυνάμεις επιφανείας του στρώματος στις περιοχές που αυτές ελαττώνονται, λόγω του μεγάλου πάχους του στρώματος, προκαλούν την αποκόλληση ενός μικρού μέρους της προσκολλημένης βιομάζας. Με τον τρόπο αυτό έχουμε δημιουργία μιας εξωτερικής τραχείας επιφάνειας βιοφίλμ- υμενίου νερού που διευκολύνει τόσο την μεταφορά οργανικών ουσιών προς αυτήν, όσο και τη μεταφορά οξυγόνου στο μέρος του δίσκου που δεν είναι βυθισμένο. Οι μικροοργανισμοί της βιομάζας παραμένουν ενεργοί και σε εναιώρηση δημιουργώντας είδος ανάμεικτου υγρού, το οποίο όμως έχει πάρα πολύ μικρή συνεισφορά επί του συνόλου της επεξεργασίας. Παρότι ο όγκος της παραγόμενης λάσπης είναι σχετικά μικρός, είναι αναγκαίος ο σχεδιασμός δεξαμενών τελικής καθίζησης πριν από την διάθεση των επεξεργασμένων λυμάτων κατά αναλογία με τα συστήματα ενεργού ιλύος και βιολογικών φίλτρων. Τα συσσωματώματα όμως των μικροοργανισμών των βιοδίσκων έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα εξαιτίας του αυξημένου

χρόνου ανάπτυξης του και του σχηματισμού των πολυμερικών ουσιών των βιοφίλμ και έτσι η καθίζηση τους είναι πολύ πιο ταχεία από αυτή των βιολογικών φίλτρων επιτρέποντας μεγάλες ταχύτητες υδραυλικής φόρτισης στις δεξαμενές καθίζησης και πάχυνσης χωρίς χρήση παχυντών (4-5%) (Ανδρεαδάκης, 2008).

Τα κύρια λειτουργικά πλεονεκτήματα των RBCs πηγάζουν από το γεγονός ότι η διαφασική περιοχή (όπου έχουμε ταχεία ανάμιξη αέριας και υγρής φάσης) που παράγεται είναι μεγάλης έκτασης και σχεδόν ανεξάρτητη από την ταχύτητα της περιστροφής, αντίθετα με την περίπτωση της ενεργής λύσης. Η κατανάλωση ισχύος διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα κυρίως επειδή (I) ο δίσκος μπορεί να είναι αρκετά λεπτός έτσι ώστε να αναπτύσσεται μικρή αντίσταση κατά την κίνηση του μέσα στην υγρή φάση και (II) η ταχύτητα περιστροφής είναι χαμηλή. Η μικρή κατανάλωση ισχύος αποφέρει χαμηλότερες δαπάνες λειτουργίας. Οι Greaves et al συγκρίναν τα λειτουργικά κόστη εγκαταστάσεων RBC με αυτά των συστημάτων εκτεταμένου αερισμού και έδειξαν ότι η μείωση στις λειτουργικές δαπάνες των συστημάτων RBC σε σχέση με τα συμβατικά συστήματα εκτεταμένου αερισμού αυξάνεται σημαντικά, αυξανόμενου του μεγέθους των εγκαταστάσεων (Σχήμα 1).

Συνοψίζοντας τα πλεονεκτήματα μιας εγκατάστασης με RBC κάνοντας μια συνολική αποτίμηση, σύμφωνα με τους Αραβώσης κ.α. (2006), είναι:

(α) Οι διαστάσεις της ζώνης της βιολογικής οξειδωσης των λυμάτων καθώς και ο όγκος της δεξαμενής δευτεροβάθμιας καθίζησης είναι πολύ μικρότερες σε σχέση με τις αντίστοιχες διαστάσεις των εγκαταστάσεων ενεργού ιλύος. Η βιολογική μεμβράνη που αναπτύσσεται τόσο στους βιοδίσκους όσο και στο υπόστρωμα πλήρωσης του συστήματος κλίνης εν κινήσει παρουσιάζει μμεγάλη συγκέντρωση μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα να επιτρέπει περιορισμένους χρόνους επεξεργασίας (συνήθως < 1,5h).

(β) Η κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με την ενέργεια που καταναλώνεται σε κλασικές εγκαταστάσεις ενεργού ιλύος.

(γ) Το κόστος ως προς τη συντήρηση καθώς επίσης και ως προς το εξειδικευμένο προσωπικό για τη λειτουργία της Μ.Ε.Λ είναι πολύ μειωμένο (πάντα σε σχέση με αντίστοιχα συστήματα ενεργού ιλύος).

(δ) Δεν παρουσιάζει κανένα πρόβλημα έκλυσης οσμών.

(ε) Παρουσιάζει μεγάλη ευκολία έναρξης της σταθερής βιολογικής επεξεργασίας. Πράγματι μετά από 7 – 10 ημέρες περίπου το βιολογικό φίλτρο σχηματίζεται πλήρως

και η βιολογική επεξεργασία παρουσιάζει την μέγιστη απόδοση καθαρισμού. Στις αντίστοιχες εγκαταστάσεις ενεργού ιλύος απαιτείται σχεδόν τριπλάσιος χρόνος για να επιτευχθούν επίπεδα σταθερής λειτουργίας.

(στ) Παρουσιάζει μεγαλύτερη ευελιξία από τη μέθοδο της ενεργού ιλύος, στην αντιμετώπιση καταστάσεων υδραυλικής και οργανικής υπερφόρτισης. Δεν επηρεάζεται καθόλου από την παρουσία υδραυλικού και οργανικού shock, καθώς η βιομάζα που σχηματίζεται στο υπόστρωμα απορροφά μεγάλες ποσότητες οργανικής ουσίας, ακόμη και μεγαλύτερες από αυτές που μπορεί να αφομοιώσει, για να τις αποδομήσει στη συνέχεια όταν το οργανικό φορτίο μειώνεται. Δεν απαιτείται ανακύκλωση λάσπης όπως συμβαίνει στη μέθοδο της ενεργού ιλύος.

Με τη μέθοδο της προσκολλημένης βιομάζας και για συγκεντρώσεις του BOD_5 και NH_4^+-N στην είσοδο όχι μεγάλες, επιτυγχάνεται η συνδυασμένη απομάκρυνση του BOD_5 και η νιτροποίηση. Με τη μέθοδο της ενεργού ιλύος μόνο στη παραλλαγή του παρατεταμένου αερισμού μπορεί να επιτευχθεί ο παραπάνω συνδυασμός.

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου αναφέρονται οι περιορισμοί στο μέγεθος λόγω μηχανικών κυρίως περιορισμών και ότι δεν χρησιμοποιούνται εξίσου ικανοποιητικά με την ίδια υψηλή απόδοση σε όλα τα είδη υγρών απόβλητων.

2.3.8.2 Επίδραση ταχυτήτων φόρτισης στην απόδοση της επεξεργασίας

Η επίδραση διαφορετικών λειτουργικών παραμέτρων στην απόδοση της επεξεργασίας έχει εξεταστεί από τους Antonie και Brenner χρησιμοποιώντας δεδομένα από πιλοτικού μεγέθους εγκαταστάσεις επεξεργασίας, και προτείνουν διάφορα κριτήρια για τη διαδικασία σχεδιασμού των RBCs. Στα σημαντικότερα κριτήρια σχεδιασμού περιλαμβάνουν την υδραυλική φόρτιση (ταχύτητα ροής ανά μονάδα χρόνου, ανά μονάδα επιφάνειας που καλύπτεται από βιοφίλμ), τη σε σειρά ή παράλληλη διάταξη των μονάδων RBC, και την περιστροφική ταχύτητα των μέσων. Η υδραυλική φόρτιση (ταχύτητα ροής ανά περιοχή επιφάνειας μονάδων στον αντιδραστήρα, HLR) μπορεί να συσχετιστεί και με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (ο λόγος του όγκου του αντιδραστήρα προς την ογκομετρική ταχύτητα ροής, RT) μέσα στον αντιδραστήρα, μέσω του κενού όγκου στα μέσα και την διαφασική περιοχή που παρέχεται. Εάν το α

είναι η διαφασική περιοχή που παρέχεται από τα μέσα και ε είναι ο κενός όγκος, ο χρόνος παραμονής και η υδραυλική φόρτιση μπορούν να συσχετιστούν από την εξίσωση:

$$(RT) (HLR) = \varepsilon/a$$

Ο Antonie προτείνει ότι η υδραυλική φόρτιση πρέπει να κρατηθεί μεταξύ 1 και 10 gpd/ft^2 ανάλογα με το εισερχόμενο φορτίο BOD και του επιθυμητού βαθμού απομάκρυνσης. Συνήθως, τα συστήματα RBC αποτελούνται από διάφορες μονάδες που τοποθετούνται σε σειρά. Αυτό επιτρέπει την ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροβιακών καλλιεργειών στα διαφορετικά στάδια των μέσων. Κάνει επίσης το γενικό σχέδιο της ροής να μοιάζει περισσότερο με τη ροή ενός αυλωτού αντιδραστήρα. Οι Antonie και Brenner σύστησαν ότι η μονάδα RBC πρέπει να γίνει σε μια τεσσάρων σταδίων λειτουργία και ότι η κατά μήκος της ταχύτητα ροής πρέπει να κρατηθεί σε επίπεδα της τάξης των 0,3 m/s. Επίσης με εφαρμογή μαθηματικών προσομοιώσεων και σύγκριση με πραγματικά δεδομένα από μια πιλοτική μονάδα οι Gavalakis and Andreadakis (2004) πρότειναν η ογκομετρική φόρτιση ανά επιφάνεια και ημέρα να μην ξεπερνάει την τιμή $0.1 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{d}$ για να επιτυγχάνεται απομάκρυνση του COD της τάξεως τουλάχιστον του 80%.

Τέτοια κριτήρια καθορίστηκαν μέσω του πειραματισμού σε μια πιλοτικού μεγέθους κλίμακα. Όμως η σε μεγαλύτερου μεγέθους εφαρμογή τέτοιων δεδομένων πρέπει να γίνει με προσοχή. Παραδείγματος χάριν, εάν επιδιώκεται η αύξηση της ογκομετρικής ροής από 1 σε $100 \text{ m}^3/\text{ημέρα}$, ενώ ο υδραυλικός χρόνος παραμονής διατηρείται σταθερός θα απαιτούσε ότι ο αριθμός των δίσκων πρέπει να αυξάνεται κατά έναν παράγοντα 100. Επιπλέον, το κριτήριο της ίσης ταχύτητας ακρών των περιστρεφόμενων μερών επιβάλλει πως αν η διάμετρος των δίσκων αυξηθεί κατά έναν παράγοντα 5 κατά την υπό αναλογία επέκταση της μονάδας (διαστασιολόγηση μονάδας δεχόμενη μεγαλύτερο φορτίο), η περιστροφική ταχύτητα θα έπρεπε να μειωθεί από έναν παράγοντα 5. Οι απαιτήσεις ισχύς στη μεγαλύτερη κλίμακα θα αυξάνονταν έπειτα από έναν παράγοντα 2500, και η ισχύς ανά μονάδα όγκου των συστημάτων θα αυξανόταν από έναν παράγοντα 25. Η υγρή επιφάνεια στα μέσα θα ήταν περίπου 2500 φορές μεγαλύτερη (λόγω της εξίσωσης που περιγράφει την ογκομετρική ικανότητα συγκράτησης του υδατικού υμένα που προσκολλάται στο βιοδίσκο $V = 8.4 \times 10^{-4}$

$\omega^{0.63}R^{2.63}$), και το κλάσμα του όγκου του υγρού στην επιφάνεια των δίσκων θα αυξάνονταν κατά έναν παράγοντα 25. Ο μέσος χρόνος επαφής θα αυξανόταν από έναν

παράγοντα 5 λόγω της σχέσης
$$t_C = \frac{\pi - \phi}{N_\pi} = \frac{1}{N} \left(1 - \frac{1}{\pi} \cos^{-1} \frac{R - H}{r} \right)$$

Συνεπώς, η κλιμακωτή αύξηση των όγκων υγρών αποβλήτων που μπορούν να επεξεργαστούν ανά ημέρα, βασισμένη σε τέτοια κριτήρια, θα επηρέαζε σημαντικά τα υδροδυναμικά χαρακτηριστικά μέσα στον αντιδραστήρα. Είναι πιθανό ότι μια διαφορετική ισχύ ανά μονάδα όγκου σε μια μεγαλύτερη κλίμακα θα άλλαζε τις πιέσεις που υφίστανται οι μικροοργανισμούς, καθώς επίσης και τη συγκέντρωση σε βιομάζα και το πάχος του βιοφίλμ και του στρώματος υγρού στην επιφάνεια του μέσου. Κατά συνέπεια, η απόδοση είναι πιθανό να επηρεαστεί. Τα μειονεκτήματα τέτοιων καθολικά αποδεχόμενων κριτηρίων για το σχεδιασμό (σταθερή ταχύτητα ακρών του περιστρεφόμενου πλαισίου, υδραυλική φόρτιση μεταξύ 1 και 10 gpd/ft²) είναι ότι σημαντικές πτυχές όπως η υδροδυναμική, η μεταφορά μαζών, οι κινητικές της βιοδιάσπασης, κ.λπ., δεν εξετάζονται καθόλου. Τα γενικευμένα κριτήρια σχεδιασμού επίσης μπορεί να μην οδηγήσουν σε οικονομικά βέλτιστο σχέδιο επεξεργασίας.

2.3.8.3 Επίδραση της ταχύτητας της περιστροφής

Οι Friedman et al., ερεύνησαν την επίδραση της ταχύτητας περιστροφής στην απόδοση του συστήματος RBC. Ο πειραματικός τους σχεδιασμός αποτελούνταν από οκτώ στάδια που έδιναν 37 ft² συνολικής επιφάνειας. Παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση διαλυτού οξυγόνου μειώθηκε γρήγορα σε μια ελάχιστη τιμή στο πρώτο ή δεύτερο στάδιο και έκτοτε βαθμιαία αυξανόταν στα επόμενα στάδια. Το ποσοστό μείωσης του διαλυμένου οξυγόνου στα πρώτα δύο στάδια και το ποσοστό αύξησής του στα επόμενα στάδια βρέθηκαν να αυξάνονται με αυξανόμενη της ταχύτητας περιστροφής. Αντίστοιχα, ο βαθμός της μείωσης του COD βρέθηκε να αυξάνεται με αυξανόμενη ταχύτητα περιστροφής.

2.3.8.4 Επίδραση του λόγου των όγκων της δεξαμενής/της επιφάνειας των μέσων

Ο Antonie ερεύνησε αυτήν την επίδραση με μονάδες RBC διαμέτρου 2 έως 6 ft. Παρατήρησε ότι μια αύξηση στην αναλογία της περιοχής επιφάνειας των μέσων προς τον όγκο του υγρού πέρα από τα $200 \text{ m}^2/\text{m}^3$ δεν αύξησε την ταχύτητα απομάκρυνσης του BOD.

2.3.8.5 Επίδραση των σταδίων επεξεργασίας

Οι Antonie et al., ερεύνησαν την επίδραση του αριθμού σταδίων και ανέφεραν ότι σε μια τεσσάρων σταδίων μονάδα RBC βρέθηκαν τα υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης BOD από μια δύο σταδίων μονάδα που παρείχε την ίδια γενική περιοχή επιφάνειας για τον ίδιο τύπο υγρών αποβλήτων. Επίσης συστήσαν η οργανική φόρτιση σε οποιοδήποτε ξεχωριστό στάδιο να μην υπερβαίνει τις 2,5 λίβρες διαλυτού BOD/day/1000 ft².

2.3.8.6 Επίδραση της οργανικής και υδραυλικής φόρτισης

Το Antonie et al., ερεύνησαν την επίδραση της ταχύτητας ροής για ένα σύστημα RBC που έχει μια έκταση επιφάνειας 21.000 ft². Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι μια αύξηση στη συνολική ταχύτητα ροής υγρών αποβλήτων προκαλεί μια σχεδόν ανάλογη μείωση της ταχύτητας απομάκρυνσης του BOD και της ταχύτητας απομάκρυνσης αζώτου. Εντούτοις, αυτή η σχέση βρέθηκε να ποικίλει με τη συγκέντρωση σε BOD των εισερχόμενων αποβλήτων, δείχνοντας ότι η οργανική φόρτιση είναι επίσης μια σημαντική παράμετρος. Οι Stover et al., ερεύνησαν την ταχύτητα απομάκρυνσης COD ως συνάρτηση της ταχύτητας φόρτισης για ένα έξι σταδίων σύστημα RBC. Από τη μελέτη τους, προέκυψε ότι η έκταση της απομάκρυνσης COD και για τα έξι στάδια θα μπορούσε να συσχετιστεί με τα ποσοστά φόρτισης COD που εκκινεί το κάθε ένα στάδιο. Οι Poon et al., ερεύνησαν την απόδοση ενός τεσσάρων σταδίων συστήματος

RBC. Παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση BOD στην εκροή αυξήθηκε, αυξανόμενης της οργανικής φόρτισης. Εντούτοις, αυτή η σχέση βρέθηκε για να είναι διαφορετική για τα διαφορετικά στάδια του συστήματος RBC. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν επίσης για το BOD. Ερεύνησαν περαιτέρω την επίδραση απότομων αυξήσεων φορτίσεων (shock loadings) και παρατήρησαν ότι υπάρχει μόνο μια οριακή μείωση της απόδοσης λόγω της αιφνίδιας αύξησης φόρτισης. Οι Brenner et al., σύστησαν ότι η οργανική φόρτιση στο πρώτο στάδιο πρέπει να είναι συμβατή με την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου του συστήματος. Η υπερφόρτωση σε οποιαδήποτε στάδια αναγκάζει αναερόβιους οργανισμούς να αυξάνονται, με συνέπεια την κακή απόδοση. Για να αποφευχθούν αυτές οι συνθήκες, σύστησαν ότι η πρώτη φάσης οργανική φόρτιση πρέπει να κρατηθεί στο εύρος των 2.6-3.8 λιβρών BOD/ημέρας /1000 ft². Οι Wilson και Lee ανέφεραν ότι μια αύξηση στην οργανική φόρτιση οδηγεί σε μια μικρή μείωση της απόδοσης σε απομάκρυνση ρύπων. Παραδείγματος χάριν, μια αύξηση 20-τάξεων στην ταχύτητα οργανικής φόρτισης προκάλεσε μόνο μια απώλεια 5% στην ικανότητα απομάκρυνσης ρύπων. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στις υψηλότερες θερμοκρασίες (ισημερινό κλίμα) του περιβαλλοντικού αέρα και των υγρών αποβλήτων. Οι Banerjee ερεύνησαν την αποδόμηση της φαινόλης σε ένα σύστημα RBC και παρατήρησαν ότι μια αύξηση στην υδραυλική φόρτιση οδηγεί σε μια αύξηση στην ταχύτητα απομάκρυνσης φαινολών. Ομοίως, μια αύξηση στη φόρτιση φαινολών οδηγεί σε μια αύξηση στην ταχύτητα απομάκρυνσης φαινολών. Εντούτοις, και στις δύο περιπτώσεις, η μετατροπή της φαινόλης μειώθηκε. Το ποσοστό αφαίρεσης φαινολών παρατηρήθηκε να είναι πρώτης τάξης όσον αφορά τη συγκέντρωση φαινολών.

2.3.8.7 Επίδραση της θερμοκρασίας

Οι Antonie et al., παρατήρησαν ότι μια αύξηση στη θερμοκρασία μέχρι περίπου 50 °F προκάλεσε μια αύξηση στην ταχύτητα απομάκρυνσης BOD. Η αυξανόμενη θερμοκρασία επάνω από αυτήν την τιμή προκάλεσε μια οριακή μόνο αύξηση στην ταχύτητα απομάκρυνσης του BOD. Η επίδραση της θερμοκρασίας παρουσιάστηκε από την άποψη ενός παράγοντα διόρθωσης της θερμοκρασίας. Ο παράγοντας διόρθωσης θερμοκρασίας ήταν ελαφρώς υψηλότερος για τη νιτροποίηση απ' ό,τι για την αφαίρεση

BOD. Ο Banerjee ανέφερε ότι μια αύξηση στη θερμοκρασία του συστήματος RBC οδηγεί σε μια αύξηση της ταχύτητας απομάκρυνσης φαινολών μέχρι μια θερμοκρασία περίπου 36 °C επάνω από αυτήν, η ταχύτητα είναι ουσιαστικά σταθερή.

2.3.3.8 Επίδραση της επανακυκλοφορίας της εκροής

Οι Klees και Silverstein εξέτασαν την επίδραση της επανακυκλοφορίας του ανάμεικτου υγρού στη νιτροποίηση για ένα σύστημα RBC. Παρατήρησαν ότι η επανακυκλοφορία βελτίωσε τη νιτροποίηση για όλες τις οργανικές ταχύτητες φόρτισης. Η επανακυκλοφορία προκαλεί τη διάλυση των οργανικών υποστρωμάτων στο σύστημα RBC. Οδηγεί επίσης σε μια μείωση του διαθέσιμου άνθρακα, προκαλώντας νωρίτερα νιτροποίηση και με αυτόν τον τρόπο βελτιώνει την απόδοση. Επίσης παρατήρησαν ότι, με την επανακυκλοφορία, η βιολογική μεμβράνη ήταν λεπτότερη, και κατά συνέπεια, η φόρτιση σε βιομάζα ήταν χαμηλότερη, κάτι που προκαλεί μια πιο ομοιόμορφη φόρτιση βιομάζας στα διάφορα στάδια επεξεργασίας. Εντούτοις, όταν αυξήθηκε ο λόγος της επανακυκλοφορίας επάνω από ένα ορισμένο σημείο, η απόδοση βρέθηκε να μειώνεται. Ο Neu πρότεινε στη χρήση της επανακυκλοφορίας των στερεών στο σύστημα RBC για να αυξήσει την ικανότητα νιτροποίησης του συστήματος. Η επανακυκλοφορία βρέθηκε να αυξάνει τη συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών παρόντα στο ανάμεικτο υγρό, το οποίο συνέβαλε επίσης στη νιτροποίηση. Οι Wilson and Lee ερεύνησαν επίσης την επίδραση της επανακυκλοφορίας στην ποιότητα της εκροής. Παρατήρησαν ότι η επανακυκλοφορία δεν είχε σημαντικές επιπτώσεις στην απόδοση. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι η απόδοση για την απομάκρυνση οργανικών, χωρίς επανακυκλοφορία, στην εργασία τους ήταν ήδη πολύ υψηλή (90-95%). Κατά συνέπεια, η επανακυκλοφορία αύξησε τη συνολική ταχύτητα ροής αλλά συγχρόνως μείωσε τις συγκεντρώσεις εκροής. Αυτοί οι δύο παράγοντες ακύρωσαν τα αποτελέσματα του ενός στον άλλον.

2.3.8.9 Μηχανικές βλάβες

Οι Mba et al εξέτασαν και κάποια από τα μειονεκτήματα των μονάδων RBC, και διαπίστωσαν ότι οι μονάδες RBC είναι επιρρεπής σε μηχανικές βλάβες λόγω σχεδιαστικών αδυναμιών και παραλήψεων, της καταπόνησης λόγω χαμηλής συχνότητας διάβρωσης, και της μικροβιακής διάβρωσης. Αυτό το συμπέρασμα εξήχθη με την ανάλυση των αιτιών βλαβών και ανεπαρκής λειτουργίας σε περισσότερες από 250 μονάδες RBC. Μια μηχανική αποτυχία του άξονα του RBC έχει ως επακόλουθο ένα υψηλό κόστος αντικατάστασης επειδή η αποτυχία του άξονα προκαλεί επίσης ζημία στο μέσο του δίσκου, που αποτελεί και το υπόστρωμα της μονάδας. Ο κυλισιοτριβέας του άξονα μπορεί επίσης να αποτύχει λόγω έλλειψης λίπανσης (που μπορεί να είναι λόγω έλλειψης του λιπαντικού, ή λόγω μόλυνσης του λιπαντικού, ή ακατάλληλου τύπου λιπαντικού κ.λπ.). Είναι επίσης πιθανό να προκληθεί βλάβη στη δομή του σκελετού των περιστρεφόμενων μέσων του RBC λόγω μηχανικής καταπόνησης. Μόλις γίνει αυτό στο τμήμα αυτής της δομής υποστήριξης, το πρόσθετο φορτίο που ασκείται στην υπόλοιπη μονάδα μπορεί να οδηγήσει σε μια ξαφνική βλάβη ολόκληρου του συνόλου των μέσων. Έτσι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, σε πολλές μονάδες RBC, η διακοπή της λειτουργίας οφείλεται στην καταπόνηση, κάτι που φανερώνει ότι αυτός ο παράγοντας δεν λήφθηκε υπόψη σοβαρά κατά τη διάρκεια του μηχανικού σχεδίου. Η μικροβιακή διάβρωση αποδόθηκε στην υπερβολική ανάπτυξη των μικροοργανισμών και ειδικά κάποιων μη επιθυμητών τύπων οργανισμών. Αυτό θα μπορούσε να ελεγχθεί με τη μείωση της φόρτισης των υποστρωμάτων ή με την αύξηση της ταχύτητας της περιστροφής. Η μικροβιακή διάβρωση εμφανίζεται ως αποτέλεσμα της παραγωγής διαβρωτικών μεταβολιτών όπως σουλφίδια, οργανικά οξέα, κ.λπ. Ακόμη περαιτέρω οι Mba et al., πρότειναν διάφορες οδηγίες για το μηχανολογικό σχέδιο ώστε να μειωθούν οι μηχανικές βλάβες αυτές.

2.3.8.10 Μέσα προσκόλλησης βιοφίλμ για RBCs

Κατά τη διάρκεια των ετών εξέλιξης των συστημάτων RBC, διάφοροι τύποι μέσων για τους δίσκους έχουν αναπτυχθεί. Οι αρχικές λειτουργίες τους ήταν να παράσχουν την περιοχή επιφάνειας για τη βιολογική ανάπτυξη, να φέρουν σε επαφή μεταξύ τους τα

υγρά απόβλητα και τους μικροοργανισμούς, και να επιτύχουν μεταφορά οξυγόνου από τον αέρα στην ταινία του υγρού, αποβλήτων και βιοφίλμ. Έναν περίπου αιώνα πριν, στις δεκαετίες του 20ου αιώνα, μέσα RBC αποτελέσθηκε από έναν κύλινδρο με ξύλινες σανίδες. Επειδή όμως ήταν επιρρεπής σε φαινόμενα απόφραξης της ροής, αντικαταστάθηκαν από τους δίσκους μετάλλων στη δεκαετία του '30. Στη δεκαετία του '50, οι δίσκοι μετάλλων αντικαταστάθηκαν από δίσκους διογκωμένου πολυστυρολίου. Αυτοί οι δίσκοι ήταν πάχους περίπου 1 εκατοστού και τοποθετήθηκαν σε απόσταση 3 εκατοστών. Αυτή η ρύθμιση θα μπορούσε να παρέχει μια περιοχή επιφάνειας μόνο περίπου $25 \text{ m}^2/\text{m}^3$ του αντιδραστήρα. Στη βύθιση 50%, η περιοχή επιφάνειας θα ήταν μόνο $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ του υγρού. Στη δεκαετία του '70 εισήχθησαν οι δίσκοι πολυαιθυλενίου ώστε να μειωθεί το κατασκευαστικό κόστος. Ένα προστιθέμενο πλεονέκτημα του πολυαιθυλενίου είναι ότι μπορεί να κατασκευαστεί εύκολα σε πτυχωτά φύλλα που έχουν πάχη 1-2mm. Μερικές χαρακτηριστικές διαμορφώσεις των RBCs παρουσιάζονται στο σχήμα 1B. Αυτές οι πτυχώσεις αυξάνουν την περιοχή επιφάνειας για την επαφή μεταξύ του υγρών αποβλήτων και του αέρα. Επειδή τα μέσα έχουν αυλακώσεις και οι δίσκοι έχουν πολύ στενές πλέον δομές, η ταυτότητα των δίσκων χάνεται. Οι διάφοροι διαθέσιμοι τύποι μέσων είναι ταξινομημένοι βάσει της παρεχόμενης περιοχής επιφάνειας. Τα μέσα είναι χαρακτηριστικά ταξινομημένα σε δύο τύπους: μέσης και υψηλής πυκνότητας. Η μέσης πυκνότητας μορφή παρέχει 100.000 ft^2 στην περιοχή σε έναν άξονα 27-ft μήκους με μια διάμετρο 12 ft, ενώ ο υψηλής πυκνότητας τύπος παρέχει περίπου 150.000 ft^2 στην περιοχή σε έναν 27 ft μακρύ άξονα μια διάμετρο μέσω 12 ft. Αυτό σημαίνει ότι η περιοχή επιφάνειας είναι περίπου $125 \text{ m}^2/\text{m}^3$ του αντιδραστήρα ή $250 \text{ m}^2/\text{m}^3$ του υγρού για τα υψηλής πυκνότητας μέσα. Αυτές οι τιμές συγκρίνονται αρκετά καλά με τις χαρακτηριστικές τιμές της περιοχής επιφάνειας σε συμβατικούς αντιδραστήρες όπως οι συσκευασμένες στήλες ($25\text{-}200 \text{ m}^2/\text{m}^3$ αντιδραστήρα), στήλες φυσαλίδων ($25\text{-}500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ του αντιδραστήρα), και πλήρως αναδευόμενοι αντιδραστήρες ($100\text{-}1000 \text{ m}^2/\text{m}^3$ του αντιδραστήρα).

Από την παραπάνω συζήτηση, είναι σαφές ότι τα συστήματα RBC έχουν εξελιχθεί αρκετά από το αρχικό σχέδιο διάφορων περιστρεφόμενων δίσκων σε μια μονάδα στην οποία οι δίσκοι τείνουν να χάσουν την ταυτότητά τους και να συμπεριφερθούν ως ενιαία μονάδα που αποτελείται από τυχαίας διάταξης/δομημένα πληρωτικά μέσα σε μικροτεμάχια. Ολόκληρο το σύστημα RBC μπορεί έτσι να περιγραφεί ως οριζόντια

τοποθετημένη περιστρεφόμενη συσκευασμένη στήλη, αλλά με τις ακόλουθες σημαντικές διαφορές:

(I) Αντί μιας κάθετης συσκευασμένης στήλης, η στήλη είναι οριζόντια.

(II) Η κατανομή της υγρής φάσης εξασφαλίζεται από την περιστροφή του πληρωμένου τμήματος, παρά με την χρήση των διανεμητών όπως στις συμβατικές πληρωμένες στήλες. Αυτό επίσης σημαίνει ότι η διαβροχή του πληρωμένου τμήματος μπορεί να επιτευχθεί χωρίς την εξέταση άλλων παραμέτρων όπως την ελάχιστη ταχύτητα διαβροχής στις συμβατικές συσκευασμένες στήλες.

(III) Η αέρια φάση δεν χρειάζεται να παρασχεθεί από έναν συμπιεστή, δεδομένου ότι η περιστροφή του πληρωμένου τμήματος εξασφαλίζει καλή επαφή μεταξύ της αέριας και υγρής φάσης. Οι πιθανότητες για καναλοποίηση τόσο της αέριας όσο και τις υγρής φάσης ελαχιστοποιούνται.

(iv) Επειδή η φάση του αερίου δεν χρειάζεται να παρασχεθεί με τη βοήθεια ενός συμπιεστή, ζητήματα όπως πτώσης πίεσης, πλημμυρική απορροή, κ.λπ., πλέον δεν τίθενται.

(β) Έτσι, το σύστημα RBC δεν περιορίζεται στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για οποιαδήποτε λειτουργία επαφής υγρού αερίου. Στην πραγματικότητα, οι περιστρεφόμενοι επαφείς δίσκων (RDCs) χρησιμοποιούνται ήδη για την οξυγόνωση αίματος και ως εξατμιστήρες. Εάν ο χώρος πάνω από τον βιοαντιδραστήρα μπορεί να κλείσει εντελώς, ολόκληρο το σύστημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως τερματικό (dead-end) σύστημα. Τα συστήματα αυτά είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για πραγματοποίηση αντιδράσεων υγρού-αερίου ή αερίου-υγρού-στερεού όπου η εσωτερική ανακύκλωση του εναπομείναντος αερίου είναι επιθυμητή για τους λόγους του κόστους, της ασφάλειας, ή διάβρωσης.

(VI) Η μόνη σημαντική διαφορά με τους αντιδραστήρες πληρωμένης στήλης είναι ότι η ανάσχεση του υγρού στη μονάδα RBC διαρκεί πολύ περισσότερο από αυτή με τις συμβατικές συσκευασμένες στήλες επομένως, οι RBCs μπορεί να μην είναι κατάλληλοι για την επεξεργασία θερμοευαίσθητων υλικών (VII) Η έκταση της αζονικής μίξης σε RBCs θα είναι μεγαλύτερη από αυτή στις συμβατικές πληρωμένες στήλες.

Στην πραγματικότητα, πρόσφατα, οι Gai et al., χρησιμοποίησαν έναν περιστρεφόμενο αντιδραστήρα διαβρέχουσας κλίνης, για το βιολογικό καθαρισμό αερίου. Αυτό το σύστημα αποτελέσθηκε από ένα δομημένο συσκευασμένο κρεβάτι που περιστρέφεται

σε έναν κάθετα τοποθετημένο άξονα, με το υγρό και το αέριο να εισέρχονται από την κορυφή.

2.3.8.11 Κατανάλωση ισχύος RBCs

Το Antonie et al., παρουσίασαν τα στοιχεία κατανάλωσης ισχύος για 150 δίσκους, κάθε μια με διάμετρο 3m. Από τα στοιχεία τους, ο αδιάστατος αριθμός ισχύος, N_p για κάθε δίσκο μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας την εξίσωση $N_p = P / \rho_L N^3 D^5$, όπου P η ισχύς, ρ_L η πυκνότητα του υγρού, N η ταχύτητα περιστροφής, και D η διάμετρος του δίσκου. Ο αριθμός ισχύος που υπολογίζεται με αυτόν τον τρόπο ανέρχεται σε περίπου 0,2 ανά δίσκο. Οι Poon et al., έδειξαν ότι ένα σύστημα RBC διαμέτρου 3,2 μέτρων που παρέχει 24.820 m² διαθέσιμη επιφάνεια απαιτεί περίπου 11 kW. Εντούτοις, από αυτά τα στοιχεία, ο αριθμός ισχύος δεν μπορεί να υπολογιστεί, δεδομένου ότι η ταχύτητα της περιστροφής δεν δόθηκε.

Το Fujie et al., συσχέτισαν τη ισχύ με τη βοήθεια ενός αριθμού δύναμης αναλογικά με τον αριθμό δύναμης στους αναδευόμενους αντιδραστήρες. υπό συνθήκες στρωτής ροής, ο αριθμός δύναμης υποτίθεται ότι ήταν αντιστρόφως ανάλογος προς τον αριθμό Reynolds των δίσκων, που υπολογίζεται από τη διάμετρο των δίσκων και την απόσταση μεταξύ των δίσκων.

$N_p = \alpha / Re$, $Re = NDd\rho_L/\mu$ όπου α = σταθερά, d απόσταση μεταξύ των δίσκων. Χρησιμοποιώντας τις προηγούμενες σχέσεις, η απαίτηση δύναμης ανά περιοχή επιφάνειας μονάδων μπορεί να υπολογιστεί: $P/A = \lambda_1 N^2 D^2$, $\lambda_1 = 4\alpha\mu/\pi d$ όπου A επιφάνεια, μ ιξώδες.

Η παραπάνω έκφραση ισχύει σε συνθήκες στρωτής ροής μόνο, μέχρι μια περιστροφική ταχύτητα δίσκων 0,5 m/s. Υπό συνθήκες τυρβώδους ροής, ο αριθμός ισχύος δίσκων μπορεί να θεωρηθεί ανεξάρτητος από τον αριθμό Reynolds. Υπό αυτούς τους όρους, οι απαιτήσεις δύναμης ανά περιοχή επιφάνειας μονάδων μπορούν να υπολογιστούν

Βάση των εξισώσεων:

$$P/A = \lambda_2 N^3 D^3 \text{ όπου } \lambda_2 = (4N_p \rho_L) / \pi$$

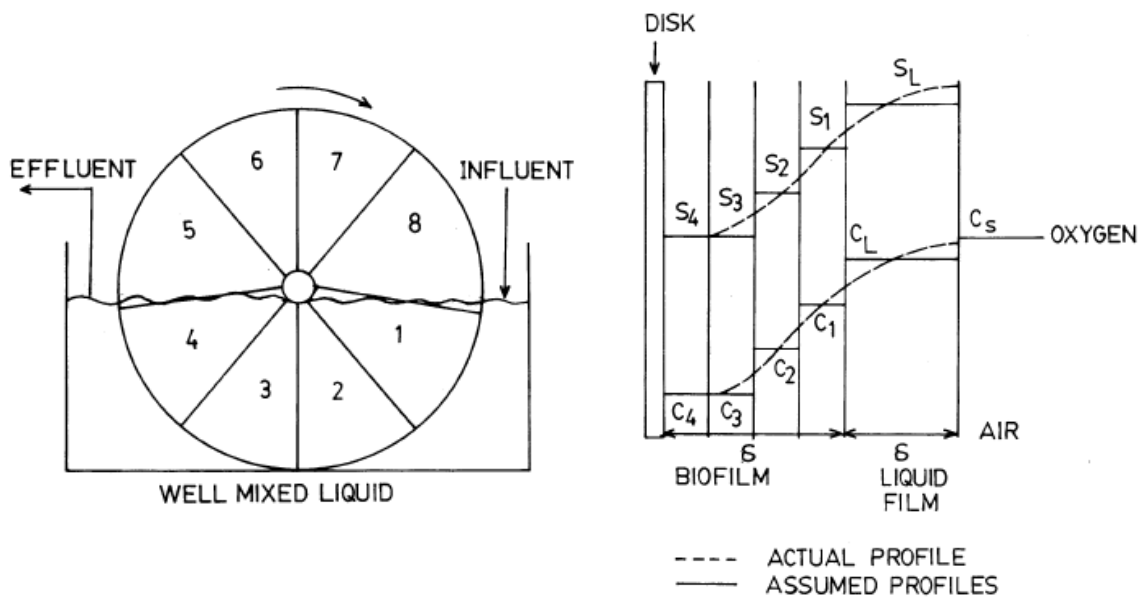
Οι Fujie et al., ανέλυσαν τα στοιχεία που δημοσιεύθηκαν από τον οργανισμό των ΗΠΑ EPA και έδειξαν ότι $\lambda_1 = 0,86 \times 10^{-5} \text{ kW min}^2 \text{ m}^{-4}$ και $\lambda_2 = 0,052 \times 10^{-5} \text{ kW min}^3 \text{ m}^{-5}$. Εάν

αυτά τα στοιχεία ξαναχρησιμοποιηθούν για την εύρεση του αριθμού δύναμης, αυτός υπολογίζεται ότι είναι περίπου 0,1,

Στοιχεία κατανάλωσης ισχύος για διάφορες εγκαταστάσεις RBC που εξοπλίζονται με μηχανικά οδηγούμενα μέρη, έχουν επεξεργαστεί από τους Brenner et al., και Gilbert et al. Περιλαμβάνουν αποτελέσματα από περίπου 20 διαφορετικές τοποθεσίες (105 μονάδες RBC). Τα στοιχεία τους δείχνουν ότι η απαίτηση δύναμης RBC κυμαίνεται από 1,21 έως 3,12 kW/ άξονα. Οι μετρήσεις τους περιέλαβαν τα μέσης και υψηλής πυκνότητας μέσα, με μέσα μήκη αξόνων μεταξύ 20 και 25 ft και μέσες διαμέτρους δίσκων 11-12 ft. Παίρνοντας μια μέση τιμή του συνόλου των διαθέσιμων μετρήσεων δείχνουν ότι, με μια ταχύτητα από 1,5 περιστροφές/λεπτό και μια μέση έκταση επιφάνειας 125.000 ft², ένας RBC απαιτεί μια μέση δύναμη 2,30 kW. Όταν αριθμοί ισχύος υπολογίζονται για τα στοιχεία τους, αποδεικνύονται ότι είναι της τάξης 0.05-0.15.

2.3.8.12 Μαθηματικά μοντέλα για την πρόβλεψη της απόδοσης των συστημάτων RBC

Οι Famularo et al., ανέπτυξαν ένα μοντέλο για να προβλέψουν την απόδοση των συστημάτων RBC. Το μοντέλο υποθέτει ότι οι δίσκοι είναι επίπεδοι και ότι το υγρό και το βιολογικό υμένιο που αναπτύσσονται στο δίσκο έχουν σταθερό πάχος. Η υγρή προσαρτημένη φάση αναμιγνύεται με το υγρό στη δεξαμενή στο σημείο επανεισόδου της. Ο δίσκος διαιρέθηκε σε οκτώ μέρη, και κάθε μέρος υποτίθεται ότι ήταν καλά αναμεμιγμένο. Το βιολογικό υμένιο διαιρέθηκε σε τέσσερα μέρη στην κάθετο της κατεύθυνσης της επιφάνειας των δίσκων. Η επιφάνεια δίσκων και το η βιολογική μεμβράνη παρουσιάζονται σχηματικά στο σχήμα 9.



Σχήμα 9. Σχηματική περιγραφή του τρόπου ανάπτυξης του μοντέλου των Famularo et al., και Mueller et al.

Η βιοδιάσπαση θεωρήθηκε ότι λαμβάνει χώρα μόνο στο βιολογικό υμένιο και ότι ακολουθεί κινητική Michaelis. Η ταχύτητα απομάκρυνσης των υποστρωμάτων μπορεί να γραφτεί:

$$R_s = (\mu_{\max} X / Y_{X/S}) (S / (S + K_S)) (C / (C + K_C))$$

Η ταχύτητα πρόσληψης οξυγόνου περιγράφηκε ως:

$$R_c = [(\mu_{\max} X Y_{C/S} / Y_{X/S}) (S / (S + K_S)) + K_e X] (C / (C + K_C))$$

Οι ροές της διάχυσης του υποστρώματος και του οξυγόνου μέσα στο βιολογικό υμένιο εξισώθηκαν με εκείνες που λήφθηκαν από τη μεταφορά από τον χαμηλής συγκέντρωσης τυχαίο όγκο μέσω του υγρού. Η ισορροπία μαζών για το υπόστρωμα γράφτηκε, λαμβάνοντας υπόψη τη μεταφορά, τη διάχυση, και την αντίδραση στο βιολογικό υμένιο όπως γράφτηκε επίσης και μια ισοστάθμιση μάζας για το οξυγόνο.

$$D_s \frac{\partial^2 S}{\partial z^2} + (S_o - S) \frac{Q_F}{A_\delta} - R_S = \frac{\partial S}{\partial t}$$

Όλες οι εξισώσεις λύθηκαν μαζί χρησιμοποιώντας μεθόδους πεπερασμένων διαφορών. Οι κινητικές παράμετροι στο μοντέλο προσδιορίστηκαν ώστε να συσχετιστούν με τις πειραματικές μετρήσεις που λήφθηκαν από μια πιλοτική μονάδα που επεξεργαζόταν αστικά υγρά απόβλητα και απόβλητα εργοστασίου χαρτοπολτού. Χρησιμοποιώντας τις κινητικές παραμέτρους που λήφθηκαν με αυτόν τον τρόπο, έγιναν διάφορες προβλέψεις, συμπεριλαμβανομένης της επίδρασης της αλλαγής συγκεντρώσεων στο BOD των υγρών αποβλήτων, της επίδρασης του εμπλουτισμού οξυγόνου, της επίδρασης της διαμέτρου των μέσων, κ.λπ.. Οι σημαντικότεροι περιορισμοί του μοντέλου ήταν ότι θεωρήθηκε τμήμα του δίσκου σε μόνο τέσσερα μέρη στην αξονική κατεύθυνση και οκτώ μέρη στην εφαπτόμενη κατεύθυνση μίξης της υγρής ταινίας, μια ενιαία προς επεξεργασίας υγρή φάση και οι ταυτόχρονα λαμβανόμενες υποθέσεις του τέλεια αναμεμιγμένου συστήματος, του σταθερού πάχους του υγρού προσαρτώμενου στρώματος και του βιοφίλμ, και σταθερή φόρτισης της βιομάζας.

Οι Mueller et al. τροποποίησαν το προηγούμενο μοντέλο των Famularo et al., με τη διαίρεση του δίσκου σε τέσσερα μέρη στην εφαπτόμενη κατεύθυνση και επτά μέρη στην αξονική κατεύθυνση. Επιπλέον, η ισοστάθμιση μάζας για το υπόστρωμα στη δεξαμενή γράφτηκε ούτως ώστε να λάβει υπόψη τη μεταφορά της βιομάζας με αποκόλληση, τις διεργασίες μεταφοράς μέσα στο βιουμένιο, την αντίδραση στη δεξαμενή από τους αιωρούμενους μικροοργανισμούς και τη μεταφορά του αέρα. Το υπόλοιπο των εξισώσεων ήταν παρόμοιο με εκείνο των Famularo et al., και το μοντέλο εφαρμόστηκε για τη νιτροποίηση σε μια μονάδα RBC. Οι κινητικές παράμετροι λήφθηκαν για να γίνει προσαρμογή των δεδομένων που λήφθηκαν από μιας πιλοτικής κλίμακας μονάδα RBC.

Οι Gujer και Boller παρουσίασαν ένα μοντέλο του συστήματος RBC λαμβάνοντας υπόψη τις διαδικασίες βιοδιάσπασης και μεταφοράς μάζας κατά τρόπο παρόμοιο με αυτόν που χρησιμοποιήθηκε από τους προηγούμενους ερευνητές. Η σημαντική πρόοδός τους πέρα από τις προηγούμενες εργασίες είναι ότι εξετάστηκαν διακυμάνσεις της βιομάζας μέσα στο biofilm και κατά μήκος του αντιδραστήρα. Μέσα

στο biofilm, η ισορροπία μαζών τόσο για τα διαλυμένα i είδη (DO, BOD, NH_4^+ , NO_3^- , CO_3^{2-}) όσο και για τα σωματιδιακά είδη (αδρανής ύλη, μη διασπώμενη ύλη, ετεροτροφική βιομάζα, nitrosomonas, και nitrobacter) γράφτηκαν ως εξής:

$$\frac{\partial S_i}{\partial t} = D_{S_i} \frac{\partial^2 S_i}{\partial z^2} - r_{S_i}$$

Οι ταχύτητες αντίδρασης αυτών των ειδών γράφτηκαν από την άποψη των κινητικών Michaelis. Εξέτασαν επίσης την κροκίδωση των μικροοργανισμών από τον κοινό όγκο υγρού στο biofilm και την απόσπαση λόγω διατμητικών δυνάμεων των στερεών από την επιφάνεια του biofilm στο κοινό όγκο του υγρού. Επειδή οι ακριβείς μηχανισμοί αυτών των διαδικασιών δεν είναι γνωστοί, θεωρήθηκαν ότι εμφανίζουν κινητικές πρώτης τάξης. Για να συσχετίσουν διαδικασίες για τη βιοδιάσπαση και μεταφοράς στο δίσκο, με τη γενική απόδοση των αντιδραστήρων, το διαλυμένο οξυγόνο και τα διαλυτά υποστρώματων γράφτηκαν ως ισορροπίες υποθέτοντας ότι κάθε στάδιο της μονάδας RBC συμπεριφέρεται ως CSTR. Το πλεονέκτημα αυτού του μοντέλου είναι ότι λαμβάνει υπόψη τη δυνατότητα κατανομής και διακυμάνσεων της φόρτισης της βιομάζας στα διάφορα στάδια του αντιδραστήρα. Η συγκέντρωση βιομάζας έτσι και η κατανομή στο δίσκο μπορούν να υπολογιστούν από το μοντέλο. Επομένως, αυτό το μοντέλο θα είχε μια καλύτερη ικανότητα πρόβλεψης από τα προηγούμενα. Εντούτοις, η υπόθεση ενός καλά αναμεμιγμένου αντιδραστήρα είναι πάρα πολύ περιοριστική. Αυτό το μοντέλο επίσης δεν έχει επιβεβαιωθεί από την άμεση σύγκριση των προβλέψεων και πειραματικών παρατηρήσεων. Οι Buchanan και Leduc εξέφρασαν την άποψη ότι η χρήση των κινητικών Monod για τη βιοδιάσπαση είναι πολύ σύνθετη για να τη χειριστεί κάποιος που επιθυμεί να κάνει βελτιστοποίηση. Πρότειναν τη χρήση ενός μοντέλου μεταβλητής-τάξης στο οποίο η ταχύτητα διάσπασης του υποστρώματος υποτίθεται ότι είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση των υποστρώματων που αυξάνεται στη N_i δύναμη. Η αξία του N_i για κάθε στάδιο του RBC λήφθηκε από πειράματα σε εργαστηριακή κλίμακα. Στην πραγματικότητα, αυτή η προσέγγιση είναι ισοδύναμη με την αντιπροσώπευση των κινητικών Monod για κάθε στάδιο με ένα μοντέλο εκθετικής τάξης.

Τέλος οι Galalakis and Andreadakis, (2004) ανέπτυξαν ένα σύνθετο μοντέλο το οποίο περιλάμβανε φαινόμενα μεταφοράς λόγω διάχυσης καθώς και βιολογικές διεργασίες που επιτελούνται στα βιοφίλμ κάνοντας εφαρμογή του νόμου του Fick στην παρακάτω εξίσωση:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = Dm[C(I-1) - C(I)] - Dm[C(I) - C(I+1)] + R$$

Όπου $C(I)$ = η συγκέντρωση της παραμέτρου C στην στοιβάδα I των βιοφίλμ (12 στοιβάδες θεωρήθηκαν), Dm ο συντελεστής μοριακής διάχυσης και R η βιολογικές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα σύμφωνα με το μοντέλο της ενεργής υλύος της IWA. Μια εκτενής ανασκόπηση των περισσότερων μοντέλων περιγράφεται από τον Andreadakis (1987)

2.4 Συγκρινόμενη συμβατική τεχνολογία επεξεργασίας υγρών αποβλήτων

2.4.1 Αντιδραστήρας Διαλείποντος έργου με Περιοδική Λειτουργία (Sequencing Batch Reactor, SBR)

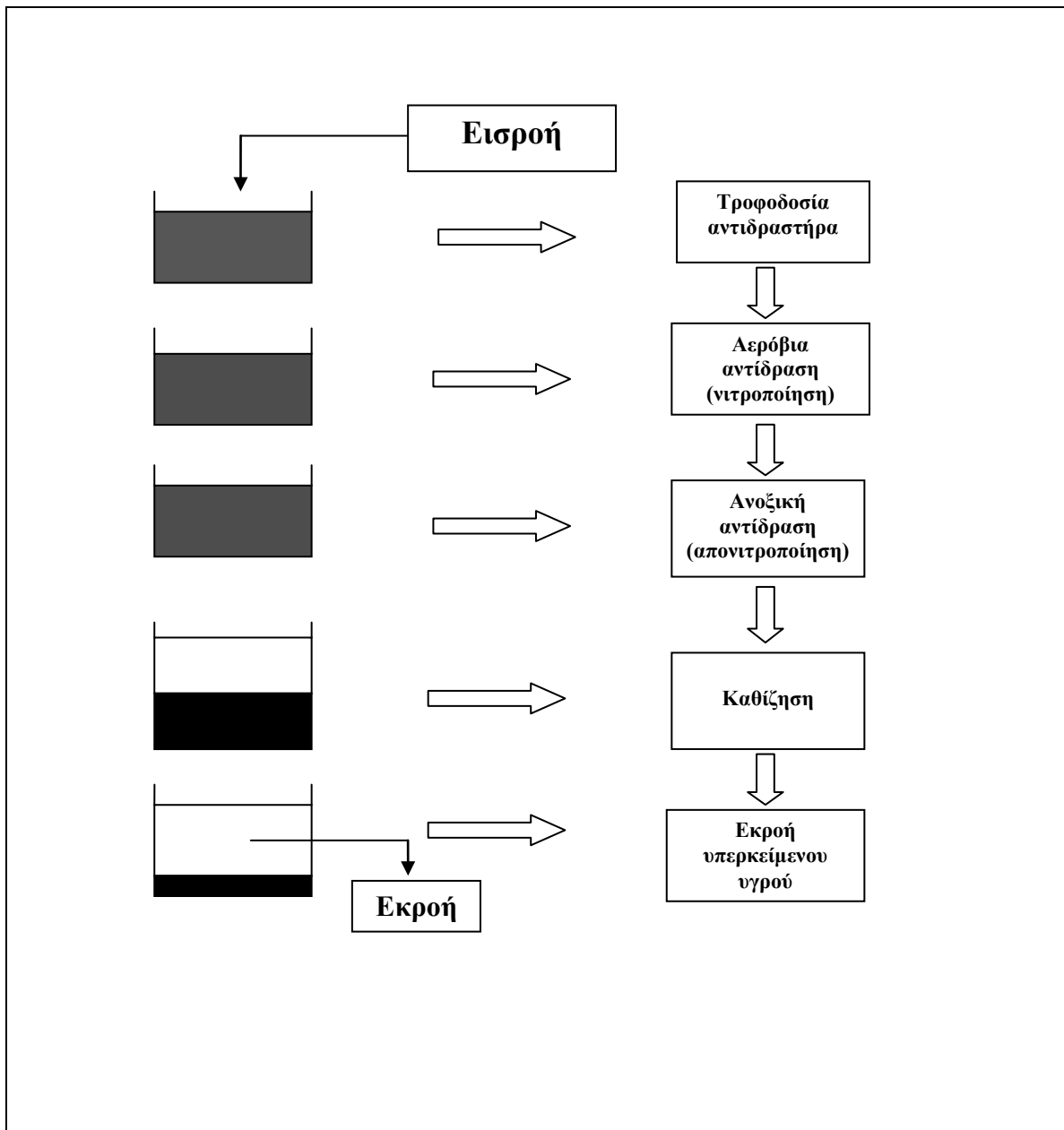
Ο αντιδραστήρας SBR (Sequencing Batch Reactor) για τη βιολογική επεξεργασία λυμάτων, βασίζεται κατά βάση στις διαδικασίες της ενεργής υλύος. Η διαφοροποίηση σε σχέση με την συμβατική σχεδίαση αντιδραστήρα ενεργού υλύος είναι ότι στον αντιδραστήρα διαλείποντος έργου ή εναλλασσόμενης λειτουργίας, οι φάσεις της επεξεργασίας διαχωρίζονται χρονικά και όχι χωρικά καθώς οι φάσεις της εισροής, του αερισμού, της καθίζησης και της εκκένωσης, διαδέχονται η μια την άλλη. Έτσι δεν απαιτούνται ξεχωριστές δεξαμενές αερισμού και καθίζησης αλλά οι δυο αυτές διεργασίες πραγματοποιούνται σε μια κοινή δεξαμενή.

Αρχικά τα λύματα διοχετεύονται σε μια δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης όπου γίνεται η αφαίρεση των αιωρούμενων στερεών σωματιδίων διαστάσεων 0.1 έως 0.001mm. από εκεί, τα λύματα υπερχειλίζουν στη δεξαμενή εξισορόπησης / ομογενοποίησης, για ενδιάμεση αποθήκευση των λυμάτων και εξομάλυνση της διακύμανσης από τις έντονες αιχμές των φορτίων. Για ελεγχόμενη τροφοδοσία, τα

αποθηκευμένα και ομογενοποιημένα υγρά απόβλητα αντλούνται προς τον βιολογικό αντιδραστήρα σε τακτά χρονικά διαστήματα μέσω ειδικής υποβρύχιας αντλίας.

Όταν ο αντιδραστήρας SBR πληρωθεί, σταματάει η φάση της εισροής και ακολουθεί η φάση της αερόβιας βιολογικής επεξεργασίας με ενεργή ιλύ. Οι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται, επιτυγχάνουν αφαίρεση οργανικού φορτίου με παράλληλη αφαίρεση τόσο αζώτου όσο και φωσφόρου (παράγοντες ρύπανσης) των υγρών αποβλήτων και αυξάνεται παράλληλα η βιομάζα (αύξηση μικροβιακού φορτίου).

Μετά την ολοκλήρωση της φάσης της βιοαποδόμησης ακολουθεί η φάση της καθίζησης όπου η ενεργή ιλύς καθιζάνει, αφήνοντας στην επιφάνεια μια διευγασμένη ζώνη. Μετά τη καθίζηση, τα διευγασμένα και επεξεργασμένα πλέον υγρά απόβλητα αντλούνται μέσω ειδικών αντλιών προς διάθεση (ή απολύμανση εάν απαιτηθεί) και ακολουθεί νέος κύκλος. Στο τέλος της φάσης καθίζησης, οι αντλίες ιλύος απομακρύνουν προς τη δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης, την περίσσεια ποσότητα βιομάζας (Σχήμα 10).

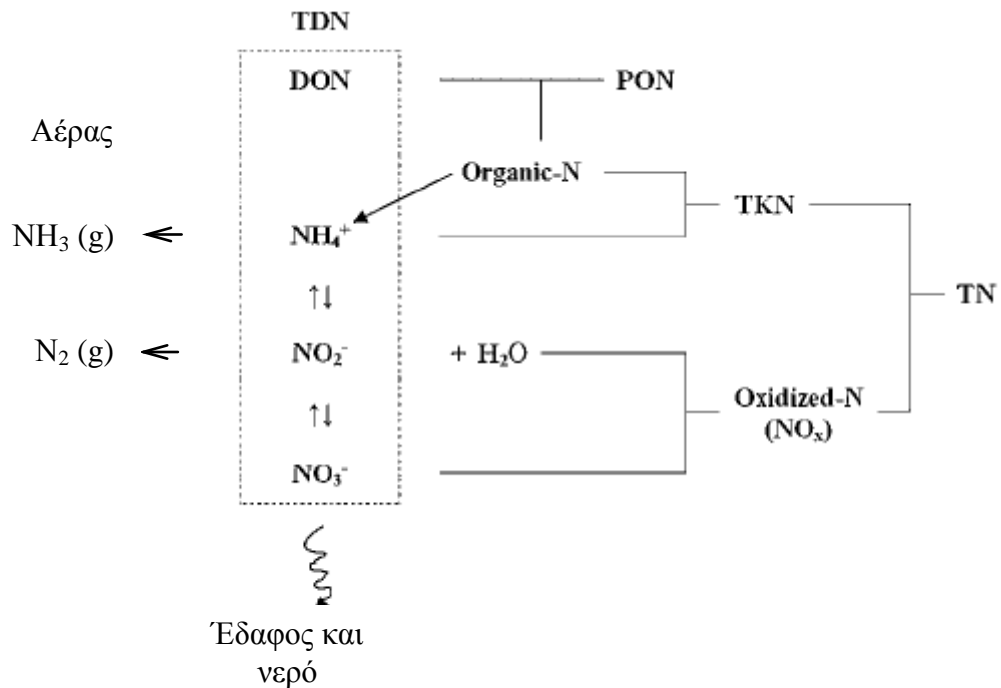


Σχήμα 10. Κύκλος λειτουργίας ενός αντιδραστήρα SBR.

2.5 Μορφές αζώτου - Κύριοι μηχανισμοί της βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου στα υγρά απόβλητα

Οι μορφές αζώτου στα φυσικά οικοσυστήματα εξηγούνται στο Σχήμα 11, όπου η συνολική ποσότητα αζώτου στη φυσική του κατάσταση μπορεί να βρεθεί σε δύο βασικές μορφές, το ολικό άζωτο kjeldahl (TKN) και το οξειδωμένο άζωτο (NOx). Το οργανικό άζωτο υποδιαιρείται στο σωματιδιακό οργανικό άζωτο (PON) και το

διαλυμένο οργανικό άζωτο (DON). Τα νιτρικά και τα νιτρώδη ιόντα είναι οι διαλυτές ανόργανες μορφές αζώτου και μαζί με την αμμωνία και τα αμμωνιακά, αποτελούν το διαλυμένο ανόργανο άζωτο (DIN). Το σύνολο του διαλυτού αζώτου (TDN) που αποτελείται από τα DON, NH_3/NH_4 και NO_x θεωρούνται ως οι υψηλής βιοδιαθεσιμότητας μορφές (Taylor 2005, Kadlec, 1999).



Σχήμα 11. Διαφορετικές μορφές αζώτου και ροές αζώτου στους τεχνητούς υγροβιότοπους και γενικά στα συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων

Μεταξύ των διάφορων μορφών αζώτου, τα διαλυμένα ανόργανα είδη όπως τα νιτρικά (NO_3), τα νιτρώδη (NO_2), και η αμμωνία (NH_3) ή το αμμωνιακό ιόν (NH_4) – παρά το σωματιδιακό οργανικό άζωτο – ασκούν μέγιστη επίδραση στα υδατικά συστήματα, επειδή είναι εύκολα διαθέσιμα για πρόσληψη από τους μικροοργανισμούς [Seitzinger et al., 2002]. Πολλές έρευνες έχουν παρουσιάσει τον αντίκτυπο των υπερβολικών φορτίων αζώτου στην ποιότητα των υδάτων [Galloway et al., 2003]. Το Σχήμα 12 παρουσιάζει διαγραμματικά τη μετατροπή του αζώτου στις διάφορες μορφές.

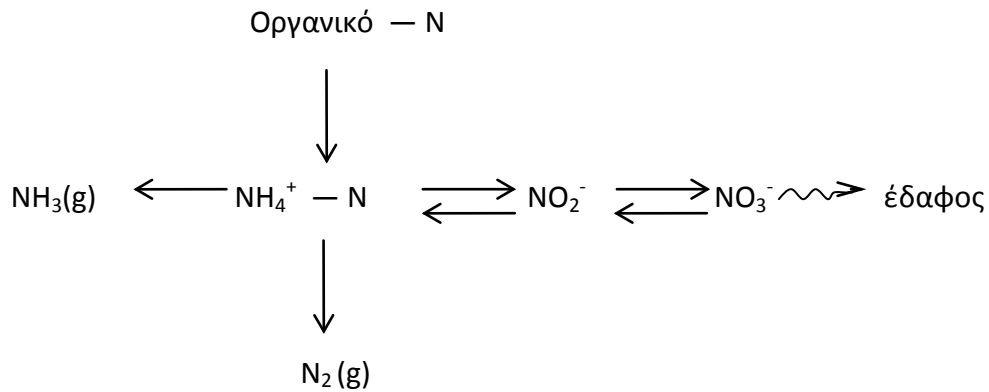
2.5.1 Αμμωνικοποίηση

Η αμμωνικοποίηση είναι η διαδικασία όπου το οργανικό N μετατρέπεται βιολογικά σε αμμωνία. Οι ρύποι που περιέχουν το άζωτο διασπώνται εύκολα και σε αερόβιες και αναερόβιες ζώνες των κλινών των καλαμιών, και στους αντιδραστήρες βιοφίλμ, απελευθερώνοντας το ανόργανο αμμωνιακό-άζωτο ($\text{NH}_4\text{-N}$). Το ανόργανο $\text{NH}_4\text{-N}$ απομακρύνεται στους τεχνητούς υγροβιότοπους κυρίως με διαδικασίες νιτροποίησης-απονιτροποίησης. Κινητικά η αμμωνικοποίηση προχωρά γρηγορότερα από τη νιτροποίηση. Η ταχύτητα της αμμωνικοποίησης είναι μεγαλύτερη στην οξυγονωμένη ζώνη και μειώνεται καθώς το ρεύμα της ανοργανοποίησης συνοδεύεται από αερόβιους σε προαιρετικά αναερόβιους και υποχρεωτικά αναερόβιους οργανισμούς. Οι ταχύτητες αυτές επηρεάζονται από τη θερμοκρασία, την αναλογία C/N, το pH, τις διαθέσιμες θρεπτικές ουσίες, και τη δομή του εδάφους (Reddy and Patrick 1984). Το $\text{NH}_4\text{-N}$ στα συστήματα SSF μπορεί να ελαττωθεί και με άλλες διαδικασίες, οι οποίες περιλαμβάνουν την προσρόφηση, την πρόσληψη από τα φυτά και την αεριοποίηση [Vyamazal 2007]. Εντούτοις, γενικά θεωρείται ότι η συμβολή αυτών των διαδικασιών είναι πολύ περιορισμένη έναντι της νιτροποίησης-απονιτροποίησης.

2.5.2 Νιτροποίηση

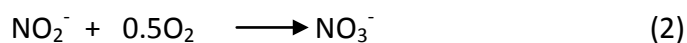
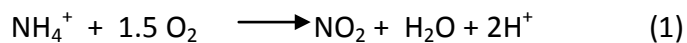
Οι διαδικασίες αποδόμησης της οργανικής ύλης στους υγροβιότοπους και στους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας, θεωρούνται ότι μετατρέπουν ένα σημαντικό μέρος του οργανικού αζώτου σε αμμωνία (Mayo and Mutamba 2004). Η βιολογική νιτροποίηση, που εκτελείται από νιτροποιητές όπως τα είδη *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus* και *Nitrobacter*, που ακολουθούνται από τη απονιτροποίηση θεωρείται ως η σημαντικότερη πορεία για την μείωση της συγκέντρωσης της αμμωνίας και σε FSW και σε SSF τύπου τεχνητούς υγροβιότοπους, αλλά και στις περισσότερες διεργασίες βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου όπως τους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας (Gersberg et al., 1985). Στις γνωστές και κύριες πορείας επεξεργασίας απομάκρυνσης αζώτου, η βιολογική απομάκρυνση αζώτου απαιτεί μια σε δύο στάδια διαδικασία: νιτροποίηση που ακολουθείται από τη απονιτροποίηση. Η νιτροποίηση περιλαμβάνει την χημειολιθοαυτοτροφική οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρικά υπό αυστηρά αερόβιες συνθήκες και εκτελείται σε δύο διαδοχικά οξειδωτικά

στάδια: αμμωνία σε νιτρώδη (οξειδωση αμμωνίας) και νιτρώδη σε νιτρικά (οξειδωση νιτρωδών).



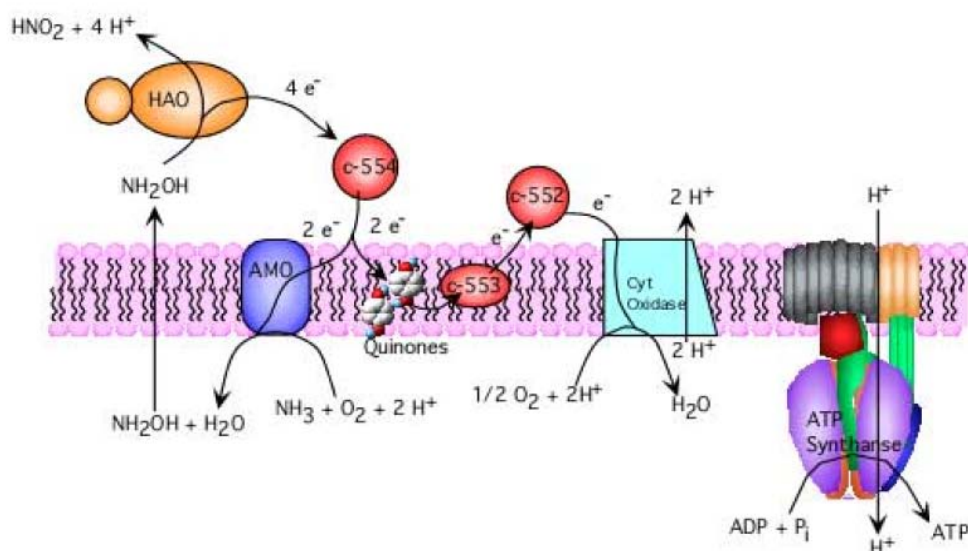
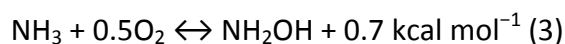
Σχήμα 12. Μετασηματισμοί αζώτου σε ένα τεχνητό υγροβιότοπο, (ή αν παραλείψουμε το έδαφος γενικά σε ένα σύστημα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων)

Κάθε στάδιο εκτελείται από διαφορετικά βακτηριακά γένη που χρησιμοποιούν την αμμωνία ή τα νιτρώδη ως πηγή ενέργειας και το μοριακό οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, ενώ το διοξείδιο του άνθρακα χρησιμοποιείται ως πηγή άνθρακα. Το συνηθέστερα αναγνωρίσιμο γένος των βακτηρίων είναι το *Nitrosomonas* για τη διαδικασία της οξειδωσης της αμμωνίας και το *Nitrobacter* για τη διαδικασία οξειδωσης νιτρωδών. Οι γενικές εξισώσεις για αυτές τις δύο αντιδράσεις μπορούν να γραφτούν ως εξής:



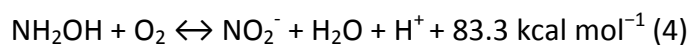
Οι βασικές χημικές αντιδράσεις που συνήθως χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τη νιτροποίηση (εξισώσεις (1) και (2)) είναι υπερ - απλουστεύσεις των πραγματικών καταβολικών διεργασιών των νιτρωδοποιητικών και νιτρικοποιητικών βακτηρίων. Στην πραγματικότητα, λαμβάνει χώρα μία σειρά από βιοχημικές αντιδράσεις οξειδωσης και αναγωγής. Η νιτρωδοποίηση ξεκινά από το εσωτερικό της κυτταροπλασματικής

μεμβράνης (Σχήμα 13), όπου η αμμωνία οξειδώνεται σε υδροξυλαμίνη, με τη βοήθεια του αναπόσπαστου από τη μεμβράνη ενζύμου, την *αμμωνιακή μονοοξυγενάση* (ammonia monooxygenase, AMO) (Gibbs και Schiff, 1960; Hollocher et al., 1981):



Σχήμα 13. Οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη από νιτροδοποιητικά βακτήρια

Η ενεργοποίηση του ενζύμου της *αμμωνιακής μονοοξυγενάσης* απαιτεί ενέργεια και, για αυτό το κύτταρο δεν αποκομίζει ενέργεια από την αντίδραση (3) (Hooper, 1989). Στη συνέχεια η υδροξυλαμίνη (NH_2OH) μεταφέρεται στο περίπλασμα και μετατρέπεται σε νιτρώδη με ταυτόχρονο σχηματισμό ενός ελεύθερου πρωτονίου.



