



Διάλεξη 12

*Εφαρμογές σε βιομηχανικές διεργασίες –
Βιοπλαστικά,
Βιολογική αναγέννηση μετάλλων*

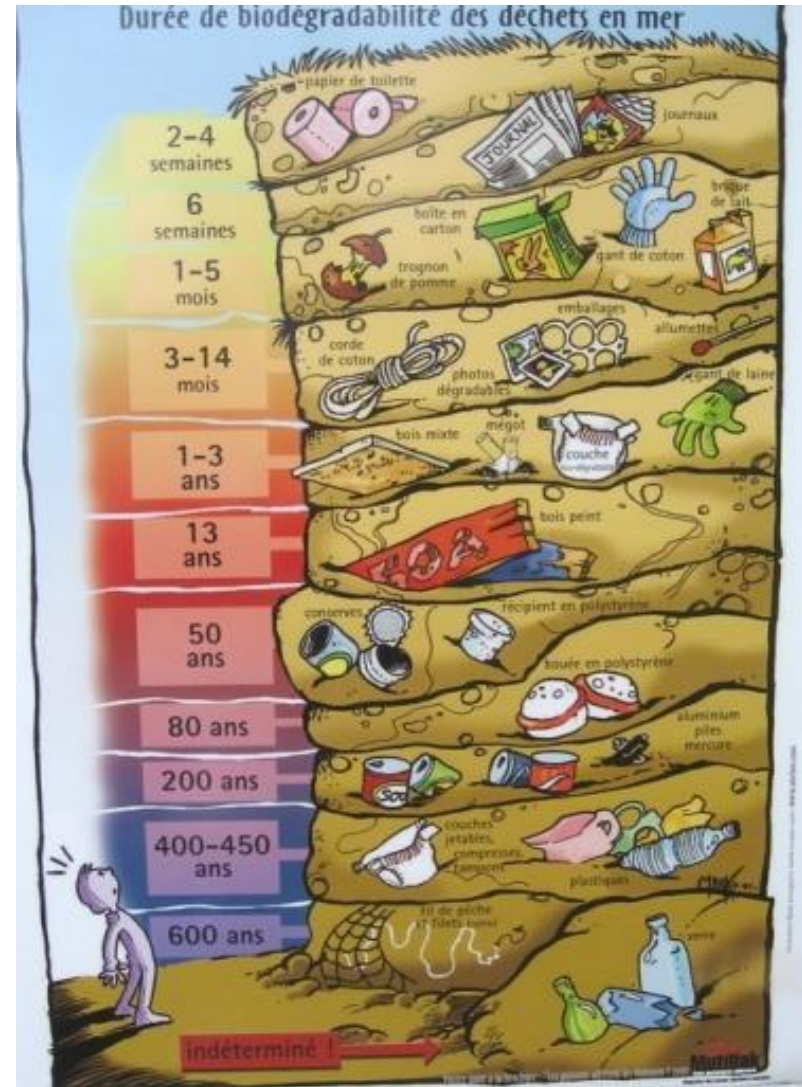


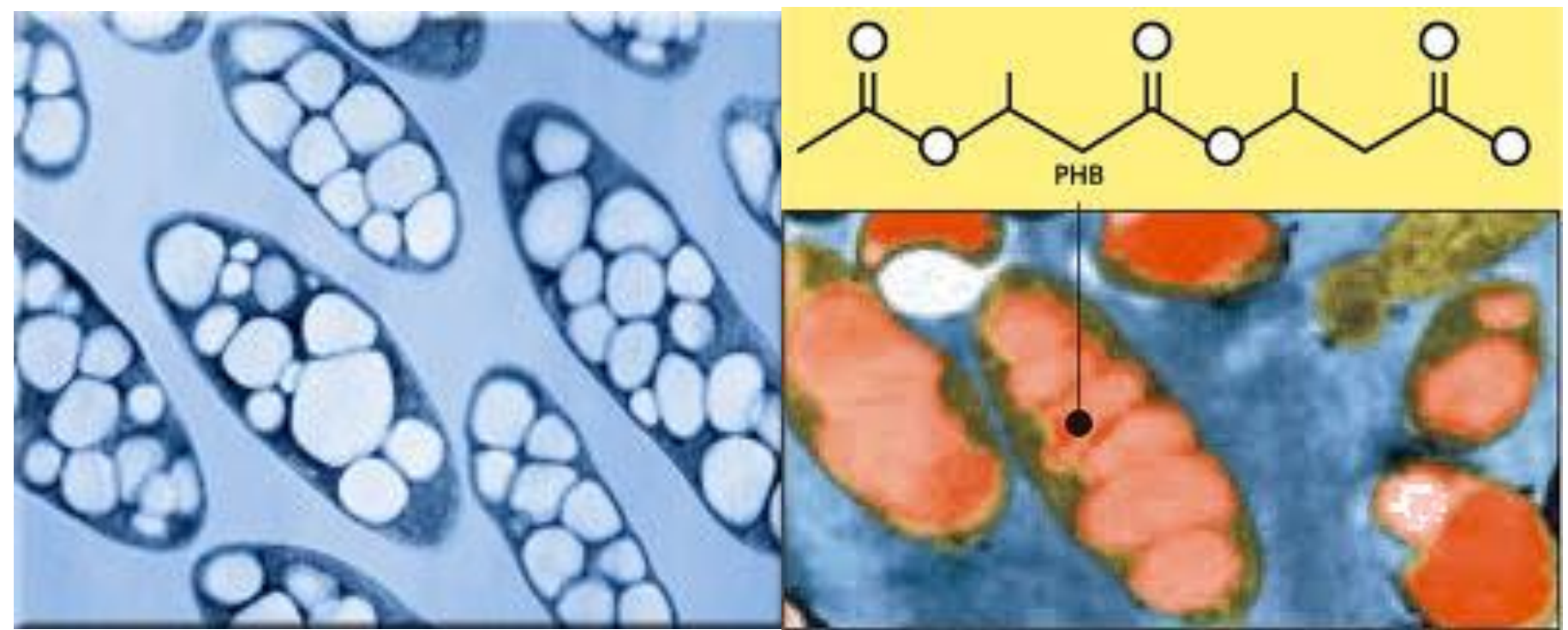
Βιοπολυμερή ή Βιοπλαστικά



Παραγωγή πλαστικών βιολογικής προέλευσης

Το 30% των στερεών αστικών αποβλήτων αποτελούνται από συμβατικά πλαστικά που δεν βιοαποδομούνται με συνέπεια την αυξημένη ζήτηση βιοαποδομούμενων πλαστικών





Βακτήρια έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν σε ενδοκυτταρικούς κόκκους πολυμερή που έχουν ανάλογες ιδιότητες και χαρακτηριστικά με τα συνθετικά πλαστικά

Κόκκοι με βιοπολυμερή στο βακτήριο *Pseudomonas oleovorans*

Κατηγορίες βιοπλαστικών

Ανάλογα με το είδος των μονομερών που αποτελούν τις δομικές μονάδες των πολυμερών βιοπλαστικών αυτά διαχωρίζονται

➤ Πολυμερή που αποτελούνται από μονομερή **C4** ή **C5**

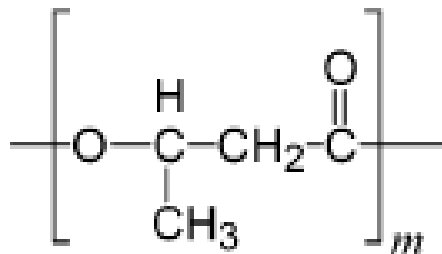
υδροξυ-αλκανοϊκά οξέα

➤ Πολυμερή που αποτελούνται από μονομερή **C6 – C12**

υδροξυ-αλκανοϊκά οξέα



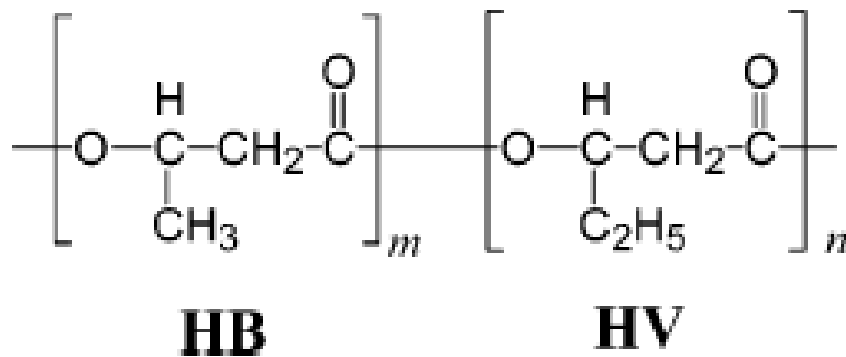
Το πρώτο βιοπολυμερές απομονώθηκε από καλλιέργειες του βακτηρίου *Bacillus megaterium* και αποτελούταν από μονάδες **3-Υδροξυβουτυρικού Οξέος (HB)**



HB

Το **πολυμερές PHB** παρουσιάζει ποιοτικά προβλήματα κατά την πλαστικοποίηση όπως κρυσταλλική στερεοποίηση, χαμηλή ανθεκτικότητα στην θέρμανση, εύθραυστο κατά την στερεοποίησηκαι για αυτούς του λόγους εγκαταλείφθηκε η βιομηχανική παραγωγή του

