

Θέμα: Μικροβιολογία συστημάτων απομάκρυνσης αζώτου και φωσφόρου από απόβλητα.

Καμπούρης Ιωάννης

1. Εισαγωγή

Τα υγρά απόβλητα, και κυρίως τα αστικά υγρά απόβλητα περιέχουν σημαντικές ποσότητες θρεπτικών στοιχείων, τα οποία όταν απελευθερωθούν σε υδάτινα οικοσυστήματα προκαλούν το επιβλαβές για αυτά, φαινόμενο του ευτροφισμού. Για να αποφευχθεί το προαναφερθέν φαινόμενο ο συγκεκριμένος τύπος αποβλήτων υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία πέρα της απομάκρυνσης οργανικών ρύπων, για την απομάκρυνση χημικών στοιχείων. Τα χημικά στοιχεία που συνήθως λόγω της άμεσης σύνδεσής τους με τον ευτροφισμό, επιδιώκεται να απομακρυνθούν από τα απόβλητα είναι ο φώσφορος και το άζωτο, συνήθως με βιολογική εξεργασία καθαρισμού.

2. Μικροβιολογία συστημάτων απομάκρυνσης φωσφόρου

Καθώς αρκετά κυανοβακτήρια τα οποία μετέχουν στο φαινόμενο του ευτροφισμού μπορούν να χρησιμοποιήσουν και ατμοσφαιρικό άζωτο για να καλύψουν τις ανάγκες τους, η απομάκρυνση φωσφόρου ή

αλλιώς EBPR (enhanced biological phosphorus removal) θεωρείται πιο σημαντική για την μείωση αυτού του φαινομένου. Η απομάκρυνση αυτή πραγματοποιείται με την συσσώρευση φωσφόρου (P) σε βακτηριακά κύτταρα με την μορφή πολυφωσφορικών (polyP) και κατακράτηση αυτών των κυττάρων από τα απόβλητα. Οι οργανισμοί αυτοί ονομάζονται PAO (polyP accumulating organisms). Σε γενικές γραμμές οι οργανισμοί αυτοί σε ένα σύστημα απομάκρυνσης φωσφόρου ενθαρρύνονται να αυξηθούν και να ενσωματώσουν φωσφόρο με μία διαδικασία που περιλαμβάνει ένα αναερόβιο στάδιο που ακολουθείται από ένα αερόβιο.

Μερικά βακτήρια αφομοιώνουν πτητικά λιπαρά οξέα που παράγονται από χημειοργανότροφα ζυμωτικά βακτήρια, τα οποία δεν χρησιμοποιούνται για την αύξηση κυτταρικής μάζας αλλά αποθηκεύονται σαν πολυP αλλά αντίθετα αποθηκεύονται σαν πολυ-β-υδροξυαλκανιότες (PHA). Στη συνέχεια όταν εισέλθουν στην αεροβική ζώνη υπάρχει μείωση των PHA και αύξηση των poly-P. Σε μερικά συστήματα η κύρια πηγή άνθρακα για την παραγωγή των PHA είναι το οξικό ενώ αλλά μόρια οργανικής φύσεως (π.χ. γλυκόζη) μπορούν να αυξήσουν την παραγωγή polyP, αυξάνοντας λογικά την παραγωγή PHA. Τα πολυφωσφορικά (polyP) βρίσκονται σε κάθε κύτταρο, άρα είναι απαραίτητο για κάποιες βιολογικές τους λειτουργίες. Μέσα σε αυτές συμπεριλαμβάνονται η διαδικασία αναγέννησης ATP, η αντικατάσταση του σε φωσφορυλιώσεις καθώς και κατακράτηση ιόντων Mg^{2+}

Λίγα δεδομένα υπάρχουν για την ταυτότητα των PAO. Με την χρήση καλλιεργο-εξαρτώμενων τεχνικών το πρώτο γένος που απομονώθηκε από βακτηριακή βιομάζα με αρκετή ικανότητα απομάκρυνσης φωσφόρου ήταν το γένος *Acinetobacter* των γ-πρωτεοβακτηρίων. Αρκετές έρρινες που ακολούθησαν εκείνη την περίοδο συμφωνούσαν σε αυτό το θέμα. Ωστόσο όταν με μικροχειρισμούς έγινε προσπάθεια καλλιέργειας συγκεντρωμένων PAO, λίγα από αυτά ανέπτυξαν αποικίες, όπου αρκετές από αυτές δεν άνηκαν στο πρώτο ταυτοποιημένο γένος, καθώς είναι πιθανόν αρκετά PAOs να μην μπορούν να καλλιεργηθούν εύκολα σε τριγυλία.