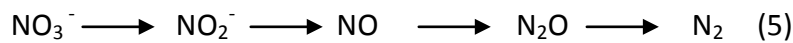
Η διαδικασία της νιτροποίησης είναι πολύ απαιτητική σε οξυγόνο. Το οξυγόνο που καταναλώνεται σε αυτήν την διαδικασία είναι 3,16 mg O_2 /mg $\text{NH}_4\text{-N}$ που οξειδώνεται και 1,11 mg O_2 /mg $\text{NO}_2\text{-N}$ που οξειδώνεται. Επιπλέον, οι αύξηση της βιομάζας των κυττάρων *Nitrosomonas* και *Nitrobacter* 0,15 mg κυττάρων / mg - $\text{NH}_4\text{-N}$ που οξειδώνεται και 0,02 mg κυττάρων/mg $\text{NO}_2\text{-N}$ που οξειδώνεται, αντίστοιχα. Επιπλέον, η αλκαλικότητα που απαιτείται είναι 7,07 mg CaCO_3 / mg $\text{NH}_4\text{-N}$ που οξειδώνεται. Εντούτοις, η μείωση της αλκαλικότητας από τα υδρογονοκατιόντα που παράγονται στη διαδικασία νιτροποίησης μπορεί να προκαλέσει μια μεγάλη πτώση του pH. Η τιμή του pH είναι πολύ σημαντική στη νιτροποίηση, μιας και η ταχύτητα της αντίδρασης

μειώνεται αισθητά σε τιμές pH χαμηλότερες από 7,0. Κατά συνέπεια, κατάλληλες χημικές ουσίες όπως το CaCO_3 πρέπει να ξαναδοθούν στο σύστημα όταν μειώνεται η αλκαλικότητα στη διαδικασία της νιτροποίησης (Ahn 2006). Ο χρόνος διπλασιασμού των νιτροποιητικών βακτηρίων έχει προσδιοριστεί από 2 έως 6 ημέρες (Downing, 1966). Τα αυτότροφα βακτήρια της νιτροποίησης έχουν πολύ χαμηλότερη ταχύτητα μεταβολισμού από τα ετερότροφα, τα οποία είναι αρμόδια για την απομάκρυνση του BOD. Συνεπώς, στα συστήματα SSF, το κύριο μέρος της νιτροποίησης γενικά δεν πραγματοποιείται πριν από την ουσιαστική μείωση BOD (Zhao et al 2004a, Zhao et al 2004b). Η ταχύτητα της νιτροποίησης επίσης επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, το pH, την αλκαλικότητα, την ανόργανη πηγή άνθρακα, την υγρασία, το μικροβιακό πληθυσμό, και τις συγκεντρώσεις του αμμωνιακού αζώτου και του διαλυτού οξυγόνου. Το ποσοστό λήψης αμμωνίας (AUR) έτσι ποικίλλει με τη διαμόρφωση αντιδραστήρων, τον τύπο υποστρωμάτων, και την συγκέντρωση αμμωνιακών στη είσοδο των συστημάτων.

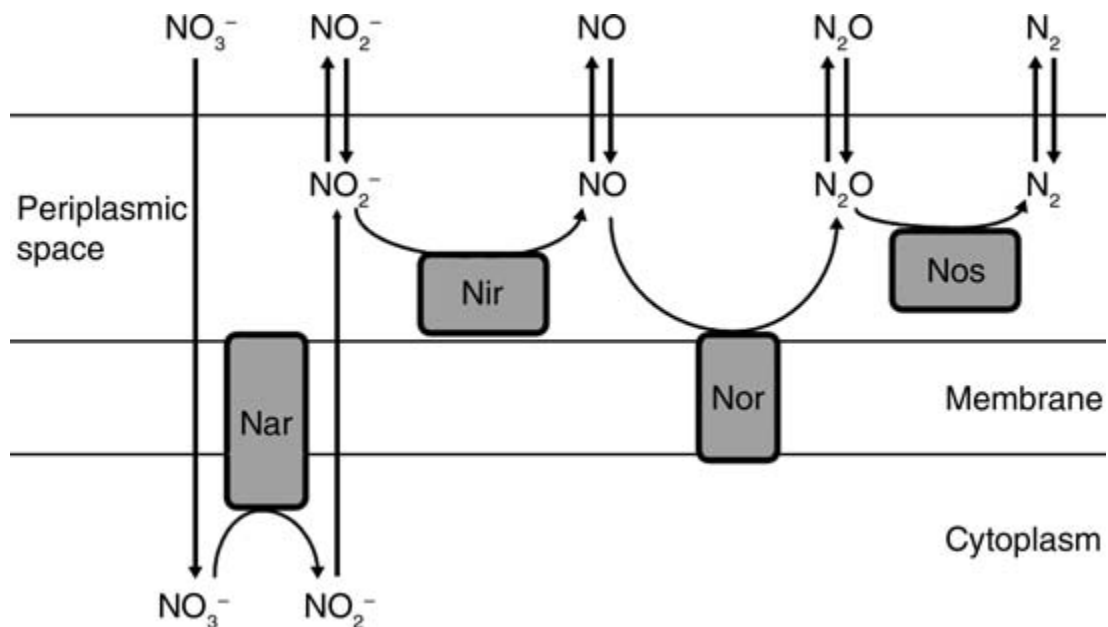
2.5.3 Απονιτροποίηση

Ο βιολογικός μηχανισμός απονιτροποίησης χρησιμοποιεί τα νιτρικά ως τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων σε χαμηλού-οξυγόνου περιβάλλοντα. Σε αυτήν την διαδικασία, οι απονιτροποιητές μειώνουν το ανόργανο άζωτο όπως τα νιτρικά και τα νιτρώδη μετατρέποντας τα στο αδρανές μοριακό αζώτο (Prosnansky et al., 2002, Szekeres et al., 2002). Τα απονιτροποιητικά βακτήρια (denitrifiers) μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο σημαντικά είδη, ετερότροφα και αυτότροφα. Τα ετερότροφα είναι βακτήρια που χρειάζονται οργανικά υποστρώματα για να λάβουν την πηγή άνθρακά τους για την αύξηση και την εξέλιξη, και να πάρουν την ενέργεια από την οργανική ουσία. Αντίθετα, τα αυτότροφα χρησιμοποιήστε ανόργανες ουσίες ως πηγή ενέργειας και το CO_2 ως πηγή άνθρακα (Rijn et al 2006). Μέχρι τώρα, η ετεροτροφική διαδικασία απονιτροποίησης έχει μελετηθεί να λαμβάνει χώρα κυρίως στις συμβατικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, ενώ η αυτότροφη απονιτροποίηση έχει μόλις πρόσφατα μελετηθεί (Kim et al., 2004).

Το δεύτερο βήμα, η απονιτροποίηση, επιτελείται από έναν ετερότροφο μικροοργανισμό (όπως *Psuedomonas*, *Micrococcus*, *Achromobactor* και βάκιλους) υπό αναερόβιες ή ανοξικές συνθήκες. Το ποσοστό της συνολικής απομάκρυνσης αζώτου μέσω της απονιτροποίησης είναι της τάξεως του 60–95%, σε αντιπαράθεση με το 1–34% – που αφομοιώνεται από τα φυτά και άλγη. Οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν μια οξειδωμένη μορφή αζώτου, όπως NO_2^- , NO_3^- , ως τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων και οργανικό άνθρακα ως δότη ηλεκτρονίων υπό ανοξικές συνθήκες (Metcalf and Eddy, 1991). Συνεπώς, η απονιτροποίηση παρέχει ενέργεια στους απονιτροποιητές και επηρεάζεται επίσης από την οργανική ουσία, του δότη ηλεκτρονίων. Αυτή η διαδικασία περιγράφεται συνοπτικά με την ακόλουθη πορεία (Horan, 1991).



Το τελευταίο στάδιο της αντίδρασης αυτής καταλύεται από το ένζυμο αναγωγή του υποξειδίου του αζώτου (*nosZ*) (EC 1.7.99.6) είναι ένα ομοδιμέρες ένζυμο με πολλά ενεργά κέντρα Cu, το οποίο έχει απομονωθεί από αρκετά gram-αρνητικά βακτήρια απονιτροποιητές αλλά όχι ακόμη από gram-θετικά βακτήρια (Coyle et al 1985, Coyne et al., 1989).



Σχήμα 14. Διαδοχική πορεία αναγωγών της απονιτροποίησης, με επισύμανση της τοποθεσίας των ενζύμων σε σχέση με την κυταροπλασματική μεμβράνη

Nar, nitrate reductase; Nir, nitrite reductase; Nor, nitric oxide reductase; Nos, nitrous oxide reductase (τροποποιημένο από Ye et al. [1994]) (Wallenstein et al., 2006).

Η απονιτροποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο στις ανοξικές ζώνες των συστημάτων, δεδομένου ότι η παρουσία διαλυτού οξυγόνου καταστέλλει το ενζυμικό σύστημα που απαιτείται για αυτήν την διαδικασία [Metcalf and Eddy, 1991]. Οι υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών μπορούν να οδηγήσουν σε πυκνότερους και μεγαλύτερους πληθυσμούς απονιτροποιητών μέσα στα ιζήματα [Sirivedhin and Gray 2006]. Στους τεχνητούς υγροβιότοπους, αλλά και στους αντιδραστήρες βιοφίλμ θεωρείται ότι μικροπεριβάλλοντα με απότομες διακυμάνσεις οξυγόνου μπορούν να βρεθούν, οι οποίες επιτρέπουν τη νιτροποίηση και την απονιτροποίηση να λάβουν χώρα σε σειρά, σε πολύ κοντινή απόσταση ή μια διεργασία από την άλλη. Ικανοποιητική ποσότητα οργανικού άνθρακα απαιτείται ως δότης ηλεκτρονίων για τη μείωση των νιτρικών, ο οποίος παρέχει μια πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς της απονιτροποίησης (Russell et al., 1994, J. van Oostrom and Russell 1994). Αυτή η πηγή άνθρακα μπορεί να είναι διαθέσιμη στις κλίνες των υγροβιοτόπων από οργανικούς ρύπους που περιέχονται στα υγρά απόβλητων ή από κυττάρια των μικροοργανισμών. Η ταχύτητα της απονιτροποίησης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της συγκέντρωσης νιτρικών, τη μικροβιακή χλωρίδα, τον τύπο και την ποιότητα της οργανικής πηγής άνθρακα, της υδροπερίόδου των φυτών, των διαφορετικών υπολειμμάτων και προϊόντων αποδόμησης από φυτικά είδη, της απουσίας του O₂, του οξειδοαναγωγικού δυναμικού, της υγρασίας στο έδαφος, της θερμοκρασίας, της τιμής του pH, της παρουσίας απονιτροποιητών, του τύπου του εδάφους, της στάθμης του ύδατος, και της παρουσίας υπερκείμενης ελεύθερης στήλης ύδατος (Sirivedhin and Gray 2006, Gymazal 1995, Bastviken et al., 2005).

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η ταχύτητα της απονιτροποίησης με περιοριστική συγκέντρωση υποστρώματος σε οργανικό άνθρακα, σε ύδατα και υγρά απόβλητα μπορεί να βελτιωθεί συνεχώς με τη συμπλήρωση πηγών άνθρακα [Killingstad et al 2002], ακόμα κι αν υπάρχουν μερικά ζητήματα σχετικά με εξωτερικές πηγές άνθρακα σχετικά με την ετερότροφη απονιτροποίηση (Joo, et al., 2005). Η έρευνα έχει στραφεί αρκετά προς τη βιολογική απομάκρυνση αζώτου, ενώ η διαδικασία της απονιτροποίησης είναι γενικά χρονοβόρα, ειδικά για τα βιομηχανικά υγρά απόβλητα

που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών (Foglar et al., 2005). Επίσης, διάφοροι ερευνητές έχουν μελετήσει τα συστήματα απονιτροποίησης, συμπεριλαμβανομένων της εφαρμογής κοκκώδους ενεργού άνθρακα, των αντιδραστήρων/βιολογικών φίλτρων συμπυκνών κλινών (packed beds), και των περιστρεφόμενων βιολογικών επαφών (rotating biological contactors). Αυτές οι μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί εδώ και αρκετά έτη, ενώ σε μερικά νέα συστήματα όπως οι αντιδραστήρες βιοφίλμ αντίστοιχες μελέτες έχουν ξεκινήσει μόλις πρόσφατα (Terada et al., 2003).

2.6 Παρουσία και απομάκρυνση ξενοβιοτικών ενώσεων ενδιαφέροντος στην σύγκριση όλων των μεθόδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων

2.6.1 Γραμμικά Αλκυλοβενζοσουλφονικά Άλατα (LAS), επιφανειοδραστικές ενώσεις

Μετά από το κοινό σαπούνι, τα LAS είναι η πιο κοινή πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται σε καθαριστήρια, και προϊόντα καθαρισμού για οικιακές και βιομηχανικές χρήσεις (Berna et al., 1991). Το κύριο όφελος των LAS σε αυτά τα προϊόντα είναι η καθαριστική τους ισχύς η οποία προέρχεται από την ικανότητα εφύγρανσης, κύλισης, γαλακτοματοποίησης, διασποράς και αφρισμού, όπως επίσης και της ικανότητάς του να μειώνει την επιφανειακή τάση (Fisher and Marsh, 1983). Τα LAS παράγονται πλέον σχεδόν σε παγκόσμια έκταση σε μερικές εκατομμύρια τόνους (2×10^6 τόνοι το 1989, Berna et al., 1991). Η συσχέτιση των LAS μεταξύ μετρήσεων σε περιβαλλοντικές μήτρες, και με δεδομένα κατανάλωσης και πωλήσεων είναι δύσκολη και παρουσιάζει πολλές αναντιστοιχίες εξαιτίας της αποδόμησης των ενώσεων αυτών σε πλυντήρια, στους βόθρους ή και σε μονάδες επεξεργασίας βιολογικού καθαρισμού (Painter and Zabel, 1989, Giger et al., 1987). Τα επιφανειοδραστικά πρωτοανακαλύφθηκαν στο τέλος της δεκαετίας του 1930, αλλά η εξάπλωση της χρήσης τους ξεκίνησε μετά τη δεκαετία του 1950. Το μόριο με διακλαδώσεις στο αλκυλικό τμήμα του, αλκυλοβενζοσουλφονικού άλατος (alkylbenzene sulfonate, ABS), ήταν το πρώτο που είχε εμπορική εκμετάλλευση.

Όμως η χαμηλή ταχύτητα βιοδιάσπασής του και προβλήματα αφρισμού, κυρίως αισθητικής φύσης, που προκαλούνται όταν η εκροή του βιολογικού καθαρισμού διατίθεται σε άλλα φυσικά ύδατα (Swisher, 1987) ήταν οι λόγοι που αντικαταστάθηκαν από τα μέσα της δεκαετίας του 1960 από τα γραμμικά (ευθείας αλυσίδας) αλκυλοβενζοσουλφονικά άλατα (LAS). Παρόλα τα πλεονεκτήματα των LAS, συμπεριλαμβανομένης και της γρηγορότερης ταχύτητας βιοδιάσπασής τους κατά τη διάρκεια επεξεργασίας στο βιολογικό καθαρισμό, Painter and Zabel (1989), παρουσιάζουν αυξημένη τοξικότητα σε αρκετούς υδρόβιους οργανισμούς όπως τα ψάρια (Sivak et al., 1982). Σε σχέση με τη γενικότερη περιβαλλοντική τους επίδραση τα LAS είναι μια από τις περισσότερο μελετημένες τάξεις ενώσεων (Giger et al., 1989). Όταν το 1965 εισήχθησαν στο περιβάλλον για πρώτη φορά, ανέγειραν παγκόσμια ανησυχία μια και τα προβλήματα αφρισμού ήταν υπό στενή περιβαλλοντική παρακολούθηση, και η αποδοχή των ενώσεων αυτών ήταν ένα ευαίσθητο θέμα. Η παραγωγή σε μεγάλη κλίμακα και η απευθείας διάθεση στο περιβάλλον ήταν σίγουρο ότι θα δημιουργούσε αργά ή γρήγορα αυξημένες συγκεντρώσεις σε υδατικά οικοσυστήματα και τελικά στον άνθρωπο. Οι επακόλουθες έρευνες όμως διαπίστωσαν πως τελικά πως δεν ήταν καθοριστικά αρνητική η επίδραση τους ούτε στις μονάδες βιολογικού καθαρισμού ούτε στις εκροές τους (Brown, 1977, Huber et al., 1989, Kimerle, 1989).

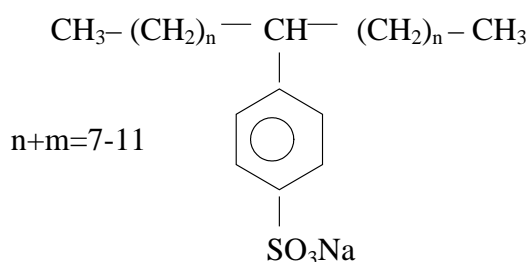
Η κύρια περιβαλλοντική είσοδος των LAS είναι το σημείο απόρριψης ή τελικής διάθεσης των αστικών υγρών αποβλήτων, όπου στις ανεπτυγμένες χώρες το 50-75 % των LAS που βρίσκεται στα απόβλητα έχει υποστεί κάποια επεξεργασία, όμως σε μη ανεπτυγμένες χώρες επεξεργάζεται σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό (5-30%) και καταλήγει σε επιφανειακά ή υπόγεια ύδατα ή το έδαφος (Swisher, 1987). Από την άλλη μεριά, τα LAS μπορούν να περάσουν στο έδαφος είτε προσροφημένα στην ιλύ των μονάδων βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων είτε, εφόσον χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές, για την παρασκευή λιπασμάτων και μικροβιοκτόνων (Pfhahler et al., 1981, Khanislamona, 1991). Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια, οι ανιονικές επιφανειοδραστικές ουσίες χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση βαρέων μετάλλων και πολυαρωματικών υδρογονανθράκων από μολυσμένα εδάφη (Scheinbenbogen et al., 1994). Λόγω της αποδόμησης και της ρόφησης των LAS στα συστατικά του εδάφους στις περισσότερες περιπτώσεις δεν παρατηρείται μεταφορά τους σε υπόγεια νερά

(Thurman et al., 1986, Federle et al., 1990). Οι Marcomini et al. (1989) παρατήρησαν ότι, μετά από μια αρχική περίοδο αποδόμησης των LAS, η συγκέντρωσή τους σταμάτησε να μειώνεται. Τα επίπεδα των LAS μειώθηκαν γρήγορα από 45 mg/kg εδάφους που ήταν αρχικά σε 5 mg/kg, ενώ από εκεί και μετά δεν παρατηρήθηκε περαιτέρω μεταβολή. Οι συγγραφείς θεώρησαν ότι αυτή η παρατήρηση οφείλεται στην ρόφηση των LAS στα σωματίδια του εδάφους ή/και την σύνδεσή τους με άργιλλους του εδάφους. Αυτό τα καθιστά μη διαθέσιμα στους μικροοργανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την βιοαποδόμηση τους.

Εκτός από την παρουσία των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων στο έδαφος μέσω της εναποθέσεως της βιολογικής ιλύος, οι ουσίες αυτές σε μικρότερες ποσότητες ανιχνεύονται και στο υδάτινο οικοσύστημα. Σε μετρήσεις από απορροές μονάδων επεξεργασίας αστικών λυμάτων σε διάφορες Ευρωπαϊκές χώρες (Γερμανία, Αγγλία, Ολλανδία, Ισπανία, Ιταλία) βρέθηκαν LAS σε συγκεντρώσεις από 0.01 έως 0.14 mg/l (Waters and Feijtel, 1995). Κατά συνέπεια οι ενώσεις αυτές ανιχνεύονται και σε ποτάμια, επιφανειακά και υπόγεια νερά (Abel., 1974, Scchoberl, 1989, Waters et al., 1989, Berna et al., 1991, Malcolm et al., 1995)

2.6.1.1 Χημικά χαρακτηριστικά των LAS

Τα επιφανειοδραστικά αποτελούνται από ένα τμήμα μιας υδρόφιλης ομάδας και μια ισχυρά υδρόφοβη κεφαλή στο ίδιο μόριο. Η υδρόφοβη ομάδα συνήθως περιέχει από 8 έως 20 άτομα άνθρακα, ενώ η υδρόφιλη αποτελείται από ένα ανιονική ομάδα (υδρόφιλη κεφαλή) που στην περίπτωση των LAS είναι μια ρίζα θειώδους νατρίου που συνδέεται με το υδρόφοβο τμήμα μέσω ενός βενζολικού δακτύλιου.



Σχήμα 15. Δομή των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS)

Τα LAS που είναι εμπορικά διαθέσιμα είναι ένα μίγμα ομολόγων που περιέχουν στο υδρόφοβο τμήμα τους συνολικά από 10 έως και 13 άτομα άνθρακα. Η δυνατότητα σχηματισμού μυκηλίων είναι αυτή που δίνει το σύνολο των επιθυμητών ιδιοτήτων που έχουν τα LAS.

2.6.1.2 Βιοδιάσπαση και απομάκρυνση των LAS

Η πιο κοινή μεταβολική πορεία διάσπασης των LAS περιλαμβάνει β-οξειδωση της αλκυλικής αλυσίδας, η ίδια πορεία για τον μεταβολισμό των λιπαρών οξέων σε όλους τους οργανισμούς (Scott et al., 2000). Η πορεία αυτή περιλαμβάνει την οξείδωση ενός τερματικού ατόμου άνθρακα (ω-οξείδωση) σε καρβοξύλιο, η οποία ακολουθείται από τη διαδοχική απομάκρυνση δυο ατόμων άνθρακα ως ακέτυλο συνένζυμο A (CoA). Η διαδικασία συνεχίζει μέχρι στην αλκυλική αλυσίδα να απομείνουν 4-5 άτομα άνθρακα (Fisher and Marsh, 1983). Μετά τη β-οξείδωση ακολουθεί διάνοιξη του βενζολικού δακτυλίου με εισαγωγή μοριακού οξυγόνου. Η αποθείωση που λαμβάνει χώρα έπειτα έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μια σουλφο-υποκατεστημένης αλκοόλης και στη συνέχεια αλδεΐδης (Shoberl 1989). Αυτά τα ενδιάμεσα προϊόντα διασπώνται γρήγορα και ποσοτικά σε CO₂, νερό και ανόργανα άλατα κάτω από αερόβιες συνθήκες. Έτσι η τοξικότητα ελαττώνεται πολύ σημαντικά, ακόμη και πριν χαθούν εντελώς η επιφανειοδραστικές ιδιότητες της ουσίας λόγω της διάσπασης των περισσότερο τοξικών συστατικών (De Henau et al., 1989, Kimerle 1977). Τα πιο γρήγορα βιοδιασπώμενα LAS είναι αυτά που η θέση υποκατάστασης της θειώδους ρίζας είναι πιο μακριά από το υδρόφοβο τμήμα, και αυτά που έχουν μεγαλύτερη αλυσίδα μέχρι 18 άτομα άνθρακα (περισσότερα άτομα από 18 μειώνουν της διαλυτότητα της ένωσης και τη βιοδιαθεσιμότητα της περιορίζοντας και τη βιοδιάσπαση. (Fisher and Marsh, 1983). Η διάσπαση / απομάκρυνση των LAS μέσω της συμβατικής μεθόδου ενεργής ιλύος είναι συνήθως πολύ υψηλή (97-99%). Αυτή η απομάκρυνση είναι αποτέλεσμα δύο παράλληλων διεργασιών: βιοδιάσπασης και προσρόφησης/καθίζησης (Berna et al., 1991). Η καθίζηση/ προσρόφηση μπορεί να απομακρύνει ποσοστό 10 έως 20% της συνολικής ποσότητας των LAS στις μονάδες επεξεργασίας στη δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης. Όταν η σκληρότητα του νερού είναι υψηλή, η καθίζηση αυξάνεται.

Διαφορές στις συγκεντρώσεις των LAS στις εκροές των μονάδων μπορούν να αποδοθούν σε διαφορές στις μεθόδους επεξεργασίας, στην σκληρότητα του νερού και στο χρόνο παραμονής στη δευτεροβάθμια δεξαμενή επεξεργασίας (Berna et al., 1989). Οι DeHanau et al., (1989) σε μια μελέτη μονάδας επεξεργασίας βιολογικού καθαρισμού, βρήκαν ότι η πρωτοβάθμια επεξεργασία (καθίζηση), απομάκρυνε το 32-33% των LAS. Μόνο το 11-17% των LAS καθίζανε και έτσι βρέθηκε ότι το 17-21 % βιοδιασπώταν. Στη συνέχεια από αυτό που εισαγόταν στη δευτεροβάθμια δεξαμενή αερισμού βιοδιασπάστηκε ποσοστό 97.2 με 97.8% δίνοντας ένα σχεδόν ολοκληρωτικό συνολικό ποσοστό απομάκρυνσης.

2.6.2 Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ)

Με τον όρο PAHs γενικά αναφερόμαστε στους υδρογονάνθρακες που περιέχουν 2 ή περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους σε γραμμική ή διακλαδισμένη θέση (Sims and Overcash, 1986). Διάφοροι ρύποι έχουν περιληφθεί στους καταλόγους ρύπων προτεραιότητας που συντάσσονται από τους οργανισμούς προστασίας του περιβάλλοντος των ΗΠΑ και της Ευρώπης με στόχο τη μείωση της απελευθέρωσης αυτών των ενώσεων στο περιβάλλον. Δέκα έξι Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες συμπεριλαμβάνονται σε αυτούς τους καταλόγους (Keith and Telliard, 1979; Bedding et al., 1983; Water Resources Act, 1991). Λόγω της καρκινογένεσης ή/και της μεταλλαξιογένειας ορισμένων μελών των ΠΑΥ (IARC, 1987-1991), η παρουσία τους στα επεξεργασμένα υγρά απόβλητα και στην ιλύ έχει υποβληθεί σε νομοθετικό έλεγχο (US EPA, 1993; European Union Draft Directive on sewage sludge, 2000; European Commission, 2001; Stevens et al., 2003; Busetti et al., 2006).

Οι ΠΑΥ είναι ευρέως διαδεδομένοι περιβαλλοντικοί ρύποι που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια ατελών καύσεων οργανικών ενώσεων, και ειδικά του κάρβουνου, του πετρελαίου, του φυσικού αερίου και του ξύλου. Μέσα στο αστικό περιβάλλον, οι ΠΑΥ εκπέμπονται από τα οχήματα, τους καυστήρες θέρμανσης, τις μονάδες ηλεκτροπαραγωγής, τους αποτεφρωτήρες και τη βιομηχανία, σαν ένα παράγωγο του χρησιμοποιούμενου καύσιμου, ή μιας διεργασίας επεξεργασίας πρώτων υλών (κυρίως πετρελαϊκών) (Wild and Jones, 1995). Οι ΠΑΥ μπορούν να εισέλθουν σε μια μονάδα

επεξεργασίας από μια πηγή εκπομπή τους (εκροή) μιας βιομηχανίας, ή από τα αστικά όμβρια και απορροές που καταλήγουν στο δίκτυο αποχετεύσεων, συμπεριλαμβανομένων και των διαρροών καυσίμων και της ατμοσφαιρικής εναπόθεσης (Manoli and Samara, 1999a; Stevens et al., 2003; Blanchard et al., 2004).

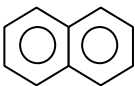
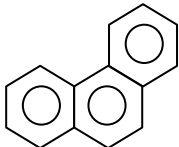
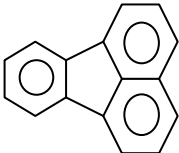
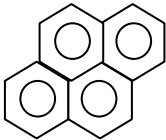
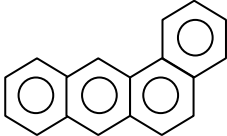
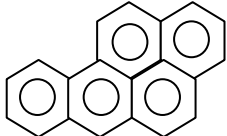
Έτσι η πηγή των κυρίων ΠΑΥ είναι μια κρίσιμη πληροφορία για την καλύτερη διαχείριση των δικτύων αποχετεύσεων και του τρόπου επεξεργασίας τους, αλλά και για την λήψη οδηγιών για τους χρήστες του αποχετευτικού δικτύου/ σταθμού βιολογικού καθαρισμού λυμάτων σχετικά με το τι μπορείτε να απορρίπτεται στην αποχέτευση.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι να προσδιορίσουν οι πηγές των ΠΑΥ. Η πιο κοινή μέθοδος πραγματοποιείται μέσω της ανάλυση της κατανομής των διαφορετικών ενώσεων ΠΑΥ και η χρήση διαφορετικών λόγων για να διαφοροποιηθούν οι πυρογενής πηγές από τις πετροχημικής προέλευσης. Αυτή η μέθοδος έχει κύρια εφαρμοστεί σε ποτάμια και θαλάσσια ιζήματα (Colombo et al., 1989; Budzinski et al., 1997; Yunker et al., 2002), ατμοσφαιρικά σωματίδια (Aboul-Kassim and Simoneit, 1995; Motelay-Massei et al., 2007), εδάφη (Wilcke, 2000; Bucheli et al., 2004; Pies et al., 2008), λύματα, ιλύς ή κόμποστ (Blanchard et al., 2001; Rocher et al., 2004a,b; Brandli et al., 2007; Dai et al., 2007). Πρόσφατα οι Zhang et al. (2005) και Katsoyiannis et al. (2007) εξέτασαν τη συνάφεια των λόγων των διαφορετικών ΠΑΥ ειδικά για την ενεργή ιλύ, υποστηρίζοντας ότι η διάλυση και η αποδόμηση των ταξινομημένων κατά ζεύγος χημικών ουσιών δεν είναι παρόμοια κατά τη διάρκεια της μεταφοράς από τις πηγές στους αποδέκτες. Κάποιοι άλλοι ερευνητές συγκρίνουν όχι τις κατανομές και συγκεντρώσεις των ΠΑΥ που θεωρούν κακούς δείκτες των πηγών προέλευσης αλλά άλλους υδρογονάνθρακες για να ταυτοποιήσουν την πετρελαϊκή ρύπανση όπως τα αλκάνια, αλλά και από ενώσεις βιογενής όπως τα χοπάνια και ολεάνια (βιοδείκτες) (Fernandes and Brooks, 2003; Yunker and Macdonald, 2003; Jardé et al., 2005; Jeanneau et al., 2008).

Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες είναι υδρόφοβές ενώσεις, και η ανθεκτικότητά τους στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως στη μικρή διαλυτότητα τους στο νερό, επομένως και τη μικρή βιοδιαθεσιμότητά τους. Γενικά η διαλυτότητα των PAHs μειώνεται και η υδροφοβικότητα αυξάνεται, καθώς αυξάνει ο αριθμός των βενζολικών δακτυλίων. Επιπροσθέτως η πτητικότητα των ενώσεων μειώνεται αυξανόμενου του

αριθμού των δακτυλίων (Wilson and Jones, 1993). Στον Πίνακα 3 παρουσιάζεται η δομή και κάποιες φυσικοχημικές ιδιότητες διαφόρων πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων.

Πίνακας 3. Δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες ορισμένων πολυαρωματικών υδρογονανθράκων.

ΡΑΗ	Δομή	Διαλυτότητα στο νερό (mg/l)	log K_p	Τάση ατμών (torr) 20 °C
Ναφθαλένιο		30	3.36	0.082
Φαινανθρένιο		1.29	4.46	6.8×10^{-4}
Φλουορανθένιο		0.26	5.33	6.0×10^{-6}
Πυρένιο		0.14	5.32	6.8×10^{-7}
Βενζο(α)ανθρακένιο		0.014	5.61	5.0×10^{-9}
Βενζο(α)πυρένιο		0.0038	6.04	5.0×10^{-7}

2.6.2.1 Παρουσία των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (ΠΑΥ) στα υγρά απόβλητα

Υψηλές συγκεντρώσεις σε ΠΑΥ μπορούν να καταγραφούν καθόλη τη διάρκεια του έτους στην ενεργή ιλύ που παράγουν οι συμβατικές μοναδες βιολογικού καθαρισμού μερικών πόλεων ή ακόμα και σε αγροτικές περιοχές (Cai et al., 2007). Η νομοθεσία στη Γαλλία επιτρέπει τη διάθεση ιλύων σε εδάφη για αγροτική χρήση όταν οι συγκεντρώσεις των φλουρανθενίου, βένζο[β]φλουρανθενίου και του βένζο[α]πυρενίου είναι χαμηλότερες από 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ ξηρού βάρους ($\xi\beta$), 2.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ $\xi\beta$ και 2 $\mu\text{g g}^{-1}$ $\xi\beta$ αντίστοιχα. Άλλοι τρόποι διάθεσης ή επεξεργασίας των ιλύων είναι ακριβές και το κόστος επεξεργασίας τους δεν μπορεί να καλυφτεί από μικρές κοινότητες. Σύγκριση δεδομένων από τη βιβλιογραφία σε δείγματα από αστική ενεργή ιλύ έδειξε υψηλότερες συγκεντρώσεις στην Αθήνα από αυτές που προσδιορίστηκαν στην Καταλονία (Ισπανία) και στο Πόρτο (Πορτογαλία) με το φλουρανθένιο να κυμαίνεται μεταξύ 0.055 έως 0.7 mg kg^{-1} [Pérez, et al., 2001]. Γενικά στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η συγκέντρωση των PAHs κυμαίνεται μεταξύ 0.1 και 100 mg kg^{-1} . Σε μια μελέτη σε 25 βιολογικούς καθαρισμούς λυμάτων στη Γερμανία, οι συγκεντρώσεις του άθροισματος των ΠΑΥ κυμάνθηκαν μεταξύ 2 και 80 mg kg^{-1} [Schnaak, et al., 1997], και σε μια επόμενη μελέτη σε 12 σταθμούς βιολογικής επεξεργασίας German STPs από το 1995 μέχρι το 1998, και το άθροισμά τους κυμάνθηκε μεταξύ 2-15 mg kg^{-1} [Pérez, et al., 2001]. Οι Pakou et al., (2007) εκτίμησαν το άθροισμα 3 ενώσεων ($\Sigma 3$: φλουρανθενίου, βένζο[β]φλουρανθενίου και του βένζο[α]πυρενίου) (Decision No. 2455/2001/CE, 2001, Official Journal L331) και τα αποτελέσματα ήταν συγκρίσιμα με τις συγκεντρώσεις που αναφέρονται παραπάνω. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν σε δευτεροβάθμια ιλύ προέρχονταν από την Αθήνα και οι χαμηλότερες στην Πάτρα κατά τη διάρκεια μιας δεύτερης δειγματοληψίας. Οι συγκεντρώσεις των ΠΑΥ ξεχωριστά είναι πολύ κάτω τα όρια της CEE, ίδια με τα όρια που ισχύουν στη Γαλλία (Directive 440, CEE 06/16/1975): 5 mg kg^{-1} για το φλουρανθένιο, 2.5 mg kg^{-1} για το βένζο(b)φλουρανθένιο και 2 mg kg^{-1} για το βένζο(a)πυρένιο [Blanchard et al., 2001], εκτός από την πόλη του Ηρακλείου (2.4 mg kg^{-1}) που ήταν κοντά στο όριο της CEE. Οι Manoli and Samara [1999b] έδειξαν ότι στα μη επεξεργασμένα λύματα εγκαταστάσεων επεξεργασίας από τη Θεσσαλονίκη, μόνο η εποχή άσκηση σημαντική

επίδραση στη διακύμανση των ΠΑΥ (υψηλότερες συγκεντρώσεις βρέθηκαν κατά τη διάρκεια του χειμώνα).

2.6.2.2 Διάσπαση/απομάκρυνση των πολυαρωματικών υδρογονανθράκων στα υγρά απόβλητα

Εξαιτίας της αυξημένης ανησυχίας για την παρουσία ρύπων στον αέρα, στο νερό και στο έδαφος, όπως οι ΠΑΥ, αυξημένη προσοχή έχει δοθεί στην τύχη των ρυπαντών που εισάγονται στο περιβάλλον των σταθμών επεξεργασίας. Εάν αυτές οι ενώσεις δεν ανοργανοποιηθούν κατά την επεξεργασία τους, είναι πιθανόν ένα μέρος τους να διαφύγει στο περιβάλλον, είτε μέσω της εκροής, ή της παραγόμενης λάσπης, ή να εξατμιστεί απευθείας στην ατμόσφαιρα. Η αποτελεσματική λειτουργία των μονάδων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην μείωση της εκπομπής οργανικών ρυπαντών στο περιβάλλον. Όμως σχεδόν όλα τα συστήματα έχουν σχεδιαστεί βάση πραγματικών δεδομένων επεξεργασίας που βασίζονται στις μετρήσεις παραμετρών όπως το βιοχημικά (ή χημικά) απαιτούμενο οξυγόνο, τα αιωρούμενα στερεά κλπ (Blackburn, 1987). Αυτοί οι παράμετροι είναι χρήσιμοι για τη βελτιστοποίηση της επεξεργασίας, όμως η σύγχρονη τάση είναι τα όρια των εκροών να μην περιορίζονται σε αυτούς τους συμβατικούς ρύπους (BOD, COD, SS κλπ) αλλά και σε συγκεκριμένους ξεχωριστούς τοξικούς ρύπους προτεραιότητας. Στην πραγματικότητα όρια έχουν ήδη καθιερωθεί για μερικούς από αυτούς τους ρύπους (Byrns, 2001; European Union Draft Directive on sewage sludge, 2000; European Commission, 2001). Η παρουσία και το γίνεσθαι τέτοιων ρύπων είναι το θέμα αρκετών επιστημονικών δημοσιεύσεων. (Petrasek et al., 1983; Rogers, 1996; Pham and Proulx, 1997; Alcock et al., 1999; Blanchard et al., 2004; Katsoyiannis and Samara, 2004). Υπάρχουν όμως αρκετές ασυνέπειες μεταξύ των αποτελεσμάτων. Η ενεργή ιλύ είναι το πιο κοινό, ευρέως διαδεδομένο σύστημα επεξεργασίας. Συνήθως ένας βιολογικός καθαρισμός επεξεργασίας υγρών αποβλήτων περιλαμβάνει μια πρωτοβάθμια δεξαμενή καθίζησης, μια δεξαμενή αερισμού και μια δεξαμενή δευτεροβάθμιας καθίζησης.

Εξαιτίας της λιπόφιλης και υδρόφοβικής τους φύσης, οι ΠΑΥ εισάγονται στα συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και προσροφώνται στη σωματιδιακή οργανική ουσία, και λόγω αυτής της συγγένειας στα σωματίδια μόρια, αφαιρούνται αποτελεσματικά κατά τη διάρκεια της αρχικής και δευτεροβάθμιας καθίζησης των υγρών απόβλητων στο ρεύμα της λάσπης (Beck et al., 1996; Busetti et al., 2006). Επιπλέον εξισώσεις ισοστάθμισης μάζας έχουν δείξει σημαντικές απώλειες (>40%) για τους χαμηλού μοριακού μεγέθους ΠΑΥ, συμπεραίνοντας έτσι ότι η σημαντικότερη αιτία απομάκρυνσης τους είναι ο αεροδιαχωρισμός (air stripping) και/ή η βιοαποδόμηση (Manoli and Samara, 1999b).

Μερικοί ερευνητές έχουν εξετάσει την τύχη των ρύπων μόνο κατά την δευτεροβάθμια βιολογική επεξεργασία (δεξαμενή αερισμού και δευτεροβάθμια καθίζηση) (Barton, 1987; Blackburn, 1987; Namkung and Rittmann, 1987), ενώ άλλοι (Cowan et al., 1993; Clark et al., 1995) συμπεριλαμβάνουν στην έρευνά τους την πρωτοβάθμια επεξεργασία, προκειμένου να εκτιμήσουν τη συνολική απομάκρυνση σε κάθε στάδιο, συγκεκριμένων ρύπων και τον μηχανισμό που αυτή λαμβάνει χώρα. Μαθηματικά μοντέλα προσομοίωσης έχουν προταθεί επίσης για να ποσοτικοποιήσουν την κατανομή και τη τύχη των ρύπων στις βιολογικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας. Αυτά τα μοντέλα εξετάζουν τις σημαντικότερες αβιοτικές και βιοτικές διαδικασίες που επηρεάζουν την ενδιάμεση κατανομή και την ενδεχόμενη τύχη των οργανικών ενώσεων (US EPA, 1990; Harrington et al., 1993; Byrns, 2001). Εντούτοις, περαιτέρω προσεκτική διαμόρφωση και πειραματική εργασία απαιτούνται στον καθορισμό των πλέον πιθανών μηχανισμών μοίρας στα συστήματα επεξεργασίας.

Η απομάκρυνση των ΠΑΥ κατά τη διάρκεια της διαδικασίας επεξεργασίας υγρών αποβλήτων εξετάστηκε από τους Manoli and Samara (2008) σε μια συμβατική μονάδα βιολογικού καθαρισμού με διεργασία ενεργού ιλύος. Οι απομακρύνσεις των ΠΑΥ κυμαίνονταν από 28 έως 67% στην πρωτοβάθμια επεξεργασία, από 1-61% στη δευτεροβάθμια επεξεργασία, και συνολικά 37-89% για όλη τη διεργασία. Σημαντικές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ των ποσοστών απομάκρυνσης και των παραμέτρων $\log K_{ow}$ των ΠΑΥ στην πρωτοβάθμια και του $\log K_H$ των ΠΑΥ στο δευτεροβάθμιο στάδιο της επεξεργασίας. Οι προβλεπόμενες από μοντέλο απομακρύνσεις και από τις μετρήσεις αποδόθηκαν κύρια στη ρόφηση με σημαντικές όμως συνεισφορές των

διεργασιών εξάτμισης και βιοαποδόμησης. Σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των πειραματικών και των αποτελεσμάτων προσομοίωσης παρατηρήθηκαν για τις απομακρύνσεις των ΠΑΥ($\pm 20\%$) παρατηρήθηκαν για όλους τους ΠΑΥ και για ολόκληρη τη διεργασία της επεξεργασίας.

Ο μηχανισμός της βιοαποδόμησης των ΠΑΥ, όταν αυτός λαμβάνει χώρα, ξεκινάει με την οξείδωση του βενζολικού δακτυλίου με την βοήθεια του ενζύμου διοξυγενάση. Έχει ταυτοποιηθεί μια πλειάδα από αερόβιους μικροοργανισμούς (βακτήρια και μύκητες) που είναι σε θέση να μεταβολίζουν ΠΑΥ. Για παράδειγμα κάποια βακτήρια του είδους *Pseudomonas* καθώς και ο μύκητας λευκής σήψης *Phanerochaete chrysosporium* έχουν βρεθεί να αποδομούν πλήρως το φαινανθρένιο, το φλουορανθρένιο, το ανθρακένιο, και το πυρένιο (Juhasz and Naidu, 2000).

2.7 Χημικοί και Μικροβιολογικοί Αναλυτικοί Μέθοδοι

Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες υγρών αποβλήτων με τη μέθοδο της απλής χειροκίνητης δειγματοληψίας από την είσοδο και την έξοδο κάθε συστήματος επεξεργασία. Η συχνότητα ήταν δυο δειγματοληψίες κάθε εβδομάδα καθ' όλη τη διάρκεια μιας περιόδου οκτώ μηνών, και έτσι συνολικά έλαβαν χώρα 51 διαφορετικές δειγματοληψίες. Τα δείγματα αναλύθηκαν για: Η απαίτηση χημικού οξυγόνου (COD), τα ολικά αιωρούμενα στερεά (TSS), το pH, η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC), το συνολικό άζωτο (TN), τα νιτρικά ιόντα ($\text{NO}_3 - \text{N}$), τα αμμωνιακά ($\text{NH}_4 - \text{N}$) και ο ολικός φώσφορος (TP), σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους APHA (1995) που περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

2.7.1 Μέτρηση ολικών αιωρούμενων στερεών TSS και ολικών πτητικών στερεών

Ο προσδιορισμός των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την αντίστοιχη μέθοδο, που περιγράφεται στο βιβλίο “Standard Methods for the examination of water and wastewater” σύμφωνα με τη μέθοδο 2540-D.E (A.P.H.A, 1995). Ολικά αιωρούμενα στερεά (ΟΑΣ) χαρακτηρίζονται τα μη διηθούμενα στερεά. Για τον προσδιορισμό τους, γνωστή ποσότητα καλώς αναμεμειγμένου δείγματος διηθείται σε προζυγισμένο ηθμό ινών ύαλου. Το υλικό που κατακρατείται στον ηθμό ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους σε φούρνο στους $103-105^\circ \text{C}$. Η αύξηση του βάρους του ηθμού αντιπροσωπεύει τα ολικά αιωρούμενα στερεά. Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά αποτελούν το κλάσμα των ολικών αιωρούμενων στερεών, το οποίο εξαερώνεται στους 550°C . Για τον προσδιορισμό τους, ο ηθμός στον οποίο έχουν κατακρατηθεί τα ολικά αιωρούμενα στερεά πυρακτώνεται, μέχρι σταθερού βάρους σε πυραντήριο στους 550°C . Η μείωση του βάρους του ηθμού αντιστοιχεί στα πτητικά αιωρούμενα στερεά.

2.7.2 Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (COD)

Το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (chemical oxygen demand, COD) είναι η ποσότητα του οξυγόνου που καταναλώνεται για τη χημική οξείδωση των οργανικών ουσιών

νερού ή υγρών αποβλήτων, δηλαδή τη πλήρη οξείδωση τους σε ανόργανα τελικά προϊόντα.

Το COD είναι μια σημαντική παράμετρος για την εκτίμηση του οργανικού ρυπαντικού φορτίου των υγρών αποβλήτων. Περιλαμβάνεται στις παραμέτρους για τις οποίες έχουν τεθεί ανώτατες επιτρεπτές τιμές προκειμένου τα υγρά απόβλητα να διατεθούν σε υδάτινους αποδέκτες.

Για τις μετρήσεις του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου χρησιμοποιήθηκε η φασματοφωτομετρική μέθοδος 5220D από το "Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater" (APHA et al., 1995). Κατά την μέθοδο αυτή πραγματοποιείται οξείδωση του δείγματος με ισχυρό οξειδωτικό μέσο ($K_2Cr_2O_7$) σε όξινο περιβάλλον (π. H_2SO_4) και υψηλή θερμοκρασία ($150^\circ C$) παρουσία καταλύτη (Ag_2SO_4). Μετά από χώνευση του δείγματος για δύο ώρες, γίνεται ο προσδιορισμός της περίσσειας των διχρωμικών ιόντων φασματοφωτομετρικά στα 600nm.

2.7.3 Προσδιορισμός ολικού αζώτου TN

Το δείγμα αναλύθηκε αμέσως μετά την δειγματοληψία. Η μέθοδος στηρίζεται στη μετατροπή των οργανικών και ανόργανων ενώσεων του αζώτου σε νιτρικά με κατάλληλη χώνευση του δείγματος και την οξείδωση της 2,6, διμέθυλο-φαινόλης. Στη συνέχεια ακολουθεί προσδιορισμός με φασματοφωτόμετρο στα 338 nm.

2.7.4 Αμμωνιακά ιόντα

Για τις μετρήσεις της αμμωνίας χρησιμοποιήθηκε η φασματοφωτομετρική μέθοδος της ινδοφαινόλης που παράγει ένα μπλε σύμπλοκο (χρωματομετρικός προσδιορισμός) σύμφωνα με τα "Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater" (APHA 1995). Κατά την μέθοδο αυτή σχηματίζεται μια κυανόχρωμη ένωση, η ινδοφαινόλη, από την αντίδραση της αμμωνίας, του υποχλωριώδους ιόντος και της φαινόλης που καταλύεται από άλας του μαγγανίου. Στη συνέχεια πραγματοποιείται φασματοφωτομετρική μέτρηση του προς ανάλυση δείγματος στα 630 nm.

2.7.5 Νιτρικά

Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών (NO₃-N) μετρήθηκαν με την αυτόματη μέθοδο αντίδρασης αναγωγής του Καδμίου (4500-NO₃F) (Standard Methods, 1995)

2.7.6 Ολικός φώσφορος (TP)

Ο ολικός φώσφορος (TP) με πέψη που ακολουθείται από τη μέθοδο ασκορβικού οξέος.

2.7.7 Βαρέα μέταλλα

Η συγκέντρωση βαρέων μετάλλων (Cu, Ni, Pb, Zn) καθορίστηκε χρησιμοποιώντας τη φασματομετρία ατομικής απορρόφησης φλόγας.

2.7.8 Μέτρηση pH

Το pH προσδιορίζεται με ηλεκτρόδιο υάλου pH-meter (Crison GLP21),

2.7.9 Ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC)

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) μετρήθηκε με αγωγιμόμετρο (Crison 525)

2.7.10 Καταμέτρηση παθογόνων

Τα κολοβακτηρίδια αναλύθηκαν με την τεχνική διήθησης μεμβρανών (APHA, 1995), χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα φίλτρα millipore μεγέθους πόρου 0,2mm. Τρεις όγκοι δειγμάτων 0,01, 0,1 και 1 mL χρησιμοποιήθηκαν για να αυξήσουν την πιθανότητα της λήψης του αριθμού των αποικιών εντός ενός αποδεκτού εύρους. Τα φιλτραρισμένα δείγματα επώαστηκαν M-FC άγαρ για 24h στους 44,5 ° C για να απαριθμήσουν τις αποικίες των θερμοανθεκτικών κολοβακτηρίδιων (FC) και

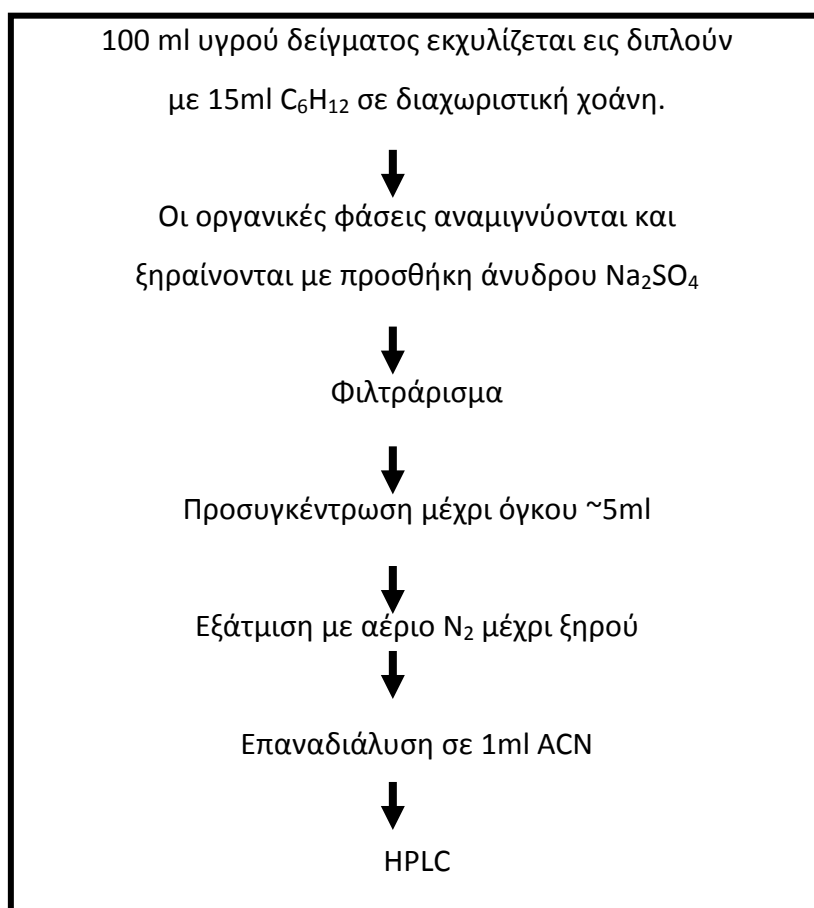
επώαστηκαν σε άγαρ K-FS για 48h στους 35 ° για την απαρίθμηση των κοπρανόδων εντεροβακτηριδίων(FS). Επίσης με την ίδια διαδικασία καταμετρήθηκαν και οι μεσόφιλοι μύκητες, όπου οι μεμβράνες τοποθετήθηκαν σε άγαρ Rose Bengal που επώαστηκε στους 25°C από 3 έως 5 μέρες.

2.7.11 Αναλύσεις ξενοβιοτικών ουσιών

2.7.11.1 Ανάλυση πολυαρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs)

Εκχύλιση

Η διαδικασία εκχύλισης των ουσιών από τα υγρά δείγματα παρουσιάζεται στο σχήμα 16 και βασίζεται στην εργασία των Manoli et al. 2000.



Σχήμα 16. Διαδικασία εκχύλισης για την ανάλυση των PAHs σε υδατικά δείγματα

Για την ανάλυση των δειγμάτων και την μέτρηση της ανάκτησης κατά την διαδικασία της εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε εσωτερικό πρότυπο δευτεριωμένου χρυσενίου (Chry d-12).

Χρωματογραφική Ανάλυση

Οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες αναλύονται στην HPLC (1200 series, Agilent, επεξεργασία κορυφών με το ενσωματωμένο λογισμικό Chemstation) με τη βοήθεια ανιχνευτή φθορισμού. Μετρήθηκε το άθροισμα 16 PAHs (priority pollutants PAHs, EPA). Naphthalene (Np), acenaphthylene (Acn), acenaphthene (Ace), fluorene (F), phenanthrene (Ph), anthracene (An), fluoranthene (Fl), pyrene (Py), benzo(a)anthracene (B(a)An), chrysene (Chry), benzo(b)fluoranthene (B(b)Fl), benzo(k)fluoranthene (B(k)Fl), benzo(a)pyrene (B(a)Py), dibenzo(a,h)anthracene (dB(a,h)An), benzo(ghi)perylene (B(ghi)Pe), indeno(1,2,3-cd)pyrene (I(1,2,3-cd)Py).

Στους τεσσερις πιλοτικούς υγροβιότοπους που επεξεργάζονταν τις υδάτινες απορροές των αυτοκινητοδρόμων τα αποτελέσματα των PAHs εκφράστηκαν και σαν το άθροισμα των 6 ενώσεων που αναφέρονται στην απόφαση No. 2455/2001/CE της 20^{ης} Νοεμβρίου του 2001 από το συμβούλιο της Ε.Ε. (Official Journal L331 dated 12/15/2001) (fluoranthene, flu; benzo(a)pyrene, bap; benzo(b)fluoranthene, bbf; benzo(k)fluoranthene, bkf; benzo(ghi)perylene, bgp; and indeno(1,2,3-cd)pyrene, ind) και σαν το άθροισμα των 16 ενώσεων που αναφέρεται προηγουμένως από την U.S. EPA.

Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η SUPELCOSIL LC-18 (150mm x 4.6 mm), 5μm. Η κινητή φάση ήταν ACN/H₂O και η έκλυση ήταν βαθμιδωτή (gradient) με το εξής πρόγραμμα :

Πίνακας 4. Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλυσης για την ανάλυση των PAHs

Χρόνος (min)	ACN	H ₂ O
0	60%	40%
6	60%	40%
20	100%	0%

* Μετά ακολουθεί post run για 5-8 min.

Το πρόγραμμα ρύθμισης του ανιχνευτή φθορισμού παρουσιάζεται στον πίνακα 5. Η ροή των διαλυτών έκλυσης ήταν σταθερά ρυθμισμένη στην τιμή 1.2 ml/min.

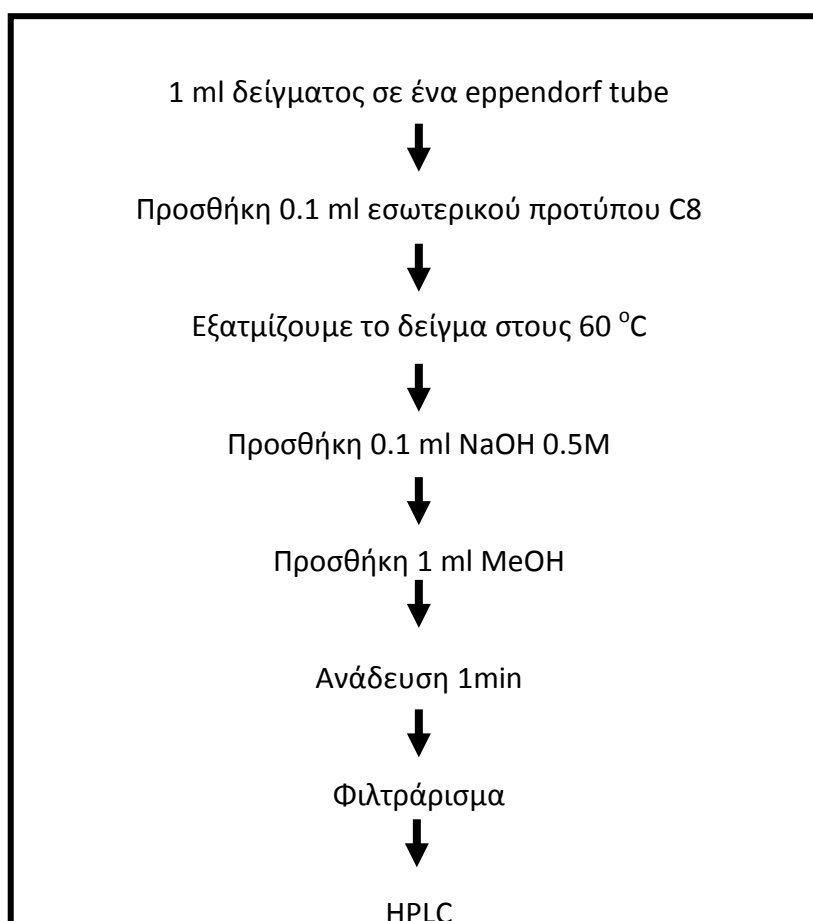
Πίνακας 5. Το πρόγραμμα ρύθμισης του ανιχνευτή φθορισμού κατά την ανάλυση των PAHs

Χρόνος (min)	Διέγερση (nm)	Εκπομπή (nm)
0	250	345
13.45	240	425
15.40	265	380
18.00	260	430
22.40	300	500

2.7.11.2 Ανάλυση γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS)

Εκχύλιση

Η εκχύλιση των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS) βασίζεται στην Danish EPA (Gavala, 2002) και τροποποιήθηκε όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 17.



Σχήμα 17. Διαδικασία εκχύλισης για την ανάλυση των LAS σε περιβαλλοντικά δείγματα

Χρωματογραφική ανάλυση των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων

Τα γραμμικά αλκυλοβενζοσουλφονικά άλατα αναλύονται στην HPLC (1200 series, Agilent), η επεξεργασία κορυφών έγινε με το ενσωματωμένο λογισμικό Chemstation που λήφθηκαν με τη βοήθεια ανιχνευτή φθορισμού. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Hypersil 130-5-BDS C8 250x4,6 mm. Η κινητή φάση αποτελείται από 40% ακετονιτρίλιο (A) και 60% μείγματος νερού/ακετονιτρίου: 75/25 και 11 g NaClO₄ (B). Η ανάλυση γίνεται ισοκρατικά με ροή 1 ml/min. Η ανίχνευση επιτυγχάνεται σε μήκη κύματος διέγερσης-εκπομπής, λ_{ex}: 222 nm και λ_{em}: 290 nm αντίστοιχα.

2.7.12 Στατιστικές μέθοδοι για τη σύγκριση των φυσικοχημικών αναλύσεων

Στην περίπτωση της σύγκρισης των φυσικοχημικών δεδομένων των 4 διαφορετικών υγροβιότοπων που επεξεργαζόταν τις υδάτινες απορροές των αυτοκινητοδρόμων, οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με τη βοήθεια του MicroCal Origin 7,0 (OriginLab). Τα στοιχεία αναλύθηκαν μέσω της μιας κατεύθυνσης ανάλυσης της διαφοράς (ANOVA) για να συγκρίνουν την απόδοση κάθε υγροβιότοπου σχετικά με την απομάκρυνση των COD, TSS, TN, N- NO₃⁻, TP, του Cu, του Ni, του Pb, του Zn και των PAHs. Για να εξεταστεί η στατιστική σημασία των διαφορών ($p < 0.05$) μεταξύ των μέσων τιμών των επεξεργασιών, εκτελέσθηκε η δοκιμή Tukey.

Στην περίπτωση των εναλλακτικών μονάδων επεξεργασία (FWS, HSF, PBF, RBC) που επεξεργάζονταν αστικά υγρά απόβλητα, η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με δυο προγράμματα λογισμικού το MicroCal Origin 7.0 (OriginLab) και Statgraphics Centurion XV (Statpoint, Inc., Βιρτζίνια, ΗΠΑ). Τα δεδομένα εξετάστηκαν για την ομοιογένεια των διαφορών χρησιμοποιώντας τη δοκιμή C του Cochran. Τα δεδομένα αναλύθηκαν επίσης χρησιμοποιώντας ανάλυση της διακύμανσης μιας και δυο κατευθύνσεων (one or two way ANOVA) για να συγκριθούν οι συγκεντρώσεις εισόδου - εξόδου μεταξύ των συστημάτων με τις ταχύτητες φόρτισης και την αφαίρεση του COD, TSS, TN, NO₃- N, NH₄- N και TP.

Στη συνέχεια, για την ποιότητα νερού εισόδου και εξόδου πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις posthoc των μέσων, χρησιμοποιώντας τη δοκιμή του Scheffes σε επίπεδο αξιοπιστίας 5%. Για να ανιχνεύσει τη στατιστική σημασία των διαφορών ($p < 0,05$) μεταξύ των μέσων όλων των επεξεργασιών, εκτελέστηκε η δοκιμή Tukey.

Για τη σύγκριση των 3 συστημάτων από τα προηγούμενα (FWS, HSF, GF) ως προς την απόδοση της απομάκρυνσης PAHs και LAS έγινε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων των ξενοβιοτικών με μιας κατεύθυνσης ανάλυση της διακύμανσης (one way ANOVA). Για να συγκριθεί η απόδοση των συστημάτων σχετικά με την απομάκρυνση του COD, TSS, TN, TP, PAHs και LAS πραγματοποιήθηκε η δοκιμή του Tukey για να ελεγχτεί εάν οι μέσοι όροι διαφέρουν σημαντικά.

2.7.13 Μοριακές μικροβιολογικές τεχνικές για τον χαρακτηρισμό μικροβιακών κοινοτήτων σε βιολογικά συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων

2.7.13.1 Σύγκριση μεταξύ των μεθόδων που στηρίζονται σε καλλιέργειες και επιλεγμένων τεχνικών ανάλυσης που δε στηρίζονται στις καλλιέργειες

Οι διεργασίες της ενεργού ιλύος και γενικότερα της βιολογικής επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, είναι πιθανότατα από τις σημαντικότερες βιοτεχνολογικές διεργασίες σήμερα. Τις τελευταίες δεκαετίες έχει επιτελεστεί μεγάλη πρόοδος στην μηχανική διεργασιών, αλλά η τρέχουσα γνώση μας σχετικά με τη δομή και την δυναμική μεταβολή των μικροβιακών πληθυσμών που τις επιτελούν είναι ακόμη αρκετά περιορισμένη. Αυτές οι μικροβιακές συναθροίσεις ομάδων είχαν αρχικά προσδιοριστεί με βασισμένες στην καλλιέργεια τεχνικές, όπως την καταμέτρηση με ορατή ανάπτυξη αποικιών σε τρυβλία, και την τεχνική του πιο πιθανού αριθμού (Dias and Bhat 1964, Prakasam and Dondero 1967, Benedict and Carlson 1971). Όμως η αναπόφευκτη εξειδίκευση των τεχνικών αυτών για συγκεκριμένα είδη μικροοργανισμών, έχει σαν αποτέλεσμα αυτές να μην παρουσιάζουν μια αντιπροσωπευτική εικόνα της εξεταζόμενης μικροβιακής κοινότητας, φαίνονται να μην είναι οι καταλληλότερες μέθοδοι (Wagner et al. 1993). Οι τυπικές καταμετρήσεις σε τρυβλία έτσι δεν αναπαριστούν μια συνολική εικόνα τη βακτηριακής κοινότητας της ενεργούς ιλύος,

παρά την εκλεκτικότητα των θρεπτικών υλικών για συγκεκριμένα βακτήρια. Για ολιγοτροφικούς έως και μεσοτροφικούς υδατικούς πληθυσμούς, απευθείας τεχνικές μικροσκοπίας χρησιμοποιώντας τεχνικές χρώσης DNA και μικροσκοπία φθορισμού (π.χ. DAPI) δίνουν μεγάλες διαφορές στην εκτίμηση του αριθμού των κυττάρων. Αυτό το φαινόμενο ονομάστηκε “the great plate count anomaly” και πρωτοδιατυπώθηκε έτσι από τους Staley and Konopka (1985), ώστε να δοθεί έμφαση στη μεγάλη διαφορά αυτή αφού οι τεχνικές μικροσκοπίας. μπορούν να δώσουν περισσότερο από 2 έως 4 τάξεις μεγέθους μεγαλύτερες τιμές πληθυσμών. Σε ευτροφικά ύδατα αυτή η διαφορά είναι αρκετά μικρότερη, αλλά οι ανακτήσεις των μικροοργανισμών εξακολουθούν να είναι πολύ μικρές ακόμη και με βελτιστοποιημένα μέσα, και κυμαίνονται από 0.85% (Pike and Curds, 1971) και 14% (Wagner et al. 1993). Στην ενεργή ιλύ ή σε συστήματα βιολογικές επεξεργασίας υγρών αποβλήτων αυτό μπορεί να συμβαίνει για δυο λόγους:

1. Η συσσωμάτωση των κυττάρων στην ενεργή ιλύ παρεμποδίζει την ποσοτική παραλαβή απομονωμένων βακτηριακών κυττάρων τα οποία θα έδιναν ορατή ανάπτυξη σχηματισμένων αποικιών
2. Οι συνθήκες καλλιέργειας δεν είναι οι κατάλληλες για όλα τα βακτήρια, αυτό είναι μια γενική αρχή που ισχύει τόσο για τους ήδη καλλιεργούμενα στελέχη, όσο και τα μη καλλιεργούμενα βακτήρια.

Ακόμη και μετά από δεκαετίες εκτεταμένων μικροβιακών μελετών είναι πιθανόν ότι τα είδη που περιγράφονται να αναπαριστούν μόνο ένα μικρό κομμάτι της πραγματικής μικροβιακής ποικιλότητας στο περιβάλλον.

Η απευθείας αναγνώριση και καταμέτρηση των βακτηρίων στην ενεργή ιλύ απαιτούν διαφορετικές τεχνικές ανάλυσης σε κυτταρικό επίπεδο. Μια πιθανότητα είναι η χρήση της πολύ ευαίσθητης και μεγάλης ειδικότητας τεχνικής ανοσοφθορισμού (Bohlool and Schmidt 1980), η οποία έχει επιτυχώς χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση βακτηρίων σε σύνθετα περιβάλλοντα. Για παράδειγμα αυτή η τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση των *Sphaerotilus natans*, (Howgrave - Graham and Steyn), *Acinetobacter* spp., (Chloete and Steyn 1988) *Nitrosomonas* spp. (Volsh et al 1990), *Legionella* spp. (Palmer et al. 1993) και *Nocardia amarae* (Hernandez et al 1993) στην ενεργή ιλύ. Όμως αυτή η τεχνική που χρησιμοποιεί αντισώματα φθορισμού μπορεί να ανασταλεί από εξωκυτταρικές πολυμερικές δομές οι οποίες έχει αναφερθεί

ότι αναστέλλουν την διείσδυση των αντισωμάτων (Szwedinski et al. 1985). Επιπρόσθετα η μη-ειδική πρόσδεση αντισωμάτων σε άλλα σωματίδια και σε σπόρια μυκήτων μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα υψηλά επίπεδα φθορισμού υποβάθρου. Ακόμη πιο δύσκολη κάνει την ακριβή εκτέλεση της τεχνικής το γεγονός ότι η παραγωγή των συγκεκριμένων αντισωμάτων απαιτεί την ύπαρξη της καθαρής καλλιέργειας του οργανισμού που μας ενδιαφέρει. Με δεδομένο ότι τα περισσότερα είδη που υπάρχουν στην βιολογική επεξεργασία εξακολουθούν να είναι μη καλλιεργούμενοι οργανισμοί, νέα εργαλεία εντελώς ανεξάρτητα καλλιέργειας, για τον προσδιορισμό των βακτηρίων *in situ* και *ex situ* είναι απαραίτητα.

2.7.13.2 EUB/DAPI

Η εφαρμογή της ανάλυσης με φθορίζοντες δείκτες με ολιγονουκλεοτιδική στόχευση μπορεί να ελεγχθεί αν είναι κατάλληλη με τον ιχνηθέτη για τα βακτήρια EUB. Διπλή χρώση δειγμάτων ενεργού ιλύος με τον δείκτη EUB και τη παρεμβάλουσα στο DNA χρωστική 4,6-διαμιδινο-2-φαινυλο-ινδόλη (DAPI) (Hicks et al., 1992), όλα τα δείγματα που είχαν κύτταρα που παρουσίασαν φθορισμό, τα ίδια κύτταρα ένα προς ένα είχαν καταμετρηθεί με τη χρωστική DAPI. Ο μεγάλος λόγος EUB/DAPI που λαμβάνεται συνήθως για δείγματα από ενεργή ιλύ, δείχνει ότι τα περισσότερα βακτήρια που ανιχνεύονται είναι μεταβολικά ενεργά.