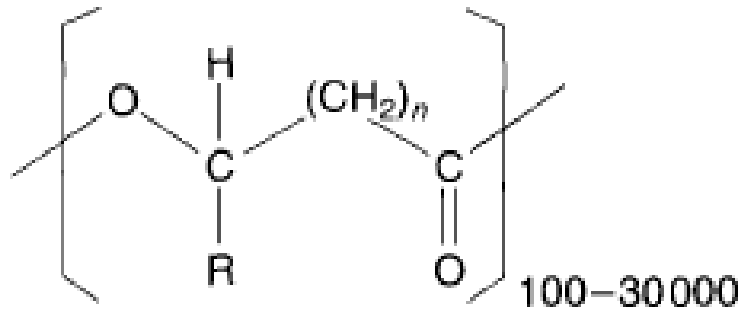
Το περισσότερο γνωστό και διαδεδομένο είναι το ετεροπολυμερές από μονάδες **[R]-3-Υδροξυβουτυρικό Οξύ (HB)** και **[R]-3-Υδροξυβαλερικό Οξύ (HV)**



Το συγκεκριμένο πολυμερές χρησιμοποιείται σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές με το εμπορικό όνομα **Biopol®** και απομονώθηκε για πρώτη φορά από το βακτήριο *Wautersia eutropha* σε καλλιέργειες με πηγή C γλυκόζη και προπιονικό οξύ



Λοιπά Βιοπλαστικά



$n = 1$ R = hydrogen Poly(3-hydroxypropionate)
R = methyl Poly(3-hydroxybutyrate)
R = ethyl Poly(3-hydroxyvalerate)
R = propyl Poly(3-hydroxyhexanoate)
R = pentyl Poly(3-hydroxyoctanoate)
R = nonyl Poly(3-hydroxydodecanoate)

$n = 2$ R = hydrogen Poly(4-hydroxybutyrate)
R = methyl Poly(4-hydroxyvalerate)

$n = 3$ R = hydrogen Poly(5-hydroxyvalerate)
R = methyl Poly(5-hydroxyhexanoate)

$n = 4$ R = hexyl Poly(6-hydroxydodecanoate)

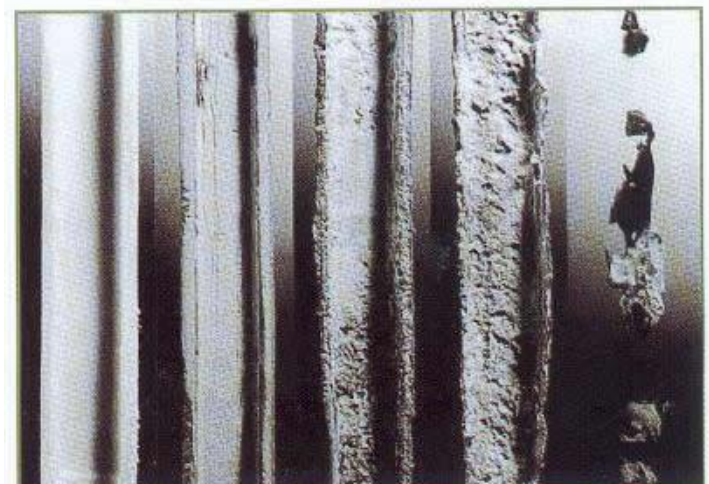


Πλεονεκτήματα βιο. πλαστικών

Τα βιοπλαστικά **πλεονεκτούν** των συμβατικών πλαστικών διότι:

- **Είναι βιο-διασπώμενα** καθώς έχουν απομονωθεί μικροοργανισμοί που τα διασπούν ενώ και τα ίδια τα βακτήρια που τα συνθέτουν έχουν ένζυμα για να τα αποσυνθέτουν
- Παράγονται από ανανεώσιμες πηγές





| A | B | C | D | E |
|------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| Test start | After 10 days | After 20 days | After 30 days | After 40 days |
| Mater-Bi samples | Weight loss 32.1% | Weight loss 55.7% | Weight loss 69% | Weight loss 90% |

Φυσιολογικός ρόλος βιο. πλαστικών

Ο φυσιολογικός ρόλος των βιο-πλαστικών είναι πιθανότατα η αποθήκευση C και ενέργειας σε συνθήκες έλλειψης κάποιων βασικών θρεπτικών στοιχείων



Διεργασία παραγωγής βιοπλαστικών

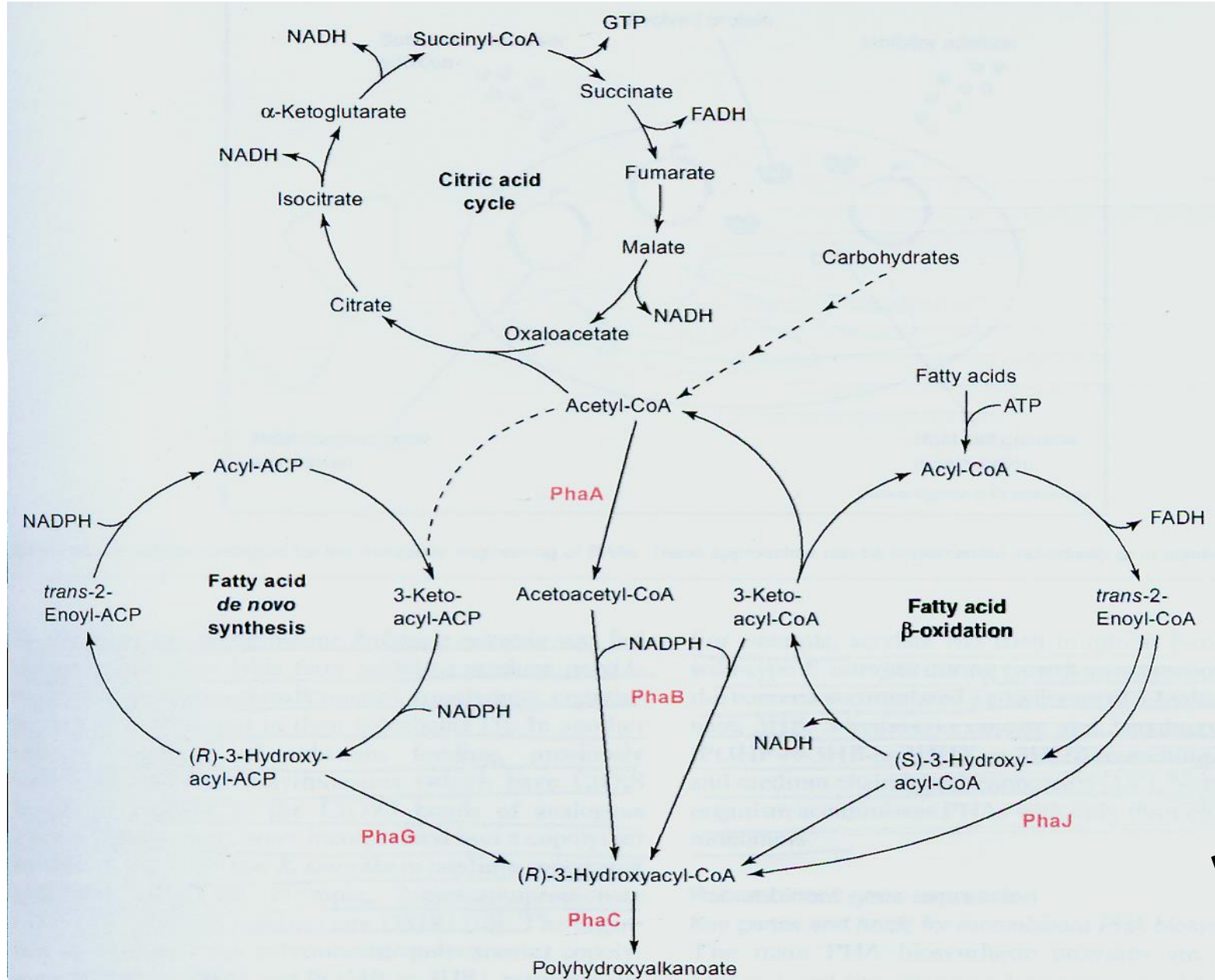
- Διάφορα βακτήρια έχουν την ικανότητα, σε συνθήκες έλλειψης N, S, P να αναστέλλουν την χρήση των ακέτυλο μονάδων στον κύκλο του Krebs (λόγω έλλειψης θρεπτικών) **αλλά να τις χρησιμοποιούν για τον σχηματισμό πολυμερών με δομική μονάδα υδροξυ-αλκανοικά οξέα (PHAs)**
- Επαναφορά των βακτηρίων σε συνθήκες μη-έλλειψης θρεπτικών οδηγεί σε διάσπαση των πολυμερών στα αντίστοιχα μονομερή για εξοικονόμηση ενέργειας



Βιοσύνθεση βιοπλαστικών

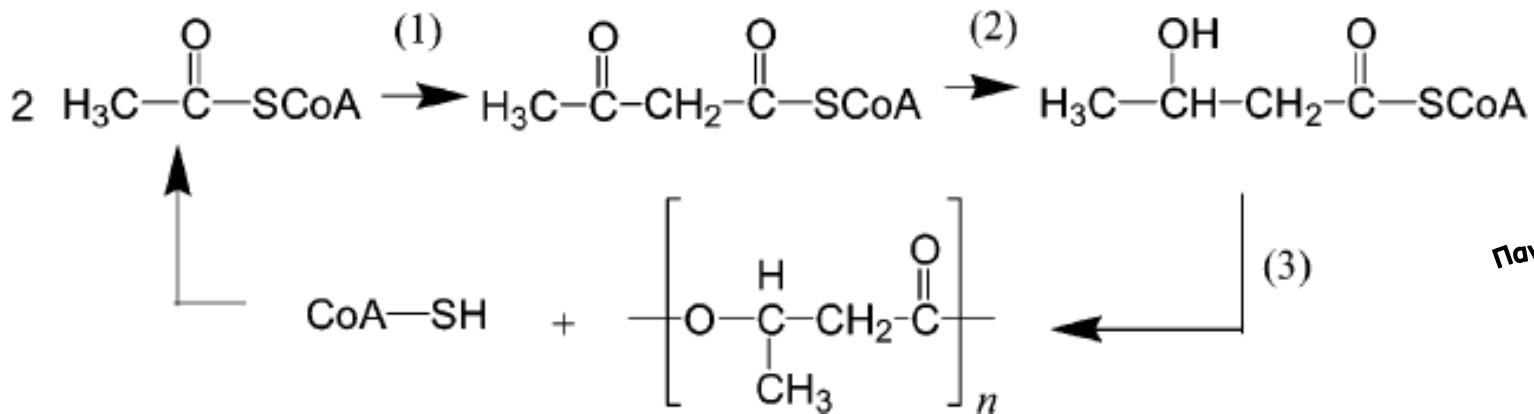
- **Κύκλος του Krebs** αποδίδοντας ακετυλο-CoA που χρησιμοποιείται στην επιμήκυνση της αλυσίδας του ακυλο-CoA
 - **β-οξειδωση λιπαρών οξέων**, αποτελεί το κύριο μεταβολικό μονοπάτι όταν ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιείται κάποιο λιπαρό οξύ
 - **βιοσύνθεση λιπαρών οξέων**, αποτελεί το κύριο μεταβολικό μονοπάτι όταν ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιείται κάποιο μικρού μοριακού βάρους μόριο
- Όλα τα παραπάνω μονοπάτια μεταβολισμού οδηγούν στην παραγωγή του μονομερούς (*R*-3-ύδροξυ-άκυλCoA) που αποτελεί δομική ύλη για την παραγωγή των βιο-πλαστικών (PHAs)

