

ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΕΝΟΣ ΑΕΡΟΒΙΟΥ ΒΙΟΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΓΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗ ΜΕΤΑΠΟΙΗΣΗ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ

Σ.Ι. Πάτσιος^{1,*}, Σ. Μιχαηλίδου², Κ. Πασέντσης², Α.Μ. Μακρής², Α. Αργυρίου², Α.Ι. Καράμπελας¹

¹Εργαστήριο Φυσικών Πόρων & Εναλλακτικών Μορφών Ενέργειας, Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών & Ενεργειακών Πόρων, ΕΚΕΤΑ, Θέρμη, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

²Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών, ΕΚΕΤΑ, Θέρμη, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα
(*patsios@cperi.certh.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα υγρά απόβλητα από τη μεταποίηση επιτραπέζιας ελιάς (YAMEE) είναι ένα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα καθώς χαρακτηρίζονται από υψηλό οργανικό φορτίο, μέτρια προς υψηλή αλατότητα, ακραίες τιμές pH, και ύπαρξη αντι-οξειδωτικών πολυφαινολικών ενώσεων με αντιμικροβιακή δράση που παρεμποδίζει τη μικροβιακή βιοαποικοδόμηση. Προηγμένες αερόβιες βιολογικές διεργασίες, βασισμένες στην τεχνολογία των βιοαντιδραστήρων μεμβρανών (Membrane BioReactor - MBR), έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την επεξεργασία των υγρών αυτών αποβλήτων. Ένα κρίσιμο στάδιο για την αποτελεσματική λειτουργία ενός MBR είναι η φάση έναρξης λειτουργίας και εγκλιματισμού της ενεργού βιομάζας. Προηγμένες μέθοδοι αλληλούχισης νέας γενιάς (Next-Generation Sequencing - NGS) μπορούν να δώσουν πλήθος χρήσιμων πληροφοριών για τη δυναμική εξέλιξη της μικροβιακής κοινότητας και να διευκολύνουν τη λειτουργία των σχετικών μονάδων.

Ένα πιλοτικό σύστημα αερόβιου MBR εργαστηριακής κλίμακας τέθηκε σε λειτουργία, εμβολιασμένο με ενεργό ιλύ από μια εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών λυμάτων, ενώ για τρεις μήνες ακολουθήθηκε ένα συγκεκριμένο πρωτόκολλο εγκλιματισμού της βιομάζας, με σταδιακή προσθήκη συνεχώς αυξανόμενης ποσότητας πραγματικών YAMEE. Η σταθερότητα της βιολογικής διεργασίας και η απόδοση απομάκρυνσης οργανικού φορτίου και πολυφαινολικών ενώσεων, αξιολογήθηκαν μέσω του χαρακτηρισμού της τροφοδοσίας και της εκροής του MBR. Παράλληλα, δείγματα ενεργού ιλύος, από τέσσερα χρονικά σημεία του σταδίου εγκλιματισμού, αναλύθηκαν μέσω προηγμένων τεχνικών μεταγονιδιωματικής (metagenomic) και μεταγραφωματικής (metatranscriptomic) ανάλυσης για προσδιορισμό της ταυτότητας της βιοκοινότητας.

Η αξιολόγηση της λειτουργίας του αερόβιου MBR κατέδειξε ότι το πρωτόκολλο εγκλιματισμού που ακολουθήθηκε οδήγησε σε σχετικά ταχεία ανάπτυξη μιας σταθερής βιοκοινότητας με σημαντική μεταβολική δραστηριότητα, η οποία χαρακτηρίζεται από απόδοση απομάκρυνσης οργανικού φορτίου και πολυφαινολικών ενώσεων, άνω του 90% και 85%, αντίστοιχα, για το 90% των μετρημένων δειγμάτων. Επιπλέον η μεταγονιδιωματική ανάλυση έδειξε ότι μια δραστική μεταβολή συνέβη σύντομα μετά την έναρξη προσθήκης πραγματικού YAMEE οδηγώντας στη δημιουργία μιας νέας, εξειδικευμένης μικροβιακής κοινότητας. Μεταξύ των μικροοργανισμών της εγκλιματισμένης βιοκοινότητας, τα γένη *Thauera*, *Pseudoxanthomonas* και *Paracoccus* κυριαρχούν σε παρουσία από την 16S rDNA ανάλυση, με ορισμένα από αυτά (π.χ. *Thauera* spp.) να αποτελούν σχεδόν το 50% των αναγνώσεων (reads) της μεταγραφωματικής ανάλυσης και συνεπώς της μεταβολικής δραστηριότητας στο συγκεκριμένο δείγμα. Επιπλέον, χρήσιμες πληροφορίες προέκυψαν για τις κύριες ενεργές μεταβολικές διεργασίες της βιοκοινότητας. Χαρακτηριστικά, εντοπίστηκε αξιολογη μεταβολική δραστηριότητα αρωματικών ενώσεων, που πιθανότατα σχετίζεται με την παρατηρηθείσα υψηλή απόδοση απομάκρυνσης πολυφαινολικών ενώσεων.