2.7.13.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης, Polymerase Chain Reaction (PCR)

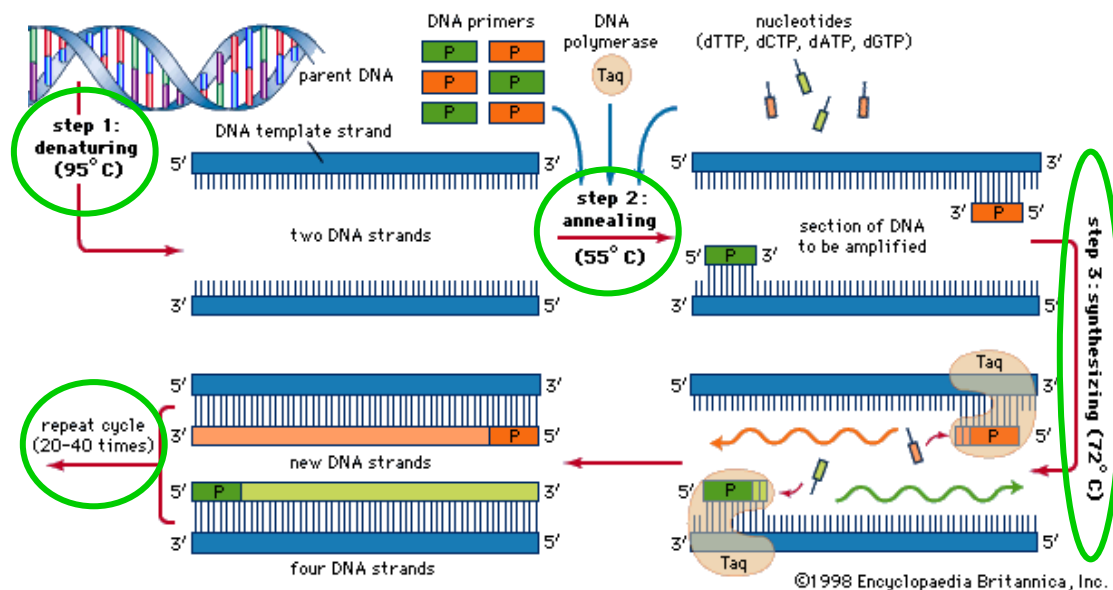
Πρόκειται για ενζυμική μέθοδο αντιγραφής του DNA *in vitro*. Ένας πλήρης κύκλος μιας PCR αντίδρασης περιλαμβάνει τρία στάδια (Σχήμα 18):

A) Οι συμπληρωματικές αλυσίδες ενός δίκλωνου DNA (dsDNA) διαχωρίζονται η μια από την άλλη (ssDNA) μετά από μια συγκεκριμένη θερμοκρασία (T_m) στους 95°C οπότε λαμβάνει χώρα η αποδιάταξη του DNA (denaturation).

Β) Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα προσαρμογή των εκκινητών (primers) στο DNA εκμαγείο (annealing) με ψύξη του δείγματος στους 50 – 60° C.

Γ) Μια θερμοάντοχη πολυμεράση, που συνήθως χρησιμοποιείται η Taq DNA polymerase), έχει βέλτιστη περιοχή λειτουργίας τους 72 – 75 °C μπορεί να πραγματοποιεί επιμήκυνση (extension) των εκκινητών προσθέτοντας νουκλεοτίδια μέχρι να συμπληρωθεί η μεταξύ των δυο εναρκτών περιοχή. Τέλος η σταδιακή πτώση της θερμοκρασίας κάτω του Tm, επιτρέπει την επανένωση των συμπληρωματικών αλυσίδων.

Μ' αυτή τη μέθοδο λίγα αρχικά μόρια DNA μπορεί τελικά να οδηγηθούν στο σχηματισμό τεράστιου αριθμού αντιγράφων. Ένας πλήρης τέτοιος κύκλος περιλαμβάνει επώαση των δειγμάτων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες και γίνεται στις μέρες μας αυτόματα από ειδικά μηχανήματα τους θερμοκυκλωποιητές (thermal cyclers).



Σχήμα 18. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Καθώς η διαδικασία επαναλαμβάνεται, οι νεοσύστατοι κλώνοι με τη σειρά τους χρησιμοποιούνται ως εκμαγεία για την in vitro σύνθεση του DNA. Μετά από μερικούς κύκλους το επικρατές προϊόν είναι ένα DNA θραύσμα που το μέγεθος του οποίου αντιστοιχεί στην μεταξύ των δύο αρχικών εκκινητήρων απόσταση. Στη πράξη 20 με 30

κύκλοι της αντίδρασης είναι αρκετοί για την αποτελεσματική ενίσχυση του DNA θραύσματος. Σε κάθε κύκλο που διαρκεί περίπου πέντε λεπτά η ποσότητα του DNA διπλασιάζεται. Η όλη διαδικασία κλωνοποίησης ενός DNA θραύσματος σε ένα in vitro σύστημα (χωρίς κύτταρα) διαρκεί μερικές ώρες, σε σχέση με τις μερικές μέρες που απαιτούνται για τις in vivo διαδικασίες κλωνοποίησης.

Στα πλεονεκτήματα της PCR προσμετράται η μεγάλη ευαισθησία, η μεγάλη ειδικότητα και η μεγάλη ταχύτητα. Η μεγάλη ειδικότητα απορρέει από το γεγονός ότι κάθε ξεχωριστό οργανισμός έχει ένα μοναδικό DNA. Έτσι λοιπόν μπορούμε να σχεδιάσουμε primers συμπληρωματικούς σ' αυτές τις ειδικές και μοναδικές αλληλουχίες DNA για το υπό αναζήτηση μικρόβιο ή ομάδα μικροβίων. Είναι δυνατόν να σχεδιαστούν primers με διαφορετικές ειδικότητες ή χημική συγγένεια στις αλληλουχίες πρόσδεσης του DNA εκμαγείου χρησιμοποιώντας υψηλότερες θερμοκρασίες annealing η /και μείγματα ζευγών εναρκτών για μικροοργανισμούς που έχουν συντηρημένες περιοχές, ενώ η ενδιάμεσος αλληλουχία είναι διαφορετική από είδος σε είδος. Με την βοήθεια της PCR μπορούμε να ταυτοποιήσουμε άγνωστα ή σπάνια βακτήρια σε διαφορετικά επίπεδα ενίσχυσης, από τάξεις σε είδη ή στελέχη, ή ακόμη και σε άγνωστα μη καλλιεργούμενα είδη.

2.7.13.4 Ποσοτική PCR Πραγματικού Χρόνου -Real-time PCR

Η Real-time PCR βασίζεται στις ίδιες αρχές λειτουργίας με τη συμβατική αντίδραση PCR, ωστόσο παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα, γεγονός που δικαιολογεί την συνεχώς αυξανόμενη χρήση της από τον καιρό που εφαρμόστηκε για πρώτη φορά, πριν από μία δεκαετία περίπου.

Σήμερα, όλα τα όργανα για Real-time PCR που είναι διαθέσιμα, βασίζονται στην ανίχνευση σήματος φθορισμού, όπου η αύξηση του φθορισμού είναι ευθέως ανάλογη με την αύξηση της συγκέντρωσης του ενισχυμένου προϊόντος, που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης.

Με τη Real-time PCR είναι δυνατός ο προσδιορισμός της ποσότητας των PCR προϊόντων κάθε χρονική στιγμή. Έτσι, κατά την εκθετική φάση πολλαπλασιασμού του DNA, προσδιορίζεται ο κύκλος κατά τον οποίο το σήμα του προϊόντος είναι σημαντικά

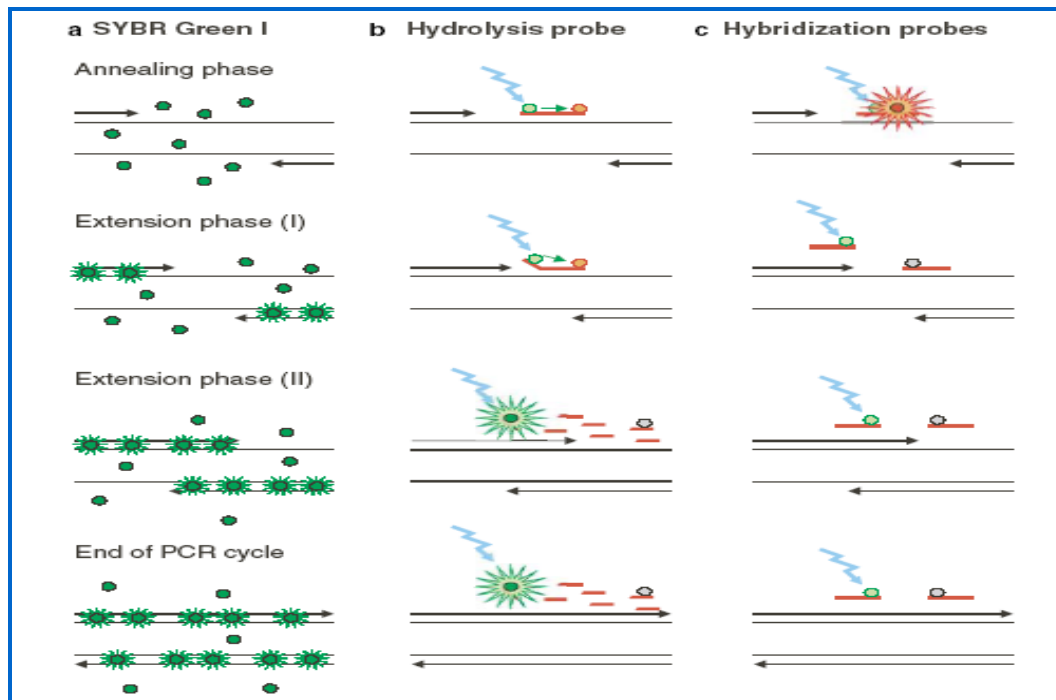
μεγαλύτερο από το σήμα υπόβαθρου. Πιο συγκεκριμένα, έχει οριστεί πως το σημείο εκείνο όπου η ένταση του φθορισμού ισοδυναμεί με το δεκαπλάσιο της τυπικής απόκλισης του στοιχειώδους ανιχνεύσιμου σήματος, αντιστοιχεί στον αριθμό των κύκλων που θα χρησιμοποιηθούν για την ποσοτική ανάλυση. Αυτός ο αριθμός των κύκλων ορίζεται ως κατώφλι (Threshold Cycle, C_T) και είναι αντιστρόφως ανάλογος του αρχικού ποσού του γενετικού υλικού. Η ποσοτικοποίηση του αρχικού γενετικού υλικού γίνεται είτε με τη χρήση πρότυπης καμπύλης, που συσχετίζει το C_T με γνωστές ποσότητες προτύπων DNA, είτε με τη χρήση ενδογενών μαρτύρων (γονίδια αναφοράς), ενώ χρησιμοποιούνται ειδικοί μαθηματικοί τύποι. Ο αριθμός των κύκλων πρέπει να αντιστοιχεί στην εκθετική φάση της αντίδρασης και συνδέεται με την ένταση του σήματος σύμφωνα με τη σχέση:

$$I = P \cdot X_0 (1 + E_x)^c,$$

όπου: I : η ένταση του σήματος, P : ο συντελεστής αναλογικότητας, X_0 : ο αρχικός αριθμός των μορίων του γενετικού υλικού – στόχου, E_x : η απόδοση της αντίδρασης, c : ο αριθμός των κύκλων. Σε κάθε προσδιορισμό με Real-time PCR περιλαμβάνονται θετικά και αρνητικά δείγματα ελέγχου, των οποίων η ποιότητα σχετίζεται άμεσα με την αξιοπιστία του προσδιορισμού.

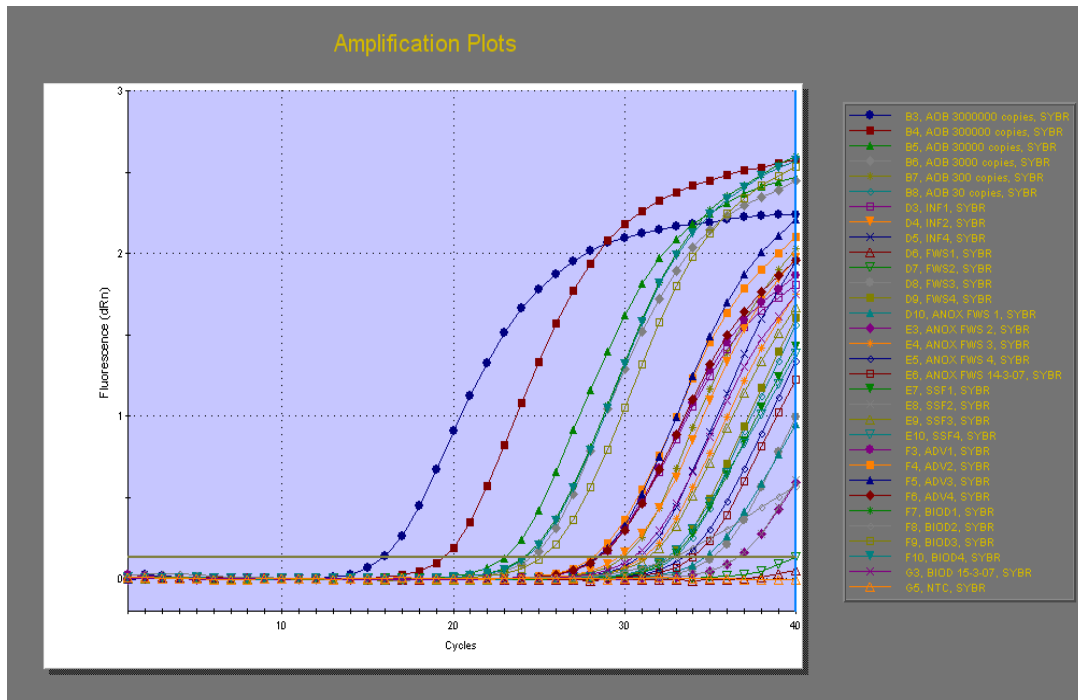
Μια χαρακτηριστική εικόνα των αποτελεσμάτων της ανάλυσης με πραγματικού χρόνου ποσοτική PCR παρουσιάζεται στα σχήματα 20 και 21. Σημειώνεται πως ανάλογα την αντίδραση η ευαισθησία της μεθόδου μπορεί να είναι πολύ υψηλή έως και 3-10 αντίγραφα ή και λιγότερα μπορούν να δώσουν σήμα οπότε η τεχνική έχει ένα δυναμικό εύρος μετρήσεων με γραμμική απόκριση του ανιχνευτή πολύ μεγάλο.

Γενικά υπάρχουν πλέον αρκετές μεθοδολογίες για την ανίχνευση των προϊόντων που προκύπτουν από τη Real-time PCR και βασίζονται όλες στη χρήση φθορίζοντων χρωστικών (hybridization probes, molecular beacons, taqman probes, scorpions probes). Σε κάθε περίπτωση, το αρχικά μικρό σήμα φθορισμού αυξάνεται αναλογικά με την εκθετική αύξηση των DNA μορίων που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια των διαδοχικών κύκλων της αντίδρασης. Μια περίληψη των τεχνολογιών ανίχνευσης που μπορούν να εφαρμοστούν παρουσιάζεται στο Σχήμα 19.

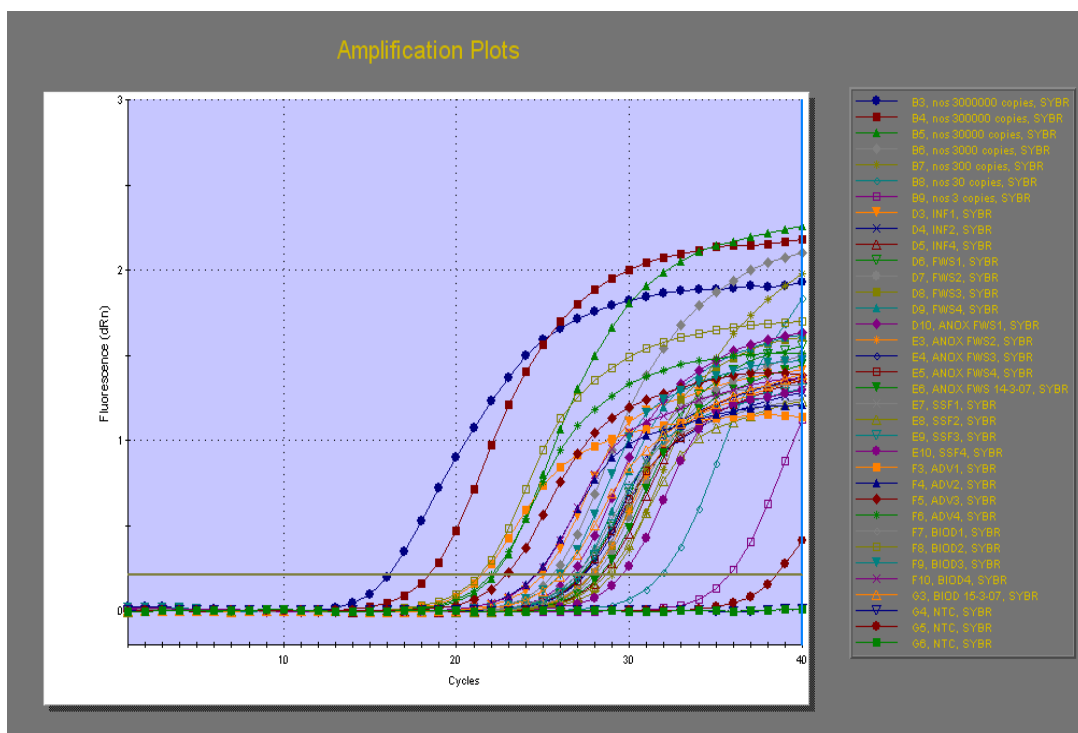


Σχήμα 19. Αρχή των μεθόδων ανίχνευσης στην qPCR (a) τεχνική SYBR Green I. Ο φθορισμός της χρωστικής SYBR Green I fluorescence αυξάνεται πάρα πολύ όταν προσδένεται στο δίκλωνο DNA. Κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης όλο και περισσότερη χρωστική θα προσδένεται στο προϊόν της αντίδρασης με αποτέλεσμα την αύξηση του φθορισμού. Συνεπώς με το τέλος κάθε κύκλου ολοένα και περισσότερος φθορισμός θα ανιχνεύεται. (b) Υδρολυόμενοι (δείκτες) probes. Ο δείκτης υδρόλυσης ενώνεται με ένα δέκτης που φέρει φθοροφόρα ομάδα, ο οποίος απορροφά φθορισμό από τον δότη όσο ο δείκτης είναι στην αρχική του ενωμένη μορφή. Όμως μόλις πραγματοποιηθεί η ενίσχυση της ακολουθίας στόχου ο δείκτης υδρόλυσης αποσυνδέεται και στη συνέχεια υδρολύεται από την πολυμεράση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το διαχωρισμό του μορίου δότη από το δέκτη και έτσι ο φθορισμός του δότη ανιχνεύεται. (c) Δείκτες υβριδοποίησης. Σε αυτήν την τεχνική ένας δείκτης σημαίνεται με ένα δότη φθοροφόρου στο 3' άκρο του και ένας δεύτερος δείκτης σημαίνεται με ένα δέκτη φθοροφόρο. Όταν οι δυο φθοροφόρες ομάδες πλησιάσουν 1-5 νουκλεοτίδια, το εκπεμπόμενο φως του δότη διεγείρει το αποδέκτη του φθοροφόρου. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα στην εκπομπή φθορισμού που ανιχνεύεται κατά τη διάρκεια της προσαρμογής (annealing) και το πρώτο μέρος της φάσης επιμήκυνσης της PCR. Μετά από διαδοχικού κύκλου αναμένεται το σήμα να αυξάνει εξαιτίας της προσαρμογής περισσότερων μορίων δεικτών.

Η απλούστερη μέθοδος ανίχνευσης περιλαμβάνει την ενσωμάτωση μιας ελεύθερης χρωστικής σε κάθε νεοσχηματιζόμενο DNA μόριο και η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη χρωστική για αυτό το σκοπό είναι η SYBR Green I. Το σήμα φθορισμού που προκύπτει από τη διέγερση της χρωστικής, όταν βρίσκεται ελεύθερη στο διάλυμα καθώς και συνδεδεμένη με μονόκλωνο DNA, είναι πολύ μικρό. Αντίθετα, καθώς αρχίζει να σχηματίζεται δίκλωνο DNA, η χρωστική SYBR Green I ενσωματώνεται στη μικρή αύλακα του DNA, με αποτέλεσμα το σχηματιζόμενο σύμπλοκο DNA- SYBR Green I να οδηγεί σε δραματική αύξηση του σήματος φθορισμού. Η ευρεία χρήση της SYBR Green I χρωστικής οφείλεται στο χαμηλό της κόστος, στην ευκολία εφαρμογής του συγκεκριμένου προσδιορισμού, καθώς απαιτείται μόνο ένα ζεύγος εκκινητών και τέλος στο γεγονός ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο ίδιος μηχανισμός ανίχνευσης σε οποιονδήποτε προσδιορισμό. Από την άλλη, το βασικό μειονέκτημα της συγκεκριμένης προσέγγισης είναι ότι κάθε δίκλωνο μόριο που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, όπως διμερή των εκκινητών ή μη επιθυμητά PCR προϊόντα, μπορούν να ενσωματώσουν τη SYBR Green I χρωστική, με αποτέλεσμα να παράγεται ανεπιθύμητο και παραπλανητικό σήμα φθορισμού.



Σχήμα 20. Εκθετική ενίσχυση του στόχου *amoA* (λειτουργικό γονίδιο των νιτροδωποιητικών βακτηρίων, (AOB)), με πραγματικού χρόνου ποσοτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης για κάποια από τα δείγματα αυτής της εργασίας



Σχήμα 21. Εκθετική ενίσχυση του στόχου *nosZ* (λειτουργικού γονιδίου των απονιτροποιητικών βακτηρίων), με πραγματικού χρόνου ποσοτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης για κάποια από τα δείγματα αυτής της εργασίας

2.7.13.4.1 Αναλυτικό Πρωτόκολλο ανάλυσης με ποσοτική πραγματικού χρόνου PCR

Εξαγωγή ολικού DNA

Πέντε ml υγρών αποβλήτων διηθήθηκε μέσω μεμβρανών πόρων 0.22 mm και επεξεργάστηκε ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή με χρήση του κιτ DNA ultra clean water kit (MO-BIO). Για τα ιζήματα 0,5 g δείγματος επεξεργάστηκε με το DNA ultra clean soil kit (MO-BIO) επίσης σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή για τη βελτιστοποίηση της ανάκτησης και της καθαρότητας των νουκλεϊκών οξέων που απομονώθηκαν.

Για τη πραγματικού χρόνου PCR χρησιμοποιήθηκε το κιτ Sybr Green mastermix (Stratagene). Οι εναρκτές που χρησιμοποιήθηκαν αγοράστηκαν από την εταιρία VBC Genomics GmbH και 200 ng του καθένα προστέθηκε σε κάθε ένα ειδικό οπτικά καθαρό PCR tube για συνολική αντίδραση όγκου 50μl.

Παρακάτω περιγράφονται οι εναρκτές που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε αντίδραση.

Γονίδιο στόχος nosZ (N₂O reductase)

nosZ-F 5' - CGY TGT TCM TCG ACA GCC AG - 3' Kloos et al (2001)

nosZ-R 5' - CGS ACC TTS TTG CCS TYG CG - 3' Throback et al (2004)

Γονίδιο στόχος 16S rRNA AOB

CTO 189f A/B 5' -GGA GRA AAG CAG GGG ATC G - 3'

CTO 189f C 5' - GGA GGA AAG TAG GGG ATC G -3'

CTO 654R 5' - CTA GCY TTG TAG TTT GAA ACG C -3'

Kowalchuk et al (1997)

16S rRNA (παγκόσμιοι εναρκτές για βακτήρια (universal bacteria primers)

unibact 515F 5' - GGC CAG CAG CCG CG - 3'

unibact 927R 5' - CCC GTC AAT T(CT)(AG) TTT GAG TT - 3'

Ο θερμοκυκλοποιητής που χρησιμοποιήθηκε ήταν ένα καινούργιο μοντέλο της εταιρίας Stratagene MX 3005P και οι συνθήκες για κάθε αντίδραση είχαν ως εξής:

Για το γονίδιο *amoA* των AOB: Αποδιάταξη στους 95°C 10min και ενίσχυση 44 κύκλων (95 °C 40s , προσαρμογή των εναρκτών στους 55 °C 45s, και επέκταση στους 72 °C για 45s) που στο τέλος ακολουθούνταν από επίσης από αποδιάταξη (95 °C 1min 55 °C 30s 95 °C 30s).

Για το λειτουργικό γονίδιο των απονιτροποιητών *nosZ* οι αντίστοιχες συνθήκες ήταν αποδιάταξη στους 95°C για 10min, ενίσχυση 40 κύκλων (95 °C για 1min, 60 °C για 1min, 72 °C για 1min) και αποδιάταξη όπως πριν 95 °C για 1min, 55 °C 30s, 95 °C 30s).

Επίσης έγινε ποσοτικοποίηση του συνολικού βακτηριακού φορτίου με βάση την ενίσχυση του γονιδίου 16S rRNA χρησιμοποιώντας παγκόσμιους εναρκτές. Οι συνθήκες σε αυτήν την αντίδραση ήταν 95°C για 10min, ακολουθούμενη από ενίσχυση 40 κύκλων (95 °C για 40s, 54 °C για 40s, 72 °C 45s) και αποδιάταξη (95 °C για 1min, 55 °C για 30s, 95 °C για 30s).

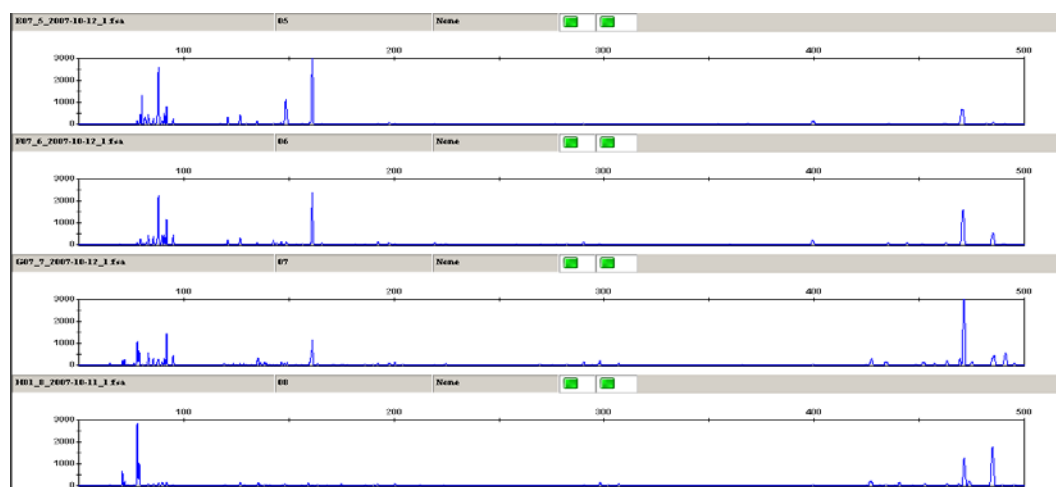
Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ως εκμαγείο DNA αραιώθηκαν σε τελική συγκέντρωση 1 ng/μl με τη βοήθεια του οργάνου nanodrop και 10 ng προστέθηκε σε κάθε αντίδραση. .

Για τα πρότυπα διαλύματα για τις καμπύλες ποσοτικοποίησης χρησιμοποιήθηκε PCR προϊόν από στέλεχος *Nitrosomonas europhaea* και ο καθαρισμός έγινε με χρήση του κιτ Promega wizard για την ανάκτηση του DNA (16S rRNA και *amoA* PCR και χρήση στις συνθήκες που αναφέρθηκαν προηγουμένως) και από γέλη αγαρόζης μετά από ηλεκτροφόρηση. Για το 16S rRNA PCR οι εναρκτές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν *unibact27F* και *unibact1492R* και για τα AOB 189fA 189fC και 654R)

Για το πρότυπο διάλυμα για την αντίδραση με στόχο το γονίδιο *nosZ*, παραχωρήθηκε από τον Δρ Χατζηνώτα (UFZ) ένα αντίστοιχο πλασμίδιο το οποίο κλωνοποιήθηκε με το pDrive φορέα κλωνοποίησης (3.85kb) και καθαρίστηκε με ένα ειδικό κιτ καθαρισμού πλασμιδίων (Macherey Nagel).

2.7.14 Ανάλυση πολυμορφισμού μήκους τελικών περιοριστικών θραυσμάτων (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP)

Η Ανάλυση πολυμορφισμού μήκους τελικών περιοριστικών θραυσμάτων (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP), είναι μια τεχνική της μοριακής βιολογίας για την αποτύπωση των μικροβιακών κοινοτήτων, βασισμένη στη θέση μιας περιοχής περιορισμού κοντά σε ένα σημασμένο τέλος ενός ενισχυμένου γονιδίου. Η μέθοδος βασίζεται στην πέψη ενός μίγματος διαφορετικών ενισχυμένων προϊόντων PCR, ενός ενιαίου γονιδίου που παρουσιάζει παραλλακτικότητα, χρησιμοποιώντας ένα ή περισσότερα ένζυμα περιορισμού και ανιχνεύοντας το μέγεθος σε κάθε ένα από τα μεμονωμένα προκύπτοντα τελικά τεμάχια, χρησιμοποιώντας ένα αυτόματο αναλυτή αλληλούχισης DNA. Το αποτέλεσμα είναι μια εικόνα γραφικών παραστάσεων όπου ο άξονας Χ αντιπροσωπεύει τα μεγέθη του τεμαχίου και ο άξονας Υ αντιπροσωπεύει την ένταση φθορισμού τους (Σχήμα 22).



Σχήμα 22. Χαρακτηριστικά ηλεκροφερογραφήματα αποτελέσματα της ανάλυσης με T-RFLP, σε ενισχυμένα PCR προϊόντα των γονιδίων AOB 16S rRNA. Αντιστοιχούν στα δείγματα (από πάνω προς τα κάτω): 1. Εκροή του υγροβιότοπου FWS, 2. Εκροή του συστήματος RBC, 3. Εκροή του συστήματος PBF στη χαμηλή οργανική φόρτιση, 4. Εκροή του συστήματος PBF στην υψηλή οργανική φόρτιση.

Μέθοδος

Όπως τις περισσότερες άλλες μεθόδους ανάλυσης μικροβιακών κοινοτήτων, η T-RFLP είναι ακόμη μια βασισμένη στην PCR μέθοδος, για την ενίσχυση ενός γονιδίου στόχου. Στην περίπτωση της T-RFLP, η ενίσχυση εκτελείται και με τους έναν ή και τους δύο εναρκτές που έχουν στο 5' άκρο τους σημασμένο με ένα φθορίζων μόριο. Σε περίπτωση που και οι δύο εναρκτές είναι σημασμένοι διαφορετικές χρωστικές ουσίες φθορισμού απαιτούνται. Ενώ διάφορες κοινές χρωστικές ουσίες φθορισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν με σκοπό την σήμανση όπως: 6-FAM, ROX, TAMARA, και HEX, η ευρύτατα χρησιμοποιημένη χρωστική ουσία είναι η 6-FAM. Το μίγμα των ενισχυμένων προϊόντων (amplicons) υποβάλλεται σε μια αντίδραση περιορισμού, χρησιμοποιώντας κανονικά ένα ένζυμο περιορισμού που κόβει σε τέσσερις θέσεις. Μετά από την αντίδραση περιορισμού, το μίγμα των θραυσμάτων διαχωρίζεται χρησιμοποιώντας ηλεκτροφόρηση, είτε σε μια τριχοειδή στήλη είτε σε μια πηκτή πολυακρυλαμιδίου μέσα σε αλληλουχητή DNA, και τα μεγέθη των διαφορετικών τελικών τεμαχίων καθορίζονται από έναν ανιχνευτή φθορισμού. Επειδή το μίγμα amplicons αναλύεται στον sequencer μετά την πέψη, μόνο τα τελικά θραύσματα (δηλ. τα σημασμένα άκρα των amplicons) διαβάζονται κατά την ανάλυση, ενώ όλα τα άλλα τεμάχια αγνοούνται. Κατά συνέπεια, τα δεδομένα που λαμβάνονται με την ανάλυση T-RFLP διαφέρουν από την ARDRA και RFLP, στο ότι στις τεχνικές αυτές όλα τα τεμάχια μετά την πέψη απεικονίζονται. Εκτός από αυτά τα βήματα το πρωτόκολλο T-RFLP περιλαμβάνει συχνά έναν καθαρισμό των PCR προϊόντων πριν από την πέψη και σε περίπτωση που χρησιμοποιείται τριχοειδής ηλεκτροφόρηση, εκτελείται επιπλέον ένα στάδιο απομάκρυνσης των αλάτων επίσης πριν από το τρέξιμο του δείγματος.

Μορφή δεδομένων και θόρυβος ή ψευδώς ανιχνεύσιμες κορυφές

Το αποτέλεσμα μιας ανάλυσης με T-RFLP είναι μια γραφική παράσταση που αποκαλείται ηλεκτροφερόγραμμα που είναι μια γραφική παράσταση της έντασης των ζωνών σε ένα πείραμα ηλεκτροφόρησης (σε γέλη ή τριχοειδής στήλη), (Σχήμα 22). Σε ένα ηλεκτροφερόγραμμα ο Χ-άξονας χαρακτηρίζει τα μεγέθη των τεμαχίων ενώ ο Υ-άξονας χαρακτηρίζει την ένταση φθορισμού κάθε τεμαχίου. Κατά συνέπεια, ότι εμφανίζεται σε μια κοινή ηλεκτροφόρηση π.χ. πηκτώματος αγαρόζης ως ζώνη

εμφανίζεται ως κορυφή στο ηλεκτροφερόγραμμα του οποίου το ολοκλήρωμα είναι ο συνολικός φθορισμός του. Σε ένα τέτοιο γράφημα – T-RFLP κάθε κορυφή θεωρούμε ότι αντιστοιχεί σε μια γενετική παραλλαγή του αρχικού δείγματος ενώ το ύψος ή η επιφάνεια θεωρούμε ότι αντιστοιχεί στη σχετική αφθονία του, στη συγκεκριμένη κοινότητα. Και οι δύο παραπάνω υποθέσεις, δεν ισχύουν πάντα. Συχνά διαφορετικά βακτήρια από έναν πληθυσμό μπορούν να δώσουν μια ενιαία κορυφή στο ηλεκτροφερόγραμμα λόγω της παρουσίας μιας περιοχής περιορισμού στην ίδια θέση, για το συγκεκριμένο ένζυμο που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα και για να αυξηθεί η διακριτική δύναμη αυτής της τεχνικής, ένα δείγμα μπορεί να πεφτεί παράλληλα από διάφορα ένζυμα (συχνά τρία) με συνέπεια τη λήψη τριών T-RFLP διαγραμμάτων ανά δείγμα κάθε ένα δίνει κάποιο σήμα για παραλλαγές που δεν έδειναν τα άλλα ένζυμα και παραλείπει κάποια άλλα. Μια άλλη τροποποίηση που χρησιμοποιείται μερικές φορές είναι να σημειωθεί με φθορισμό και ο αντίστροφος εναρκτής, με μια διαφορετική χρωστική, με συνέπεια τη λήψη δύο παράλληλων διαγράμματα ανά δείγμα κάθε ένα να περιέχει διαφορετικός αριθμό ειδών.

Ερμηνεία των στοιχείων

Τα δεδομένα που λαμβάνονται από το ηλεκτροφερογράφημα, ερμηνεύεται κανονικά με έναν από τους ακόλουθους τρόπους.

Σύγκριση σχεδίων

Στη σύγκριση σχεδίων, οι μορφές των ηλεκτροφερογραφημάτων των διαφορετικών δειγμάτων συγκρίνονται για αλλαγές, όπως η απουσία παρουσίας κορυφών μεταξύ των επεξεργασιών, του σχετικού μεγέθους τους κ.λπ.

Συμπληρωματικότητα των δεδομένων με μια βιβλιοθήκη κλώνων

Εάν μια βιβλιοθήκη κλώνων κατασκευαστεί παράλληλα με την ανάλυση T-RFLP οι κλώνοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αξιολογήσουν και να ερμηνεύσουν το γράφημα T-RFLP. Σε αυτήν την μέθοδο το TRF κάθε κλώνου καθορίζεται είτε άμεσα

(δηλ. είτε εκτελώντας την ανάλυση T-RFLP σε κάθε κοινό κλώνο) είτε με την ανάλυση *in silico* της ακολουθίας εκείνου του κλώνου. Με τη σύγκριση του σχεδιαγράμματος T-RFLP με μια βιβλιοθήκη κλώνων είναι δυνατό να επικυρωθεί κάθε μια από τις κορυφές, καθώς επίσης και να αξιολογηθεί η σχετική αφθονία κάθε γενετικού υποτύπου στη βιβλιοθήκη.

Πολυπαραγοντική ανάλυση

Μια πρόσφατα περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδος να αναλυθούν τα γραφήματα από T-RFLP είναι στατιστικές μέθοδοι πολλών μεταβλητών για να ερμηνευτούν τα δεδομένα. Συνήθως οι μέθοδοι που εφαρμόζονται είναι ίδιες με αυτές που χρησιμοποιούνται συνήθως στην οικολογία και ειδικά στη μελέτη της βιοποικιλότητας. Μεταξύ τους είναι η ανάλυση σε ομάδες (cluster analysis) είναι ευρύτατα χρησιμοποιημένη. Προκειμένου να εκτελεσθεί η πολλών μεταβλητών στατιστική ανάλυση από δεδομένα T-RFLP, αυτά πρέπει πρώτα να μετατραπούν σε πίνακα γνωστό ως "πίνακα δείγμα από ειδή" που απεικονίζει τα διαφορετικά δείγματα (διαγράμματα T-RFLP) συναρτήσει των ειδών (T-RFs) με το ύψος ή την επιφάνεια των κορυφών ως τιμές.

Ανάλυση με MDS (Multi Dimensional Scaling)

Αυτή η στατιστική μέθοδος επιτρέπει τα δείγματα της T-RFLP να τοποθετηθούν σε δυο διαστάσεων χάρτη, ανάλογα τις μεταξύ τους διαφορές/αποστάσεις, και ορίζοντας ένα νέο πίνακα σε κάθε δείγμα ο οποίος περιλαμβάνει καινούργια δεδομένα συσχέτισης για αυτό το δείγμα (π.χ. περιβαλλοντικές παράμετροι) μας επιτρέπει να εκτιμήσουμε κατά πόσο (με τη στατιστική βαρύτητα) τα δεδομένα συσχέτισης που ορίσαμε περιγράφουν με καλή αντιπροσωπευτικότητα την "χωροθέτηση" αυτή των δειγμάτων της T-RFLP.

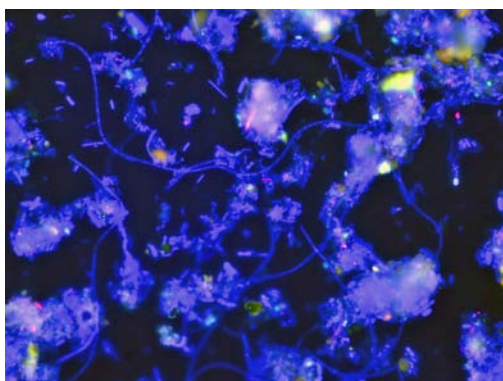
2.7.15 Υβριδοποίηση φθορισμού *in situ*, Fluorescence In Situ Hybridization, FISH

Η υβριδοποίηση φθορισμού *in situ*, (Fluorescence *in situ* hybridization, FISH) με rRNA-στοχεύοντες δείκτες είναι μια τεχνική χρώσης που επιτρέπει τη φυλογενετική ταξινόμηση βακτηρίων χωρίς να απαιτείται καλλιέργεια. Μέσω του επιφθορισμού και της συνεστιακής μικροσκοπίας σαρώσεως με laser, ή με κυτταρομετρία ροής (Giovannoni *et al.*, 1988; DeLong *et al.*, 1989; Amann *et al.*, 1990a; Amann *et al.*, 1990b; Amann *et al.*, 1996). FISH με χρήση δεικτών πολυνουκλεοτίδων DNA, και FISH με ολιγονουκλεοτιδικούς δείκτες στοχεύοντας σε mRNA έχει επίσης χρησιμοποιηθεί (Trebesius *et al.*, 1994; Wagner *et al.*, 1998; DeLong *et al.*, 1999). Η χρήση όμως που έγινε κυρίως σε αυτήν την μελέτη αφορούσε FISH με ολιγονουκλεοτιδικούς στόχους για την ανίχνευση βακτηρίων, δηλαδή την ανάλυση της δομής της βακτηριακής κοινότητας, και την παρακολούθηση της δυναμικής των πληθυσμών των μικροβιακών κοινωνιών αυτών στο φυσικό τους οικοσύστημα (Alfreider *et al.*, 1996; Llobet-Brossa *et al.*, 1998; Murray *et al.*, 1998; Glöckner *et al.*, 1999; Simon *et al.*, 1999). Χαρακτηριστικές εικόνες που λαμβάνονται από την ανάλυση FISH, παρουσιάζονται στις εικόνες

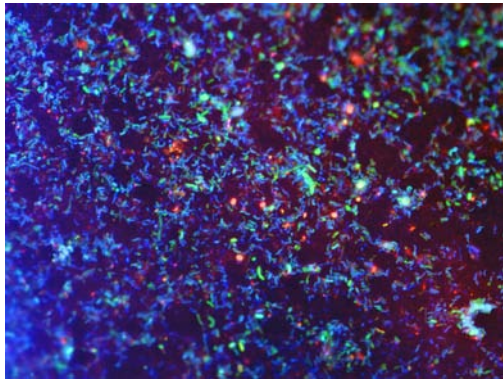
Θεωρητικά κάθε ριβόσωμα μέσα σε ένα βακτηριακό κύτταρο, περιέχει ένα αντίγραφο από 5S, 16S και 23S rRNA, του οποίου γίνεται χρώση με ένα μόριο δείκτη (probe) κατά τη διάρκεια της διαδικασίας υβριδοποίησης, η ύπαρξη πολυάριθμων ριβοσωμάτων ανά κύτταρο παρέχουν ένα φυσικό σύστημα ενίσχυσης. Η μέθοδος βασίζεται κυρίως στις ταχέως αυξανόμενες βακτηριακές αλληλουχίες των μικρών υπομονάδων (16S rRNA) rRNA, οι οποίες έχουν αναλυθεί τις δυο τελευταίες δεκαετίες στην μελέτη της μικροβιακής φυλογένεσης (Woese *et al.*, 1990; Ludwig and Schleifer, 1994). Σε ένα μικρότερο βαθμό έχουν αναπτυχθεί probes που στοχεύουν στην μεγάλη υπομονάδα του rRNA (23S rRNA) (Stoffels *et al.*, 1998), αν και ακόμη δεν έχει γίνει ευρεία χρήση αυτής της μεθόδου εξαιτίας λίγων κατατεθειμένων αλληλουχιών 23S rDNA σε βάσεις δεδομένων.

Αρκετές σημαντικές βελτιώσεις στο διατιθέμενα πρωτόκολλα ποσοτικοποίησης έχουν γίνει (Glöckner *et al.*, 1996), μεγαλύτερης ένταση φθοροχρωμοφόρα (Alfreider *et al.*, 1996; Glöckner *et al.*, 1996), εμπορικής διαθεσιμότητας δείκτες (probes) για ιχνηθέτηση, προχωρημένου τύπου λογισμικό για σχεδίαση probes (Strunk *et al.*, 1999) καλύτερη οργανολογία και πιο ευαίσθητα μικροσκόπια φθορισμού και πολοτικά φίλτρα έχουν κάνει αυτή τη μέθοδο πιο ελκυστική ακόμη και σε άπειρους χρήστες, της επιστήμης της μικροβιακής οικολογίας.

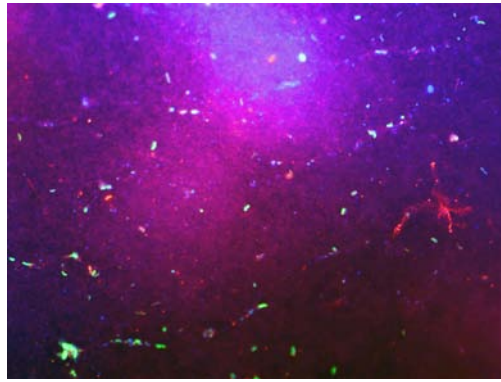
Η εκλεκτικότητα της πρόσδεσης του probe στη περιοχή στόχευσης εξαρτάται από τον υβριδισμό και τις συνθήκες καθαρισμού. Οι δείκτες υβριδοποίησης (hybridization probes) προστίθενται σε ένα καθορισμένο ρυθμιστικό διάλυμα σε συγκεντώσεις κορεσμού (5 ng ml^{-1}) για τη βελτιστοποίηση της πρόσδεσης των probes. Κατά τη διάρκεια της υβριδοποίησης τα δείγματα επωάζονται σε ανυψωμένη θερμοκρασία σε ένα αεροστεγές δοχείο που διαποτίζεται με ατμούς νερού και φορμαμίδιου και πρόσθετης ποσότητας ρυθμιστικού για να αποφευχθεί η αύξηση της συγκέντρωσης λόγω της εξάτμισης. Το βήμα καθαρισμού εκτελείται σε μια ελαφρώς υψηλότερη θερμοκρασία και χρησιμεύει κυρίως στο να απομακρυνθεί η περίσσεια μορίων δεικτών σε συνθήκες που αποτρέπουν τη μη-ειδική πρόσδεση.



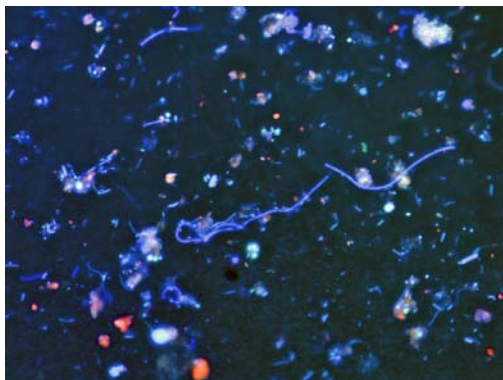
Εικόνα 11. Είσοδος των συστημάτων



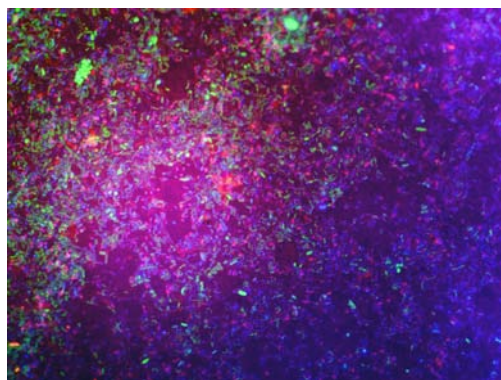
Εικόνα 12. Λάσπη από το σύστημα RBC



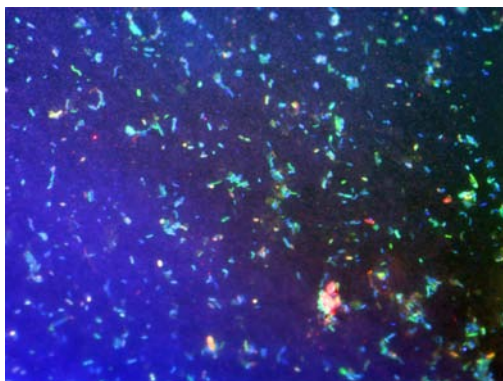
Εικόνα 13. Εκροή από το σύστημα RBC



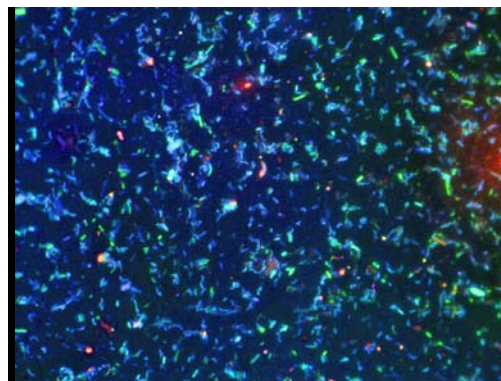
Εικόνα 14. Biofilms από το σύστημα PBF.



Εικόνα 15. Εκροή του συστήματος PBF



Εικόνα 16. Εκροή του συστήματος FWS



Εικόνα 17. Εκροή του συστήματος SSF

Εικόνες 11-17. Εικόνες που λήφθηκαν με την ανάλυση με *FISH*. Το μπλε χρώμα αντιστοιχεί σε χρώση DAPI, το πράσινο σε χρώση EUB και το κόκκινο αντιστοιχεί σε *Nitrosomonas marina*-like ammonia-oxidizing bacteria

Πρωτόκολλο για την ανάλυση με FISH

Τα δείγματα υγρών αποβλήτων μαζί με ιζήματα, για την ολόκληρου κυτάρου υβριδοποίηση λήφθηκαν από τον Ιούλιο του 2007 μέχρι τον Σεπτέμβριο του 2007 και

επεξεργάστηκαν όπως περιγράφεται από τους Kleinstauber et al (2008). Τα δείγματα αδρανοποιήθηκαν (fixed) για 24h στους 4°C, με 4% (w/v) παραφορμαλδεΐδη σε phosphate-buffered saline (PBS) (130mM NaCl, 10mM sodium phosphate buffer, pH 7.6), και ξεπλύθηκαν με PBS απεσταγμένο/απιονισμένο nanopure νερό και φυλάχθηκαν στους -20°C σε διάλυμα 1:1 PBS/απόλυτης αιθανόλης. Τα υγρά δείγματα αραιώθηκαν επιπλέον με 1 x PBS και στη συνέχεια διηθήθηκαν με πολυκαρβοξυλικά φίλτρα με διάμετρο πόρου 0.2 mm (Millipore, Schwalbach, Germany), με υποστήριξη φίλτρων νιτρικής κυτταρίνης με διάμετρο πόρου 0.45 mm (Sartorius, Göttingen, Germany). Μετά τη διήθηση τα φίλτρα ξεπλύθηκαν με 20mL TE και χρησιμοποιήθηκαν για τον υβριδισμό. Τα ιζήματα αραιώθηκαν με 1 x PBS και έγινε σε αυτά εφαρμογή υπερήχων με κατάλληλη συσκευή (B.Braun Labsonic U) σε πάγο. Οι συνθήκες που έγινε η διαδικασία της εφαρμογής των υπερήχων περιλάμβανε διακοπώμενους κύκλους λειτουργίας (duty cycle of 0.2) με 10 παλμούς σε χαμηλή συχνότητα. Μετά από την ολοκλήρωση της καθίζησης, το υπερκείμενο διάλυμα διηθήθηκε όπως πριν και τα φίλτρα χρησιμοποιήθηκαν για υβριδισμό.

Υβριδοποίηση ολόκληρων των κυττάρων

Τα σημασμένα ολιγονουκλεοτίδια Cy3- and Alexa430- προμηθεύτηκαν από την Microsynth (Switzerland). Ο δείκτης EUB338 χρησιμοποιήθηκε για την καταμέτρηση όλων των βακτηριακών κυττάρων (Amann et al., 1990), ενώ οι δείκτες Nso190 και Nso1225 χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτικοποίηση των AOB (Mobarry et al., 1996). Ο υβριδισμός και ο καθαρισμός, και η επαναχρώση με DAPI (1 µg/ml) για τον προσδιορισμό των συνολικών κυττάρων και την μικροσκοπική εξέταση έγινε σύμφωνα με τους Glöckner et al. (1996). Ο υβριδισμός έγινε στους 45°C με συγκέντρωση φορمامιδίου 35% για τα EUB338 και Nso1225, και 55% για τη χρήση με το δείκτη Nso190.

3. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΠΙΛΟΤΙΚΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ

3.1 Περιοχή και περιγραφή των υγροβιότοπων στην περιοχή χερσονήσου για την επεξεργασία των υδάτινων απορροών των αυτοκινητοδρόμων

Η νέα εθνική οδός που συνδέει την πόλη Ηρακλείου με αυτή του Αγ. Νικολάου αποτελεί σημαντικό μέρος του βόρειου οδικού άξονα. Είναι ένας σχετικά καλοφτιαγμένος δρόμος με τουλάχιστον μια λωρίδα κυκλοφορίας και άλλη μια έκτακτης ανάγκης σε κάθε κατεύθυνση. Όσον αφορά τον έλεγχο των απορροών και τη διαχείρισή τους, το μεγαλύτερο μέρος του δρόμου εξυπηρετείται από τάφρους συλλογής, που συλλέγουν την απορροή και την κατευθύνουν στα κοντινότερα φυσικά υδατορέματα. Περίπου 24 Km έξω από Ηράκλειο, στα περίχωρα της πόλης Χερσονήσου (το μεγαλύτερο θέρετρο τουριστών στο νησί), ενός τμήματος της εθνικής οδού μήκους 197m και πλάτους 14m (συνολικής επιφάνειας 2.750 m²) χρησιμοποιήθηκαν για τη συλλογή HRO.

Δίπλα στο δρόμο και κατάντι από ένα φρεάτιο συλλογής, που λαμβάνει την απορροή, ένας τριγωνικός τομέας 2.000 m² του οποίου περίπου τα 1.200 m² ήταν επίπεδα και τα υπόλοιπα ήταν σε πλαγιά με κλίση, παραχωρήθηκαν από το δήμο Χερσονήσου για την κατασκευή των υγροβιότοπων. Οι τέσσερις υγροβιότοποι κατασκευάστηκαν στην επίπεδη περιοχή. Ένας σωλήνας 320mm. χρησιμοποιήθηκε για τη μεταφορά των HRO από την έξοδο της οδού σε μια δεξαμενή αποθήκευσης (ST), ή δεξαμενή εξισορόπησης, που χρησιμοποιήθηκε για να ελέγξει την ταχύτητα ροής HRO προς τους υγροβιότοπους. Σύμφωνα με το πειραματικό σχεδιασμό, τα χαρακτηριστικά των δύο FWS και τα δύο SSF ήταν τα ακόλουθα: Δυο υγροβιότοποι FWS και SSF σχεδιάστηκαν με ένα εκτιμώμενο HRT 12 h, και ονομάστηκαν FWS12 και SSF12 αντίστοιχα, και δυο υγροβιότοποι αντίστοιχων τύπων, με διπλάσιο HRT, που ονομάστηκαν αντίστοιχα FWS24 και SSF24.

3.1.1 Υπολογισμός θεωρητικού υδραυλικού χρόνου παραμονής HRT και σχεδιαστικών λειτουργικών παραμέτρων

Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν δεδομένες μέσες τιμές για BOD ή TSS για HRO, ειδικά για την περιοχή της Μεσογείου, διάφορες εκτιμήσεις και υπολογισμοί απαιτούνται για το σχεδιασμό των δύο συστημάτων, η κατασκευή τους βασίστηκε σε μια γενική εξίσωση προκειμένου να υπολογιστεί το θεωρητικό HRT (EPA, 2002):

$$t = \frac{L W d n}{Q} \quad (1)$$

Όπου, t είναι ο θεωρητικός χρόνος HRT, L το μήκος των κλινών (m), W το πλάτος των κλινών (m), d το βάθος του νερού για τον υδροβιότοπο FWS και το βάθος της κλίνης για το SSF (m), ο συντελεστής n εκφράζει το πορώδες της κλίνης ως ένα είδος φίλτρου διαμέσου της βλάστησης του FWS και το πορώδες του μέσου των χαλικιών για το SSF (ως κλάσμα), και Q η ταχύτητα ροής ($\text{m}^3 \text{d}^{-1}$).

Με βάση το διαθέσιμο προϋπολογισμό και το μέγεθος της επιφάνειας που παρεχόταν, αποφασίστηκε να σχεδιαστούν και να κατασκευαστούν τέσσερις υδροβιότοποι και μια δεξαμενή αποθήκευσης με διαστάσεις που παρέχουν την επεξεργασία μόνο σε ένα μέρος της ροής HRO, μιας ποσότητας 38 m^3 . Έτσι οι υδροβιότοποι FWS12 και SSF12 σχεδιάστηκαν να λαμβάνει ογκομετρικές ταχύτητες φόρτισης μέχρι $12,6 \text{ m}^3 \text{d}^{-1}$ HRO από τη δεξαμενή (ST), χρησιμοποιώντας μια ηλεκτρονικά ελεγχόμενη βαλβίδα. Επίσης οι υδροβιότοποι FWS24 και SSF24 σχεδιάστηκαν ώστε να λαμβάνουν μέχρι $6,3 \text{ m}^3 \text{d}^{-1}$ HRO από το ST. Η συνολική ικανότητα επεξεργασίας των τεσσάρων συστημάτων ήταν περίπου $38 \text{ m}^3 \text{d}^{-1}$. Η δεξαμενή ST, που κατασκευάστηκε ως μέσος όρος ελέγχου του ποσοστού ροής στους υδροβιότοπους, είχε διαστάσεις 5,4m μήκος, 4,4m πλάτος και μιας υπερχειλίσης σε ύψος 1,65m από τον πυθμένα, και έναν διαθέσιμο όγκο περίπου 39 m^3 . Συνολικά 40 *Arundo donax* και *Phragmites australis* φυτεύτηκαν σε κάθε υδροβιότοπο, σε ίσους αριθμούς. Οι υδροβιότοποι ποτίστηκαν με τριτοβάθμια επεξεργασμένα υγρά απόβλητα από κοντινό δίκτυο διανομής και επαναχρησιμοποίησης υγρών απόβλητων μεταξύ του Μαΐου του 2005 και του

Αυγούστου του 2005, κάτι που επέτρεψε την πλήρη ανάπτυξη των φυτών και την ωρίμανση των υγροβιότοπων. Στα τέλη Αυγούστου, τα τριτοβάθμια επεξεργασμένα υγρά απόβλητα απομακρύνθηκαν από τους υγροβιότοπους και περίπου 2 m^3 πόσιμων υδάτων χρησιμοποιήθηκαν για ένα αρχικό ξέπλυμα των ρύπων από τον κάθε έναν.

Η διαμόρφωση για κάθε έναν από τους δύο ίδιους υγροβιότοπους FWS, ήταν η ακόλουθη: μήκος προς πλάτους (βασισμένη στις προτάσεις της βιβλιογραφίας): 3,5:1 μήκος: 11 m πλάτος: 3 m επιφάνεια (L X W): $11 \times 3 = 33 \text{ m}^2$, μέγιστο βάθος του υποστρώματος του εδάφους: 0,40 m, μέσο βάθος νερού (μπορούσε να διαφοροποιηθεί μέσω του σωλήνα εκροής): 0,25 m για την περίοδο του 2005/2006 και 0,30 m για την περίοδο του 2006/2007, το πορώδες της περιοχής που διέρχονται διαμέσου της βλάστησης το νερό: 0.75, κατά προσέγγιση, συνολικός διαθέσιμος όγκος επεξεργασίας: $6,3 \text{ m}^3$ (Σχήμα 23).

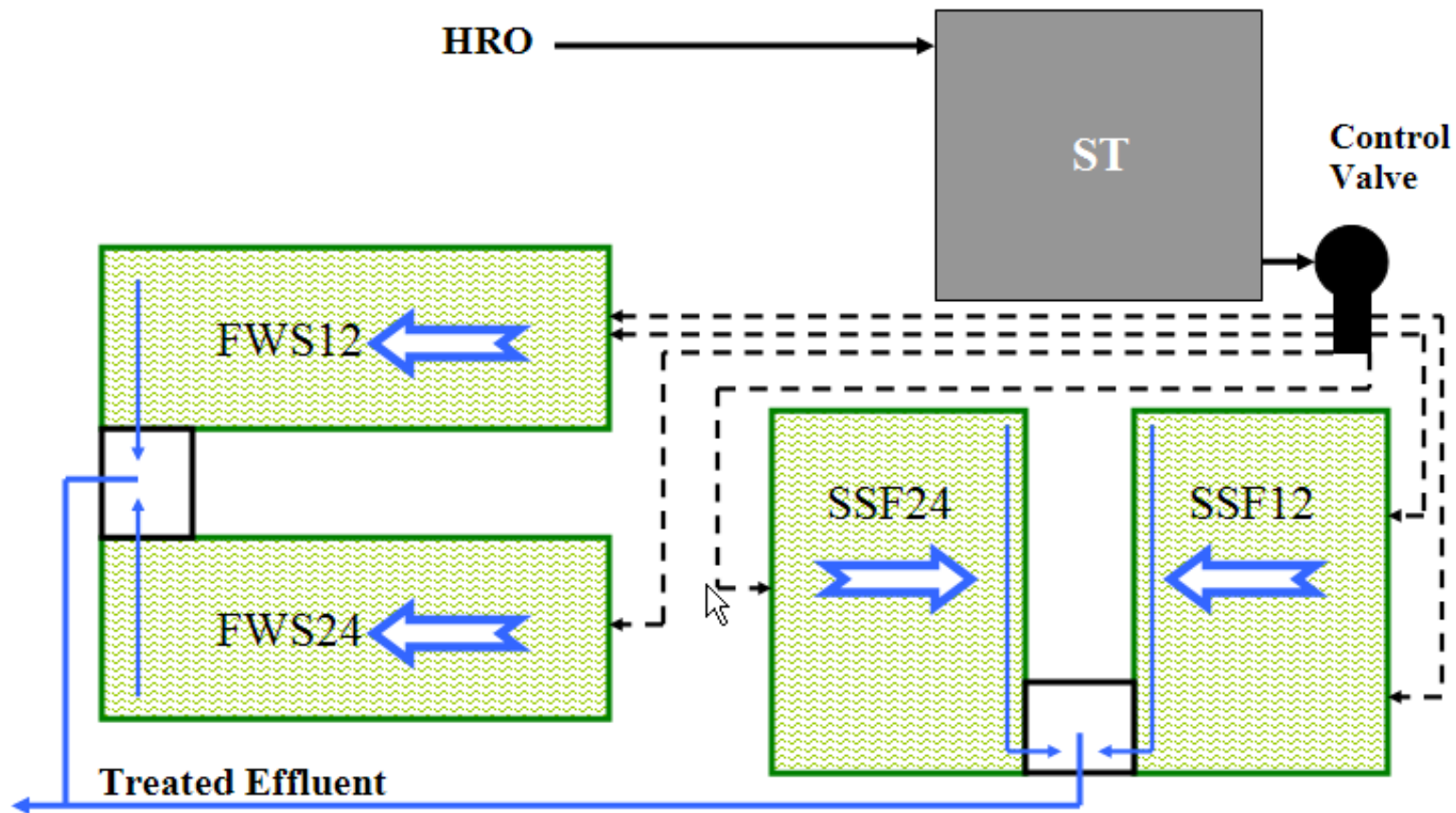
Ομοίως, για τους δυο υγροβιότοπους SSF: Λόγος μήκους : πλάτους (βασισμένη στις προτάσεις στη βιβλιογραφία): 1:2 μήκος: 4 m, πλάτος: 8 m, επιφάνεια (LXW): $8 \times 4 = 32 \text{ m}^2$, μέγιστο βάθος του χαλικιού: 0,5m, ωφέλιμο βάθος (όπου μπορεί να πληρωθεί από το νερό): 0,45m, μέση τιμή του πορώδες του μέσου της κλίνης: 0,45 (τρία διαφορετικά μέσα χαλικιού χρησιμοποιήθηκαν σε στρώματα), κατά προσέγγιση συνολικός διαθέσιμος όγκος επεξεργασίας: $6,3 \text{ m}^3$. Στο Σχήμα 23 παρουσιάζεται σε ένα γενικό σχεδιάγραμμα της πειραματικής περιοχής με τους τέσσερις υγροβιότοπους και το ST.

3.1.2 Δειγματοληψία

Δείγματα HRO συλλέχθηκαν αυτόματα από την είσοδο του ST (αμέσως μετά από ένα σύστημα Parshall για τη μέτρηση της ταχύτητας ροής των εισερχόμενων απορροών), 30 λεπτά μετά από την πρώτη καταγραφή υγρασίας στην είσοδο του συστήματος. Τα δείγματα υγρών αποβλήτων εκροής συλλέχθηκαν με το χέρι (grab samples) σε μια προσπάθεια να αντιστοιχούν στο μέσο χρόνο ανάσχεσης ή στο χρόνο HRT σχεδιασμού, σε σχέση με τα εισερχόμενα δείγματα πριν την επεξεργασία που λαμβάνονταν

αυτόματα. Συνολικά, 82 διαφορετικά δείγματα συλλέχθηκαν από την εισροή και την εκροή του κάθε υδροβιότοπου και αναλύθηκαν για μία περίοδο 2 ετών σχεδόν σε τακτά χρονικά διαστήματα.

Προσπάθεια καταβλήθηκε να καθορισθεί η απόκλιση του μέσου χρόνου παραμονής των υγρών αποβλήτων από το θεωρητικά σχεδιασμένο χρόνο HRT, σε κάθε έναν από τους τέσσερις υδροβιότοπους. Ο μέσος χρόνος παραμονής (MRT) υπολογίστηκε για αυτόν το λόγο χρησιμοποιώντας πειράματα ιχνηθέτισης, με εισαγωγής σε βήματα του ιχνηθέτη rhodamine. Η ανάλυση διευθύνθηκε σε δύο περιπτώσεις (8 Φεβρουαρίου του 2006 και 28 Φεβρουαρίου του 2007), εκμεταλλευόμενοι την πλήρη πλήρωση της δεξαμενής ST



Σχήμα 23. Ένα γενικό σχεδιάγραμμα των τεσσάρων υγροβιοτόπων και της δεξαμενής εξισορόπησης για την επεξεργασία των υδάτινων απορροών των αυτοκινητοδρόμων.

3.2 Πιλοτικές μονάδες που κατασκευάστηκαν για τη σύγκριση της επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων

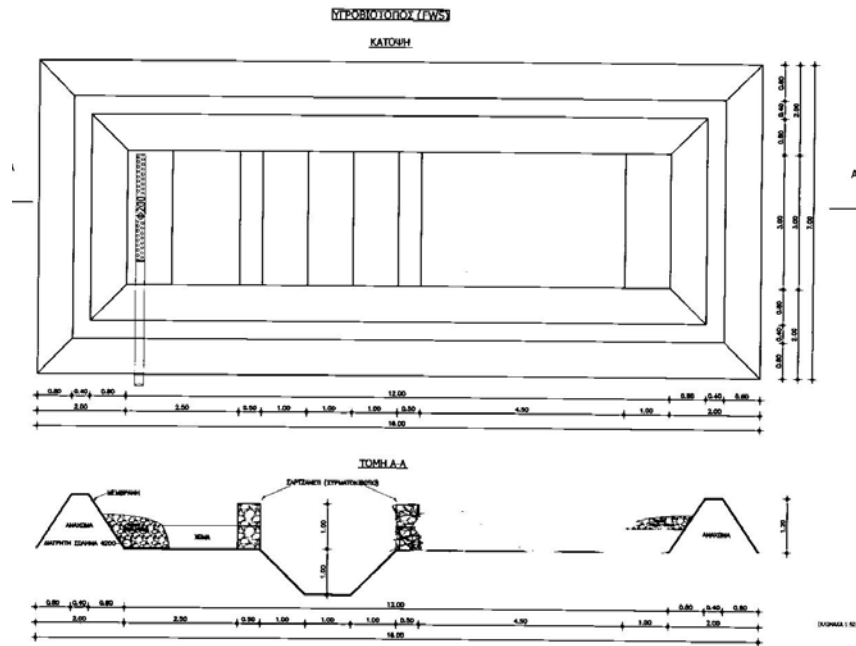
Σε αυτήν την παράγραφο περιγράφονται συστήματα που κατασκευάστηκαν ή τυποποιημένες συμπτυγμένες μονάδες που εγκαταστάθηκαν και τέθηκαν σε λειτουργία για την παράλληλη επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων

Όλα τα πειραματικά συστήματα κατασκευάστηκαν κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού του 2006 στο αγρόκτημα του ΤΕΙ Κρήτης, στο υπαίθριο εργαστήριό μας με μια συνολική περιοχή επιφάνειας περίπου 360 m². Οι ακριβείς συντεταγμένες ήταν (N 35 °, 19 " E 25 °, 10").

3.2.1 FWS

Το σύστημα FWS κατασκευάστηκε με διαστάσεις 12,4 m μήκους και 3,4 m πλάτος, και με τρεις χωρισμένες ζώνες, δύο φυτεμένες ζώνες και μια βαθύτερη ανοξική ζώνη στο κέντρο (φωτογραφία 1α). Ένα στρώμα εδάφους 0,40 m προστέθηκε στις ζώνες, και φυτεύτηκε με δύο είδη καλάμων, *Phragmites australis* και *Arundo donax*. Τα φυτά μεταμοσχεύθηκαν έως ότου επιτεύχθηκε μια συνολική κάλυψη 40%. Κατόπιν οι ζώνες γέμισαν με νερό δικτύου ύδρευσης και σε ένα βάθος 50 cm. Υγρά απόβλητα αναμίχθηκαν με το νερό αυτό βαθμιαία πετυχαίνοντας αυξανόμενα κλάσματα απόβλητο/νερό έως ότου τελικά τα συστήματα των υγροβιοτόπων φορτίζονταν μόνο με υγρά απόβλητα. Τα εισερχόμενο υγρά απόβλητα στην είσοδο του υγροβιότοπου κατανέμονταν μέσω ενός στρώματος κατανομής χαλικιών 0,40 m για να διανείμει τα υγρά απόβλητα σε όλο το πλάτος της κλίνης. Η μονάδα σχεδιάστηκε για να επεξεργαστεί 6 m³ αστικών υγρών αποβλήτων ανά ημέρα (HLR 140 mm. d⁻¹).

