

Μικροβιακοί Περιβαλλοντικοί Δείκτες

Μικροβιακοί Περιβαλλοντικοί δείκτες

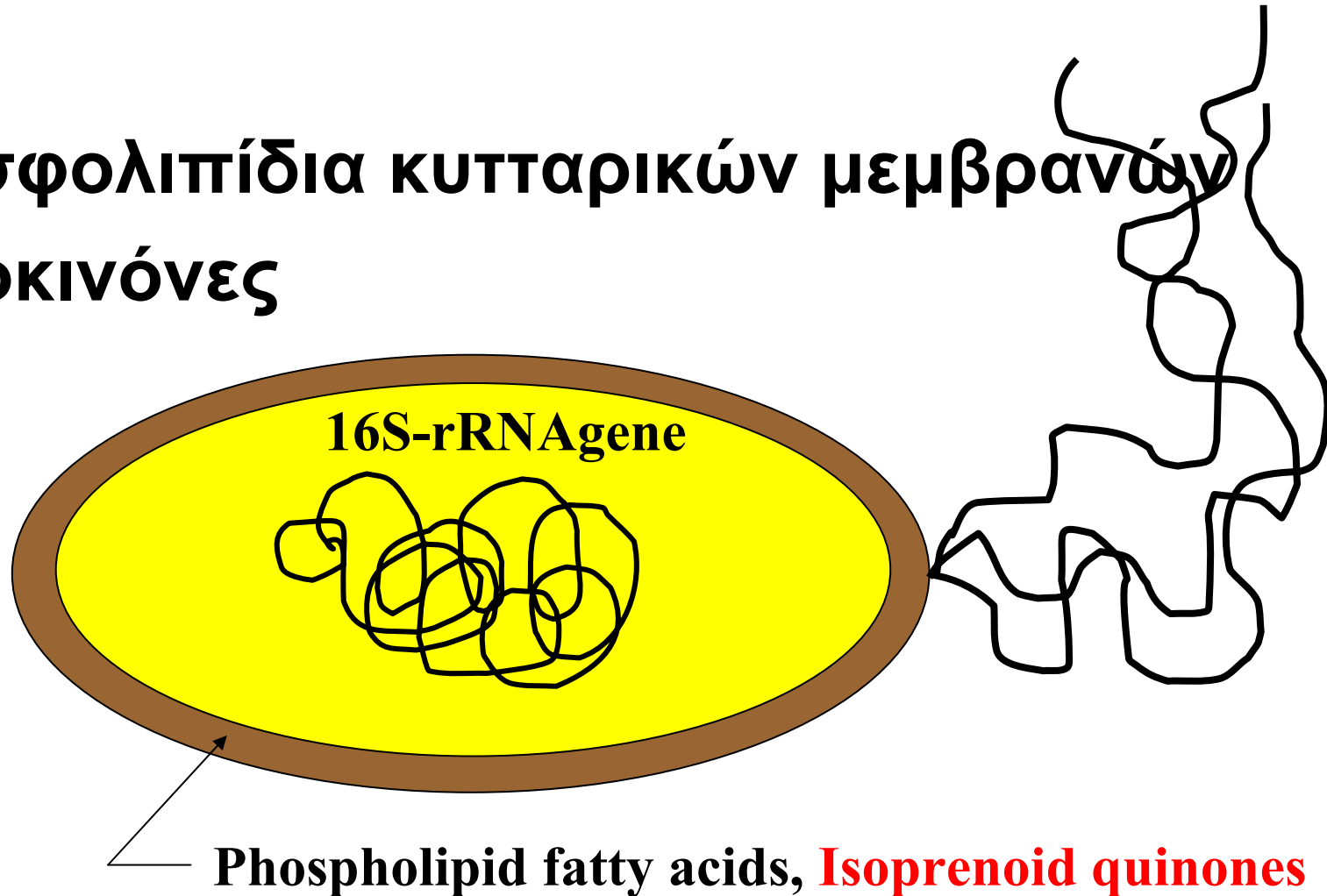
Παλαιότερα για τον προσδιορισμό της μικροβιακής 'υγείας' ή δραστηριότητας εδάφους, νερού, ιζήματος χρησιμοποιούνταν συνήθως μικροβιακές μέθοδοι καλλιέργειας σε εκλεκτικά υποστρώματα (**Πρόβλημα....μόνο 1-5% των μικροοργανισμών μπορούν να καλλιεργηθούν σε μικροβιολογικά υποστρώματα**)

Μικροβιακοί Περιβαλλοντικοί βιοδείκτες

Με την βοήθεια της μοριακής βιολογίας έχει καταστεί δυνατή η μελέτη της “μικροβιακής υγείας” χωρίς να είναι απαραίτητη η καλλιέργεια των μικροοργανισμών σε τριβλίο, αλλά με την ανίχνευση και **μελέτη μορίων-βιοδεικτών**.....

Μικροβιακοί Περιβαλλοντικοί Βιοδείκτες

- DNA
- RNA
- **Φωσφολιπίδια κυτταρικών μεμβρανών**
- **Λιποκινόνες**



Κριτήρια για ένα καλό μικροβιακό περιβαλλοντικό βιοδείκτη

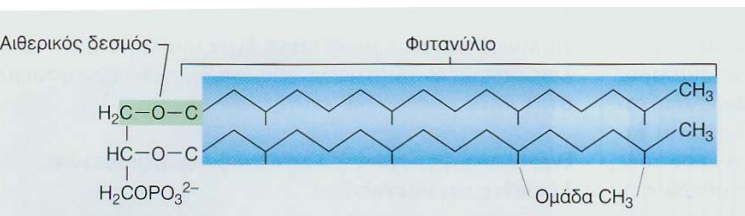
- Το μητρικό μόριο να αποτελεί κοινό συστατικό όλων των μικροοργανισμών
- Παρουσία σε σταθερές ποσότητες σε όλα τα κύτταρα
- Η ποσότητα αυτή να μην μεταβάλλεται με τις συνθήκες ανάπτυξης ή περιβάλλοντος (RNA, Φωσφολιπίδια ?)
- Άμεση μετατροπή σε άλλες μορφές με τον θάνατο του μικροοργανισμού (DNA ?)

Τα φωσφολιπίδια ως **βιοδείκτες**
της μικροβιακής κοινότητας
εδαφών, ιζημάτων και υδατικών
συστημάτων

Τι είναι τα φωσφολιπίδια;

Βασικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών των περισσότερων γνωστών μικροοργανισμών όπως βακτήρια, μύκητες, ακτινοβακτήρια, πρωτόζωα κ.α.

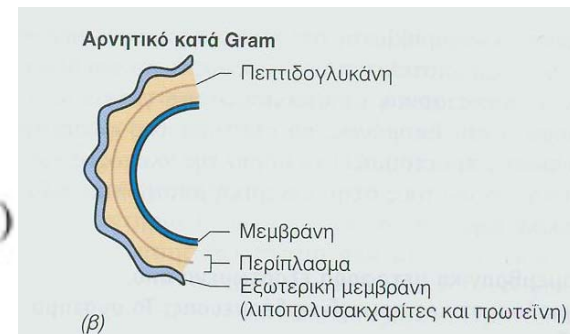
Ποια είναι τα συστατικά λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών



Alkyl ether lipids
(Archae bacteria)

LIPID

LPS Lipid A
Hydroxy fatty acid
(gram-negative bacteria)

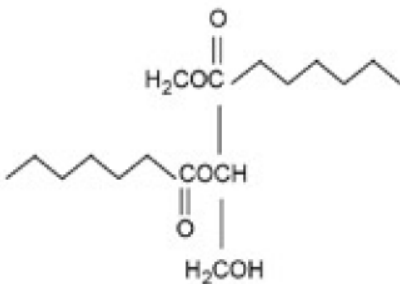


NEUTRAL LIPIDS

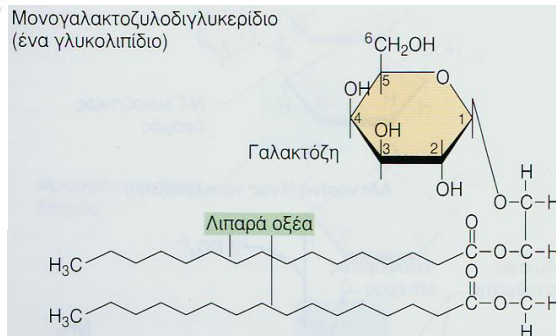
GLYCOLIPID
PHA

(unbalanced growth)

POLAR LIPIDS
PLFA

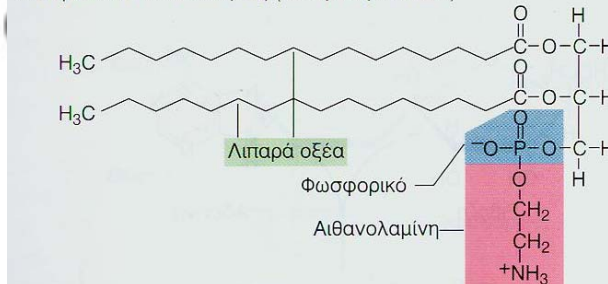


Μονογαλακτοζυλοδιγλυκερίδιο
(ένα γλυκολιπίδιο)



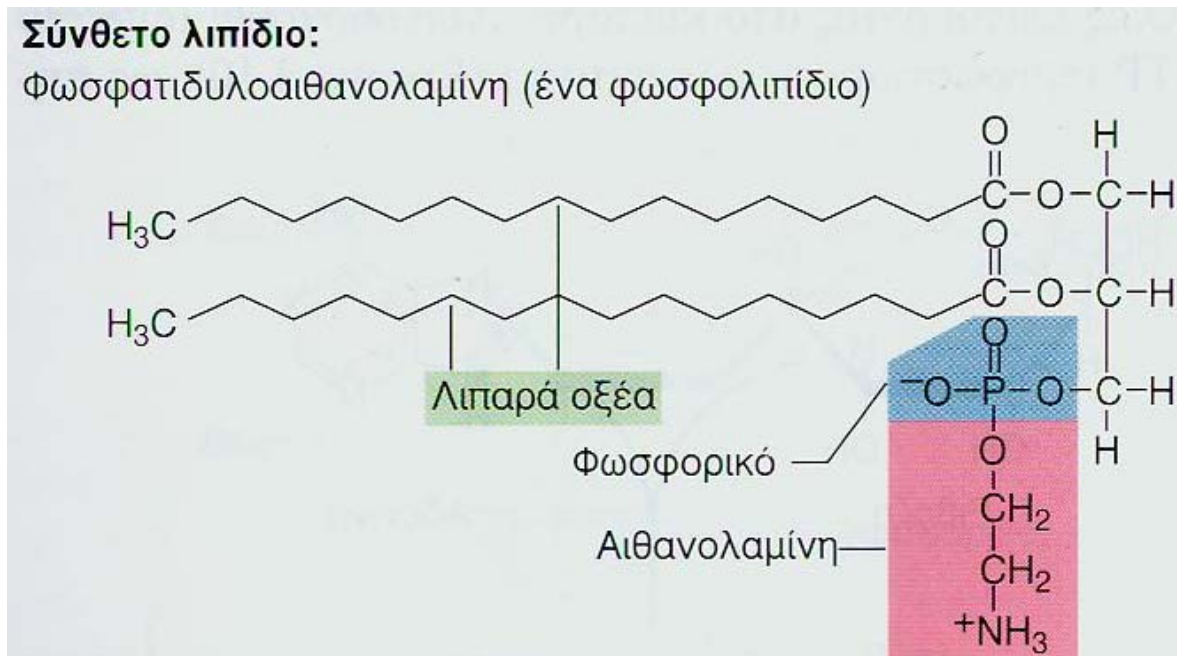
Σύνθετο λιπίδιο:

Φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (ένα φωσfolιπίδιο)

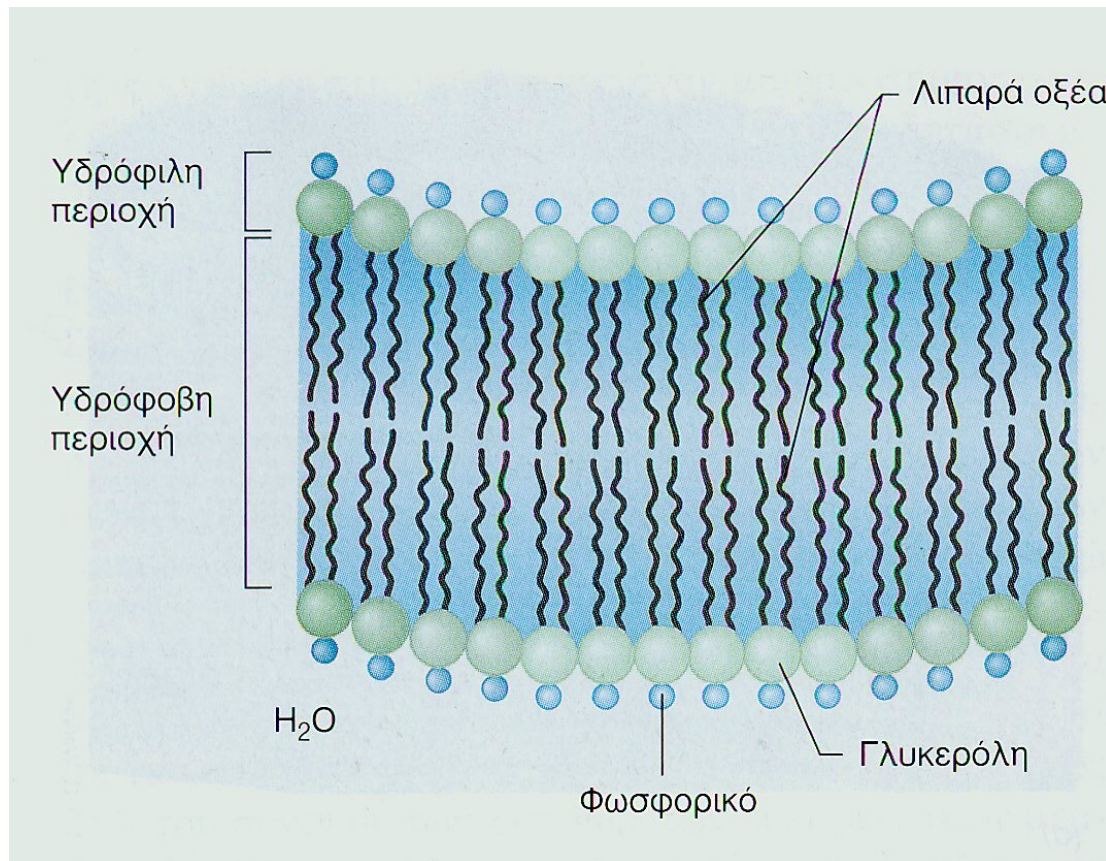


Τι είναι τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών;

Αμφιπαθητικά μόρια που αποτελούνται από ένα υδρόφοβο τμήμα (λιπαρό οξύ) και ένα πολικό, υδρόφιλο τμήμα γλυκερόλη – φωσφορικό



Σε υδατικό περιβάλλον τα φωσfolιπίδια σχηματίζουν αυτή την μορφή διπλοστιβάδας με τις υδρόφοβες περιοχές προς το εσωτερικό και τις υδρόφιλες περιοχές προς το εξωτερικό



Τα PLFAs του εδάφους ως βιοδείκτες

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες μεταβολών στην σύσταση και δομή της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους ως αποτέλεσμα εξωγενών καταπονήσεων, αγροτικών πρακτικών ή κλιματολογικών συνθηκών