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη όπου αξιολογείται η δυναμική της μικροβιακής βιοκοινότητας κατά τη φάση της έναρξης λειτουργίας και εγκλιματισμού ενός MBR που επεξεργάζεται YAMEE, προσφέροντας σημαντικές πληροφορίες για τη δημιουργία πρωτόκολλων βέλτιστης εκκίνησης σχετικών συστημάτων πλήρους κλίμακας.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα υγρά απόβλητα από τη μεταποίηση επιτραπέζιας ελιάς (YAMEE) δημιουργούν περιβαλλοντικά προβλήματα καθώς χαρακτηρίζονται από υψηλό οργανικό φορτίο, μέτρια προς υψηλή αλατότητα, ακραίες τιμές pH, και ύπαρξη αντι-οξειδωτικών πολυφαινολικών ενώσεων^[1,2]. Προηγμένες αερόβιες βιολογικές διεργασίες, βασισμένες στην τεχνολογία των βιοαντιδραστήρων μεμβρανών (Membrane BioReactor - MBR), η οποία συνδυάζει τη βιολογική επεξεργασία των αποβλήτων με τη διεργασία διαχωρισμού με διήθηση διαμέσου μεμβρανών^[3], έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την επεξεργασία των υγρών αυτών αποβλήτων επιτυγχάνοντας υψηλή απόδοση απομάκρυνσης οργανικού φορτίου (>90%) και πολυφαινολικών ενώσεων (> 80%)^[4,5]. Η φάση έναρξης λειτουργίας και εγκλιματισμού της ενεργού βιομάζας είναι ένα κρίσιμο στάδιο για την αποτελεσματική λειτουργία ενός συστήματος MBR, ειδικά σε περιπτώσεις αποβλήτων με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως είναι τα YAMEE^[6]. Η παρούσα μελέτη εστιάζεται στη φάση έναρξης λειτουργίας ενός MBR με χρησιμοποίηση προηγμένων μεθόδων αλληλούχισης νέας γενιάς (NGS), οι οποίες μπορούν να δώσουν πλήθος χρήσιμων πληροφοριών για τη δυναμική εξέλιξη της μικροβιακής κοινότητας και να διευκολύνουν τη λειτουργία των σχετικών μονάδων^[7,8]. Ένα πιλοτικό σύστημα αερόβιου MBR εργαστηριακής κλίμακας εμβολιάστηκε αρχικά με ενεργό ιλύ από μια εγκατάσταση επεξεργασίας αστικών λυμάτων, και για τρεις μήνες ακολουθήθηκε ένα συγκεκριμένο πρωτόκολλο εγκλιματισμού της βιομάζας, με σταδιακή προσθήκη συνεχώς αυξανόμενης ποσότητας πραγματικών YAMEE. Η εξέλιξη της βιολογικής διεργασίας και η απόδοση απομάκρυνσης του οργανικού φορτίου και των πολυφαινολικών ενώσεων, αξιολογήθηκαν μέσω του αναλυτικού χαρακτηρισμού της τροφοδοσίας και του διηθήματος του MBR. Παράλληλα, δείγματα ενεργού ιλύος, από τέσσερα χρονικά σημεία του σταδίου εγκλιματισμού, αναλύθηκαν με προηγμένες τεχνικές μεταγονιδιωματικής (metagenomic) και μεταγραφωματικής (metatranscriptomic) ανάλυσης για προσδιορισμό της ταυτότητας της βιοκοινότητας και την αναγνώριση των κυριάρχων ειδών/γενών μικροοργανισμών που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση του οργανικού φορτίου των YAMEE.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε έναν εργαστηριακό αερόβιο MBR, συνολικού όγκου 20L, στον οποίον είχε εμβαπτιστεί μια μεμβράνη υπερδιήθησης (0,04μm) κοίλων ινών, συνολικής επιφάνειας 0,174 m². Το πιλοτικό σύστημα προσομοιάζει λειτουργία συστημάτων MBR πλήρους κλίμακας με αυτοματοποιημένη αντίστροφη πλύση των μεμβρανών (1min αντίστροφη πλύση ανά 3min διήθησης)^[3]. Το σύστημα εμβολιάστηκε με ενεργό ιλύ που συλλέχτηκε από τη γραμμή ανακυκλοφορίας της ενεργού ιλύος από τη μονάδα βιολογικού καθαρισμού της ΔΕΥΑ Θέρμης (EL1220180315).

