

Ενότητα 2

Σύγχρονες τεχνικές βιοανάλυσης στη γεωργία και το περιβάλλον

Πρόγραμμα Δια Βίου Μάθησης ΑΕΙ για την Επικαιροποίηση Γνώσεων Αποφοίτων ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
ανάπτυξη στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
Πρόγραμμα για τη Γνώση
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Τι θα ακούσετε από εμένα;

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

- Η χρήση των μικροοργανισμών στην βιοαποκατάσταση ρυπασμένων οικοσυστημάτων
- Οι μικροοργανισμοί ως βιολογικά εργοστάσια παραγωγής νέων βιοτεχνολογικών προϊόντων

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ & ΝΕΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

- Βιολογικά γεωργικά φάρμακα: Χρήσεις και προοπτικές

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Η χρήση των μικροοργανισμών στην βιοαποκατάσταση ρυπασμένων οικοσυστημάτων

Πρόγραμμα Δια Βίου Μάθησης ΑΕΙ για την Επικαιροποίηση Γνώσεων Αποφοίτων ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
ανάπτυξη στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
Πρόγραμμα για τη γνώση
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Μέθοδοι Απορρύπανσης

- Χημικές
- Φυσικές
- Σταθεροποίηση
- Θερμικές
- **Βιολογικές**

Βιολογικές Μέθοδοι Απορρύπανσης

Βιολογική Απορρύπανση: Η χρήση της μεταβολικής ικανότητας μικροοργανισμών ή φυτών για την απορρύπανση και αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, υδροφόρων συστημάτων και λοιπών οικοσυστημάτων

Πλεονεκτήματα Βιο. Απορρύπανσης

- Χαμηλό κόστος εφαρμογής σε σχέση με συμβατικές μεθόδους
- Περιβαλλοντικά φιλική μέθοδος
- Οδηγεί σε πλήρη απομάκρυνση των ρύπων

<i>Τεχνολογία</i>	<i>Κόστος (λίρες/m³)</i>
Βιολογική απορρύπανση	10-80
Χημική	10-100
Καύση	100-400
Προσρόφηση	20-180
Απομάκρυνση/Μεταφορά	30-75

Μειονεκτήματα Βιο. Απορρύπανσης

- Για αποτελεσματική απορρύπανση απαιτείται η βελτιστοποίηση των θρεπτικών και περιβαλλοντικών συνθηκών που συνήθως απαιτεί σημαντική εργασία, χρόνο και κόστος
- Οι ενδογενείς μικροοργανισμοί ίσως να προτιμούν να χρησιμοποιούν άλλα πιο άμεσα διαθέσιμα υποστρώματα για την αύξηση και ανάπτυξη τους με αποτέλεσμα να μεταβολίζουν τους ρύπους με αργό ρυθμό. Συνεπώς, οι μικροοργανισμοί θα πρέπει να χρησιμοποιούν τους ρύπους για την αύξηση και ανάπτυξη τους αποκομίζοντας ενέργεια από την διάσπαση τους

Μειονεκτήματα Βιο. Απορρύπανσης

- Το φυσικό ρυπασμένο περιβάλλον ίσως να περιέχει σημαντικό αριθμό άλλων τοξικών ρύπων ή μίγματα ρύπων που δεν μπορούν να αποδομηθούν βιολογικά αλλά πιθανόν να είναι και τοξικοί για την μικροβιακή κοινότητα
- Θέματα ασφάλειας, υγείας και περιβαλλοντικά προβλήματα που περιορίζουν την εφαρμογή των βιολογικών μεθόδων

Στρατηγικές βιο. απορρύπανσης

- **Βιολογική Ενεργοποίηση (Biostimulation)**
- **Βιολογικός Εμπλουτισμός (Bioaugmentation)**
- **Προσθήκη εξωγενών καταβολικών ενζύμων**
- **Φυτική Απορρύπανση (Phytoremediation)**

Βιολογική ενεργοποίηση (Biostimulation)

Η ενεργοποίηση της ενδογενούς μικροβιακής κοινότητας τους εδάφους ώστε να μεγιστοποιηθεί η αποδομητική της ικανότητα