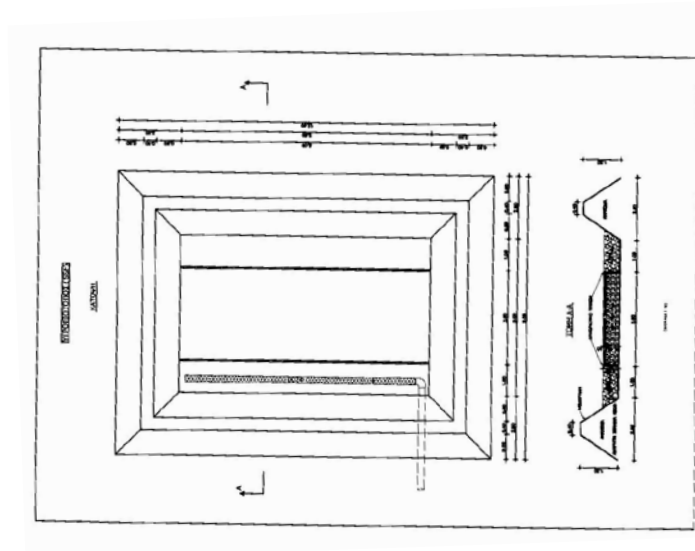
Για να πληρούνται τα όρια ασφαλείας του υγροβιότοπου αποφασίστηκε να σχεδιαστεί σε επιφάνεια 36 m² με πλάτος 3.0 m και μήκος 12.0 m στην οποία συμπεριλαμβάνεται η είσοδος με το χαλίκι, η έξοδος και η βαθιά ανοξική ζώνη στο κέντρο. Στο σχήμα 24 παρουσιάζεται το τελικό σχέδιο του υγροβιότοπου ελεύθερης επιφάνειας.



Σχήμα 24. Υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας (FWS)

3.2.2 HSF

Ο τεχνητός υγροβιότοπος HSF κατασκευάστηκε με μήκος 8,4 m και πλάτος 5,4 m (φωτογραφία 1β). Το μέσο πορώδες του χαλικιού ήταν ίσο με 0,45 και το βάθος της κλίνης ήταν 0,45 m. Το μέτωπο και η εκροή της κλίνης κατασκευάστηκε με χαλίκι διαμέτρου 60 έως 100 mm. Η κλίση του CWs αποτελούνταν από χαλίκι διαμέτρου 30 mm με ένα επιφανειακό στρώμα διαμέτρου 10 mm για την υποστήριξη των φυτών. Τα φυτικά είδη στο σύστημα HSF ήταν πάλι *P. australis* and *A. donax*. Η αρχική προσθήκη υγρών αποβλήτων πραγματοποιήθηκε με παρόμοιο τρόπο με τον TY FWS. Ο TY HSF σχεδιάστηκε ώστε να επεξεργάζεται 6 m³ αστικών υγρών αποβλήτων ανά ημέρα (HLR 130 mm d⁻¹).



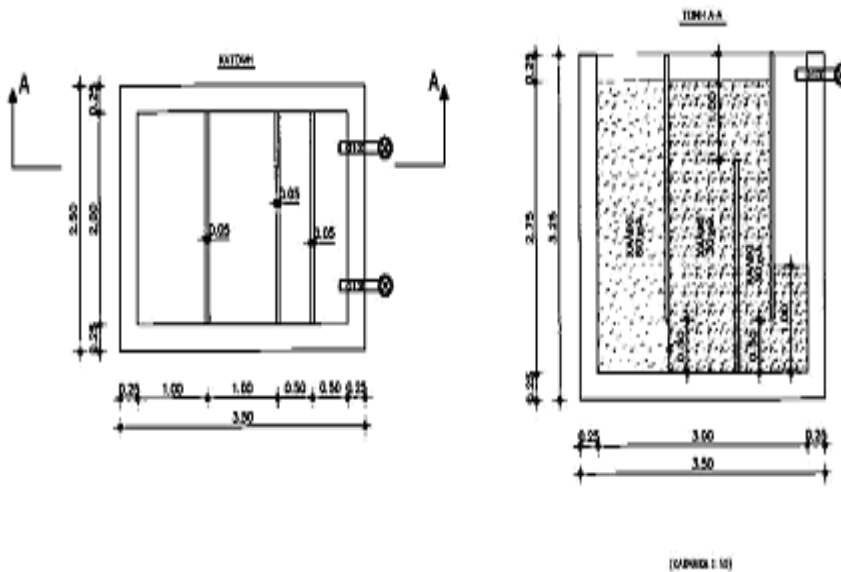
Σχήμα 25. Υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής (SSF).

3.2.3 Χαλικόφιλτρο

Το χαλικόφιλτρο είναι ένα σύστημα κάθετης ροής στο οποίο η εισροή των λυμάτων κατανέμεται αρχικά από χαλίκι διαμέτρου 60-100 mm με συνολική επιφάνεια 2 m² (2.0 m πλάτος και 1.0 m μήκος). Στην συνέχεια η ροή των λυμάτων περνάει από βάθος 2.5 m και στον πυθμένα από ένα ανοικτό κανάλι εισέρχεται στο δεύτερο διαμέρισμα της δεξαμενής όπου υπάρχει χαλίκι 30mm και σε ύψος ξανά 2.5 m. Τελικά τα επεξεργασμένα υγρά απόβλητα καταλήγουν στο τελευταίο διαμέρισμα της δεξαμενής στο οποίο με αντλία μεταφέρονται στην αποχέτευση ή σε άλλη μονάδα επεξεργασίας. Η συνολική επιφάνεια του χαλικόφιλτρου είναι 5.0 m² και ο όγκος του 12.5 m³. Στο σχήμα 26 παρουσιάζεται το ακριβές αντίγραφο του σχεδίου του χαλικόφιλτρου.

ΧΑΛΙΚΟΦΙΛΤΡΟ

ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (ΜΗΚΟΣ=3,00μ. ΠΛΑΤΟΣ=2,00μ. ΥΨΟΣ=2,25μ.)



Σχήμα 26. Χαλικό φίλτρο.

3.2.4 Περιγραφή της πιλοτικής μονάδας βιοδίσκου

Το σύστημα RBC που χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την μελέτη ήταν το EKOL 4, της εταιρίας Aquaintrex (φωτογραφία 2γ). Η μονάδα αποτελείται από μια δεξαμενή πολυπροπυλενίου που χωρίζεται σε ένα αρχικό τμήμα καθίζησης, ένα άλλο τμήμα αποθήκευσης, ένα τρίτο τμήμα βιολογικής επεξεργασίας με τον περιστρεφόμενο βιολογικό δίσκο και την τελική εκροή ένα τμήμα καθίζησης. Η μονάδα RBC αποτελείται από ένα κλωβό πληρωμένο με μικρά πλαστικά κομμάτια με μια συνολική επιφάνεια 235 m^2 . Ο όγκος της δεξαμενής καθίζησης και αποθήκευσης ήταν $6,2 \text{ m}^3$ και ο όγκος της δεξαμενής βιολογικής επεξεργασίας ήταν $2,0 \text{ m}^3$. Η μονάδα σχεδιάστηκε να έχει δυνατότητα επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων από ξενοδοχεία, σχολεία και μικρά χωριά με μια ροή $4 \text{ m}^3/\text{d}$.

Χαρακτηριστικά λειτουργίας της μονάδας βιοδίσκων είναι σύμφωνα με την κατασκευαστική εταιρία είναι:

1. Δευτεροβάθμια εκροή BOD5 < 25 mg/l και TSS <30 mg/l, για εισερχόμενα υγρά απόβλητα με BOD έως 400 mg/L.
2. Ελάχιστες απαιτήσεις σε επίβλεψη συντήρηση
3. Μικρό βάρος και διαστάσεις
4. Χαμηλές απαιτήσεις σε ενέργεια
5. Όλα τα μέρη της μονάδας είναι πλαστικά
6. Αθόρυβο και πλήρως άοσμο
7. Μπορεί να λειτουργεί ακόμη κι αν έχουμε ελάχιστο πληθυσμό για κάποιες περιόδους
8. Προσαρμόζεται εύκολα σε μεγάλες διακυμάνσεις φορτίου.
9. Δεν παράγει σημαντική ποσότητα βιολογικής λάσπης που να χρειάζεται συχνή απομάκρυνση

3.2.5 Σύστημα βιολογικού φίλτρου σε συμπυκνόμενη κλίνη (packed bed filter) προσκολλημένης βιομάζας - διασταλλαγματικό φίλτρο

Η μονάδα βιολογικού διαβρέχοντος φίλτρου σταθερής κλίνης (PBF) που χρησιμοποιήθηκε ήταν μια AdvanTex- AX20 της εταιρίας Orenco (φωτογραφία 2δ). Αυτό το σύστημα είναι ένα φίλτρο με ανακυκλοφορία που χρησιμοποιεί ένα συνθετικό ύφασμα ως μέσο επεξεργασίας. Ο συνολικός όγκος των φίλτρων ήταν 1,85 m³ και ο όγκος της δεξαμενής επανακυκλοφορίας ήταν 2,5 m³. Το συγκεκριμένο PBF είχε δυναμικότητα 3,5 m³ αστικών υγρών αποβλήτων ανά ημέρα.

Τα βιολογικά φίλτρα ADVANTEX κατασκευάζονται από την εταιρία ORENCO SYSTEMS, USA. Είναι μονάδες προσκολλημένης βιομάζας (attached growth) με πληρωτικά υλικά μεγάλης ενεργής επιφάνειας, τύπου πορώδους υφάσματος, από πλαστικό υλικό υψηλής αντοχής και μεγάλων αποδόσεων επεξεργασίας. Η απόδοση των συστημάτων ADVANTEX φτάνει σύμφωνα με την εταιρία σε επίπεδα τριτοβάθμιας επεξεργασίας.

Συνολικά το σύστημα ADVANTEX μαζί με τη σηπτική δεξαμενή σύμφωνα επίσης με το εγχειρίδιο λειτουργίας του δίνει αποδόσεις:

- Για τα BOD₅ (βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο) και TSS (ολικά αιωρούμενα στερεά) απομακρύνσεις > 98% (συνήθως >99%)
- Για άζωτο και φώσφορο απομάκρυνση 60-90% (ανάλογα με την εποχή και τις φορτίσεις)
- Για τα παθογόνα συνολικά απομάκρυνση 99,0-99,9% ή > 99,999% με απλή χλωρίωση ή UV.

Η επεξεργασία είναι αερόβια και η οξυγόνωση γίνεται με φυσικό τρόπο (με απορρόφηση οξυγόνου από τον αέρα, ενώ ο προσφερόμενος εξοπλισμός εξασφαλίζει απλά ανανέωση του αέρα στο χώρο του ADVANTEX). Τα προεπεξεργασμένα λύματα τροφοδοτούνται με μία αντλία (ανοξειδωτή) προς τα φίλτρα ADVANTEX σε μικρές ποσότητες κατά διάστημα 1-3 min κάθε 20-30 min. Με το δίκτυο σωληνώσεων διαμοιράζονται σε όλη την επιφάνεια και διέρχονται (κατεισδύουν) μέσα στο φίλτρο με βαρύτητα, ενώ ταυτόχρονα έχουμε εισροή οξυγόνου (αέρα) με φυσικό εφελκυσμό. Τα λύματα κατά τη διέλευσή τους από το φίλτρο διέρχονται από το πορώδες των υφασμάτων και επιφανειακά όπου έχει προσκολληθεί βιομάζα (μικρόβια) η οποία μεταβολίζει (καταναλώνει για τροφή) τις οργανικές ουσίες των λυμάτων παράγοντας τελικά διοξείδιο του άνθρακα, νερό και αέριο άζωτο. Οι φορτίσεις είναι πολύ χαμηλές ανά μονάδα βιομάζας με αποτέλεσμα τον πλήρη μεταβολισμό των οργανικών ρύπων ενώ δεν παράγεται λάσπη από τα φίλτρα ADVANTEX.

Τα χαρακτηριστικά του συστήματος είναι:

- 1.Συνολική ποσότητα λυμάτων: 3,5 m³/d (αιχμή - 4 m³/d)
- 2.Εκτιμώμενη ποιότητα λυμάτων: COD = 700-900 ppm, BOD₅ = 450 - 600 mg/L
- 3.Η μονάδα έχει μια ανοχή υπέρβασης 30-40% για περιόδους αιχμής

3.2.6 Αμμόφιλτρο και μονάδα απολύμανσης UV

Επίσης σαν μια τελική επεξεργασία (ισοδύναμης τριτοβάθμιας) προστέθηκε ένα αμμόφιλτρο που στη έξοδο του εγκαταστάθηκε μονάδα απολύμανσης UV

(TrojanUV3000B), για την ασφαλέστερη τελική διάθεση όλων των εκροών των συστημάτων στην κοινή αποχέτευση (εικόνα 7).



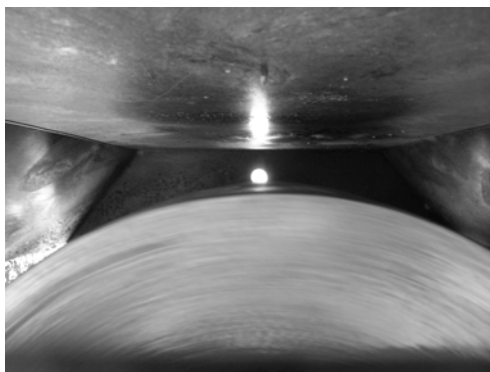
Εικόνα 1. Γενική άποψη του υγροβιότοπου και των αντιδραστήρων προσκολλημένων βιοφίλμ.



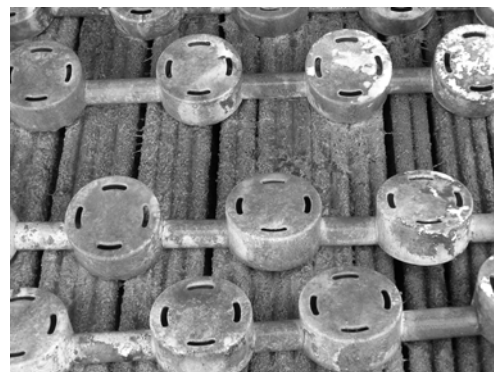
a)



b)



c)



d)

Εικόνα 2. Φωτογραφίες ενεργών τμημάτων των συστημάτων επεξεργασίας α) Υγροβιότοπος ελεύθερης επιφάνειας β) Υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής γ) περιστρεφόμενος βιολογικός δίσκος, δ) αντιδραστήρας συμπυκμένης κλίνης.



Εικόνα 3. Υγροβιότοπος ελεύθερης επιφανείας (FWS) με ενδιάμεση ανοξική ζώνη



Εικόνα 4. Υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής (SSF).



Εικόνα 5. Σύστημα βιολογικής επεξεργασίας με τεχνολογία προσκολλημένης βιομάζας Advantex.



Εικόνα 6. Σύστημα βιολογικής επεξεργασίας με τεχνολογία βιοδίσκων EKOL.



Εικόνα 7. Σύστημα απολύμανσης UV με σκέπαστρο και ροόμετρα



Εικόνα 8. Άποψη του χαλκίφιλτρου.



Εικόνα 9. Άποψη του αμμόφιλτρου.

3.3 Πειραματικός σχεδιασμός – λειτουργία πιλοτικών μονάδων για την επεξεργασία αστικών αποβλήτων

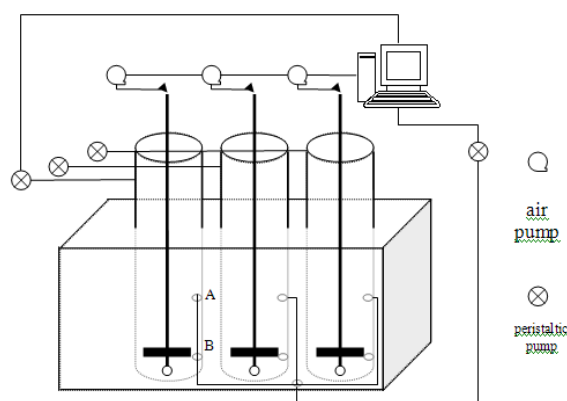
Όλες οι μονάδες λειτουργούσαν παράλληλα, και δέχονταν πρωτοβάθμια επεξεργασμένα υγρά απόβλητα (μετά το στάδιο της α' βάρθμιας καθίζησης) από τις εγκαταστάσεις βιολογικής επεξεργασίας λυμάτων της ΔΕΥΑ Ηρακλείου, σε διάφορες υδραυλικές φορτίσεις HLRs που κυμαινόταν από 50% ως 175% σχεδιασμένου για κάθε μονάδα HLR. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από τον Φεβρουάριο του 2007 μέχρι που το Σεπτέμβριο του ίδιου χρόνου. Ο πίνακας 6 παρουσιάζει τα οργανικά ποσοστά φόρτισης (OLRs) και τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT) για κάθε σύστημα κατά τη διάρκεια της πειραματικής λειτουργίας.

3.4 Εργαστηριακής κλίμακας αντιδραστήρες διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία (SBR)

3.4.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Τέσσερις αντιδραστήρες διαλείποντος έργου κατασκευάστηκαν με τη διαμόρφωση που φαίνεται στο σχήμα 27 και στην εικόνα 10. Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν plexiglas με λειτουργικό όγκο 2 L, ύψους 50cm και διαμέτρου 9cm. Τοποθετήθηκαν μέσα σε ορθογώνιο πλαίσιο επίσης από plexiglas, σε μια διάταξη τύπου ενυδρείου.

Ένα υδατόλουτρο με έναν κυκλοφορητή χρησιμοποιήθηκε για να κρατήσει τη θερμοκρασία σταθερή στους 20 °C. Ένας διαχυτήρας εμπλουτισμού με οξυγόνου μικροφυσαλίδων τοποθετήθηκε κοντά στο κατώτατο σημείο κάθε αντιδραστήρα για να επιτευχθεί ο αερισμός. Οι αναδευτήρες καθώς επίσης και οι περισταλτικές αντλίες και η αντλία αερισμού ήταν ελεγχόμενη μέσω ενός PC και λογισμικού. Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) καθορίστηκε σε 8 h και κρατήθηκε σταθερός σε όλη τη μελέτη. Οι αντιδραστήρες χρησιμοποιούσαν κύκλους 8-ωρών. Ο αερισμός και η ανάδευση διαρκούσαν 6 ώρες. Ο χρόνος που πραγματοποιούνταν η εκροή τέθηκε σε 30 min. για να αποφευχθεί απώλεια λάσπης. Η τροφοδοσία λάμβανε χώρα στα πρώτα 15 λεπτά κάθε κύκλου. Η δειγματοληψία έγινε χρησιμοποιώντας την περισταλτική αντλία εκροής με την ένωση του ελαστικού σωλήνα σιλικόνης στο σημείο A για την εκροή και στο σημείο β για τη δειγματοληψία της λάσπης .



Σχήμα 27. Η πειραματική διάταξη του εργαστηριακής κλίμακας SBR

3.4.2 Σύσταση του συνθετικού υγρού αποβλήτου

Η σύνθεση των υγρών αποβλήτων σε θρεπτικές ουσίες και ιχνοστοιχεία περιγράφεται στον πίνακα 10. Οι αυξανόμενες κλιμακωτά εφαρμοζόμενες συγκεντρώσεις μικρορυπαντών στα συνθετικά υγρά απόβλητα παρουσιάζονται στον πίνακα 11.

Πίνακας 6. Σύσταση συνθετικών υγρών αποβλήτων

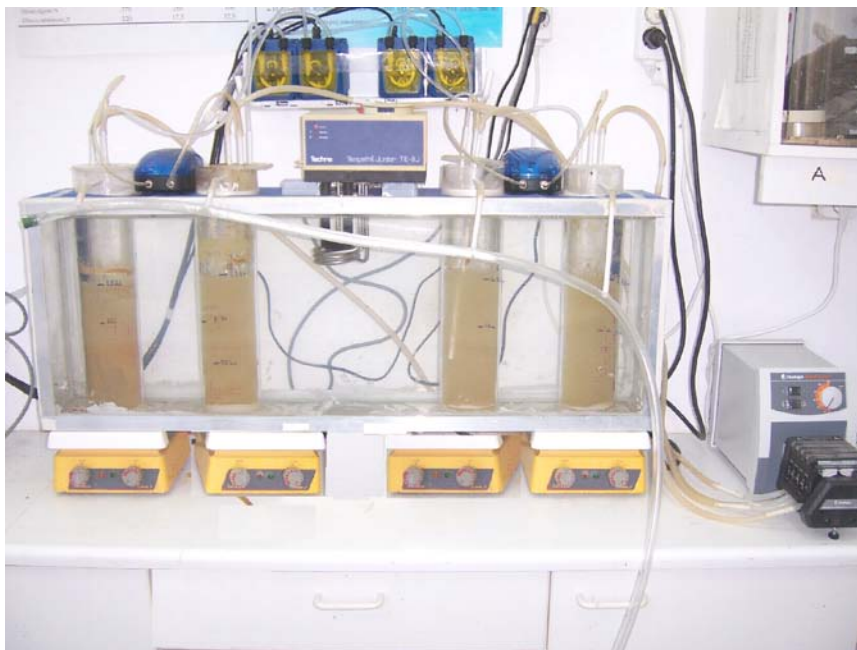
Σύνθεση σε θρεπτικά στοιχεία		Σύνθεση σε ιχνοστοιχεία	
Συστατικό	Συγκέντρωση (g/L)	Συστατικό	Συγκέντρωση (mg/L)
Peptone	0.032	Fe Cl ₃ · H ₂ O	0,075
Yeast extract	0,03	H ₃ BO ₃	0,075
Urea	0,03	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,015
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,067	KI	0,09
K ₂ HPO ₄	0,014	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,06
KH ₂ PO ₄	0,011	NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0,03
CaCl ₂ · 6 H ₂ O	0,004	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,06
Mg SO ₄ · 7 H ₂ O	0,002	CaCl ₂ · 6H ₂ O	0,075

2.11.3 Εμβόλιο λάσπης για την εγκαθίδρυση της ετεροτροφικής κοινότητας βακτηρίων

Η ενεργή ιλύς από τη δευτεροβάθμια δεξαμενή αερισμού από τις εγκαταστάσεις βιολογικού καθαρισμού υγρών αποβλήτων Ηρακλείου (150000 ισοδύναμων κάτοικων) χρησιμοποιήθηκε ως αρχική καλλιέργεια που επέτρεψε την καθιέρωση μιας ετεροτροφικής κοινοπραξίας των βακτηρίων με τα πολύ καλά χαρακτηριστικά καθίζησης και απομάκρυνσης COD

Πίνακας 7. Συγκέντρωση ξενοβιοτικών ουσιών στην είσοδο

Ημέρες	ΡΑΗ				LAS				
	Φαινανθρένιο	Φλουρανθένιο	Πυρένιο	ΣΡΑΗs	C10	C11	C12	C13	ΣLAS
0 - 27	5.3	6.6	5.1	17.0	13,6	44,7	35,5	20,7	114,5
28 - 34	11.9	10.5	9.5	31.9	21,5	60,7	48,5	28,1	158,7
35 - 42	14.7	15.2	14.7	44.6	23,8	76,6	65,3	37,9	203,6
43 - 48	21.4	23.4	20.4	65.3	36,3	79,3	68,8	39,4	223,9



Εικόνα 10. Εργαστηριακής κλίμακας αντιδραστήρας SBR

3.4.3 Λειτουργικές παράμετροι SBR

Για τους χρόνους που χρησιμοποιήθηκαν για αντίδραση, έγινε προσπάθεια η επεξεργασία να βελτιστοποιηθεί βάση των σχεδιαστικών οδηγιών παρακάτω πίνακα 12.

Πίνακας 8. Συσχέτιση μεταξύ ταχύτητας φόρτισης σε λάσπη, δείκτη ανάπτυξης λάσπης και πυκνότητας λάσπης τιμές SS αιωρούμενων στερεών

Ηλικία λάσπης ημέρες	Φόρτιση λάσπης kgCOD/d/MLSS	Παραγωγή λάσπης kgMLSS/φόρτιση COD		Συνιστώμενη πυκνότητα λάσπης mg/l
		Καθιζόμενη Λάσπη	Ακατέργαστη Λάσπη	
30	0.154	0.22	0.23	5,000
25	0.174	0.23	0.25	4,400
20	0.200	0.25	0.27	3,900
15	0.242	0.28	0.31	3,500

10	0.312	0.32	0.36	3,300
5	0.506	0.40	0.45	3,200

Η ηλικία της λάσπης υπολογίζεται βάση της σχέσης $\Theta_x = Vx / [Q_w + (Q - Q_w) x_e]$.

Όπου $V=2l$, x συγκέντρωση υποστρώματος (σε τιμές COD) στη δεξαμενή αερισμού, Q_w παροχή εξόδου, Q παροχή τροφοδοσίας (και τα δύο είναι περίπου $3l d^{-1}$) και x_e συγκέντρωση υποστρώματος στην έξοδο. Υπολογίστηκε μια μέση τιμή περίπου ηλικίας της λάσπης 10 ημερών οπότε η ζητούμενη να επιτευχθεί πυκνότητα της λάσπης που αντιστοιχούσε στην δεξαμενή αερισμού ήταν περίπου $3g/l$. Στον πίνακα 13 παρουσιάζεται η χρονική αλληλουχία και διάρκεια των φάσεων μιας τυπικής ημερήσιας λειτουργίας των αντιδραστήρων SBR που αποτελούνταν από τρεις κύκλους λειτουργίας των 8 ωρών. Κάθε ένας περιλάμβανε 6 ώρες αερισμού και μια ώρα περίπου ανοξικής φάσης, και από τα υπολειπόμενα 50', τα 20' χρησιμοποιούνταν για την τροφοδοσία και τα 30' για την απορροή των επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων.

Πίνακας 9 . Ημερήσια λειτουργία αντιδραστήρα SBR

	ON	OFF	ON	OFF	ON	OFF
Τροφοδοσία	09:01	09:20	17:01	17:20	01:01	01:20
Αερισμός	09:20	15:30	17:20	23:30	01:20	07:30
Καθίζηση	15:30	16:30	23:30	00:30	07:30	08:30
Απορροή	16:30	17:00	00:30	01:00	08:30	09:00

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Σύγκριση της απόδοσης δυο τεχνητών υγροβιοτόπων που επεξεργάζονται τις υδάτινες απορροές αυτοκινητοδρόμων

4.1.1 Υδάτινες απορροές αυτοκινητοδρόμων (Highway runoff, HRO)

Οι απορροές δρόμων/εθνικών οδών (HRO) θεωρούνται σημαντικές πηγές ρύπανσης στις αναπτυγμένες αστικές περιοχές. Οι επιφάνειες δρόμων/εθνικών οδών συσσωρεύουν σημαντικές ποσότητες ρύπων συμπεριλαμβανομένων θρεπτικών ουσιών, βαρέων μετάλλων και των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) (Ngabe et al, 2000 Aryal et al, 2005). Σημαντικοί παράγοντες στην παραγωγή των ρύπων σε HRO θεωρούνται χαρακτηριστικά κυκλοφορίας (μέση ταχύτητα οχημάτων, το κυκλοφοριακό φορτίο , κ.λπ.), το κλίμα, μακρόχρονη ξηρική περίοδος, ένταση και διάρκεια βροχοπτώσεων (Lee et al., 2004; Crabtree et al., 2006).

Υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες εργασίες σχετικά με τους υγροβιότοπους και την απόδοσή τους στην επεξεργασία HRO, για παράδειγμα οι εργασίες από Mungur et al (1995), Shutes et al (1997), Ahutes et al (1999), Mitchel et al (2002) και Bulc and Slak (2003). Συγκεκριμένα υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία αναφορές για μονάδες της βόρειας Ευρώπης και των ΗΠΑ. Δεν υπάρχει κανένα δημοσιευμένο στοιχείο με εξαίρεση μια εργασία σχετικά με τις λίμνες αποστράγγισης στην Πορτογαλία από τους Barbosa and Hvitved-Jacobsen (1999), για την περιοχή της Μεσογείου, με το χαρακτηριστικό κλίμα των μακρών, ξηρών καλοκαιριών, με έντονες χειμερινές βροχοπτώσεις του μεσογειακού κλίματος. Επιπλέον, αυτές οι εργασίες εστιάζουν στις απόδοση απομάκρυνσης για BOD, αιωρούμενα στερεά, άζωτο, φώσφορο και βαρέα μέταλλα. Η ρύπανση βαρέων μετάλλων είναι ένα σοβαρό περιβαλλοντικό πρόβλημα, που απειλεί και τα υδρόβια οικοσυστήματα και την ανθρώπινη υγεία. Τα βαρέα μέταλλα διανέμονται ευρέως στη σκόνη, τα χώματα και τα ιζήματα και βρίσκονται στις απορροές των οδών (Sansalone και Buchberger, 1997).

Επιπλέον σε συνθήκες βαριάς κυκλοφορίας, οι αποθέσεις τοξικών ενώσεων όπως PAHs είναι συνήθως σημαντικότερες από εκείνες άλλων μη-σημειακών ρύπων όπως το άζωτο και ο φώσφορος (Shinya et al, 2000). Τα PAHs έχουν αναγνωρισθεί ως ομάδα ενδεχομένως τοξικών, γενotoξικών και καρκινογόνων χημικών ουσιών (Baumann, 1998). Ο οργανισμός περιβαλλοντικής προστασίας EPA, των ΗΠΑ, έχει προσδιορίσει 16 ενώσεις από τους PAHs ως ρύπους προτεραιότητας. Η αστική απορροή είναι μια γνωστή και σημαντική πορεία για να καταλήξουν οι PAHs σε υδατικά περιβάλλοντα και οικοσυστήματα (Krein και Schorer, 2000 Murakami et al, 2004). Έχει υπολογιστεί ότι το 36% της περιβαλλοντικής εισροής των PAHs οφείλεται στις αστικές απορροές, με το ποσοστό αυτό να φθάνει σε 71% για τις υψηλότερες ενώσεις μοριακού βάρους (Hoffman et al, 1984). Στην μελέτη που πραγματοποιήσαμε είναι η πρώτη φορά που περιλαμβάνεται η απόδοση της απομάκρυνσης των PAHs στην επεξεργασία HRO με τεχνητούς υγροβιότοπους.

Τα περισσότερα συστήματα που εξετάζονται στη βιβλιογραφία αφορούν πραγματικού μεγέθους υγροβιότοπους που κατασκευάζονται προκειμένου να επεξεργαστούν HRO από συγκεκριμένους δρόμους. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι μια πολύ ενδιαφέρουσα δημοσίευση από τους Pontier et al (2004), οι οποίοι έλεγξαν έναν πραγματικού μεγέθους υγροβιότοπο στο Ηνωμένο Βασίλειο. Η επιφάνεια συλλογής που μαζεύονταν οι απορροές για να εισαχθούν τελικά σε αυτόν τον υγρότοπο ήταν 16.000 m² στο σύνολο, ενώ η μέση ικανότητα αποθήκευσης του υγροβιότοπου ήταν 185,3 m³. Οι Scholes et al (1998) παρουσίασαν την απόδοση δύο υγροβιότοπων, έναν στο Brentwood (βόρεια του Λονδίνου) που συμπεριλάμβαναν και έναν υποεπιφανειακής ροής (SSF) (κύριο σύστημα) και ένα ελεύθερης επιφάνειας νερού υγροβιότοπο (FWS) (βοηθητικό σύστημα), και ένα στο Dagenham (ανατολικά του Λονδίνου), που ήταν επίσης FWS. Έγινε μια προσπάθεια να συγκριθούν τα δύο συστήματα, όμως οι ίδιοι συγγραφείς εκφράζουν τους περιορισμούς στην αξιοπιστία της σύγκρισης, δεδομένου ότι εξ ορισμού τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των απορροών διέφεραν αρκετά.

Τέλος, οι τεχνητοί υγροβιότοποι χρησιμοποιούμενοι για την επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων, σχεδιάζονται για να επιτύχουν έναν συγκεκριμένο (ελάχιστο)

υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT), βασισμένο στο μέγιστο αναμενόμενο ποσό λυμάτων (Dialynas et al, 2002 Solano et al, 2004). Όμως είναι πολύ δύσκολο να υπολογιστεί η ποσότητα των απορροών HRO λόγω της άμεσης σχέσης του με το ποσό βροχοπτώσεων, που είναι ένα κλιματολογικό στοιχείο με τυχαία χωροχρονική κατανομή. Παραδείγματος χάριν, οι υγροβιότοποι που λειτουργούν στο Ηνωμένο Βασίλειο, (κάτω από πολύ πιο ομοιόμορφες καιρικές συνθήκες από την περιοχή της Μεσογείου) έχουν μια κατασκευή για την εξισορρόπηση του εισερχόμενου όγκου HRO (δεξαμενή εξισορρόπησης ή λίμνη). Σε περίπτωση ξαφνικής βροχόπτωσης, αυτό: i) μειώνει την πιθανότητα του ξεπλύματος των προσροφημένων ρύπων από τους υγροβιότοπους, και ii) παρέχει κάποιο χρόνο ανάσχεσης πριν να εισαχθεί στο σύστημα του υγρότοπου η εισροή (Pontier et Al, 2004). Εντούτοις, κανένα στοιχείο δεν παρέχεται για την επίτευξη ενός συγκεκριμένου HRT και της σημασίας του HRT στη διαδικασία επεξεργασίας, ακόμα κι αν για τα αστικά υγρά απόβλητα αυτό το ζήτημα έχει αναδειχθεί επανειλημμένα.

Σε μια προσπάθεια να αξιολογηθεί η πιθανή χρήση των τεχνητών υγροβιότοπων για την επεξεργασία HRO στην περιοχή της νότιο-ανατολικής Μεσογείου, πραγματοποιήθηκε η κατασκευή σε πιλοτικό μέγεθος δύο FWS και δύο τεχνητών υγροβιότοπων SSF. Ο στόχος του τμήματος της διατριβής αυτού ήταν να καθοριστεί:

- α) ποιος τύπος τεχνητού υγροβιότοπου αποδίδει καλύτερα για την απομάκρυνση ποικίλων ρύπων, συμπεριλαμβανομένου PAHs από HRO, και
- β) ποιοι λειτουργικοί παράμετροι (συγκεκριμένο ο χρόνος HRT, ως έκφραση της ταχύτητας φόρτισης) στον κάθε τύπο παρέχουν την καλύτερη επεξεργασία.

4.1.2 Απομάκρυνση των COD, TSS, TN, NO₃⁻ και TP που περιέχονται στις απορροές των αυτοκινητοδρόμων

Ο πίνακας 10 παρουσιάζει συγκεντρωμένα τα αποτελέσματα των φυσικοχημικών ανάλυσεων των απορροών HRO (εισροή) και των υγρών αποβλήτων εκροής που επεξεργάζονται από τους υγροβιότοπους μεταξύ του Σεπτεμβρίου του 2006 και του Αυγούστου του 2007, κατά τη διάρκεια 58 διαφορετικών βροχοπτώσεων, 41 πλήρων

δειγματοληψιών (σετ δειγμάτων εισροής εκροής) και συνολικά 774 m³ HRO. Παρόμοια ανάλυση έγινε και για την περίοδο μεταξύ Σεπτεμβρίου του 2005 και του Αυγούστου του 2006, με 715 m³ HRO σε 68 γεγονότα βροχόπτωσης (στοιχεία που δεν παρουσιάζονται), και οι τιμές ποιότητας και σύστασης ρύπων των HRO δεν παρουσιάζουν στατιστική σημαντική διαφορά για τις δύο περιόδους. Αυτό ήταν ένα προβλέψιμο αποτέλεσμα, δεδομένου ότι κανένας εξωτερικός παράγοντας δεν είχε αλλάξει στο περιοχή συλλογής (οδικά έργα, φορτίο κυκλοφορίας, κ.λπ.) μεταξύ των δύο περιόδων, και τα χαρακτηριστικά του καιρού ήταν μάλλον παρόμοια.

Οι ποιοτικές τιμές HRO ήταν παρόμοιες με τις προηγούμενα αναφερόμενες σε διαφορετικές περιοχές του κόσμου, όπως παρουσιάζονται από Bulc and Slak (2003), Pontier et al (2004) και Heyvaert et al (2006). Η μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ της ελάχιστης και μέγιστης τιμής COD, καθώς επίσης και όλων των άλλων παραμέτρων που παρουσιάζονται στον πίνακα 14, μπορούν να εξηγηθούν από την αναφορά για την ύπαρξη αθροιστικής συσσώρευσης ρύπων στην επιφάνεια των οδών κατά τη διάρκεια μακροχρόνιων (σε διάρκεια μηνών) ξηρών περιόδων (Prestes et al, 2006). Επομένως, οι πρώτες βροχοπτώσεις, που πραγματοποιούνται το Σεπτέμβριο μετά από μια μεγάλη ξηρή θερινή περίοδο, θα αναμένονταν να οδηγήσουν σε πιο αυξημένες σε ρύπους απορροές HRO ειδικά στην περίπτωση βροχοπτώσεων υψηλής έντασης (Manios et al, 2007). Με βάση τις τιμές HRO που δίνονται στα σχήματα 28 και 29 αυτό το αποτέλεσμα εμφανίζεται στην πραγματικότητα. Οι Scholes et al (1998) κάνουν επίσης μνεία στη μεγάλη διακύμανση των φυσικοχημικών παραμέτρων HRO, δεδομένου ότι αυτός είναι από τους κύριους λόγους που είναι τόσο δύσκολο να ελεγχθεί οποιοδήποτε σύστημα επεξεργασίας.

Με βάση την ανάλυση μιας κατεύθυνσης ANOVA που παρουσιάζεται στον πίνακα 10, βρέθηκε μια στατιστικά σημαντική διαφορά, μεταξύ της συγκέντρωσης εισροής και των υγρών αποβλήτων εκροής των διαφορετικών παραμέτρων, και για τους τέσσερις υγροβιότοπους, και για τα δύο έτη. Επίσης στα σχήματα 28 και 29 καθίσταται αυτή η παρατήρηση σαφέστερη, δεδομένου ότι οι τιμές εισροής είναι πάντα υψηλότερες από τις τιμές εκροής για όλα τα έτη και για τους τέσσερις ρύπους. Ο πίνακας 11 παρουσιάζει την απομάκρυνση αυτών των μη-σημειακών ρύπων και για τους τέσσερις

υγροβιότοπους. Είναι προφανές ότι οι τιμές COD, TSS, TN και TP δεν παρουσίασαν καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών μελετημένων συστημάτων και για τις δύο περιόδους.

Οι μέσες απομακρύνσεις για όλους τους υγροβιότοπους για τα COD, TSS, TN, N- NO₃⁻ και TP ήταν 47, 89, 49, 58 και 60%, αντίστοιχα. Αυτά τα ποσοστά απομάκρυνσης είναι γενικά χαμηλότερα από αυτό που αναφέρονται σε προηγούμενες μελέτες που στρέφονται στην επεξεργασία λυμάτων και βιομηχανικών αποβλήτων από τους υγροβιότοπους (Gomez Cerezo et al, 2001 Merlin et al, 2002 Maine et al, 2007). Οι Gross et al (2007) ανέφεραν αποδόσεις στις απομακρύνσεις 81% για το COD, 98% για TSS, 69% για TN, και 71% για TP, από έναν κάθετης ροής τεχνητό υγροβιότοπο που επεξεργάζονταν greywater. Σε μια εργασία από τους Hadal et al το (2006), ένας πιλοτικής κλίμακας τεχνητός υγροβιότοπος που επεξεργάζονταν υγρά απόβλητα από μια βιομηχανία εργαλείων πέτυχε απομάκρυνση του COD 79%, των TS κατά 32%, του Ανόργανου-N κατά 81%, και του TP 70%. Σε μια άλλη μελέτη με έναν πιλοτικής κλίμακας τεχνητό υγροβιότοπο FWS που επεξεργαζόταν τα υγρά απόβλητα από ένα βιομηχανικό πάρκο, οι αποδόσεις απομάκρυνσης ήταν 61, 81, και 35% για το COD, το SS, και TP, αντίστοιχα (Chen et al, 2006). Σε όλες τις περιπτώσεις, οι αποδόσεις των απομάκρυνσεων του COD είναι σημαντικά υψηλότερες έναντι αυτής που υπολογίσαμε στο παρόν τμήμα της διατριβής. Η δομή των οργανικών ενώσεων που βρίσκονται σε HRO (ασφαλτένια, πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες, oil and grease, PAHs κλπ) μπορεί να είναι ένας πιθανός λόγος της χαμηλότερης απόδοσης σε αυτήν την περίπτωση.

Η ανάπτυξη της βλάστησης παρουσίασε παρόμοια μορφή σε όλα τα συστήματα. Τα *A. donax* και *P. australis* είχαν μια καλή αύξηση, επιτυγχάνοντας την κάλυψη κατά προσέγγιση του 70% της επιφάνειας του διαθέσιμου υποστρώματος, σε τρεις μήνες. Στις τελευταίες περιόδους και τα δύο μακρόφυτα βρέθηκαν στους υγροβιότοπους, το *A. donax* είχε καλύψει την μεγαλύτερη περιοχή της επιφάνειας. Τα φυτά ήταν υγιείς χωρίς το σημάδι οποιασδήποτε ανεπάρκειας θρεπτικών ουσιών και το ύψος τους κυμάνθηκε από 3 έως 5 m. Αυτό το αποτέλεσμα ήταν σύμφωνο με μια άλλη ερευνητική δοκιμή που εξέτασε την απόδοση ενός τεχνητού υγροβιότοπου SSF που επεξεργαζόταν

λύματα σε συνθήκες κλίματος του Μαρόκου (η Κρήτη έχει ένα παρόμοιο κλίμα με το Μαρόκο) (El Hamouri et al, 2007).

Σύμφωνα με τις αναλύσεις ιχνηθετών, η χαμηλότερη τιμή του μέσου χρόνου παραμονής (Mean Residence Time, MRT) καταγράφηκε στο FWS12 (10 αντί 12 h όπως ήταν το αρχικά σχεδιασμένο HRT), και ακολουθήθηκε από το FWS24, με MRT 14 h. Οι δύο κλίνες με χαλίκια παρουσίασαν το υψηλότερο MRT, με 18 και 16 h αντίστοιχα για τους υδροβιότοπους SSF24 και SSF12. Με εξαίρεση τον SSF12, οι τρεις άλλες κλίνες παρουσίασαν χαμηλότερο χρόνο MRT από το χρόνο HRT που σχεδιάστηκαν αρχικά, με πιθανή αιτία κάποιο βραχυκυκλώμα της ροής. Η εντονότερη επίδραση της παράκαμψης της ροής λόγω εμφράξεων πόρων στον TY FWS, μπορεί να εξηγηθεί ως αποτέλεσμα της πολύ πυκνής βλάστησης στον υδροβιότοπο, με συνέπεια μια μείωση στο πορώδες στην περιοχή που διέρχεται διαμέσου της το νερό, από το 0,75 που χρησιμοποιήθηκε αρχικά σε λιγότερο από 0,70. Εάν συγκρίνουμε τον υδροβιότοπο SSF12 με τον υδροβιότοπο FWS12, η διαφορά των έξι ωρών MRT μπορεί να εξηγήσει το μικρό πλεονέκτημα της κλίνης με χαλίκι, όπως μπορεί και η διαφορά των τεσσάρων ωρών μεταξύ των SSF24 και FWS24. Ομοίως, η μικρή διαφορά δύο ωρών μεταξύ SSF12 και SSF24, και η διαφορά των τεσσάρων ωρών μεταξύ FWS12 και FWS24, μπορούν επίσης να εξηγήσουν γιατί οι ταχύτητες φόρτισης δεν οδήγησαν σε μια σημαντική διαφοροποίηση στην απόδοση. Θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι ο χαμηλότερος χρόνος MRT του FWS μειώνει το χρόνο επαφής των ρύπων για βιολογική επεξεργασία, γεγονός το οποίο είναι πολύ σημαντικό στα συγκεκριμένα συστήματα. Αφ' ετέρου, η εξαιρετικά πυκνή βλάστηση μπορεί να υποστηρίξει την ομοιότητα μεταξύ των συστημάτων χαλικιού και χώματος, πως λειτούργησε ως κόσκινο παρόμοιο με ένα χαλικόφιλτρο. Η στατιστική ανάλυση αποδεικνύει ότι οι διαφορές MRT δεν παρήγαγαν μια στατιστικά σημαντική διαφορά στην απόδοση των συστημάτων.

Η μελέτη ιχνηθετών διεξήχθη πάλι τον Φεβρουάριο του 2007. Αυτή τη φορά, το επίπεδο του νερού στον υδροβιότοπο FWS αυξήθηκε κατά περίπου 5 cm, σε μια προσπάθεια να αυξηθεί ο διαθέσιμος όγκος επεξεργασίας, αντισταθμίζοντας τη μείωση από την αναπτυγμένη βιομάζα των φυτών. Ο υδροβιότοπος SSF12 καταγράφει ακριβώς ίδιο MRT (16 h), ενώ υπάρχει μια αύξηση του MRT στον SSF24 από 18 στις 20 h.

Συγχρόνως, ο χρόνος MRT του FWS12 αυξήθηκε σε 12 h (από 10 h), ενώ ο υγροβιότοπος FWS24 είχε μια παρόμοια αύξηση δυο ωρών (από 14 σε 16 h). Ακόμα κι αν αυτά τα MRTs είναι πιο κοντά στα σχεδιαστικά στοχευόμενα λειτουργικά HRT, δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ αυτής της απόδοσης συστημάτων και αυτής της προηγούμενης περιόδου.

Η κύρια μέθοδος απομάκρυνσης στους τέσσερις υγροβιότοπους ήταν αυτή της διήθησης (κύρια) και της καθίζησης (δευτερευόντος), οι οποίες είναι και οι δύο φυσικές διαδικασίες. Η βιολογική διάσπαση ουσιών στην εκροή πρέπει να θεωρηθεί μικρό ποσοστό σε σχέση με το ποσοστό που οι ουσίες διηθούνται και κατακρατούνται από τα συστήματα με φυσικό τρόπο. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι τα αιωρούμενα στερεά διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην τύχη των ρύπων και των θρεπτικών ουσιών σε HRO (Ongley et al, 1981 Dorney, 1986 Thompson et al, 1997). Αυτό υποστηρίζεται περαιτέρω από το γεγονός ότι η διαφοροποίηση του HRT δεν οδήγησε σε σημαντικές διαφοροποιήσεις της απόδοσης. Η υψηλή συγκέντρωση TSS στις απορροές HRO (208 και 198 mg l⁻¹) δεν οδήγησε σε μια συγκρίσιμη τουλάχιστον συγκέντρωση COD (103 και 91 mg l⁻¹), κάτι που είναι κοινό στα αστικά υγρά απόβλητα (Solano et al, 2004). Αυτό σημαίνει ότι τα περισσότερα TSS (στις απορροές (HRO)) είναι ανόργανα σωματίδια, παραδείγματος χάριν άμμος, ή χαμηλού οργανικού περιεχομένου (π.χ. χώμα), ή όχι εύκολα βιοδιασπάσιμης οργανικής ουσίας (π.χ. υδρογονάνθρακες υψηλού μοριακού βάρους, πετρέλαια, ή άλλα ορυκτέλαια). Το μικρό πλεονέκτημα των συστημάτων SSF μπορεί να εξηγηθεί με βάση του γεγονότος ότι υπήρξε καλύτερη φυσική απομάκρυνση (κυρίως διήθηση) των ρύπων στην κλίση του χαλικιού απ'ό,τι στα συστήματα FWS.

4.1.3 Απομάκρυνση Cu, Ni, Pb και του Zn που περιέχονται στις υδάτινες απορροές των αυτοκινητοδρόμων

Η απόδοση των υγροβιότοπων ήταν, εντούτοις, διαφορετική σχετικά με την απομάκρυνση των τεσσάρων βαρέων μετάλλων και των PAHs που ελέγχθηκαν στην εισροή και στην εκροή. Σύμφωνα με τον πίνακα 10, ακόμα κι αν οι υγροβιότοποι έχουν

επιτύχει χαμηλότερες μέσες τιμές και για τα τέσσερα μέταλλα και PAHs, αυτές οι τιμές ήταν όχι πάντα στατιστικά σημαντικά διαφορετικές (σε σχέση με την εισόδο των συστημάτων). Ο Cu, το Ni και ο Pb κατέγραψαν μια μέση τιμή εισόδου 53, 83 και 56 $\mu\text{g l}^{-1}$ αντίστοιχα, μεταξύ του Σεπτεμβρίου του 2006 και του Αυγούστου του 2007, τιμές παρόμοιες με εκείνες που παρουσιάστηκαν από τους Mungur et al (1995) και Scholes et al (1998). Για αυτά τα τρία συγκεκριμένα μέταλλα, οι μέσες τιμές εκροής δεν ήταν στατιστικά διαφορετικές με αυτές της εισροής (εισόδου) και για τους τέσσερις υδροβιότοπους. Ο SSF24 είχε τη χαμηλότερη μέση συγκέντρωση και των τριών, επιτυγχάνοντας ταυτόχρονα τις υψηλότερες απομακρύνσεις (πίνακες 10 και 12).

Η εικόνα για τα ίδια τρία μέταλλα στην περίοδο του 2005/2006 ήταν παρόμοια (στοιχεία που δεν παρουσιάζονται). Ο υδροβιότοπος SSF24 παρουσίασε τη χαμηλότερη συγκέντρωση Cu, Ni και Pb στην εκροή, έναντι των τριών άλλων υδροβιότοπων. Μόνο για τον Cu, οι SSF12 και SSF24 κατέγραψαν μέσες συγκεντρώσεις εκροής σημαντικά χαμηλότερες από της εισόδου τους και από τις εκροές των υδροβιότοπων FWS12 και FWS24. Όμως σύμφωνα με τον πίνακα 12, η απομάκρυνση για αυτά τα τρία μέταλλα στον υδροβιότοπο SSF24 είναι χαμηλότερη από αυτή του SSF12, και για το Pb χαμηλότερη από αυτή των υδροβιότοπων FWS. Αυτή η διαφοροποίηση μεταξύ των μέσων συγκεντρώσεων και των μέσων απομακρύνσεων οφείλεται στον τρόπο που η κάθε παράμετρος υπολογίστηκε. Το μέσο ποσοστό είναι η μέση τιμή των ποσοστών που επιτυγχάνονται από κάθε υδροβιότοπο, σε κάθε χωριστό γεγονός δειγματοληψίας, όπου υπήρξε μια άμεση σύγκριση μεταξύ των τιμών της εισροής και της εκροής του συγκεκριμένου γεγονότος. Κατά συνέπεια, σε μερικές περιπτώσεις είναι δυνατό (κάτι που εμφανίστηκε και για τα τέσσερα μέταλλα) στην εκροή να καταγραφεί μια υψηλότερη συγκέντρωση από την εισροή, με συνέπεια μια αρνητική τιμή απομάκρυνσης, η οποία επίσης έχει αναφερθεί από τους Scholes et al (1998). Οι συγγραφείς αυτοί πρότειναν ότι αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι αποδόσεις απομάκρυνσης υπολογίζονται από μικρά φορτία και επομένως μικρές παραλλαγές τιμών ενισχύονται ουσιαστικά. Οι Mungur et al (1995) προτείνουν ότι η απελευθέρωση μεγάλων ποσών μετάλλων από τους υδροβιότοπους, υψηλότερων από το εισερχόμενο ποσό HRO, θα μπορούσε να εξηγηθεί με το ξέπλυμα του ιζήματος μετά από ένα γεγονός έντονης βροχόπτωσης. Αυτό θα μπορούσε να έχει επιπτώσεις στην

υπολογισμένη μέση τιμή του ποσοστού. Αφ' ετέρου, η μέση τιμή συγκέντρωσης, που δεν περιλαμβάνει μια σύγκριση ενός ίδιου γεγονότος βροχόπτωσης, μπορεί να αποδίδει μια παραπλανητική εικόνα της διαδικασίας επεξεργασίας. Για αυτούς τους λόγους, και οι δύο παράμετροι πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την αξιολόγηση της δυνατότητας απομάκρυνσης μετάλλων των υγροβιότοπων.

Για το Zn υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των εκροών των υγροβιότοπων και της συγκέντρωσης HRO κατά τη διάρκεια της περιόδου 2006/2007, η οποία καταγράφει μια μέση τιμή 243 $\mu\text{g l}^{-1}$ (πίνακας 10). Το ποσοστό απομάκρυνσης για το Zn στον τεχνητό υγροβιότοπο SSF24 είναι υψηλότερο από αυτό του αντίστοιχου τεχνητού υγροβιότοπου SSF12 και των υγροβιότοπων FWS αλλά οι μέσες τιμές συγκέντρωσης για SSF24 δεν είναι σημαντικά διαφορετικές σε σχέση με τους άλλους τρεις υγροβιότοπους. Σύμφωνα με τον Tuccillo (2006), ο Zn και ο Cu στις απορροές HRO, είτε παραμένουν αδιάλυτοι, είτε βρίσκονται σε σωματιδιακή φάση σε σωματίδια μεγέθους μεγαλύτερων από 5 μm , κάτι που οδηγεί στην αυξανόμενη απομάκρυνση αυτών των δύο μετάλλων έναντι του Ni και του Pb, όταν πραγματοποιείται η επεξεργασία των βρόχινων απορροών. Παρόμοια αποτελέσματα καταγράφηκαν για το Zn κατά τη διάρκεια της περιόδου Αυγούστου – 2006 Σεπτεμβρίου 2005 με τη μέση συγκέντρωση εισόδου 259 $\mu\text{g l}^{-1}$, και τον υγροβιότοπο SSF12 να καταγράφει το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης και τη χαμηλότερη συγκέντρωση εκροής. Παρόμοιες χαμηλές αποδόσεις έχουν καταγραφεί επίσης από τους Maltby et al (1995) και Scholes et al (1998) και έχουν εξηγηθεί με βάση: α) ξέπλυμα των ιζημάτων λόγω των γεγονότων έντονων βροχοπτώσεων, β) διαφορετική διαμόρφωση/τύπος των υγροβιότοπων συμπεριλαμβανομένου του τύπου συστήματος (FWS, SSF, ή και τα δύο), γ) μεγάλη διακύμανση των τιμών εισόδου (ο πιθανότερος παράγοντας στην περίπτωση μας), και δ) προβλημάτων λειτουργίας και κατασκευής (που δεν εμφανίστηκαν εδώ).

Εάν η απομάκρυνση μετάλλων συσχετιστεί με την απομάκρυνση TSS (σχήμα 28), τότε τα μέταλλα που αφαιρέθηκαν από τους υγροβιότοπους οφειλόταν πιθανώς σε εκείνα που συνδέθηκαν με στερεά που διηθήθηκαν είτε καθιζάνουν στα συστήματα, παράγοντας κάποιο ίζημα (Mungur et al, 1995 Prestes et al, 2006 Tuccillo, 2006). Πρέπει να υπάρξει ένα πολύ μικρό μέρος των μετάλλων που συνδέθηκαν είτε με το

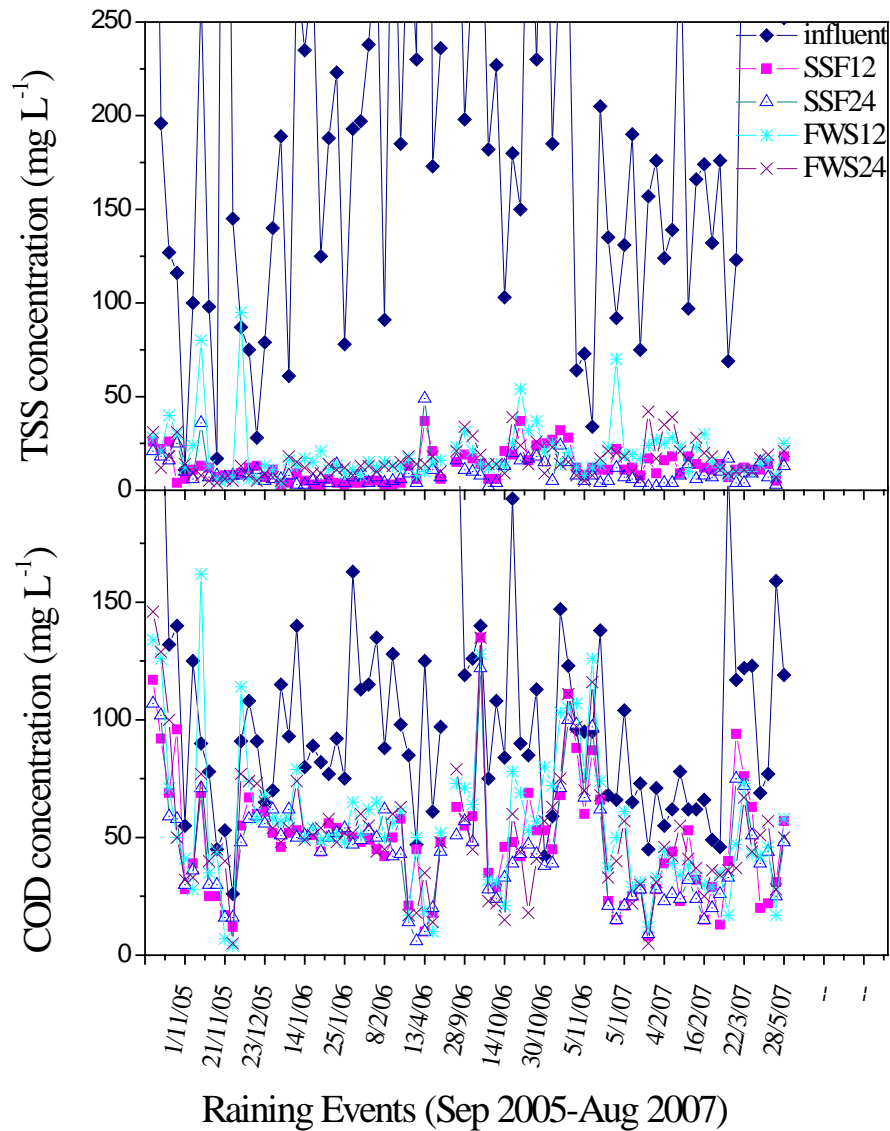
υπόστρωμα (ειδικά στα συστήματα FWS) είτε με πρόσληψη τους από τα φυτά εντούτοις, τα διαθέσιμα στοιχεία δεν μπορούν να υποστηρίξουν αυτήν την θεωρία. Ένα μικρό πλεονέκτημα μπορεί να δοθεί στα συστήματα SSF και ειδικά στο σύστημα SSF24, το οποίο δεν πρέπει πάλι να θεωρηθεί σημαντικό (τουλάχιστον και για τα τέσσερα μέταλλα). Η ανωτερότητα των συστημάτων SSF υποστηρίχθηκε επίσης από συμπεράσματα από τον υδροβιότοπο SSF στο Brentwood του UK έναντι του υδροβιότοπου στο Dagenham τύπου FWS (Scholes et al, 1998). Οι Mungur et al (1995) πρότειναν ότι τα φυτά που ξεραίνονται ή νεκρώνονται (ένα αναπόφευκτο φαινόμενο κατά τη διάρκεια της ξηράς θερινής περιόδου στην περιοχή της Μεσογείου) θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην απελευθέρωση μετάλλων κατά τη διάρκεια του πρώτου επεισοδίου βροχής, κάτι όμως που δεν καταγράφηκε εδώ.

4.1.4 Απομάκρυνση των PAHs που περιέχονται στις υδάτινες απορροές των αυτοκινητοδρόμων

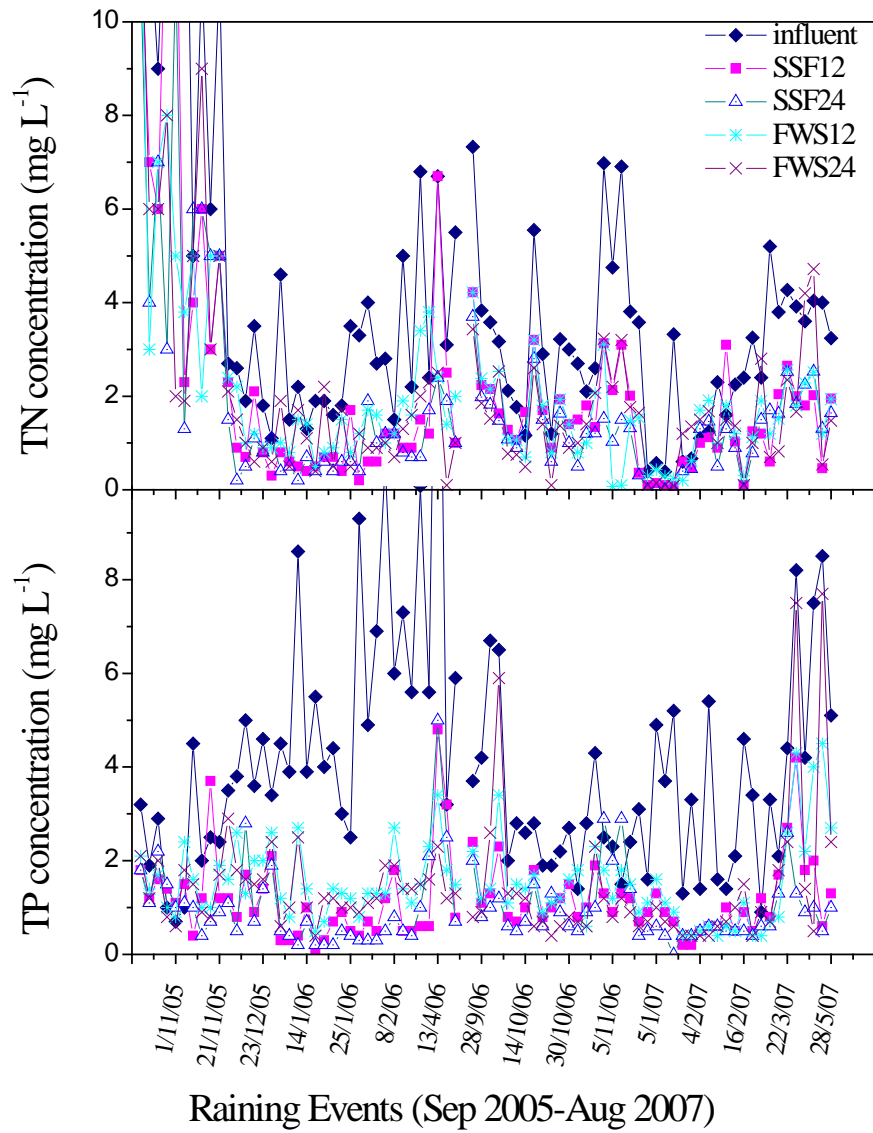
Σύμφωνα με τον πίνακα 14, οι μέσες τιμές συγκέντρωσης για τα PAHs (και για Σ6 και για το Σ16 ενώσεων) στην εκροή είναι στατιστικά διαφορετικές από αυτές της εισροής και για τους δύο υποεπιφανειακής ροής υδροβιοτόπους. Αφ' ετέρου, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ της εισροής και της εκροής των υδροβιοτόπων FWS. Οι Aryal et al (2005) ανέφεραν διακύμανση των Σ16 PAHs κατά τη διάρκεια της αρχικής απορροής 3 mm. σε διαφορετικά γεγονότα βροχόπτωσης μεταξύ 1,3 και 13,1 $\mu\text{g l}^{-1}$. Οι Ngabe et al (2000) διαπίστωσαν ότι η μέση συγκέντρωση του αθροίσματος των (Σ14) PAHs στην απορροή της πόλης Κολούμπια ήταν 5,59 $\mu\text{g l}^{-1}$. Η κατανομή των PAHs στην εισροή των διαφορετικών υδροβιοτόπων παρουσιάζεται στο σχήμα 27. Μια πλειονότητα ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους παρατηρήθηκε: φαινανθρένιο (3 δακτύλιοι) περιλαμβάνει το 48% και το ανθρακένιο (3 δακτύλιοι) το 32%, Επιπλέον το φλουρανθένιο, το πυρένιο και το χρυσένιο ανιχνεύθηκαν επίσης σε αξιοσημείωτες συγκεντρώσεις. Αυτές οι πέντε ενώσεις αποτέλεσαν το 95% του συνόλου των PAHs. Οι Blanchard et al (2004) εξέτασαν την κατανομή των PAHs στα υγρά απόβλητα από την περιοχή του Παρισιού και διαπίστωσαν ότι το φαινανθρένιο,

το ναφθαλένιο, το φλουαρανθένιο το πυρένιο και το χρυσένιο αποτέλεσαν το 92% του συνολικού ποσού.

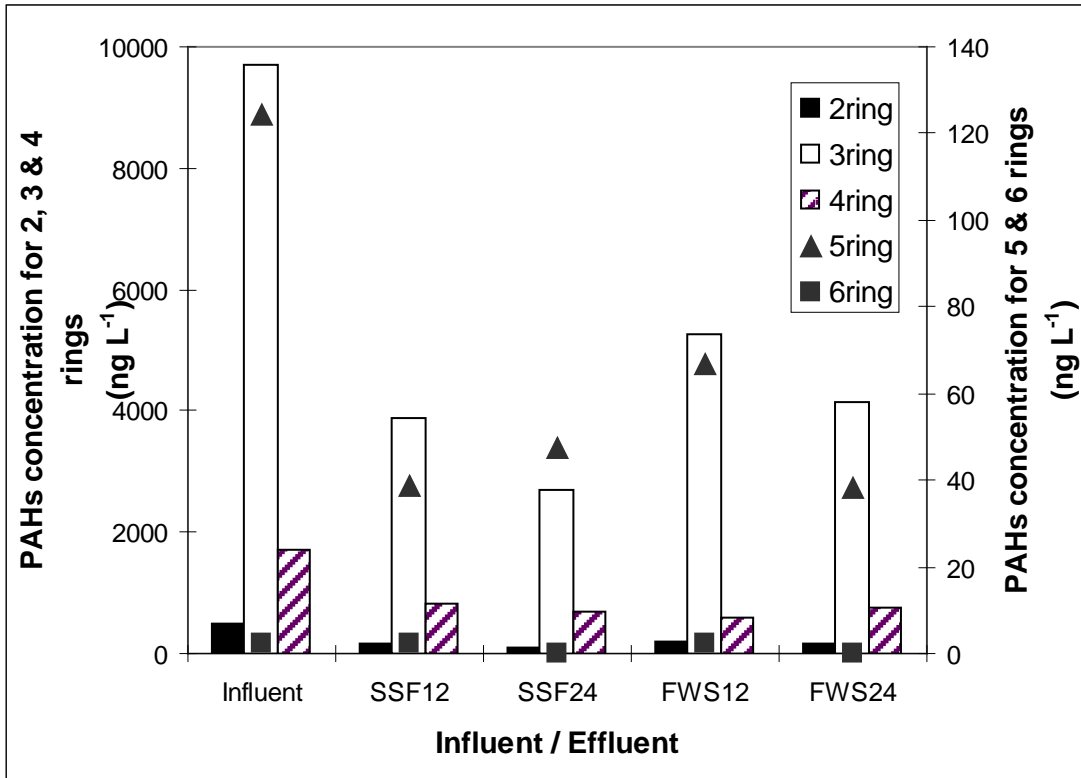
Μέχρι σήμερα καμία μελέτη δεν έχει εστιάσει στην απομάκρυνση PAHs σε πραγματικού μεγέθους επεξεργασία με τεχνητούς υδροβιότοπους για ΗΡΟ. Οι Machate et al (1997), χρησιμοποιώντας ένα συνθετικό απόβλητο που περιείχε φαινανθρένιο, που επεξεργάστηκε σε οριζόντιο-κάθετης ροής κλίνη με μακρόφυτα, βρήκαν μια απομάκρυνση της τάξης του 99.9%. Οι Cottin and Merlin (2007) εξέτασαν την απομάκρυνση πυρενίου σε οργανική ουσία που συλλέχθηκε από την επιφάνεια ενός κάθετης ροής τεχνητού υδροβιότοπου, χρησιμοποιώντας εργαστηριακές δοκιμές που δείχνουν ότι αυτόχθονα βακτήρια είχαν τη μεταβολική ικανότητα να διασπούν το πυρένιο. Αφ' ετέρου, υπάρχουν πολλές μελέτες για τις απομακρύνσεις PAHs σε συστήματα εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων. Μια ευρεία μελέτη στο Οντάριο σε 8 PAHs για 37 μονάδες επεξεργασίας παρουσίασε σχεδόν σταθερό ποσοστό αφαίρεσης (79-80%) για όλες τις ενώσεις (Melcer et al, 1995). Οι Jiries et al (2000) ανέλυσαν δέκα έξι PAHs από ακατέργαστα και επεξεργασμένα υγρά απόβλητα και βρήκαν ότι τα ποσοστά απομάκρυνσης τους κυμανθηκάν μεταξύ του 44-100% για κάθε μεμονωμένα PAH.



Σχήμα 28. Οι συγκεντρώσεις TSS και COD στις εκροές των τεσσάρων υδροβιότοπων σε σχέση με τις τιμές των συγκεντρώσεων εισροής στους τέσσερις υδροβιότοπους σε σχέση με αυτό της εισροής για τα δυο χρόνια που παρακολουθούνταν τα συστήματα.



Σχήμα 29. Οι συγκεντρώσεις TN και TP στις εκροές των τεσσάρων υγροβιοτόπων σε σχέση με τις τιμές εισόδου δηλ. των εισροών στα συστήματα.



Σχήμα 30. Η διακύμανση των PAHs στην είσοδο και έξοδο των τεχνητών υγροβιότοπων κατά τη διάρκεια λειτουργίας ενός χρόνου.