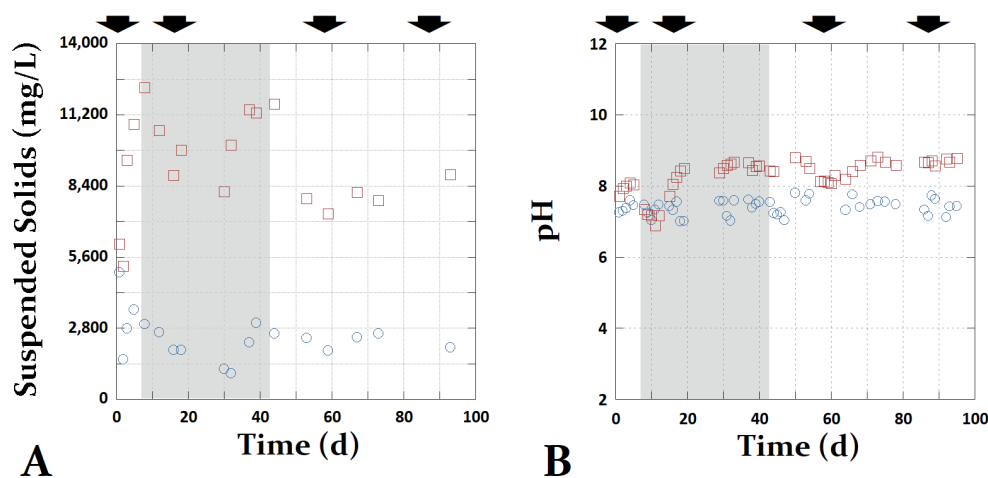
Το σύστημα λειτούργησε περίπου για 3 μήνες, με ημι-συνεχή τροφοδοσία μίγματος συνθετικού αποβλήτου αστικών λυμάτων^[9] και πραγματικών YAMEE από μονάδα μεταποίησης επιτραπέζιας ελιάς του νομού Χαλκιδικής. Η αναλογία των YAMEE στο μίγμα τροφοδοσίας αυξήθηκε σταδιακά από 0% v/v (8^η ημέρα) στο 100% v/v (42^η ημέρα), οπότε και ξεκίνησε παράλληλα η ημερήσια απομάκρυνση 100ml περίσσειας ενεργού ιλύος. Δείγματα από την τροφοδοσία, το μικτό υγρό, και το διήθημα αναλύθηκαν σε τακτική βάση (ανά 3-4 ημέρες) για τον προσδιορισμό των τιμών pH, της συγκέντρωσης αιωρούμενων στερεών (MLSS), Ολικού Οργανικού Άνθρακα (TOC)^[10] και Ολικών Πολυφαινολικών Ενώσεων (TPH)^[11].

Παράλληλα, δείγματα ενεργού ιλύος συλλέχτηκαν από τον βιολογικό της ΔΕΥΑ Θέρμης (D0) και από τον MBR την δέκατη έκτη (D16), την πεντηκοστή όγδοη (D58), και την ογδοηκοστή έβδομη (D87) ημέρα για μεταγονιδιωματική και μεταγραφωματική ανάλυση. Εν συντομία, η απομόνωση του μικροβιακού DNA έγινε χρησιμοποιώντας 1ml δείγματος με το kit ZR Soil Microbe DNA MicroPrep (ZYMO RESEARCH; USA). Η κατασκευή των βιβλιοθηκών πραγματοποιήθηκε