Βιοσύνθεση βιο-πλαστικών

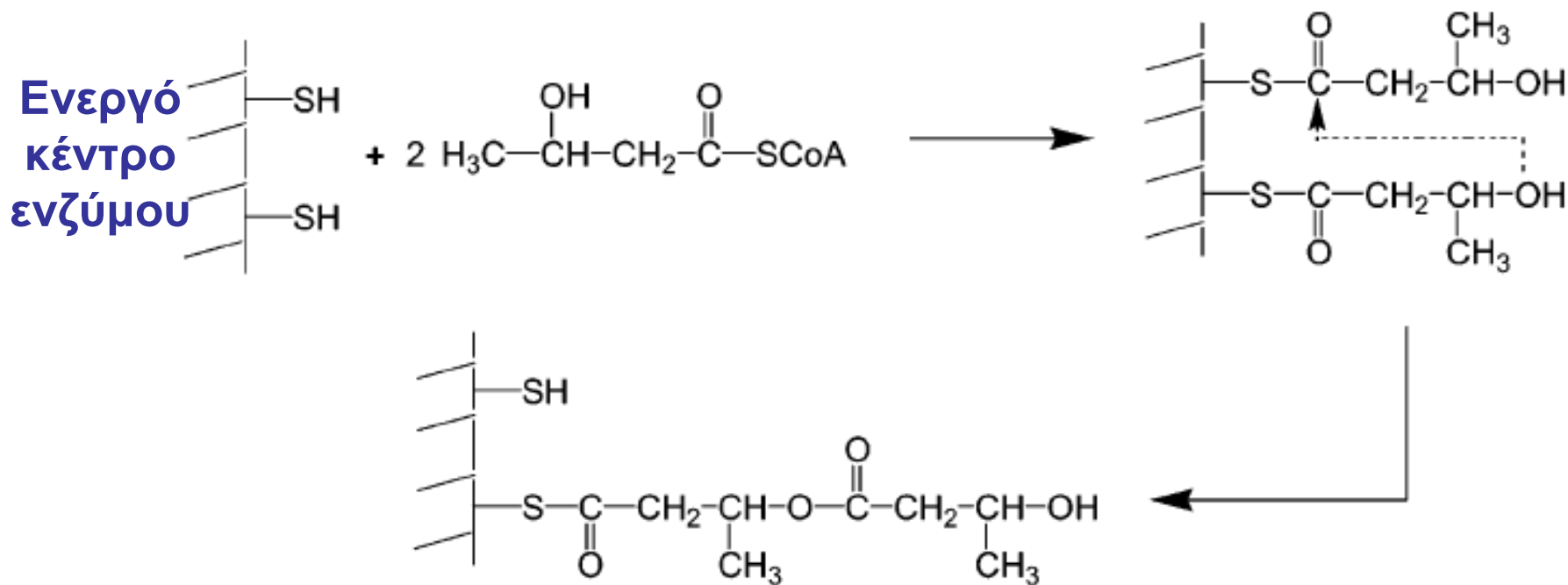


Βιοσύνθεση των πολυμερών

- 1. Κετοθειολάση:** καταλύει τον διμερισμό του ακέτυλοCoA σε ακετοακετυλοCoA
- 2. Αναγωγή:** καταλύει την προσθήκη υδρογόνου στο προϊόν της προηγούμενης αντίδρασης
- 3. Πολυμεράση:** πολυμερισμός των μονομερών προϊόντων από την προηγούμενη αντίδραση



Πως δρα η πολυμεράση?



- Δύο θειολικές ομάδες (-SH) στο ενεργό κέντρο του ενζύμου ενώνονται με δύο μονάδες μονομερών
- Ακολουθεί θειοεστερική – οξυεστερική ανταλλαγή, σχηματισμός του διμερούς και ταυτόχρονη ελευθέρωση -SH που είναι ελεύθερη για προσθήκη νέου μορίου μονομερούς

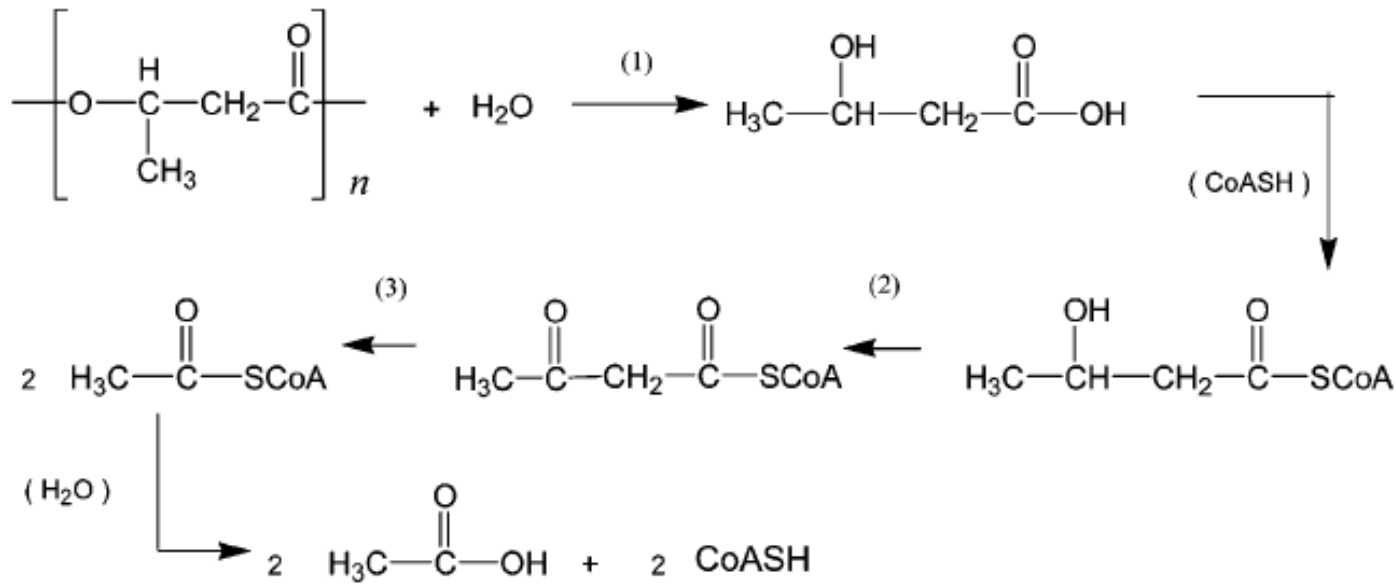
Βακτήρια που συνθέτουν βιοπλαστικά

Περίπου 300 βακτήρια που παράγουν PHAs έχουν απομονωθεί αλλά ελάχιστα έχουν χρησιμοποιηθεί στην πράξη (*W. eutrophus*, *Pseudomonas oleovorans*)

Η σύνθεση και δομή των βιο-πλαστικών εξαρτάται κυρίως από τις **PHAs πολυμεράσες** και το είδος του **υδροξυακυλ-CoA** που παρέχει την δομική ύλη για την κατασκευή των πολυμερών



Πως υδρολύονται τα βιοπλαστικά ?