Πίνακας 10. Χαρακτηριστικές τιμές των ποιοτικών παραμέτρων για την εισροή και την εκροή από κάθε υγροβιότοπο για την περίοδο από Σεπτέμβριος 2006 - Αύγουστος 2007

Παράμετροι	Είσοδος			SSF12			SSF24			FWS12			FWS24		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
COD (mg L ⁻¹)	99♣	42	256	48*	8	135	44*	9	112	55*	12	128	50*	5	135
TSS (mg L ⁻¹)	199♣	34	400	15*	5	37	9*	2	24	21*	8	70	18*	5	42
pH	-	8.31	6.75	-	7.02	7.71	-	7.01	7.43	-	7.1	7.57	-	7.11	7.57
EC (mS cm ⁻¹)	0.172	0.014	0.295	0.321	0.127	0.663	0.365	0.221	0.630	0.237	0.093	0.487	0.374	0.198	0.785
TN (mg L ⁻¹)	3.0♣	0.4	7.3	1.5*	0.1	4.2	1.2*	0.0	3.7	1.5*	0.7	4.4	1.5*	0.1	3.2
N-NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	0.6♣	0.2	0.9	0.2*	0.1	0.7	0.3*	0.1	0.5	0.4♣	0.1	1	0.4♣	0.1	0.9
TP (mg L ⁻¹)	3.4♣	0.5	8.5	1.2*	0.2	4.2	0.9*	0.4	4.5	1.5*	0.3	4.3	1.4*	0.4	7.7
Cu (μg L ⁻¹)	53*	4	226	30*	9	211	27*	0	200	37*	2	224	41*	3	209
Ni (μg L ⁻¹)	83*	11	281	76*	2	205	71*	0	186	97*	13	219	77*	1	187
Pb (μg L ⁻¹)	56*	7	173	43*	3	120	35*	2	85	41*	0	98	39*	0	88
Zn (μg L ⁻¹)	243*	109	667	69*	12	148	60*	6	127	122*	14	218	75*	5	137
PAHs Σ6 (μg L ⁻¹)	0.51*	0.07	1.45	0.27*	0.01	1.76	0.19*	0.01	0.79	0.25*	0.01	0.48	0.22*	0.04	0.88
PAHs Σ16 (μg L ⁻¹)	12.01*	2.66	22.19	4.91*	0.13	15.50	3.54*	0.29	17.01	6.13*	1.71	10.95	5.10*	0.59	15.04

♣, *: In each row for each parameter, mean values followed by a different symbol are significantly different (p < 0.05).

Πίνακας 11. Μέσα ποσοστά (%) απομακρύνσεων μη –σημειακών ρύπων

	SSF12	SSF24	FWS12	FWS24
Παράμετρος	Σεπτέμβριος 2005 – Αύγουστος 2006			
COD	49	51	41	44
TSS	91	90	83	88
TN	55	59	44	51
N-NO ₃ ⁻	71	72	53	60
TP	61	67	53	59
Παράμετρος	Σεπτέμβριος 2006 – Αύγουστος 2007			
COD	49	54	39	45
TSS	90	94	87	89
TN	45	56	43	42
N-NO ₃ ⁻	66	59	39	45
TP	59	64	54	60

Πίνακας 12. Μέσα ποσοστά (%) απομάκρυνσης βαρέων μετάλλων και PAHs

	SSF12	SSF24	FWS12	FWS24
Παράμετρος	Σεπτέμβριος 2005 – Αύγουστος 2006			
Cu	61	56	31	33
Ni	49	41	35	21
Pb	42	28	30	57
Zn	63	58	26	53
Παράμετρος	Σεπτέμβριος 2006 – Αύγουστος 2007			
Cu	53	58	35	45
Ni	9	14	5	8
Pb	23	37	20	27
Zn	72	75	74	69
PAHs Σ6	47	63	51	57
PAHs Σ16	59	71	49	58

4.2 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΣΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

4.2.1 Φυσικοχημική σύγκριση ποιοτικών παραμέτρων νερού

Ο στόχος αυτού του τμήματος της διατριβής ήταν να αξιολογηθεί και να συγκριθεί η απόδοση των διαφορετικών μη συμβατικών συστημάτων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων με ελεγχόμενα πειράματα υπό μεσογειακές κλιματικές συνθήκες. Τα πέντε δοκιμαστικής κλίμακας συστήματα επεξεργασίας που κατασκευάστηκαν ήταν: τεχνητοί υγροβιότοποι α) FWS, β) HSF, συστήματα προκολλημένης βιομάζας γ) RBC, Δ) PBF και ένα χαλικό φίλτρο Ε) GF. Όλες οι μονάδες λειτούργησαν παράλληλα σε υψηλές συνθήκες φόρτισης που κυμάνθηκαν σε έξι διαφορετικές περιόδους διαφορετικών φορτίσεων. Προκειμένου να μειωθούν οι απαιτήσεις εδάφους για τους τεχνητούς υγροβιότοπους έτσι ώστε είναι ανταγωνιστικοί με τα συμπανή συστήματα αντιδραστήρων βιομάζας, οι υγροβιότοποι FWS και HSF σχεδιάστηκαν ώστε να λειτουργήσουν και αυτοί σε υψηλές υδραυλικές ταχύτητες φόρτισης.

4.2.2 Γενικές παρατηρήσεις

Το σχήμα 35 παρουσιάζει τη διακύμανση των συγκεντρώσεων ρύπων και ολικών αιωρούμενων στερεών στις τέσσερις μονάδες για ολόκληρη την περίοδο λειτουργίας της. Σε αυτήν την μελέτη, 48-51 δείγματα είχαν συλλεχθεί για να αναλυθούν ως προς τις παραμέτρους COD, TSS, TN, TP, NO_3^- -N και NH_4^+ -N για κάθε μονάδα στην οποία εφαρμόστηκαν διαφορετικές HLRs. Η σύνθεση των εισερχόμενων υγρών αποβλήτων ποίκιλε σε όλη τη μελέτη (πίνακας 11). Τα χαρακτηριστικά αυτά της εισροής είναι τυπικά για πρωτοβάθμια επεξεργασμένα αστικά υγρά απόβλητα (Korkusuz et al., 2007; Caselles-Osorio et al., 2007b).

Οι συγκεντρώσεις για τις παραμέτρους COD, TSS, TN, TP, NO_3^- -N και NH_4^+ -N παρουσιάζονται στον πίνακα 16 και το ποσοστό απομάκρυνσης για τα τέσσερα συστήματα και τα έξι διαφορετικά μεγέθη φόρτισης παρουσιάζονται στο σχήμα 36. Στο

Σχήμα 37 παρουσιάζονται τα διαγράμματα του pH, της αγωγιμότητας και της θερμοκρασίας αέρα κατά τη διάρκεια της περιόδου λειτουργίας των μονάδων. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι γενικά για όλες τις μονάδες η τιμή του pH αυξήθηκε περίπου 0.4-0.8 μονάδες σε σχέση με την τιμή pH των εισερχόμενων αποβλήτων. Η αγωγιμότητα μειώθηκε ελαφρώς από 1,60 έως 1,40 mS cm⁻¹ για τις δύο μονάδες προσκολλημένης βιομάζας και παρέμεινε σχεδόν σταθερή για τους δύο τεχνητούς υγροβιότοπους. Οι τιμές ηλεκτρικής αγωγιμότητας (EC), στους τεχνητούς υγροβιότοπους εξαρτώνται από διάφορες παραμέτρους όπως τη σύνθεση του χώματος ή του χαλκικού, την εξατμισοδιαπνοή, την απόδοση της επεξεργασίας κ.λπ. Κανονικά, μετά την επεξεργασία υγρών αποβλήτων οι τιμές EC πρέπει να μειώνονται, όμως στους τεχνητούς υγροβιότοπους η εξατμισοδιαπνοή και αλληλεπιδράσεις μεταξύ εδάφους και υδατικής φάσης έχουν επιπτώσεις στις τελικές τιμές EC. Η θερμοκρασία αέρα ήταν σχεδόν σε όλη τη διάρκεια πάνω από 12 °C. Η μικρή διακύμανση 0-3 °C μεταξύ της θερμοκρασίας του αέρα και των υγρών αποβλήτων αναμενόταν (Akratos και Tsihrintzis, 2007).

4.2.3 Απομάκρυνση οργανικής ουσίας

Οι συγκεντρώσεις εξόδου των COD και TSS διέφεραν σημαντικά μεταξύ των συστημάτων και εξαρτώνται επίσης από την ταχύτητα φόρτισης, αλλά η εξάρτηση της ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης (Hydraulic Loading Rate, HLR) διέφερε μεταξύ των συστημάτων, όπως παρουσιάζονται από το σημαντικό όρο συσχέτισης στη διπλής κατεύθυνσης δοκιμή ANOVA (Πίνακας 17). Οι τιμές των εκροών COD και TSS ήταν σημαντικά πιο υψηλές για το σύστημα του FWS υγροβιότοπου έναντι των άλλων συστημάτων.

Οι τιμές COD και TSS δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ των μονάδων HSF, RBC και PBF για όλες τις ταχύτητες φόρτισης που εφαρμόστηκαν (Πίνακας 16). Αφ' έτερου, η εκροή του FWS υγροβιότοπου, βρέθηκε στις περισσότερες περιπτώσεις να έχει στατιστικά σημαντική διαφορετική συγκέντρωση από τα άλλα τρία συστήματα. Η μέση απομάκρυνση του HSF υγροβιότοπου για το COD και TSS ήταν 76,9% και 80,7%, 74,7% και 83,4%, 61,0% και 68,4% για χαμηλές (50-75% της αρχικά σχεδιασμένης), και υψηλής (125-175% της σχεδιασμένης) HLR φόρτισης (Σχήμα 36). Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες που εστίασαν στην επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων με HSF υγροβιότοπους

που παρουσιάζουν απόδοση απομάκρυνσης της τάξης του 75% για το COD και 80% για τα TSS (Vyamazal, 2005, Babatunde et al, 2008). Επιπλέον, τα αποτελέσματά μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι μια πιθανή υποτίμηση στο σχεδιασμό των HLRs μπορεί να οδηγήσει σε μια ιδιαίτερη μείωση των απομακρύνσεων COD και TSS. Τα συστήματα RBC και PBF απομάκρυναν 86.7%-90.4%, 95.1%-95.4% και 74.6%-72.0% του COD για χαμηλές και υψηλές τιμές φόρτισης (HLR) αντίστοιχα. Οι υψηλές απομακρύνσεις που παρατηρούνται στις φορτίσεις κοντά στο 100% της μέγιστης σχεδιαστικά προβλεπόμενης HLR, για αυτά τα συστήματα επεξεργασίας, συμφωνούν καλά με τα στοιχεία από τη βιβλιογραφία (Gebaga, 1999 Ayoub and Saikaly, 2004). Γενικά, η απομάκρυνση του COD μειώθηκε σε όλα τα συστήματα για HLRs υψηλότερες από τη φόρτιση που οι υγροβιότοποι ήταν σχεδιασμένοι να λειτουργήσουν. Η μειωμένη δυνατότητα απομάκρυνσης COD των συστημάτων επεξεργασίας που αντιμετωπίζουν την πίεση υπερφορτίσεων HLRs είναι ένα αξιοπρόσεκτο μειονέκτημα επειδή στις υψηλές περιοχές τουριστών όπως το νησί της Κρήτης υπάρχουν σημαντικές διακυμάνσεις των ποσοτήτων των εισερχόμενων σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων μεταξύ του χειμώνα (χαμηλή περίοδος τουριστών) και του καλοκαιριού (εξαιρετικά υψηλή περίοδος τουριστών). Η μονάδα με τη χαμηλότερη απόδοση απομάκρυνσης για το COD ήταν το FWS (57,0%, 32,3% και 20,1%). Αυτά τα ποσοστά απομάκρυνσης COD ήταν χαμηλότερα από τις μέσες τιμές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Παραδείγματος χάριν τεχνητός υγροβιότοπος, με τα φυτά *Typha domingensis* και *P. australis* που επεξεργάζονταν αστικά υγρά απόβλητα στην Ισπανία απομάκρυναν 87% του εισερχόμενου COD (Gomez Cerezo et al, 2001). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν από άλλους ερευνητές στις ΗΠΑ (Verhoeven και Meulemann, 1999) και στην Ευρώπη (Brix, 1994b Tsihrintzis, et al 2007). Εντούτοις, υπάρχουν και κάποιοι άλλοι ερευνητές που βρήκαν αποδόσεις απομάκρυνσης COD σχετικά κοντά με αυτές της μελέτης μας. Ένα σύστημα υγροβιότοπου σε μια αγροτική περιοχή στην Ισπανία που σχεδιάστηκε για την επεξεργασία λυμάτων με *Typha latifolia* και το *Salix atrocinerea* απομάκρυνε μόνο το 60% του εισερχόμενου COD οι Ansola et al (2003) και Rousseau et al (2004) ανέφεραν μέσες τιμές αφαίρεσης COD 61% για τα συστήματα επεξεργασίας FWS στην περιοχή της Φλαμανδικής περιοχής. Οι υδραυλικές ταχύτητες φόρτισης που εφαρμόστηκαν σε αυτήν την μελέτη προκειμένου να μειωθούν οι απαιτήσεις εδάφους ήταν υπερβολικά υψηλές, σε σχέση με τις περισσότερες εργασίες. Η υψηλή οργανική φόρτιση της εισροής ήταν ο σημαντικότερος λόγος για τη πολύ μειωμένη

δυνατότητα πραγματοποίησης επεξεργασίας του υγροβιότοπου FWS. Ο Hiley (1995) ανέφερε ότι οι περισσότεροι υγροβιότοποι έχουν περιοριστική συγκέντρωση οξυγόνου και ότι η απόδοση τους ενισχύεται εάν παρέχεται πρόσθετος αερισμός. Η απελευθέρωση οξυγόνου από τις ρίζες των μακροφύτων φαίνεται να είναι πολύ λιγότερη ποσότητα από το ποσό που απαιτείται για την αερόβια αποδόμηση της χημικής απαίτησης του οξυγόνου στα λύματα (Brix, 1990, Brix and Schierup, 1990).

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 38, υπάρχει ένας συσχετισμός μεταξύ του ποσοστού φόρτισης και των τιμών εκροών των αναλυόμενων παραμέτρων. Παρατηρήθηκε ότι υπάρχει μια θετική γραμμική σχέση μεταξύ του αυξανόμενου φορτίου COD ή της συγκέντρωσης TSS. Στην περίπτωση των συστημάτων RBC και PBF παρατηρήσαμε σημαντικά δυσμενέστερα αποτελέσματα στη συγκέντρωση οργανικής ουσίας με την αύξηση του φορτίου. Αφ' ετέρου τα δύο συστήματα των τεχνητών υγροβιοτόπων αποδείχθηκαν λιγότερο ευαίσθητα στις αλλαγές των διακυμάνσεων για υψηλές φορτίσεις HLRs.

4.2.4 Αφαίρεση θρεπτικών ουσιών

Η ποιότητα των εκροών όσον αφορά το άζωτο ήταν καλύτερη για τις δύο τεχνολογίες προσκολλημένης βιομάζας, ενώ οι τιμές αζώτου ήταν μέτριες για τον υγροβιότοπο HSF και ακόμα υψηλές για FWS (Πίνακας 16). Οι συγκεντρώσεις νιτρικών ήταν σημαντική υψηλότερες για τα συστήματα RBC και PBF απ' ό,τι για τους δύο τεχνητούς υγροβιότοπους. Ακόμα κι αν οι τιμές συγκέντρωσης της αμμωνίας για RBC και PBF ήταν χαμηλότερες απ'ό,τι για τους υγροβιοτόπους FWS και HSF, στατιστικά δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά. Οι μέσες αποδόσεις απομάκρυνσης του ολικού αζώτου των δύο προσκολλημένης βιομάζας συστημάτων κάτω από τις ονομαστικές φορτίσεις της μέγιστης χωρητικότητας (100%) της φόρτισης σε τιμές HLR, σύμφωνα με τη σχεδιαστική δυνατότητα επεξεργασίας ήταν 62,3% για το RBC σύστημα και 58,1% για το PBF. Αυτά τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με προηγούμενες αναφερόμενες τιμές απομάκρυνσης αζώτου, της τάξης περίπου 45-65% (Tawfik et al, 2006 Griffin et al,, 1999). Ένα ενδιαφέρον σημείο που πρέπει να τονιστεί ήταν ότι η απομάκρυνση αζώτου αυτών των συστημάτων μειώθηκε και για χαμηλή και για υψηλή λειτουργία σε τιμές φόρτισης HLRs. Σύμφωνα με τον πίνακα 20, για χαμηλές τιμές HLRs (50-75%) αυτά τα συστήματα είχαν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις

αμμωνιακού αζώτου $\text{NH}_4\text{-N}$, ενώ οι υψηλότερες συγκεντρώσεις $\text{NO}_3\text{-N}$ δείχνουν ότι η διαδικασία της απομάκρυνσης νιτρικών ήταν το καθορίζον την ταχύτητα στάδιο στην βιολογική απομάκρυνση του αζώτου. Αφ' ετέρου κατά τη διάρκεια υψηλών ταχυτήτων υδραυλικών φορτίσεων, η νιτροποίηση επιβραδύνθηκε σημαντικά αφού οι συγκεντρώσεις νιτρικών ήταν τότε οι χαμηλότερες. Η παρεμπόδιση της διαδικασίας νιτροποίησης κάτω από υψηλές οργανικές ταχύτητες φόρτισης στους αντιδραστήρες βιοφίλμ αναφέρεται και σε διάφορα άλλα άρθρα (Gupta and Gupta, 2001 Sirianuntariboon et al, 2006).

Η σχετικά χαμηλή απόδοση απομάκρυνσης αζώτου των τεχνητών υγροβιότοπων που επεξεργάζονται αστικά υγρά απόβλητα αναφέρεται και σε άλλα άρθρα (Tanner et al., 1999; Rousseau et al., 2004; Brix, 2005). Σε αυτήν την εργασία, η μέση απομάκρυνση TN στα συστήματα FWS και HSF για όλες τις ταχύτητες φόρτισης δεν ξεπέρασε το 12,7% και 27,0%, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου και νιτρικών έδειξαν ότι τόσο η ταχύτητα νιτροποίησης και η ταχύτητα απονιτροποίησης ήταν χαμηλές. Στην πραγματικότητα, οι διαδικασίες που βοηθούν στην απομάκρυνση του συνολικού αζώτου από αυτά τα συστήματα είναι συνήθως χαμηλή και επομένως η απομάκρυνση του TN είναι συνήθως χαμηλή στους ενός σταδίου τεχνητούς υγροβιότοπους (Vymazal, 2007).

Η συγκέντρωση TP μειώθηκε στα συστήματα HSF, RBC και PBF με σχετικά ικανοποιητικές αποδόσεις που κυμαίνονται μεταξύ 40-50%. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σε συμφωνία με προηγούμενες εργασίες που παρατηρούνται αποδόσεις απομάκρυνσης περίπου 25-65% (Chen et Al, 2006, Tsihrintzis et Al, 2007, Vymazal, 2005, Kivaisi, 2001 Yun et al, 2004). Ο υγροβιότοπος FWS βρέθηκε για να έχει τη χαμηλότερη ικανότητα να απομακρύνει το φώσφορο. Το χαμηλό ποσοστό απομάκρυνσης που παρατηρείται στο σύστημα FWS μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι σημαντικότερες σχετικές διεργασίες, εμφανίζονται στα ιζήματα και όχι στην υδάτινη στήλη (Verhoeven και Meuleman, 1999 Kadlec, 2006). Όλα τα εξεταζόμενα συστήματα παρουσιάζουν μια μειωμένη δυνατότητα απομάκρυνσης σε σχέση με το αυξανόμενο εισερχόμενο φορτίο. Εντούτοις αυτή η δυνατότητα φαίνεται να είναι μάλλον ανεξάρτητη από το HLR δείχνοντας ότι ο κύριος μηχανισμός για την απομάκρυνση TP είναι η προσρόφηση σε πορώδη μέσα (Knight et al., 2000; Jing et al., 2001, Vymazal, 2002; Akrotos and Tsihrintzis, 2007).

4.2.5 Απομάκρυνση παθογόνων

Σύμφωνα με τον Πίνακα 22, οι μέσες συγκεντρώσεις παθογόνων βακτηρίων στην εισροή των λυμάτων είναι χαρακτηριστικές για αστικά υγρά απόβλητα (Karathanasis et al., 2003; Decamp and Warren, 2000). Επιπλέον η μέση συγκέντρωση των μυκήτων ήταν $36 \pm 18 \times 10^5$ CFU /100mL. Οι περιττωματικοί δείκτες απομακρύνθηκαν αποτελεσματικά σε όλα τα εξεταζόμενα συστήματα. Οι μέσες αποδόσεις απομάκρυνσης για τα ολικά κολοβακτηρίδια ήταν μεταξύ 1,3 και 2,2 λογαρίθμους. Ο υγροβιότοπος HSF παρουσίασε καλύτερη αποδοχή στην απομάκρυνση παθογόνων από τα άλλα συστήματα με μέσες συγκεντρώσεις εκροών $0,3 \times 10^5$ και $0,4 \times 10^5$ CFU /100mL για FC και FS, αντίστοιχα. Αυτές οι τιμές δείχνουν ότι μόνο ο υγροβιότοπος HSF πέτυχε τα όρια που συστήνονται από τον οργανισμό EPA δηλαδή $1,0 \times 10^5$ CFU /100mL. Αυτές οι αποδόσεις απομάκρυνσης εμφανίζονται να είναι εντός των τιμών που περιγράφονται σε προηγούμενες μελέτες και για τους τεχνητούς υγροβιότοπους (Karathanassis et al., 2003; Ansola et al., 2003; Keffala and Ghrabi, 2005; Ottova et al., 1997; Sleytr et al., 2007) και για τους αντιδραστήρες βιοφίλμ (Sagy and Kott, 1990; Tawfik et al., 2002; Hua et al., 2003).

Η μέση απομάκρυνση των θρεπτικών για τα συστήματα FWS, SSF, βιοδίσκου και Advantex αντίστοιχα ήταν 6%, 21%, 40% και 43% για το άζωτο και 21%, 39%, 41% και 42%, αντίστοιχα για τον φώσφορο. Επιπροσθέτως η απομάκρυνση των ολικών κολοβακτηριδίων σε όλα τα συστήματα δεν ήταν στατιστικά διαφορετική ($P < 0.01$) με μέση απομάκρυνση πάντα μεγαλύτερη από 96%.

4.2.6 Προσομοίωση των αποτελεσμάτων στα πειραματικά μας δεδομένα και εκτίμηση του απαιτούμενου όγκου αντιδραστήρων ή διάστασεων υφροβιοτόπων για ικανή επεξεργασία

Με βάση τα αποτελέσματα από την παράλληλη λειτουργία των συστημάτων έγινε προσομοίωση της κατανάλωσης του κάθε ρύπου από το κάθε σύστημα θεωρώντας κινητική πρώτης τάξης (Rousseau et al., 2004; Jing and Lin, 2004; Stein et al., 2006). Με αυτό τον τρόπο υπολογίστηκαν οι κινητικές σταθερές κατανάλωσης για κάθε ρύπο και για κάθε σύστημα. Γνωρίζοντας πλέον τις σταθερές αυτές ήταν εφικτό να γίνει εικονική εφαρμογή (πρόβλεψη) της απόδοσης των μονάδων για κάθε πιθανό συνδυασμό.

Στη συνέχεια παρουσιάζεται η προσομοίωση των αποτελεσμάτων στα πειραματικά μας δεδομένα. Θεωρούμε ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης του ρύπου (COD, TSS, TN, TP) είναι πρώτης τάξεως και εξαρτάται από την συγκέντρωση του ρύπου.

$$\frac{dC}{dt} = -k_v C \quad \rightarrow \quad \frac{1}{C} dC = -k_v dt$$

$$\int_{C_{in}}^{C_{out}} \frac{1}{C} dC = \int_0^t -k_v dt \quad \rightarrow \quad \ln \frac{C_{out}}{C_{in}} = -k_v t \quad \rightarrow$$

$$C_{out} = C_{in} e^{-k_v t}$$

όπου :

C_{out} : Συγκέντρωση του ρύπου στην έξοδο

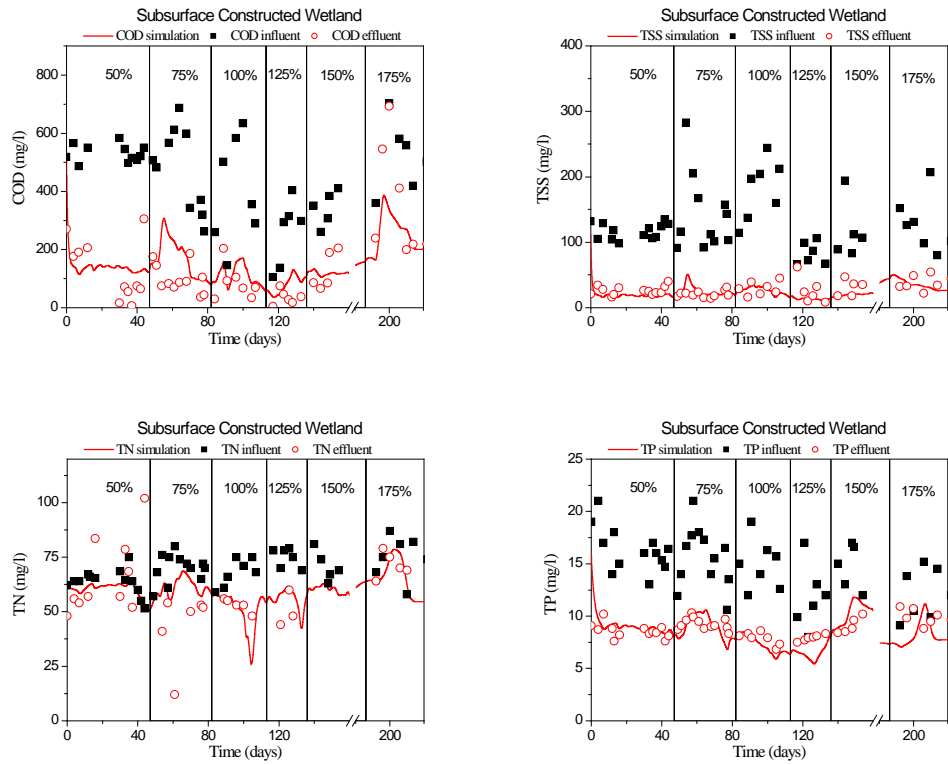
C_{in} : Συγκέντρωση του ρύπου στην είσοδο

k_v : κινητική σταθερά

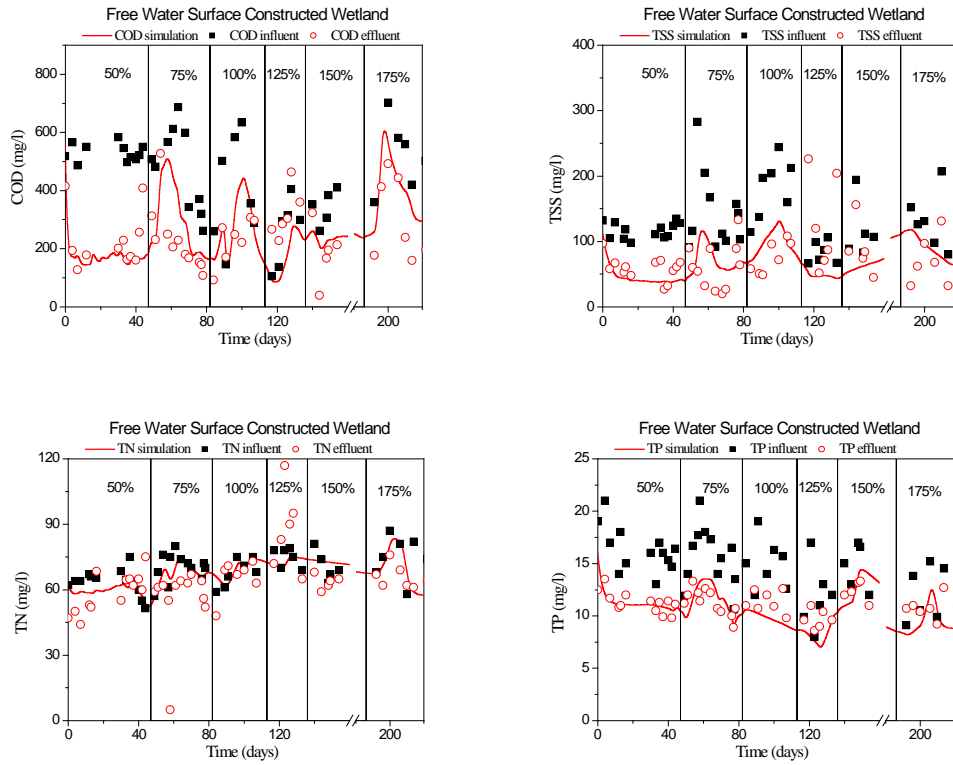
Η σταθερά k_v εξαρτάται από την θερμοκρασία και δίνεται από την εξίσωση Arrhenius

$$\text{Όπως έχει αναφερθεί} \quad k_v = k_{v,20} \times \theta^{(T-20)}$$

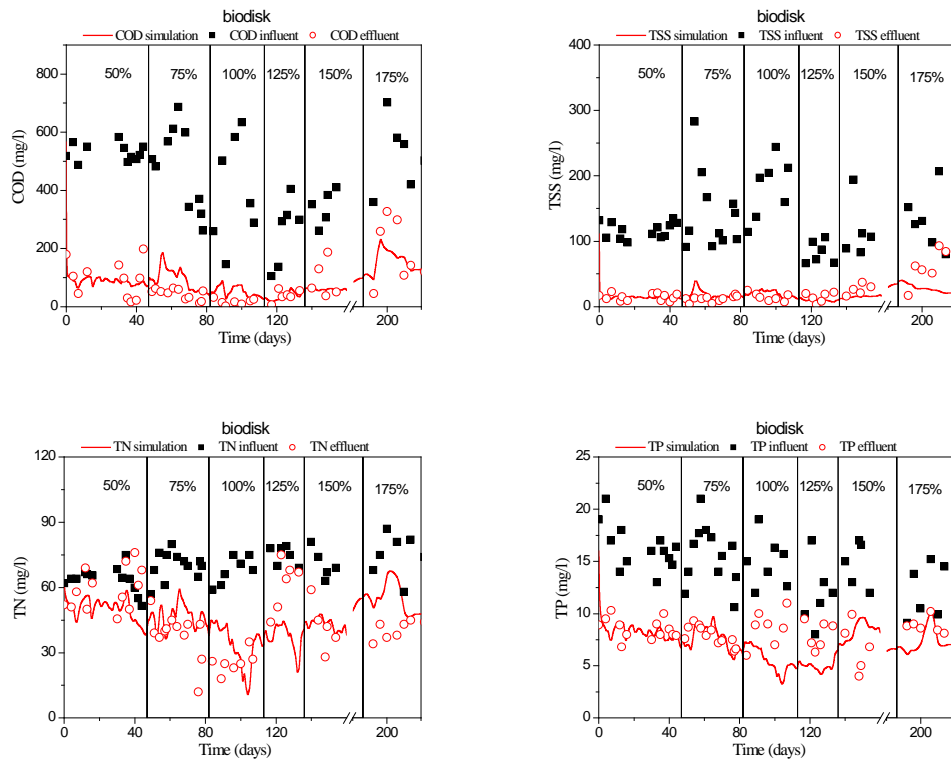
Με τη χρήση του υπολογιστικού προγράμματος Aquasim και δίνοντας δεδομένα θερμοκρασίας, συγκέντρωσης εισόδου, συγκέντρωσης εξόδου και παροχής λυμάτων για διάστημα πάνω από 200 ημέρες υπολογίζουμε τις βέλτιστες τιμές για τις σταθερές $k_{v,20}$ και θ σύμφωνα με τα πειραματικά μας δεδομένα.



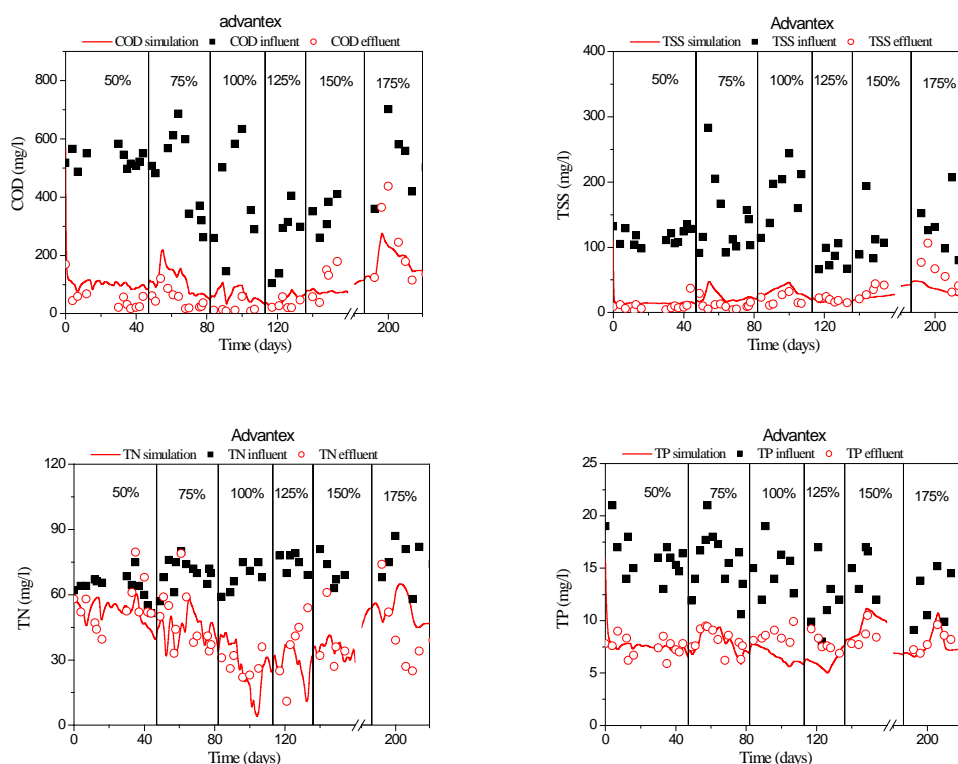
Σχήμα 31. Προσομίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για τον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής (SSF).



Σχήμα 32. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για τον υγροβιότοπο επιφανειακής ροής (FWS).



Σχήμα 33. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για τον βιοδίσκο.



Σχήμα 34. Προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων σε κινητική πρώτης τάξης για την μονάδα Advantex.

Πίνακας 13. Βέλτιστες τιμές των σταθερών $k_{v,20}$ και θ για όλα τα συστήματα.

		SSF		FWS		biodisk		advantex	
		value	std	value	std	value	std	value	std
COD	$k_{v,20}$	1,298	0.016	0,406	0.034	7,766	0.053	4,158	0.042
	θ	1,044	0.008	0,925	0.041	1,081	0.009	1,069	0.009
TSS	$k_{v,20}$	2,400	0.026	0,509	0.049	9,537	0.069	4,884	0.033
	θ	1,068	0.009	0,964	0.044	1,068	0.008	1,017	0.006
TN	$k_{v,20}$	0,068	0.035	0,010	0.013	0,695	0.085	0,503	0.057
	θ	1,213	0.066	0,085	0.000	1,197	0.025	1,271	0.023
TP	$k_{v,20}$	0,334	0.014	0,114	0.008	1,370	0.062	0,853	0.023
	θ	1,041	0.018	0,996	0.026	1,080	0.021	1,028	0.013

Με βάση τις τιμές που υπολογίστηκαν μπορεί να γίνει πρόβλεψη της απόδοσης των συστημάτων για δεδομένο C_{in} και μέση θερμοκρασία T .

$$C_{out} = C_{in} e^{-k_v t}$$

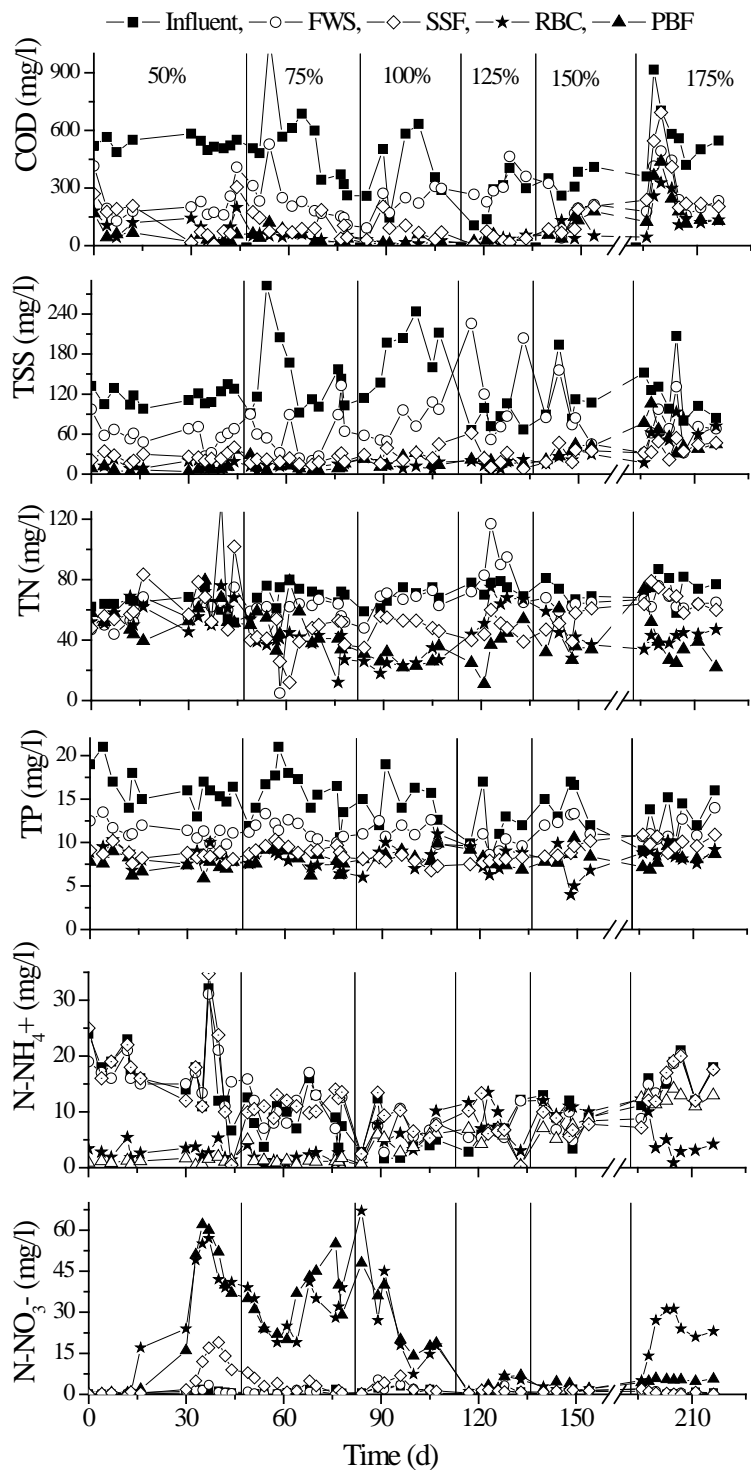
$$k_v = k_{v,20} \times \theta^{(T-20)}$$

Με χρήση των τιμών $k_{v,20}$ του πίνακα 13 μπορεί να γίνει υπολογισμός του χρόνου t που απαιτείται για να επιτύχει δεδομένες τιμές εκροής για κάθε ένα από τους ρύπους ικανοποιώντας της απαιτήσεις. Ο χρόνος αυτός της επεξεργασίας μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι ο ίδιος με τον μέσο υδραυλικό χρόνο παραμονής, επομένως βάση των ταχυτήτων υδραυλικής φόρτισης Q μπορεί να γίνει διαστασιολόγηση των όγκων των βιοαντιδραστήρων και του οφέλιμου όγκου της επεξεργασίας των τεχνητών υγροβιοτόπων, βάση της σχέσης $HRT = Q / V$.

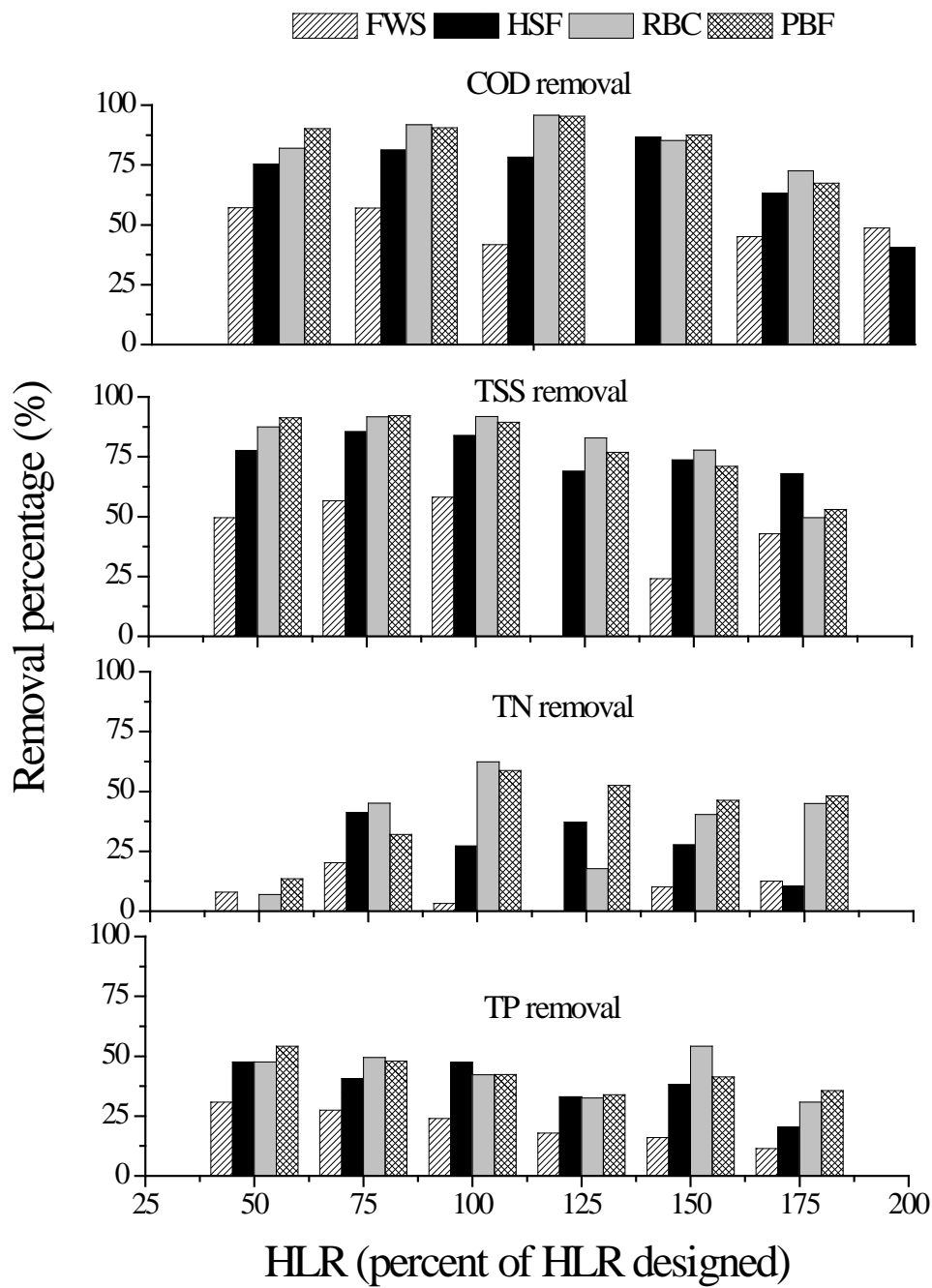
4.2.7 Κριτήρια για την εύρεση του βέλτιστου συστήματος επεξεργασίας

Μια σύγκριση διάφορων κρίσιμων παραμέτρων μεταξύ των εξετασμένων μη συμβατικών συστημάτων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 23. Τα αποτελέσματα βασισμένα στις κατά κεφαλήν τιμές πρότειναν ότι η μέση παραγωγή υγρών αποβλήτων ήταν $0,2 \text{ m}^3$ ανά κάτοικο. Τα ποσοστά απομάκρυνσης υπολογίστηκαν από πειραματικά στοιχεία κατά τη διάρκεια της περιόδου που τα συστήματα φορτίστηκαν με το 100% των σχεδιασμένων HLR της δυναμικότητας επεξεργασίας τους. Σημειωτέον είναι ότι οι απαιτήσεις εδάφους και οι δαπάνες κατασκευής βασισμένες μόνο από την συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία. Η αξία του κόστους κατασκευής για FWS και HSF ήταν 237 και 268 € κάτοικο⁻¹ αντίστοιχα ενώ οι Rousseau et al (2004) βρήκαν σημαντικά υψηλότερο μέσο κόστος κατασκευής των τεχνητών υγροβιοτόπων που επεξεργάζονταν υγρά απόβλητα στην περιοχή της Φλαμανδικής περιοχής (392 και 1258 € κάτοικο⁻¹ για FWS και HSF, αντίστοιχα). Οι υπερφορτισμένοι τεχνητοί υγροβιοτόποι σε αυτήν την

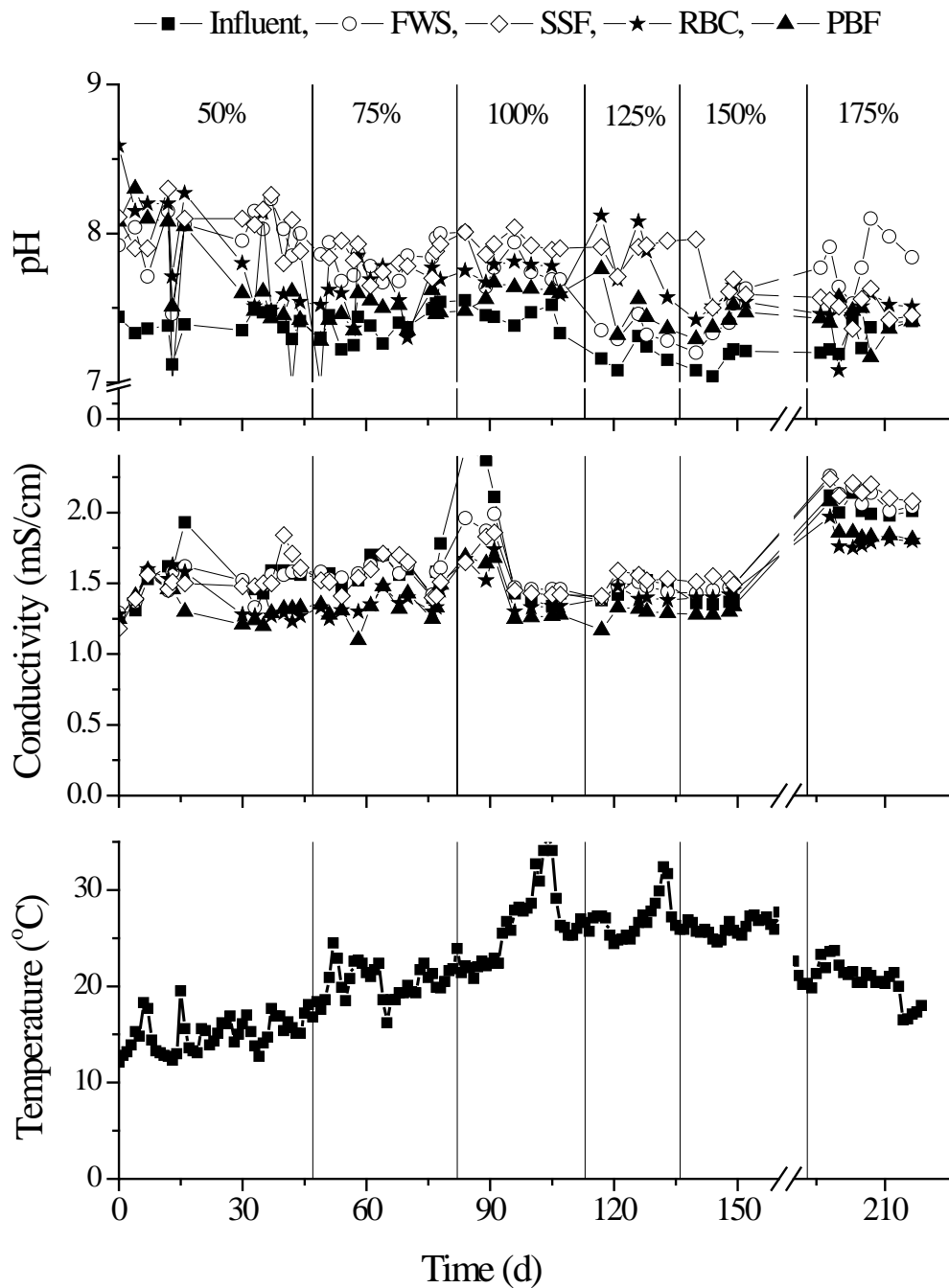
εργασία κοστίζουν λιγότερο και ως αρχική δαπάνη εγκατάστασης λόγω της χαμηλότερης απαίτηση εδάφους. Επιπλέον, οι Rousseau et al (2004) βρήκαν ένα περιβαλλοντικό αντίκτυπο για FWS και HSF 7,0 και 4,8 m² κάτοικο⁻¹ αντίστοιχα ενώ σε αυτήν την εργασία η απαίτηση για αγορά εδάφους ήταν σημαντικά χαμηλότερη. Αν και ο υγροβιότοπος FWS βρέθηκε να έχει το χαμηλότερη κατασκευαστικό κόστος και γενικά πολύ χαμηλές απαιτήσεις, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της εκροής είναι σημαντικά χειρότερα απ'ό,τι από τα άλλα τρία συστήματα. Η προσπάθεια να λειτουργήσει αυτό το σύστημα σε υψηλότερο HLRs προκειμένου να μειωθούν οι απαιτήσεις εδάφους, είχε σημαντική αρνητική επίπτωση στα χαρακτηριστικά της εκροής. Αφ' ετέρου τα συστήματα RBC και PBF, που απαιτούν τη μικρότερη περιοχή εδάφους (0,2-0,3 μ² κάτοικο⁻¹), παρουσίασαν περίπου ίδιες τιμές εκροής για τις συγκεντρώσεις οργανικής ουσίας και θρεπτικών. Οι αρκετά χαμηλές απαιτήσεις ενέργειας για το PBF σε σύγκριση με το RBC, ισορροπούν τις σχετικά υψηλότερες δαπάνες κατασκευής. Το κόστος κατασκευής για HSF είναι σημαντικό χαμηλότερο από εκείνο για τις δύο προσαρτημένης βιομάζας μονάδες και επιπρόσθετα πετυχαίνει περίπου τα ίδια ποσοστά απομάκρυνσης για το COD, TSS και TP. Συνεπώς, ο υγροβιότοπος τύπου HSF που σχεδιάστηκε και που χρησιμοποιήθηκε κάτω από υψηλές τιμές φόρτισης HLRs παρουσίασε και την αποτελεσματικότερη επεξεργασία υγρών αποβλήτων και χαμηλές απαιτήσεις εδάφους. Παρόλα αυτά η δυνατότητα απομάκρυνσης αζώτου είναι κατά πολύ χαμηλότερη. Κατά συνέπεια, η επιλογή του βέλτιστου συστήματος επεξεργασίας εξαρτάται από τις συνολικές απαιτήσεις σε σχέση με την απόδοση της επεξεργασίας.



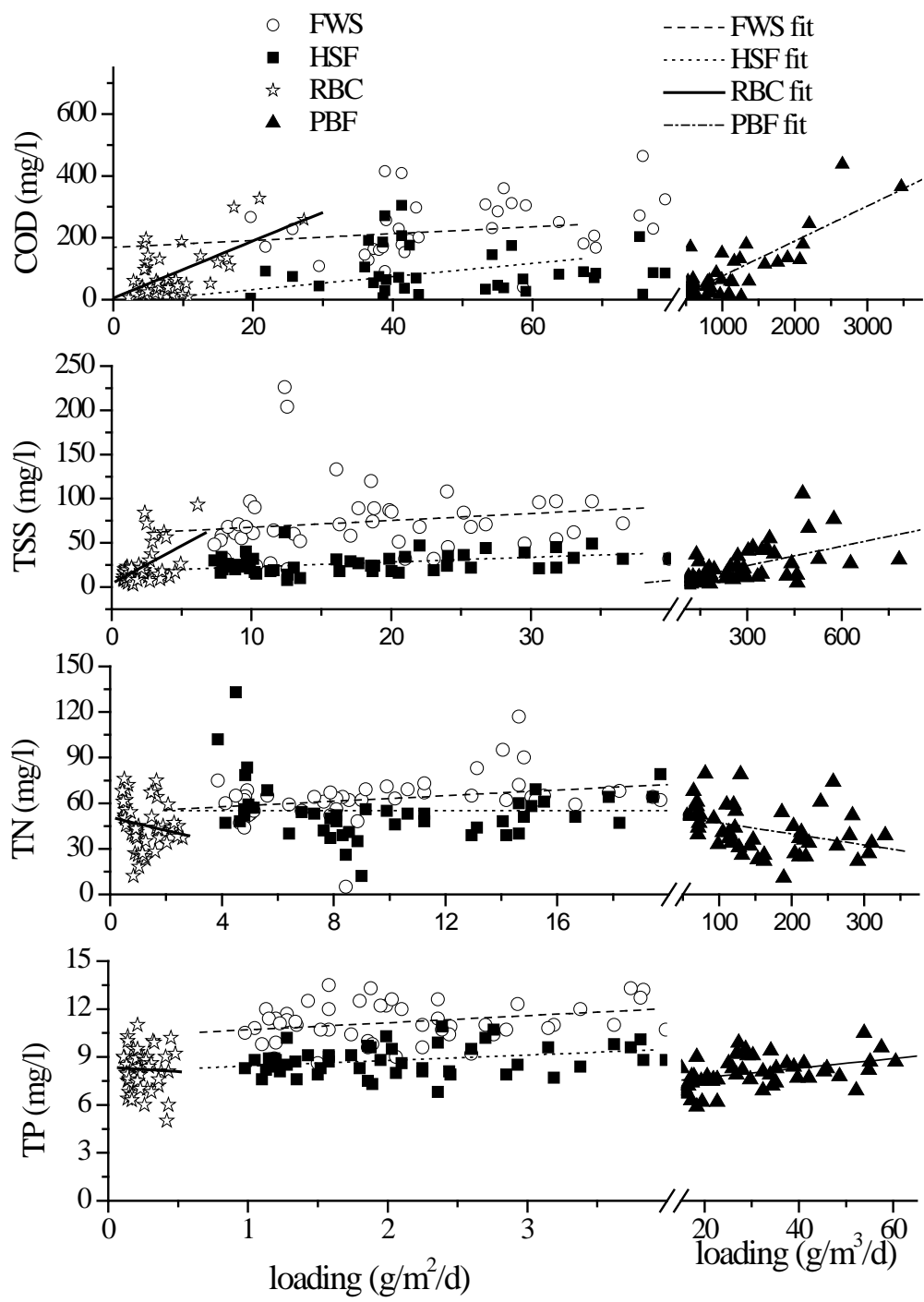
Σχήμα 35. Διακύμανση των COD, TSS, TN, TP, N-NH₄⁺ και N-NO₃⁻ στην είσοδο και έξοδο των διαφορετικών συστημάτων επεξεργασίας κατά τη διάρκεια λειτουργίας με ταχύτητες φορτίσεων 50%, 75%, 100%, 125%, 150% και 175 % των σχεδιασμένων κανονικών ονομαστικών ταχυτήτων πλήρης ονομαστικής φόρτισης.



Σχήμα 36. Ποσοστό απομάκρυνσης για κάθε μια εφαρμοζόμενη ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης και κάθε ένα σύστημα.



Σχήμα 37. Διακύμανση του pH, της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και της θερμοκρασίας αέρα κατά τη διάρκεια λειτουργίας.



Σχήμα 38. Διαγράμματα συσχετίσεων των συγκεντρώσεων εκροών και των φορτίσεων ρύπων COD, TSS, TN and TP.

Πίνακας 14. Δεδομένα λειτουργικών παραμέτρων των μελετημένων μονάδων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων.

HLR	FWS		HSF		RBC		PBF	
% of designed	OLR (gCOD m ⁻² d ⁻¹)	HRT (d ⁻¹)	OLR (gCOD m ⁻² d ⁻¹)	HRT (d ⁻¹)	OLR (kgCOD m ⁻³ d ⁻¹)	HRT (h ⁻¹)	OLR (kgCOD m ⁻³ d ⁻¹)	HRT (h ⁻¹)
50	37.8	3.84	35.1	2.88	0.53	24.0	0.37	34.3
75	56.6	2.56	52.7	1.92	0.80	16.0	0.56	22.9
100	56.3	1.92	52.3	1.44	0.79	12.0	0.55	17.1
125	46.0	1.54	42.8	1.15	0.65	9.6	0.45	13.7
150	73.1	1.28	68.0	0.96	1.03	8.0	0.72	11.4
175	142.8	1.10	132.7	0.82	2.01	6.9	1.40	9.8

Πίνακας 15. Η μέση σύνθεση των υγρών αστικών αποβλήτων, που φορτιζόταν τα πιλοτικά συστήματα επεξεργασίας σε όλη τη μελέτη και αποτελέσματα της μιας κατεύθυνσης ANOVA (P-values) για τη σύγκριση των διαφορών των μέσων τιμών μεταξύ των έξι διαφορετικών φορτίσεων (n = ο αριθμός των δειγμάτων).

Parameter	n	Mean (min-max)	P-value*
COD (mg L ⁻¹)	48	465 (105-1089)	0.0022
TSS (mg L ⁻¹)	50	129 (66-283)	0.0019
Total-N (mg L ⁻¹)	51	70 (52-87)	0.0034
Total-P (mg L ⁻¹)	51	15 (8-21)	0.0049
NH ₄ -N (mg L ⁻¹)	51	11.3 (1.7-32.1)	0.0000
NO ₃ -N (mg L ⁻¹)	50	0.85 (0-3.0)	0.0442
Total coliforms (CFU/100ml) x 10 ⁵	7	411 (174-690)	0.3010
Fecal coliforms (CFU/100ml) x 10 ⁵	7	39 (14-73)	0.1602
Fecal streptococci (CFU/100ml) x 10 ⁵	7	46 (10-85)	0.2285

*: Οι αριθμοί με έντονους χαρακτήρες δείχνουν τις στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ της μέσης σύνθεσης στα διαφορετικά ποσοστά φόρτωσης για επίπεδο εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 16. Μέσες τιμές των ποιοτικών παραμέτρων για τις εκροές του κάθε συστήματος επεξεργασίας για διαφορετικές HLRs.

System		COD (mg/L)		TSS (mg/L)		TN (mg/L)		TP (mg/L)		NH ₄ ⁺ (mg/L)		NO ₃ ⁻ (mg/L)	
		Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.
FWS													
HLR _d	50%	227.9 ^a	97.3	58.9 ^a	17.7	58.5 ^a	9.2	11.3 ^a	1.0	17.5 ^a	4.9	0.9 ^a	0.9
	75%	228.3 ^a	114.2	62.0 ^a	35.6	55.8 ^a	16.6	11.3 ^a	1.2	10.4 ^a	4.2	0.7 ^a	0.5
	100%	230.0 ^a	76.5	75.9 ^a	24.4	65.7 ^a	8.4	11.4 ^a	1.0	6.2 ^a	3.0	2.1 ^a	1.9
	125%	317.9 ^a	83.8	126.7 ^a	72.3	87.0 ^a	18.4	9.7 ^a	0.9	6.9 ^a	2.6	1.4 ^a	1.1
	150%	187.9 ^a	101.9	88.8 ^a	40.9	63.6 ^a	3.4	12.4 ^a	0.9	8.4 ^a	2.8	1.0 ^a	0.5
	175%	294.3 ^a	133.2	70.1 ^a	32.5	65.8 ^a	4.9	11.2 ^a	1.5	15.2 ^a	3.8	0.7 ^a	0.4
HSF													
HLR _d	50%	130.5 ^b	103.3	26.0 ^b	6.7	68.9 ^a	25.0	8.6 ^b	0.7	17.4 ^a	8.4	6.2 ^a	7.1
	75%	99.6 ^b	49.4	20.7 ^b	5.1	41.2 ^a	12.3	9.2 ^b	0.6	11.4 ^a	1.6	3.1 ^a	2.5
	100%	85.7 ^b	58.9	29.4 ^b	10.2	49.4 ^b	7.3	7.8 ^b	0.6	7.8 ^b	3.6	2.7 ^a	2.2
	125%	34.6 ^b	24.8	25.7 ^b	19.9	47.0 ^{b,c}	7.8	7.9 ^b	0.3	7.2 ^a	4.4	1.2 ^a	0.4
	150%	126.3 ^a	65.2	30.8 ^b	12.6	51.2 ^{a,b}	8.8	9.1 ^b	0.8	7.8 ^a	1.7	1.3 ^a	0.3
	175%	341.1 ^a	189.1	39.4 ^a	10.8	67.4 ^a	7.2	10.0 ^{a,b}	0.8	14.6 ^a	4.5	0.7 ^a	0.6
RBC													
HLR _d	50%	95.5 ^b	62.8	14.6 ^c	5.4	59.2 ^a	9.7	8.6 ^{b,c}	1.0	2.9 ^b	1.3	25.1 ^b	23.0
	75%	43.4 ^b	18.4	11.9 ^b	4.5	38.4 ^a	10.4	7.9 ^c	0.9	1.8 ^b	1.1	30.5 ^b	8.0
	100%	16.6 ^b	9.7	14.9 ^b	6.3	25.6 ^c	5.1	8.6 ^c	1.7	5.5 ^b	3.1	28.1 ^b	20.9
	125%	38.4 ^b	19.6	14.2 ^b	7.5	61.5 ^b	11.6	8.0 ^b	1.3	8.6 ^a	3.9	2.9 ^a	2.5
	150%	94.0 ^a	63.1	26.0 ^b	8.1	42.2 ^b	11.4	6.8 ^b	2.4	10.7 ^a	1.0	1.8 ^a	0.7
	175%	178.9 ^a	101.8	61.8 ^a	23.1	41.4 ^b	4.5	8.7 ^{b,c}	0.8	5.2 ^b	3.9	22.0 ^b	8.8
PBF													
HLR _d	50%	51.9 ^b	43.0	10.2 ^c	8.6	55.0 ^a	10.4	7.5 ^c	0.9	1.1 ^b	0.5	24.8 ^b	25.8
	75%	50.3 ^b	32.2	11.1 ^b	7.0	47.5 ^a	13.5	8.1 ^c	1.1	1.5 ^b	1.1	34.6 ^b	10.8
	100%	18.3 ^b	18.3	19.3 ^b	8.1	28.0 ^c	5.1	8.6 ^c	0.7	4.4 ^b	2.0	27.8 ^b	13.3
	125%	32.0 ^b	16.0	19.2 ^b	3.5	35.5 ^c	15.3	7.8 ^b	0.8	5.2 ^a	2.6	3.5 ^a	2.7
	150%	111.2 ^a	61.0	33.8 ^b	9.8	38.0 ^b	13.3	8.6 ^b	1.1	7.1 ^a	1.4	2.6 ^a	1.6
	175%	216.0 ^a	123.1	57.5 ^a	24.9	39.0 ^b	17.1	8.1 ^c	0.9	12.5 ^{a,b}	1.0	5.2 ^a	0.5

a, b, c: In each column for each loading rate, mean values followed by a different symbol are significantly different ($p < 0.05$)

Πίνακας 17.. Αποτελέσματα της διπλής κατεύθυνσης ANOVA (F-ratios) χρησιμοποιούμενη στη δοκιμή για τις σύγκριση των διαφορών στην ποιότητα νερού εκροής μεταξύ των τεσσάρων δοκιμασμένων συστημάτων (κύριως παράγοντας το 'Σύστημα') και τα έξι ποσοστά φόρτισης (κύριος παράγοντας 'Φόρτιση') και η αλληλεπίδρασή τους (Σύστημα x Φόρτιση).

Parameter	System	Loading	System x Loading
COD	40.11***	17.42***	2.36**
TSS	76.87***	12.03***	4.16***
Total-N	37.52***	12.00***	5.84***
Total-P	92.75***	3.80**	3.36***
NH ₄ -N	34.76***	14.65***	10.89***
NO ₃ -N	30.63***	11.29***	3.77***
Total coliforms	7.20**	0.67 ^{NS}	1.40 ^{NS}
Fecal coliforms	0.77 ^{NS}	0.59 ^{NS}	1.06 ^{NS}
Fecal streptococci	4.55*	1.07 ^{NS}	0.38 ^{NS}

*: P<0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001; NS: Not Significant

Πίνακας 18. Συγκεντρώσεις εισόδου εκροής, και αποδοσεις απομάκρυνσης για τις μικροβιολογικές παραμέτρους για κάθε σύστημα επεξεργασίας.

Parameter	Influent	FWS	HSF		RBC		PBF		
	(CFU/100ml) x10 ⁵	(CFU/100ml) x10 ⁵	removal log units	(CFU/100ml) x10 ⁵	removal log units	(CFU/100ml) x10 ⁵	removal log units	(CFU/100ml) x10 ⁵	removal log units
Total coliforms									
Mean	411.5	20.4	1.3	2.6	2.2	2.9	2.2	16.8	1.4
S.D.	217.4	14.0	1.2	2.7	1.9	4.2	1.7	11.7	1.3
Faecal coliforms									
Mean	56.3	5.8	1.0	0.3	2.3	4.8	1.1	5.0	1.1
S.D.	38.3	3.9	1.0	0.3	2.1	11.1	0.5	6.7	0.8
Faecal streptococci									
Mean	47.9	6.0	0.9	0.4	2.1	1.5	1.5	3.4	1.1
S.D.	30.7	2.6	1.1	0.4	1.9	2.3	1.1	3.1	1.0

Πίνακας 19.. Ταχύτητες απομακρύνσεις και κόστη από το κάθε ένα σύστημα επεξεργασίας.

Σύστημα επεξεργασίας	Ταχύτητα απομάκρυνσης (g /κάτοικο/d)				Απαιτήσεις		Κόστη Κατασκευής (€/κάτοικο)
	COD	TSS	N	P	Εδαφος (m ² /κάτοικο)	Ισχύς (kWh/κάτοικο/έτος)	
FWS	33.4	21.0	0.4	0.7	1.4	~0	237
HSF	62.0	30.4	3.8	1.4	1.4	~0	268
RBC	75.8	33.2	8.4	1.3	0.3	219	476
PBF	75.6	32.4	8.0	1.3	0.2	43	672

4.3 Σύγκριση της απομάκρυνσης PAHs και LAS μεταξύ των εναλλακτικών μονάδων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων

4.3.1 PAHs και LAS

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν εκτενείς αναφορές σχετικά με την τύχη οργανικών ρυπαντών όπως των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs), (Machate et al., 1997; Giraud et al., 2001) και των γραμμικών αλκυλοβενζοσουλφονικών αλάτων (LAS) (Huang et al., 2004).

Οι κύριες πηγές των PAHs στα υγρά απόβλητα, είναι η βροχόπτωση και οι απορροές αστικών οδών και αυτοκινητοδρόμων στις οποίες καταλήγουν τα ατμοσφαιρικά κατακρημνίσματα υγρής και ξηρής εναπόθεσης (Mangas et al., 1998). Εξαιτίας της χαμηλής τους υδατοδιαλυτότητας και της υψηλής τους υδροφοβικότητας, οι PAHs προσροφώνται σε στερεά σωματίδια κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με υγρά απόβλητα. Αρκετοί PAHs έχουν αποδειχθεί ότι είναι καρκινογόνα και μεταλλαξιογόνοι και (Blanchard et al., 1999) και ως εκ τούτου έχουν ταξινομηθεί ως ρύποι προτεραιότητας από περιβαλλοντικούς φορείς όπως την EPA των ΗΠΑ.

Τα LAS είναι ένα μίγμα αλκυλικών ομολόγων με μια πλάγια ανθρακική αλυσίδα που το μήκος της κυμαίνεται μεταξύ 10 και 14 ατόμων άνθρακα, ενώ ο σουλφονικός υποκαταστάτης μπορεί να προσαρτηθεί σε οποιαδήποτε θέση μεταξύ 2 και 7 αυξάνοντας τον αριθμό των πιθανών ισομερών. Τα LAS είναι κοινά ανιοντικά επιφανειοδραστικά και περιέχονται σε πολλά καθαριστικά που χρησιμοποιούνται για οικιακή και βιομηχανική χρήση, σε ποσοστό περισσότερο από 25% του συνόλου των χρησιμοποιούμενων επιφανειοδραστικών (Cook, 1998). Εξαιτίας της ευρείας χρήσης τους, τα LAS είναι πολυσύχναστοι περιβαλλοντικοί ρύποι (Tabor and Barber, 1996; Eichhorn et al., 2002a; Eichhorn et al., 2002b). Οι συγκεντρώσεις των LAS στα ανεπεξέργαστα υγρά απόβλητα κυμαίνονται μεταξύ 2 και 21mg/L (Brunner et al. 1988; Holt et al. 1995; Clara et al. 2007). Έχει αναφερθεί ότι έχουν υψηλούς ρυθμούς βιοδιάσπασης υπό αερόβιες συνθήκες και αποδομούνται σχεδόν πλήρως μέσω των διεργασιών της ενεργής ιλύος (Cavalli et al 1996), όμως πολύ λίγες πληροφορίες υπάρχουν στη βιβλιογραφία για την τύχη των LAS σε

χαμηλής συγκέντρωσης συστήματα όπως τους τεχνητούς υγροβιοτόπους και τα χαλικάφιλτρα.

Ο στόχος αυτού του τμήματος της διατριβής ήταν να καθοριστούν οι κινητικές παράμετροι της απομάκρυνσης των PAHs και LAS, σε τεχνητούς υγροβιοτόπους και ένα χαλικόφιλτρο και να ποσοτικοποιηθεί η επίδραση της θερμοκρασίας και της οργανικής φόρτισης σε αυτήν την απομάκρυνση. Επίσης καθορίστηκαν οι κινητικές παράμετροι πρώτης τάξης και η θερμοκρασιακή τους εξάρτηση για διάφορους δείκτες ποιότητας των υγρών αποβλήτων, προκειμένου να συγκριθούν οι συγκεκριμένες τιμές με άλλες αναφορές τις βιβλιογραφίας σε διαφορετικές συνθήκες από αυτές του θερμού μεσογειακού κλίματος.