ακολουθώντας το πρωτόκολλο της εταιρείας Illumina (15044223 B). Για τους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς ενισχύθηκαν περιοχές των 16S rRNA και 18S rRNA γονιδίων, αντίστοιχα. Η αλληλούχιση των βιβλιοθηκών έγινε στην πλατφόρμα MiSeq χρησιμοποιώντας το κιτ MiSeq[®] reagent kit v3. Για την εκχύλιση του RNA φυγοκεντρήθηκε 1ml δείγματος και στο ίζημα προστέθηκε 1ml TriZol (Invitrogen) πριν την απομόνωση RNA. Η κατασκευή μετα-μεταγονιδιωματικών βιβλιοθηκών έγινε ξεκινώντας από 1μg ολικό RNA. Η αλληλούχιση των βιβλιοθηκών έγινε στην πλατφόρμα MiSeq χρησιμοποιώντας το κιτ MiSeq[®] reagent kit v2. Για την ανάλυση των βακτηρίων, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα QIIME, ενώ για την ανάλυση των μυκήτων/ζυμών, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα mothur. Η στοίχιση των αλληλουχιών σε OTUs (Operational Taxonomic units) έγινε σε ποσοστό νουκλεοτιδικής ομοιότητας 99% ενάντια στις βάσεις SILVA 128 και SILVA 123, για τους προκαρυώτες και ευκαρυώτες, αντίστοιχα. Η περαιτέρω επεξεργασία των δεδομένων έγινε χρησιμοποιώντας το περιβάλλον της R v.3.4.2. Για την οπτικοποίηση του φορτίου των μεταγονιδιωματικών βιβλιοθηκών και την ταξινόμηση των αλληλουχιών σε ταξονομικές βαθμίδες χρησιμοποιήθηκαν τα πακέτα phyloseq και ampvis2. Η ανάλυση των μετα-μεταγονιδιωματικών βιβλιοθηκών περιελάμβανε τα βήματα: i) ποιοτικός έλεγχος και συρραφή των αλληλουχιών, (ii) πρόβλεψη των ανοιχτών πλαισίων ανάγνωσης (ORFs) και στοίχιση στη βάση Pfam v.31, (iii) στοίχιση των αλληλουχιών στη βάση δεδομένων NR (NCBI protein Non-Redundant database) και εύρεση των ORFs για τους προκαρυώτες και ευκαρυώτες χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Diamond blast v.8.22, και (iv) εύρεση των οντολογιών (Gene Ontologies, GO) χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα MEtaGenome Analyzer v.6.10.8.^[12]

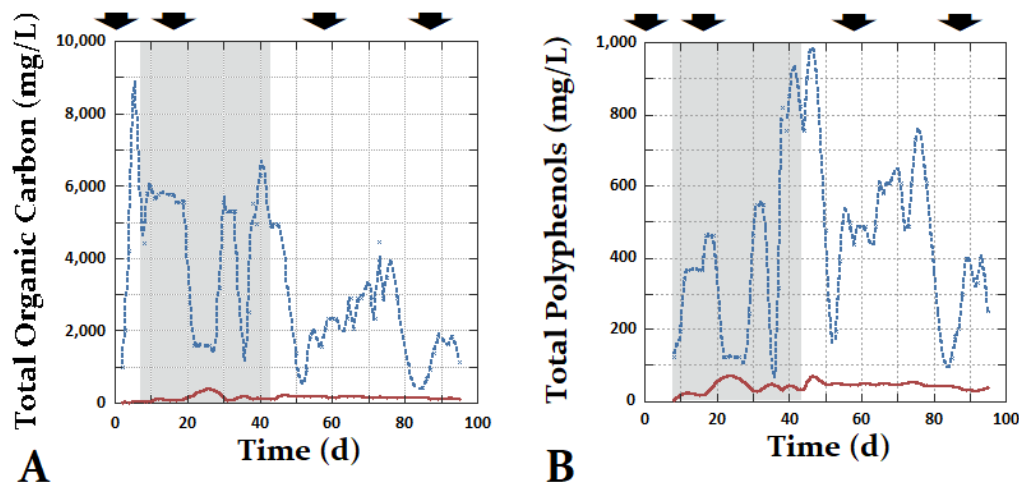
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συγκέντρωση της βιομάζας μπορεί να εκτιμηθεί από τη συγκέντρωση του οργανικού κλάσματος των αιωρούμενων στερεών (MLVSS), η οποία παρουσιάζεται στο Σχήμα 1A. Η συγκέντρωση MLVSS, σε αντίθεση με τη συγκέντρωση του ανόργανου κλάσματος (MLFSS), αυξάνεται σημαντικά κατά την 1^η εβδομάδα λειτουργίας, ελαττώνεται λίγο με την εισαγωγή των YAMEE την 8^η ημέρα, και φτάνει περίπου τα 11,2 gr/L την 42^η ημέρα. Μετά, μέσω της απομάκρυνσης της περίσσειας ιλύος, η συγκέντρωση MLVSS σταθεροποιείται περίπου στα 8,0 gr/L, που υποδηλώνει τον επιτυχή εγκλιματισμό της βιοκοινότητας, όπως φαίνεται και από τη γρήγορη σταθεροποίηση των τιμών pH του μικτού υγρού περίπου στο 8,5 (Σχήμα 1B). Η κατανάλωση των οργανικών οξέων που βρίσκονται στα YAMEE^[1] οδηγούν στην αύξηση του pH που είναι χαρακτηριστικό αερόβιων συστημάτων επεξεργασίας YAMEE^[4].