1. Υδρολάση ή Αποπολυμεράση

2. Απουδρογονάση

3. Υδρολάση



Γενετικός μηχανισμός παραγωγής βιοπλαστικών

Η παραγωγή βιοπλαστικών ελέγχεται από σειρά

*χρωμοσωμικών γονιδίων (*pha*) που έχουν διαφορετικό ρόλο:*

➤ *phaC1 & C2: PHA πολυμεράσες*

➤ *phaZ: PHA αποπολυμεράσες*

➤ *phaF & phaI: βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην μεμβράνη που περικλείει τους κόκκους και συμμετέχουν*

πιθανότατα στην σχηματική διαμόρφωση των κόκκων



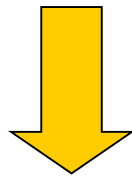
Η βελτιστοποίηση παραγωγής βιοπολυμερών με την χρήση τεχνικών μεθόδων

- Επιλογή κατάλληλης πηγής άνθρακα (σε επίπεδο εργαστηρίου) μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή του επιθυμητού PHAs
- Προσθήκη ουσιών (ακρυλικό οξύ) που αναστέλλουν την δράση ανταγωνιστικών μεταβολικών μονοπατιών οδηγώντας αποκλειστικά στην παραγωγή PHAs



Επιλογή κατάλληλης πηγής άνθρακα

Με κατάλληλη επιλογή υποστρώματος C (σε εργαστηριακό επίπεδο) μπορούμε να κατευθύνουμε την παραγωγή προς συγκεκριμένης δομής και σύστασης βιοπλαστικά



Καλλιέργεια *W. eutropha* με θείο-λιπαρά οξέα ως πηγή C οδήγησε στην παραγωγή **πολύ-3-υδροξυ-S-πρόπυλο-ω-θειοαλκανοϊκά οξέων** που παρουσιάζουν επιθυμητά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά



Η βελτιστοποίηση της παραγωγής βιοπολυμερών με την χρήση βιοτεχνολογικών μεθόδων

- Εισαγωγή γονιδίων *pha* σε *E. coli* (ιδανικός δέκτης?)
- Ενίσχυση αριθμού των αντιτύπων γονιδίων *pha* σε βακτήρια που παράγουν PHAs
- **Εισαγωγή ετερόλογου *phaC* σε βακτήρια που περιέχουν ήδη *phaC* με διαφορετικό φάσμα υποστρωμάτων C**
- **Σίγηση γονιδίων που ευνοούν μειωμένη παραγωγή PHAs**
- **Τροποποίηση PHAs πολυμεράσης για αυξημένη παραγωγή PHAs**
- **Ενσωμάτωση *pha* γονιδίων σε βακτήρια που δεν κατέχουν φυσικούς μηχανισμούς παραγωγής PHAs αλλά μπορούν να χρησιμοποιούν φθηνά υποστρώματα C (Το αντίστροφο?)**

Γιατί το *E. coli* είναι ιδανικός δέκτης γεν. τροποποιήσεων?

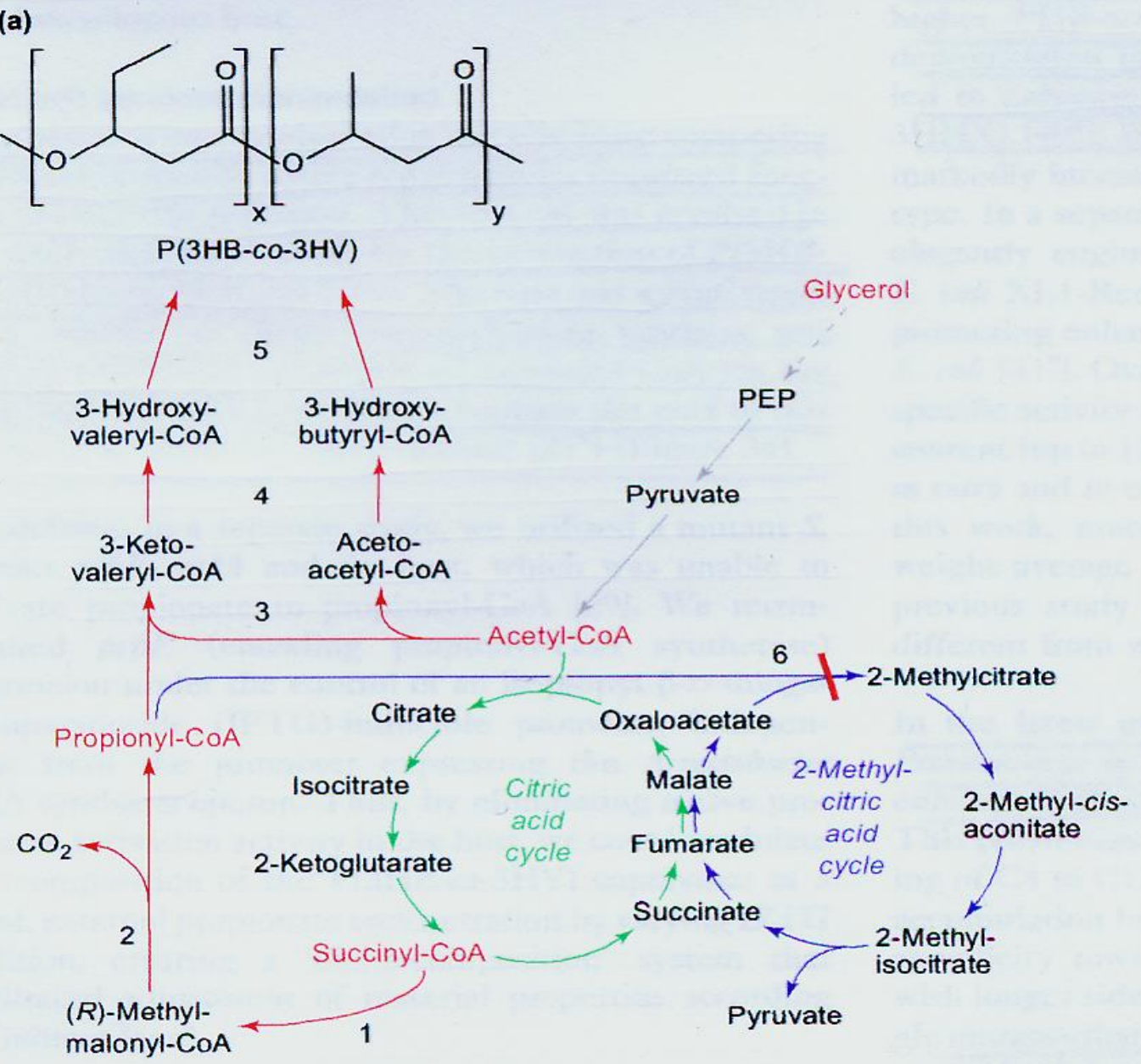
1. Γρήγορους ρυθμούς ανάπτυξης
2. Ύπαρξη πολλών πληροφοριών για την γενετική και τη βιοχημεία αυτών των βακτηρίων
3. Εύκολη η γενετική τροποποίηση για παραγωγή PHAs αλλά και καλλιέργεια τους σε βιομηχανική κλίμακα
4. Δεν απαιτείται η τεχνητή έλλειψη θρεπτικών για να ενεργοποιηθεί το μονοπάτι σύνθεσης PHAs
5. Σχετικά απλές κυτταρικές μεμβράνες που καταλύονται εύκολα για συγκομιδή των κόκκων PHAs
6. Δεν περιέχουν φυσικά ενζυμικά συστήματα (αποπολυμεράσες) για την διάσπαση των PHAs
7. Μπορούν να χρησιμοποιήσουν φθηνά υποστρώματα C

Εισαγωγή ετερόλογου *phaC* σε βακτήρια που περιέχουν ήδη *phaC* με διαφορετικό φάσμα υποστρωμάτων C

Εισαγωγή *phaC* από το βακτήριο *W. eutrophus* που παράγει PHB στο βακτήριο *P. oleovorans* που παράγει C₆-C₁₂ PHAs οδήγησε σε βακτήρια με ανασυνδυασμένο DNA που παρήγαγαν PHBs μίγμα HBs και μεγαλομοριακών HAs



Σίγηση γονιδίων που ευνοούν μειωμένη παραγωγή PAHs



Σίγηση του γονιδίου που ελέγχει την παραγωγή του ενζύμου συνθετάση του μεθυλοκιτρικού οξέος οδήγησε στην χρήση του προπιονυλ-CoA για την παραγωγή PHBs

Γενετική τροποποίηση PHAs πολυμεράσης για αυξημένη παραγωγή PHAs

Η γενετική τροποποίηση της PHA πολυμεράσης και επιλεκτική αντικατάσταση αμινοξέων σε δύο σημεία οδήγησε σε αύξηση της περιεκτικότητας των *E. coli* βακτηρίων σε PHBs κατά 400 φορές



Βιομηχανικές χρήσεις βιοπλαστικών

- Κατασκευή πλαστικών μπουκαλιών σαμπουάν
- Καρδιοχειρουργική για την κατασκευή βαλβίδων καρδιάς καθώς και για αγγειοπλαστική βελτίωση της κυκλοφορίας σε ασθενείς που πάσχουν από κυκλοφορικά προβλήματα
- Παραγωγή χρωμάτων/βαφών (ΑΤΟ, Ολλανδία)

Biopol™ βιολογικό πλαστικό που διατίθεται από την Metabolix

Nodax™ βιολογικό πλαστικό διατίθεται από την Proctor & Gamble



Προϋποθέσεις βιομηχανικής εφαρμογής βιοπλαστικών ?

- Φθινό υπόστρωμα C για τα βακτήρια
- Υψηλή παραγωγικότητα και αποτελεσματικότητα στην συσσώρευση PHAs (g PHAs που παράγονται ανά g υποστρώματος C)

Table 1. Effect of substrate cost and P(3HB) yield on the production cost of P(3HB)

| Substrate | Approximate price (US\$ kg ⁻¹) | P(3HB) yield [g P(3HB) (g substrate) ⁻¹] | Substrate cost {US\$ [kg P(3HB)] ⁻¹ } |
|---------------------------|---|--|--|
| Glucose | 0.493 ^a (0.220 ^c) | 0.38 ^b | 1.30 (0.58) |
| Sucrose | 0.290 ^d | 0.40 ^b | 0.72 |
| Methanol | 0.180 ^e | 0.43 ^b | 0.42 |
| Acetic acid | 0.595 ^e | 0.38 ^b | 1.56 |
| Ethanol | 0.502 ^a | 0.50 ^b | 1.00 |
| Cane molasses | 0.220 ^a | 0.42 ^a | 0.52 |
| Cheese whey | 0.071 ^a | 0.33 ^a | 0.22 |
| Hemicellulose hydrolysate | 0.069 ^a | 0.20 ^a | 0.34 |

Προβλήματα βιομηχανικής εφαρμογής των βιοπλαστικών

- **Συγκριτικά υψηλό κόστος** (τιμή πώλησης Biopol® 16\$/kg με κατώτερη τιμή στο μέλλον 5\$/kg) που θα πρέπει να μειωθεί (2 \$/kg) ώστε να καταστεί ανταγωνιστική η παραγωγή τους (τιμή συμβατικών πλαστικών 1\$/kg)
- Περιορισμένη εμπειρία σε μηχανικές προσεγγίσεις για την παραγωγή βιοπλαστικών σε βιομηχανική κλίμακα