4.3.2 Υπολογισμός της κινητικής σταθεράς της αντίδρασης και συντελεστές θερμοκρασίας

Έχει αναφερθεί ότι πρώτης τάξης κινητικές σταθερές περιγράφουν καλά την αποδόμηση των οργανικών ρυπαντών σε τεχνητούς υγροβιοτόπους. Για μια αντίδραση πρώτης τάξης, θεωρείται ότι η συγκέντρωση του αντιδρώντος (σε αυτήν την περίπτωση ο ρύπος) είναι ο περιοριστικός παράγοντας, και ο καταλύτης (σε αυτήν την περίπτωση η ποσότητα του πληρωτικού υλικού (δηλαδή το σύνολο της ακινητοποιημένης φάσης μαζί με το πορώδες υλικό και τα βιοφίλμ) είναι σε περίσσεια. Σε αντίθετη περίπτωση, εάν ο καταλύτης είναι ο περιοριστικός παράγοντας, τότε η αντίδραση θεωρείται μηδενικής τάξης (Mitchell and McNevin, 2001).

Για να περιγραφεί η απομάκρυνση όλων των ρύπων (COD, TSS, TN, TP, PAHs and LAS) η παρακάτω εξίσωση που εφαρμόζεται για διεργασίες που ακολουθούν πρώτης τάξης κινητική έχει προταθεί (IWA, 2000).

$$\frac{C_e}{C_o} = \exp(-k_v \times HRT) \quad (1)$$

Όπου C_e είναι η συγκέντρωση στην εκροή, C_o είναι η συγκέντρωση στην εισροή και k_v είναι η θερμοκρασιακά εξαρτώμενη ογκομετρική κινητική σταθερά.

Επιπλέον και η μηδενικής τάξης κινητική έχει χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση των PAHs και των LAS.

$$C_e - C_o = k_v \times HRT \quad (2)$$

Οι τιμές k_v μπορούν να ληφθούν διαιρώντας τον όρο $-\ln(C_e/C_o)$ με HRT για το μοντέλο κινητικής πρώτης τάξης και $(C_e - C_o)$ δια HRT για το μηδενικής τάξης μοντέλο.

Ακολουθώντας την τυπική σχέση της εξάρτησης της θερμοκρασίας με κινητικές σταθερές για περιγραφή διεργασιών στο περιβάλλον (Kadlec and Reddy, 2001), χρησιμοποιούμε όπως και με τους προηγούμενους τύπους την τροποποιημένη εξίσωση Arrhenius:

$$k_v = k_{v20} \times \theta^{(T-20)} \quad (3)$$

όπου k_{v20} είναι η ογκομετρική σταθερά απομάκρυνσης στους 20°C, θ είναι ο συντελεστής διόρθωσης για τη θερμοκρασία και T είναι η θερμοκρασία του νερού. Κάνοντας διάγραμμα του όρου $\ln(k_v)$ σε σχέση με της θερμοκρασία $T-20$, και κάνοντας συσχέτιση γραμμικής παλινδρόμησης η κλίση της ευθείας, $\ln(\theta)$ και η τεταγμένη της ευθείας $\ln(k_{v20})$.

4.3.3 Απομάκρυνση των PAHs

Η μέση συγκέντρωση του αθροίσματος των 16PAHs στην εισροή ήταν $786 \pm 514 \text{ ng L}^{-1}$, το οποίο σε συμφωνία με τις τιμές που παρατηρούνται σε πρωτοβάθμια επεξεργασμένα υγρά απόβλητα (Pakou et al., 2007; Jiries et al., 2000; Blanchard et al., 2001). Μια επικράτηση στη παρατηρούμενη συχνότητα εμφάνισης χαμηλών και μέσων μοριακών βαρών παρατηρήθηκε: το ναφθαλένιο, το φαινανθρένιο, το ανθρακένιο, το πυρένιο και το χρυσένιο αποτελούσαν το 88% του συνόλου. Οι Blanchard et al. (2004) εξέτασαν την κατανομή των ΠΑΥ σε υγρά απόβλητα από την περιοχή του Παρισιού και βρήκαν ότι το φαινανθρένιο, το ναφθαλένιο, το φλουρανθένιο το πυρένιο και το χρυσένιο συντελούν στο 92% της συνολικής ποσότητας, κάτι το οποίο έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα εδώ.

Η μέση απομάκρυνση των PAHs βρέθηκε να είναι 79.2, 68.2, και 73.3% για τον υδροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, τον ΤΥ ελεύθερης επιφάνειας νερού και το χαλικόφιλτρο αντίστοιχα. Πολύ λίγες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην απομάκρυνση των ΠΑΥ. Στο προηγούμενο κεφάλαιο, (Terzakis et al., 2008), εξετάστηκαν δυο ΤΥ επιφανειακής ροής και δυο ΤΥ υποεπιφανειακής ροής και είχε βρεθεί συνολική απομάκρυνση για το Σ16 PAHs 59%. Οι Machate et al. (1997), χρησιμοποιώντας ένα συνθετικό εξομοιωμένο απόβλητο που περιείχε φαινανθρένιο σε ένα υποεπιφανειακής/κάθετης ροής σύστημα επεξεργασίας με μακρόφυτα έδειξαν μια απόδοση απομάκρυνσης 99.9%. Από την άλλη μεριά υπάρχουν πολλές μελέτες στις απομακρύνσεις των PAH σε συμβατικά συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Μια μελέτη που έλαβε χώρα στην πολιτεία του Οντάριο για 8 PAHs σε 37 διαφορετικές μονάδες βιολογικού καθαρισμού έδειξε ότι επιτυγχάνεται ένα σχεδόν σταθερό ποσοστό απομάκρυνσης (79-80%) για όλες τις ενώσεις (Melcer et al., 1995). Οι Jiries et al. (2000) εξέτασαν 16 PAHs από μη επεξεργασμένα και επεξεργασμένα υγρά απόβλητα και είδαν ότι οι απομακρύνσεις κυμάνθηκαν από 44 μέχρι 100% για καθένα από τους PAHs που εξετάστηκαν.

4.3.4 Απομάκρυνση των LAS

Η συγκέντρωση των LAS κυμάνθηκε μεταξύ του 1.2 και 17.2 mg/L με μια μέση τιμή 7.2 mg/L. Οι Clara et al. (2007) εξέτασαν εννέα μονάδες επεξεργασίας στην Αυστρία, και βρήκαν ότι η συγκέντρωση των LAS κυμαινόταν μεταξύ 2.4 και 6.7 mg/L. Τα αποτελέσματα της δοκιμής Tukey έδειξαν ότι κάθε εκροή είχε σημαντικά διαφορετική συγκέντρωση LAS. Οι απομακρύνσεις των LAS στα τρία συστήματα ήταν μεσαίου επιπέδου και συγκεκριμένα ήταν 30.0, 55.5 και 40.9% για τον ελεύθερης επιφάνειας, και της υποεπιφανειακής ροής τεχνητούς υδροβιότοπους και το χαλικόφιλτρο αντίστοιχα. Η τύχη των LAS σε τεχνητούς υδροβιότοπους δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα εκτενώς, με εξαίρεση τη εργασία των Huang et al. (2004) που εξέτασε την απομάκρυνση των LAS, σε υποεπιφανειακής ροής τεχνητούς υδροβιότοπους και βρήκε αποδόσεις της τάξης του 20-70%, η οποία βρέθηκε να εξαρτάται από το βάθος του νερού, το λόγο του μήκους της επεξεργασίας και το μέγεθος του πληρωτικού υλικού. Οι αποδόσεις αυτές ήταν άμεσα συγκρίσιμες με αυτές της δικής μας μελέτης.

4.3.5 Επίδραση της θερμοκρασίας

Κατά τη διάρκεια που έλαβαν χώρα τα πειράματα δηλαδή από τον Μάρτιο μέχρι τον Νοέμβριο του 2007, η μέση ημερήσια θερμοκρασία κυμαινόταν από 12.1 μέχρι 34.1 °C, ενώ οι υπολογισμένες κινητικές σταθερές (k_v) για τα COD, TN, TP και TSS κυμαινόταν από 0.058 d⁻¹ έως 1.456 d⁻¹, 0.006 d⁻¹ έως 1.057 d⁻¹, 0.010 d⁻¹ έως 0.687 d⁻¹ έως 0.054 d⁻¹ έως 1.894 d⁻¹ αντίστοιχα. Η κινητική σταθερά στους 20 °C, $k_{v,20}$ και ο συντελεστής θερμοκρασίας θ υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας την τροποποιημένη εξίσωση Arrhenius (3) για κάθε μια παράμετρο και κάθε ένα σύστημα. Στο σχήμα 36 για παράδειγμα φαίνεται η συσχέτιση μεταξύ της k_v για την απομάκρυνση των ΠΑΥ και τη θερμοκρασία του νερού χρησιμοποιώντας το πρώτης τάξης μοντέλο. Οι τιμές $k_{v,20}$ για τυπικές φυσικοχημικές παραμέτρους (Πίνακας 21) βρέθηκαν να είναι υψηλότερες στον υποεπιφανειακής ροής υγροβιότοπο σε σχέση με τον ελεύθερης επιφάνειας νερού και το χαλικόφιλτρο. Συσχέτιση μελετών με υγροβιότοπους που επεξεργάζονται αστικά απόβλητα και έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία αποκάλυψαν ότι οι σταθερές ταχύτητας της απομάκρυνσης ήταν εντός του εύρους των τιμών που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Πίνακας 21).

Επιπλέον, αυτή είναι η πρώτη φορά που γίνεται προσδιορισμός των κινητικών σταθερών για την απομάκρυνση των PAHs και των LAS σε τεχνητούς υγροβιότοπους και χαλικόφιλτρα αν εξαιρέσουμε την εργασία των Huang et al (2004) οι οποίοι εστίασαν στην απομάκρυνση των LAS σε υποεπιφανειακής ροής ΤΥ. Για τα LAS, οι σταθερές $k_{v,20}$ στον υποεπιφανειακής ροής ΤΥ, στο χαλικόφιλτρο και στον ελεύθερης επιφάνειας νερού ΤΥ, βρέθηκαν 1.12, 0.46 και 0.26. Τα δεδομένα για τις ταχύτητες απομάκρυνσης για τους PAHs και τα LAS ταίριαζαν καλύτερα σε κινητική πρώτης τάξης. (Πίνακας 22). Η μόνη εξαίρεση ήταν τα δεδομένα για την απομάκρυνση των LAS στο χαλικόφιλτρο τα οποία ακολουθούσαν περισσότερο κινητική μηδενικής τάξης, κάτι το οποίο υποδεικνύει μια γραμμική εξάρτηση με τον όγκο των εισερχόμενων λυμάτων στον υγροβιότοπο. Αυτή η συμπεριφορά μπορεί να εξηγηθεί με τη θεωρία του περιοριστικού καταλύτη κατά την μετατροπή του αντιδρώντος. Οι βασικοί μηχανισμοί απομάκρυνσης σε ένα τεχνητό υγροβιότοπο είναι η εξάτμιση, η προσρόφηση, η πρόσληψη από τα φυτά και η βιοδιάσπαση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης για τους PAHs και τα LAS φαίνεται να είναι η προσρόφηση στον ακίνητο φορέα και δευτερευόντως η βιοαποδόμηση. Στα συστήματα ΤΥ

υποεπιφανειακής ροής και στο χαλικόφιλτρο εφαρμόστηκε ένας αυξημένος υδραυλικός χρόνος παραμονής, κάτι που διευκόλυνε διεργασίες όπως η καθίζηση και διήθηση. Επιπλέον ο υδροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής παρείχε καλύτερες συνθήκες (υψηλότερη παροχή οξυγόνου) για την εγκαθίδρυση περισσότερων και με μεγαλύτερη ποικιλομορφία μικροοργανισμών που επιτελούσαν την βιοαποδόμηση από ότι στο χαλικόφιλτρο.

Οι τιμές k_n εκθετικά αυξήθηκαν με τη θερμοκρασία του νερού σε όλα τα εξεταζόμενα συστήματα και όλοι οι παράμετροι με την εξαίρεση των PAHs (Σχήμα 40) και των LAS (Σχήμα 41). Σε σχεδόν όλες τις περιπτώσεις ο συντελεστής συσχέτισης για τη θερμοκρασία θ για τυπικούς φυσικοχημικούς παραμέτρους ήταν μεγαλύτερες από ένα, κάτι που σημαίνει ότι η ταχύτητα απομάκρυνσης αυξάνονταν με τη θερμοκρασία, όπως παρόμοια έχει προσδιοριστεί σε προηγούμενες μελέτες (Πίνακας 21). Ένα αξιοσημείωτο γεγονός ήταν ότι οι τιμές θ που προσδιορίστηκαν για το πρώτης τάξης μοντέλο για τα LAS και ιδιαίτερα για τους PAHs ήταν μικρότερες από 1.0. Ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης για αυτές τις ενώσεις είναι η προσρόφηση και η βιοαποδόμηση. Στην περιοχή της Μεσογείου οι υδροβιότοποι λειτουργούν σχεδόν όλο το χρόνο σε μεσαίες έως υψηλές θερμοκρασίες (20-35°C) και σπάνια σε θερμοκρασίες κάτω από 15°C. Αυτό σημαίνει ότι οι πιθανοί αποδομητές των PAHs και των LAS δεν έχουν ανασταλεί. Από την άλλη μεριά οι υψηλές θερμοκρασίες μειώνουν την τιμή του συντελεστή κατανομής οκτανόλης - νερού (Sandler, 1996). Ένας χαμηλότερος συντελεστής κατανομής οκτανόλης νερού, σημαίνει μια ασθενέστερη ρόφηση αυτών των ενώσεων σε στερεά σωματίδια. Η ρόφηση έχει επίσης μια έμμεση θετική επίδραση στην αποτελεσματικότητα της βιοαποδόμησης μια και παρέχεται μεγαλύτερος χρόνος αντίδρασης των προσροφημένων ρύπων στα στερεά, λόγω του ότι ο μέσος χρόνος συγκράτησης των στερεών είναι μεγαλύτερος από τον μέσο υδραυλικό χρόνο παραμονής σε όλα τα συστήματα επεξεργασίας. Πράγματι οι Manoli and Samara (2008), εξέτασαν την εποχιακή διακύμανση της απομάκρυνσης των PAHs και βρήκαν ότι τα υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης παρατηρήθηκαν σε ψυχρές περιόδους και τα χαμηλότερα σε θερμές περιόδους. Αντιθέτως οι Huang et al. (2000), εξέτασαν την απομάκρυνση των LAS σε υδροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής στην Βαρκελώνη της Ισπανίας και βρήκαν ότι τα ποσοστά απομάκρυνσης αυξανόταν με τη θερμοκρασία. Όμως αυτός ο υδροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής λειτουργούσε σε μια θερμοκρασιακή κλίμακα 10-25°C που διαφέρει από τη δική μας μελέτη (15-35 °C). Αυτά τα φαινomenικά

αντίθετα αποτελέσματα μπορεί να έχουν ως μια πιθανή ερμηνεία ότι οι σχετικά χαμηλές τιμές θ που παρατηρήσαμε οφείλονται στο ότι η εξάρτηση της θερμοκρασίας στην περίπτωση μας δεν είναι τόσο ξεκάθαρη επειδή είχαμε ένα διαφορετικό εύρος θερμοκρασιών, (ξεκινώντας από μια μεγαλύτερη ελάχιστη θερμοκρασία που δεν προκαλεί σημαντική επιβράδυνση της βιοδιάσπασης), οπότε και άλλοι εποχιακοί/τοπικοί παράμετροι που μπορεί να συμμετέχουν στην διακύμανση της απομάκρυνσης των ξενοβιοτικών γίνονται σημαντικοί.

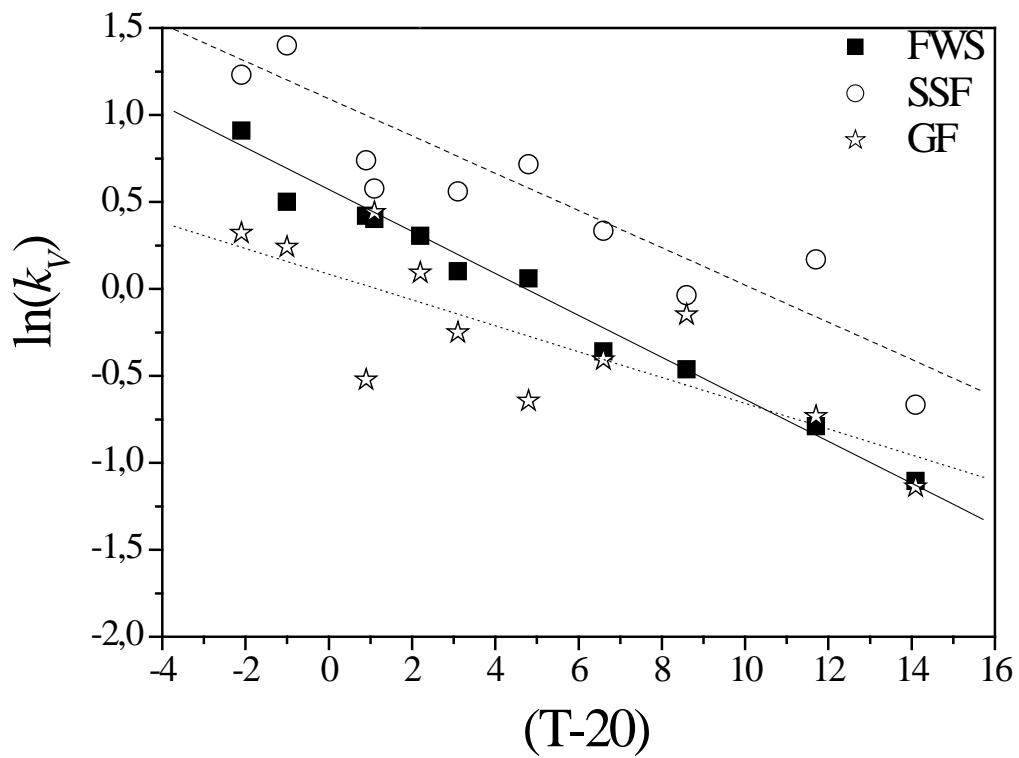
4.3.6 Η επίδραση της αλλαγής ταχύτητας στην οργανική φόρτιση

Για να γίνει σύγκριση της απομάκρυνσης των PAHs και των LAS των τριών εξεταζόμενων συστημάτων και της σχέσης τους με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (HLR), η συνολική απομάκρυνση (σε μονάδες μάζας) για την κάθε ένωση συσχετίστηκε με τη συνολική ταχύτητα φόρτισης (Σχήματα 42 και 43). Η ταχύτητα απομάκρυνσης των PAHs στον ΤΥ ελεύθερης επιφάνειας νερού, στον υποεπιφανειακής ροής και στο χαλικόφιλτρο, όλα αυξάνονταν με αυξανόμενη ταχύτητα φόρτισης. Όπως φαίνεται από το σχήμα η απομάκρυνση των PAHs στον ΤΥ υποεπιφανειακής ροής δεν επηρεάστηκε από την ταχύτητα της φόρτισης και έγινε σχεδόν πλήρη απομάκρυνση τους από το σύστημα. Στον ΤΥ ελεύθερης επιφάνειας νερού η απομάκρυνση των ουσιών αυτών μειωνόταν σε υψηλές φορτίσεις. Ειδικά τα LAS παρουσίασαν στον ΤΥ ελεύθερης επιφάνειας πολύ χαμηλή απομάκρυνση ακόμη και σε χαμηλές τιμές ταχυτήτων φορτίσεις. Τα LAS παρουσίασαν επίσης σχεδόν σταθερές ταχύτητες απομάκρυνσης στο χαλικόφιλτρο σχεδόν σε όλες τις διαφορετικές εφαρμοζόμενες οργανικές φορτίσεις. Οι καλύτερες απομακρύνσεις παρουσιάζονται στο ΤΥ υποεπιφανειακής ροής, αλλά πιθανότατα αυτές μπορεί να μειώνονται στις μεγαλύτερες φορτίσεις (μόνο μια μέτρηση λήφθηκε για την υψηλότερη φόρτιση). Συνολικά πάντως ο ΤΥ υποεπιφανειακής ροής παρουσιάζει καλύτερα ποσοστά απομακρύνσεων από το χαλικόφιλτρο και ακόμη περισσότερο από τον ΤΥ ελεύθερης επιφάνειας νερού, εξαιτίας αφενός του καλύτερου πορώδες μέσου που χρησιμοποιείται ως πληρωτικό υλικό και αφετέρου της συνολικά καλύτερης αεριζόμενης κλίνης. Η απομάκρυνση αυτών των ενώσεων συσχετίζεται με την αλληλεπίδραση και τη ρόφηση σε

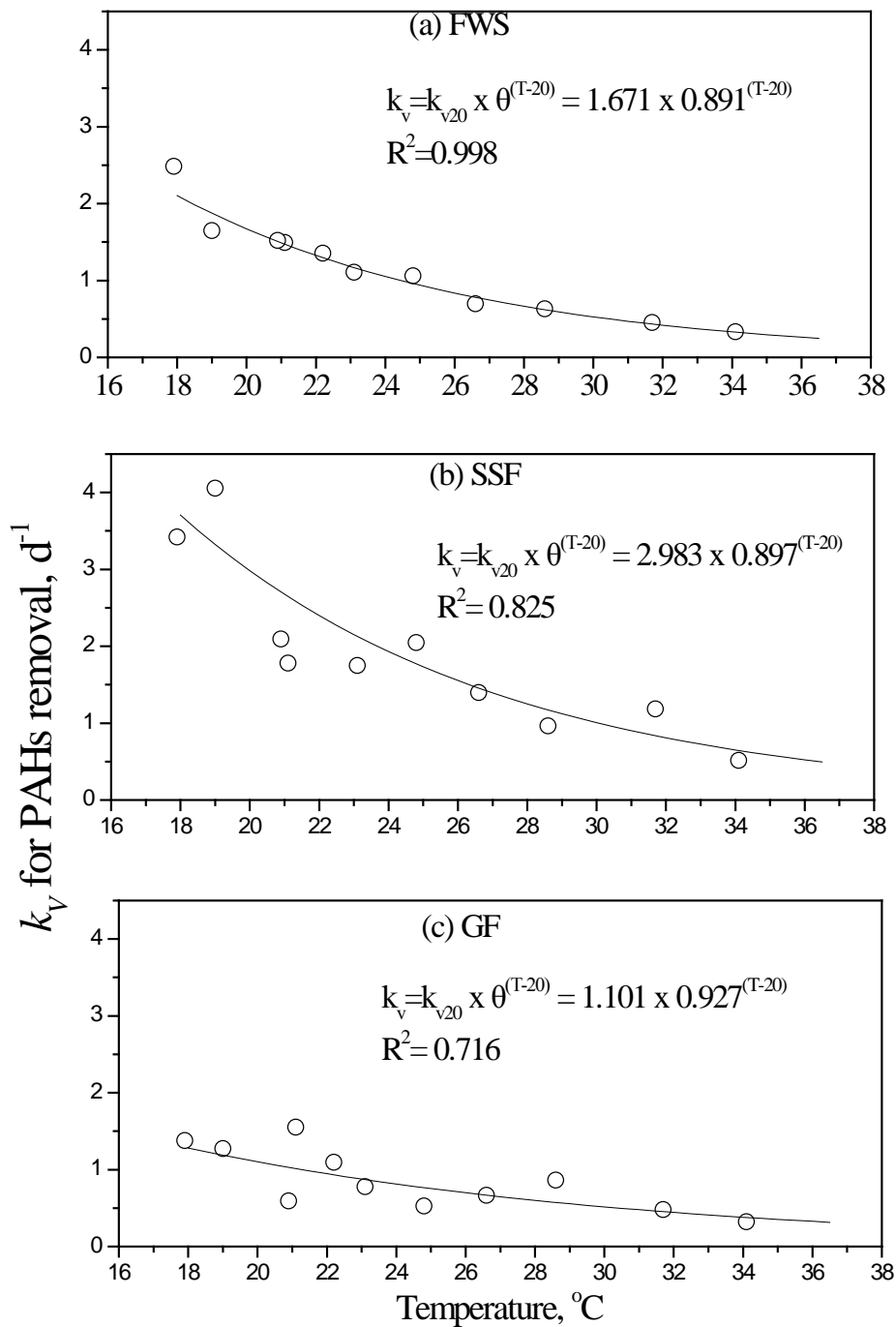
οργανική ουσία που περιέχεται στα φίλτρα και με την πιθανή παρουσία μικροοργανισμών που μπορούν να τις αποδομήσουν.

4.3.7 Απομακρύνσεις PAHs και LAS από τους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας

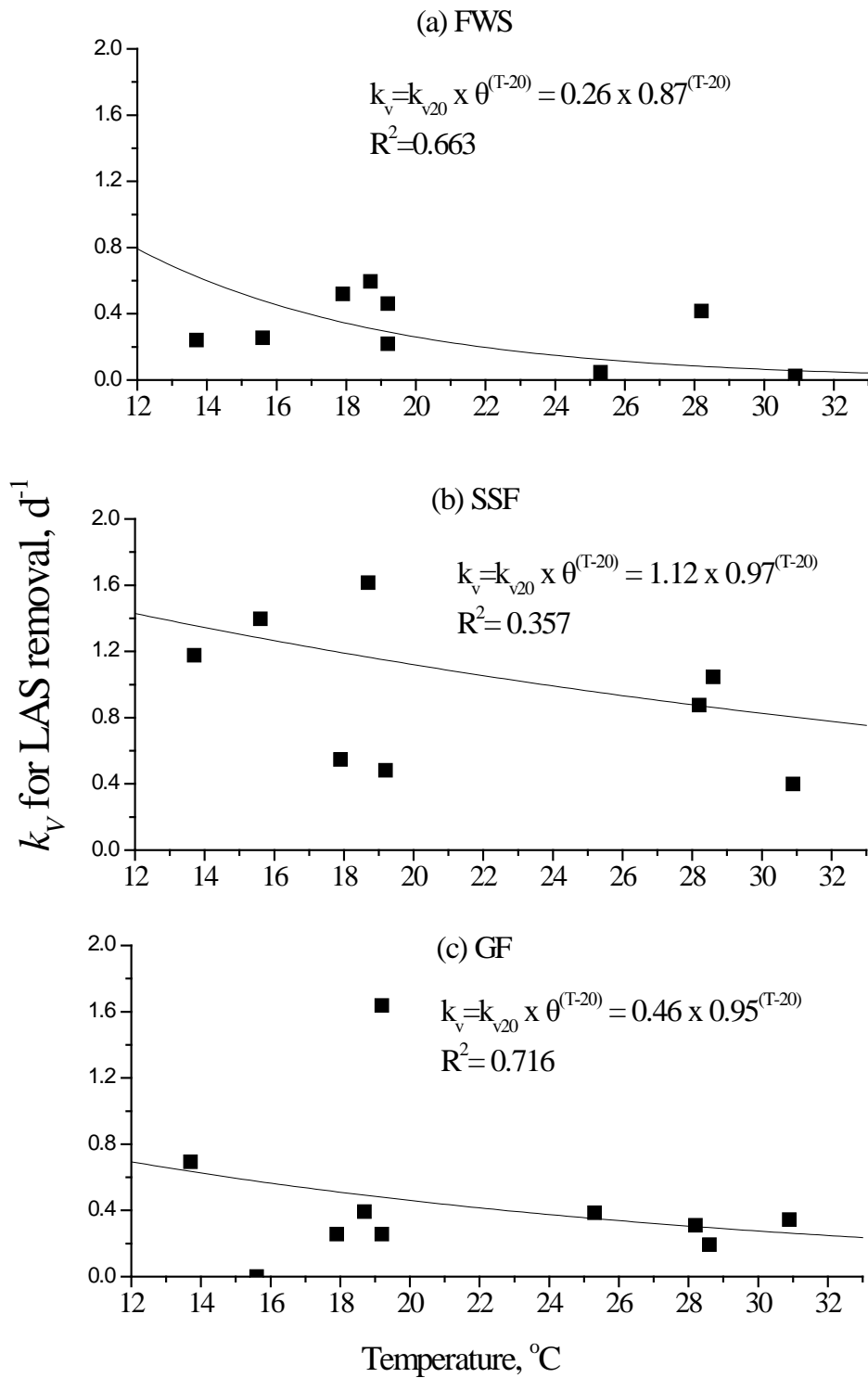
Σύγκριση της απόδοσης της απομάκρυνσης των PAHs και LAS των τεχνητών υγροβιότοπων με τους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας γίνεται στο πίνακα 27. Λόγω της πολυπλοκότητας των διεργασιών (και στα δύο συστήματα γίνεται ανακυκλοφορία, το σύστημα RBC περιλαμβάνει και δεξαμενή καθίζησης) και των αντίστοιχων κινητικών των δυο συστημάτων προσκολλημένης βιομάζας δεν κατέστη δυνατόν να προσδιοριστούν κινητικές σταθερές, όμως δίνονται τα αποτελέσματα των απομακρύνσεων ως μέσοι όροι με τις τυπικές του αποκλίσεις, για μια μεταγενέστερη περίοδο μετρήσεων δυο μηνών (αριθμός μετρήσεων n=10), με μέση ογκομετρική φόρτιση στο 75 % της HLR. Οι τιμές αυτές δείχνουν ότι ο υγροβιότοπος FWS εξακολουθεί να έχει τις χαμηλότερες απομακρύνσεις, ενώ τα συστήματα HSF και PBC παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά με απομακρύνσεις της τάξεως του 70%. Τέλος το βιολογικό φίλτρο της συμπυγμένης κλίνης (PBF) παρουσίασε την υψηλότερη τιμή απομάκρυνσης και για τους δύο ρύπους 86% για τους PAHs και 93% για τα LAS.



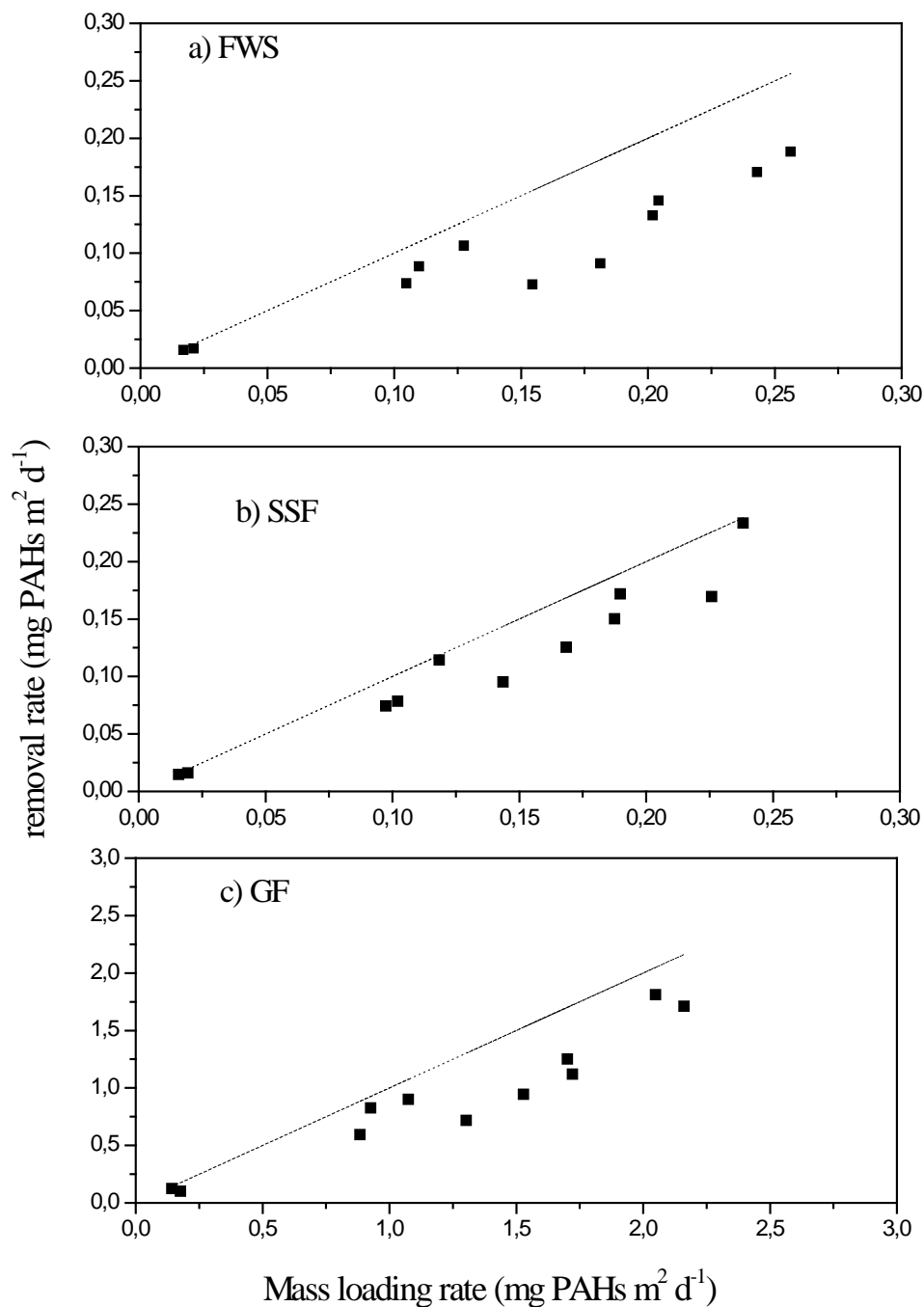
Σχήμα 39. Η σχέση μεταξύ της σταθερά k_v για την απομάκρυνση των PAHs και της θερμοκρασίας του νερού α) Στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) Στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροή SSF, και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF.



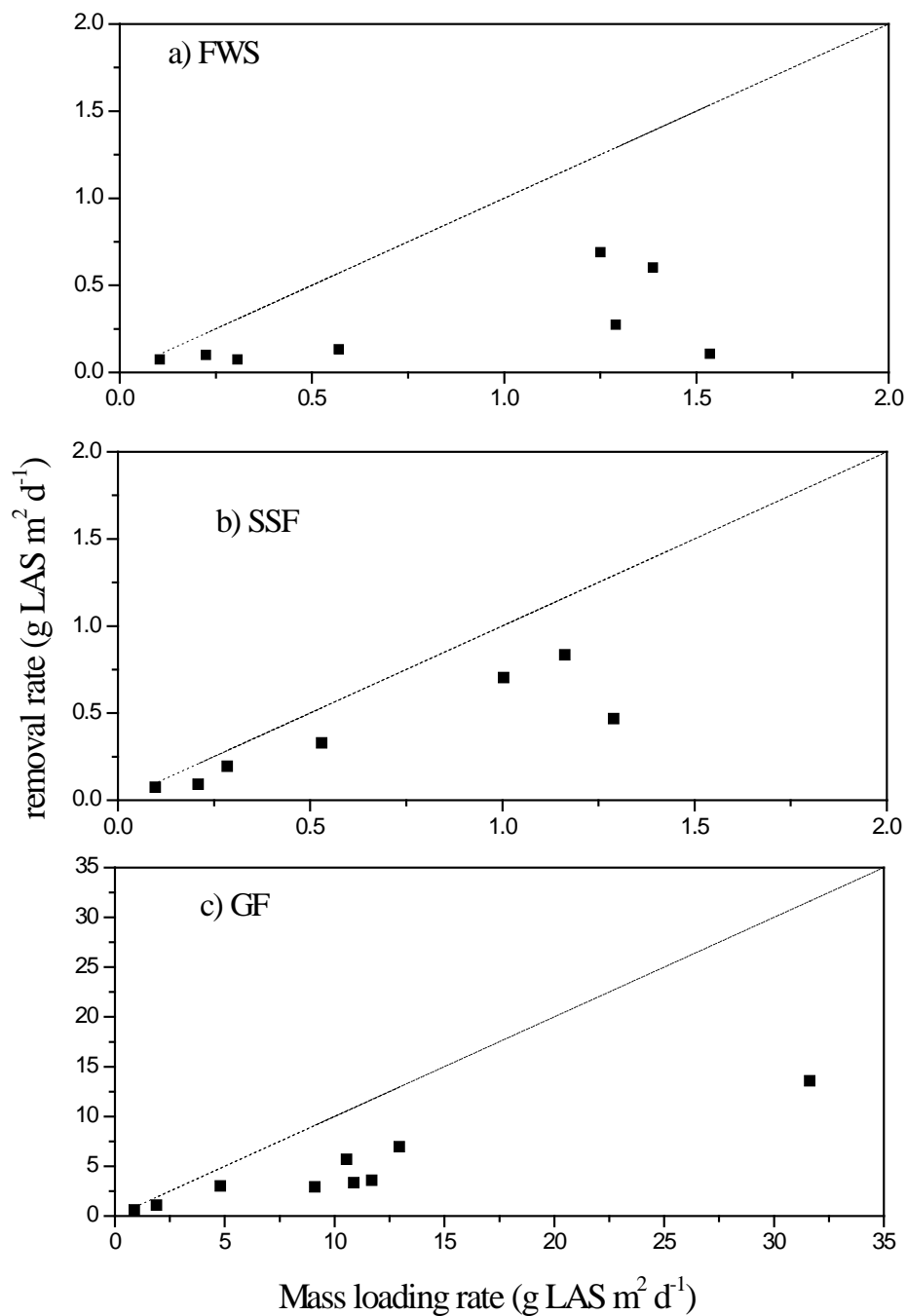
Σχήμα 40. Οι σχέσεις μεταξύ k_v για την απομάκρυνση των PAHs και τη θερμοκρασία του νερού: α) Στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, β) Στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF. Οι τιμές k_{v20} και θ εκτιμώνται από την προσαρμογή των καμπύλων στα δεδομένα (R = συντελεστής παλινδρόμησης).



Σχήμα 41. Σχέση μεταξύ k_v για την απομάκρυνση των LAS και της θερμοκρασίας του νερού α) στον υγροβιότοπο ελεύθερης επιφάνειας, FWS β) στον υγροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, SSF και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF. Οι τιμές των k_{v20} και θ έχουν υπολογιστεί με την προσαρμογή της καμπύλης (R =συντελεστής παλινδρόμησης).



Σχήμα 42. Απομάκρυνση των μαζών PAHs α) στον υδροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) στον υδροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, SSF και γ) στο χαλικόφιλτρο, GF, σε σχέση με τις ταχύτητες φορτίσεων σε μονάδες μάζας. Οι κουκκίδες αναπαριστούν σημεία όπου θα είχαμε 100% απομάκρυνση.



Σχήμα 43. Οι απομακρύνσεις της μάζας των LAS α) στον υδροβιότοπο ελεύθερης επιφανείας, FWS β) στον υδροβιότοπο υποεπιφανειακής ροής, SSF και γ) στο χαλκόφιτρο, GF, σε σχέση με τις ταχύτητες φορτίσεων σε μονάδες μάζας. Οι κουκκίδες αναπαριστούν σημεία όπου θα είχαμε 100% απομάκρυνση.

Πίνακας 20. Συγκεντρώσεις εισόδου και εκροής των τριών συστημάτων επεξεργασίας που εξετάστηκαν και οι μέσες απομακρύνσεις για κάθε ρύπο.

Parameter	influent		FWS		SSF		GF	
				% removal		% removal		% removal
COD (mg l ⁻¹)	465	± 246	± 47		140	± 70		224 ± 52
	183 ^a	107 ^b			135 ^b			127 ^b
TSS (mg l ⁻¹)	128	± 75	± 42		28	± 78		37 ± 71
	47 ^a	41 ^b			12 ^b			20 ^b
TN (mg l ⁻¹)	69 ± 8 ^a	64	± 8.2		55	± 20.7		64 ± 8.0
		15 ^a			18 ^b			12 ^a
TP (mg l ⁻¹)	14.7	± 11.2	± 23.7		8.8	± 39.9		11.4 ± 22.7
	2.9 ^a	1.3 ^a			0.9 ^b			2.1 ^b
Σ16PAHs (ng l ⁻¹)	786	± 250	± 68.2		164	± 79.2		210 ± 73.3
	514 ^a	211 ^b			175 ^b			165 ^b
Total-LAS (mg l ⁻¹) 1)	7.17	± 5.02	± 30.0		3.19	± 55.5		4.24 ± 40.9
	5.46 ^a	3.39 ^b			5.07 ^b			3.27 ^b
LAS-C10 (mg l ⁻¹)	1.35	± 0.81	± 39.7		0.71	± 47.3		0.87 ± 35.4
	0.98 ^a	0.45 ^a			0.60 ^a			0.45 ^a
LAS-C11 (mg l ⁻¹)	2.55	± 1.73	± 31.9		1.30	± 48.8		1.59 ± 37.4
	2.03 ^a	1.27 ^a			1.96 ^a			1.24 ^a
LAS-C12 (mg l ⁻¹)	2.09	± 1.41	± 32.2		0.92	± 55.8		1.16 ± 44.4
	1.81 ^a	1.13 ^a			1.79 ^a			1.13 ^a
LAS-C13 (mg l ⁻¹)	1.19	± 1.06	± 11.3		0.61	± 49.1		0.62 ± 48.3
	0.84 ^a	0.77 ^a			0.95 ^a			0.51 ^a

a, b: In each row, mean values followed by a different symbol are significantly different ($p < 0.05$)

Πίνακας 21. Μια περίληψη των κινητικών σταθερών πρώτης τάξης σε σχέση με τη θερμοκρασία σύμφωνα με διαφορετικούς ερευνητές.

Constituents	Type of treatment	Place	$K_{v,20} \text{ d}^{-1}$	θ
COD				
	Gravel bed, unplanted	New Zealand ¹	0.48-0.59	-
	Gravel bed, planted	New Zealand ¹	0.37-0.66	-
	SSF	USA ²	0.61-0.93	0.95-0.96
	FWS	Greece ³	0.29	1.00
	SSF	Greece ³	0.77	1.07
	Gravel filter	Greece ³	0.61	1.09
TSS				
	Constructed wetlands	Czech ⁴	0.12 (k_A)	1.00
	Constructed wetlands	Czech ⁵	2.74 (k_A)	1.00
	FWS	Greece ³	0.23	1.04
	SSF	Greece ³	0.86	1.05
	Gravel filter	Greece ³	2.68	1.02
TN				
	FWS	Taiwan ⁶	0.32	1.10
	SSF	USA ⁷	0.13	1.01
	FWS	Greece ³	0.06	0.97
	SSF	Greece ³	0.15	1.11
	Gravel filter	Greece ³	0.03	1.04
TP				
	SSF	Norway ⁸	0.28	
	FWS	Turkey ⁹	0.19	1.07
	Sand filter	Turkey	0.19	1.04
	FWS	Greece ³	0.10	1.02
	SSF	Greece ³	0.26	1.04
	Gravel filter	Greece ³	0.06	1.08

1: Tanner et al. (1999), 2: Stein et al. (2006), 3: This work, 4: Kadlec et al. (2000), 5: Kadlec and Knight (1996), 6: Jing et al. (2004), 7: Huang et al. (2000), 8: Wittgren and Maehlum (1997), 9: Tucsiper (2007).

Πίνακας 22. Μηδενικής τάξης και πρώτης τάξης ογκομετρικές κινητικές σταθερές για τους τεχνητούς υδροβιότοπους και το χαλικόφιλτρο, για την απομάκρυνση PAHs και LAS μαζί με τους συντελεστές συσχετισμού τους.

Συστήματα Επεξεργασία	Zero-order			First-order		
	k	θ	r^2	k	θ	r^2
FWS						
PAHs	0,22	1,06	0,376	1,69	0,89	0,991
LAS	1,14	0,87	0,447	0,26	0,87	0,663
SSF						
PAHs	0,32	1,08	0,416	2,98	0,90	0,870
LAS	3,23	0,97	0,162	1,12	0,97	0,357
GF						
PAHs	0,16	1,09	0,447	1,10	0,93	0,802
LAS	2,21	0,91	0,483	0,46	0,95	0,384

Πίνακας 23. Συγκεντρώσεις εισόδου-εξόδου και ποσοστά απομάκρυνσης ξενοβιοτικών ουσιών στα εξεταζόμενα συστήματα.

Ρύπος	Είσοδος	FWS		SSF		Βιοδίσκος		Advantex	
	($\mu\text{g/l}$)	($\mu\text{g/l}$)	Απομ. %	($\mu\text{g/l}$)	Απομ. %	($\mu\text{g/l}$)	Απομ. %	($\mu\text{g/l}$)	Απομ. %
Σ16PAHs									
Mean	1.22	0.95	22	0.31	75	0.26	78	0.16	86
S.D.	0.28	0.47		0.16		0.08		0.08	
LAS									
Mean	5904	4882	17	1949	67	1299	78	410	93
S.D.	3531	3606		1025		1541		485	

4.4 Σύγκριση των απομακρύνσεων PAHs και LAS με αντιδραστήρες διαλείποντος έργου περιοδικής λειτουργίας (Sequencing Batch Reactors, SBR)

4.4.1 Εισαγωγή

Η παρουσία μικρορυπαντών στα υγρά απόβλητα ενέχει τον κίνδυνο ρύπανσης του εδάφους, και των επιφανειακών και υπεδάφειων υδατικών πόρων. Οι επιφανειοδραστικές ουσίες είναι μια εκτεταμένα χρησιμοποιημένη χημική ομάδα, δεδομένου ότι χρησιμοποιείται ευρέως ως απορρυπαντικό για τις βιομηχανικών και τις οικείες. Τα ανιονικά επιφανειοδραστικά μπορούν να είναι τοξικά σε διάφορους υδρόβιους οργανισμούς, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0.0025 έως 300 mg/L (ανιονικά) (Pettersson et al., 2000). Τα Γραμμικά Αλκυλοβενζοσουλφονικά Άλατα (LAS) είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα συνθετικά ανιονικά επιφανειοδραστικά. Οι Madsen et al (1998), ανέφεραν εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων στη Δανία είχαν συγκεντρώσεις LAS της τάξης 11–16.100 mg/kg λάσπης. Τα LAS βιοδιασπώνται γρήγορα και σχεδόν ποσοτικά σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων υπό αερόβιες συνθήκες [Berna et al., 1991, Prats et al., 1997]. Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) αποτελούν έναν τύπο ενώσεων, που όλες που αποτελούνται από δύο ή περισσότερα αρωματικούς δακτύλιου. Τα PAHs που είναι σε μεγαλύτερη αφθονία στη λάσπη βιολογικού καθαρισμού και τα επεξεργασμένα υγρά απόβλητα είναι το φαινανθρένιο, το φλουρανθένιο και το βενζο(α)πυρένιο και λόγω των τοξικών, καρκινογόνων, ή τερατογενετικών χαρακτηριστικών τους [White, 1986, IARC 1987-1991] η παρουσία τους έχει γίνει αντικείμενο σε νομοθετικές ρυθμίσεις και ελέγχους [European Commission, 2001, Busetti et al., 2006]. Τα υψηλά μοριακά βάρη τους και η χαμηλή διαλυτότητά τους στο νερό περιορίζουν τη βιολογική διαθεσιμότητα και την βιοδιάσπασή τους.

Ακόμα κι οι προηγούμενα αναφερθέντες μικρορυπαντές έχουν αποτελέσει ένα αντικείμενο έρευνας σε έναν μεγάλο αριθμό άρθρων υπάρχει ακόμα μια έλλειψη αξιόπιστων πειραματικών στοιχείων σε καθορισμένες με ακρίβεια συνθήκες λειτουργίας αντιδραστήρων εργαστηριακής κλίμακας. Σε αυτό το μέρος της διδακτορικής διατριβής η απομάκρυνση αυτών των δύο τύπων μικρορυπαντών

μελετάται προκειμένου να καθοριστεί η σταθερότητα και η καταλληλότητα της μεθόδου επεξεργασίας SBR για την απομάκρυνση αυτών των ενώσεων στην περίπτωση της εισροής υψηλών συγκεντρώσεων από αυτούς τους συγκεκριμένους ρύπους και ποια είναι η απόκριση των βιοαντιδραστήρων αυτών σε μια αυξανόμενη συγκέντρωση ρύπων και ειδικότερα πόσο χρόνος απαιτείται για την προσαρμογή συστημάτων σε αυτές τις νέες συνθήκες. Επίσης γίνεται μια σύγκριση της απόδοσης στην απομάκρυνση των PAHs και των LAS με την απόδοση των εναλλακτικών μεθόδων που εξετάστηκαν προηγουμένα.

4.4.2 Απόδοση και σταθερότητα των αντιδραστήρων σε σχέση με την προσθήκη ξενοβιοτικών

Η συγκέντρωση βιομάζας καθώς επίσης και το ποσοστό αφαίρεσης COD ήταν σταθερό κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου για τους τρεις αντιδραστήρες με συγκέντρωση περίπου 2500 mg/L VSS και ποσοστό απομάκρυνσης πάνω από 85% αντίστοιχα. Αυτό ήταν μια καλή ένδειξη ότι οι αντιδραστήρες λειτουργούσαν ικανοποιητικά, φτάνοντας σε συνθήκες σταθερής κατάστασης μετά από 2 εβδομάδες από την αρχή του πειράματος και ότι οι μικροβιακές κοινότητες είχαν προσαρμοστεί καλά στη συγκέντρωση ξενοβιοτικών που εφαρμόστηκαν, σε σύγκριση με τον αντιδραστήρα ελέγχου που δεν προστέθηκαν ξενοβιοτικά. Μια μικρή εξαίρεση στην πτώση της συγκέντρωσης της βιομάζας σε ένα ελάχιστο 1700 mg/L παρατηρήθηκε στους αντιδραστήρων που εισάγονταν με την τροφοδοσία PAHs και LAS μόνο μεταξύ της 6^{ης} και της 12^{ης} ημέρας της πειραματικής περιόδου.

Στην αρχική περίοδο εγκλιματισμού των μικροοργανισμών στους αντιδραστήρες υπήρξε μια μικρή αλλά μάλλον σημαντική μείωση του ποσοστού απομάκρυνσης των PAHs μέχρι την 28^η ημέρα. Αυτή η επίδραση δεν παρατηρήθηκε στην περίπτωση των LAS, όπου η απομάκρυνση μειώθηκε μόνο κοντά στο τέλος του πειράματος, όπου οι υψηλότερες απομακρύνσεις καταγράφηκαν ακόμη και στις τελευταίες αυξανόμενες συγκεντρώσεις τροφοδοσίας. Τρεις ημέρες ή εννέα κύκλοι της λειτουργίας του κάθε ένα βιοαντιδραστήρα SBR ήταν η μέγιστη περίοδος που απαιτήθηκε μετά από μια αύξηση στην συγκέντρωση εισόδου για να επιστρέψει στην πριν τη διατάραξη σχεδόν

σταθερή συγκέντρωση COD και ξενοβιοτικών. Με μια καλύτερη εξέταση των σχημάτων 47, 48, 49 και 50 σε σχέση με τις συγκεντρώσεις ξενοβιοτικών εισόδου στον Πίνακα 5, αποκαλύπτει μια μικρή φάση υστέρησης στην αύξηση της συγκέντρωσης εκροής, προερχόμενη από μια αύξηση στην συγκέντρωση τροφοδοσίας. Αυτό πιθανώς οφείλεται:

α. στην απορρόφηση και τη βιοσυσσώρευση των ξενοβιοτικών στα στερεά που υποβάλλονται σε μεγαλύτερο μέσο χρόνο παραμονής σε σχέση με την υγρή κινητή φάση ή/και την άμεση βιοδιάσπαση μέσα στα στερεά ενός μικρού μέρους των επιπλέον προσροφώμενων ποσοτήτων

β. μια μεγαλύτερη αύξηση στη συγκέντρωση ξενοβιοτικών πιθανόν μπορεί να προκαλέσει μια μεγαλύτερη προσαρμογή του μικροβιακών πληθυσμού και ταχύτερη παραγωγή των αντίστοιχων ενζύμων καταβολισμού λόγω της υψηλότερης βιολογικής διαθεσιμότητας υποστρωμάτων. Η υψηλότερη ταχύτητα βιοδιάσπασης μπορεί να ελαχιστοποιήσει την αναμενόμενη αύξηση συγκέντρωσης στα επεξεργασμένα απόβλητα της εκροής. Θα ακολουθήσει μια πιο λεπτομερής συζήτηση για την απομάκρυνση κάθε κατηγορίας ξενοβιοτικών.

4.4.3 Απομάκρυνση των LAS

Η συγκέντρωση LAS στην είσοδο των βιοαντιδραστήρων ήταν ένας κρίσιμος παράγοντας για το σχεδιασμό αυτού του πειράματος και μια δοκιμή της απόδοσης των βιοαντιδραστήρων. Η διάσπαση των LAS πραγματοποιείται κατά προτίμηση σε ομόλογα μεγαλύτερου μοριακού βάρους [Swisher, 1987], αυτά τα ομόλογα είναι επίσης αυτά που παρουσιάζουν μια μεγαλύτερη ικανότητα προσρόφησης [Hand, and Williams 1987], αλλά ασήμαντες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των απομακρύνσεων των C10, C11, C12 και C13 των ομολόγων. Στα υγρά απόβλητα μεταξύ 50% και 70% των LAS συνδέεται με τα αιωρούμενα στερεά [Cavalli, 1993, Prats et al., 1997], και το γεγονός αυτό μπορεί να μειώσει τη βιολογική διαθεσιμότητά τους, ιδιαίτερα των ομολόγων της μακρύτερης αλκυλικής αλυσίδας, και έτσι επίσης να περιορίσει την ταχύτητα διάσπασης. Η προσρόφηση όμως έχει επίσης μια έμμεση θετική επίδραση στην συνολική απόδοση της βιοδιασπάσεως, δηλ. παρέχει στα LAS

έναν μεγαλύτερο χρόνο παραμονής που συσχετίζεται με το χρόνο παραμονής στερεών (SRT) παρά με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής HRT.

Υψηλές απομακρύνσεις LAS επιτεύχθηκαν (> 95%) κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και διατηρήθηκαν κάτω από τοξικά επίπεδα στη λάσπη (σχήματα 44, 46, 49). συνολικές απομακρύνσεις (συγκέντρωση εισόδου - συγκέντρωση στην εκροή) στις δοκιμές μας ήταν παρόμοιες με τις βιβλιογραφίας που αναφέρεται παρακάτω και πιο συγκεκριμένα για τα LAS C10-C13 βρέθηκε για να είναι $95.4 \pm 5,0$ για τα C10, $96.9 \pm 3,5$ για τα C11, $96.0 \pm 5,1$ για τα C12 και $93.7 \pm 8,5$ για τα C13.

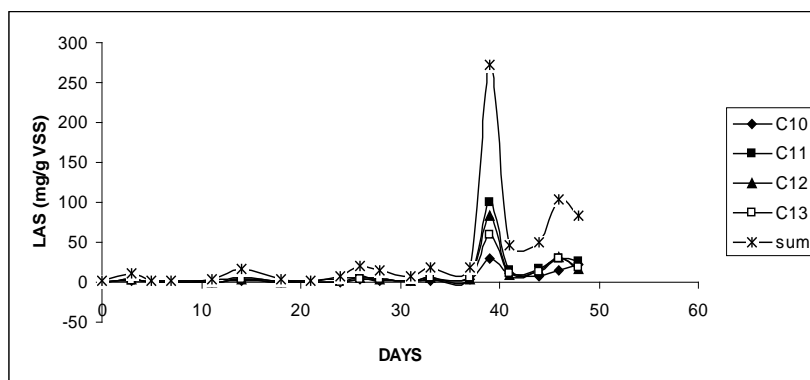
Για σύγκριση με τα αποτελέσματά μας, στην ενεργή ιλύς η απομάκρυνση των LAS είναι υψηλότερη από 98% [4 , 14, 15] παρά ότι το 92–98% του C12 ομολόγου των LAS παραμένει προσροφημένου στη λάσπη [Temmink, and Klarwijk 2004] περιορίζοντάς τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Δεδομένου ότι είναι σαφές από το σχήμα 41 ότι επίσης παρατηρήθηκε μια σημαντική προσρόφηση στα πειράματά μας αλλά βιοδιάσπαση πρέπει σε κάποιο βαθμό να επιταχύνεται ή να πραγματοποιείται επίσης στην “κουβέρτα της λάσπης”, μια και η συγκέντρωση στη λάσπη μειώνεται, ακόμα και μετά από την προσθήκη μιας αυξανόμενης συγκέντρωσης εισόδου. Αργή βιοδιάσπαση έχει επίσης αναφερθεί (Hrsak et al., 1982, Sigoillot and Nguyen, 1992), σε συγκεντρώσεις μέχρι 35 mg/L LAS που θεωρητικά είναι τοξικές στην ενεργή ιλύς [Linon et al 1975]. Οι Larson et al., (1993) ανέφεραν χρόνο ημιζωής 1.5-2.2 ημερών για 14,4 μM LAS στην ενεργή ιλύ αλλά βρήκαν > 90% ανοργανοποίηση της συγκέντρωσης 14,4 μM LAS που εισήχθησαν σε ένα πειραματικής κλίμακας συνεχές σύστημα ενεργής ιλύς με υδραυλικό χρόνο παραμονής HRT 6h.

Οι Leon et al., (2006) διαπίστωσαν ότι από μια αρχική συγκέντρωση εισόδου 10mg/L μια απομάκρυνση 90% θα μπορούσε να επιτευχθεί κατά την περίοδο προσαρμογής (20 ημέρες) μιας πιλοτικής μονάδας ενεργούς ιλύος. Μετά από αυτήν την περίοδο η απομάκρυνση υπερέβη το 99,5% και αυτή η αύξηση αποδόθηκε στη βιοδιάσπαση.

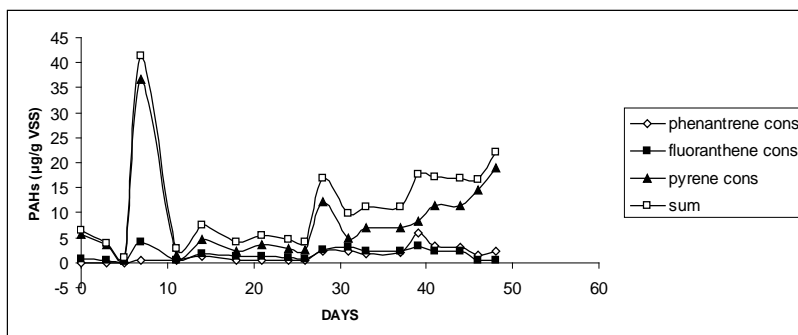
Οι Dokianakis et al., (2006) ανέφεραν ότι οι νιτροποιητές προκάλεσαν διάσπαση που είχε σαν αποτέλεσμα την απομάκρυνση ποσοστού 64, 76 και 85% σε LAS από την αρχικά προστιθέμενη συγκέντρωση εισόδου των 10, 6, και 2 mg/L. Μια πλήρης προσρόφηση των LAS στη λάσπη παρατηρήθηκε.

Οι Konopka et al., (1997) επίσης συσχέτισαν την υψηλή συγκέντρωση LAS στην εκροής στην παρεμπόδιση των βακτηρίων που διασπούν τα LAS, προκαλώντας έκθεση της

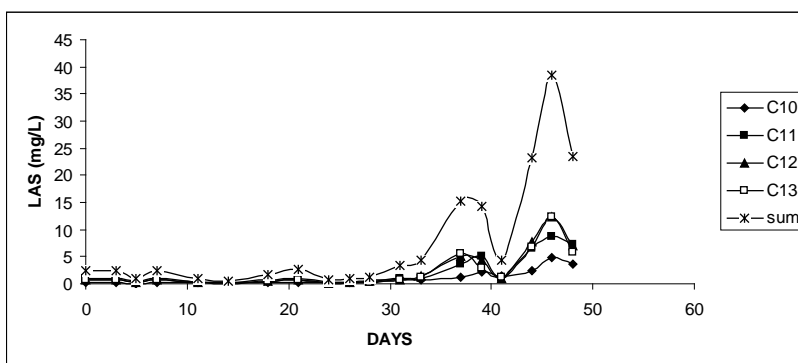
υπολοίπης μικροβιακής κοινότητας σε τοξική συγκέντρωση LAS. Αυτή η επίδραση ανατροφοδότησης οδήγησε στην ασταθή λειτουργία του συστήματος επεξεργασίας που δοκιμάστηκε. Το σύστημα αποδείχθηκε ασταθές ακόμη και σε συγκεντρώσεις 347 μM και τερμάτισε εντελώς τη λειτουργία του μέσα σε 7 ημέρες. Οι Jimenez et al., [23], πέτυχαν τη σχεδόν πλήρη βιοδιάσπαση των LAS σε συγκεντρώσεις της τάξεων των 115 μM αλλά και επίσης ανέφεραν προβλήματα στη λειτουργία σε υψηλότερες συγκεντρώσεις.



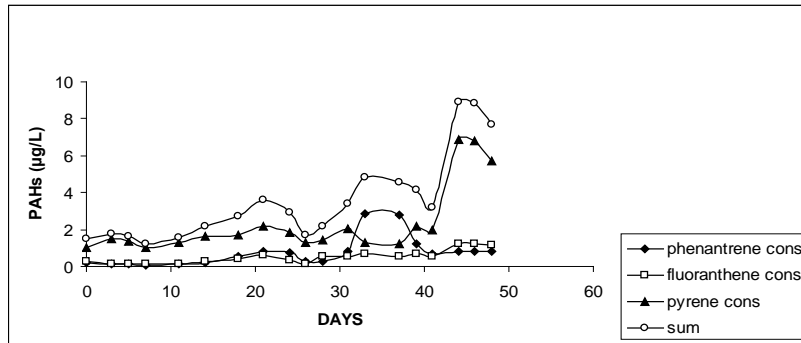
Σχήμα 44. Διακύμανση της συγκέντρωσης των LAS στη λάσπη



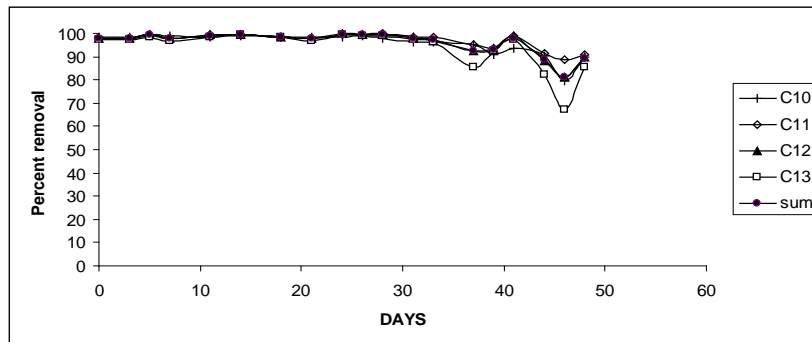
Σχήμα 45. Διακύμανση της συγκέντρωσης των PAHs στη λάσπη



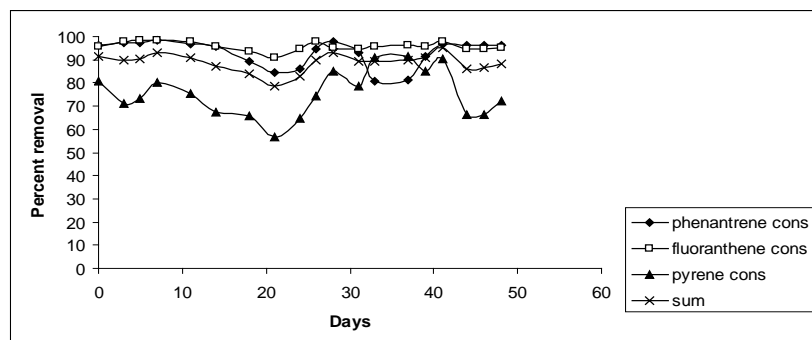
Σχήμα 46. Συγκεντρώσεις των LAS στην εκροή κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου



Σχήμα 47. Συγκεντρώσεις των PAHs στην εκροή κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου



Σχήμα 48. Ποσοστό απομάκρυνσης των LAS στην εκροή



Σχήμα 49. Ποσοστό απομάκρυνσης των PAHs στην εκροή

4.4.5 Απομακρύνσεις των PAHs

Η διακύμανση της συγκέντρωσης των PAHs στην εκροή, στη λάσπη καθώς επίσης και οι αντίστοιχες απομακρύνσεις καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου παρουσιάζονται στα σχήματα 45, 47 και 49. Όπως είναι σαφές μια υψηλή απομάκρυνση μεγαλύτερη από 90% επιτεύχθηκε με εξαίρεση το πυρένιο τον αντιπρόσωπο των μελών με 4 δακτύλιους, που είχε τα χαμηλότερα ποσοστά απομακρύνσεις λόγω του ότι είχε τη χαμηλότερη δυνατότητα βιοδιάσπασης και της μεγαλύτερου ποσοστού που μπορεί να προσροφηθεί στη λάσπη (υψηλότερο K_{ow} από τα μέλη με 3 δακτύλιους φλουρανθένιο και φαινανθρένιο) και να διατηρείται στη λάσπη, προκαλώντας τοξικότητα στους μικροοργανισμούς. Ειδικότερα οι απομακρύνσεις κυμάνθηκαν από $93.7 \pm 5.4\%$, $95.8 \pm 2.1\%$, $76.8 \pm 10.3\%$ και $89.3 \pm 4.5\%$ για το φαινανθρένιο το φλουρανθένιο και το πυρένιο και το άθροισμα αυτών των ενώσεων αντίστοιχα. Η απομάκρυνση PAHs στην ενεργή ιλύς λαμβάνει χώρα μέσω της ρόφησης και κατά πολύ λιγότερο λόγω της εξάτμισης και της βιοδιάσπασης. Οι Manoli and Samara ανέφεραν ότι η συνολική απομάκρυνση των PAHs λόγω ρόφησης θα μπορούσε να συσχετιστεί καλά με τις τιμές K_{ow} των ενώσεων κατά τη διάρκεια της πρωτοβάθμιας καθίζησης και με τις τιμές $\log K_H$ (K_H , σταθερά Henry) στη δευτεροβάθμια δεξαμενή αερισμού με τη συνολική απομάκρυνση να κυμαίνεται μεταξύ 37-89%, Οι Dokianakis et al., επίσης βρήκαν μια απομάκρυνση ποσοστού από 50 έως 70% του φαινανθρενίου από το παρακρατούμενο 100% στη νιτροποιητική ιλύ. Οι Giordano et al., βρήκαν μια απομάκρυνση 70% για μέλη με 2-3 δακτύλιους, ενώ μια απομάκρυνση 64% βρέθηκε για PAHs με 4 αρωματικούς δακτύλιους όπως το πυρένιο. Αυτή η απομάκρυνση αποδόθηκε στη μικροβιακή δραστηριότητα, μια και η ανάλυση της παγίδας ρητίνης της απαέρωσης του βιοαντιδραστήρα δεν αποκάλυψε οποιαδήποτε ανιχνεύσιμα ίχνη PAHs και επαληθεύτηκε η υπόθεση πως η εξάτμιση ήταν αμελητέα.

4.5 Σύγκριση των μικροβιακών κοινοτήτων των εναλλακτικών συστημάτων επεξεργασίας για την επεξεργασία αστικών υγρών αποβλήτων με έμφαση στις ομάδες των νιτροποιητών και των απονιτροποιητών

4.5.1 Εισαγωγή

Οι συμπαγείς μονάδες (Compact units) όπως τα βιολογικά φίλτρου συμπυκνών κλινών (Packed Bed Filters) (PBF) και οι περιστρεφόμενοι βιολογικοί δίσκοι (Rotating Biological Contactors) (RBC) έχουν χρησιμοποιηθεί μαζί με τους τεχνητούς υγροβιότοπους εκτενώς, δεδομένου ότι παρέχουν υψηλή και σχετικά σταθερή απόδοση επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Εντούτοις η σταθερότητα της απόδοσης καθώς επίσης και η σταθερότητα της δομής της μικροβιακής κοινότητας και της λειτουργίας αυτών των συστημάτων, είναι συχνά κάτω από διερεύνηση επειδή έχει διαπιστωθεί ότι επηρεάζονται από διάφορες φυσικές και χημικές διακυμάνσεις. Εκτός από τις διακυμάνσεις όπως οι βέλτιστες τιμές εύρους του pH, το διαλυτό οξυγόνο, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση αμμωνίας, η αλατότητα, το οργανικό περιεχόμενο (COD) και η συγκέντρωση ξενοβιοτικών, λειτουργικές παράμετροι όπως ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) και η υδραυλική ταχύτητα φόρτισης (HLR) έχουν αναφερθεί ότι επιδρούν σε σημαντικές ομάδες βακτηρίων στον κύκλο του αζώτου, μια βασική διαδικασία επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, (π.χ. νιτροποιητικά βακτηρίδια όπως τα AOB, καθώς επίσης και τα απονιτροποιητικά βακτήρια) με συνέπεια την αποτυχία της επεξεργασίας. Τα νιτροποιητικά βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των Ammonia Oxidizing Bacteria, AOB, είναι εξαιρετικά αργής ανάπτυξης μικροοργανισμοί και "ανθίστανται" στις προσπάθειες καλλιέργειας, αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο η νιτροποίηση θεωρείται το καθορίζον στάδιο της ταχύτητας απομάκρυνσης του αζώτου. Μια βασισμένη στην καλλιέργεια μελέτη θα έδινε μόνο μια περιορισμένη εικόνα της ποικιλομορφίας των AOB, και οι απονιτροποιητές δεν περιορίζονται σε μια ταξινομική ομάδα, έτσι μόνο μια βασισμένη σε ένα λειτουργικό γονίδιο προσέγγιση είναι κατάλληλη για την διερεύνηση των δυναμικών πληθυσμών τους.