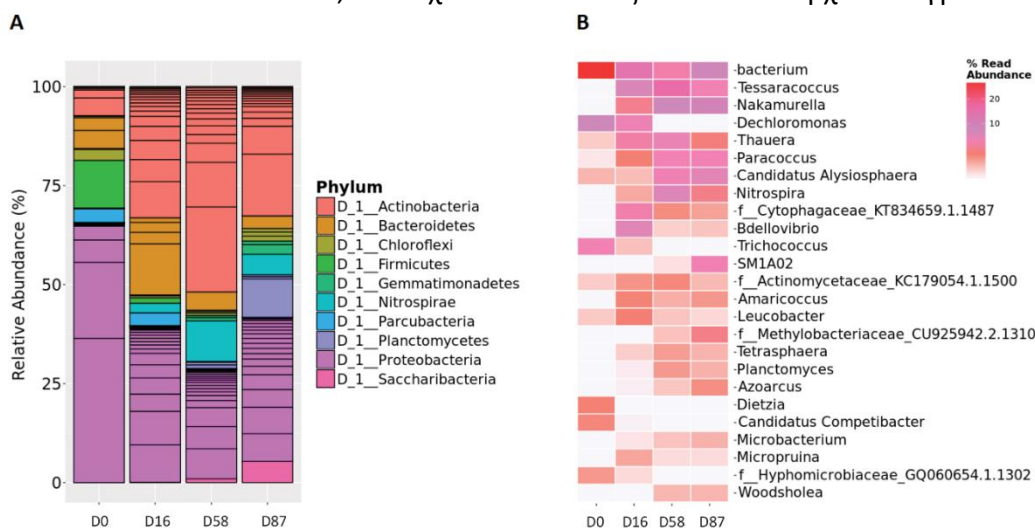
Σχήμα 1. Χρονική διακύμανση χαρακτηριστικών μικτού υγρού: Α) Συγκέντρωση (□) MLVSS, και (○) MLFSS, και Β) pH (○) της τροφοδοσίας, και (□) του μικτού υγρού. Τα μαύρα βέλη επισημαίνουν τις χρονικές στιγμές δειγματοληψίας για μεταγονιδιωματική ανάλυση. Η σκιασμένη περιοχή επισημαίνει τη χρονική περίοδο ταυτόχρονης τροφοδοσίας CSW και TOPW.

Η διακύμανση των τιμών TOC στην τροφοδοσία και στο διήθημα του MBR παρουσιάζεται στο Σχήμα 2Α. Η διακύμανση της συγκέντρωσης TOC στην τροφοδοσία είναι σημαντική και χαρακτηριστική της εποχικότητας των ΥΑΜΜΕΕ, παρόλα αυτά η απομάκρυνση του οργανικού φορτίου είναι σταθερά υψηλή καθώς είναι μεγαλύτερη του 85% σε όλα τα μετρούμενα δείγματα και μεγαλύτερη του 96% στα μισά από τα μετρούμενα δείγματα. Παρόμοια είναι και η εικόνα όσον αφορά τη συγκέντρωση των ΤΡh. Η συγκέντρωση των ΤΡh στην τροφοδοσία κυμαίνεται μεταξύ 120 και 901 mg/L, ενώ στο διήθημα του MBR η μέση τιμή είναι 39.7 ± 9.6 mg/L.