Ιδανικά βακτήρια για παραγωγή PHAs

- Γενετικά τροποποιημένα βακτήρια που θα συσσωρεύουν 70-90% του ξηρού βάρους τους ως βιοπολυμερή
- Θα αναπτύσσονται σε βιοαντιδραστήρες σε υψηλούς πληθυσμούς (150-200 g/L)
- Θα χρησιμοποιούν ως πηγή C φθηνές πρώτες ύλες (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, φυτικά έλαια, παραπροϊόντα από επεξεργασία τροφίμων)



Βιοτεχνολογικές παρεμβάσεις στην βιομηχανική παραγωγή βιοπλαστικών III

Ενσωμάτωση των γονιδίων της PAHs πολυμεράσης και άλλων συνδεδεμένων γονιδίων σε φυτά για δημιουργία φυτών που θα παράγουν βιο-πλαστικά σε υψηλές αποδόσεις (Αποτέλεσμα:

Τεράστια μείωση του κόστους παραγωγής, 1\$ / kg)



Κόκκοι βιοπολυμερών στους χλωροπλάστες του φυτού *Arabidopsis thaliana*

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



*Βιολογική έκπλυση
μετάλλων
(Metal Bioleaching)*





Ο ποταμός Rio Tinto στην Ισπανία παρουσιάζει κόκκινα νερά λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε Fe^{+3} λόγω μικροβιακής οξειδωσης



Βιολογική έκπλυση μετάλλων

Είναι η χρήση της μεταβολικής δραστηριότητας ορισμένων μικροοργανισμών για την ανάκτηση μετάλλων από ορυκτά χαμηλής περιεκτικότητας σε μέταλλα (0.5-1.5%) των οποίων η παραπέρα ανάκτηση δεν είναι οικονομικά συμφέρουσα με συμβατικές μεθόδους



Βιολογική έκπλυση μετάλλων - Χρήσεις

Η βιολογική ανάκτηση μετάλλων χρησιμοποιείται σε βιομηχανική κλίμακα για την αναγέννηση μετάλλων όπως Cu και Au τα οποία βρίσκονται υπό μορφή αδιάλυτων σουλφιδίων (MS)



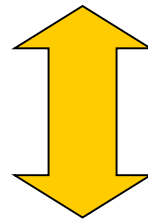
Πλεονεκτήματα βιο. έκπλυσης μετάλλων

- Απαιτεί την κατανάλωση μικρών ποσοτήτων ενέργειας
- Η χρήση της δεν εξαρτάται από την περιεκτικότητα των ορυκτών σε μέταλλα
- Χαμηλό αρχικό και λειτουργικό κόστος
- Απλή και εύκολα ελεγχόμενη μέθοδος



Μικροοργανισμοί – βιο. έκπλυση μετάλλων

Κυρίως χημειοαυτότροφα βακτήρια ή αρχαία που χαρακτηρίζονται ως **Fe-οξειδωτικά βακτήρια** ή **S-οξειδωτικά βακτήρια** και ελευθερώνουν μέταλλα από μεταλλικά σουλφίδια



Fe- ή S-αναγωγικά βακτήρια στην βιολογική απορρύπανση μετάλλων.....μετατρέπουν διαλυτές μορφές μετάλλων προς μεταλλικά σουλφίδια!!!!!!!

Μικροοργανισμοί – βιο. έκπλυση μετάλλων

- **Χημειοαυτότροφα αερόβια βακτήρια:** *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *At. thiooxidans*, *At. caldus* / *Leptospirillum ferrooxidans*, *L. ferriphilum*, *L. thermoferrooxidans*
- **Ετερότροφα αερόβια, οξεόφιλα βακτήρια:** *Acidiphilus* (συμβιωτικά με τα *Acidithiobacillus*)
- **Αρχαία:** *Ferroplasma*, *Sulfolobus*, *Metallosphaera*, *Acidianus*

Χημειοαυτότροφα βακτήρια

- Χρησιμοποιούν Fe^{+2} ή ανηγμένες μορφές S (S^0) ως πηγές ηλεκτρονίων για την παραγωγή ενέργειας
- Οξεόφιλα (optimum pH 1.5-2)
- Ανθεκτικά σε υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων
- Δεσμεύουν CO_2 για να καλύπτουν τις αναβολικές τους ανάγκες



Χημειοαυτότροφα βακτήρια

At. ferrooxidans: παραδοσιακά θεωρούνταν ο πιο συνήθης μικροοργανισμός σε συστήματα βιολογικής έκπλυσης μετάλλων αλλά είναι ευαίσθητα όταν ο λόγος Fe^{+3}/Fe^{+2} είναι υψηλός (stirred-tank systems)

At. thiooxidans: Δεν μπορούν να οξειδώσουν Fe^{+2} και άρα συμμετέχουν μόνο στην οξείδωση ανηγμένων μορφών S

At. caldus: Δεν μπορούν να οξειδώσουν Fe^{+2} και άρα συμμετέχουν μόνο στην οξείδωση ανηγμένων μορφών S, είναι ελαφρώς θερμοφιλα (45-50°C)

L. ferrooxidans: Μπορούν να οξειδώσουν Fe^{+2} ακόμη και σε υψηλές τιμές του λόγου Fe^{+3}/Fe^{+2} και αποτελούν σημαντικά μέλη της μικροβιακής κοινότητας σε συστήματα έκπλυσης μετάλλων

Ετερότροφα βακτήρια

- Βακτήρια του γένους *Acidiphilum*
- Θετικά κατά gram
- Ανθεκτικά σε ιδιαίτερα όξινα περιβάλλοντα
- Συνήθως συμβιώνουν με τα βακτήρια του γένους *Acidithiobacillus* και χρησιμοποιούν οργανικά που παράγονται από αυτά ως πηγή άνθρακα



Αρχαία

Ferroplasma acidarmanus, *F. acidiphilum*: Μεσόφιλα, οξεόφιλα, αερόβια που μπορούν να οξειδώνουν μόνο Fe^{+2} και όχι S

Sulfolobus metallicus: θερμόφιλα (optimum 68°C), οξεόφιλα, αερόβια που μπορούν να οξειδώνουν αποτελεσματικά Fe^{+2} , S και μεταλλικά σουλφίδια

Metallosphaera sedula: θερμόφιλα (optimum $80-85^{\circ}\text{C}$), οξεόφιλα (pH 1-4.5), που μπορούν να οξειδώνουν αποτελεσματικά Fe^{+2} , S ενώ μπορούν να διατρέφονται και σε απλά οργανικά μόρια

Acidianus brierleyi: θερμόφιλα (optimum 70°C), οξεόφιλα (pH 1-2), που μπορούν να οξειδώνουν αποτελεσματικά Fe^{+2} , S (αυτότροφα) ενώ μπορούν να διατρέφονται και σε απλά οργανικά μόρια (ετερότροφα)

Μηχανισμοί βιολογικής έκπλυσης μετάλλων

Ο μηχανισμός βιολογικής έκπλυσης μετάλλων έχει

αποδειχθεί πλέον ότι είναι μόνο έμμεσος (;)

Ο ρόλος των μικροοργανισμών στην βιολογική έκπλυση

μετάλλων είναι 1) να παρέχει H_2SO_4 για διατήρηση όξινων

συνθηκών και παροχή H^+ για την υδρόλυση των MS και 2)

να διατηρεί το Fe στην οξειδωμένη μορφή (Fe^{+3}) για την

οξείδωση των MS



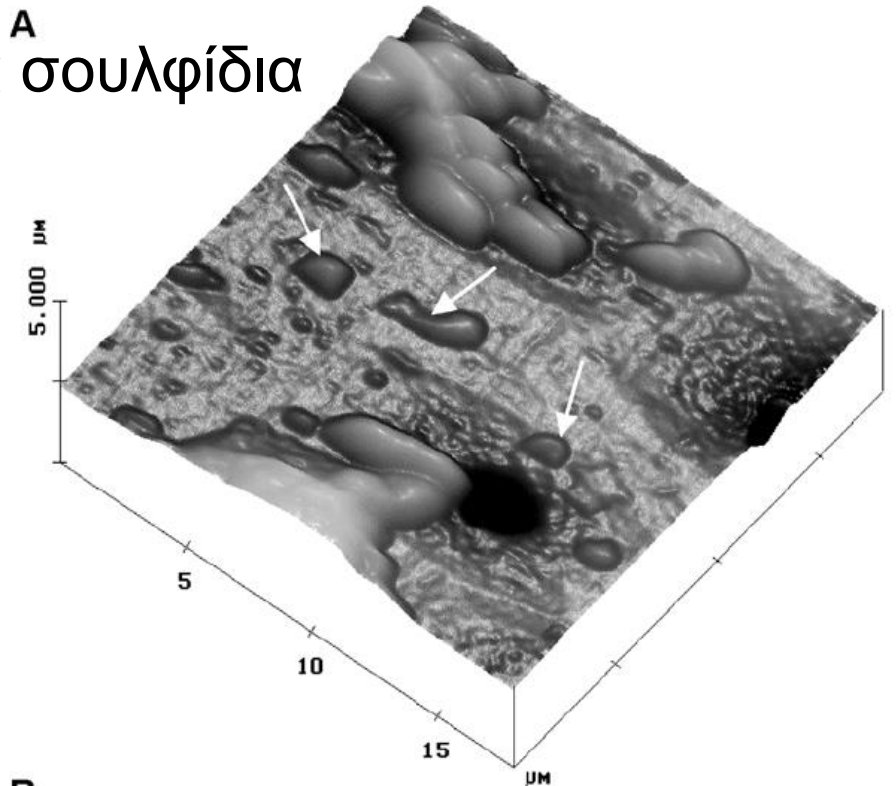
Μηχανισμοί βιολογικής έκπλυσης μετάλλων

- Βιολογική έκπλυση επαφής (contact leaching)
- Βιολογική έκπλυση χωρίς επαφή (non-contact leaching)