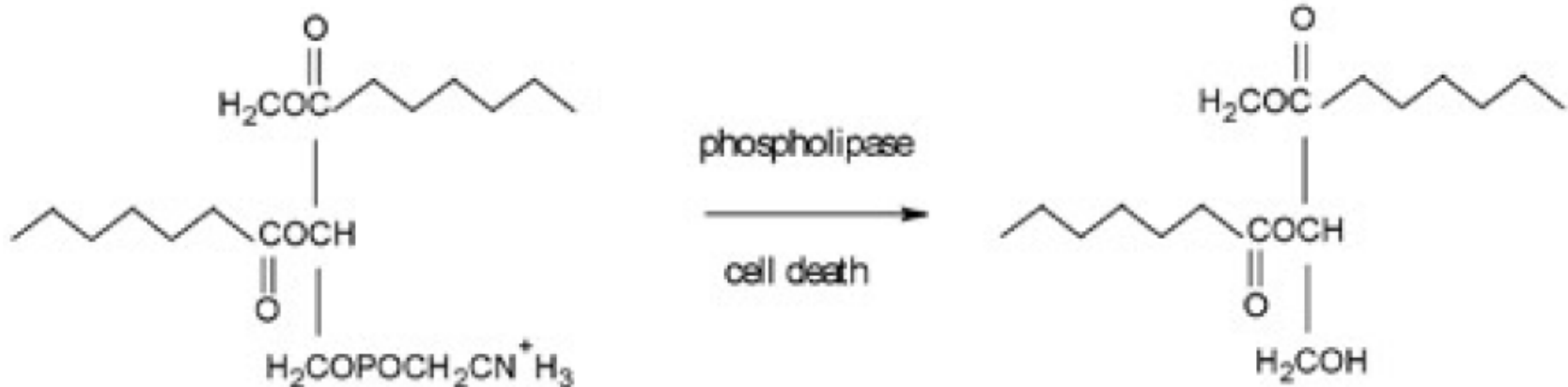
Γιατί τα PLFAs είναι αξιόπιστοι βιοδείκτες;

- Βρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες όλων των ζωντανών οργανισμών (τα λιπίδια αποτελούν 5-10% ξ.β. βακτηρίων) και δεν συσσωρεύονται σε όργανα αποθήκευσης των μικροοργανισμών
- Διασπώνται άμεσα σε ουδέτερα λιπίδια μετά τον θάνατο του μικροοργανισμού
- Μπορούν να εκχυλιστούν και να αξιολογηθούν ποσοτικά και ποιοτικά με σύγχρονες αναλυτικές μεθόδους δίνοντας έτσι και ποσοτικά στοιχεία για την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους

Τα φωσφολιπίδια διασπώνται αμέσως μετά τον θάνατο του μικροοργανισμού από ενδογενής φωσφολιπάσες με απομάκρυνση του πολικού φωσφορικού τμήματος προς **διγλυκερίδια**

Viable

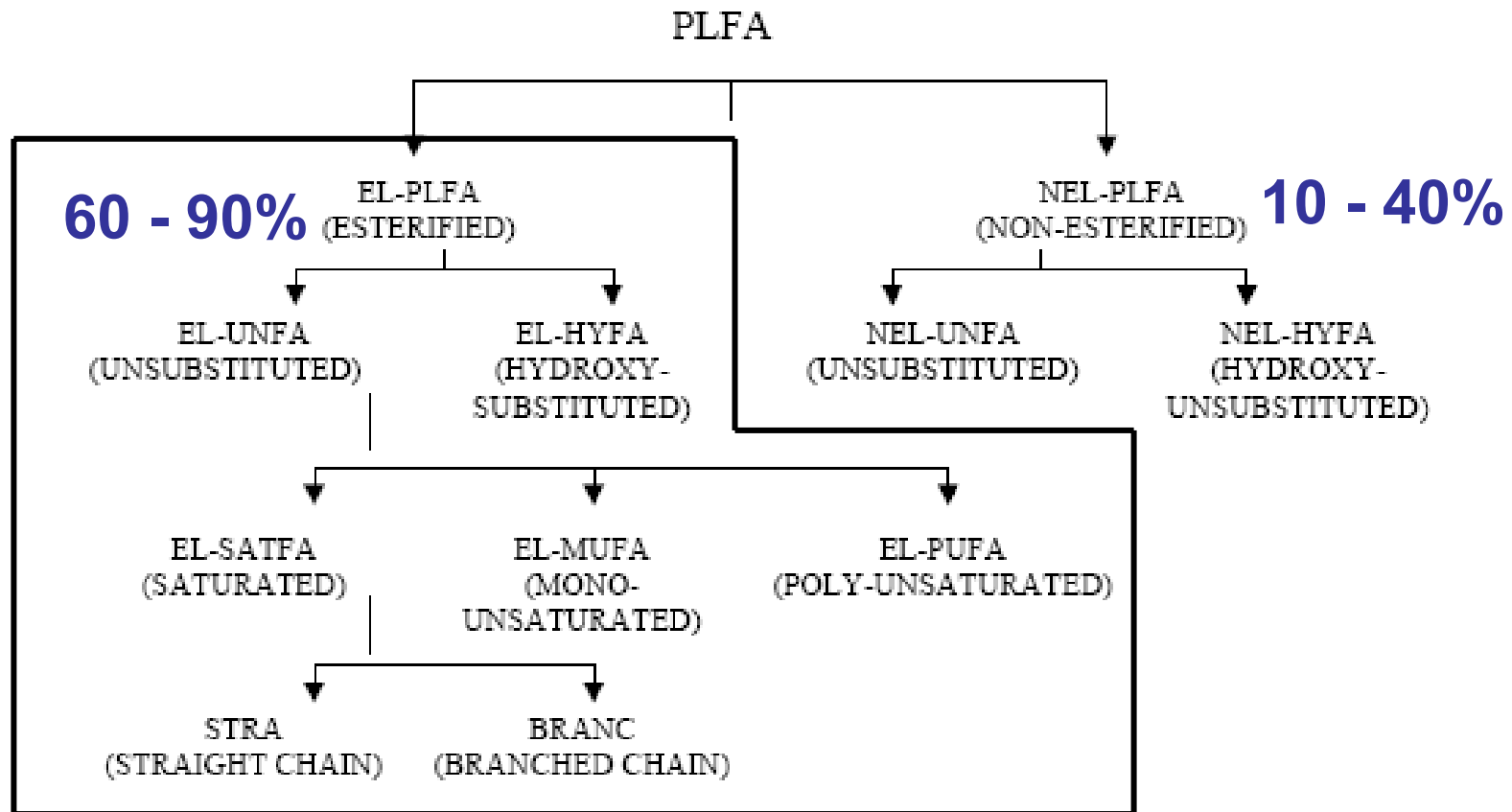
Non-viable



Polar lipid, PLFA

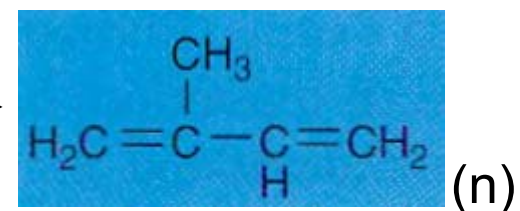
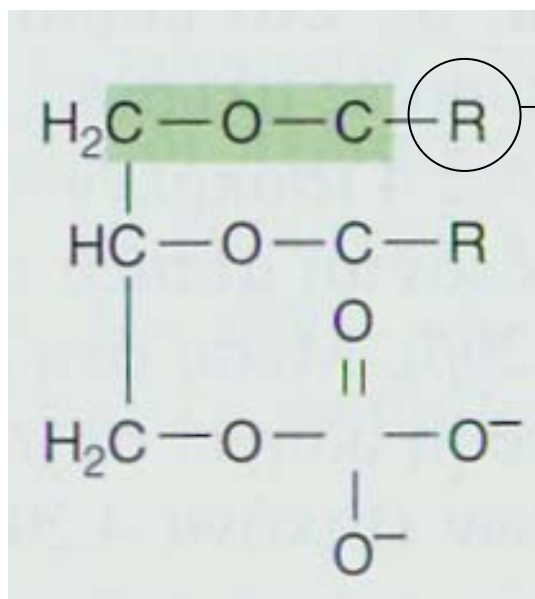
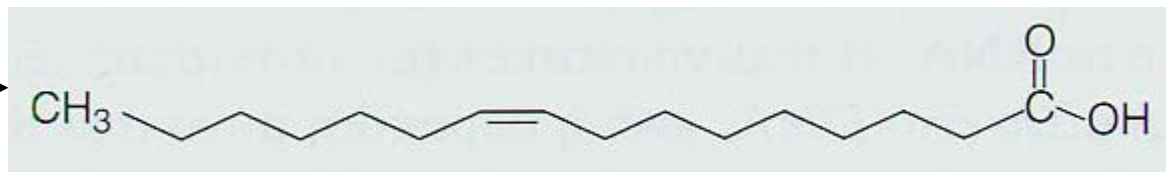
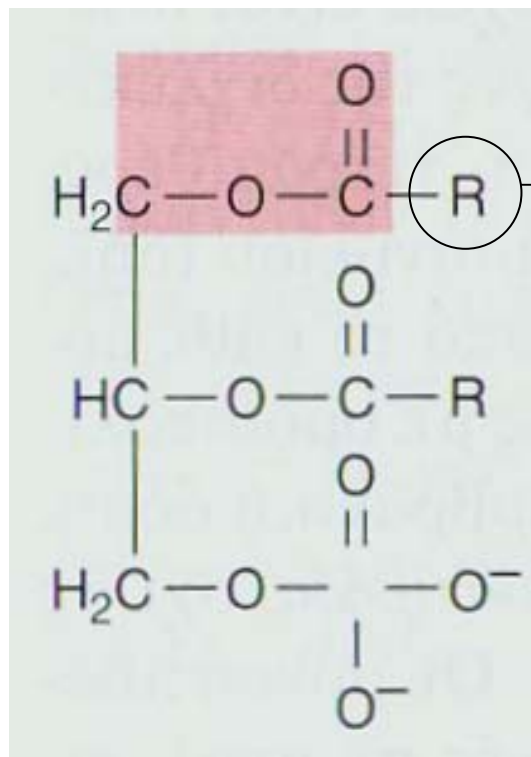
Neutral lipid, DGFA

Τι είδους PLFAs έχουν οι μικροοργανισμοί;



Τα Αρχαία παρουσιάζουν διαφοροποιημένα φωσφολιπίδια στις κυτταρικές μεμβράνες καθώς κατέχουν αιθερικούς (**C-O-C-R**) και όχι εστερικούς (**C-O-C=O**) δεσμούς

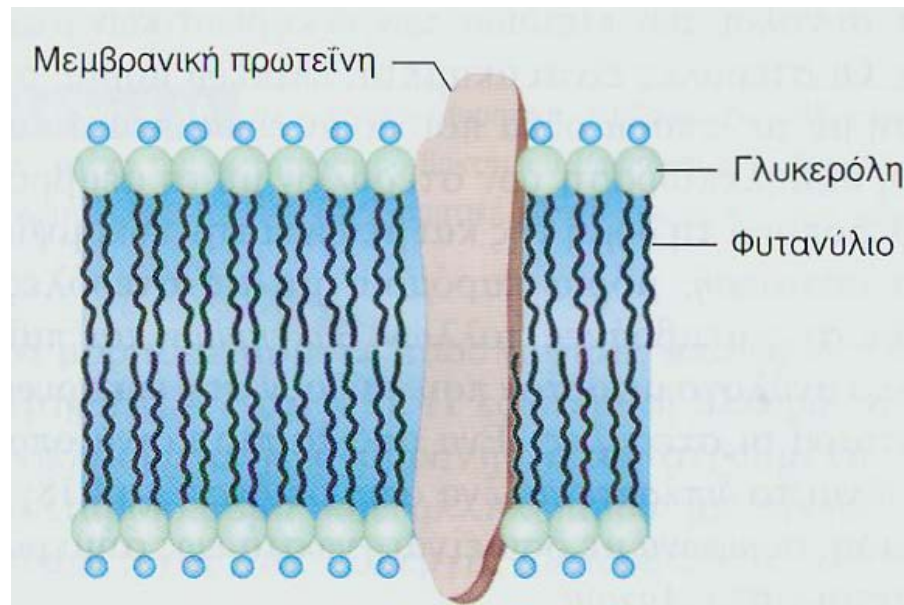
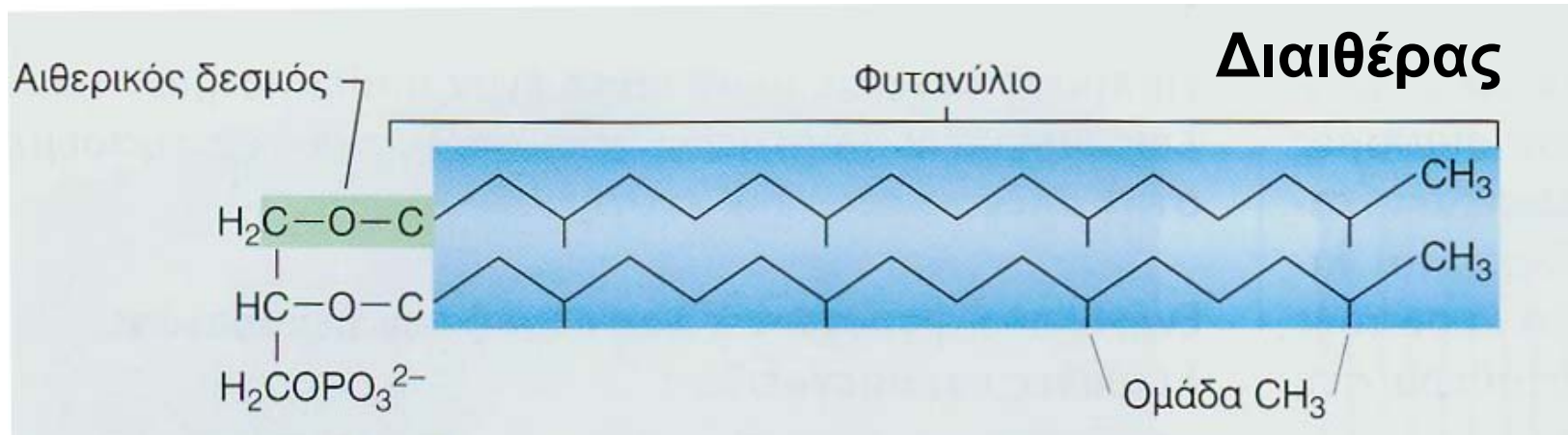
Εστερικός δεσμός των φωσfolιπιδίων σε προκάρυα, ευκάρυα