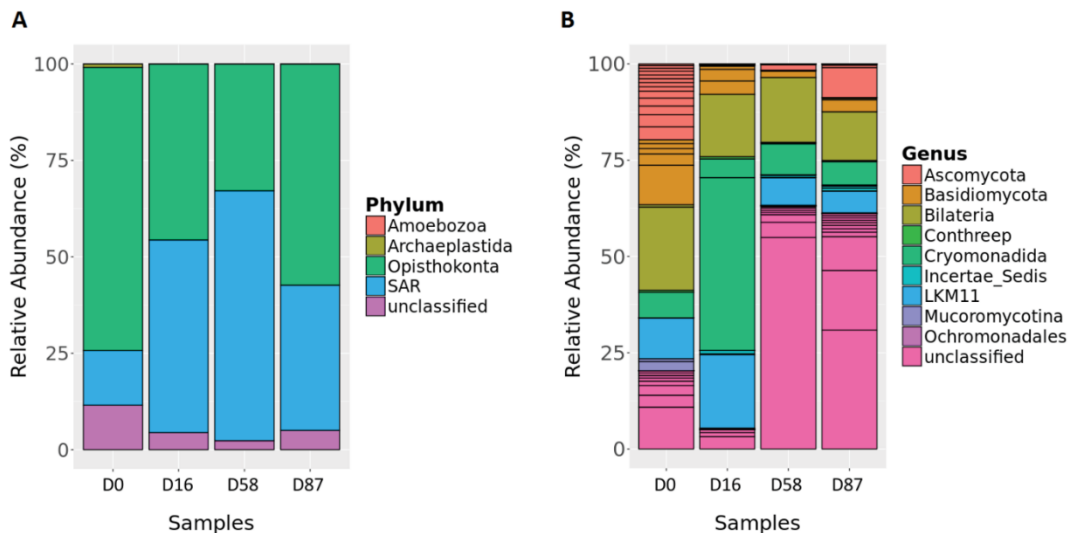


Σχήμα 2. Χρονική διακύμανση συγκέντρωσης: Α) TOC, και Β) Ολικών Πολυφαινολών, στην τροφοδοσία (ασυνεχής μπλε γραμμή) και στο διήθημα του MBR (συνεχής κόκκινη γραμμή). Τα μαύρα βέλη επισημαίνουν τις χρονικές στιγμές δειγματοληψίας για μεταγονιδιωματική ανάλυση. Η σκιασμένη περιοχή επισημαίνει τη χρονική περίοδο ταυτόχρονης τροφοδοσίας CSW και TOPW.

Η μεταγονιδιωματική ανάλυση της βιοκοινότητας έδωσε μεταξύ 126.360 και 213.719 αναγνώσεις (reads) για τους προκαρυώτες, και μεταξύ 147.664 και 151.733 αναγνώσεις για τους ευκαρυώτες στα τέσσερα δείγματα ενεργού ιλύος. Η ανάλυση της βιοκοινότητας των βακτηρίων έδειξε μια σαφή διαφοροποίηση κατά τη διάρκεια του εγκλιματισμού (Σχήμα 3). Το ποσοστό των κοινών λειτουργικών μονάδων ταξινόμησης (OTUs) στο 1^ο και το 2^ο δείγμα είναι 10.4%, όμως μειώνεται στο 1% σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Επιπλέον, το 44% των OTUs είναι κοινό στα 2 τελευταία δείγματα. Τα κυρίαρχα φύλα είναι τα *Proteobacteria* (που ελαττώνονται σημαντικά σε σχέση με το αρχικό δείγμα), τα *Actinobacteria* (που αυξάνονται σημαντικά), ενώ στο τελευταίο δείγμα εμφανίζονται και *Saccharibacteria*, που σχεδόν απουσιάζουν από το αρχικό δείγμα.