Μηχανισμός έκπλυσης με επαφή

Τα βακτήρια *At. ferrooxidans* & *L. ferrooxidans* έχουν την ικανότητα να παράγουν τεράστιες ποσότητες εξωπολυσακχαριδίων (EPS τα οποία βοηθούν στην προσκόλληση των βακτηρίων στην επιφάνεια του ορυκτού όπου βρίσκονται τα μεταλλικά σουλφίδια



Μηχανισμός έκπλυσης contact bioleaching

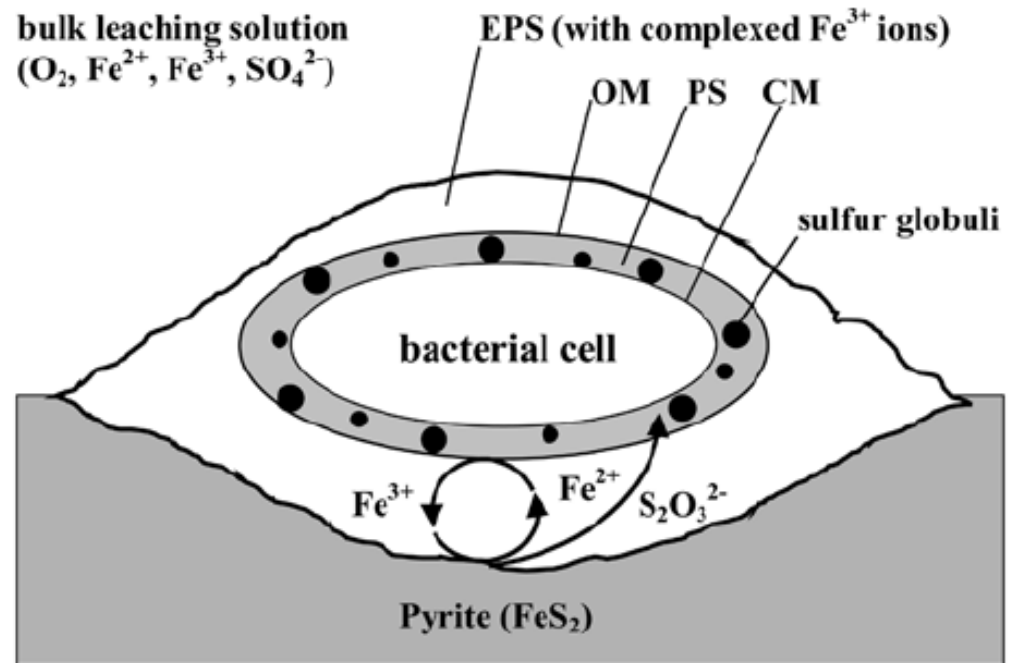
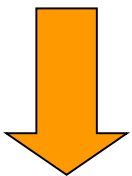
Εντός του στρώματος των EPS τα Fe-οξειδωτικά βακτήρια διατηρούν υψηλή συγκέντρωση Fe^{3+} (σύμπλοκα με γλυκουρονικό οξύ) τα οποία προκαλούν οξείδωση των

μεταλλικών σουλφιδίων και ελευθέρωση Fe^{2+} τα

οποία οξειδώνονται ξανά

από τα Fe-οξειδωτικά

βακτήρια



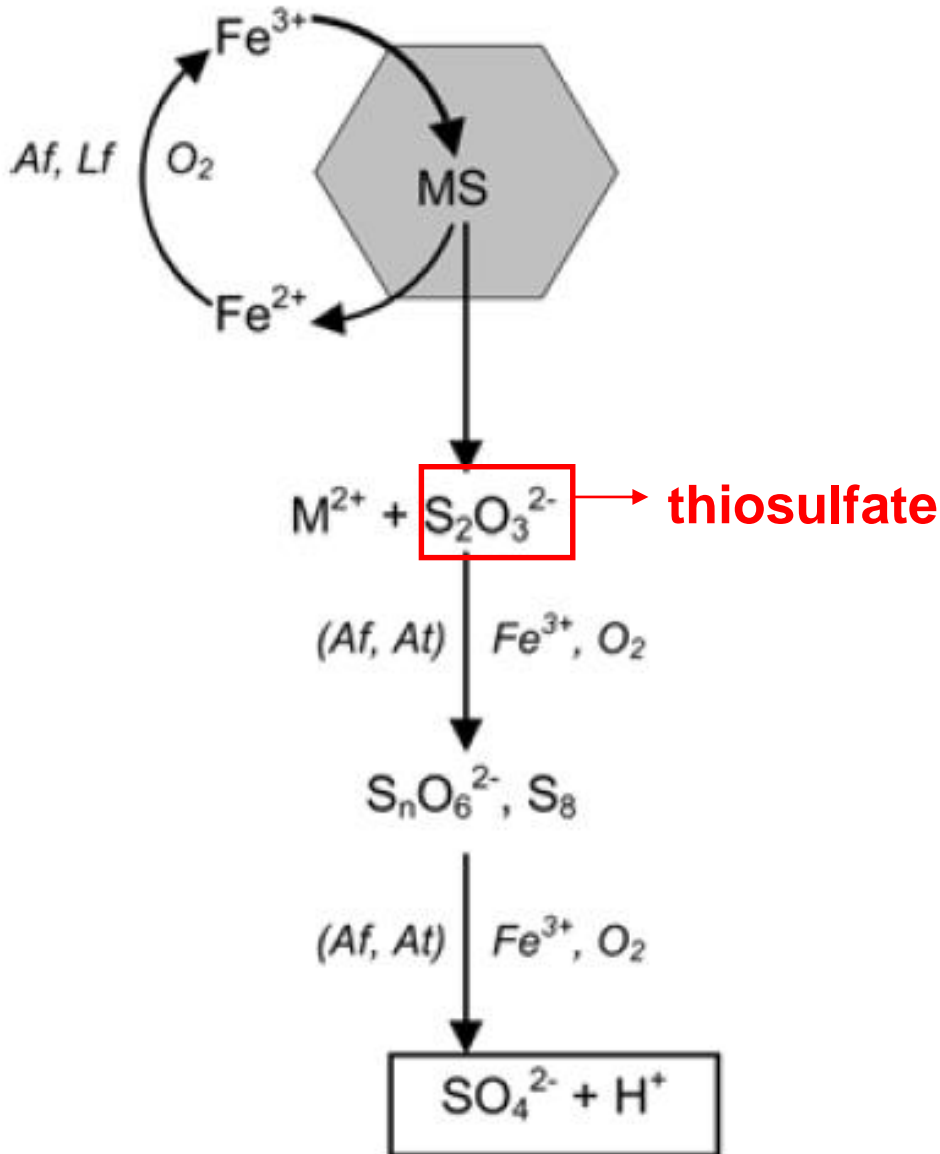
Μηχανισμός έκπλυσης χωρίς επαφή

Σημαντικός μηχανισμός για Fe- και S-οξειδωτικά βακτήρια που έχουν την ικανότητα να οξειδώνουν Fe^{+2} σε διαλυτή μορφή προς Fe^{+3} που καταλύει είτε απευθείας είτε με την βοήθεια H^+ την διάσπαση των μεταλλικών σουλφιδίων

- **Μηχανισμός θειοθειϊκού (Thiosulfate)**
- **Μηχανισμός πολυσουλφιδίου (Polysulfide)**