ισοπρένιο

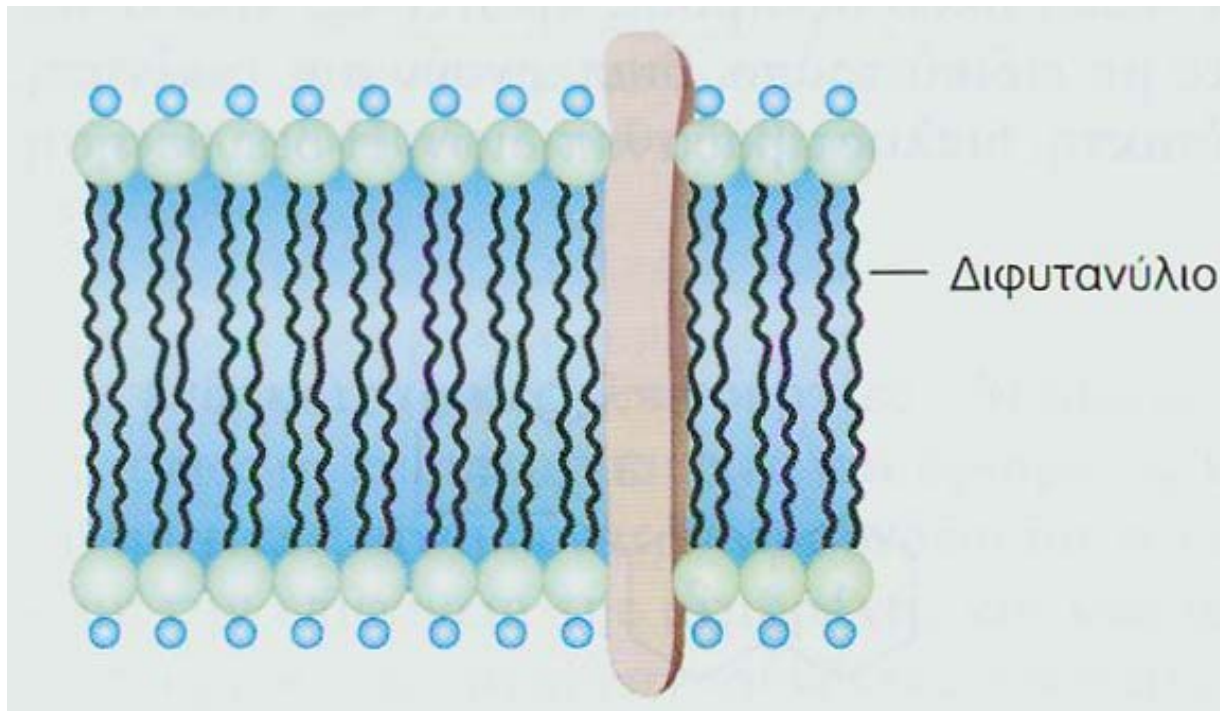
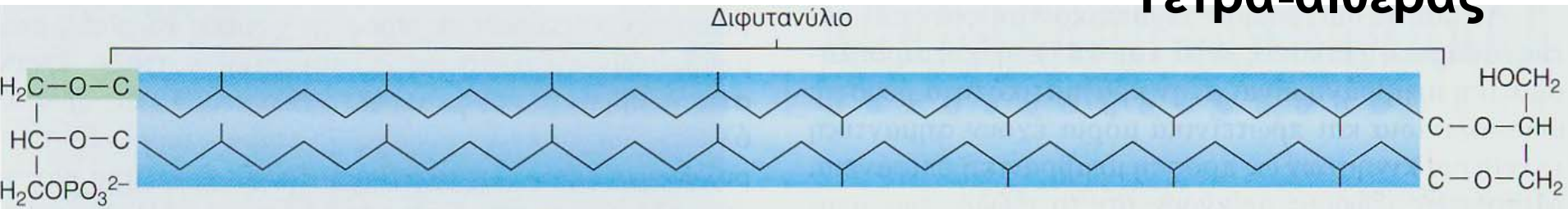
Αιθερικός δεσμός των φωσfolιπιδίων σε Αρχαία

Δομή φωσφολιπιδίων στα Αρχαία



Δομή φωσφολιπιδίων στα Αρχαία II

Τετρα-αιθέρας



Πως εκχυλίζουμε τα
φωσφολιπίδια από
περιβαλλοντικά δείγματα –
Ανάλυση και ποσοτικός –
ποιοτικός προσδιορισμός

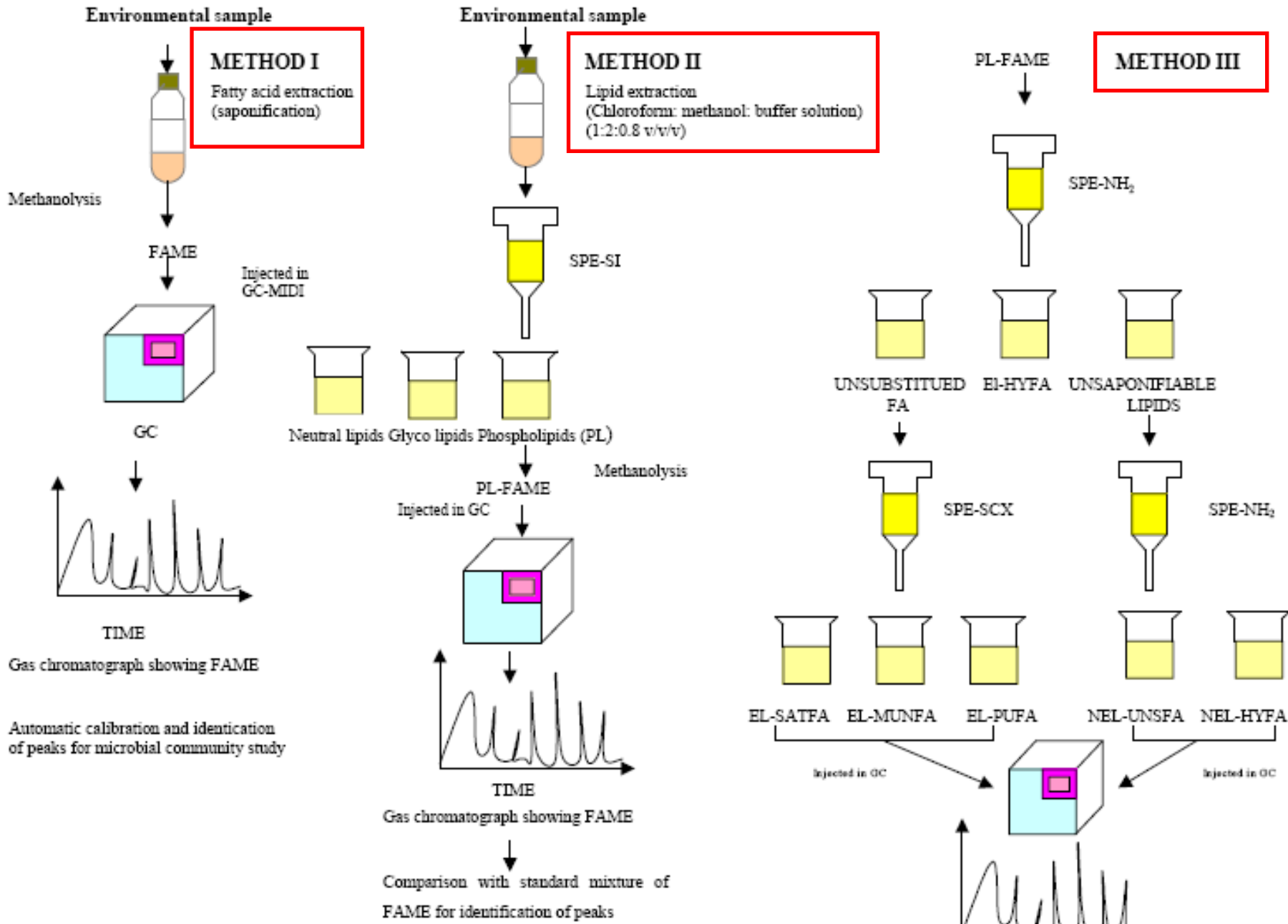
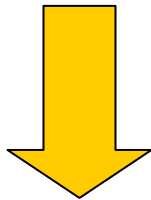
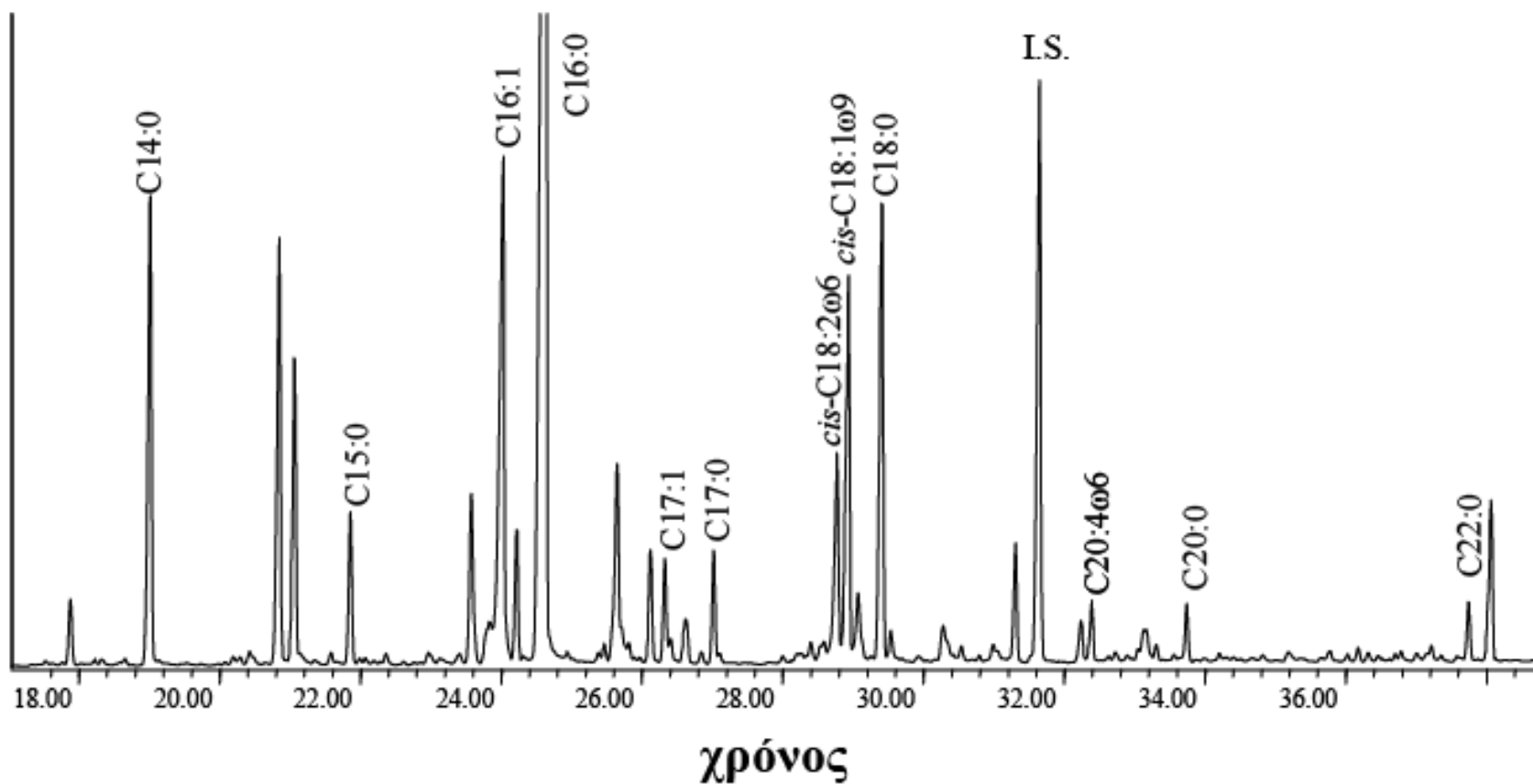


Figure 3. Flow chart for extraction and detection of phospholipid fatty acids using different methods. SPE-SI, Solid-phase-extraction silicic acid bonded phase column; SPE-NH₂, Aminopropyl bonded SPE column; SPE-SCX, Benzenesulphonic-acid bonded SPE column.

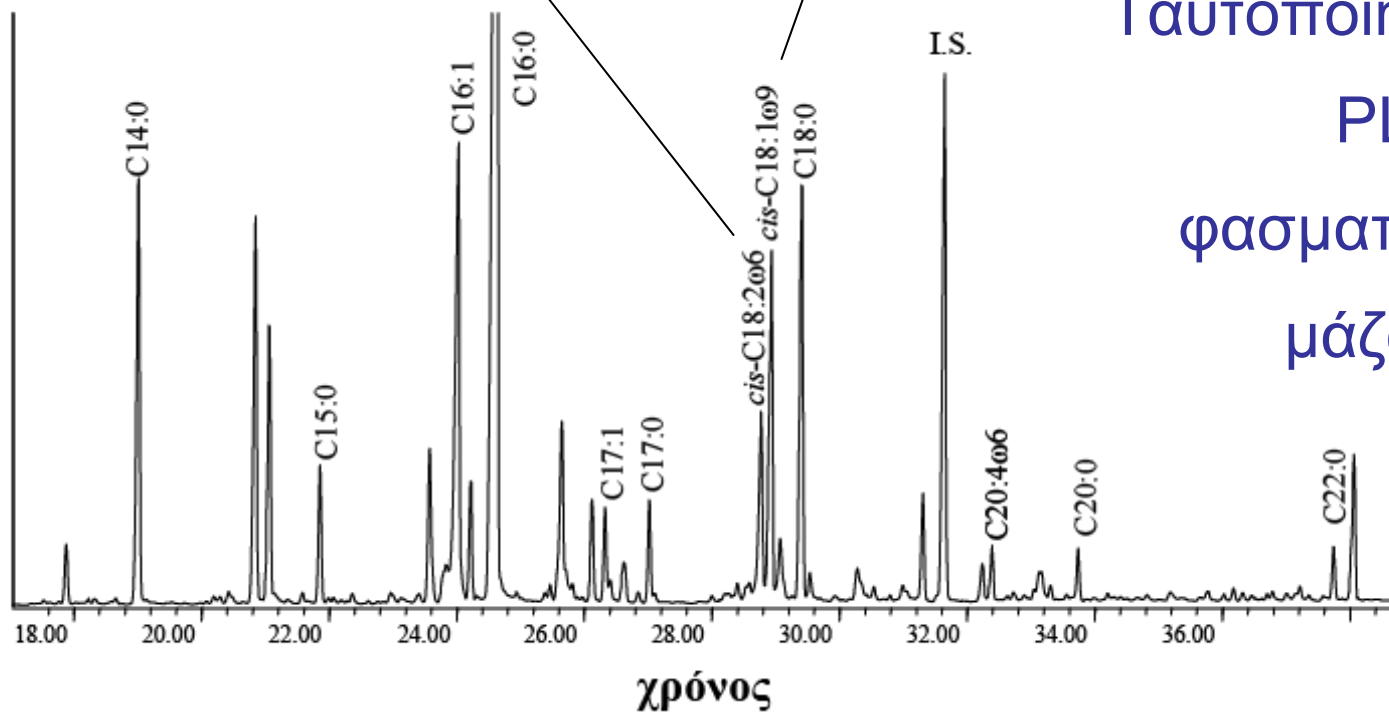
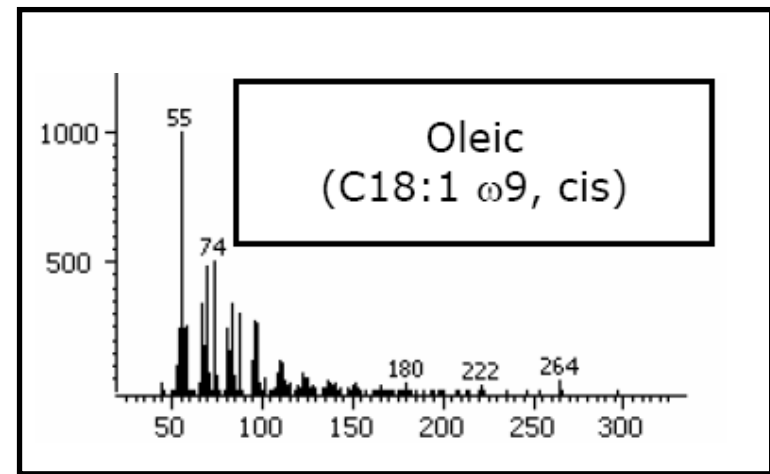
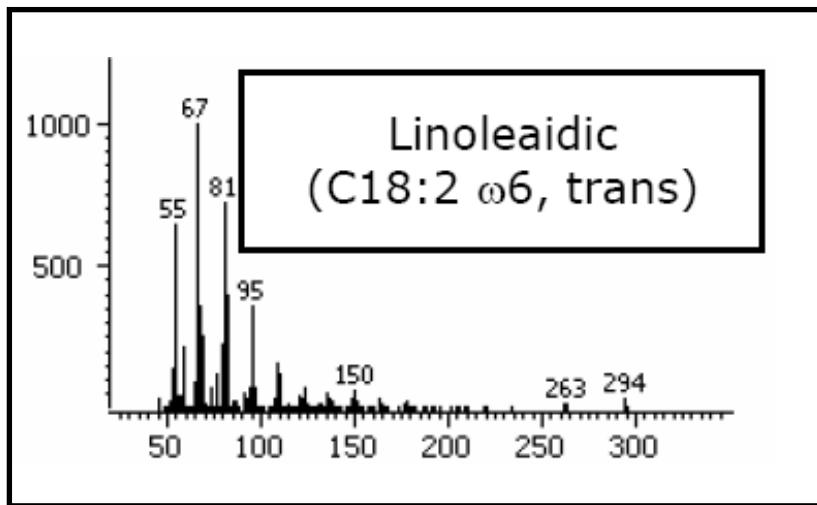
Οι μέθοδοι I (Μέθοδος MIDI) και (Μέθοδος FAME) III οδηγούν σε εκχύλιση όλων των λιπαρών οξέων που περιέχονται σε περιβαλλοντικά δείγματα που μπορεί να είναι και **μη μικροβιακής προέλευσης**