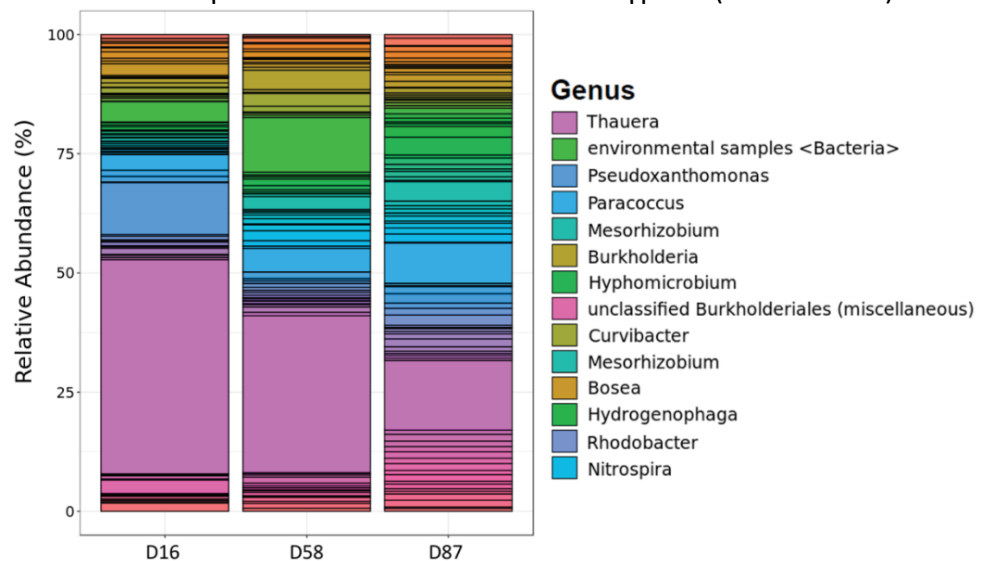


Σχήμα 3. Μεταγονιδιωματική ανάλυση προκαρυωτικής βιοκοινότητας στα τέσσερα χρονικά σημεία δειγματοληψίας της ενεργού ιλύος. Α) Κατανομή των κύριων βακτηριακών φυλών, και Β) σχετική πληθώρα αναγνώσεων (reads) των 25 πιο συνηθισμένων βακτηριακών γενών.



Σχήμα 4. Μεταγονιδιωματική ανάλυση ευκαρυωτικής βιοκοινότητας στα τέσσερα χρονικά σημεία δειγματοληψίας της ενεργού ιλύος. Α) Κατανομή των κύριων φυλών, και Β) Κατανομή των κύριων γένων.

Η ανάλυση των ευκαρυωτικών οργανισμών προσδιόρισε 2 κύρια φύλα: *Opisthokonta* και *SAR/Harosa* (Σχήμα 4). Τα δύο αυτά κυρίαρχα φύλα οργανισμών υπάρχουν σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν, αλλά μεταβάλλεται σημαντικά η σχετική τους συχνότητα. Όσον αφορά τα κυρίαρχα γένη ευκαρυωτικών μικροοργανισμών, απαντώνται κυρίως γένη *Ascomycota*, *Basidiomycota* και *LKM11* (*Cryptomycota*) στα αρχικά δείγματα, τα οποία στη συνέχεια δίνουν τη θέση τους σε γένη μικροοργανισμών που δεν έχουν ταυτοποιηθεί (unclassified). Χαρακτηριστικά, ένα συγκεκριμένο γένος μη-ταυτοποιημένου ευκαρυωτικού μικροοργανισμού το οποίο δεν απαντάται στο 1^ο δείγμα (D0), αποτελεί το 56% και 31% των αναγνώσεων στα δύο τελευταία δείγματα (D58 και D87).



Σχήμα 5. Δυναμική εξέλιξη εκφραζόμενων γονιδίων της μικροβιακής βιοκοινότητας στα δείγματα ενεργού ιλύος των ημερών 16 (D16), 58 (D58), και 87 (D87) σύμφωνα με τη βάση δεδομένων SEED.

Η δυναμική έκφραση των γονιδίων των διαφόρων μικροοργανισμών στα δείγματα ενεργού ιλύος αποτυπώνεται στην μεταγραφωματική ανάλυση των δειγμάτων D16, D58, και D87. Οι μεταγραφωματικές βιβλιοθήκες του RNA των δειγμάτων περιείχε 2.348.352, 3.786.095 και 2.835.755 αλληλουχίες ζευγαρωμένων άκρων (paired-end sequences) για τα τρία δείγματα D16, D58, και D87, αντίστοιχα. Η ταυτοποίηση των πρωτεϊνών και των σχετικών βιολογικών διεργασιών έδειξε ένα σχετικά σταθερό μεταβολικό προφίλ της βιοκοινότητας, όπου πρωτεΐνες σχετιζόμενες με τον μεταβολισμό υδατανθράκων και πρωτεϊνών είχαν τη μεγαλύτερη συχνότητα. Στα εκφραζόμενα γονίδια που σχετίζονται με την μεταβολισμό λιπιδίων και λιπαρών οξέων

παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση (3,34% @ D16 σε 4,33% @ D87) μεταξύ των τριών δειγμάτων, ενώ εντοπίστηκαν αρκετά γονίδια που σχετίζονται με τον μεταβολισμό αρωματικών, και πιθανόν πολυφαινολικών, ενώσεων. Η φυλογενετική ανάλυση των μεταγονιδιωματικών δεδομένων (Σχήμα 5) οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το 82% των εκφρασμένων γονιδίων ανήκει σε προκαρυώτες. Από τα γένη που ταυτοποιήθηκαν το γένος *Thauera* αποτελούσε σχεδόν το 50% των εκφρασμένων γονιδίων στο δείγμα D16, ενώ παρέμεινε το κυρίαρχο γένος όσον αφορά τα εκφρασμένα γονίδια και στα υπόλοιπα δύο δείγματα (33% και 15% στα D58 και D87, αντίστοιχα).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Προηγμένες μέθοδοι αλληλούχισης νέας γενιάς χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση της βιοκοινότητας και του μεταβολικού δυναμικού της, κατά τη φάση του εγκλιματισμού ενός αερόβιου πιλοτικού συστήματος MBR το οποίο επεξεργάστηκε YAMEE. Με την προσθήκη YAMEE στην τροφοδοσία παρατηρήθηκε δραστική αλλαγή στους κυρίαρχους μικροοργανισμούς της βιοκοινότητας, η οποία εδραιώθηκε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εγκλιματισμού. Η αλλαγή αυτή είναι αποτέλεσμα τόσο της προσθήκης μικροοργανισμών που είναι αυτόχθονες στα YAMEE αλλά και λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των αποβλήτων αυτών (πολυφαινόλες, αλατότητα κτλ.). Ο εγκλιματισμός της βιοκοινότητας είναι αρκετά γρήγορος καθώς καθ' όλη τη διάρκεια του εγκλιματισμού, η απόδοση του συστήματος MBR παραμένει πολύ υψηλή όσον αφορά την απομάκρυνση τόσο οργανικού φορτίου (<90%), όσο και πολυφαινολικών ενώσεων (<85%). Η μεταγονιδιωματική ανάλυση επισήμανε συγκεκριμένα γένη μικροοργανισμών (π.χ. *Thauera*), που φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση του οργανικού φορτίου και των ρυπαντών στα YAMEE. Περαιτέρω απομόνωση και μελέτη των μικροοργανισμών αυτών μπορεί να δώσει καινούργιες πληροφορίες σχετικά με την επεξεργασία YAMEE και να αποκαλύψει εξειδικευμένα μεταβολικά μονοπάτια και γονίδια που εμπλέκονται στην αποδόμηση συγκεκριμένων οργανικών ενώσεων (π.χ. πολυφαινόλες). Από τεχνολογικής σκοπιάς η μελέτη κατέδειξε ότι ενεργός ιλύς από επεξεργασία αστικών λυμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναρκτήριο βιοκοινότητα για εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων βιομηχανιών τροφίμων (π.χ. YAMEE) εφόσον ακολουθήσει κατάλληλη περίοδος εγκλιματισμού. Η ύπαρξη των μεμβρανών σε συστήματα MBR φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο καθώς επιτρέπει τη συγκράτηση του συνόλου των μικροοργανισμών κατά τη φάση του εγκλιματισμού, χωρίς την απώλεια βιομάζας λόγω κακής καθιζησιμότητας που μπορεί να συμβεί σε συμβατικές μονάδες επεξεργασίας λυμάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] G.C. Kopsidas, *Water Res*, 26 (1992) 629-631.
- [2] M. Niaounakis, C.P. Halvadakis, *Olive Processing Waste Management: Literature Review and Patent Survey*, Elsevier Science, 2006.
- [3] S.I. Patsios, A.J. Karabelas, *J Membr Sci*, 372 (2011) 102-115.
- [4] S.I. Patsios, E.H. Papaioannou, A.J. Karabelas, *J Chem Technol Biotechnol*, 91 (2016) 2253-2262.
- [5] Α.Ι. Καράμπελας, Σ.Ι. Πάτσιος, *Υβριδική Μέθοδος Βιολογικής Επεξεργασίας/Διήθησης με Μεμβράνες για τον Καθαρισμό Λυμάτων από Μονάδες Βρώσιμης Ελιάς, Οργανισμός Βιομηχανικής Ιδιοκτησίας (Ed.)*, Ελλάδα, 2018.
- [6] G. Mannina, G. Di Bella, *Biochem Eng J*, 68 (2012) 91-103.
- [7] H. Fang, L. Cai, Y. Yu, T. Zhang, *Bioresour Technol*, 129 (2013) 209-218.
- [8] S. Creer, K. Deiner, S. Frey, D. Porazinska, P. Taberlet, W.K. Thomas, C. Potter, H.M. Bik, *Methods Ecol Evol*, 7 (2016) 1008-1018.
- [9] OECD, Test No. 302A: Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test, 1981.
- [10] L.S. Clesceri, A.D. Eaton, A.E. Greenberg, A.P.H.A., A.W.W.A., W.E.F., *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, 1998.
- [11] J.D. Box, *Water Res*, 17 (1983) 511-525.
- [12] S.I. Patsios, S. Michailidou, K. Pasentsis, A.M. Makris, A. Argiriou, A.J. Karabelas, (2019) *PLoS One*, *under review*.