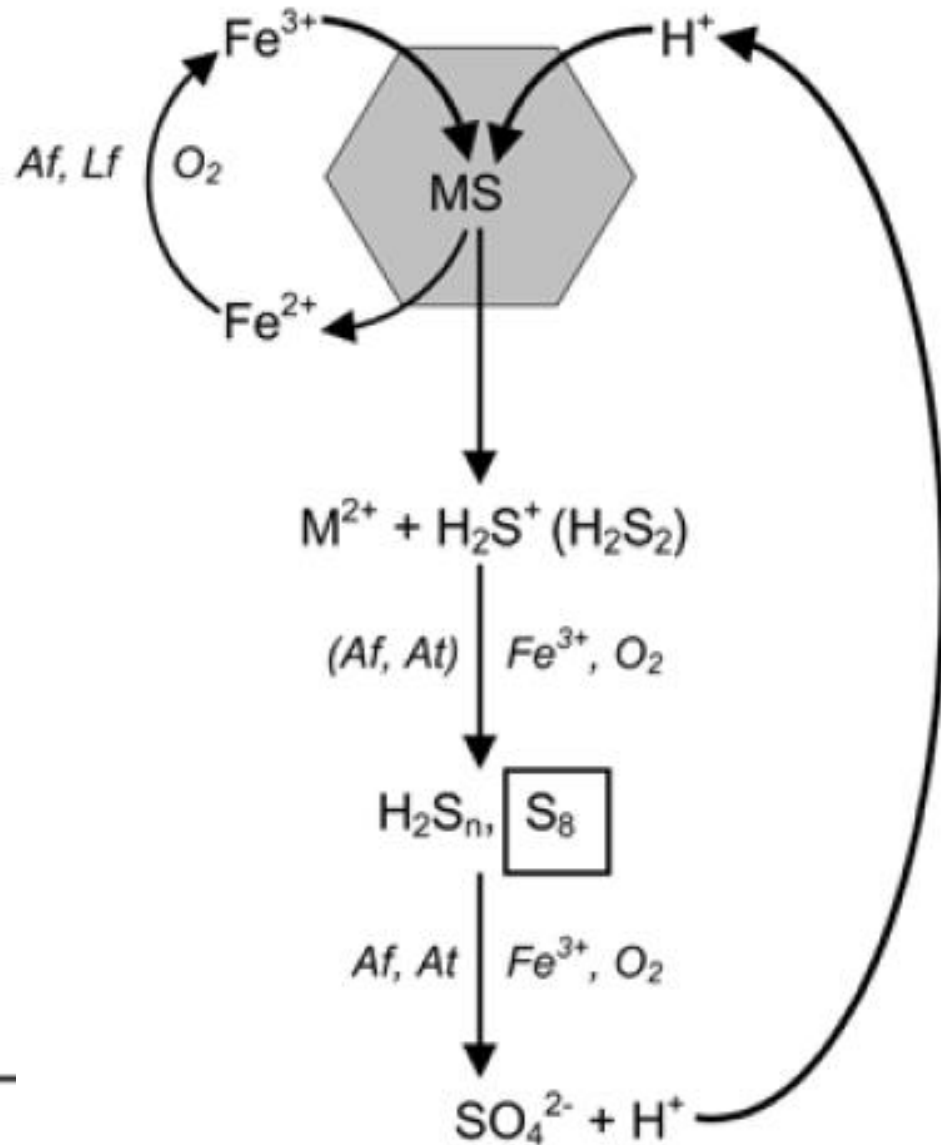
Μηχανισμός θειοθειϊκού



Σημαντικός μηχανισμός για μεταλλικά σουλφίδια αδιάλυτα σε όξινες συνθήκες (FeS_2 , MoS_2)

Η διαλυτοποίηση των MS πραγματοποιείται με μετακίνηση e^- από το MS προς Fe^{3+} που οδηγεί στην παραγωγή thiosulfate ως ενδιάμεσου προϊόντος, S (μικρή ποσότητα) και SO_4

Μηχανισμός Polysulfide

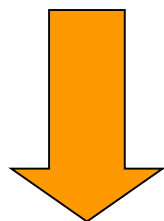


Έκπλυση μεταλλικών
σουλφιδίων διαλυτών σε όξινες
συνθήκες (ZnS, PbS, CuFeS₂)

Η διάσπαση των MS
πραγματοποιείται με συνδυασμένη
προσβολή από H⁺ και παραλαβή
e⁻ από τον Fe³⁺ **αν και μπορεί να
γίνει μόνο με την H⁺ προσβολή**

Ενδιάμεσα προϊόντα
πολυσουλφίδια που με την βοήθεια
των S-οξειδωτικών βακτηρίων
παράγεται SO₄ και H⁺ για νέο
κύκλο αντιδράσεων

Η θεωρία των δύο διαφορετικών βιοχημικών μηχανισμών, thiosulfate και polysulfide, δίνει εξήγηση γιατί ορισμένα Fe και S-οξειδωτικά βακτήρια δεν μπορούν να οξειδώσουν κάποια σουλφίδια μετάλλων



- *At. thiooxidans* δεν συμμετέχει στις αντιδράσεις του μηχανισμού thiosulfate (Γιατί?)
- *L. ferrooxidans* δεν μπορεί μόνο του να ολοκληρώσει τις αντιδράσεις του μηχανισμού polysulfide (Γιατί?)



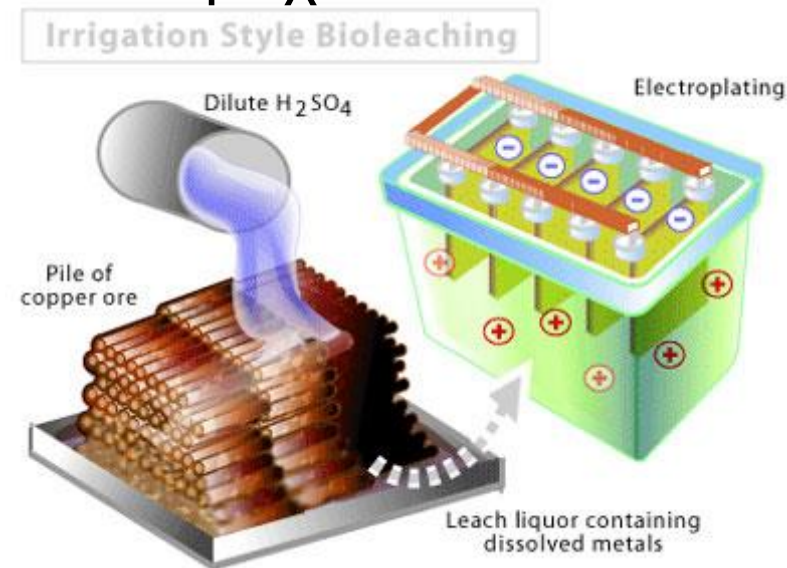
Τεχνολογίες Εφαρμογής

- Μέθοδος άρδευσης (Irrigation Type process)
 - Μέθοδος των σωρών (Heap & Dump bioleaching)
 - *In situ* βιολογική ανάκτηση (*In situ* bioleaching)
- Μέθοδος αναδευόμενων αντιδραστήρων (Stirred-tank process)



Dump Bioleaching of metals

- Τα ορυκτά τοποθετούνται σε σωρούς ύψους < 350 m και αρδεύονται αρχικά με διάλυμα αραιού H_2SO_4
- Το εκπλενόμενο διάλυμα περιέχει μέταλλα όπως Cu (σε μορφή $CuSO_4$) και διοχετεύεται σε ηλεκτρικό πεδίο (electrowinning) για διαχωρισμό των μετάλλων
- Το επεξεργασμένο πλέον διάλυμα που περιέχει *Acidithiobacillus* και λοιπά Fe- και S-οξειδωτικά βακτήρια προστίθεται με άρδευση στον σωρό



Dump bioleaching



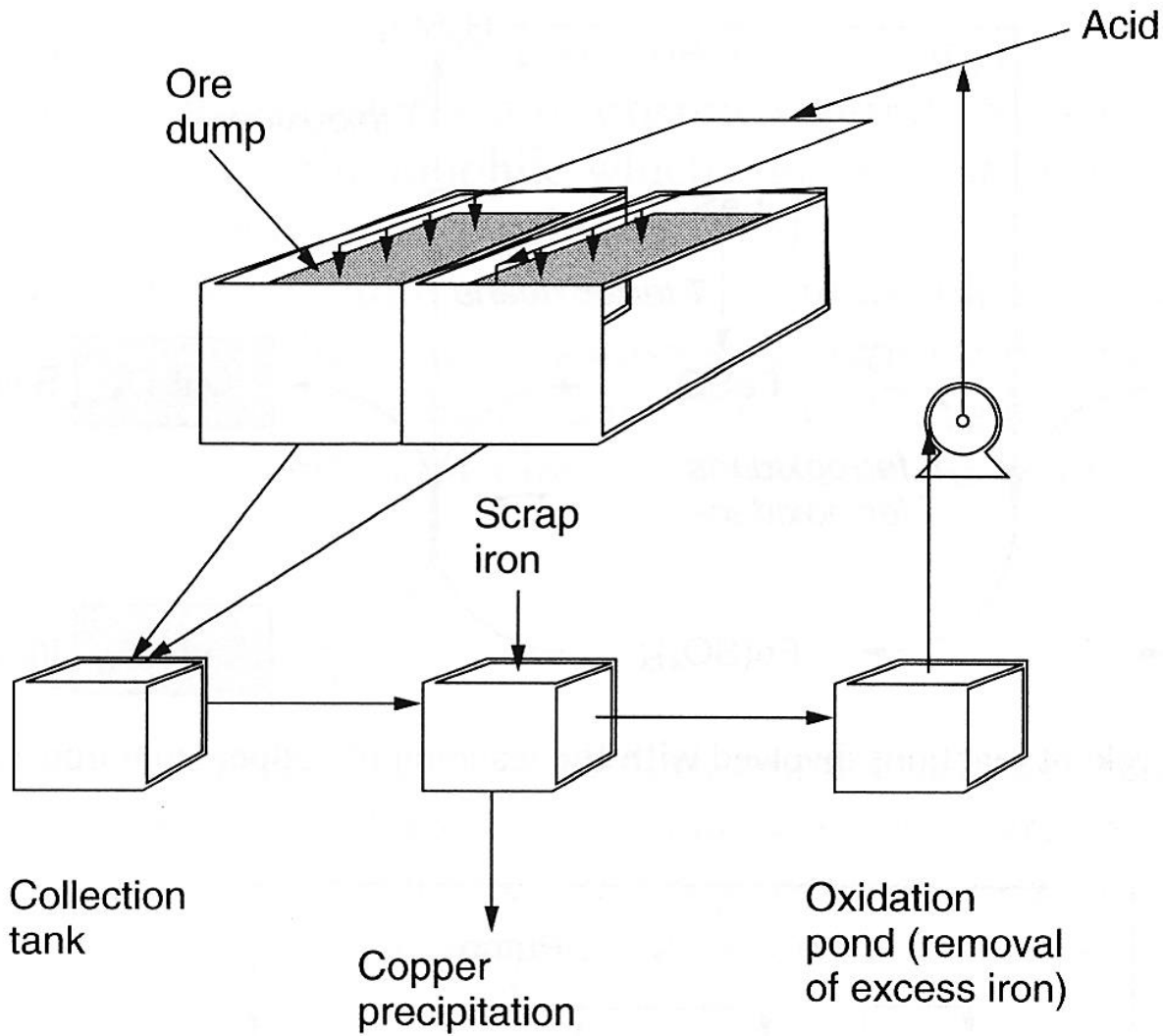
Heap bioleaching

Μέθοδος παρόμοια με την dump bioleaching αλλά με κάποιες διαφορές που την κάνουν πιο αποτελεσματική