Η εισαγωγή μοριακών τεχνικών όπως αυτές που χρησιμοποιούνται σε αυτήν την μελέτη εφαρμόζουν σημαντικά τη γνώση έχουμε για αυτούς τους οργανισμούς. Η ανάλυση με την τεχνική πολυμορφισμού μήκους τεμαχίων περιορισμού (T-RFLP) μπορεί να παρέχει μια γρήγορη ματιά στην κατανομή των λειτουργικών ομάδων και την ποικιλομορφία τους με ποιοτικό τρόπο και μαζί με ποσοτικές τεχνικές όπως την πραγματικού χρόνου (real - time) PCR μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εργαλεία για μικροβιολογικά – βασισμένο σχεδιασμό και έλεγχο της επεξεργασίας.

Η T-RFLP πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται από τους Sakano *et al.*, (2002) και η πραγματικού χρόνου PCR σύμφωνα με τους Harms *et al.*, (2003) και το αναλυτικό πρωτόκολλο που αναφέρεται στο δεύτερο κεφάλαιο.

Τα ίδια δείγματα είχαν αναλυθεί, επίσης όπως αναφέρθηκε στο δεύτερο κεφάλαιο, για τις παρακάτω παραμέτρους: Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (COD), Ολικά αιωρούμενα στερεά (TSS), pH, Ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC), Ολικό άζωτο (TN), Νιτρικά (NO₃-N), Αμμωνιακά (NH₄-N) και ολικό φώσφορο (TP), σύμφωνα με τις μεθόδους της APHA, 1995.

4.5.2 Συσχετίσεις με παραμέτρους ποιότητας νερού

Οι μέσες τιμές των ποιοτικών παραμέτρων για την εκροή από κάθε σύστημα επεξεργασίας, και για διαφορετική ταχύτητα φόρτισης HLRs παρατίθενται ξανά στον Πίνακα 16. Είναι προφανές ότι το δυναμικό απομάκρυνσης αζώτου είναι υψηλότερο στους δύο αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζα σε σχέση με τους δυο τεχνητούς υγροβιότοπους. Οι Brix *et al.*, μετά από δύο δεκαετίες εμπειρίας με τεχνητούς υγροβιότοπους, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα συστήματα με μέσα βασισμένα στο έδαφος έχουν γενικά καλή απόδοση στην απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών και του BOD, αλλά η απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου είναι χαμηλή (της τάξης του 30–50%) και τα συστήματα δεν κάνουν νιτροποίηση σε ικανοποιητικό βαθμό. Αφ' ετέρου παρατήρησαν ότι όταν χρησιμοποιόταν σαν υπόστρωμα για τα καλάμια χαλίκι, σε οριζόντιας ροής υποεπιφανειακούς υγροβιότοπος μια καλύτερη απομάκρυνση

παρατηρούνταν μια και οι πόροι του υποστρώματος επέτρεπαν ευκολότερο αερισμό των υγρών αποβλήτων σε αυτά τα συστήματα.

Πίνακας 16: Μέσες τιμές των ποιοτικών παραμέτρων για τις εκροές από κάθε σύστημα επεξεργασίας για διαφορετικό HLRs.

System	COD (mg/L)		TSS (mg/L)		TN (mg/L)		TP (mg/L)		NH ₄ ⁺ (mg/L)		NO ₃ ⁻ (mg/L)		
	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	Mean	s.d.	
FWS													
HLR _d	50%	227.9 ^a	97.3	58.9 ^a	17.7	58.5 ^a	9.2	11.3 ^a	1.0	17.5 ^a	4.9	0.9 ^a	0.9
	75%	228.3 ^a	114.2	62.0 ^a	35.6	55.8 ^a	16.6	11.3 ^a	1.2	10.4 ^a	4.2	0.7 ^a	0.5
	100%	230.0 ^a	76.5	75.9 ^a	24.4	65.7 ^a	8.4	11.4 ^a	1.0	6.2 ^a	3.0	2.1 ^a	1.9
	125%	317.9 ^a	83.8	126.7 ^a	72.3	87.0 ^a	18.4	9.7 ^a	0.9	6.9 ^a	2.6	1.4 ^a	1.1
	150%	187.9 ^a	101.9	88.8 ^a	40.9	63.6 ^a	3.4	12.4 ^a	0.9	8.4 ^a	2.8	1.0 ^a	0.5
	175%	294.3 ^a	133.2	70.1 ^a	32.5	65.8 ^a	4.9	11.2 ^a	1.5	15.2 ^a	3.8	0.7 ^a	0.4
HSF													
HLR _d	50%	130.5 ^b	103.3	26.0 ^b	6.7	68.9 ^a	25.0	8.6 ^b	0.7	17.4 ^a	8.4	6.2 ^a	7.1
	75%	99.6 ^b	49.4	20.7 ^b	5.1	41.2 ^a	12.3	9.2 ^b	0.6	11.4 ^a	1.6	3.1 ^a	2.5
	100%	85.7 ^b	58.9	29.4 ^b	10.2	49.4 ^b	7.3	7.8 ^b	0.6	7.8 ^b	3.6	2.7 ^a	2.2
	125%	34.6 ^b	24.8	25.7 ^b	19.9	47.0 ^{b,c}	7.8	7.9 ^b	0.3	7.2 ^a	4.4	1.2 ^a	0.4
	150%	126.3 ^a	65.2	30.8 ^b	12.6	51.2 ^{a,b}	8.8	9.1 ^b	0.8	7.8 ^a	1.7	1.3 ^a	0.3
	175%	341.1 ^a	189.1	39.4 ^a	10.8	67.4 ^a	7.2	10.0 ^{a,b}	0.8	14.6 ^a	4.5	0.7 ^a	0.6
RBC													
HLR _d	50%	95.5 ^b	62.8	14.6 ^c	5.4	59.2 ^a	9.7	8.6 ^{b,c}	1.0	2.9 ^b	1.3	25.1 ^b	23.0
	75%	43.4 ^b	18.4	11.9 ^b	4.5	38.4 ^a	10.4	7.9 ^c	0.9	1.8 ^b	1.1	30.5 ^b	8.0
	100%	16.6 ^b	9.7	14.9 ^b	6.3	25.6 ^c	5.1	8.6 ^c	1.7	5.5 ^b	3.1	28.1 ^b	20.9
	125%	38.4 ^b	19.6	14.2 ^b	7.5	61.5 ^b	11.6	8.0 ^b	1.3	8.6 ^a	3.9	2.9 ^a	2.5
	150%	94.0 ^a	63.1	26.0 ^b	8.1	42.2 ^b	11.4	6.8 ^b	2.4	10.7 ^a	1.0	1.8 ^a	0.7
	175%	178.9 ^a	101.8	61.8 ^a	23.1	41.4 ^b	4.5	8.7 ^{b,c}	0.8	5.2 ^b	3.9	22.0 ^b	8.8
PBF													
HLR _d	50%	51.9 ^b	43.0	10.2 ^c	8.6	55.0 ^a	10.4	7.5 ^c	0.9	1.1 ^b	0.5	24.8 ^b	25.8
	75%	50.3 ^b	32.2	11.1 ^b	7.0	47.5 ^a	13.5	8.1 ^c	1.1	1.5 ^b	1.1	34.6 ^b	10.8
	100%	18.3 ^b	18.3	19.3 ^b	8.1	28.0 ^c	5.1	8.6 ^c	0.7	4.4 ^b	2.0	27.8 ^b	13.3
	125%	32.0 ^b	16.0	19.2 ^b	3.5	35.5 ^c	15.3	7.8 ^b	0.8	5.2 ^a	2.6	3.5 ^a	2.7
	150%	111.2 ^a	61.0	33.8 ^b	9.8	38.0 ^b	13.3	8.6 ^b	1.1	7.1 ^a	1.4	2.6 ^a	1.6
	175%	216.0 ^a	123.1	57.5 ^a	24.9	39.0 ^b	17.1	8.1 ^c	0.9	12.5 ^{a,b}	1.0	5.2 ^a	0.5

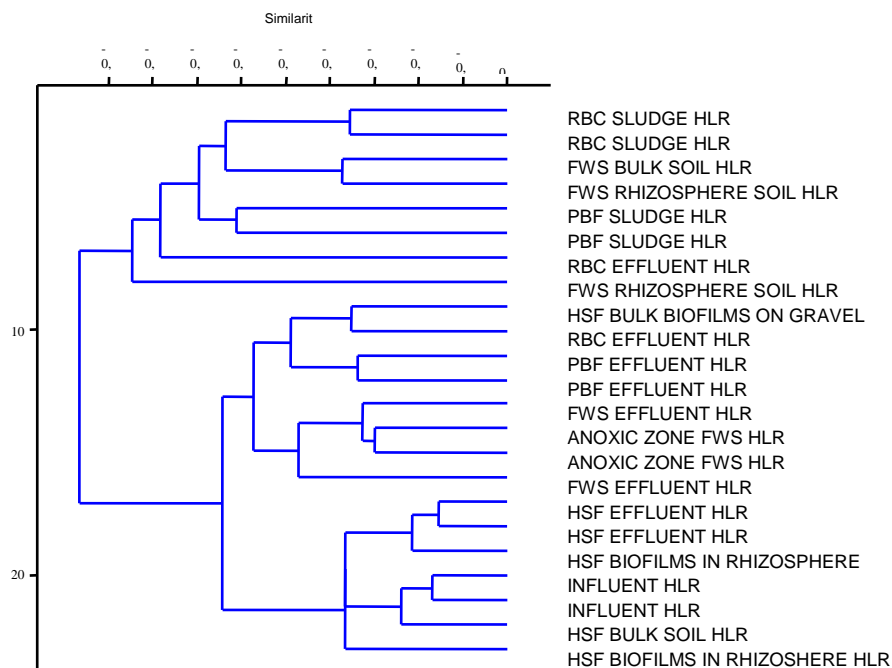
Συγκρίνοντας τις απομακρύνσεις αζώτου σε διαφορετικές φορτίσεις επεξεργασίας HLR από 50% με 150% στον πίνακα 16 (δυσ ακραίες περιπτώσεις ακραίων ταχυτήτων οργανικής φόρτισης), παρατηρείται μια μείωση της συγκέντρωσης του TN κατά 17% στις εκροές των συστημάτων HSF, RBC και PBF ενώ στις εκροές του υδροβιότοπου FWS η συγκέντρωση TN αυξάνεται κατά 5%. Συγχρόνως οι απομακρύνσεις COD αυξάνονται για τα συστήματα FWS, HSF και RBC, όπως εμφανίζεται από τη μείωση συγκέντρωσης COD στην εκροή αυτών των συστημάτων. Μόνο για το σύστημα PBF η συγκέντρωση του COD αυξάνεται σχεδόν δύο φορές (αύξηση που είναι εντούτοις μικρότερη από την τριπλάσια εφαρμοζόμενη οργανική φόρτιση, (και επομένως τριπλάσια απαίτηση σε

οξυγόνο COD) κατά την αλλαγή της υδραυλικής ταχύτητας φόρτισης από 50 στο 150% της ονομαστικής ταχύτητας HLR κατά το σχεδιασμό των συστημάτων). Αυτό συμβαίνει πιθανά επειδή σε αυτό το σύστημα η οργανική φόρτιση παρέχεται συνεχώς σε μικρά ποσά και τα βακτήρια διατηρούνται στη φάση ενδογενούς αναπνοής τους. Η αύξηση σε ταχύτητα φόρτισης HLR από 50% σε 100% πρέπει να έχει μια θετική επίδραση στο μεταβολισμό και τη λειτουργία βακτηρίων, επειδή ευκολότερα βιοδιασπάσιμο οργανικές ενώσεις και θρεπτικές ουσίες είναι διαθέσιμα στα ετερότροφα βακτήρια, στους νιτροποιητές, στους νιτροδοποιητές και στα βακτήρια που κάνουν την απονιτροποίηση. Από την άλλη μεριά όμως όταν η ταχύτητα φόρτισης HLR υπερβαίνει το ποσοστό 100% της ονομαστικής (από το σχεδιασμό) HLR, πραγματοποιείται οργανική παρεμπόδιση λόγω υπερφόρτισης. Τα περιβάλλοντα των συστημάτων που λαμβάνει χώρα η επεξεργασία μετατρέπονται σε χαμηλού-οξυγόνου και οξειδοαναγωγικού δυναμικού φάσεις (ή ακόμα και ανοξικές για τον υγροβιότοπο FWS) και η πορεία απομάκρυνσης του αζώτου ανακόπτεται. Σε αυτήν την περίπτωση οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί πολλαπλασιάζονται και ανταγωνίζονται τους νιτροδοποιητές στη λήψη οξυγόνου και αμμωνιακών. Τα τρία συστήματα που εξετάστηκαν σε αυτήν την μελέτη, εκτός από το FWS, θα μπορούσαν να υποστηρίξουν ένα εύρος συγκεντρώσεων οξυγόνου στο οποίο τα AOB θα μπορούσαν να επιζήσουν και να αναπτυχθούν ακόμη και σε αυτές τις υψηλές ταχύτητες οργανικής φόρτισης.

4.5.3 Αποτελέσματα από την ανάλυση με T-RFLP

Η ανάλυση πολλαπλών επαναλήψεων δειγμάτων με χρήση της T-RFLP με πέψη γονιδίων 16S rRNA, χρησιμοποιώντας παγκόσμιους εκκινητές για βακτήρια και εκκινητές που στοχεύουν σε περιοχή στο γονίδιο 16S rRNA ειδικά για τα AOB, αποκάλυψε ότι τα ηλεκτροφερογραφήματα που εξήχθησαν από τις πολλαπλές επαναλήψεις δειγμάτων από το ίδιο σημείο, ήταν αναπαραγωγίμα και για απλότητα, χρησιμοποιήθηκε η σύνθεση των αποτελεσμάτων που λαμβάνουν υπόψη και τις τρεις επαναλήψεις, από κάθε διαφορετικό μέρος των διαδικασιών επεξεργασίας. Η ανάλυση σε ομάδες (cluster analysis) των αποτελεσμάτων της μεθόδου ανάλυσης με T-RFLP παρουσιάζεται στα Σχήματα 47 και 48, που συγκεντρώνονται όλα τα αποτελέσματα.

Γενικά, η ανάλυση ομάδων των γονιδίων 16S rRNA (Σχήμα 47) έδειξε ότι τα δείγματα των ακινητοποιημένων φάσεων είτε είναι χώμα, ή ενεργή ιλύς ή biofilms συσχετίζονται καλύτερα το ένα με το άλλο με βάση τα αποτυπώματα από τα T-RFs των δειγμάτων από την κινητή φάση των υγρών αποβλήτων. Δεδομένα από το αποτύπωμα μετά την πέψη γονιδίων 16S rRNA AOB, (που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία με ανάλυση σε ομάδες των δεδομένων), διαφαίνεται ότι οι συνθήκες μέσα στους αντιδραστήρες και τους υγροβιότοπους επιλέγουν διαφορετικούς πληθυσμούς (Σχήμα 47, 48). Διαφορετικά σημεία μέσα στο ίδιο σύστημα (δηλ. τα υγρά απόβλητα ή η ακινητοποιημένη φάση των συστημάτων) αποκρίνεται σε ένα διαφορετικό (είτε πρόκειται γενικά για βακτήρια, είτε για AOB) αποτύπωμα T-RF.



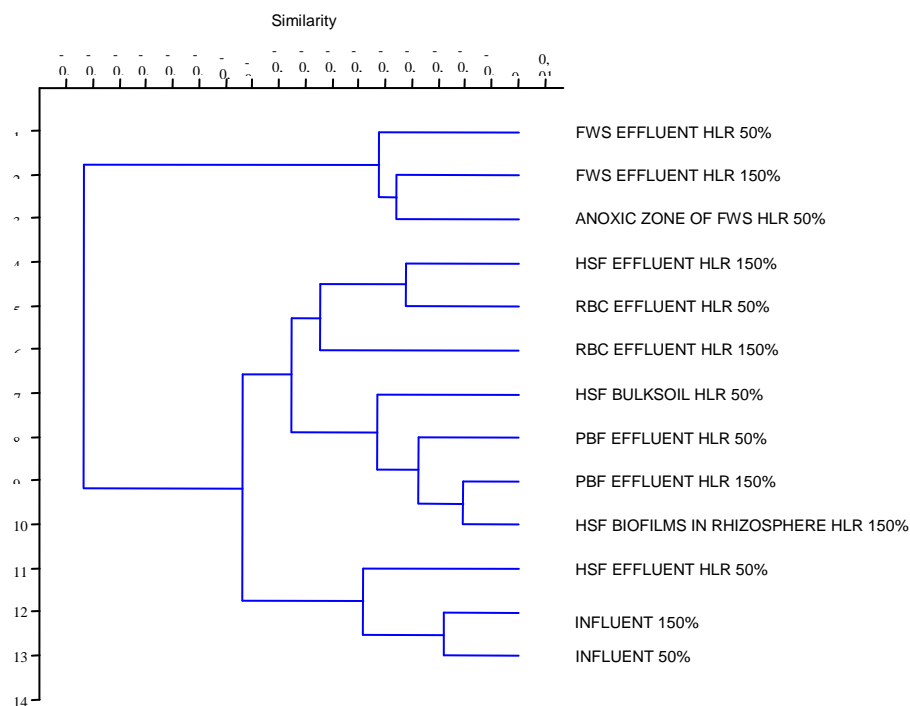
Σχήμα 47: Ανάλυση σε ομάδες των δεδομένων από την ανάλυση με T-RFLP χρησιμοποιώντας ευκλείδειες αποστάσεις μετά την πέψη γονιδίων 16S rRNA ενισχυμένων με παγκόσμιου εναρκτές.

Η ανάλυση σε ομάδες που έγινε με βάση τις ευκλείδειες αποστάσεις των δεδομένων που προέκυψαν από την ανάλυση με T-RFLP γονιδίων 16S rRNA των AOB, έδειξε ότι υπάρχει μια μεγάλη ομοιότητα μεταξύ πληθυσμών των εκροών του FWS και της ανοξική ζώνη από το ίδιο σύστημα υδροβιότοπου, σημεία που διατηρούν την ίδια χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Παρόμοια αποτυπώματα με T-RFLP βρέθηκαν επίσης και στις εκροές του υδροβιότοπου HSF, και της μονάδας RBC, συστήματα με παραπλήσιες ταχύτητες απομάκρυνσης COD σε συνθήκες παρόμοιας εφαρμογής χαμηλής ταχύτητας φόρτισης HLR. Ομοιότητες επίσης βρέθηκαν μεταξύ δειγμάτων biofilms από τον HSF, αποσπώμενα από το χαλίκι κοντά στη ριζόσφαιρα και την εκροή της μονάδας προσκολλημένης βιομάζας PBF, όπου επίσης υψηλότερες ταχύτητες απομάκρυνσης άνθρακα και μετατροπής της αμμωνίας επιτεύχθηκαν λόγω του καλύτερου αερισμού σε αυτά τα τοπικά σημεία (σχήμα 48).

Η ανάλυση κατά ομάδες μεταξύ γονιδίων μετά από πέψη με τη τεχνική T-RFLP από AOB, έδειξε ότι στον υδροβιότοπο FWS η κοινότητα των AOB, μένει ουσιαστικά ανεπηρέαστη από την αλλαγή του 50 σε 150% της ονομαστικής ταχύτητας HLR του σχεδιασμού, πιθανώς εξαιτίας του σταθερά χαμηλού αριθμού των κατεσταλμένων πληθυσμών AOB σε αυτά τα συστήματα. Εντούτοις υπάρχει μια μεγαλύτερη ανομοιότητα στην εκροή του υδροβιότοπου HSF μεταξύ των δύο εφαρμοζόμενων φορτίσεων. Η φόρτιση με 150% του σχεδιασμένου HLR είναι παρόμοια με την ανοξική ζώνη και τα άλλα χαμηλά δείγματα συγκέντρωσης οξυγόνου από την εκροή του υδροβιότοπου FWS.

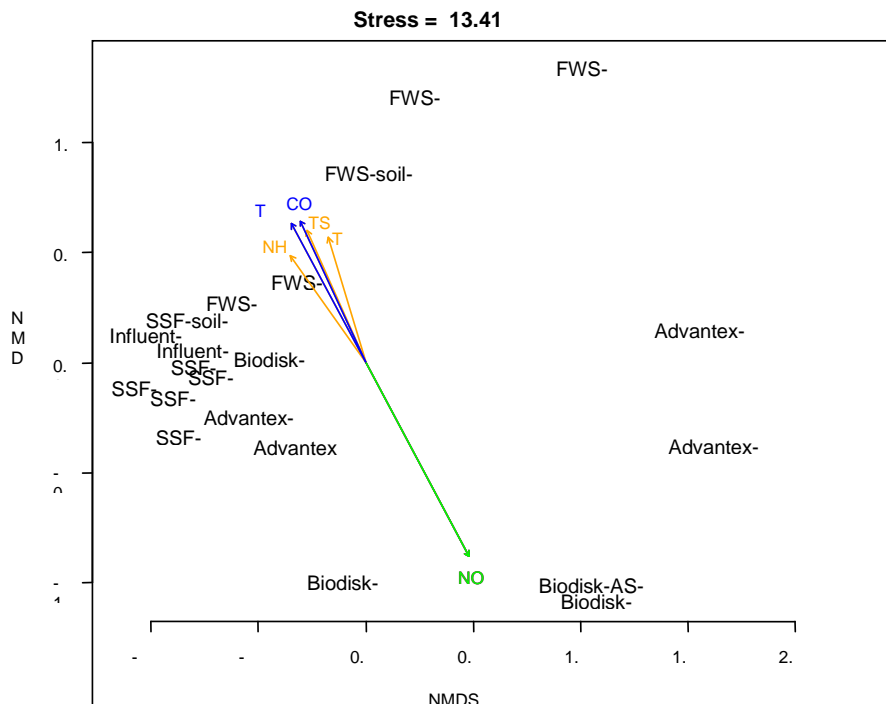
Συγκρίνοντας τα σχήματα των ηλεκροφερογραφημάτων όπως αυτά του σχήματος 22 (των δειγμάτων μετά από πέψη ενισχυμένων γονιδίων 16S rRNA των AOB), παρατηρούμε ότι οι αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας έχουν περισσότερες κορυφές από τους δυο τεχνητούς υδροβιότοπους και πιθανότατα αυτή η παρατήρηση να δικαιολογείται από μια δομή μικροβιακή κοινότητας με μεγαλύτερη ποικιλομορφία. Αυτό συμφωνεί με τις παρατηρήσεις που γίνονται από τους Tietz *et al.*, (2007) οι οποίοι έδειξαν ότι η κοινότητα των AOB σε έναν κάθετης ροής τεχνητό υδροβιότοπο CW είναι παρόμοια με αυτήν που βρίσκεται στους οριζόντιους ροής υδροβιότοπους και που καθορίζεται μόνο από μερικούς τύπους *amoA*, αλλά διαφέρει από τους κοινούς σταθμούς βιολογικού καθαρισμού (WWTPs) σχετικά με την παρουσία *Nitrosospira* που

είναι συνήθως απύσασε σε κοινούς σταθμούς WWTPs αλλά και οι δύο μονάδες επεξεργασίας είχαν μια κοινή καταγωγή των ειδών *Nitrosomonas* τους. Όμως η παρουσία ή απουσία βακτηριακών ομάδων, δεν σημαίνει απαραίτητως ότι το σύστημα αποτυγχάνει ευκολότερα να επιτελέσει την λειτουργία του (όσον αφορά την ανακύκλωση του N) όταν λιγότερα είδη AOB είναι παρόντα, δεδομένου ότι παρατηρήθηκε από Wittebolle *et al.*, (2008), ότι μόνο μια μικρή ομάδα AOB διαδραμάτισε τον κυρίαρχο ρόλο στη νιτροποίηση και των δύο ειδών αντιδραστών που εξετάστηκαν στην εργασία τους. Τα λιγότερο επικρατούντα είδη (μειονότητα της κοινότητας), θεωρήθηκε ότι αποτελούν μια εφεδρεία που μπορεί υπό συνθήκες να πολλαπλασιαστεί και να αντικαταστήσει τα κυρίαρχα είδη.



Σχήμα 48: Ανάλυση σε ομάδες των δεδομένων από την ανάλυση με T-RFLP χρησιμοποιώντας ευκλείδειες αποστάσεις μετά την πέψη γονιδίων 16S rRNA των AOB.

4.5.4 Αποτελέσματα της συσχέτισης με στατιστική ανάλυση (MDS) των δεδομένων της T-RFLP με τις φυσικοχημικές παραμέτρους



Σχήμα 49. Δείγματα της T-RFLP, με 16S rRNA χωρίς τα δείγματα από την ανοξική ζώνη του FWS

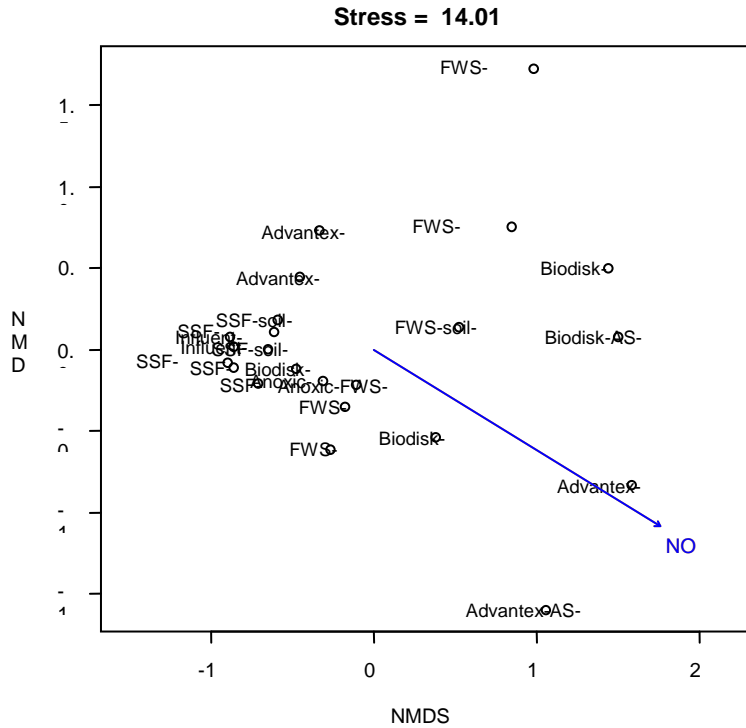
***VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
COD	-0.42581	0.90481	0.3240	0.0305 *
TSS	-0.41549	0.90960	0.2772	0.0539 .
TP	-0.29338	0.95600	0.2254	0.0845 .
TN	-0.47754	0.87861	0.3318	0.0257 *
NH4	-0.58430	0.81154	0.2277	0.0952 .
NO3	0.48010	-0.87721	0.6456	0.0001 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
P values based on 10000 permutations.

Vector colours

```
plot(ef, col="orange", p.max= 0.1)
plot(ef, col="blue", p.max= 0.05)
plot(ef, col="brown", p.max= 0.01)
plot(ef, col="green", p.max= 0.001)
```

Σχήμα 50. Ταυτόχρονη ανάλυση MDS όλων των δειγμάτων 16S rRNA

*****VECTORS**

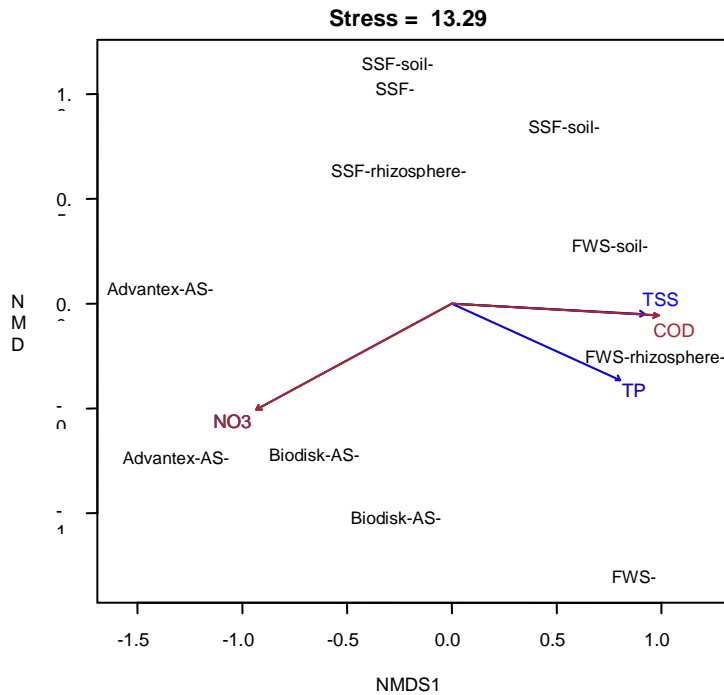
	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
COD	-0.79396	0.60797	0.1384	0.2243
TSS	-0.86583	0.50035	0.0920	0.3676
TP	-0.73684	0.67607	0.0510	0.5958
TN	-0.72114	0.69279	0.1755	0.1449
NH4	-0.92507	0.37979	0.1710	0.1495
NO3	0.85125	-0.52475	0.2841	0.0314 *

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

P values based on 10000 permutations.

Vector colours

```
plot(ef, col="orange", p.max= 0.1)
plot(ef, col="blue", p.max= 0.05)
plot(ef, col="brown", p.max= 0.01)
plot(ef, col="green", p.max= 0.001)
```



Σχήμα 51. Ταυτόχρονη ανάλυση MDS μόνο των δειγμάτων από ιζήματα, γονιδίων της ολικής βακτηριακής κοινότητας

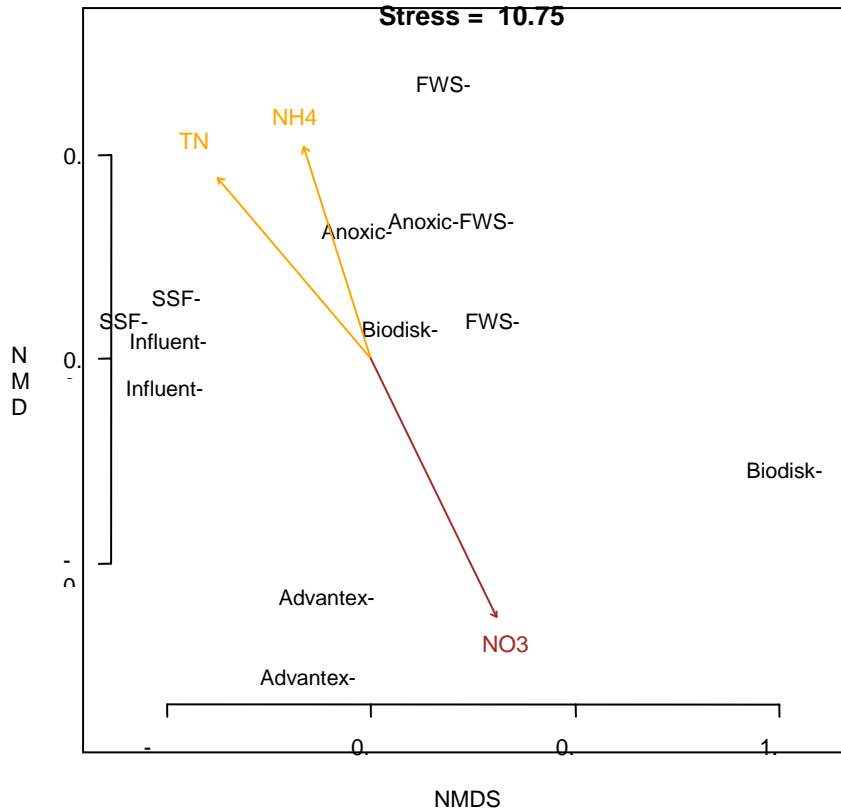
***VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)	
COD	0.998273	-0.058753	0.7574	0.0039	**
TSS	0.998579	-0.053298	0.6609	0.0125	*
TP	0.911092	-0.412203	0.6059	0.0264	*
TN	0.932854	0.360256	0.3936	0.1358	
NH4	0.743646	0.668574	0.3146	0.2166	
NO3	-0.879436	-0.476018	0.8725	0.0016	**

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
P values based on 10000 permutations.

Vector colours

```
plot(ef, col="orange", p.max= 0.1
plot(ef, col="blue", p.max= 0.05
plot(ef, col="brown", p.max= 0.01
plot(ef, col="green", p.max= 0.001
```



Σχήμα 52. Ταυτόχρονη ανάλυση MDS μόνο των δειγμάτων από υγρά απόβλητα των συστημάτων με 16S rRNA για το σύνολο των βακτηρίων

*****VECTORS**

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
COD	-0.64832	0.76137	0.2999	0.1974
TSS	-0.67838	0.73471	0.2101	0.3439
TP	-0.51953	0.85445	0.1703	0.4284
TN	-0.64467	0.76446	0.4802	0.0531 .
NH4	-0.29907	0.95423	0.4229	0.0783 .
NO3	0.43711	-0.89941	0.7104	0.0037 **

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
P values based on 10000 permutations.

Vector colours

```
plot(ef, col="orange", p.max= 0.1
plot(ef, col="blue", p.max= 0.05
plot(ef, col="brown", p.max= 0.01
plot(ef, col="green", p.max= 0.001
```

4.5.5 Συζήτηση για τα αποτελέσματα της ανάλυσης με MDS

Σε μια προσέγγιση της σύγκρισης των περιβαλλοντικών παραμέτρων (COD, TSS, NO₃-N, NH₄-N, TN, TP) που αναλύθηκαν έγινε χρήση της στατιστικής τεχνικής MDS. Από την ανάλυση αυτή προέκυψε το κύριο συμπέρασμα ότι οι μεταβολές των συγκεντρώσεων NO₃ μπορούν ως ένα βαθμό να περιγράψουν την παρατηρούμε μικροβιακή διαφοροποίηση των πληθυσμών βακτηρίων. Αυτό ως ένα βαθμό είναι αναμενόμενο μια και όπως είδαμε στους υγροβιότοπους (ειδικά στον FWS) η νιτροποίηση προχωρά πιο αργά σε σχέση με του αντιδραστήρες βιοφίλμ. Εφόσον όμως η απονιτροποίηση είναι σχετικά αργή και στα δυο συστήματα PBF και RBC υπάρχει συσσώρευση αυξημένων τιμών NO₃-N που δεν απομακρύνεται από αυτά. Σημαντικές συσχετίσεις με τις περιβαλλοντικές παραμέτρους δε βρέθηκαν για τα ευκάρια χρησιμοποιώντας δεδομένα της T-RFLP ανάλυσης για γονίδια 18S rRNA που ενισχύθηκαν με PCR από τα ίδια δείγματα.

4.5.6 Αποτελέσματα της ανάλυσης με πραγματικού-χρόνου PCR

Αποτελέσματα με πειράματα ποσοτικής (qPCR) πραγματικού χρόνου real-time PCR (Πίνακας 24) έδειξαν ότι ήδη στην είσοδο των συστημάτων υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός κυττάρων AOB καθώς και απονιτροποιητών και ότι το συνολικό φορτίο βακτηρίων ήταν υψηλότερο στις εκροές των αντιδραστήρων προσκολλημένης βιομάζας σε σχέση με τους τεχνητούς υγροβιότοπους, με το φορτίο των βακτηρίων στην εκροή της μονάδας PBF να εμφανίζεται υψηλότερο από το αντίστοιχο φορτίο του συστήματος RBC. Όταν η φόρτιση HLR αυξάνεται από το 50% της ονομαστικής σχεδιαστικής τιμής HLR στο 150% η συγκέντρωση των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS) στις εκροές αυξάνεται (πίνακας 16). Αυτό οφείλεται ενδεχομένως στο χαμηλότερο εφαρμοσμένο χρόνο καθίζησης που υπόκεινται τόσο τα αιωρούμενα στερεά όσο και τα βακτηριακά κύτταρα, και το μεγαλύτερο ποσοστό οριζόντιας μεταφοράς μορίων και κυττάρων κατά μήκος της επεξεργασίας που δημιουργεί πιο έντονο φαινόμενο μεταφοράς μαζών σε μεγαλύτερες ταχύτητες. Η επίδραση αυτή εξηγεί πιθανότατα και τη συνολική αύξηση του αριθμού βακτηριακών κυττάρων στις εκροές όλων των συστημάτων στην περίπτωση αυξήσεων το εφαρμοζόμενων ταχυτήτων HLR, που ειδάλως κατακρατούνται (σε χαμηλότερες ταχύτητες HLR) και παραμένουν προσροφημένα σε

στερεά. Η αφθονία των κυττάρων βακτηρίων AOB στα υγρά απόβλητα ήταν της τάξεως 10^3 - 10^6 ml⁻¹, ενώ η αφθονία των κυττάρων απονιτροποιητών όπως έχει υπολογιστεί από τους αριθμούς αντιγράφων γονιδίων *nosZ*, ήταν γενικά της τάξεως μεγέθους 10^5 - 10^8 . Η διακύμανση τους ήταν σε συμφωνία με τις εκτιμώμενες συγκεντρώσεις οξυγόνου, τις μετρήσεις συγκέντρωσης νιτρικών και με τις ταχύτητες μετατροπής της αμμωνίας σε κάθε σύστημα, όπως συζητείται από τους Harms *et al.*, 2003, Ishida *et al.*, 2006, Xia *et al.* 2007, Geets *et al.*, 2007, Lim *et al.*, 2008, Wittebolle *et al.*, 2008, Montràs *et al.*, 2008 and Milner *et al.*, 2008. Ο αριθμός των κυττάρων των νιτροποιητών βρέθηκε να είναι σχεδόν σταθερός και ήταν σχεδόν ίδιου μεγέθους σε όλα τα ακινητοποιημένα μέρη των συστημάτων σε οποιαδήποτε και αν ήταν η εφαρμοζόμενη ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης (HLR), και ο αριθμός τους όπως προσδιορίστηκε από την qPCR ήταν δύο τάξεις μεγαλύτερες στις εκροές των δύο συστημάτων αντιδραστών προσκολλημένης βιομάζας από τις εκροές των δύο τεχνητών υγροβιοτόπων.

Πίνακας 24: Αποτελέσματα της πραγματικού χρόνου ποσοτικής PCR

WASTEWATER	Cells AOB/l	Cells of denitrifying bacteria/l
INFLUENT	9,59E+07	1,87E+08
FWS EFFLUENT 50% HLR	0,00E+00	2,98E+07
FWS EFFLUENT 150% HLR	8,11E+06	1,24E+08
ANOX FWS 50% HLR	1,16E+06	7,38E+07
ANOX FWS 150% HLR	1,70E+07	1,08E+08
SSF EFFLUENT 50% HLR	3,65E+06	4,85E+07
SSF EFFLUENT 150% HLR	2,65E+07	7,12E+07
PBF EFFLUENT 50% HLR	1,32E+08	2,31E+09
PBF EFFLUENT 150% HLR	2,32E+08	3,97E+09
RBC EFFLUENT 50% HLR	1,66E+09	2,27E+09
RBC EFFLUENT 150% HLR	2,05E+09	3,71E+08
IMMOBILISED PARTS OF THE SYSTEMS	Cells AOB/kg of substrate	Cells of denitrifying bacteria/Kg of substrate
FWS BULK SOIL 50% HLR	4,99E+09	1,66E+10
FWS BULK SOIL 150% HLR	1,27E+09	2,29E+10
FWS RHIZO SOIL 50% HLR	2,11E+09	4,19E+09
FWS RHIZO SOIL 150% HLR	1,36E+10	7,68E+09
SSF BULK BIOFILMS 50% HLR	2,53E+10	6,68E+10
SSF BULK BIOFILMS 150% HLR	2,60E+10	2,63E+10
SSF RHIZOSPHERE BIOFILMS 50% HLR	2,58E+10	4,24E+10
SSF RHIZOSPHERE BIOFILMS 150% HLR	1,49E+10	1,48E+10
RBC SLUDGE 50% HLRL	1,09E+10	3,85E+10
RBC SLUDGE 150% HLR	2,32E+09	1,62E+10
PBF BIOFILMS 50% HLR	1,26E+10	2,45E+10
PBF BIOFILMS 150% HLR	3,76E+10	2,96E+10

Το περιβάλλον των αντιδραστήρων προσκολλημένης βιομάζας ευνοεί λοιπόν σημαντικά την αύξηση του αριθμού των AOB, καθώς επίσης και την αφθονία απονιτροποιητών, ενώ οι τεχνητοί υγροβιότοποι, ειδικά στην περίπτωση υψηλής οργανικής φόρτισης (150% της σχεδιαστικής τιμής της HLR) δεν ευνοούν την αύξηση αυτών των ομάδων βακτηρίων δεδομένου ότι σε αυτήν την περίπτωση τους ανταγωνίζονται οι ετερότροφοι. Αυτή η επίδραση ήταν προφανέστερη στην εκροή του υγροβιοτόπου FWS και ειδικά στην ανοξική ζώνη του FWS, η οποία είχε το χαμηλότερο αριθμό κυττάρων AOB και απονιτροποιητών μεταξύ όλων των υπό εξέταση συστημάτων. Ακόμη και στην ταχύτητα φόρτισης HLR 50% ο προσδιοριζόμενος αριθμός των αντιγράφων αποA ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης, επειδή το σύστημα ήταν ήδη ανοξικό και λόγω του μεγαλύτερου υδραυλικού χρόνου παραμονής τα κύτταρα AOB που βρέθηκαν στην είσοδο του συστήματος δεν κατάφεραν να διαφύγουν από την εκροή του συστήματος. Παρόλα αυτά μια μείωση στον υδραυλικό χρόνο παραμονής (κατά την εφαρμογή υψηλότερης ταχύτητας οργανικής φόρτισης) μειώνει το χρόνο έκθεσης των κυττάρων AOB σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου και πιθανόν μερικά κύτταρα AOB από την είσοδο των συστημάτων μπόρεσαν να φτάσουν στην εκροή (πιθανόν αδρανοποιημένα από τις αντίξοες συνθήκες) και να ποσοτικοποιηθούν.

Συγχρόνως, ακόμα και αν κύτταρα AOB, υπάρχουν σε ικανοποιητικούς αριθμούς και στις δύο φορτίσεις και η απομάκρυνση αζώτου είναι υψηλή, στις μονάδες RBC και PBF, ο αριθμός AOB κυττάρων δεν φαίνεται αρκετά υψηλός ώστε να μετατρέψει την αυξανόμενη εισερχόμενη συγκέντρωση αμμωνιακών σε νιτρικά και μια συσσώρευση της αμμωνίας πραγματοποιείται στην εφαρμογή φόρτισης 150% HLR. Μια πιθανή αιτία είναι ότι στην υψηλή οργανική φόρτιση, πραγματοποιείται μερική παρεμπόδιση της νιτροποίησης όπως περιγράφεται πριν, και σε αυτά τα συστήματα. Ένα συμπέρασμα που συνάγεται πάντως τόσο από τις φυσικοχημικές αναλύσεις όσο και από τις μοριακές είναι ότι στους δύο αντιδραστήρες βιοφίλμ, όπου στο οξυγόνο παρέχεται μέσω μηχανικής ανάδευσης και διάχυσης (RBC) ή μέσω διάχυσης (στο φίλτρο διαβρέχουσας ροής PBF), το καθορίζον την ταχύτητα βιολογικής απομάκρυνσης του αζώτου είναι η απονιτροποίηση παρά η νιτροποίηση.

Ο λόγος C/N στα συστήματα πρέπει να έχει επιπτώσεις στην αναλογία AOB προς το συνολικό πληθυσμό βακτηρίων. Οι Xia *et al.*, 2007, ανέφεραν ότι ο πληθυσμός των νιτροποιητών ήταν αντιστρόφως ανάλογος του λόγου C/N με την κατανομή αυτή να κυμαίνεται από 5,4, 4,8, και 3,1% καθώς η αναλογία C/N μεταβαλλόταν από 3:1, 5:1 έως 10:1 αντίστοιχα. Αυτό επίσης παρατηρήθηκε σε αυτήν την μελέτη, δεδομένου ότι ο λόγος των AOB/ολικά βακτήρια στην εκροή της μονάδας PBF, (το μοναδικό σύστημα στο οποίο η συγκέντρωση COD αυξήθηκε ελαφρώς όταν η HLR αυξήθηκε στο 150%) από 1,1 σε 1,2 % ενώ στα άλλα συστήματα ο λόγος αυτός έγινε δυο έως πέντε φορές μεγαλύτερος όταν μεταβάλλαμε την HLR από 50 σε 150% (Πίνακας 24).

Η σύγκριση μεταξύ της συνολικής αφθονίας βακτηρίων και αντιγράφων γονιδίων AOB μεταξύ της ριζόσφαιρας και κοινού χώματος στον υγροβιότοπο FWS αποκάλυψε ασήμαντες διαφορές πιθανών λόγω της επίδρασης της υδάτινης στήλης και των ανοξικών συνθηκών που δημιουργήθηκαν, οι ίδιες ασήμαντες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ biofilms στον HSF, στη ριζόσφαιρα και biofilms από το χαλίκι που λήφθηκαν τουλάχιστον 1m μακριά από τις ρίζες των φυτών, πιθανόν λόγω της πυκνής βλάστησης και των υψηλών εφαρμοζόμενων οργανικών φορτίσεων σε αυτά τα συστήματα. Υπάρχουν όμως σημαντικές διαφορές μεταξύ των αριθμών νιτροποιητών και των απονιτροποιητών στους δύο τεχνητούς υγροβιότοπους (που υπολογίζονται από τους αριθμούς αντιγράφων *amoA* και *nosZ* αντίστοιχα) και ο λόγος είναι τα διαφορετικά πορώδη μέσα που είναι χαλίκια στον σε HSF, αντί του χώματος στον FWS, με το χαλίκι να επιτρέπει τον πολύ καλύτερο αερισμό και να παρέχει μια καλύτερη προσκολλητική περιοχή για το σχηματισμό biofilms. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η μείωση του TN στον υγροβιότοπο HSF πραγματοποιείται ακόμη και στο 150% της φόρτισης σε HLR (Πίνακας 16), αλλά ο χαμηλός αριθμός των κυττάρων AOB και των απονιτροποιητών σε σχέση με τον αριθμό κυττάρων που βρέθηκε στους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας, έδωσε μια σχετική χαμηλή ταχύτητα απομάκρυνσης αζώτου.

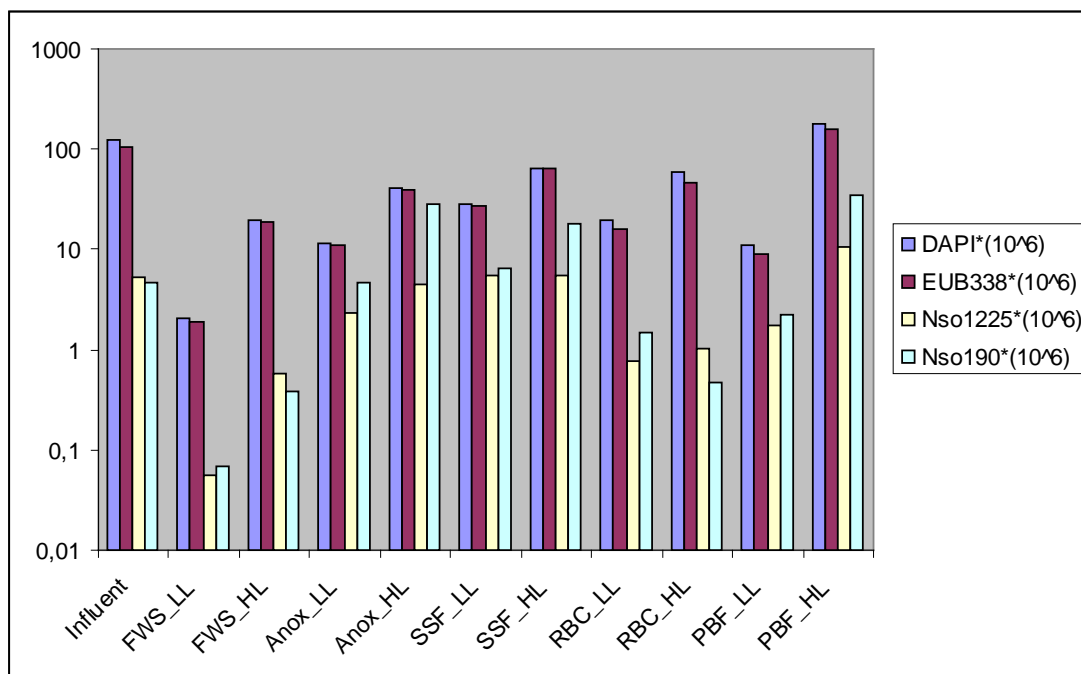
4.5.7 Αποτελέσματα από την ανάλυση με FISH

Στα παρακάτω διαγράμματα φαίνονται τα αποτελέσματα της καταμέτρησης των κυττάρων συνολικά (DAPI) των βακτηρίων (EUB338) και των νιτροδωποιητών ή

βακτηριών που οξειδώνουν την αμμωνία (AOB) όπως καταμετρήθηκαν με δυο δείκτες (probes) τους Nso1225 και Nso190. Από την εξέταση αυτών των σχημάτων τα ακόλουθα συμπεράσματα μπορούν να βγούν:

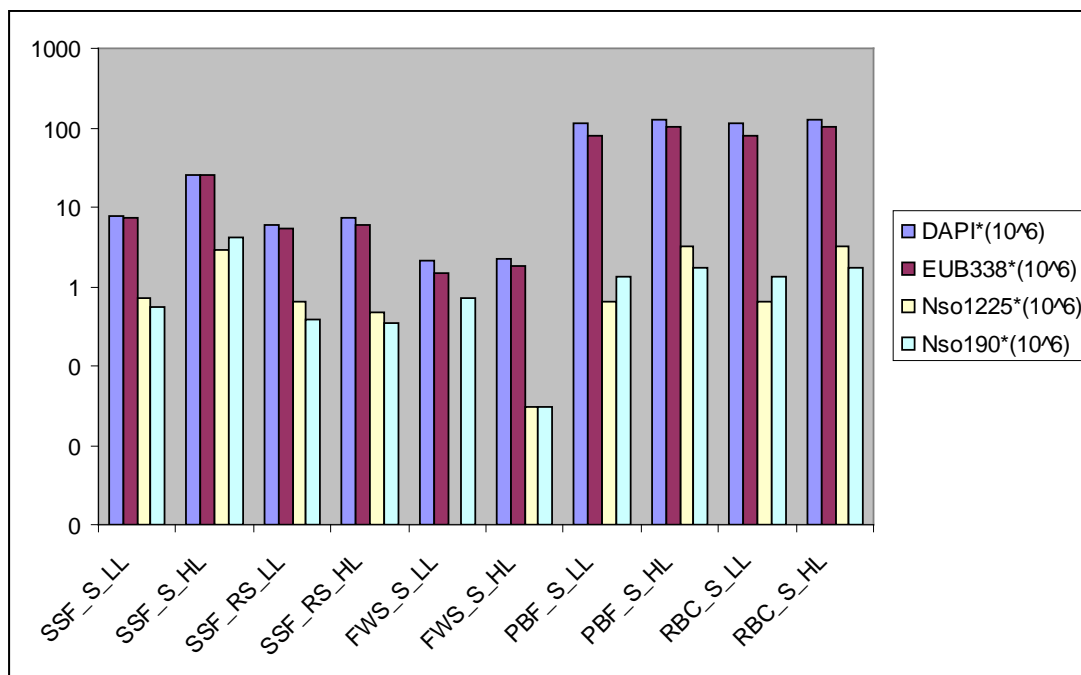
1. Σχετικά με τη συνολική βιομάζα: Υψηλότεροι αριθμοί κυττάρων λήφθηκαν (DAPI) στις υψηλές ταχύτητες υδραυλικής φορτίσης των συστημάτων. (Σχήματα 53 και 54).
2. Τα περισσότερα κύτταρα είναι ανιχνεύσιμα με τη χρώση του EUB338, κατί το οποίο φαίνεται από το σχετικά μεγάλο αριθμό των EUB338-ανιχνεύσιμων κυττάρων και είναι στα δείγματα μας πολύ υψηλός της τάξης του 70-98% σε σχέση με τα κύτταρα που καταμετρούνται με τη χρώση με DAPI. Αυτές οι υψηλές τιμές επιβεβαιώνουν προηγούμενα αποτελέσματα σε μετρήσεις στα υγρά απόβλητα και σε βιοφίλμ. Αυτό μας επιτρέπει να προχωρήσουμε με υψηλότερης εκλεκτικότητας δείκτες, οι οποίοι αναπαριστούν μόνο ένα μικρότερο ποσοστό των κυττάρων που ανιχνεύονται με την DAPI. Σε κοινό χώρο για παράδειγμα, τα ποσοστά των EUB που ανιχνεύονται είναι πολύ χαμηλότερα με ένα μέγιστο περίπου στο 40% (Zarda et al., 1997). Επίσης το υψηλό ποσοστό αυτό δείχνει ότι η τεχνική είναι αρκετά ευαίσθητη και δουλεύει χωρίς προβλήματα.
3. Τα κύτταρα που ανιχνεύτηκαν με FISH, φυσικά δεν είναι 100% ταυτόσημα με αυτά που καταμετρήθηκαν με την qPCR μια και στηρίχτηκαν σε διαφορετικές αλληλουχίες δεικτών και εναρκτών.
4. Επίσης οι διαφορές του αριθμού κυττάρων που προσδιορίστηκαν μεταξύ των δυο δεικτών (Nso190 and 1225) οφείλεται στη διαφορά του σχεδιασμού τους που στοχεύουν σε άλλες αλληλουχίες AOB.
5. Η μέθοδος FISH και τα αποτελέσματα που δίνει μας δίνει μια καλύτερη εκτίμηση των μελών των λειτουργικών ομάδων που είναι παρούσα στο αρχικό δείγμα και είναι γενικά μεταβολικά ενεργά, αν και το τελευταίο είναι ενδεικτικό, στηρίζεται στο ότι η ανιχνευσιμότητας οφείλεται στον ικανό αριθμό ριβωσωμάτων ανά κύτταρο.
6. Επιπρόσθετα επαληθεύονται αφενός οι μετρήσεις που πήραμε με τη ποσοτική πραγματικού χρόνου PCR, και αφετέρου παρατηρούμε ότι γενικά οι υγροβιότοποι έχουν χαμηλότερο αριθμό κυττάρων AOB και γιαυτό παρουσίασαν χαμηλότερες ταχύτητες νιτροποίησης από τους αντιδραστήρες προσκολλημένης βιομάζας ιδίως όσον αφορά το περιβάλλον των υγρών τους αποβλήτων όπου λαμβάνει χώρα η επεξεργασία (Σχήμα 53). Επίσης τα δυο συστήματα προσκολλημένης βιομάζας

παρουσίασαν μια σχετική αύξηση της ομάδας των AOB, όταν εφαρμόστηκε μεγαλύτερη ταχύτητα υδραυλικής φόρτισης (High Load, HL, 150% της σχεδιασμένης κανονικής ταχύτητας HLR) έναντι της χαμηλότερης υδραυλικής φόρτισης (Low Load- LL, του 50 % της κανονικής σχεδιαστικής ταχύτητας υδραυλικής φόρτισης).



Σχήμα 53. Αποτελέσματα από την ανάλυση με FISH στα υγρά απόβλητα από τα διαφορετικά συστήματα που επεξεργάζονταν αστικά απόβλητα για κύτταρα (DAPI), βακτήρια (EUB338) και νιτρωδοποιητές (AOB). Τιμές σε εκατομμύριο κύτταρα ανά mL. LL low load (50% της σχεδιασμένης πλήρους HLR), HL high load (150% της σχεδιασμένης πλήρους HLR)

7. Όσον αφορά τα ιζήματα και τα βιφίλμ(Σχήμα 54) δεν παρατηρούνται ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των συστημάτων προφανώς γιατί οι εγκατεστημένοι μικροοργανισμοί εντός των βιοφίλμ και των ιζημάτων έχουν προσαρμοστεί σε μια σταθερότερη δομή παραπλήσιων περιβαλλόντων (με κύριο οδηγό της παραπλήσιες τιμές βιοδιαθέσιμου οξυγόνου), κάτι που τους επιτρέπει να συντηρούν περίπου σταθερούς αριθμούς κυττάρων και να μην επηρεάζονται τόσο πολύ από τις μεταβαλλόμενες λειτουργικές παραμέτρους όπως τις αλλαγές στις ογκομετρικές φορτίσεις.



Σχήμα 54. Αποτελέσματα από την ανάλυση με FISH στα ιζήματα από διαφορετικά περιβάλλοντα και από διαφορετικά συστήματα που επεξεργάζονταν αστικά απόβλητα για κύτταρα (DAPI), βακτήρια (EUB338) και νιτροδοποιητές (AOB). Τιμές σε εκατομμύριο κύτταρα ανά g. LL low load (50% της σχεδιασμένης πλήρους HLR), HL high load (150% της σχεδιασμένης πλήρους HLR)

Πρέπει να σημειωθεί ότι σήμερα, για τις περισσότερες διαδικασίες σε WWTPs ακόμη και μη καλλιεργίσιμοι προκαρυωτικοί οργανισμοί, που συμμετέχουν καθοριστικά στη λειτουργία των συστημάτων, μπορούν να ανιχνευθούν και να τυποποιηθούν. Ο συνδιασμός με πιο αναλυτικές ποσοτικές και ποιοτικές τεχνικές (π.χ. αλληλουχίσεις, τεχνικές ιχνηθέτισης με σταθερά ισότοπα, μικροσυστοιχίες υψηλής απόδοσης (high-throughput microarrays), transcriptomics, lab on chip κλπ) επιτρέπουν την *in situ* ανάλυση και διερεύνηση της λειτουργίας τέτοιων κοινωνιών. Όλα πάντως τα μοριακά εργαλεία μπορούν να εφαρμοστούν για να ληφθούν δεδομένα για την προσομοίωση των διεργασιών σε βιοφίλμ και των διεργασιών ενεργής λύσης και να βελτιώσουν τη στρατηγική και το σχεδιασμό των συστημάτων. Απαιτείται ακόμη περισσότερη βασική έρευνα για να κατανοηθεί η ποικιλομορφία λειτουργικά σημαντικών προκαρυωτικών ομάδων σε WWTPs, κάτι που μπορεί να βρει εφαρμογή τόσο στο σχεδιασμό των

μονάδων όσο και στη πρόβλεψη της σταθερότητας της λειτουργίας και της υψηλής απόδοσης.

Σε κάθε περίπτωση όμως δεν είναι απαραίτητο κάτι τέτοιο φυσικά να γίνει από κάθε ένα σταθμο βιολογικού καθαρισμού υγρών αποβλήτων ξεχωριστά αλλά θα μπορούσαν να γίνουν συγκρίσεις μεταξύ παρόμοιου μεγέθους μονάδων.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

5.1 Τεχνητοί υγροβιότοποι για ην επεξεργασία απορροών αυτοκινητοδρόμων

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της διατριβής που εξετάστηκαν δύο διαφορετικοί τύποι τεχνητών υγροβιοτόπων για την επεξεργασία απορροών αυτοκινητοδρόμων, οι αποδόσεις στις απομακρύνσεις σε PAHs των υγροβιοτόπων SSF ήταν καλύτερες από τις δύο αποδόσεις των υγροβιοτόπων FWS. Τα συστήματα SSF απέδωσαν καλύτερα λόγω της φύσης των ρύπων (που συνδέονται με τα στερεά, έχουν χαμηλή συγκέντρωση σε οργανική ουσία, κ.λπ.) και του τρόπου που αυτοί οι ρύποι μπορούν να απομακρυνθούν (συνήθως φυσικά μέσω της διήθησης και της καθίζησης, και λιγότερο σημαντικά βιολογικά). Η ταχύτητα φόρτισης διαδραμάτισε έναν δευτερεύοντα ρόλο γιατί α) ο χρόνος MRT ήταν διαφορετικός σε αυτό που είχε αρχικά σχεδιαστεί (κυρίως λόγω βραχυκύκλωσης της ροής εξαιτίας της πυκνής βλάστησης), με συνέπεια μάλλον παρόμοιο MRT και για τα τέσσερα συστήματα, και β) η διαδικασία απομάκρυνσης επηρεάστηκε μόνο ελαφρώς από το διαθέσιμο χρόνο για την επεξεργασία λόγω του φυσικού παρά βιολογικού μηχανισμού που λαμβάνει χώρα. Αφ' ετέρου, ο Cu, το Ni και ο Pb δεν απομακρύνθηκαν αποτελεσματικά από τα μελετημένα συστήματα.

Με βάση τα παραπάνω, τα συμπεράσματα που συνάγονται είναι τα ακόλουθα:

- α) και τα δύο συστήματα (FWS και SSF) λειτουργούν ικανοποιητικά και θα είναι σε θέση να απομακρύνουν περισσότερους ρύπους σε έναν σημαντικό βαθμό. Η επιλογή, εντούτοις, πρέπει να βασιστεί σε άλλες παραμέτρους όπως: i) κόστος κατασκευής ii) επιβίωση της βλάστησης, απαίτησης της βλάστησης για διατήρησή της iii) ευελιξία στις λειτουργικές παραμέτρους και αλλαγές φορτίσεων iv), εμπειρίας αναδόχων μηχανικών v) γενικές απαιτήσεις συντήρησης και κόστους λειτουργίας κ.λπ.
- β) η διαφορά στον υδραυλικό χρόνο παραμονής 12 ή 24-h, έγκειται κυρίως στο γεγονός ότι στην πρώτη περίπτωση μπορούμε να επεξεργαστούμε διπλάσια ποσότητα

απορροών - όμβριων (HRO) σε σχέση με τη δεύτερη. Δεδομένου ότι αυτή η περίπτωση απαιτεί το μισό έδαφος και πολύ χαμηλότερου κόστους κατασκευή, ο υγροβιότοπος με HRT 12h θα μπορούσε γενικά να προτιμηθεί.

5.2 Εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων

Όσον αφορά τα πέντε μη συμβατικά συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, που λειτούργησαν συνεχώς με διάφορες υδραυλικές ταχύτητες φορτίσεων για περίπου οκτώ μήνες, τα παρακάτω συμπεράσματα εξήχθησαν. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, με εξαίρεση τον υγροβιότοπο τύπου FWS όλες οι άλλες μονάδες που χρησιμοποιήθηκαν απομάκρυναν αποτελεσματικά την οργανική ουσία των αστικών υγρών αποβλήτων. Η απόδοση των RBC και PBF παρουσίασε χαμηλότερη απόδοση υπό συνθήκες υψηλής φόρτισης. Η μείωση αζώτου ήταν υψηλότερη σε RBC και PBF απ'ό,τι στους δύο τεχνητούς υγροβιότοπους ενώ η απομάκρυνση φωσφόρου δεν ήταν σημαντικά διαφορετική για όλα τα συστήματα που εξετάστηκαν. Επιπλέον, όλες οι μη συμβατικές μονάδες παρουσίασαν ιδιαίτερη καλή δυνατότητα απομάκρυνσης των περιττωματικών βακτηρίων από τα αστικά υγρά απόβλητα. Συνολικά, οι αποδόσεις επεξεργασίας των δύο τεχνολογιών προσκολλημένης βιομάζας είναι συγκρίσιμες, ενώ οι απαιτήσεις ενέργειας είναι ιδιαίτερες υψηλότερες για το σύστημα RBC. Ο υγροβιότοπος τύπου HSF που σχεδιάστηκε με σκοπό να λειτουργήσει κάτω από υψηλές φορτίσεις HLRs παρείχε μια συγκρίσιμη ποιότητα εκροής με τις τεχνολογίες προσκολλημένης βιομάζας ενώ οι δαπάνες κατασκευής και λειτουργίας είναι χαμηλότερες. Εντούτοις όποτε οι απαιτήσεις για συγκεντρώσεις αζώτου στην εκροή είναι κρίσιμες, ο υγροβιότοπος HSF δεν θα ικανοποιούσε επιτυχώς αυτά τα κριτήρια. Δεδομένου ότι οι υπερφορτισμένοι τεχνητοί υγροβιότοποι FWS παρουσίασαν χαμηλότερη απόδοση επεξεργασίας, η επιλογή αυτής της τεχνολογίας θα μπορούσε μόνο να δικαιολογηθεί όταν μεγάλες εκτάσεις εδάφους χαμηλού κόστους είναι διαθέσιμες (οπότε μπορεί να λειτουργήσει σε χαμηλότερες φορτίσεις HLRs) και οι ποιοτικές απαιτήσεις εκροής δεν είναι πολύ αυστηρές. Επομένως, η επιλογή της βέλτιστης μονάδας εξαρτάται από τη απαίτηση για υψηλής απόδοσης επεξεργασίας που πετυχαίνει υψηλή ποιότητα εκροής και το συνολικό διαθέσιμο προϋπολογισμό.

Σε αυτήν την εργασία συγκρίθηκαν επίσης οι δύο τεχνητοί υγροβιότοποι και ένα χαλικόφιλτρο που επεξεργάζονταν αστικά υγρά απόβλητα, για την δυνατότητα της απομάκρυνσης PAHs και LAS. Η επίδραση που έχουν παράμετροι όπως η θερμοκρασία και η ένταση της οργανικής φόρτισης. Χρησιμοποιήθηκε μοντέλο πρώτης τάξης για να υπολογιστούν η κινητική σταθερά $k_{v,20}$ και ο συντελεστής συσχέτισης της θερμοκρασίας θ για την απομάκρυνση των COD, TN, TP, TSS, και μηδενικής αλλά και πρώτης τάξης μοντέλα για τους ΠΑΥ και τα LAS. Στην περιοχή της Νοτιοανατολικής Μεσογείου η μέση ημερήσια θερμοκρασία σπάνια πέφτει κάτω από τους 15°C και έτσι οι βιοτική παράμετροι σπάνια αναστέλλονται. Το κρίσιμο στάδιο στην απομάκρυνση των PAHs και LAS είναι η προσρόφηση στο στερεό μέσο. Σημαντικές θετικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ της απομάκρυνσης των PAHs και των LAS και των υπόλοιπων κοινών παραμέτρων των υγρών αποβλήτων. Ο TY υποεπιφανειακής ροής ξεκάθαρα επιτυγχάνει καλύτερη απόδοση στην απομάκρυνση όλων των ρύπων σε σχέση με τον ελεύθερης επιφάνειας νερού και το χαλικόφιλτρο. Η χρήση του TY υποεπιφανειακής ροής μπορεί να είναι μια κατάλληλη και βιώσιμη τεχνολογία για την απομάκρυνση των PAHs και των LAS από αστικά υγρά απόβλητα μικρών οικισμών επιτρέποντας τον σχεδιασμό συστημάτων με οικονομία χώρου και εξοικονόμηση εδάφους. Συνολικά συγκρινόμενα όλα τα εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας για τις δύο κατηγορίες οργανικών ρυπαντών σε ένα κοινό διάστημα δυο μηνών έδειξαν ότι οι απομακρύνσεις των PAHs και των LAS ήταν σημαντικά μικρότερες για το τεχνητό υγροβιότοπο ελεύθερης επιφάνειας FWS (22 και 17% αντίστοιχα), ενώ ο τεχνητός υγροβιότοπος υποεπιφανειακής ροής και το σύστημα βιοδίσκων είχαν στατιστικά παρόμοια απόδοση (απομάκρυνση για τα PAHs και LAS 75 και 67 % για τον υγροβιότοπο HSF και 78% και 78% για το σύστημα βιοδίσκων RBC) ενώ για το σύστημα προσκολλημένης βιομάζας πληρωμένης κλίνης οι απομακρύνσεις ήταν συνολικά οι υψηλότερες με ποσοστά απομάκρυνσης 86 και 93% αντίστοιχα.

5.3 Αντιδραστήρας διαλείποντος έργου

Οι αντιδραστήρες SBR εργαστηριακής κλίμακας χρησιμοποιήθηκαν ως μέτρο της απόδοσης στην απομάκρυνση ξενοβιοτικών ουσιών από συμβατικές μεθόδους

επεξεργασίας (παρόμοια διεργασία με την ενεργή ιλύ) και λειτούργησαν ικανοποιητικά στις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν. Μια πιθανή αιτία της μη-παρεμπόδισης των ξενοβιοτικών ουσιών είναι η εκτεταμένη περίοδος εγκλιματισμού της μικροβιακής κοινότητας στις ξενοβιοτικές ενώσεις πριν την αύξηση σε μεγαλύτερες και πιο τοξικές τιμές συγκεντρώσεων. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι η απόδοση της απομάκρυνσης επηρεάστηκε ελάχιστα από την αυξανόμενη συγκέντρωση εισόδου ξενοβιοτικών ειδικά στην περίπτωση του μίγματος των LAS. Εξάιρεση παρουσίασε το πυρένιο που ήταν το μόνο μέλος με 4 αρωματικούς δακτύλιους, από τους PAHs που είχε μια σημαντικά χαμηλότερη απομάκρυνση προς το τέλος της φάσης του πειράματος (όπου οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ξενοβιοτικών εφαρμόστηκαν) και η απομάκρυνση της μειώθηκε κάτω από 80% ενώ η συγκέντρωση στη λάσπη αυξανόταν συνεχώς.

Οι αντιδραστήρες SBR εργαστηριακής κλίμακας χρησιμοποιήθηκαν ως μέτρο της απόδοσης στην απομάκρυνση ξενοβιοτικών ουσιών από συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας (παρόμοια διεργασία με την ενεργή ιλύ) και λειτούργησαν ικανοποιητικά στις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν. Μια πιθανή αιτία της μη-παρεμπόδισης των ξενοβιοτικών ουσιών είναι η εκτεταμένη περίοδος εγκλιματισμού της μικροβιακής κοινότητας στις ξενοβιοτικές ενώσεις πριν την αύξηση σε μεγαλύτερες και πιο τοξικές τιμές συγκεντρώσεων. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι η απόδοση της απομάκρυνσης επηρεάστηκε ελάχιστα από την αυξανόμενη συγκέντρωση εισόδου ξενοβιοτικών ειδικά στην περίπτωση του μίγματος των LAS. Εξάιρεση παρουσίασε το πυρένιο που ήταν το μόνο μέλος με 4 αρωματικούς δακτύλιους, από τους PAHs που είχε μια σημαντικά χαμηλότερη απομάκρυνση προς το τέλος της φάσης του πειράματος (όπου οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ξενοβιοτικών εφαρμόστηκαν) και η απομάκρυνση της μειώθηκε κάτω από 80% ενώ η συγκέντρωση στη λάσπη αυξανόταν συνεχώς.

