



Τεχνολογικό
Πανεπιστήμιο
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών
Επιστημών και
Διαχείρισης
Περιβάλλοντος

Πτυχιακή εργασία

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΤΡΟΦΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ
ΜΕΘΑΝΙΟΥ ΣΕ ΜΕΘΑΝΟΛΗ**

Ιρένα Κυπριανίδου

Λεμεσός, Μάιος 2017

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Πτυχιακή εργασία

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΑΝΟΤΡΟΦΩΝ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ
ΜΕΘΑΝΙΟΥ ΣΕ ΜΕΘΑΝΟΛΗ**

της

Ιρένας Κυπριανίδου

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Ιωάννης Βυρίδης

Λεμεσός, Μάιος 2017

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Όνομα επίθετο φοιτητή, έτος ολοκλήρωσης πτυχιακής

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας
Περιβάλλοντος του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει
απαραιτήτως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους Δρ. Ιωάννη Βυρίδη και τον διδακτορικό φοιτητή Χάρη Σαμανίδη, για τις γνώσεις που μου μετέφεραν και την βοήθεια που μου παρείχαν κατά την εκπόνηση των πειραμάτων προς επιτυχή υλοποίησή τους όπως και κατά την συνολική ερευνητική προσπάθεια μου. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τόσο την οικογένεια μου όσο και τους φίλους μου για την υπομονή που κατέδειξαν και την στήριξη που μου παρείχαν καθ' όλη την διάρκεια πραγμάτωσης και συγγραφής της πτυχιακής μου διατριβής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπό της εκπόνησης της παρούσας πτυχιακής εργασίας αποτέλεσε τόσο η απομόνωση και ταυτοποίηση (βάση του γονιδίου 16sRNA) μεθανότροφων βακτηρίων από μεικτό δείγμα προερχόμενο από αναερόβια, αερόβια λάσπη και κόμποστ με χρήση βιοαερίου ως υπόστρωμα όσο και ο έλεγχος της κατανάλωσης του μεθανίου προς παραγωγή μεθανόλης. Οι συνθήκες καλλιέργειας των δειγμάτων ήταν θερμοκρασία 30°C, συνεχή ανάδευση 100rpm, pH 6.8 και ρύθμιση της σύστασης των αερίων ώστε να εμπεριέχει 20% – 25% μεθάνιο και 10% οξυγόνο. Η ταυτοποίηση που προέκυψε βάση του γονιδίου κατατάσσει τους τρεις εκ των τεσσάρων απομονωθέντων μικροοργανισμών στο γένος *Methylomonas* και ένα στο γένος *Chryseobacterium*. Οι μικροοργανισμοί εξετάστηκαν ως προς την κατανάλωση μεθανίου (CH₄), οξυγόνου (O₂) και την παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) παρουσία και απουσία χλωριούχου νατρίου (NaCl), σε συγκέντρωση 18 gr/L, ως αναστολέα του ενζύμου αφυδρογονάση της μεθανόλης. Όλοι οι απομονωθέντες μικροοργανισμοί καθώς επίσης και μια κοινοπραξία μικρού αριθμού μεθανότροφων έχουν επιτεύξει κατανάλωση του μεθανίου και παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα συμβαδίζοντας με τα αποτελέσματα της ταυτοποίησής τους. Ο αναστολέας οδήγησε σε μειωμένους ρυθμούς κατανάλωσης μεθανίου και οξυγόνου και παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα. Η καταμέτρηση της παραγόμενης μεθανόλης δεν επιτεύχθηκε εξαιτίας της αδυναμίας δημιουργίας ορθής μεθόδου μέτρησής της στο GC TCD, γεγονός οφειλόμενο στην ανεπάρκεια χρόνου.

Λέξεις κλειδιά: Απομόνωση, Μεθανότροφοι, Βιοαέριο, *Methylomonas*, *Chryseobacterium*

ABSTRACT

The purpose of this thesis was to isolate and identify (based on the 16sRNA gene) methanotrophic bacteria from mixed sample derived from anaerobic, aerobic sludge and compost, using biogas as a substrate and observation of the consumption of methane aiming the production of methanol. The culture conditions of the samples were 30 ° C, continuous stirring 100 rpm, pH 6.8 and regulation of gas composition to contain 20% - 25% methane and 10% oxygen. The gene-based identification proved that three of the four isolated microorganisms belongs to the genus *Methylomonas* and one in the genus *Chryseobacterium*. Microorganisms were tested for the consumption of methane (CH₄), oxygen (O₂) and the production of carbon dioxide (CO₂) in the presence and absence of sodium chloride (NaCl) at 18 g / L as an inhibitor of the enzyme methanol dehydrogenase. All isolated microorganisms as well as a consortium of small number of methanotrophs have achieved methane consumption and carbon dioxide production in line with the results of their identification. The inhibitor led to reduced rates of methane and oxygen consumption and carbon dioxide production. The measurement of the methanol produced was not achieved because of the inability to generate a correct method of measuring in the GC TCD, due to the lack of time.

Keywords: Isolation, Methanotrophs, Biogas, *Methylomonas*, *Chryseobacterium*