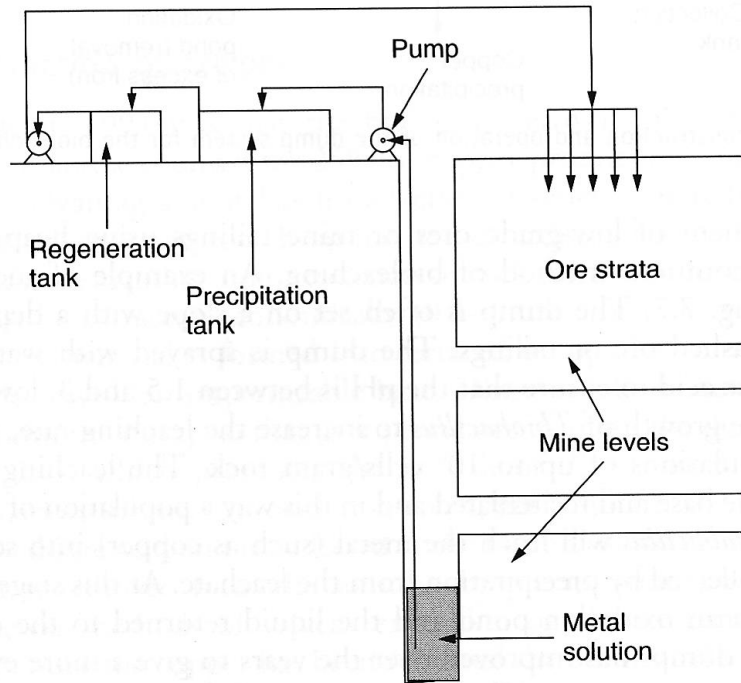
1. Μετατροπή των ορυκτών σε κομμάτια μικρού διαμερισμού
2. Τοποθέτηση σε μεταλλικές δεξαμενές σε σωρούς 2-10 m
3. Αερισμός των σωρών από το πυθμένα με κατάλληλες σωληνώσεις



Heap bioleaching



In situ βιολογική έκπλυση μετάλλων



- Εφαρμόζεται συνήθως σε εγκαταλελειμμένα ορυχεία.
- Διάλυμα που περιέχει τα κατάλληλα βακτήρια εμβολιάζεται σε σχισμές των ορυκτών και ύστερα από κάποιο χρονικό διάστημα το υγρό συλλέγεται, μεταφέρεται σε δεξαμενές στην επιφάνεια όπου και διαχωρίζεται

Μέθοδος άρδευσης– Μικροβιολογία Συστήματος

Κυρίαρχοι μικροοργανισμοί συνήθως είναι

➤ *L. ferrooxidans*

➤ *At. thiooxidans*

Όταν προστεθεί διάλυμα Fe^{+2} στο σύστημα τότε ανιχνεύθηκαν και υψηλοί πληθυσμοί του βακτηρίου *At. ferrooxidans*



Η μέθοδος άρδευσης είναι η πιο ευρέως διαδεδομένη για την βιολογική έκπλυση Cu

Table 1 Commercial copper bioheap leach plants

| Plant and location | Size: tonnes ore/day | Years in operation |
|-------------------------------------|----------------------|--------------------|
| Lo Aquirre, Chile | 16,000 | 1980–1996 |
| Gunpowder's Mammoth Mine, Australia | In-situ ^a | 1991–present |
| Mt. Leyson, Australia | 1,370 | 1992–1997 |
| Cerro Colorado, Chile | 16,000 | 1993–present |
| Girilambone, Australia | 2,000 | 1993–in closure |
| Ivan-Zar, Chile | 1,500 | 1994–present |
| Quebrada Blanca, Chile | 17,300 | 1994–present |
| Andacollo, Chile | 10,000 | 1996–present |
| Dos Amigos, Chile | 3,000 | 1996–present |
| Cerro Verde, Peru | 32,000 | 1996–present |
| Zaldivar, Chile | ~20,000 | 1998–present |
| S&K Copper, Myanmar | 18,000 | 1998–present |
| Equatorial Tonopah, USA | 24,500 | 2000–2001 |



Η μέθοδος των **αναδευομένων αντιδραστήρων** λόγω του υψηλού κόστους εγκατάστασης και λειτουργίας που απαιτείται χρησιμοποιείται για την βιολογική οξείδωση μετάλλων υψηλής αξίας όπως Au

| Plant and location | Size (tonnes concentrate/day) | Technology | Years in operation |
|---------------------------|--|------------------|--------------------|
| Fairview, South Africa | Initially 10 Expanded to 35 Expanded to 40 | BIOX | 1986–present |
| Sao Bento, Brazil | Initially 150 Expanded | BIOX Eldorado | 1990–present |
| Harbour Lights, Australia | 40 | BIOX | 1992–1994 |
| Wiluna, Australia | Initially 115 Expanded to 158 | BIOX | 1993–present |
| Sansu, Ghana | Initially 720 Expanded to 960 | BIOX | 1994–present |
| Youanmi, Australia | 120 | BacTech | 1994–1998 |
| Tamboraque, Peru | 60 | BIOX | 1990–present |
| Beaconsfield, Australia | ~70 | BacTech | 2000–present |
| Laizhou, China | ~100 | BacTech | 2001–present |

Βιολογική έκπλυση χαλκού

- Ο Cu είναι το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα μετάλλου όπου ακολουθείται η βιολογική έκπλυση σε σωρούς (heap bioleaching)
- Διάφορες μορφές Cu (CuFeS_2) διασπώνται αποτελεσματικά μόνο σε θερμόφιλες συνθήκες
- Το διάλυμα που συλλέγεται από τους σωρούς είναι πλούσιο σε CuSO_4 και αφού παραληφθεί ο Cu με ηλεκτροστατικό διαχωρισμό το διάλυμα επιστρέφει στους σωρούς

Σύστημα Αναδευομένων Αντιδραστήρων

Συστήματα από αναδευόμενους, αεριζόμενους αντιδραστήρες που είναι συνδεδεμένοι σε σειρά και λειτουργούν με συνεχή ροή

Θρεπτικά στοιχεία, κατακερματισμένα ορυκτά και διάλυμα H_2SO_4 προστίθενται στον πρώτο αντιδραστήρα και σταδιακά με υπερχείλιση προχωρούν στους υπόλοιπους αντιδραστήρες



Stirred Tank Biooxidation



Σύστημα Αναδευομένων Αντιδραστήρων

Η βιολογική έκπλυση εντός των αντιδραστήρων είναι εξώθερμη διαδικασία και οδηγεί σε υπερθέρμανση των αντιδραστήρων που ψύχονται για να διατηρείται η θερμοκρασία στους $<40^{\circ}\text{C}$ (μεσόφιλες συνθήκες)

Εναλλακτικά η διαδικασία βιολογικής έκπλυσης πραγματοποιείται σε θερμοφιλες συνθήκες που είναι πιο αποτελεσματικές για ορισμένα μεταλλικά σουλφίδια



Stirred Tank Biooxidation

Σύστημα Αναδευομένων Αντιδραστήρων - Μικροβιολογία

Κυρίαρχοι μικροοργανισμοί συνήθως είναι

- *L. ferrooxidans*
- *At. caldus*
- *At. thiooxidans*

Το *At. ferrooxidans* συνήθως δεν συμμετέχει σε τέτοια συστήματα διότι δεν ευνοείται από τις υψηλές συγκεντρώσεις του Fe^{+3} που διατηρούνται στο σύστημα



Βιολογική Οξειδωση χρυσού

- Η αυξημένη τιμή του χρυσού έχει καταστήσει την αναγέννηση χρυσού από κοιτάσματα των οποίων η εξόρυξη δεν θεωρείτο οικονομικά συμφέρουσα να είναι πλέον εφικτή με την χρήση της βιολογικής αναγέννησης
- Η βιολογική οξείδωση Au πραγματοποιείται κυρίως σε αναδευόμενους βιοαντιδραστήρες ενώ τα τελευταία έτη έχει δοκιμαστεί και σε σωρούς υπό θερμοφιλικές συνθήκες



Βιολογική Οξειδωση χρυσού

- Η βιολογική οξείδωση του Au που βρίσκεται συνδεδεμένος με πυρίτη (FeS_2) και αρσеноπυρίτη (FeAsS) διευκολύνει και βελτιστοποιεί την εκχύλιση του Au με κυανιούχα
- Ο πυρίτης και ο αρσеноπυρίτης αντιδρούν με κυανιούχα που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση του χρυσού με αποτέλεσμα να καταναλώνονται σημαντικές ποσότητες θειοκυανίου που σε άλλη περίπτωση θα είχαν διαλυτοποιήσει το χρυσό
- Με την χρήση της βιολογικής οξείδωσης αυξάνεται η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης του χρυσού από 50% σε 95%

Βιολογική Οξειδωση χρυσού

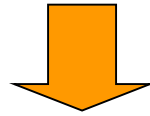
Στην βιολογική έκπλυση χρυσού μιλάμε για

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗ και όχι για άμεση βιολογική έκπλυση του χρυσού η οποία ολοκληρώνεται με συμβατικά χημικά μέσα

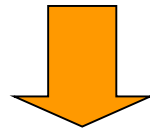


Μελλοντικές Εξελίξεις στην Βιολογική Έκπλυση Μετάλλων

Το μέλλον της βιολογικής έκπλυσης μετάλλων είναι «θερμό»!



Σε υψηλές θερμοκρασίες η βιολογική έκπλυση ορισμένων μεταλλικών σουλφιδίων του Cu είναι πιο αποτελεσματική και πραγματοποιείται από θερμοφιλα βακτήρια και Αρχαία



1. Δύσκολη η μικροβιολογική προσέγγιση τέτοιων ακραιόφιλων μικροοργανισμών (καλλιέργεια?)
2. Πρέπει να συγκεντρώνουν διαφορετικά χαρακτηριστικά (θερμοφιλα, οξεόφιλα, ανθεκτικά, Fe,S-οξειδωση)