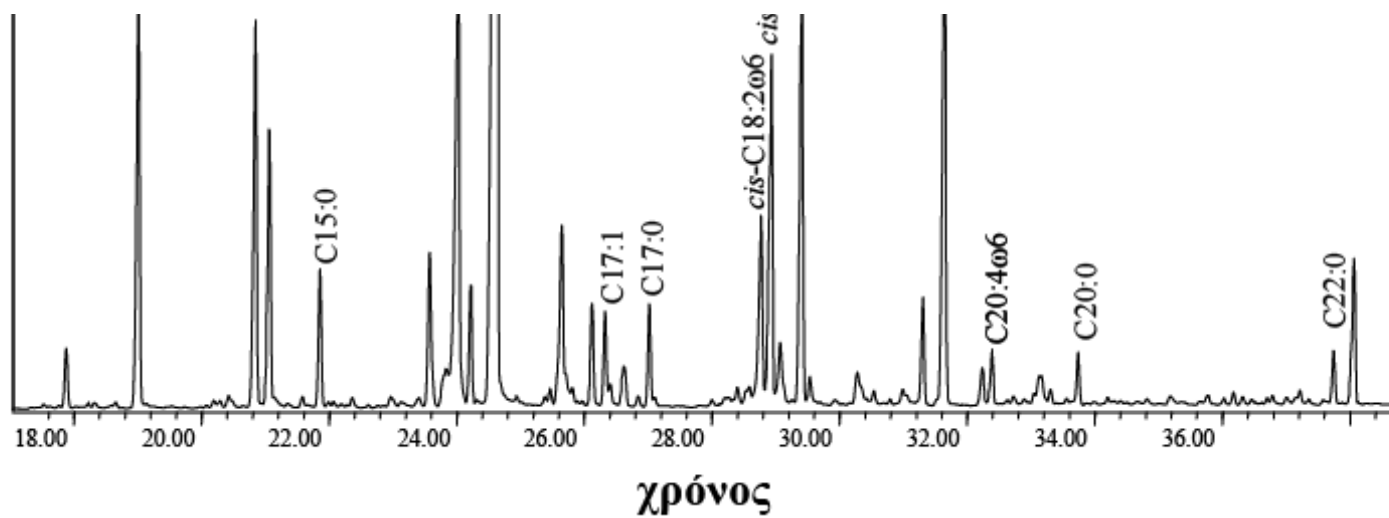
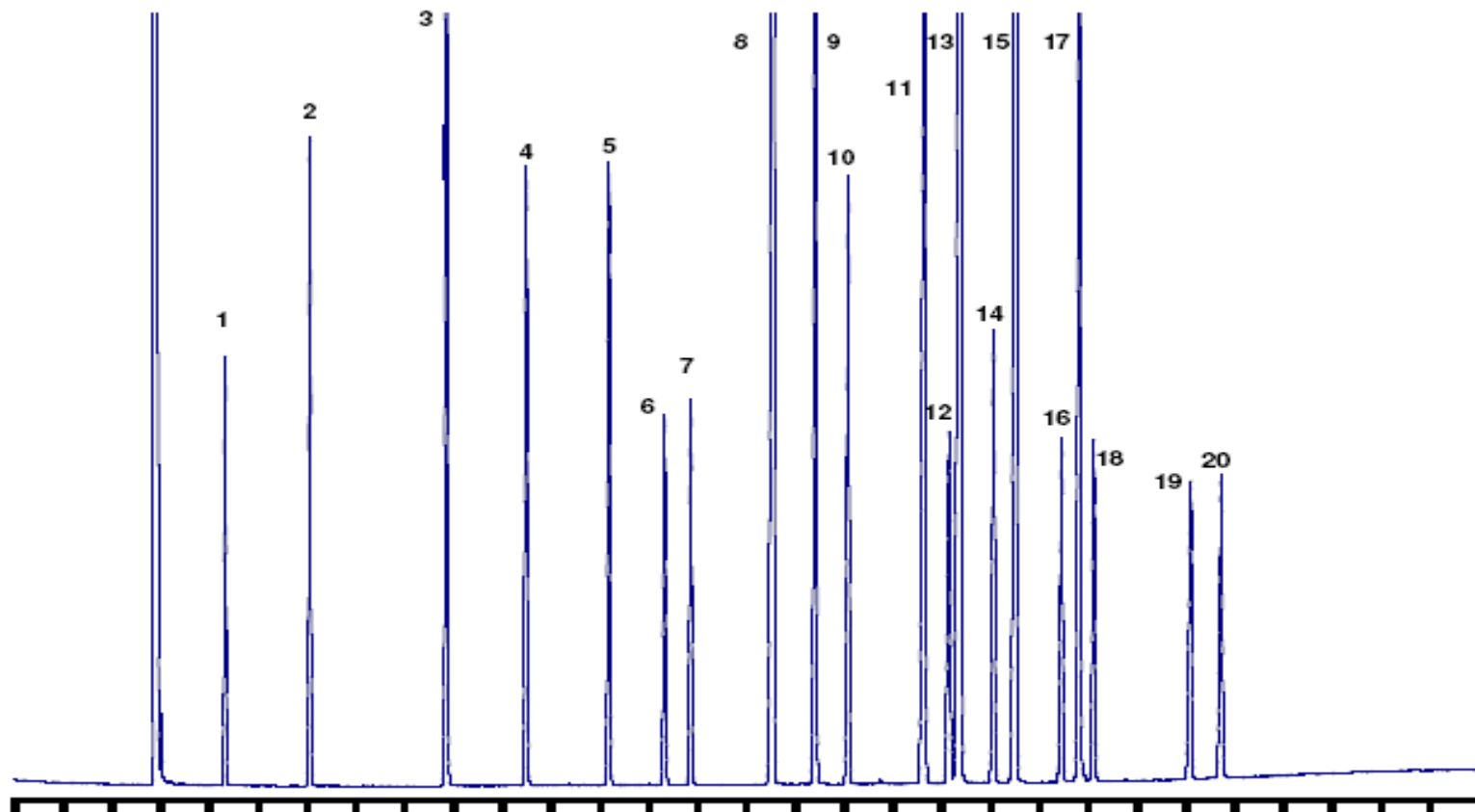
Αποτελεσματικές **(ιδιαίτερα η MIDI)** για ταυτοποίηση μικροοργανισμών σε αμιγής καλλιέργειες αλλά όχι ιδανικές για αξιολόγηση της μικροβιακής κοινότητας σε περιβαλλοντικά δείγματα



Χρωματογράφημα από αέριο χρωματογράφο με ανίχνευση Ιονισμού
Φλόγας (FID) όπου σε 40 min ανιχνεύονται τα σημαντικότερα
φωσφολιπίδια της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους

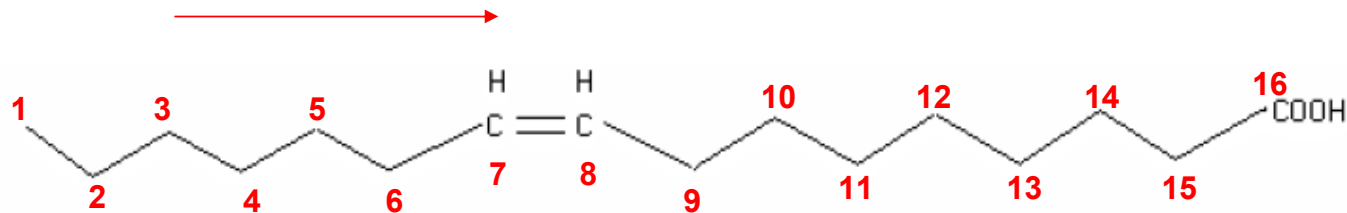


Ταυτοποίηση των
PLFAs με
φασματομετρία
μάζας (MS)

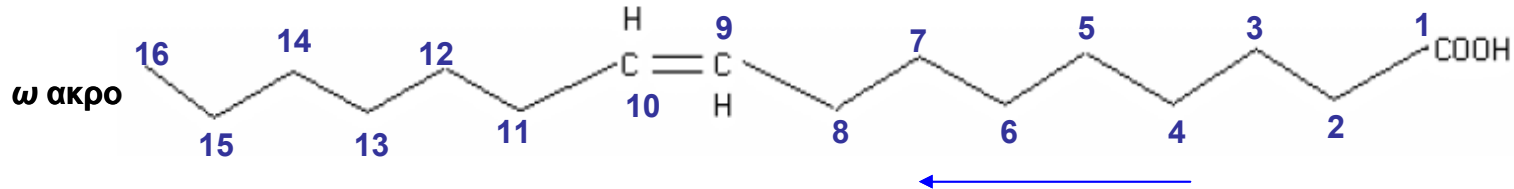


Ονοματολογία PLFAs

16:1 ω 7 cis ή 16:1⁹ cis

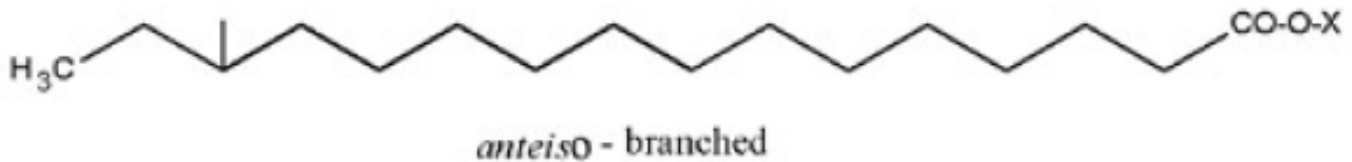
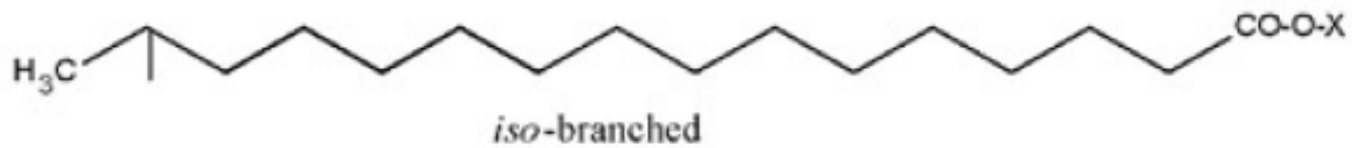


16:1 ω 7 trans ή **16:1⁹ trans**

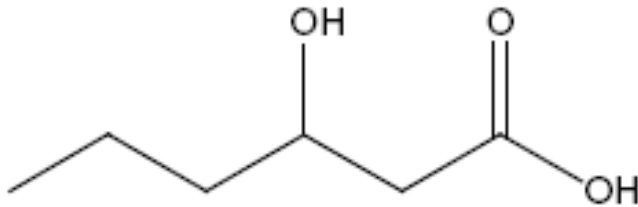


Το ω -άκρο αποτελεί το μεθυλιωμένο άκρο των μεθυλιωμένων εστέρων των λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων

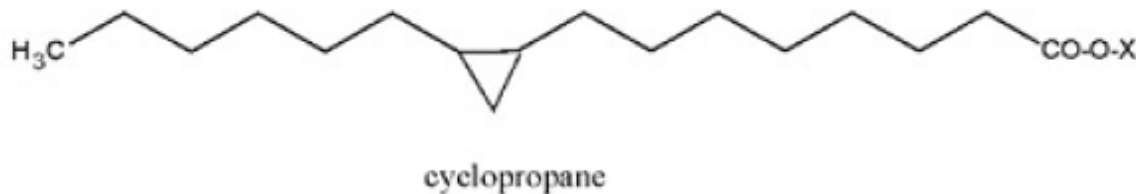
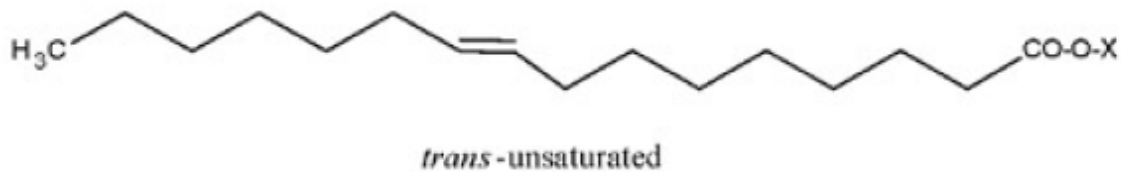
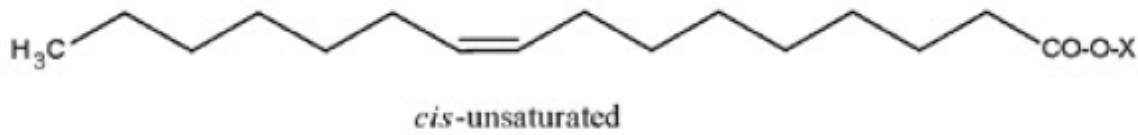
PLFAs-δείκτες για θετικά κατά Gram βακτήρια (Κορεσμένα)



PLFAs - δείκτες για αρνητικά κατά Gram βακτήρια (Μονοακόρεστα)



OH - PLFAs

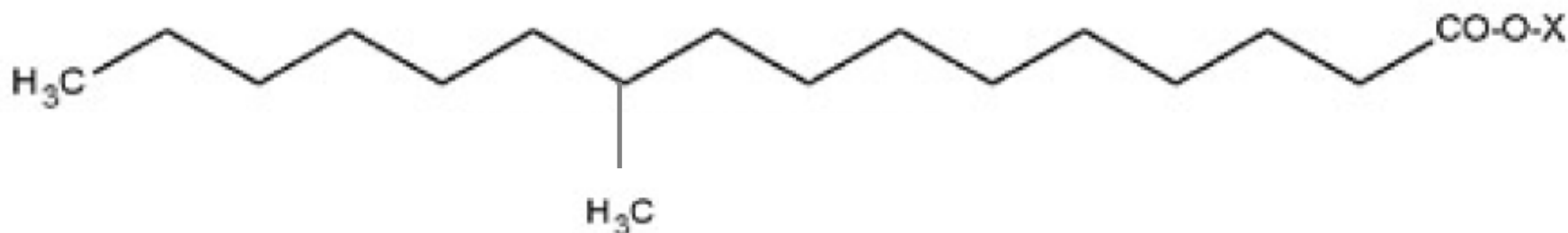


PLFAs - δείκτες για μύκητες (Πολυακόρεστα)

18:2 ω 6,9cis ή trans



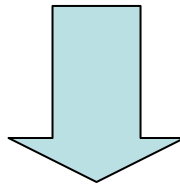
PLFAs - δείκτες για ακτινοβακτήρια (Μεθυλιωμένα)