Η εφαρμογή περιλαμβάνει **προσθήκη θρεπτικών συστατικών, βελτιστοποίηση του αερισμού και διατήρηση της θερμοκρασίας και υγρασίας σε ιδανικά επίπεδα** ώστε να δημιουργηθούν ιδανικές συνθήκες για την αύξηση και ανάπτυξη των ενδογενών μικροοργανισμών

Χρήσεις Βιο. Ενεργοποίησης

- **Η συνηθέστερη στρατηγική βιολογικής απορρύπανσης**
- Στηρίζεται στην παρουσία, σε ρυπασμένες περιοχές, μικροοργανισμών που έχουν την ικανότητα να αποδομούν τους ρύπους και να τους χρησιμοποιούν για αύξηση και ανάπτυξη τους
- Προτιμάται για την απορρύπανση περιοχών που **έχουν εκτεθεί σε πολλαπλές χρήσεις και συνεπώς περιέχουν μίγμα διαφόρων ρύπων**
- Σε τέτοιες περιοχές **οι ρύποι βρίσκονται συνήθως σε συγκεντρώσεις από μέτριες ως υψηλές** και δεν υπάρχει πίεση χρόνου για αποκατάσταση των ρυπασμένων υλικών

Βιολογικός Εμπλουτισμός

Προσθήκη εξωγενών μικροοργανισμών με αυξημένη και εξειδικευμένη καταβολική ικανότητα με στόχο την επιτάχυνση της αποδόμησης των ρύπων

Η προσθήκη καταβολικών μικροοργανισμών χρησιμοποιείται είτε **ως επικουρική μέθοδος** ώστε να βοηθήσει την αποδομητική δραστηριότητα της ενδογενούς μικροβιακής κοινότητας είτε **ως αυτοδύναμη μέθοδος** με την προσθήκη σημαντικού πληθυσμού μικροοργανισμών που θα πρέπει να ανταγωνισθούν με την ενδογενή μικροβιακή κοινότητα για χώρο και υποστρώματα

Χρήσεις Βιολογικού Εμπλουτισμού

- Η συγκέντρωση των ρύπων είναι πολύ υψηλή
- Απαιτείται **άμεση απορρύπανση** της περιοχής
- Οι ρύποι είναι ιδιαίτερα τοξικοί
- Οι ρύποι είναι γενικά υπολειμματικά μόρια ανθεκτικά στην διάσπαση αλλά βιοδιαθέσιμα
- Διαπιστωμένη απουσία ενδογενών μικροοργανισμών που μπορούν να επιφέρουν διάσπαση των ρύπων

Προέλευση μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται στον Βιο. Εμπλουτισμό

- Ενδογενείς μικροοργανισμοί οι οποίοι έχουν απομονωθεί από το ρυπασμένο έδαφος
- Εξωγενείς μικροοργανισμοί ή κοινότητες (consortia) μικροοργανισμών που έχουν απομονωθεί από άλλο έδαφος ή περιβάλλον
- Ενδογενείς ή εξωγενείς μικροοργανισμοί που έχουν γενετικώς τροποποιηθεί για την διάσπαση των ρύπων ???

Προσθήκη Καταβολικών Ενζύμων

Τα προβλήματα εφαρμογής που παρουσιάζουν οι βιολογικές μέθοδοι απορρύπανσης όπου προστίθενται αυτούσιοι μικροοργανισμοί μπορούν να λυθούν με την εφαρμογή ενζύμων

Ένζυμα με εξειδικευμένη δράση στην αποδόμηση οργανικών ρύπων έχουν απομονωθεί από πλήθος μικροοργανισμών και η πειραματική εφαρμογή τους για την απορρύπανση εδαφών έχει παρουσιάσει ικανοποιητικά αποτελέσματα

Βασικό πρόβλημα η έλλειψη μεθόδων και τεχνολογιών εφαρμογής ώστε να μεγιστοποιηθεί η επαφή των ενζύμων με το υπόστρωμα-ρύπο στο περιβάλλον

Τι είδους ρύπους θέλουμε να απομακρύνουμε από το περιβάλλον

ΟΡΓΑΝΙΚΟΥΣ

- Πολυαρωματικοί Υδρογονάνθρακες
- Πολυχλωριωμένα Διφαινύλια (PCBs)
- Πολυχλωριωμένες Διβενζοδιοξίνες
- Νιτροαρωματικά (TNT)
- Γεωργικά Φάρμακα
- Χλωροφαινόλες
- Χλωροαλκάνια ή χλωροαλκένια