5.4 Χαρακτηρισμός μικροβιακών κοινοτήτων των συστημάτων

Στην τελευταίο μέρος της διατριβής εξετάστηκαν οι διαφορές των μικροβιακών κοινοτήτων των συστημάτων που επεξεργάζονταν αστικά υγρά απόβλητα. Σε συστήματα χαμηλής συγκέντρωσης οξυγόνου όπως τους υγροβιότοπους FWS και HSF, όταν γίνεται επεξεργασία αστικών απόβλητων με υψηλή οργανική ισχύ, η νιτροποίηση

είναι το περιοριστικό βήμα, στο στάδιο της βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου. Κατά συνέπεια ο τεχνητός υγροβιότοπος FWS δεν παρείχε ένα ευνοϊκό περιβάλλον για ανάπτυξη των AOB, λόγω κυρίως αυτής της χαμηλής συγκέντρωσης οξυγόνου. Αφ' ετέρου η νιτροποίηση δεν βρέθηκε σημαντικά παρεμποδισμένη στον υγρότοπο HSF, ακόμα κι αν μια σχετική μικρή μείωση της ταχύτητας της παρατηρήθηκε. Ο αριθμός των κυττάρων AOB αυξήθηκε όταν αυξήσαμε το εφαρμοσμένο HLR αλλά διαφορετικοί πληθυσμοί AOB επικράτησαν σε κάθε φόρτιση.

- Στα δύο συστήματα αντιδραστήρων προσκολλημένης βιομάζας (PBF και RBC) η νιτροποίηση είναι το καθορίζον την ταχύτητα στάδιο στην περίπτωση υψηλής φόρτισης HLR και η μικροβιακές δομή και λειτουργία των κοινοτήτων AOB και απονιτροποιητών εμφανίστηκαν αρκετά σταθερές ακόμη και σε υψηλές φορτίσεις HLR
- Αυτά τα αποτελέσματα παρέχουν μια εικόνα του πώς οι μικροβιακές κοινότητες από εναλλακτικά συστήματα επεξεργασίας προσαρμόζονται σε διαφορετικά υδραυλικές ταχύτητες φόρτισης, και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτιστοποίηση της απόδοσης επεξεργασίας παρόμοιων εγκαταστάσεων.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aboul-Kassim T.A.T., Simoneit B.R.T., 1995, "Aliphatic and aromatic hydrocarbons in particulate fallout of Alexandria, Egypt: sources and implications", *Environ. Sci. Technol.*, vol.29, pp.2473-2483.
2. Aesoy A., Odegaard H., Bach K., Pujol R., Hamon M., 1998, "Dentrification in a packed bed biofilm reactor (biofor) - Experiments with different carbon sources", *Water Res*, vol.32, pp.1463-70.
3. Ahmed A., Hazem S., 2001, "Evaluating contaminants removal efficiency in subsurface flow constructed wetlands in Egypt", *Proceeding ASCE River Restoration and Wetlands Conference, Reco, Nevada 2001*, pp.27-31.
4. Ahn Y. H., 2006, "Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review", *Process Biochem.*, vol.41, pp.1709-1721.
5. Akrotos C. S., Tsihrintzis V. A., 2007, "Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilotscale horizontal subsurface flow constructed wetlands", *Ecol. Eng.*, vol.29, pp.173-191.
6. Alcock R.E., Sweetman A., Jones K.C., 1999, "Assessment of organic contaminant
7. Alfreider A., Pernthaler J., Amann R., Sattler B., Glockner F.-O., Wille A., and Psenner R., 1996, "Community analysis of the bacterial assemblages in the winter cover and pelagic layers of a high mountain lake by in situ hybridization", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.62, pp.2138-2144.
8. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ, Chisholm SW, Devereux R and Stahl DA., 1990, "Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations", *Appl Environ Microbiol.*, vol.56, pp.1919-1925.
9. Amann, R., Snaidr J., Wagner M., Ludwig W., and Schleifer K.-H., 1996, "In situ visualization of high genetic diversity in a natural microbial community", *J. Bacteriol.*, vol.178, pp.3496-3500.

10. Amann, W. Ludwig, K. Muhlegger, and K.-H. Schleifer, 1994, "Identification of whole fixed bacterial cells with nonradioactive 23S rRNA targeted polynucleotide probes", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 60, pp.3228-3235.
11. Andreadakis A.D., 1987, "Design of Multistage Rotating Biological Contactors", *Journ. Env. Eng. ASCE*, vol. 113, no. 1, pp. 199-205.
12. Andreadakis A.D., Chailas M. 1984, "Evaluation of a Simple Model for Organic Carbon Removal by a Rotating Biological Contactor", *Proceedings of 2nd Int. Conf. on Fixed Film Biological Processes*, Washington, pp. 664-680.
13. Ansola, G., Gonzalez, J.M., Cortijo, R., de Luis, E., 2003, "Experimental and full-scale pilot plant constructed wetlands for municipal wastewaters treatment, *Ecol Eng*, vol.21, pp.43-52.
14. APHA, 1992, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 17th ed., American Public Health Association, Washington, DC, USA.
15. APHA, 1995, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 19th ed. American Public Health Association, Washington DC, USA.
16. Approach", *Environ. Sci. Technol.*, vol.39, pp.9109-9114.
17. Aryal R.K., Furumai H., Nakajima F., Boller M., 2005, "Dynamic behavior of fractional suspended solids and particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in highway runoff", *Water Res.*, vol.39, pp.5126-5134.
18. Ayoub G.M. and Saikaly P., 2004, "The combined effect of step-feed and recycling on RBC performance", *Water Res.*, vol.38, pp.3009-16.
19. Babatunde A.O., Zhao Y.Q., O'Neill M., O'Sullivan B., 2008, "Constructed wetlands for environmental pollution control: A review of developments, research and practice in Ireland", *Environ Int.*, vol. 34, pp.116-26.
20. Barbosa A.E., Hvitved-Jacobsen T., 1999, "Highway runoff and potential for removal of heavy metals in an infiltration pond in Portugal", *Sci. Total Environ.*, vol.235, pp.151-159.
21. Barton D.A., 1987, "Intermedia transport of organic compounds in biological wastewater treatment processes, *Env. Prog.*, vol.6, pp.246-256.
22. Bastviken S. K., Eriksson P. G., Premrov A., Tonderski K., 2005, Potential nitrification and denitrification in wetland sediments with different plant species detritus", *Ecol. Eng.*, vol.25, pp.183-190.

23. Baumann P.C., 1998, "Epizootics of cancer in fish associated with genotoxins in sediment and water", *Mutat. Res.-Rev. Mutat.*, vol. 411, pp.227-233.
24. Beck A.I., Johnson D.L., Jones K.C., 1996, "The form and bioavailability of non-ionic organic chemicals in sewage sludge-amended agricultural soils", *Sci. Total Env.*, vol.185, pp.125-149.
25. Belanche L.A., Valde' s J.J., Comas J., Roda I.R., Poch M., 1999, "Towards a model of input-output behaviour of wastewater treatment plants using soft computing techniques, *Environmental Modelling & Software*, vol.14, pp.409-419.
26. Berktaý K., Ellis K.V., 1997, "Comparison of the cost of the pressurized wastewater treatment process with other established treatment processes", *Water Res.*, vol.31, pp.2973-2978.
27. Berna JL, Moreno A, Ferrer J., 1991, "The behaviour of LAS in the environment", *J Chem. Technol. Biotechnol.*, vol.50(3), pp.387-98.
28. Blackburn J.W., 1987, "Prediction of organic chemical fates in biological treatment systems", *Env. Prog.*, vol. 6, pp.217-223.
29. Blanchard M., Teil M.J., Carru A.M., Ollivon D., Garban B., Chesterikoff A., Chevreuil M., 1999, "PCB and PAH impacts on cytochrome P-450-dependent oxidases in roach (*Rutilus rutilus*) from the Seine river (France)", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol.37, pp.242-250.
30. Blanchard M., Teil M.J., Ollivon D., Garban B., Chesterikoff C. and Chevreuil M., 2001, "Origin and distribution of poly-cyclic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in urban efflu-ents to wastewater treatment plants of the Paris area (France)", *Wat. Res.*, vol.35, pp.3679-3687.
31. Blanchard M., Teil M.J., Ollivon D., Legenti L., Chevreuil M., 2004, "Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in wastewaters and sewage sludges from the Paris area (France)", *Environ. Res.*, vol.95, pp.184-197.
32. Boller M., 1997, "Small wastewater treatment plants-a challenge to wastewater engineers", *Water Sci. Tech.*, vol.35, pp.1-12.
33. Brandli R.C., Bucheli T.D., Kupper T., Mayer J., Stadelmann F.X., Tarradellas J., 2007, "Fate of PCBs, PAHs and their source characteristic ratios during composting and digestion of source-separated organic waste in full-scale plants", *Environ. Pollut.*, vol.148, pp.520-528.

34. Brix H., 1990, "Gas exchange through the soil-atmosphere interphase and through dead culms of *Phragmites australis* in a constructed reed bed receiving domestic sewage," *Water Res.*, vol.24, pp.259-266.
35. Brix H., 1994, "Wastewater treatment in constructed wetlands: System design, removal process, and treatment performance", in: *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement* (Ed. G. A. Moshiri), Lewis Publishers, New York, pp.9-22.
36. Brix H., 1994a, "Use of constructed wetlands in water pollution control: Historical development, present status, and future perspectives", *Water Sci. Technol.*, vol.30, pp.209-23.
37. Brix H., 1994b, "Constructed wetlands for municipal wastewater treatment in Europe", *Global wetlands*, pp.325-33.
38. Brix H., Arias C.A., 2005, "The use of vertical flow constructed wetlands for on-site treatment of domestic wastewater", *New Danish guidelines, Ecol. Eng.*, vol.25, pp.491-500.
39. Brix H., Schierup H. and Arias C.A., 2007, "Twenty years experience with constructed wetland systems in Denmark - what did we learn?", *Water Sci. Technol.*, vol.56(3), pp.63-68.
40. Brix H., Schierup H-H., 1990, "Soil oxygenation in constructed reed beds: the role of macrophyte and soil-atmosphere interface oxygen transport", In: Cooper PF, Findlater BC (eds) *Constructed wetlands in water pollution control*, Pergamon, Oxford, pp.53-66.
41. Brunner P.H., Capri S., Marcomini A., Giger W., 1988, "Occurrence and behaviour of linear alkylbenzenesulphonates, nonylphenol, nonylphenol mono- and nonylphenol diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment, *Water Res.*, vol.22, pp.1465-1472.
42. Buchberger S. G., Shaw G. B., 1995, "An approach toward rational design of constructed wetlands for wastewater treatment", *Ecol. Eng.*, vol4, pp.249-275.
43. Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Pierard C., Garrigues P., 1997, "Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in Gironde estuary", *Mar. Chem.*, vol.58, pp.85-97.

44. Bulc T., Slak A.S., 2003, "Performance of constructed wetland for highway runoff treatment", *Water Sci. Technol.* , vol.48(2), pp.315-322.
45. Busetti F., Heitz A., Cuomo M., Badoer S., Traverso P., 2006, "Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from an Italian wastewater treatment plant", *J. Chromatography A*, vol.1102, pp.104-115.
46. Byrns G., 2001, "The fate of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants", *Water Res.*, vol.35, pp.2523-2533.
47. Cai Q.-Y., Mo C.-H., Wu Q.-T., Zeng Q.-Y., Katsoyiannis A., 2007, "Occurrence of
48. Caselles-Osorio A., Porta A., Porrás M., García J., 2007a, "Effect of high organic loading rates of particulate and dissolved organic matter on the efficiency of shallow experimental horizontal subsurface-flow constructed wetland, *Water Air Soil Pollut.*,vol.183, pp.367-75.
49. Caselles-Osorio A., Puigagut J., Segu E., Vaello N., Granés F., García D., García J., 2007b, "Solids accumulation in six full-scale subsurface flow constructed wetlands", *Water Res.*, vol.41, pp.1388-98.
50. Cavalli L., Cassani G. , Lazzarin M. ,1996, "Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and alcohol ethoxylate (AE)", *Tenside Surfact. Deterg.*, vol. 33, pp.158-165.
51. Cavalli L., Gellera A., Landone A., 1993, "LAS removal and biodegradation in a wastewater treatment plant", *Env. Tox. Chem.*, vol.12 (10), pp. 1777-1788.
52. CEC, 1991, "Council Directive of 21 May 1991 concerning urban wastewater treatment (91/271/EEC),*Official Journal of the European Communities*, L1 35/40, 30 May.
53. Chen T.Y., Kao C.M., Yeh T.Y., Chien H.Y., Chao A.C., 2006, "Application of a constructed wetland for industrial wastewater treatment: A pilot-scale study, *Chemosphere*, vol.64, pp.497-502.
54. Chung A.K.C., Wu Y., Tam N.F.Y., Wong M.H, 2008, "Nitrogen and phosphate mass balance in a sub-surface flow constructed wetland for treating municipal wastewater", *Ecol. Eng.*, vol.32, pp.81-89.
55. Clara M., Scharf S., Scheffknecht C., Gans O., 2007, "Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage", *Water Res.* , vol.41, pp.4339-4348.

56. Clark B., Henry J.C., Mackay D., 1995, "Fugacity analysis and model of organic chemical fate in a sewage treatment plant", *Env. Sci. Tech.*, vol.29, pp.1488-1494.
57. Colmenarejo M.F., Rubio A., Sanchez E., Vicente J., Garcia M.G., Borja R., 2006, "Evaluation of municipal wastewater treatment plants with different technologies at Las Rozas, Madrid (Spain)", *J Environ. Manag.*, vol.81, pp.399-404.
58. Connolly R., Zhao Y., Sun G., Allen S., 2004, "Removal of ammoniacal-nitrogen from an artificial landfill leachate in downflow reed beds", *Process Biochem.*, vol.39, pp.1971-1976.
59. Cook A.M. 1998, "Sulfonated surfactants and related compounds: Facets of their desulfonation by aerobic and anaerobic bacteria", *Tenside, Surfactants, Deterg.*, vol.35, pp.52-56.
60. Cooper P. F., Findlater B. C., 1990, "Constructed Wetlands in Water Pollution Control", Pergamon Press, Oxford.
61. Cooper P.F., Job G.D., Green M.B. and Shutes R.B.E, 1996, "Reed Beds and Constructed Wetland for Wastewater Treatment", WRC Publications, Swindon, UK, pp. 206.
62. Cottin C., Merlin G., 2007, "Study of pyrene biodegradation capacity in two types of solid media", *Sci. Total Environ.*, vol.380, pp.116-123.
63. Couillard D., 1994, "The use of peat in wastewater treatment", *Water Res.*, vol.28, pp.1261-1274.
64. Cowan C.E., Larson R.T., Feistel T.C.J., Rapaport R.A., 1993, "An improved model for predicting the fate of consumer product chemicals in wastewater treatment plants", *Water Res.*, vol.27, pp.561-573.
65. Crabtree B., Moy F., Whitehead M., Roe A., 2006, "Monitoring pollutants in highway runoff", *Water Environ. J.*, vol.20, pp.287-294.
66. Cui Y. W., Peng Y. Z., Peng C. Y., Gan X. Q., Ye L., 2005, "Achieving biological nitrogen removal via nitrite by salt inhibition", in *Proc. of 1st IWA-ASPIRE Conf. and Exhib.*, 10-15 July, Singapore.
67. Dai J., Xu M., Chen J., Yang X., Ke Z., 2007, "PCDD/F, PAH and heavy metals in the sewage sludge from six wastewater treatment plants in Beijing China", *Chemosphere*, vol.66, pp.353-361.

68. Decam O., Warren A., 2000, "Investigation of Escherichia coli removal in various designs of subsurface flow wetlands used for wastewater treatment", *Ecol Eng.*, vol.14, pp.293-99.
69. DeLong E.F., Taylor L.T., Marsh T.L., and Preston C.M., 1999, "Visualization and Enumeration of Marine Planktonic Archaea and Bacteria by Using Polyribonucleotide Probes and Fluorescent In Situ Hybridization", *App. Env. Mic.*, vol.65, pp.5554-5563.
70. DeLong E.F., Wickham G.S, and Pace N.R., 1989, "Phylogenetic stains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single cells", *Science*, vol.243, pp.1360-1363.
71. Dialynas G, Kefalakis N, Dialynas M, Angelakis A., 2002, "Performance of an innovative FWS constructed wetland in Crete, Greece", *Water Sci. Technol.*, vol.46 (4-5), pp.355-360.
72. Dokianakis S. N., Kornaros M., Lyberatos G., 2006, "Impact of Five Selected Xenobiotics on Isolated Ammonium Oxidizers and on Nitrifying Activated Sludge Environmental Toxicology", vol.21 (4), pp. 310-316.
73. Dorney J.R., 1986, "Leachable and total phosphorus in urban street tree leaves", *Water Air Soil Poll.*, vol.28, pp.439-443.
74. dos Santos V.A.P.M., Marchal L.M., Tramper J., Wijffels R.H., 1996, "Modeling and evaluation of an integrated nitrogen removal system with microorganisms coimmobilized in double-layer gel beads", *Biotechnol. Prog.*, vol.12, pp.240-248.
75. Downing A. L., 1966, "Population dynamics in biological systems", in *Proc. 3rd Int. Conf. Wat. Poll. Res.*, Munich, Series 2, pp.117-137.
76. Eichhorn P., Knepper T.P., Ventura F., Diaz A., 2002, "The behavior of polar aromatic sulfonates during drinking water production: A case study on sulfophenyl carboxylates in two European waterworks", *Water Res.*, vol.36, pp.2179-2186.
77. Eichhorn P., Rodrigues S.V., Baumann W., Knepper T.P., 2002, "Incomplete degradation of linear alkylbenzene sulfonate surfactants in Brazilian surface waters and pursuit of their polar metabolites in drinking waters", *Sci. Total Environ.*, vol.284, pp.123-134.

78. EPA, 2002, "Constructed Wetlands and Aquatic Plant Systems for Municipal Wastewater Treatment", Design Manual, Environmental Protection Agency, Cincinnati, USA.
79. EU, 1999, Implementation of Council Directive 91/271/EEC of May 1991 concerning urban waste water treatment, as amended by Commission Directive 98/15/EC February 1998. Office for Official publications of the European Communities, Luxembourg.
80. European Commission, 2001, "Disposal and Recycling Routes for Sewage Sludge", Brussels.
81. European Parliament and Council, 2000, Water framework directive (Directive 2000/60/EC of 23 October 2000), Eur J, L327, pp.1-72.
82. European Union Draft Directive on sewage sludge, Brussels, 27/04/2000, pp. 1-20.
83. Fahd K., Martin I., Salas J.J., 2007, 'The Carrion de los Cespedes Experimental Plant and the technological Transfer Centre: urban wastewater treatment experimental platforms for the small rural communities in the Mediterranean area', *Desalination*, vol.215, pp.12-21.
84. Fernandes M.B., Brooks P., 2003, "Characterization of carbonaceous combustion residues: II. Nonpolar organic compounds" , *Chemosphere*, vol.53, pp.447-458.
85. Foglar L., Briski F., Sipos L., Vukovic M., 2005, "High nitrate removal from synthetic wastewater with the mixed bacterial culture", *Biores. Technol.*, vol.96, pp.879-888.
86. Fountoulakis M.S., Terzakis S., Chatzinotas A., Brix H., Kalogerakis N., Manios, T. 2009. Pilot-scale comparison of constructed wetlands operated under high hydraulic loading rates and attached biofilm reactors for domestic wastewater treatment, *Science of the Total Environment* 407 (8), 2996-3003
87. Galloway J. N., Aber J. D., Erisman J. W., Seitzinger S. P., Howarth R. W., Cowling E. B., Casby J. B., 2003, "The nitrogen cascade", *BioScience*, vol.53, pp.341-356.
88. Garnett T. P., Shabala S. N., Smethurst P. J., Newman I. A., 2001, "Simultaneous measurement of ammonium, nitrate and proton fluxes along the length of eucalyptus roots", *Plant Soil*, vol.236, pp.55-62.

89. Gavalakis E.A., Andreadakis A., 2004, "Mathematical Model for steady-state and dynamic operation of a Rotating Biological Contactor (RBC)", eProceedings of the International Conference for the Protection and Restoration of the Environment VII (Mykonos, Greece, 2004).
90. Gebara F., 1999, "Activated sludge biofilm wastewater treatment system", *Water Res.*, vol. 33, pp.230-238.
91. Geets J, de Cooman M, Wittebolle L, Heylen K, Vanparys B, De Vos P, Verstraete W, Boon N., 2007, "Real-time PCR assay for the simultaneous quantification of nitrifying and denitrifying bacteria in activated sludge", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol.75 (1), pp.211-21.
92. Gersberg R. M., Elkins B. V., Lyons S. R., Goldman C. R., 1985, "Role of aquatic plants in wastewater treatment by artificial wetlands", *Water Res.*, vol.20, pp.363-367.
93. Giordano A., Stante L., Pirozzi F., Cesaro R., Bortone G., 2005, "Sequencing batch reactor Performance treating PAH contaminated lagoon sediments", *J. Haz. Mat.*, vol. B, pp.159-166.
94. Giovannoni S.J., E.F. DeLong, Olsen G.J. and Pace N.R., 1988, "Phylogenetic group-specific oligodeoxynucleotide probes for identification of single microbial cells", *J. Bacteriol.*, vol.170, pp.720-726.
95. Giraud F., Guiraud P., Kadri M., Blake G., Steiman R., 2007, "Biodegradation of anthracene and fluoranthene by fungi isolated from an experimental constructed wetland for wastewater treatment", *Water Res.*, vol.35, pp.4126-4136.
96. Giuliano L., De Domenico M., De Domenico E., Hofle M.G., and Yakimov M.M., 1999, "Identification of culturable oligotrophic bacteria within naturally occurring bacterioplankton communities of the Ligurian sea by 16S rRNA sequencing and probing", *Microb. Ecol.*, vol.37, pp.77-85.
97. Glockner F.O., Amann R., Alfreider A., Pernthaler J., Psenner R., Trebesius K., and Schleifer K.-H., 1996, "An in situ hybridization protocol for detection and identification of planktonic bacteria", *System. Appl. Microbiol.*, vol.19, pp.403-406.

98. Glockner F.O., Fuchs B.M., and Amann R., 1999, "Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence in situ hybridization" , *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.65, pp.3721-3726.
99. Glockner FO, Amann R, Alfreider A, Pernthaler J, Psenner R, Trebesius KH & Schleifer KH, 1996, "An in situ hybridization protocol for detection and identification of planktonic bacteria", *Syst. Appl. Microbiol.*, vol.19, pp.403-406.
100. Gomez Cerezo R., Suarez M.L., Vidal-Abarca M.R., 2001, "The performance of a multistage system of a constructed wetlands for urban wastewater treatment in a semiarid region of SE Spain", *Ecol. Eng.*, vol.16, pp.501-17.
101. Griffin P., 2003, "Ten years experience of treating all flows from combined sewerage systems using package plant and constructed wetland combinations", *Water Sci. Technol.*, vol.48(11-12)), pp.93-99.
102. Griffin P., Jennings P., Bowman E., 1999, "Advanced nitrogen removal by rotating biological contactors recycle and constructed wetlands", *Water Sci. Technol.*, vol.40, pp.383-90.
103. Gross A., Shmueli O., Ronen Z., Raveh E., 2007, "Recycled vertical flow constructed wetland (RVFCW)- a novel method of recycling greywater for irrigation in small communities and households", *Chemosphere*, vol.66, pp.916-923.
104. Gupta A.B., Gupta S.K., 2001, "Simultaneous carbon and nitrogen removal from high strength domestic wastewater in an aerobic RBC biofilm", *Water Res.*, vol.35, pp.1714-22.
105. Hadad H.R., Maine M.A., Bonetto C.A., 2006, "Macrophyte growth in a pilot-scale constructed wetland for industrial wastewater treatment, *Chemosphere*, vol.63, pp.1744-1753.
106. Hammer D. A., 1992, "Designing constructed wetlands systems to treat agricultural non-point source pollution", *Ecol. Eng.*, vol.1, pp. 49-82.
107. Hamouri El, Nazih B., Lahjouj J., 2007, "Subsurface-horizontal flow constructed wetland for sewage treatment under Morrocan climate conditions", *Desalination*, vol.215, pp.153-158.

108. Hand V.C., Williams G.K., 1987, "Structure-activity relationships for sorption of linear alkylbenzenesulfonates", *Envi. Sa.Tech.*, vol.21, pp. 370-373.
109. Hansford G.S., Andrews J.F., Grieves C.G., CarrA.D., 1978, "A steadystate model for the rotating biological disc reactor", *Water Res.*, vol.12, pp.855-868.
110. Harms G, Layton AC, Dionisi HM, Gregory IR, Garrett VM, Hawkins SA, Robinson KG, Saylor GS., 2003, "Real-time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant", *Environ. Sci. Technol.*, vol.37(2), pp.343-51.
111. Harrington J.R., Mihelcic J.R., Planinsek T.L., Lewis R.A., 1993, Fate estimates
112. He Q., Mankin K.R., 2002, "Performance variations of COD and nitrogen removal by vegetated submerged bed wetlands", *J. Am. Water Res. Assoc.*, vol.38, pp.1679-89.
113. Heaney J. P., Wright L., Sample D., 1999, "Research needs in urban wet weather flows", *Water Environ. Res.*, vol.71, pp.241-250.
114. Helmer C. and Kunst S., 1998, "Simultaneous nitrification/denitrification in aerobic bio-film system", *Water Sci. Technol.*, vol.37, pp.183-87.
115. Herkowitz J., 1986, Listowel Artificial Marsh Project Report, Ontario Ministry of the Environment, Water Resources Branch, Toronto.
116. Heyvaert A.C., Reuter J.E., Goldman C.R., 2006, "Subalpine, cold climate, stormwater treatment with a constructed surface flow wetland", *J. Am. Water Resour. As.*, vol.42, pp.45-54.
117. Hiley P.D. 1995, "The reality of sewage treatment using wetlands," *Water Sci. Technol.*, vol.32, pp.329-38.
118. Hoffman E.J., Mills G.L., LatimerJ.S., Quin J.G., 1984, "Urban runoff as source of polycyclic aromatic hydrocarbons to coastal waters", *Environ. Sci. Technol.*, vol.18, pp.580-587.
119. Holmes A. J., Costello A., Lidstrom M. E., and Murrell J. C., 1995, "Evidence that particulate methane monooxygenase and ammonia monooxygenase may be evolutionarily related", *FEMS Microbiol. Lett.*, Vol.132, pp.203-208

120. Holt M.S., Waters J., Comber M.H.I., Armitage R., Morris G., Newbery C., 1995, "AIS/CESIO environmental surfactant monitoring programme. SDIA sewage treatment pilot study on linear alkylbenzene sulphonate (LAS)", *Water Res.*, vol.29, pp.2063-2070.
121. Horan N. J., 1991, "Biological Wastewater Treatment Systems - Theory and Operation", JohnWiley & Sons, Chichester,.
122. Hrsak DM, Bosnjak M, Johanides V., 1982, "Enrichment of linear alkyl benzenesulfonate (LAS) degrading bacteria in continuous culture", *J. Appl. Bacteriol*, vol.53, pp.413-22.
123. Hua J., An P., Winter J., Gallert C., 2003, "Elimination of COD, microorganisms and pharmaceuticals from sewage by trickling through sandy soil below leaking sewers", *Water Res.*, vol.37, pp.4395-404.
124. Huang J., Reneau Jr. R.B., Hagedorn C., 2000, "Nitrogen removal in constructed wetlands employed to treat domestic wastewater", *Water Res.*, vol.34, pp.2582-2588.
125. International Agency for Research on Cancer (IARC), 1987-1991, "Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans", Vol. 45e53. Lyon, France.
126. Ishida C. K., Kelly J. J., Gray K. A., 2006, "Effects of variable hydroperiods and water level fluctuations on denitrification capacity, nitrate removal, and benthic-microbial community structure in constructed wetlands", *Ecol. Eng.*, vol.28, pp.363-373.
127. IWA, 2000, "Special Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control", *Constructed wetlands for pollutant Control. Scientific and Technical Report No 8.* IWA Publishing, London, England.
128. Jackson M. B., Armstrong W., 1999, "Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence", *Plant Biol.*, vol.1, pp.274-287.
129. Jang J. R., Choi S. H., Hwun S. K., 2007, "Water treatment characteristics by constructed wetland with different vegetation - open water arrangements", *J. Korean Soc. Water Qual.*, vol.23 (1), pp.122-130.

130. Jarde E., Mansuy L., Faure P., 2005, "Organic markers in the lipidic fraction of sewage sludges", *Water Res.*, vol.39, pp.1215-1232.
131. Jeanneau L., Faure P., Montarges-Pelletier E., 2008, "Quantitative multimolecular marker approach to investigate the spatial variability of the transfer of pollution from the Fensch River to the Moselle River (France)", *Sci. Total Environ.*, vol.389, pp.503-513.
132. Jimenez L., Breen A., Thomas N., Federle T.W. and Sayler G.S., 1991, "Mineralization of linear alkylbenzene sulfonate by a four-member aerobic bacterial consortium", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.57, pp.1566-1569.
133. Jing S.R., Lin Y.F., 2004, "Seasonal effect on ammonia nitrogen removal by constructed wetlands treating polluted river water in southern Taiwan", *Environ. Pollut.*, vol.127, 291-301.
134. Jing S.R., Lin Y.F., Lee D.Y., Wang T.W., 2001, "Nutrient removal from polluted river water by using constructed wetlands", *Biores. Technol.*, vol.76, pp.131-35.
135. Jiries A., Hussain H., Lintelmann J., 2000, "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater, sediments, sludge and plants in Karak province", *Jordan. Water Air Soil Poll.*, vol.121, pp.217-228.
136. Joo H. Z., Hirai M., Shoda M., 2005, "Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis*", *J. Biosci. Bioeng.*, vol.100(2), pp.184-191.
137. Kadlec R. H., 1994, "Detention and mixing in free water wetlands", *Ecol. Eng.*, vol.3, pp.345-380.
138. Kadlec R. H., 1999, "Chemical, physical and biological cycles in treatment wetlands", *Water Sci. Technol.*, vol.40 (3), pp.37-44.
139. Kadlec R. H., Knight R. L., Vymazal J., Brix H. et al., 2000, "Constructed Wetlands for Pollution Control: Processes, Performance, Design and Operation, IWA specialist group on use of macrophytes in water pollution control, Scientific and Technical Report", No. 8, IWA Publishing, London, pp.156.
140. Kadlec R. H., Knight R. L., 1996, "Treatment Wetlands", CRC Press, Boca Raton.

141. Kadlec R.H., 1997, "Deterministic and stochastic aspects of constructed wetland performance and design", *Water Sci. Technol.*, vol.35 (5), pp.149-156.
142. Kadlec R.H., 2006, "Free surface wetlands for phosphorus removal: The position of the Everglades Nutrient Removal Project", *Ecol. Eng.*, vol.27, pp.361-79.
143. Kadlec R.H., Knight R.L., 1996, "Treatment wetlands". Boca Raton, FL, CRC Press, pp. 893.
144. Kadlec R.H., Knight R.L., Vymazal J., Brix H., Cooper P., Haberl R. 2000, "Constructed wetlands for pollution control: processes, performance, design and operation. IWA specialist group on use of macrophytes in water pollution control", Scientific and Technical Report No. 8. London, UK, IWA Publishing, pp. 156
145. Kadlec R.H., Reddy K.R., 2001, "Temperature effects in treatment wetlands", *Water Environ. Res.*, vol.73, pp.543-557.
146. Karathanasis A.D., Potter C.L., Coyne M.S., 2003, "Vegetation effects on faecal bacteria, BOD, and suspended solid removal in constructed wetlands treating domestic wastewater", *Ecol. Eng.*, vol.20, pp.157-69.
147. Kargi F., Eker S., 2002, "Comparison of performances of rotating perforates tubes and rotating biodiscs biofilm reactors for wastewater treatment", *Process Biochemistry*, vol.37, pp.1201-1206.
148. Kaseva M., 2004, "Performance of a sub-surface flow constructed wetland in polishing pre-treated wastewater - a tropical case study", *Water Res.*, vol.38, pp.681-687.
149. Katsoyiannis A., Samara C., 2004, "Persistent organic pollutants (POPs) in the sewage treatment plant of Thessaloniki, northern Greece: occurrence and removal", *Water Res.*, vol.38, pp.2685-2698.
150. Katsoyiannis A., Terzi E., Cai Q.-Y., 2007, "On the use of PAH molecular diagnostic
151. Keeney R., Raiffa H., 1976, "Decisions with Multiple Objectives: Preferences and Value Tradeoffs", Willey, New York.
152. Keffala C., Ghrabi A. 2005, "Nitrogen and bacterial removal in constructed wetlands treating domestic wastewater", *Desalination*, vol.185, pp.383-389.

153. Keith L.H., Telliard W.A., 1979, "Priority pollutants I. A perspective view", *Env. Sci. Tech.*, vol.13, pp.416-423.
154. Khatiwada N. R., Polprasert C., 1999, "Assessment of effective specific surface area for free water surface constructed wetlands", *Water Sci. Technol.*, vol.40(3), pp.83-89.
155. Killingstad M. W., Widdowson M. A, Smith R. L., 2002, "Modeling enhanced in situ denitrification in groundwater", *J. Environ. Eng*, vol.128 (6), pp.491-504.
156. Kim D. J., Kim S. H., 2006, "Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitrataion reactor systems and their kinetic characteristics", *Water Res.*, vol.40 (5), pp.887-894.
157. Kim S. J., Choi Y. S., Bae W. H., 2006, "Application of hybrid constructed wetland system for stream water quality improvement, *J. Korean Soc. Water Qual.*, vol.22, pp.209-214.
158. Kim S., Jung H., Kim K. S., Kim. IS., 2004, "Treatment of high nitrate containing wastewaters by sequential heterotrophic and autotrophic denitrification", *J. Environ. Eng.*, vol.130 (12), pp.1475-1480.
159. Kivaisi A.K., 2001, "The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review", *Ecol. Eng.* , vol.16, pp.545-60.
160. Kleinstauber S, Muller F.-D., Chatzinotas A., Wendt-Potthoff K. and Harms H., 2008, "Diversity and in situ quantification of Acidobacteria subdivision 1 in an acidic mining lake", *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol.63, pp.107-117
161. Kludze H. K., Delaune R. D., 1996, "Soil redox intensity effects on oxygen exchange and growth of cattail and sawgrass", *J. Soil Sci. Soc. Am.*, vol.60, pp.616-621.
162. Knight R. L., Clarke R. A., Bastian R. K., 2001, "Surface flow (SF) treatment wetlands as a habitat for wildlife and humans", *Water Sci. Technol.*, vol.44 (11/12), pp.27-37.
163. Knight R.L., Payne V.W.E., Borer R.E., Clarke R.A., Pries J.H, 2000, "Constructed wetlands for livestock wastewater management", *Ecol. Eng.*, vol.15, pp.41-55.

164. Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T., 2002, "Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance", *Env. Sci. Tech.*, vol.36 (6), pp. 1202-1211.
165. Konopka A, Zakharova T, Oliver L and Turco RF., 1997, "Microbial biodegradation of organic wastes containing surfactants in a continuous-flow reactor", *J. Ind. Mic. Biot.* Vol.18, pp.235-240
166. Korkusuz E.A., Beklioglu M., Demirer G.N., 2007, "Use of blast furnace granulated slag as a substrate in vertical flow reed beds: Field application", *Biores. Technol.*, vol.98, pp.2089-101.
167. Krein A., Schorer M., 2000, "Road runoff pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons and its contribution to river sediments", *Water Res.*, vol.34, pp.4110-4115.
168. Kuschk P., Wiebner A., Kappelmeyer U., Weibrodt E., Kastner M., Stottmeister U., 2003, "Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate", *Water Res.*, vol.37, pp.4236-42.
169. Kuschk P., WieXner A., Kappelmeyer U., E. WeiXbrodt et al., 2003, "Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate", *Water Res.*, vol.37, pp.4236-4242.
170. Lane D.J., 1991, "16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics* (Stackebrandt E & Goodfellow M, eds)", pp. 115-175. Wiley, Chichester.
171. Langergraber G., 2007, "Simulation of the treatment performances of outdoor subsurface flow constructed wetlands in temperature climates", *Sci. Total Environ.*, vol.380, pp.210-219.
172. Larson R.J., Rothgeb T.M., Shimp R.J., Ward T.E., Ventullo R.M., 1993, "Kinetics and practical significance of biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in the environment", *J. Am. Oil Chem.*, vol.70 (7), pp.645-57

173. Lee H., Min Y.M., Park C.H., Park Y.H., 2004, "Automatic control and remote monitoring system for biological nutrient removal on small wastewater treatment plants in Korea", *Water Sci. Tech*, vol.50, pp.199-206.
174. Lee H., Sim-Lin L., Kayhanian M., Stenstroma M.K., 2004, "Seasonal first flush phenomenon of urban stormwater discharges", *Water Res.*, vol38, pp.4153-4163.
175. Lee J. H., Bang K. W., 2000, "Characterization of urban stormwater runoff", *Water Res.*, vol.34, pp.1773-1780.
176. Leon V.M., Lopez C., Lara-Mart?n P.A., Prats D., Varo P., Gonzalez-Mazo E., 2006, "Removal of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates at low temperatures during activated sludge treatment", *Chemosphere*, vol.64.
177. Lim J, Lee S, Hwang S., 2008, "Use of quantitative real-time PCR to monitor population dynamics of ammonia-oxidizing bacteria in batch process", *J Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol35(11), pp.1339-44.
178. Lin Y.F., Jing S.R., Lee D.Y., Chang Y.F., Chen Y.M., Shih K.C., 2005, "Performance of a constructed wetland treating intensive shrimp aquaculture wastewater under high hydraulic loading rate", *Env. Pollut. Vol.*134, pp.411-21.
179. Linton JD, DEF Harrison and AT Bull, 1975, "Molar growth yields, respiration and cytochrome patterns of *Beneckea natriegens* when grown at different medium dissolved-oxygen tensions", *J. Gen. Microbiol.*, vol.90 pp.237-246.
180. Llobet-Brossa E., Rossello-Mora R., and Amann R., 1998, "Microbial community composition of wadden sea sediments as revealed by fluorescence in situ hybridization", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.64, pp.2691-2696.
181. Ludwig W., and Schleifer K.-H., 1994, "Bacterial phylogeny based on 16S and 23S rRNA sequence analysis", *FEMS Microbiol. Rev.*, vol.15, pp.155-173.
182. Luederitz V., Eckert E., Lange-Weber M., Lange A., Gersberg R. M., 2001, "Nutrient removal efficiency and resource economics of vertical flow and horizontal flow constructed wetlands", *Ecol. Eng.*, vol.18, pp.157-171.

183. Machate T., Noll H., Behrens H., Kettrup A., 1997, "Degradation of phenanthrene and hydraulic characteristics in a constructed wetland", *Water Res.*, vol.31, pp.554-560.
184. Madsen T, Winther-Nielsen M, Samsøe-Petersen L.,1998, "Effects of organic chemicals in sludge applied to soil", Environmental Project 432, Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, Denmark.
185. Maine M.A., Sune N., Hadad H., Sanchez G., Bonetto C., 2007, "Removal efficiency of a constructed wetland for wastewater treatment according to vegetation dominance", *Chemosphere*, vol.68, pp.1105-1113.
186. Maltby L., Forrow D.M., Boxall A.B.A., Calow P., Betton C.I., 1995, "The effects of motorway runoff on fresh-water ecosystems: 1. Field-study", *Environ. Toxicol. Chem.*, vol.14, pp.1079-1092.
187. Mangas E., Vaquero M.T., Comellas L., Broto-Puig F., 1998, "Analysis and fate of aliphatic hydrocarbons, linear alkylbenzenes, polychlorinated biphenyls and polycyclic hydrocarbons in sewage sludge-amended soils", *Chemosphere*, vol.36, pp.61-72.
188. Manios T., Albantakis D., Zarmakoupis A., Sabathianakis I., Karathanasis A.D., 2007, "Constructed wetlands for highway runoff treatment in the central Mediterranean region: Operating parameters. In. Proceeding of SECOTOX Conference and the International Conference on Environmental Management Engineering, Planning and Economics.", Skiathos, Greece, 24-28 June 2007, 1181-1186.
189. Mann A.T., Stephenson T., 1997, "Modelling biological aerated filters for wastewater treatment", *Water Res.*, vol.31, pp.2443-48.
190. Manoli E., Samara C., 1996, "Polycyclic aromatic hydrocarbons in waste waters and sewage sludge: Extraction and clean-up for HPLC analysis with fluorescence detection", *Chromatographia*, vol.43, pp.135-142.
191. Manoli E., Samara C., 1999a, "Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis", *Trends in Anal. Chem.*, vol.18, pp.417-428.

192. Manoli E., Samara C., 1999b, "Occurrence and mass balance of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Thessaloniki sewage treatment plant", *J. Env. Quality*, vol.28, pp.176-187.
193. Manoli E., Samara C., 2008, "The removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the wastewater treatment process: Experimental calculations and model predictions", *Environ. Pollut.*, vol.151, pp.477-485
194. Manz W., Amann, Ludwig R.W., Wagner M. and Schleifer K.-H., 1992, "Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: Problems and solutions", *System. Appl. Microbiol.*, vol.15, pp.593-600.
195. Mao Y., Bakken L. R., Zhao L. & Frostegard. A., 2008, "Functional robustness and gene pools of a wastewater nitrification reactor: comparison of dispersed and intact biofilms when stressed by low oxygen and low pH", *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol.66, pp.167-180.
196. Matamoros V., Caselles-Osorio A., Garcí?a J., Bayona J.M., 2008, "Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A microcosm experiment", *Sci. Total Environ.*, vol.394, pp.171-176.
197. May A. W., Bigambo T., 2005, "Nitrogen transformation in horizontal subsurface flow constructed wetlands I: Model development", *Phys. Chem. Earth*, vol.30, pp.658-667.
198. Mayo A. W., Mutamba J., 2004, "Effect of HRT on nitrogen removal in a coupled HRP and unplanted subsurface flow gravel bed constructed wetland", *Phys. Chem. Earth*, vol.29, pp.1253-1257.
199. McNevin D., Bardford J., 1998, "Modelling adsorption and biological degradation of nutrients on peat", *Biochemical Engineering Journal*, vol. 2, pp.217-228.
200. Melcer H., Steel P., Bedford W.K., 1995, "Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic nitrogen compounds in a municipal treatment plant", *Water Environ. Res.*, vol.67, pp.926-934.

201. Merlin G., Pajeau J.L., Lissolo T., 2002, "Performances of constructed wetlands for municipal wastewater treatment in rural mountainous area", *Hydrobiologia*, vol.469, pp.87-98.
202. Merz S. K., 2000, *Guidelines for Using Free Water Surface Constructed Wetlands to Treat Municipal Sewage*", Queensland Australia, Department of Natural Resources, Brisbane.
203. Metcalf & Eddy Inc 1991, *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*, 3rd edn, revised by G. Tchobanoglous and F.L. Burton, McGraw-Hill Inc, Singapore.
204. Milner M.G., Curtis T.P., Davenport R. J., 2008, "Presence and activity of ammonia-oxidising bacteria detected amongst the overall bacterial diversity along a physico-chemical gradient of a nitrifying wastewater treatment plant", *Water Res.*, Article in press.
205. Mitchell C., McNevin D., 2001, "Alternative analysis of BOD removal in subsurface flow constructed wetlands employing Monod kinetics", *Water Res.*, vol.35, pp.1295-1303.
206. Mitchell G.F., Hunt C.L., Su Y.M., 2002, "Mitigating highway runoff constituents via a wetland", *Soil Mechanics, Transport Res. Rec.*, vol.1808, pp.127-133.
207. Mitsch W. J., Gosselink J. G., 2000, "The value of wetlands: Importance of scale and landscape setting", *Ecol. Econ.*, vol.35, pp.25-33.
208. Mobarry B. K., Wagner M., Urbain V., Rittman B. E., and Stahl D. A., 1996, "Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.62, pp. 2156-2162.
209. Molle P., Lienard A., Grasmick A., Iwema A. 2006, "Effect of reeds and feeding operations on hydraulic behaviour of vertical flow constructed wetlands under hydraulic overloads", *Water Res.*, vol.40, pp.606-12.
210. Montras A, Pycke B, Boon N, Godia F, Mergeay M, Hendrickx L, Perez J. 2008, "Distribution of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* in an autotrophic nitrifying biofilm reactor as depicted by molecular analyses and mathematical modelling", *Water Res.*, vol.42 (6-7), pp.1700-14.

211. Mosquera-Corral A., Gonzalez F., Campos J. L., Mendez R., 2005, "Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds", *Process Biochem.*, vol.40, pp.3109-3118.
212. Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Tiphagne-Larcher K., Zimmerlin I., Chevreuil M., 2007, "PAHs in the bulk atmospheric deposition of the Seine river basin: source identification and apportionment by ratios, multivariate statistical techniques and scanning electron microscopy", *Chemosphere*, vol.67, pp.312-321.
213. Mungur A.S., Shutes R.B.E., Revitt D.M., House M.A., 1995, "An assessment of metal removal from highway runoff by a natural wetland", *Water Sci. Technol.*, vol.32(3), pp.169-175.
214. Murakami M., Nakajima F., Furumai H., 2004, "Modelling of runoff behaviour of particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from roads and roofs," *Water Res.*, vol.38, pp.4475-4483.
215. Murray A.E., Preston C.M, Massana R., Taylor L.T., Blakis A., Wu K., and Delong E.F., 1998, "Seasonal and spatial variability of bacterial and archaeal assemblages in the coastal waters near anvers island, Antarctica", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.64, pp.2585-2595.
216. Namkung E., Rittmann B.E., 1987, "Estimating volatile organic compound emissions from publicly owned treatment works", *J. Water Pol. Control Federation*, vol.59, pp.670-678.
217. Ngabe B., Bidleman T.F., Scott G.I., 2000, "Polycyclic aromatic hydrocarbons in storm runoff from urban and coastal South Carolina", *Sci. Total Environ.*, vol.255, pp.1-9.
218. Nitorisavut S., Klomjek P., 2005, "Inhibition kinetics of salt-affected wetland for municipal wastewater treatment", *Water Res.*, vol.39, pp.4413-19.
219. Nuttall P. M., Boon A. G., Rowell M. R., 1998, "Review of the Design and Management of Constructed Wetlands", CIRIA Publications, London, UK, pp.62-67.
220. Olsen G.J., Lane D.J., Giovannoni S.J., Pace N.R., 1986, "Microbial ecology and evolution: a ribosomal RNA approach", *Ann. Rev. Microbiol.*, vol.40, pp.337-365

221. on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans", Vol. 45-53, Lyon, France.
222. Ongley E.D., Bynoe M.C., Percival J.B., 1981, "Physical and geochemical characteristics of suspended solids", Wilton Creek, Ontario, Can. J. Earth Sci., vol.18, pp.1365-1379.
223. organic contaminants in sewage sludges from eleven wastewater treatment plants, China", Chemosphere, vol.68, pp.1751-1762.
224. Ottova V., Balcarova J., Vymazal J., 1997, "Microbial characteristics of constructed wetlands", Water Sci. Technol., vol.35, pp.117-23.
225. Paing J., Voisin J., 2005, "Vertical flow constructed wetlands for municipal wastewater and septage treatment in French rural area", Water Sci. Technol., vol.51, pp.145-55.
226. Pakou C., Fountoulakis M., Drillia P., Kampioti A., Stamatelatou K., Lyberatos G., 2007, "Occurrence and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage treatment plants using microwave-assisted extraction followed by liquid chromatography coupled with fluorescence detector", Fresenius Environ.Bull., vol.16, pp.127-132.
227. Paredes D., Kuschk P., Mbwette T. S. A., Stange F., Muller R. A., et al. 2007, "New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment", Engineering in life sciences, vol. 7, no1, pp. 13-25.
228. Patwardhan A. W., 2003, "Rotating Biological Contactors: A Review", Ind. Eng. Chem. Res., vol.42, pp.2035-2051
229. Perez J.I., Hontoria E., Zamorano M., Gomez M.A., 2005, "Wastewater treatment using fibrist and saprist peat: a comparative study", J. Env. Sci. Health, vol.40A, pp.1021-1032.
230. Perez S., Guillamon M. and Barcelo D., 2001, "Quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants", J. Chromatogr., vol.A 938, pp.57-65.
231. Petrasek A.C., Kugelman I.J., Austern B.M., Presley T.A., Winslow L.A., Wise R.H., 1983, "Fate of toxic organic compounds in wastewater treatment plants", J. Water Poll. Control Federation, vol.55, pp.1286-1296.

232. Pettersson A., Adamson M., Dave G., 2000, "Toxicity and detoxification of Swedish detergents and softener products", *Chemosphere* vol.41, pp.161-162
233. Pham T.T., Proulx S., 1997, "PCBs and PAHs in the Montreal urban community (Quebec, Canada) wastewater treatment plant and in the effluent plume in the St Lawrence River", *Water Res.*, vol.31, pp.1887-1896.
234. Phipps R. G., Crumpton W. G., 1994, "Factors affecting nitrogen loss in experimental wetlands with different hydrologic loads", *Ecol. Eng.*, vol.3, pp.399-408.
235. Pontier H., Williams J.B., May E., 2004, "Progressive changes in water and sediment quality in a wetland system for control of highway runoff", *Sci. Total Environ.*, vol.319, pp.215-224.
236. Prats D., Ruiz F., Vazquez B., Rodriguez-Pastor M., 1997, "Removal of anionic and nonionic surfactants in a wastewater treatment plant with anaerobic digestion: a comparative study", *Water Res.*, vol.31(8), pp.1925-30.
237. Prestes E.C., dos Anjos V.E., Sodre F.F., Grassi M.T., 2006, "Copper, lead and cadmium loads and behavior in urban stormwater runoff in Curitiba", *Brazil. J. Brazil. Chem. Soc.* , vol.17, pp.53-60.
238. Prosnansky M., Sakakibarab Y., Kuroda M., 2002, "High-rate denitrification and SS rejection by biofilm-electrode reactor (BER) combined with microfiltration", *Water Res.*, vol.36, pp.4801-4810.
239. Reddy K. R., D'Angelo E. M., 1997, "Biogeochemical indicators to evaluate pollutant removal efficiency in constructed wetlands", *Water Sci. Technol.*, vol.35, pp.1-10.
240. Reddy K. R., Patrick W. H., 1984, "Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments", *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, vol.13, pp.273-309.
241. Reed S. C., Crites R. W., Middlebrooks E. J., 1995, "Natural Systems for Waste Management and Treatment", McGraw-Hill, New York.
242. Resource Recovery (Eds. K. R. Reddy, W. H. Smith), Magnolia Publishing, Orlando 1987, 153-174.
243. Richardson W., Strauss E., Bartsch E., Monroe L., Cavanaugh E., Vingum J. et al., 2004, "Denitrification in the upper Mississippi River: Rates, controls, and contribution to nitrate flux", *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, vol.61, pp.1102-1112.

244. Rijn J. V., Tal Y., Schreier H. J., 2006, "Denitrification in recirculating systems: Theory and applications", *Aquac. Eng.*, vol.34, pp.364-376.
245. Rogers H.R., 1996, "Sources, behaviour and fate of organic contaminants during the sewage treatment and in sewage sludges", *Sci.Total Env.*, vol.185, pp.3-26.
246. Rousseau D. P. L., Lesage E., Story A., Vanrolleghem P. A., De Pauw N., 2008, "Constructed wetlands for water reclamation", *Desalination*, vol.218, pp.181-189.
247. Rousseau D.P.L., Vanrolleghem P.A., De Pauw N., 2004, "Model-based design of horizontal subsurface flow constructed treatment wetlands: A review", *Water Res.*, vol.38, pp.1484-93.
248. Russell J. M., van Oostrom A. J., Lindsey S. B., 1994, "Denitrifying sites in constructed wetlands treating agricultural industry waste - a note", *Environ. Technol.*, vol.15, pp.95-99.
249. Sagy M., Kott Y., 1990, "Efficiency of rotating biological contactor in removing pathogenic bacteria from domestic wastewater", *Water Res.*, vol.24, pp.1125-28.
250. Sakano Y., D. Pickering K., Strom P. F., and Kerkhof L.J., 2002, "Spatial Distribution of Total, Ammonia-Oxidizing, and Denitrifying Bacteria in Biological Wastewater Treatment Reactors for Bioregenerative Life Support", *App. Env. Mic.*, vol.68 (3), pp.2285-2293
251. Sandler S.I. 1996, "Infinite dilution activity coefficients in chemical, environmental and biochemical engineering", *Fluid Phase Equilib.*, vol.116, pp.343-353.
252. Sansalone J.J., Buchberger S.G., 1997, "Characterization of solid and metal element distributions in urban highway stormwater", *Water Sci. Technol.*, vol.36(8-9), pp.155-160.
253. Sanz J. L., Kochling T., 2007, "Molecular biology techniques used in wastewater treatment: An overview". *Process Biochem.*, vol.42 (2), pp.119-133.
254. Schnaak W., Kuchler Th., Kujawa M., Henschel K-P., Sussenbach D. and Donau R., 1997, "Organic contaminants in sewage sludge and their

- ecotoxicological significance in the agricultural utilization of sewage sludge", *Chemosphere*, vol.35, pp.5-11.
255. Scholes L., Shutes R.B.E., Revitt D.M., Forshaw M., Purchase D., 1998, "The treatment of metals in urban runoff by constructed wetlands", *Sci. Total Environ.*, vol.214, pp.211-219.
256. Scholz M., Lee B. H., 2005, "Constructed wetlands: A review", *Int. J. Environ. Stud.*, vol.62, pp.421-447.
257. Schubert W., Wolfgang Gunthert F., 2001, "Particle size distribution in effluent of trickling filters and in humus tanks", *Water Res.*, vol.35, pp.3993-97.
258. Seitzinger S. P., Sanders R. W., Styles R., 2002, "Bioavailability of DON from natural and anthropogenic sources to estuarine plankton", *Limnol. Oceanogr.*, vol.47, pp.353-366.
259. Senzia M. A., Mashauri D. A., Mayo A. W., 2003, "Suitability of constructed wetlands and waste stabilization ponds in wastewater treatment: Nitrogen transformation and removal", *Phys. Chem. Earth*, vol.28, pp.1117-1124.
260. Shinya M., Tsuchinaga T., Kitano M., Yamada Y., Ishikawa M., 2000, "Characterization of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban highway runoff", *Water Sci. Technol.*, vol.42(7-8), pp.201-208.
261. Shutes R.B.E., Revitt D.M., Lageberg I.M. and Barraud V.C.E., 1999, "The design of vegetated constructed wetlands for the treatment of highway runoff", *Sci. Total Environ.*, vol. 235, pp.189-187.
262. Shutes R.B.E., Revitt D.M., Mungur A.S., Scholes L.N.L., 1997, "The design of wetland systems for the treatment of urban runoff", *Water Sci. Technol.*, vol.35(5), pp.19-25.
263. Sigoillot J.-C., Nguyen M.-H., 1992, "Complete oxidation of linear alkylbenzene sulfonate by bacterial communities selected from coastal seawater", *Appl. Env. Mic.*, vol.58 (4), pp.1308-1312.
264. Simon M., O. Glockner F. and Amann R. 1999, "Different community structure and temperature optima of heterotrophic picoplankton in various regions of the Southern Ocean" *Aquat. Microb. Ecol.*, vol.18, pp.275-284.

265. Siracusa G., La Rosa A. D., 2006, "Design of a constructed wetland for wastewater treatment in a Sicilian town and environmental evaluation using the energy analysis", *Ecol. Model.*, vol.197, pp.490-497.
266. Sirianuntapiboon S., 2006, "Treatment of wastewater containing Cl₂ residue by packed cage rotating biological contactor (RBC) system" *Biores. Technol.*, vol.97, pp.1735-44.
267. Sirivedhin T., Gray K. A., 2006, "Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: Field and laboratory studies", *Ecol. Eng.*, vol.26, pp.167-181.
268. Sleytr K., Tielz A., Langergraber G., Haberl R., 2007, "Investigation of bacterial removal during the filtration process in constructed wetlands", *Sci. Total Environ.*, vol.380, pp.173-80.
269. Solano M.L., Soriano P., CiriaM.P., 2004, "Constructed wetlands as a sustainable solution for wastewater treatment in small villages", *Biosyst. Eng.*, vol.87, pp.109-118.
270. Sorrell B. K., 1999, "Effect of external oxygen demand on radical oxygen loss by *Juncus* roots in titanium citrate solutions", *Plant Cell Environ.*, vol. 22, pp.1587-1593.
271. Spieles D. J., Mitsch W. J., 2000, "The effects of season and hydrologic and chemical loading on nitrate retention in constructed wetlands: A comparison of low- and highnutrient riverine systems", *Ecol. Eng.*, vol.14, pp.77-91.
272. Stahl D.A., and Amann R., 1991, "Development and application of nucleic acid probes. In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*" E. Stackebrandt and M. Goodfellow, editors. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK, pp.205-248.
273. Staley J. T., and Konopka A., 1985, "Measurements of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats", *Annu. Rev. Microbiol.*, vol.39, pp.321-346
274. Stein O.R., Biederman J.A., Hook P.B., Allen W.C., 2006, "Plant species and temperature effects on the k-C* first-order model for COD removal in batch-loaded SSF wetlands", *Ecol. Eng.*, vol.26, pp.100-112.

275. Stoffels M., Amann R., Ludwig W., Hekmat D., and Schleifer K.-H., 1998, "Bacterial community dynamics during start-up of a trickle-bed bioreactor degrading aromatic compounds", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.64, pp.930-939.
276. Stottmeister U., WieXner A., Kusch P., Kappelmeyer U., Kastner M., Bederski O. et al., 2003, "Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment", *Biotechnol. Adv.*, vol.22, pp.93-117.
277. Strunk O., Gross O., Reichel B., May M., Hermann S., Stuckmann N., Nonhoff B., Ginhart T., Vilbig A, Lenke M., Ludwig T., Bode A., Schleifer K.-H., and Ludwig W., 1999, "ARB : a software environment for sequence data", Department of Microbiology, Technische Universitat Munchen, Munich, Germany.
278. Sun G., Zhao Y., Allen S., 2005, "Enhanced removal of organic matter and ammoniacal-nitrogen in a column experiment of tidal flow constructed wetland system", *J. Biotechnol.*, vol.115, pp.189-197.
279. Sun G., Zhao Y., Allen S., 2006, "Generating 'tide' in pilot-scale constructed wetlands to enhance agricultural wastewater treatment", *Eng. Life Sci.*, vol.6, pp.560-565.
280. Sundaravadivel M. and Vigneswaran S., 2001, "Constructed wetlands for wastewater treatment", *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.*, vol. 31, pp. 351-409.
281. Swisher R.D. 1987, "Surfactant Biodegradation", *Surfactant Science Series*, Vol 18, 2nd edition.
282. *Systems*", *Environmental Progress*, vol.6, pp.217-223.
283. Szekeres S., Kiss I., Kalman M., Soares M. I. M., 2002, "Microbial population in a hydrogen-dependent denitrification reactor", *Water Res.*, vol.36, pp.4088-4094.
284. Tabor C.F., Barber L.B.,1996, "Fate of linear alkylbenzene sulfonate in the Mississippi River", *Environ. Sci. Technol.*, vol.30, pp.161-171.
285. Tanner C.C., D'Eugenio J., McBride G.B., Sukias J.P.S., Thompson K., 1999, "Effect of water level fluctuation on nitrogen removal from constructed wetland mesocosms" *Ecol. Eng.*, vol.12, pp.67-92.

286. Tawfik A., Klapwijk B., El-Gohary F., Lettinga G. 2002, "Treatment of anaerobically pre-treated domestic sewage by a rotating biological contactor, *Water Res.*, vol.36, pp.147-55.
287. Tawfik A., Temmink H., Zeeman G., Klapwijk B., 2006, "Sewage treatment in rotating biological contactor (RBC) system", *Water, Air and Soil Poll.*, vol.175, pp.275-89.
288. Taylor G. D., Fletcher T. D., Wong T. H. F., Breen P. F., 2005, "Nitrogen composition in urban runoff - implications for stormwater management", *Water Res.*, vol.39, pp.1982-1989.
289. Taylor G. D., Fletcher T. D., Wong T. H. F., Duncan H. P., 2006, "Baseflow water quality behavior: Implications for wetland performance monitoring", *Aust. J. Water Resour.*, vol.10, pp.293-302.
290. Tchobanoglous G., Burton F. L., *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*, 4th ed., McGraw-Hill, New York 2003.
291. Teichgraber B., Schreff D., Ekkerlein C., Wilderer P.A., 2001, "SBR technology in Germany-an overview", *Water Sci. Tech.*, vol.43, pp.323-330.
292. Temmink B. Klapwijk H., 2004, "Fate of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in activated sludge plants", *Water Res.*, vol.38, pp.903-912.
293. Tench H.B., 1994, "A theory of the operation of full scale activated sludge plants", *Water Res.*, vol.28, pp.1019-1024.
294. Terada A., Hibiya K., Nagai J., Tsuneda S., Hirata A., 2003, "Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane-aerated biofilm reactor applicable to highstrength nitrogenous wastewater treatment", *J. Biosci. Bioeng.*, vol.95 (2), pp.170-178.
295. Terzakis S., Fountoulakis M.S., Georgaki I., Albantakis D., Sabathianakis I., Karathanasis A.D., Kalogerakis N., Manios T., 2008., "Constructed wetlands treating highway runoff in the central Mediterranean region", *Chemosphere*, vol.72, pp.141-149.
296. Thomson N.R., Mcbean E.A., Snodgrass W., Monstrenko I.B., 1997, "Highway stormwater runoff quality: Development of surrogate parameter relationships", *Water Air Soil Poll.*, vol.94, pp.307-347.

297. Tietz A., Hornek R., Langergraber G., Kreuzinger N., Haberi R., 2007, "Diversity of ammonia oxidising bacteria in a vertical flow constructed wetland", *Water Sci. Techn.*, vol.56 (3), pp.241-247
298. Tsagarakis K.P., Mara D.D., Horan N.J., Angelakis A.N., 2001, "Institutional status and structure of wastewater quality management in Greece", *Water Policy*, vol.3, pp.81-99.
299. Tsihrintzis V.A., Akrotos C.S., Gikas G.D., Karamouzis D., Angelakis A.N., 2007, "Performance and cost comparison of a FWS and a VSF constructed wetland system", *Environ. Technol.*, vol.28, pp.621-28.
300. Tuccillo M.E., 2006, "Size fractionation of metals in runoff from residential and highway storm sewers", *Sci. Total Environ.*, vol.355, pp.288-300.
301. Tuncsiper B., 2007, "Removal of nutrient and bacteria in pilot-scale constructed wetlands", *J. Environ. Sci. Health. Part A Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.*, vol.42, pp.1117-1124.
302. U.S EPA, 1988, "Design Manual Constructed Wetlands and Aquatic Plant System for Municipal Wastewater Treatment" , Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio, USA; 1988.
303. U.S. EPA, 1990, CERCLA Site discharges to POTWS. Treatability manual. EPA
304. U.S EPA, 1993 and 1994, Standards for the use and disposal of sewage sludge. 40 CFR Parts 257, 403 and 503, final rule and phased in submission of sewage sludge permit application (Revision 40 CFR Parts 122, 123 and 501) final rule. vol. 58, pp. 9248e9415, vol. 59, p. 9095-9099, US EPA, Washington, DC.
305. U.S. EPA, 1993, "Subsurface Flow Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: A Technology Assessment, Office of Water, EPA 832-R-93-008, Washington, D.C.
306. U.S EPA, 2000, "Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters", Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio, USA.
307. van der Velden V.H.J., Hochhaus A., Cazzaniga G., Szczepanski T., Gabert J. and van Dongen J.J.M., 2003, "Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects", *Leukemia*, vol.17, pp.1013-1034.

308. van Oostrom A. J., Russell J. M., 1994, "Denitrification in constructed wastewater wetlands receiving high concentrations of nitrate", *Water Sci. Technol.*, vol.29, pp.7-14.
309. Vartapetian B. B., Jackson M. B., 1997, "Plant adaptations to anaerobic stress", *Ann. Bot.*, vol.79, pp.3-20.
310. Verhoeven J.T.A., Meuleman A.F.M., 1999, "Wetlands for wastewater treatment: Opportunities and limitations", *Ecol. Eng.*, vol.12, pp.5-12.
311. Viraraghavan T., Kikkeri S.R., 1998, "Peat filtration of food-processing wastewater", *Biological Wastes*, vol.26, pp.151-155.
312. Vymazal J., 1995, "Algae and Element Cycling in Wetlands", Lewis Publishers, Chelsea, pp.698.
313. Vymazal, J. 2002, "The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience", *Ecol. Eng.* vol.18, pp.633-46.
314. Vymazal J., 2005, "Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment", *Ecol. Eng.*, vol.25, pp.478-90.
315. Vymazal J., 2007, "Removal of nutrients in various types of constructed wetlands", *Sci. Total Environ.*, vol.380, pp.48-65.
316. Wagner M., Schmid M., Juretschko S., Trebesius K.H., Bubert A., Goebel W., and Schleifer K.H., 1998, "In Situ Detection of a Virulence Factor mRNA and 16s rRNA in *Listeria Monocytogenes*", *FEMS Microbiology Letters*, vol.160, pp.159-168.
317. Wallace S. D., Knight R. L., 2006, "Small-Scale Constructed Wetland Treatment Systems: Feasibility, Design Criteria, and O&M Requirements", IWA Publishing, London.
318. Wang J., Yang N., 2004, "Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions", *Process Biochem.*, vol.39, pp.1223-1229.
319. Wetzel R. G., 2000, "Fundamental processes within natural and constructed wetland ecosystems: Short-term vs. long-term objectives, in Proc. of the 7th Int. Conf. on Wetland Systems for Water Pollution Control", 11-16 November, Lake Buena Vista, pp.3-12.

320. White K.L., 1986, "An overview of immunotoxicology and carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons", *J. Environ. Sci. Health*, vol.4, pp.163-202.
321. WieXner A., Kuschk P., Ka"stner M., Stottmeister U., 2002, "Abilities of helophyte species to release oxygen into rhizosphere with varying redox conditions in laboratoryscale hydroponic systems", *Int. J. Phytoremediat.*, Vol.4, pp1-15.
322. Wittebolle L., Vervaeren H., Verstraete W. and Boon, N., 2007, "Quantifying community dynamics of nitrifiers in functionally stable reactors", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.74(1), pp.286-93
323. Wittgren H.B., M?hlum T.,1997, "Wastewater treatment wetlands in cold climates" *Water Sci. Technol.*, vol.35(5), pp.45-53.
324. Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L., 1990, "Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukarya", *Proc. Natl. Acad. Sci .USA*, vol.87, pp.4576-4579
325. www.opsi.gov.uk/ACTS/acts1991/Ukpga_19910057_en_1.htm.
326. Xia S., Li J., and Wang R., 2008, "Nitrogen removal performance and microbial community structure dynamics response to carbon nitrogen ratio in a compact suspended carrier biofilm reactor", *Ecol. Egin.*, vol. 32, pp.256-262
327. Yun Z., Lee H., Choi E., 2004, "Enhanced biological phosphorus removal in RBC with SBR modification", *Water Sci. Technol.*, vol.50, pp.121-30.
328. Yunker M.B., Macdonald R.W., 2003, "Alkane and PAH depositional history, sources and fluxes in sediments from the Fraser River Basin and Strait of Georgia, Canada", *Org. Geochem.*, vol.34, pp.1429-1454.
329. Zarda B., Hahn D., Chatzinotas A., Schonhuber W., Neef A., Amann R., and Zeyer J., 1997, "Analysis of bacterial community structure in bulk soil by in situ hybridization", *Archives of Microbiology*, vol.168, pp.185-192.
330. Zhang X.L., Tao S., Liu W.X., Yang Y., Zuo Q., Liu S.Z., 2005, "Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons based on species ratios: a multimedia
331. Zhao Y., Sun G., Allen S., 2004a, "nti-sized reed bed system for animal wastewater treatment: A comparative study" *Water Res.*, vol.38, pp.2907-2917.

332. Zhao Y., Sun G., Allen S., 2004b, "Purification capacity of a highly loaded laboratory scale tidal flow reed bed system with effluent recirculation", *Sci. Total Environ.*, vol.330, pp.1-8.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

1. Ανδρεαδάκης Α., 2008, Σημειώσεις μαθήματος "Προχωρημένες μέθοδοι επεξεργασίας υγρών αποβλήτων - Βιολογικοί δισκοί, Διεπιστημονικό - διατμηματικό πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών "Επιστήμη και τεχνολογία υδατικών πόρων".
2. Αραβώσης Κ., Κούγκολος Α., Λέγκας Κ., Μάκκας Α. Πατσής Κ., "Αναπτυξη μεθοδολογίας για την Αξιολόγηση των εναλλακτικών μεθόδων Επεξεργασίας υγρών αποβλήτων με τη Χρήση πολυκριτηριακής ανάλυσης, Μονάδες Επεξεργασίας Υγρών Αποβλήτων Μικρής Κλίμακας", Πορταριά Πηλίου 8-9/04/2006, Πρακτικά συνεδρίου
3. Βαβίζος Γ., 1995, "Βιολογικός Καθαρισμός", Γ΄ Έκδοση, ΕΛΚΕΠΑ, Αθήνα.
4. Μαρκαντωνάτος Γ., 1990, "Επεξεργασία και διάθεση υγρών αποβλήτων. Αστικά λύματα, βιομηχανικά απόβλητα, ζωϊκά απορρίμματα", Β΄ Έκδοση, Αθήνα.