10Me18:0, 10Me17:0, 10Me16:0

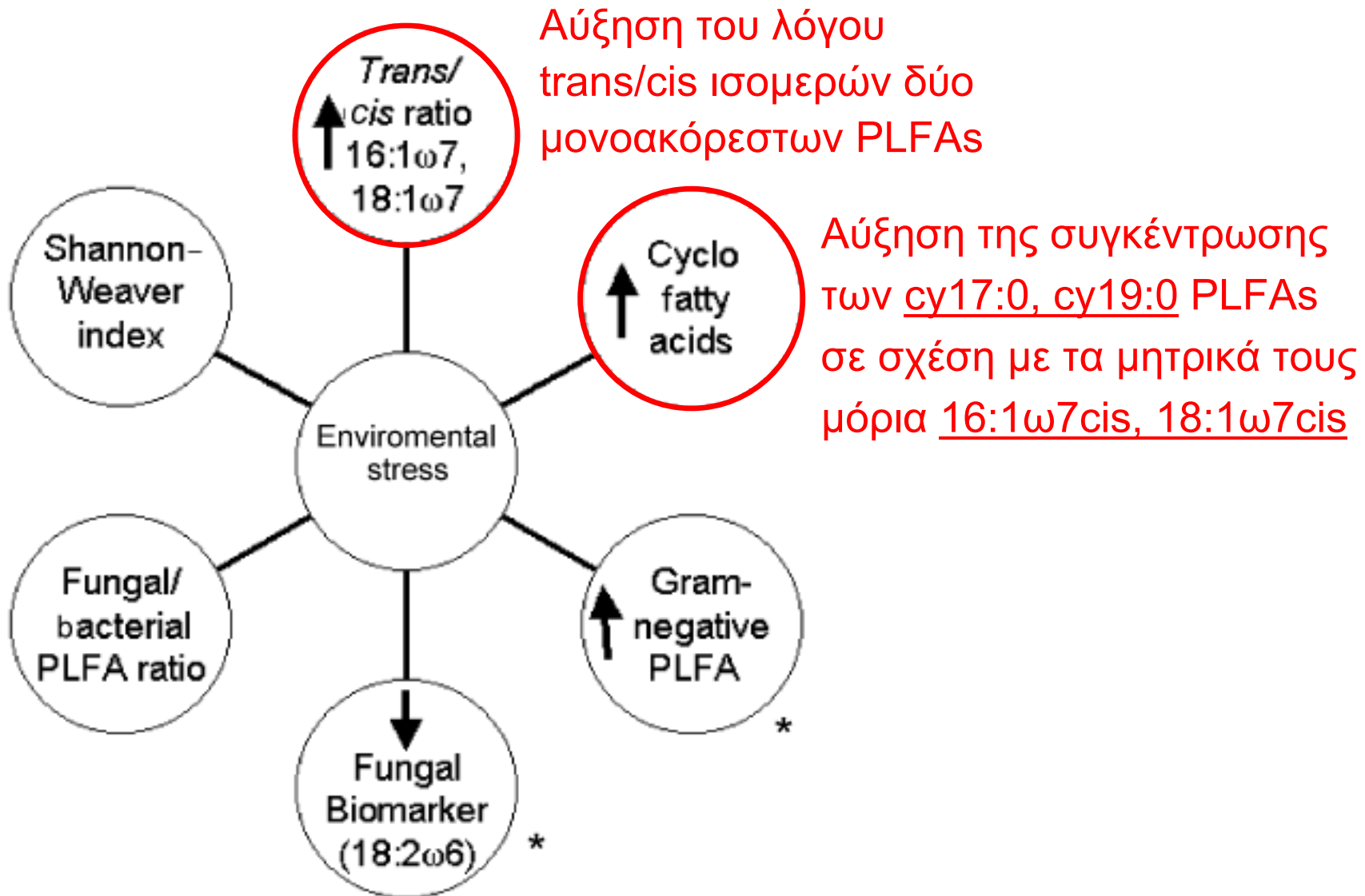
Χρήση των φωσφολιπιδίων ως δείκτες stress της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους

Υψηλές ποσότητες συγκεκριμένων φωσφολιπιδίων έχει αποδειχτεί ότι αποτελούν δείκτες ότι η μικροβιακή κοινότητα, βρίσκεται υπό συνθήκες στρες

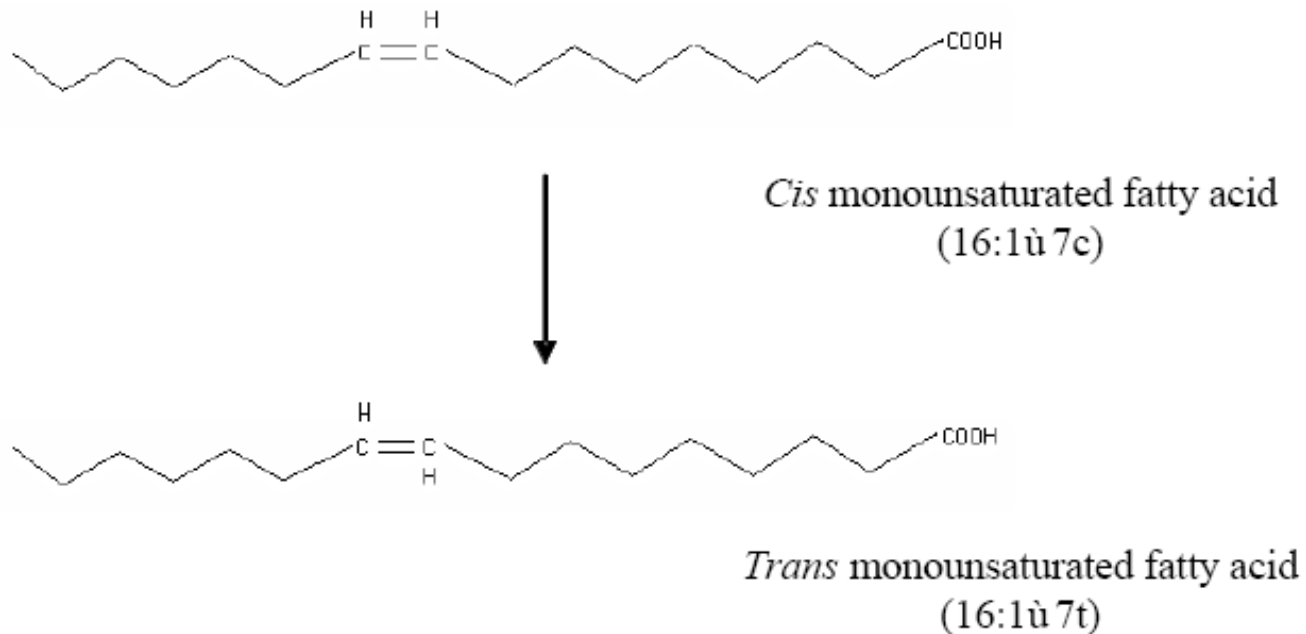


Οι μικροοργανισμοί μεταβάλλουν την σύσταση των φωσφολιπιδίων στις κυτταρικές τους μεμβράνες ώστε να προσαρμόσουν την λειτουργικότητα και ανθεκτικότητα των μεμβρανών στις νέες περιβαλλοντικές συνθήκες

Ποίοι είναι αυτοί οι δείκτες



Ισομερισμός των *cis* ισομερών μονοακόρεστων PLFAs σε *trans* ισομερή I



Οι *trans* μορφές των μονοακόρεστων PLFAs προσδίδουν μειωμένη ρευστότητα σε σχέση με τις *cis* μορφές

Ισομερισμός των cis ισομερών μονοακόρεστων PLFAs σε trans ισομερή II

Εμφανίζεται ως αντίδραση των μικροοργανισμών σε
διάφορες αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες

- αυξημένες θερμοκρασίες
- ωσμωτικό σοκ
- τοξικότητα μετάλλων
- τοξικότητα οργανικών ρύπων και διαλυτών
- έλλειψη θρεπτικών υποστρωμάτων
- χαμηλό pH

Ισομερισμός των cis ισομερών μονοακόρεστων PLFAs σε trans ισομερή II

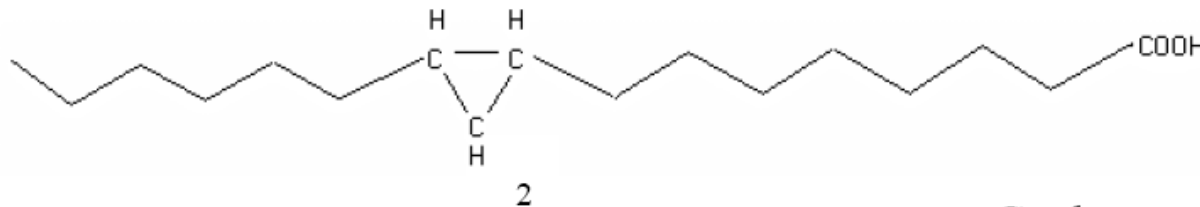
Environmental condition	<i>trans/cis</i> ratio of unsaturated fatty acids (control condition)	<i>trans/cis</i> ratio of unsaturated fatty acids (stressed condition)
High temperature		
(45°C)	0.1	0.4
(165°C)	0.12	0.21
Organic compound toxicity	<0.1	>0.1
Starvation	0.02	1.56
Osmotic stress	0.07	0.12
Low pH	0.1	0.16
	0.07	0.3**
Heavy metal		
Pure culture study		
Zn	<0.1 (control)	0.67 (6.0 mM*)
Cd		0.76 (10.0 mM)
Cr		0.63 (10.0 mM)
Cu		0.28 (8.0 mM)
Field studies		
Zn	0.12 (control)	0.4 (64 mmol)**

Control Condition Ratio <0.1

Μετατροπή μονοακόρεστων PLFAs σε κυκλοπρόπυλο PLFas I



Cis monounsaturated fatty acid
(16:1 n-7)



Cyclopropyl fatty acid (cy17:0)

Μετατροπή μονοακόρεστων PLFAs σε κυκλοπρότυλο PLFas I

- Τα **cy-PLFAs** είναι περισσότερο σταθερά και μεταβολίζονται με μικρότερη ευκολία από τα βακτήρια
- Αυξημένη παρουσία τους στις κυτταρικές μεμβράνες προσδίδει μειωμένη ρευστότητα στις κυτταρικές μεμβράνες
- Αυξάνει την ανθεκτικότητα των μεμβρανών σε οζονόλυση και σε άλλες ήπιες οξειδωτικές αντιδράσεις

Μετατροπή μονοακόρεστων PLFAs σε κυκλοπρότυλο PLFas I

Environmental condition	cy 17 : 0 (%)	cy 19 : 0 (%)
Increase in temperature		
(4.5 to 25°C)	66↑*	150↑
(45 to 165°C)	5↑	28.7↑
Starvation	100↑	390↑
Low pH	NS	33.3↑
Heavy metal		
Zn (64 mmol of Zn kg (dw) of soil ⁻¹)**	66.6↑	NS
Tillage	70↑	86↑
Pesticide	20↑	39.1↑
	30↑	25↑

Υπάρχουν και άλλοι δείκτες που βασίζονται στην μέτρηση των PLFAs

1. Λόγος κορεσμένων (SFA) προς μονοακόρεστα (MUFA)
2. Λόγος δεικτών PLFAs μυκολογικής προέλευσης (PUFA) προς δεικτών PLFAs βακτηριακής προέλευσης (SFA, CFA)

1. Λόγος κορεσμένων (SFA) προς μονοακόρεστα (MUFA)

Τιμές λόγου > 1 χαρακτηρίζουν εδάφη βοσκοτόπων και αγροτικών περιοχών που χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε C και οργανικές εισροές

Τιμές λόγου = 1 χαρακτηρίζουν συνήθως άλλα καλλιεργούμενα εδάφη

Τιμές λόγου < 1 χαρακτηρίζουν εδάφη με χαμηλή περιεκτικότητα σε οργανικά υποστρώματα και οργανικές εισροές

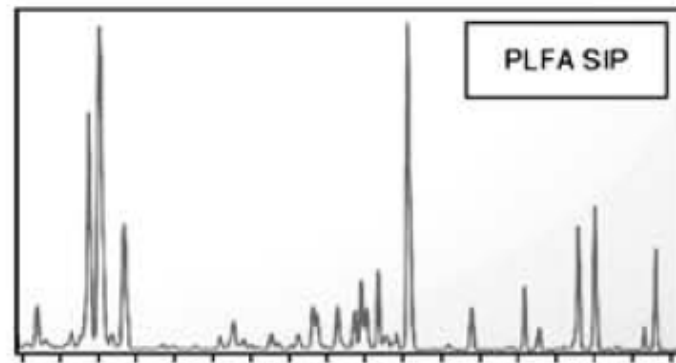
2.Λόγος δεικτών PLFAs μυκολογικής προέλευσης (PUFA) προς δεικτών PLFAs βακτηριακής προέλευσης (SFA, CFA)

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένδειξη ισορροπίας της
μικροβιακής κοινότητας σε αντίδραση της παρουσίας
στρεσογόνων παραγόντων όπως ακραίες εδαφοκλιματικές
συνθήκες ή παρουσία οργανικών ή ανόργανων ρύπων

Γενικά χαμηλές τιμές του συγκεκριμένου λόγου δείχνουν
αστάθεια της μικροβιακής κοινότητας και συνήθως μειωμένη
ικανότητα αποσύνθεσης της οργανικής ουσίας

Μελλοντικές Χρήσεις PLFAs I

Συνδυάζοντας την μέθοδο της **Σήμανσης Σταθερών**
Isotope Probing με την **PLFA**, θα μπορούσαμε να
δυναμώσουμε την ανάλυση της λειτουργικότητας των
δραστικών μικροοργανισμών.



- Ανάλυση της λειτουργικότητας των μικροοργανισμών που καταναλώνουν $^{13}\text{CH}_4$
- Ανάλυση της λειτουργικότητας των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν για την ενεργειακή τους ανάγκη διάφορους τύπους οργανικών ενώσεων (π.χ. αμινοξέα, σακχάρια, οργανικά οξέα, κ.λπ.)
- Ανάλυση της λειτουργικότητας των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν για την ενεργειακή τους ανάγκη διάφορους τύπους οργανικών ενώσεων (π.χ. αμινοξέα, σακχάρια, οργανικά οξέα, κ.λπ.)
- Ανάλυση της λειτουργικότητας των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν για την ενεργειακή τους ανάγκη διάφορους τύπους οργανικών ενώσεων (π.χ. αμινοξέα, σακχάρια, οργανικά οξέα, κ.λπ.)