Τα είδη των αποικιών ήταν *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter lwoffii* και κυρίως *A. Johnsonii*. Ακόμη η πλειοψηφία αυτών των καλλιεργειών μπορούσε να συνθέσει πολυφωσφορικό ΡΗΑ υπό αερόβιες συνθήκες σε υψηλά επίπεδα οξικού, ωστόσο δεν μπορούσαν να συνθέσουν υπό αναερόβιες συνθήκες.

Η ικανότητα σύνθεσης πολυφωσφρικών κοκκίων είναι ευρύτατα διαδεδομένη στα βακτήρια, και Gram-αρνητικά και θετικά βακτήρια που έχουν απομονωθεί από EBPR συστήματα δείχνουν και αυτά αυξημένη ικανότητα συγκέντρωσης polyP και πιθανότητα να αποτελούν μέρος των ΡΑΟ. Τα *Tetrasphaera*, *Microthrix parvicella*, *Nostocoida limicola* II είναι μερικά από τα είδη των βακτηρίων που απομονώνονται από EBPR συστήματα και δείχνουν συγκέντρωση polyP, ωστόσο δεν υπάρχουν στοιχεία ότι αυτά και τα αλλά απομονωμένα συμπεριφέρονται ως ΡΑΟ. Μία απομονωθέντα αποικία που αναγνωρίστηκε ως *Lampropedia* μόνο από τα μορφολογικά του στοιχεία τα οποία αν και ήταν διαφορετικά σε σχέση με αυτά που σχετίζονται με τα ΡΑΟ στα EBPR συστήματα, πλησιάζει περισσότερο τον περιγραφόμενο μεταβολισμό των ΡΑΟ: Αφομοίωση οξικό αναερόβια με αντίστοιχη παραγωγή ΡΗΑ και απελευθέρωση φωσφόρου.

Οι μη-καλιεργο-εξαρτωμένες προσεγγίσεις, ειδικά οι μοριακές προσεγγίσεις, της μικροβιολογίας του EBPR συστήματος έριξαν φως εκεί που καλιεργο-εξαρτωμένες προσεγγίσεις αδυνατούσαν. Ένα παράδειγμα είναι η χρήση αντισωμάτων ειδικά για το γένος *Acinetobacter* αποκάλυψαν πως αποτελούσαν το 3% του πληθυσμού των κυττάρων σε ένα EBPR σύστημα, και με το ποσοστό πολυφωσφορικού που συγκεντρώνουν δεν μπορεί να υπάρξει σημαντική απομάκρυνση φωσφόρου. Όσον αφορά την ποικιλότητα μεταξύ των πληθυσμών σε ενεργοποιημένη λάσπη από EBPR σύστημα και από απλή ενεργοποιημένη λάσπη. Με την χρήση του οξικού ως μοναδική πηγή άνθρακα η κοινότητα είχε καταληφθεί κυρίως από β-πρωτεοβακτήρια και πολύ λίγα ακτινοβακτήρια είχαν εντοπιστεί, σε σχέση με μία παροχή διαφόρων οργανικών ενώσεων πέρα του οξικού υπήρχαν περισσότερα ακτινοβακτηρία και βακτήρια από το CFB τμήμα, ένα τα β-πρωτεοβακτήρια ήταν λιγότερα. Ακόμη το γένος

Acinetobacter φάνηκε ότι αποτελεί στατιστικά ασήμαντο πληθυσμό ώστε να ληφθεί ως PAO. Η ύπαρξη σε αυξημένων ποσοστών αντιγράφων από την ομάδα *Rhodocyclus* σε cDNA-βιβλιοθήκη από EBPR σύστημα σε σχέση με μη-EBPR σύστημα, οδήγησε στο να ερευνηθεί και να συσχετιστεί τελικά η αύξηση του αριθμού αυτού του πληθυσμού με την ικανότητα απομάκρυνσης του φωσφόρου.