Μελλοντικές Χρήσεις PLFAs II

Χρήση σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους αποτύπωσης της μικροβιακής κοινότητας όπως DGGE, T-RFLP, ARISA (DNA-, RNA-methods) που μπορούν να παρέχουν λεπτομερείς φυλογενετικές πληροφορίες

Αντίθετα, η μέθοδος PLFAs παρέχει ακριβή εικόνα πιθανών μεταβολών στην σύσταση της μικροβιακής κοινότητας χωρίς όμως πιο λεπτομερή μελέτη των συγκεκριμένων μικροοργανισμών που επηρεάζονται από την εφαρμογή κάποιου στρεσογόνου

Μειονεκτήματα PLFAs ως βιοδείκτες

- Ορισμένα PLFAs που θεωρούνται δείκτες για συγκεκριμένες ομάδες μικροοργανισμών περιέχονται σε σημαντικές ποσότητες και σε μικροοργανισμούς άλλων ομάδων
- Δύσκολος ο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός των PLFAs που ανιχνεύτηκαν σε περιβαλλοντικά δείγματα (π.χ. Υποθέτουμε ότι ο ανιχνευτής του GC παρουσιάζει όμοια ευαισθησία για όλα τα PLFAs!!!)
- Παρέχει πληροφορίες για την μικροβιακή κοινότητα σε επίπεδο ομάδας μικροοργανισμών και όχι σε επίπεδο είδους ή γένους (όπως DNA, RNA-PCR methods)

Fatty acid ^b	<i>Coryne- bacterium</i> sp. strain 5	<i>Pseudo- monas</i> sp. strain 14	<i>Arthro- bacter</i> sp. strain 42	<i>Cytophaga</i> sp. strain 72	<i>Bacillus</i> sp. strain 81	<i>Bacillus</i> sp. strain 94
10:0 3-OH						
12:0	2.41					
12:0 2-OH						
12:0 3-OH						
13:0i				0.30		
14:0	9.28	4.19	1.67	1.64		3.14
14:0i			1.01		2.90	4.15
14:0 2-OH						
15:0	2.12			5.04		
15:0i			2.46	28.15	51.16	7.07
15:0a			72.10	3.44	10.05	68.59
15:0 2-OH				0.4		
15:0i 3-OH				6.92		
15:0i 2-OH or 16:1 ω7 ^c	12.75					
16:0	26.76	19.87	3.43	17.58	1.07	5.86
16:0i			3.65	0.81	10.05	2.37
16:0 3-OH				8.43		
16:0i 3-OH				1.12		
16:1 ω7c		25.18	2.79	14.79		
16:1 ω7c alc					11.44	2.06
16:1 ω11c					1.49	4.56
17:0i				1.12	4.67	
17:0a			9.81		2.92	2.20
17:0 2-OH				0.50		
17:0i 3-OH						
17:0 cyclo						
<i>Iso</i> -17:1 ω9c				1.56		
<i>Ante</i> -17:1 ω9c			2.33			
18:0	2.46	1.73				
18:1 ω9c	34.75					
18:0 10 Me	7.73					
18:1 ω7c, ω9t, or ω12t ^c		39.97				

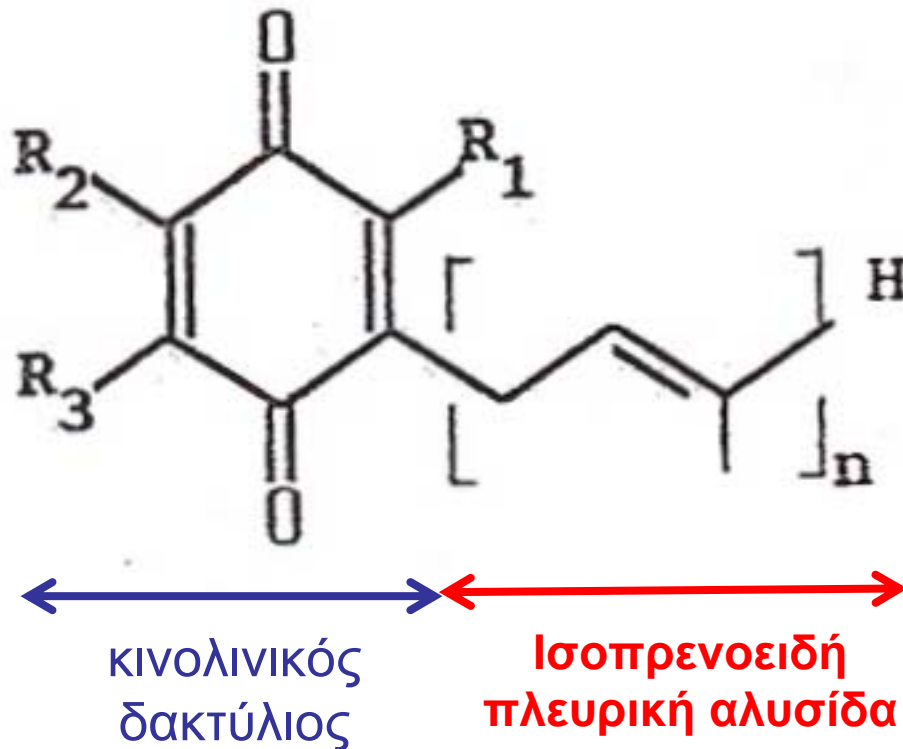
Cytophaga sp. που
είναι αρνητικά κατά
gram βακτήρια
περιέχουν σε υψηλές
ποσότητες PLFAs
που θεωρούνται
δείκτες άλλων
ομάδων
μικροοργανισμών

- 15:0i

Αναπνευστικές Λιποκινόνες –
Χρήση τους ως βιοδείκτες για την
μικροβιακή κατάσταση του
περιβάλλοντος

Τι είναι οι αναπνευστικές λιποκινόνες

Αποτελούν απαραίτητους φορείς ηλεκτρονίων στους μηχανισμούς αναπνοής όλων των μικροοργανισμών



ΛΙΠΟΚΙΝΟΝΕΣ – Γιατί Βιοδείκτες;

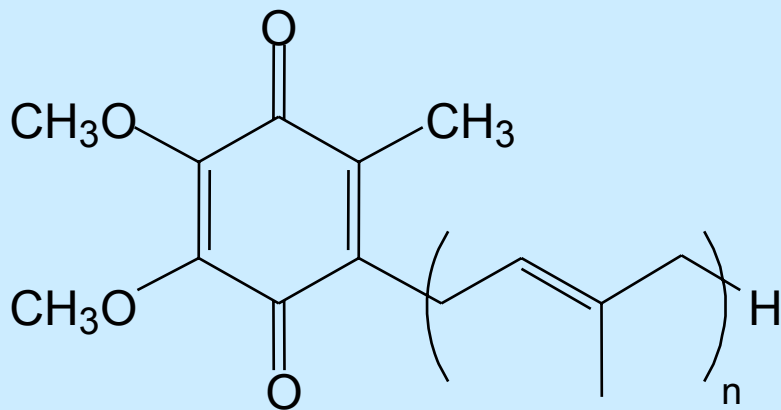
- Όλοι οι αεροβικοί και μερικοί αναεροβικοί μικροοργανισμοί κατέχουν αναπνευστικές λιποκινόνες
- Συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί παράγουν σε υψηλές ποσότητες μια συνήθως μορφή λιποκινόνης – δείκτη
- Η συνολική ποσότητα λιποκινονών έχει βρεθεί ότι είναι ανάλογη της συνολικής βιομάζας του εδάφους
- Μπορούν να προσδιοριστούν ποιοτικά και ποσοτικά με Υγρή Χρωματογραφία (HPLC)

Κατηγορίες αναπνευστικών λιποκινονών

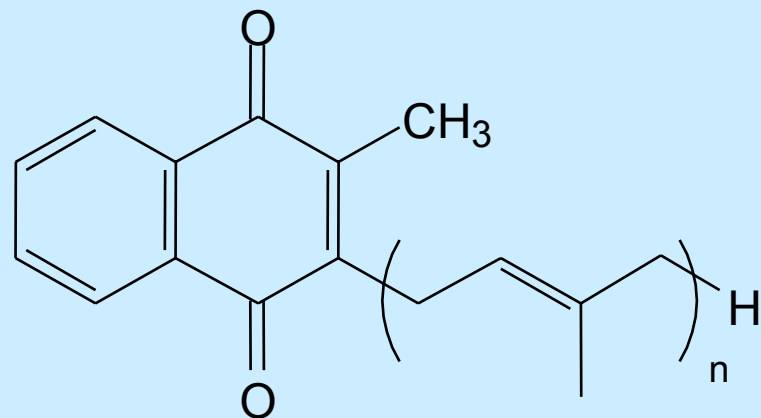
➤ Μενακινόνες (Ναφθοκινόνες)

➤ Ουμπικινόνες (Βενζοκινόνες)

➤ Βενζοθειοφαινοκινόνες



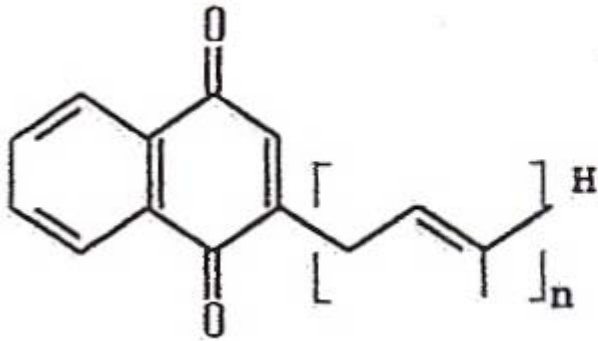
Ubiquinones
(Q-n)



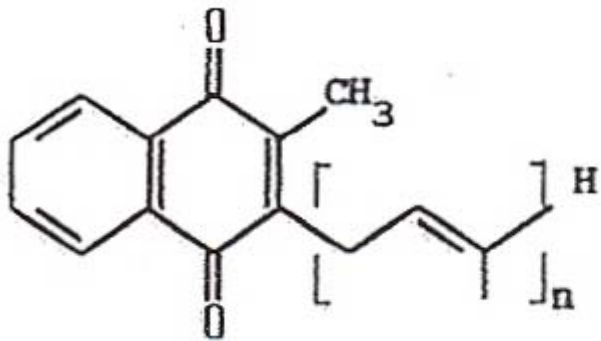
Menaquinones
(Mk n)

Μενακινόνες

Αποτελούν τις πιο συχνά απαντούμενες λιποκινόνες στα βακτήρια



Demethyl-menaquinone (DMK-n)



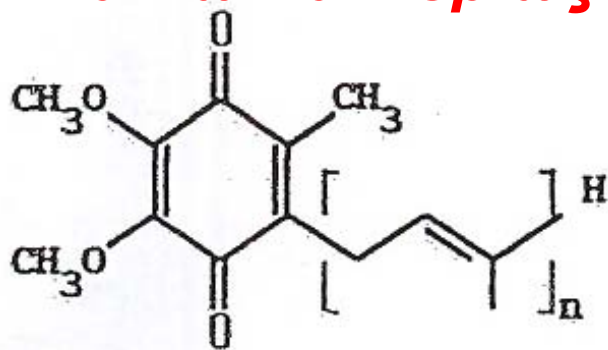
Menaquinone (MK-n)

Μενακινόνες

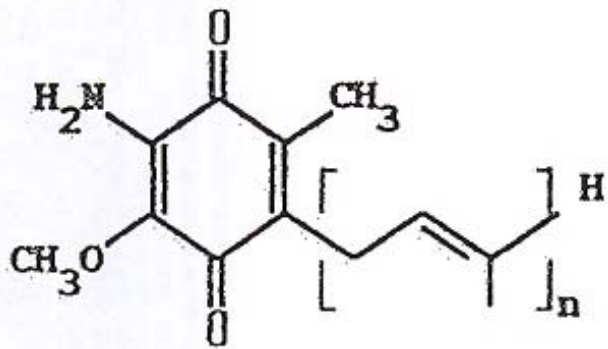
- **MK6** - Bacterioidetes (*Cytophaga*, *Flavobacterium* sp.)
- **MK7** - *Staphylococcus*, *Bacillus*
- **MK7(H2)** – *Brevibacterium*
- **MK8** – *Lactobacillus*
- **MK8(H2) –(H4)** - *Rhodococcus*, *Nocardia*
- **MK9** – *Arthrobacter*
- **MK9(H2)** – *Corynebacterium*
- **MK9 (H4)** – *Cellulomonas*
- **MK9(H6) ή (H8)** – *Streptomyces*
- **MK10** – *Rathaybacter*
- **MK10(H2 – H8)** - *Glycomyces*, *Nocardiopsis*, *Thermomonospora*
- **MK11 and 12** – *Microbacterium*, *Agrococcus*, *Aureobacterium*

Ουμπικινόνες

Απαντώνται κυρίως στα α-, β- και γ-Πρωτεοβακτήρια



Ubiquinone (Q-n)



Rhodoquinone (RQ-n)

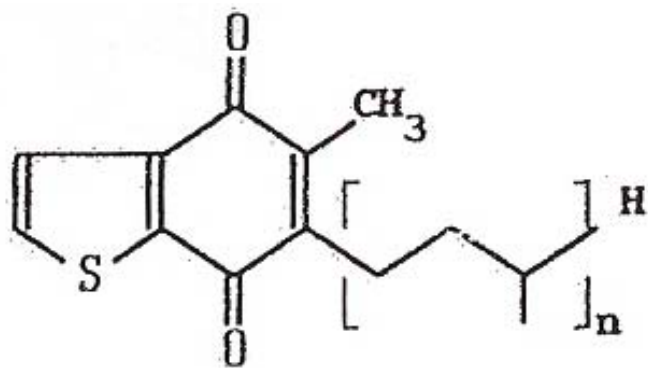
α-proteobacteria Q9 – *Agrobacterium*, *Rhizobium*

β-proteobacteria Q8 – *Escherichia coli*, *Nitrosomonas*, *Stenotrophomonas*

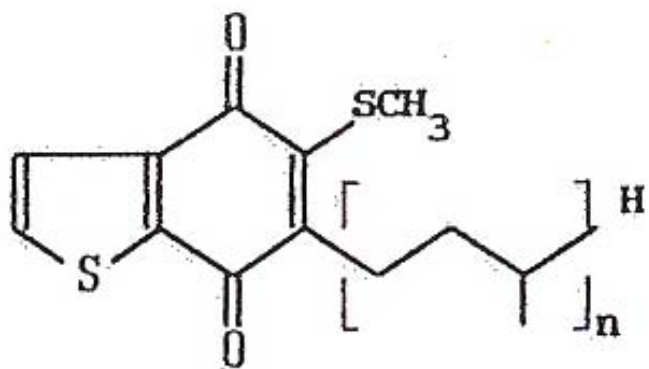
γ-proteobacteria ;Q10 – *Pseudomonas*

Βενζοθειοφαινοκινόνες

Κυρίως παρατηρούνται σε θερμόφιλα και οξεόφιλα Αρχαία



Sulfolobus quinone (SQ-n)



Caldariella quinone (CQ-n)

Πως διαφοροποιούνται οι λιποκινόνες μεταξύ βακτηρίων;

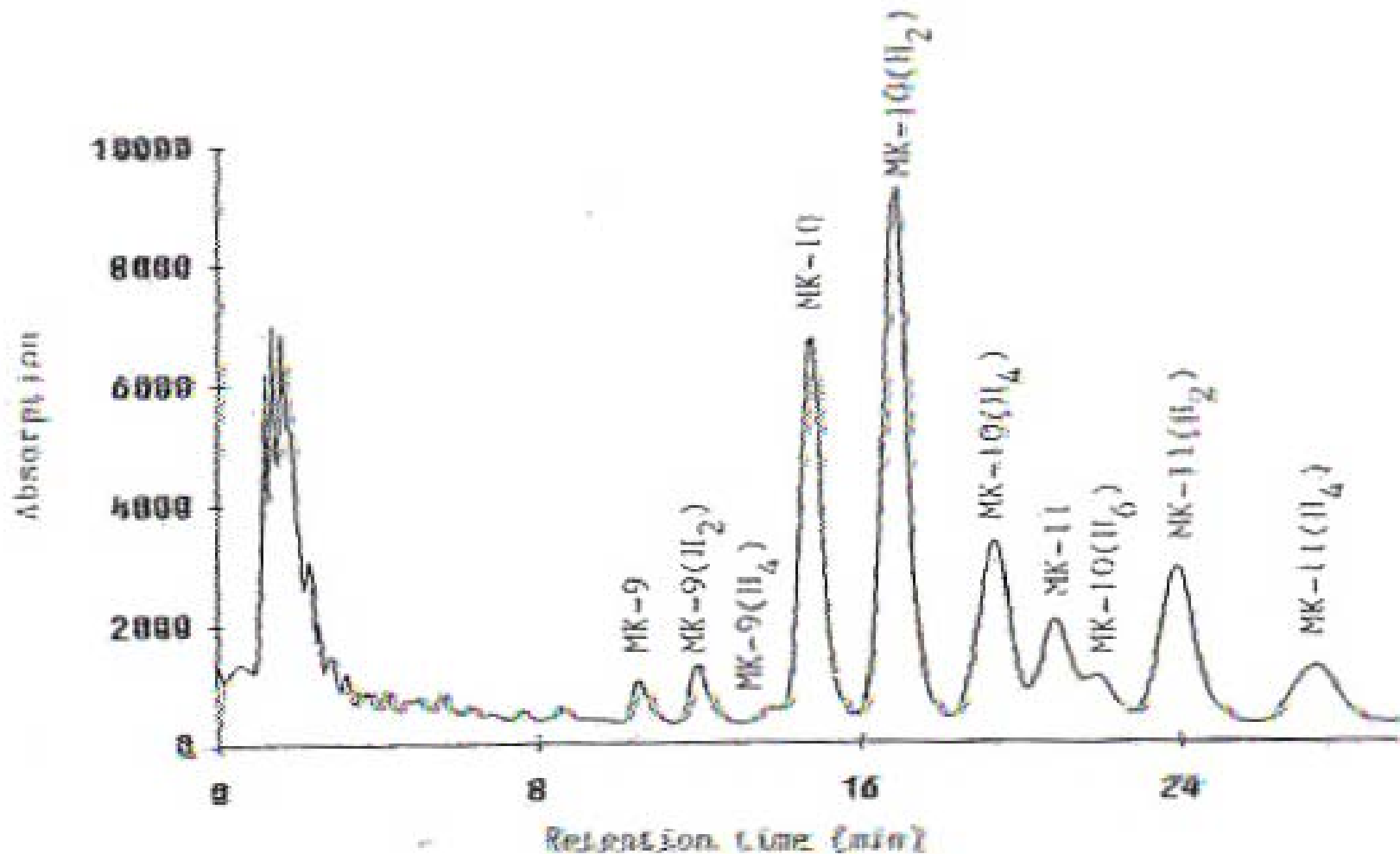
Διαφοροποιήσεις υπάρχουν στο αρωματικό τμήμα του μορίου τους αλλά κυρίως παρουσιάζονται στην ισοπρενοειδή αλυσίδα

- Προσθήκη CH_3 στον δακτύλιο
- Διαφοροποίηση στο μήκος της ισοπρενοειδούς αλυσίδας (4 -15 μονάδες ισοπρενίου)
- Βαθμός κορεσμού της ισοπρενοειδούς αλυσίδας και θέση διπλών δεσμών

Ανάλυση Λιποκινονών

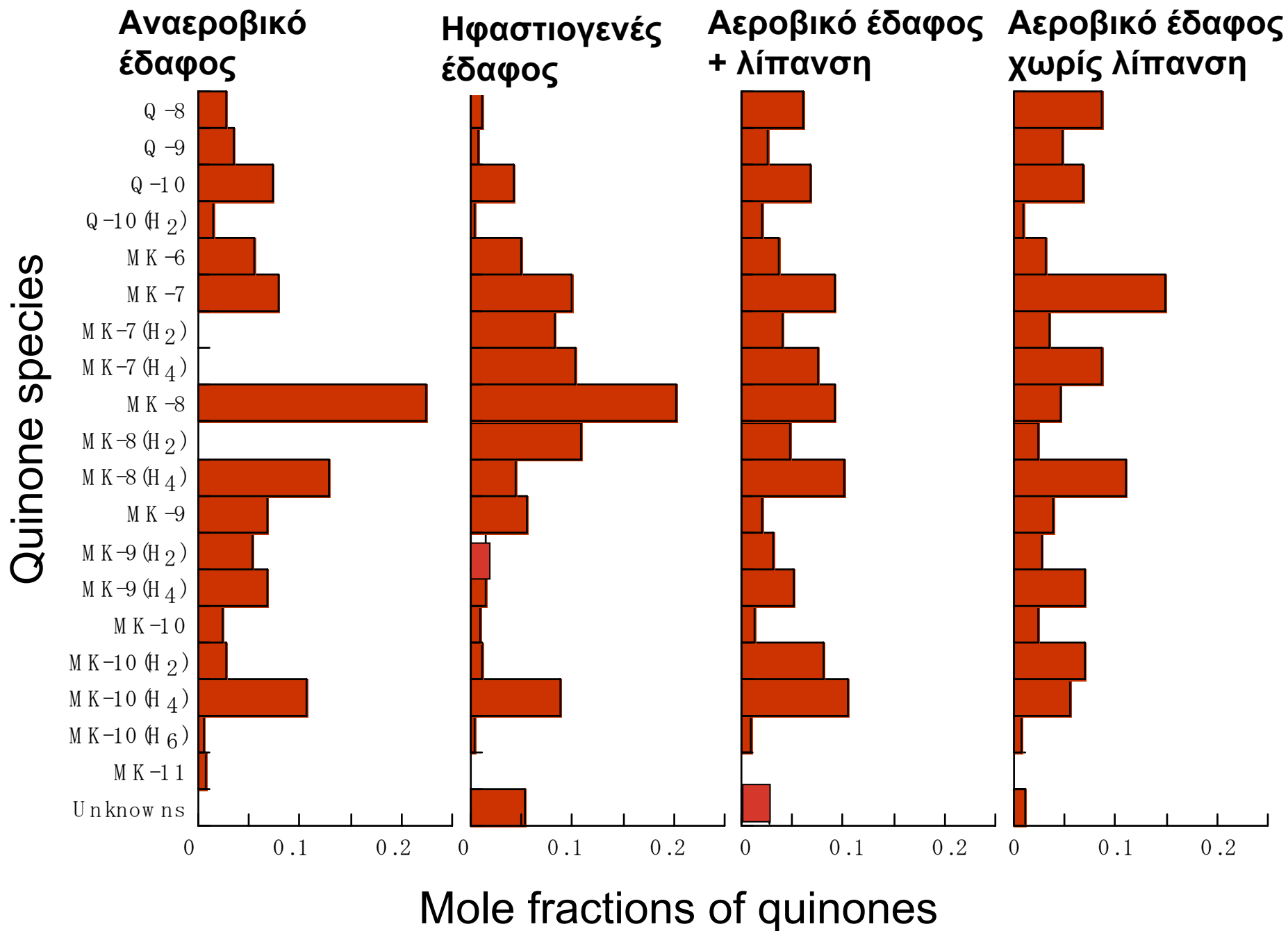
- Κυρίως με χρωματογραφικές μεθόδους όπως HPLC με ανίχνευση UV ή για άμεση ταυτοποίηση των διαφόρων λιποκινονών με ανίχνευση φασματομετρία μάζας (MS)
- Μέθοδοι έχουν προταθεί κυρίως για την εκχύλιση και ανάλυση λιποκινονών από αμιγής ή αξενικές καλλιέργειες βακτηρίων
- Λίγα παραδείγματα εκχύλισης και ανάλυσης λιποκινονών απο περιβαλλοντικά δείγματα

Χρωματογράφημα Αποτυπώματος Λιποκινονών από μερικά θετικά κατά Gram βακτήρια

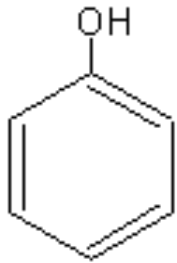


Νέες εφαρμογές Λιποκινονών ως βιοδείκτες στο περιβάλλον

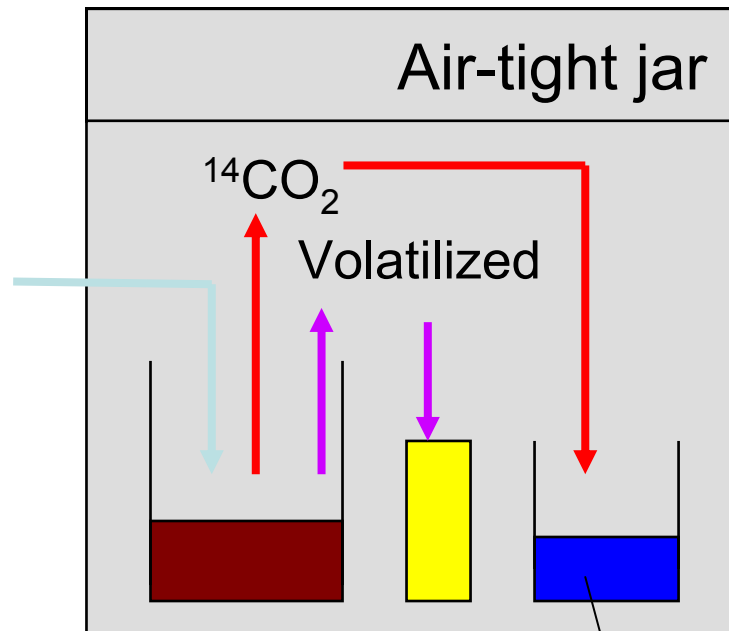
- Αποτύπωση μεταβολών στην σύσταση της μικροβιακής κοινότητας ύστερα από έκθεση σε στρεσογόνους παράγοντες ή μεταβολές στις περιβαλλοντικές συνθήκες
- Ανίχνευση μικροοργανισμών που διασπούν οργανικούς ρύπους *in situ* στο περιβάλλον με την χρήση σημασμένων οργανικών ρύπων (^{14}C ή ^{13}C)



Μελέτη της διάσπασης της ^{14}C -phenol

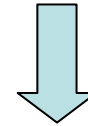


[U- ^{14}C]phenol

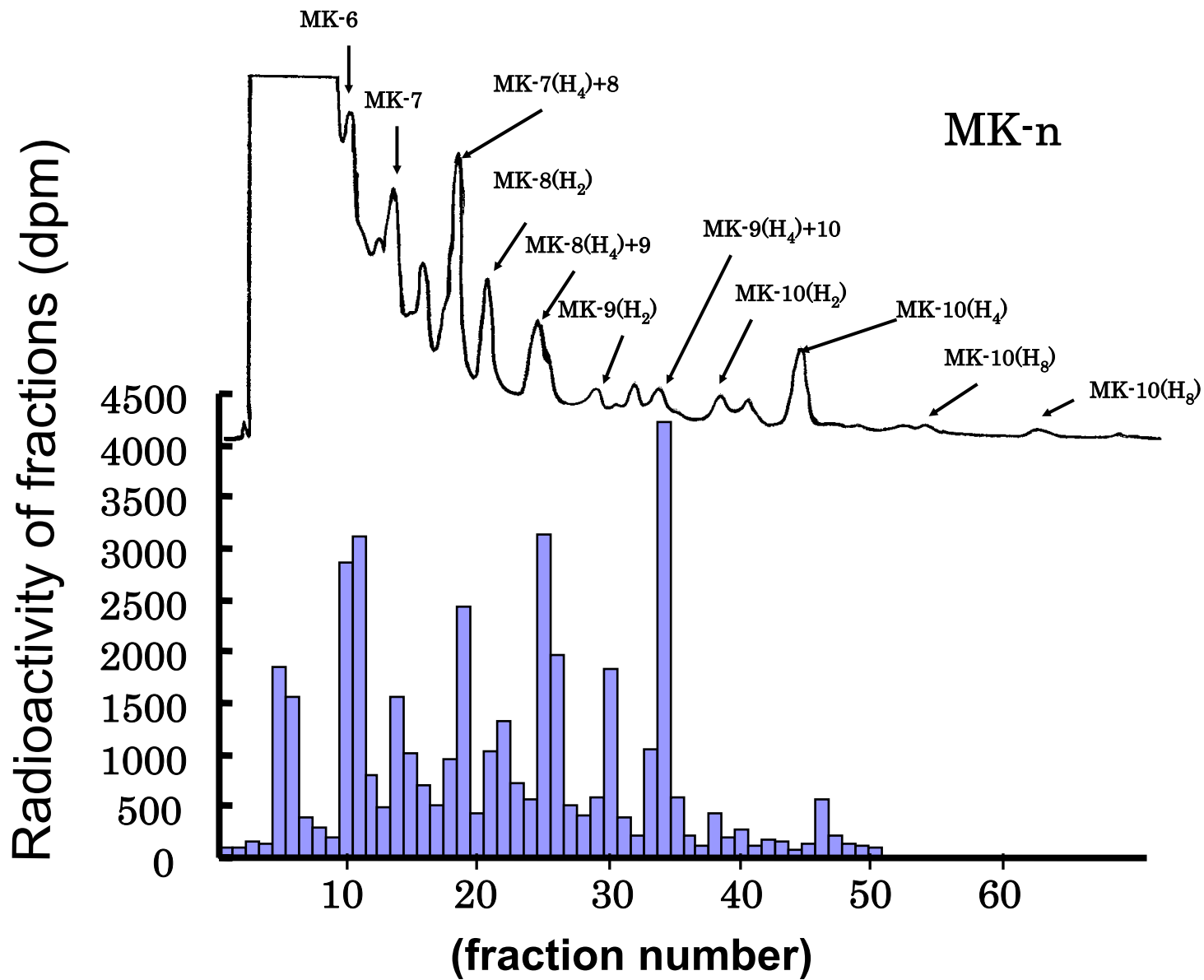


NaOH ($^{14}\text{CO}_2$ trapping)