3. Μικροβιολογία συστημάτων απομάκρυνσης αζώτου

Το άζωτο επίσης όταν βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε απόβλητα ευθύνεται και αυτό για το φαινόμενο του ευτροφισμού. Αποτελεί το 10% του ξηρού βάρους των βακτηρίων και κυρίως παραλαμβάνεται από αυτά με την μορφή αμμωνίας. Ο μεταβολισμός του είναι αρκετά ποικιλόμορφος ανάμεσα στα είδη βακτηρίων, αυτό όμως που ενδιαφέρει την χρήση του μεταβολισμού αυτού σε απόβλητα είναι η ετεροτροφική νιτροποίηση, αεροβική νιτροποίηση και αμμωνιακή οξείδωση.

Ετεροτροφική νιτροποίηση

Ως νιτροποίηση ορίζεται ως η οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρικό με την αεροβική της διαδικασία. Τυπικά αυτή η διαδικασία γίνεται σε δύο βήματα, καθένα από τα οποία συγκεντρώνεται κυρίως σε μία ξεχωριστή ομάδα για το κάθε βήμα χημολιθοαυτοτροφικών βακτηρίων, τα *Nitrosomonas* που οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρώδες και τα *Nitrobacter* που οξειδώνουν το νιτρώδες σε νιτρικό. Η ενεργεία από αυτές τις αντιδράσεις χρησιμοποιείται για αφομοίωση CO₂. Παρακάτω διακρίνονται οι χημικοί τύποι των αντιδράσεων.

Πέρα από τις προαναφερθέντες ενώσεις τα βακτήρια αυτά έχουν την δυνατότητα να οξειδώνουν και μια σειρά οργανικών αζωτούχων ενώσεων. Η χημειοετερτροφική νιτροποίηση δεν εμποδίζεται από νιτρικούς αναστολείς όπως η χημειοαυτοτροφική.

Αεροβική απονιτροποίηση

Είναι η διαδικασία οξείδωσης του νιτρικού σε νιτρικό οξείδιο, νιτρώδες οξείδιο και στην συνέχεια σε άζωτο. Αρχικά επειδή παίζει μεγάλο ρόλο στην παραγωγή ενέργειας σε παραγωγή αναερόβια ενέργειας θεωρείται ότι παίζει ρόλο σε αναερόβιες αντιδράσεις, όμως έχει βρεθεί σημαντικός αριθμός βακτηρίων που απονιτροποιούν σε αναερόβιες συνθήκες. Η αντίδραση καταλύεται από δύο ένζυμα, μία νιτρική αναγωγή δεσμευμένη στην μεμβράνη και μία στο περίπλασμα. Τα είδη βακτηρίων που θεωρούνται ικανά για τουλάχιστον ελάχιστη απονιτροποίηση είναι : *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum*, και *Vibrio*

Ανεροβική οξείδωση της αμμωνίας

Η αναεροβική οξείδωση της αμμωνίας είναι μία λιθοαυτοτροφική διαδικασία η οποία μεσοαλβείται από μία ομάδα βακτηρίων Planctomycete. Η αμμωνία και το νιτρικό που οξειδώνονται προς αέριο άζωτο χρησιμεύουν ως δότες ηλεκτρονίων.

4. Συμπεράσματα

Σε αυτή την εργασία παρατέθηκαν στοιχεία σχετικά με τις βιοχημικές διαδικασίες και την ταυτότητα των ειδών που εμπλέκονται στα συστήματα απομάκρυνσης φωσφόρου και αζώτου. Κατανοώντας την ποικιλότητα των ειδών όπου συμπεριλαμβάνονται σε αυτά και τις βιοχημικές/μεταβολικές δυνατότητες τους μας ανοίγεται ένα νέο βήμα στην διαχείριση αυτών των συστημάτων. Υπάρχουν πολλά είδη που δεν έχουν προσδιοριστεί ακόμα. Η προσπάθεια να διασαφηνιστούν και να κατανοηθούν πλήρως οι οικολογικές σχέσεις όλων αυτών των ειδών μεταξύ τους μέσα στη φύση, αλλά κυρίως μέσα στα συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης θα μπορούσε να βοηθήσει στην διαχείριση τους.

Βιβλιογραφία:

[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0168-6445\(03\)00021-4/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0168-6445(03)00021-4/full)

<http://in-pipe.com/pdf/Microbe%20Edition%20BNR.pdf>

Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review

Young-Ho Ahn

School of Civil and Environmental Engineering, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, South Korea