Incubation
15-30°C
3-10days

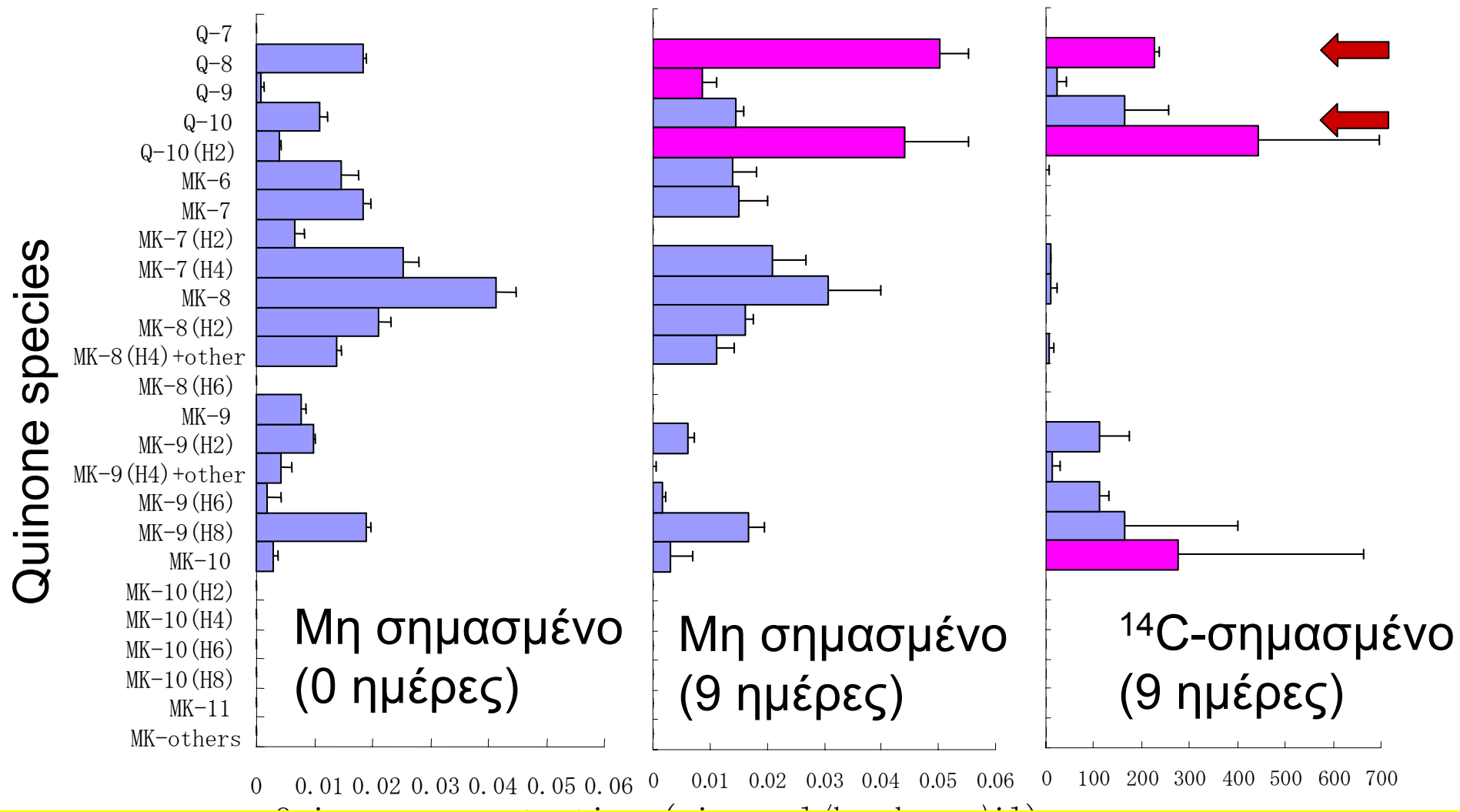


Total quinone
profile and
 ^{14}C quinone
profile



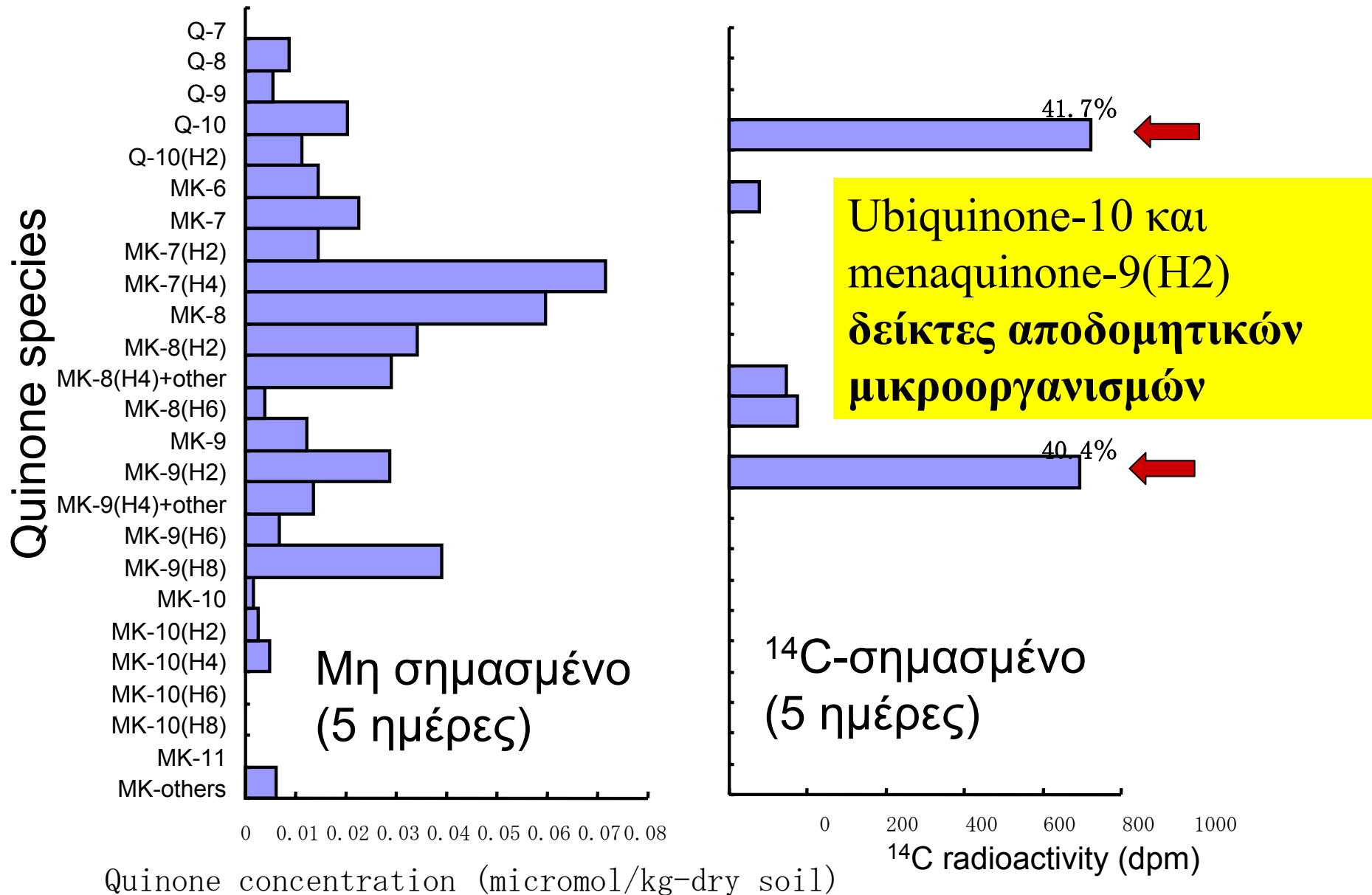
HPLC-χρωματογράφημα και ^{14}C ανίχνευση στις διάφορες κινόνες που ανιχνεύονται

^{14}C -Κινόνες προφίλ στην διάσπαση της φαινόλης



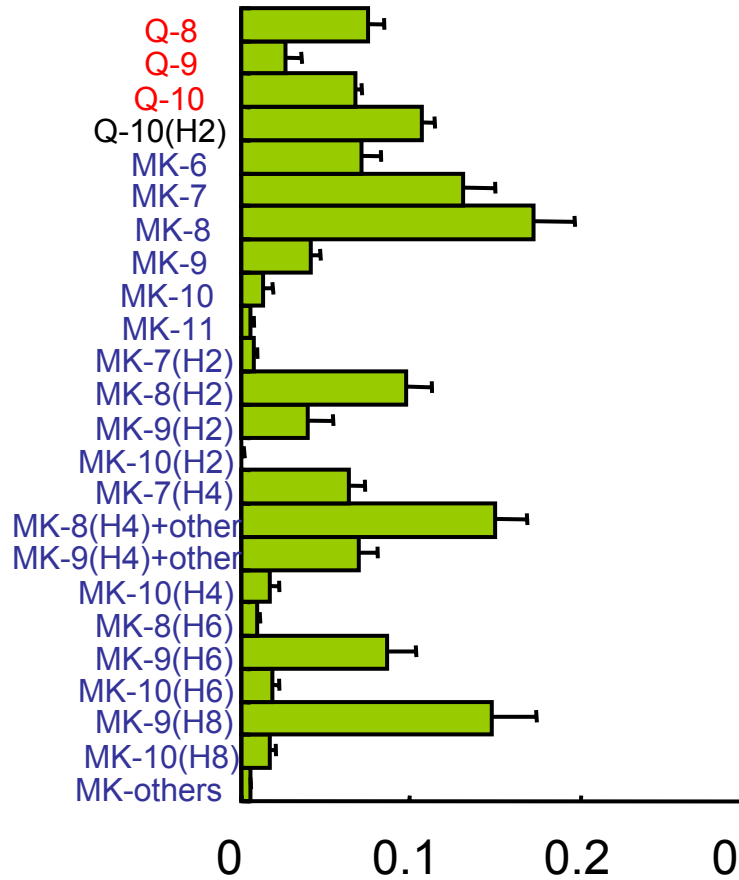
Ubiquinone-8 και ubiquinone-10(H2) αυξήθηκαν και στο συνολικό αποτύπωμα (μη σημασμένο) αλλά και στο σημασμένο αποτύπωμα των λιποκινονών δείχνοντας ότι συμμετέχουν στην διάσπαση της φαινόλης

^{14}C -Κινόνες προφίλ στην διάσπαση της φαινόλης

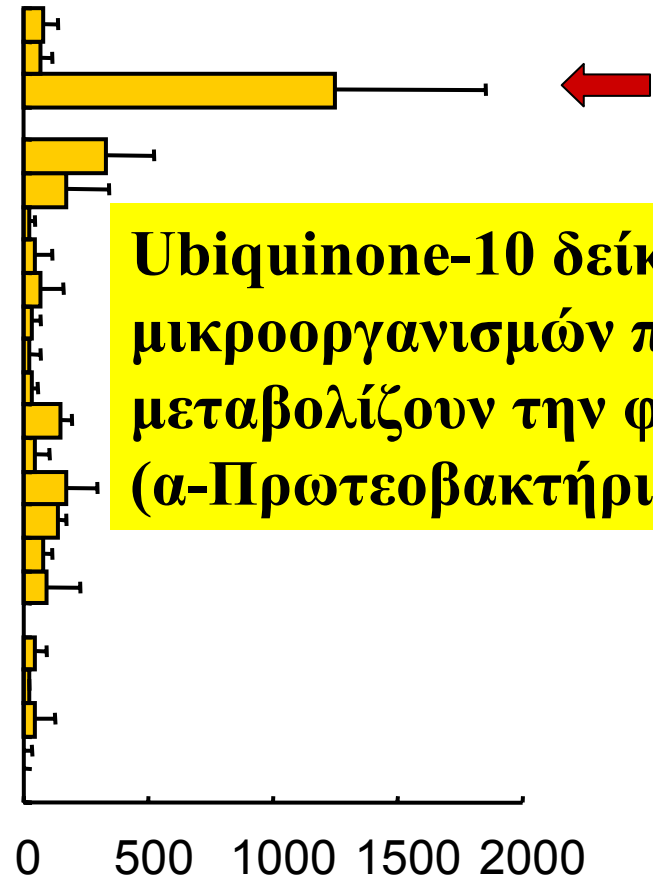


^{14}C -Κινόνες προφίλ στην διάσπαση της φαινόλης

Μη σημασμένο



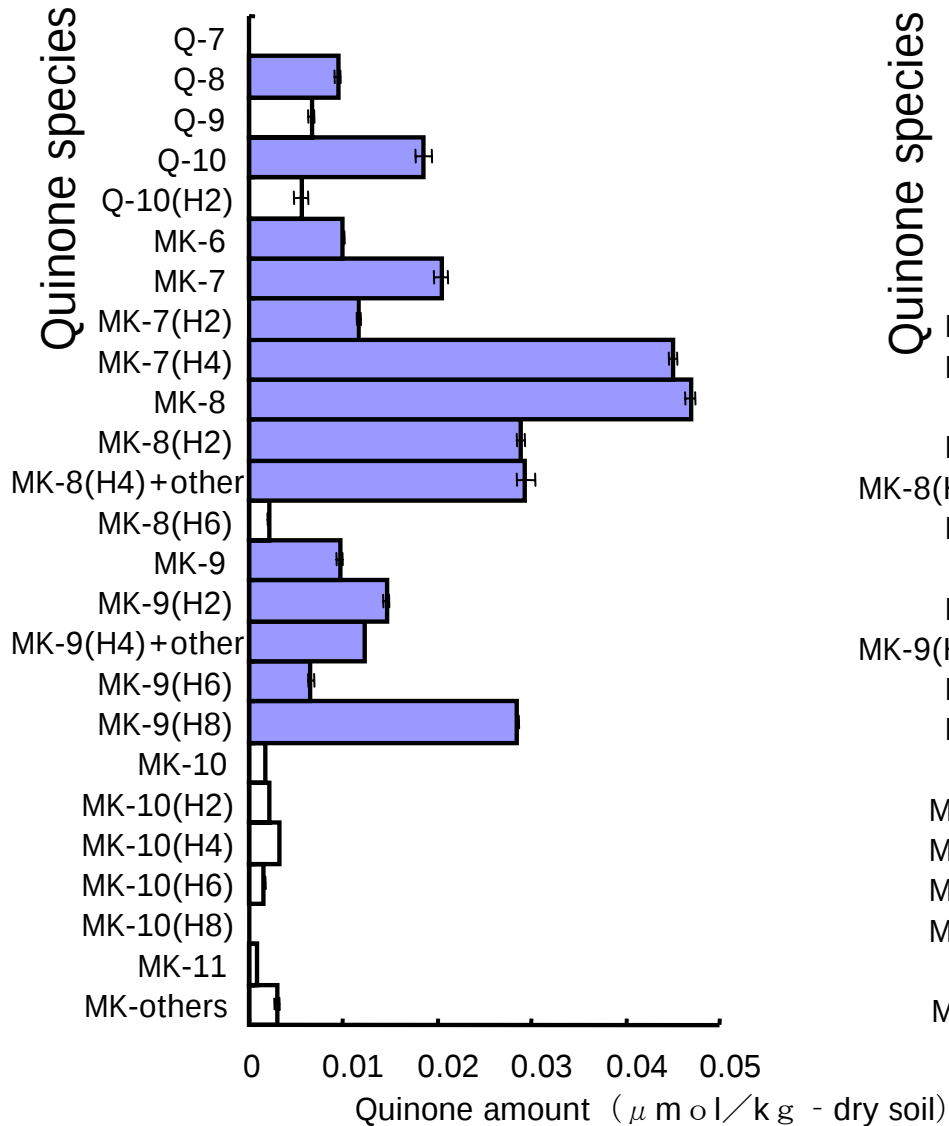
^{14}C -σημασμένο



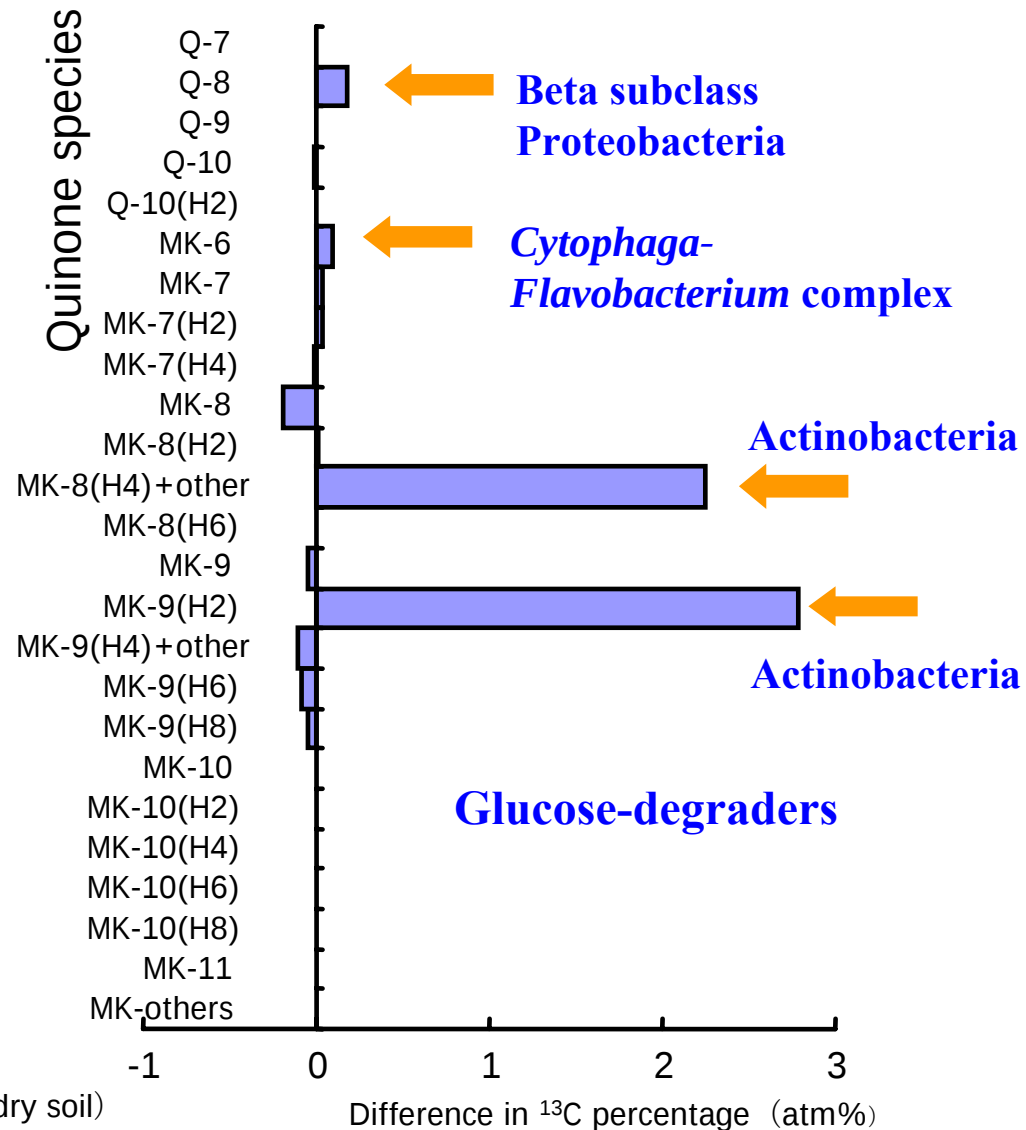
**Ubiquinone-10 δείκτης
μικροοργανισμών που
μεταβολίζουν την φαινόλη
(α -Πρωτεοβακτήρια)**

Quinone concentration (micromol/kg-dry soil) ^{14}C radioactivity (dpm)

Εφαρμογή σταθερών ισοτόπων όπως ^{13}C αντί ^{14}C για πραγματοποίηση πειραμάτων σε ανοιχτό πεδίο – ρεαλιστικές περιβαλλοντικές συνθήκες



Total quinone profile



^{13}C -labeled quinones