ΑΝΟΡΓΑΝΟΥΣ

- Νιτρικά
- Φωσφορικά
- Ραδιονουκλείδια
- Μέταλλα

***Βιολογική Απομάκρυνση
Οργανικών Ρύπων***

Μικροβιακός μεταβολισμός οργανικών ρύπων

Οι μικροοργανισμοί στο περιβάλλον έχουν την ικανότητα να αποδομούν οργανικούς ρύπους και να χρησιμοποιήσουν την ενέργεια που παράγεται για την αύξηση και ανάπτυξη τους

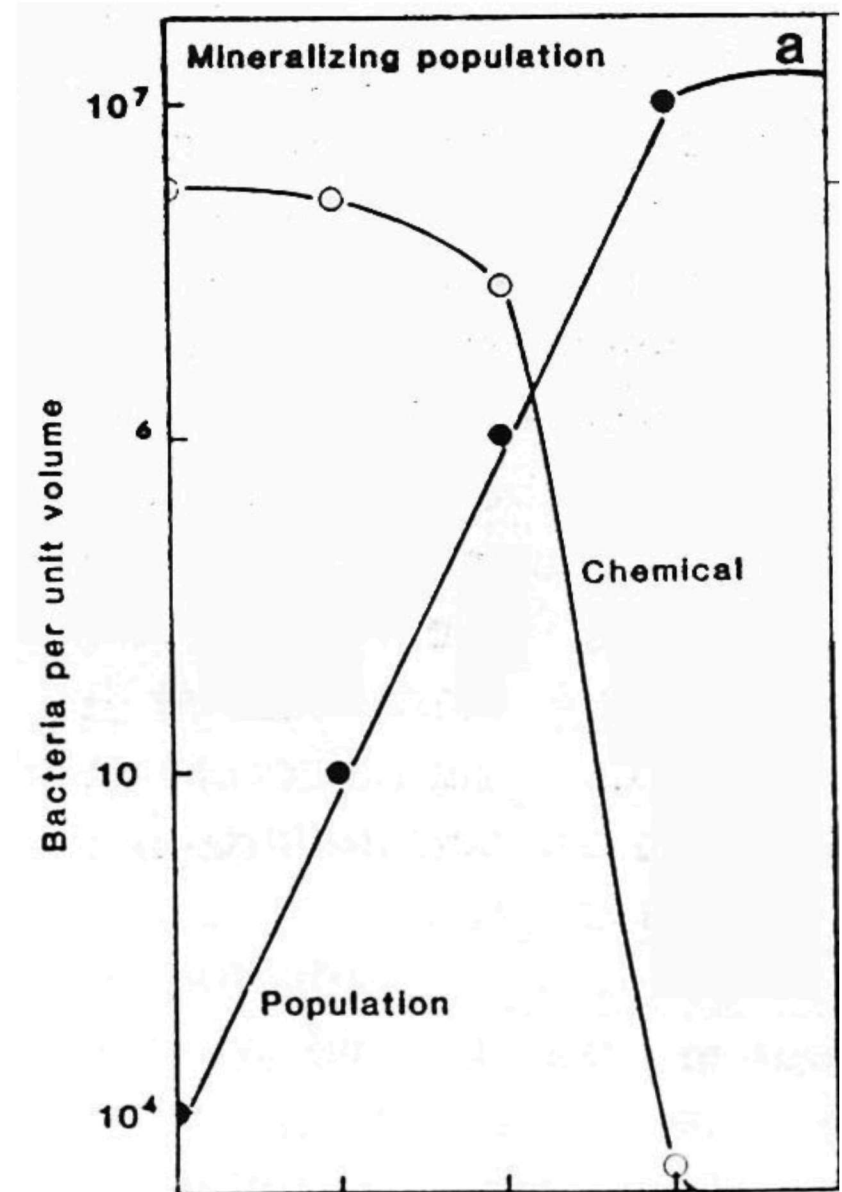
Δύο είναι οι κύριοι τρόποι μεταβολισμού οργανικών ρύπων στο περιβάλλον:

1. Συμμεταβολισμός

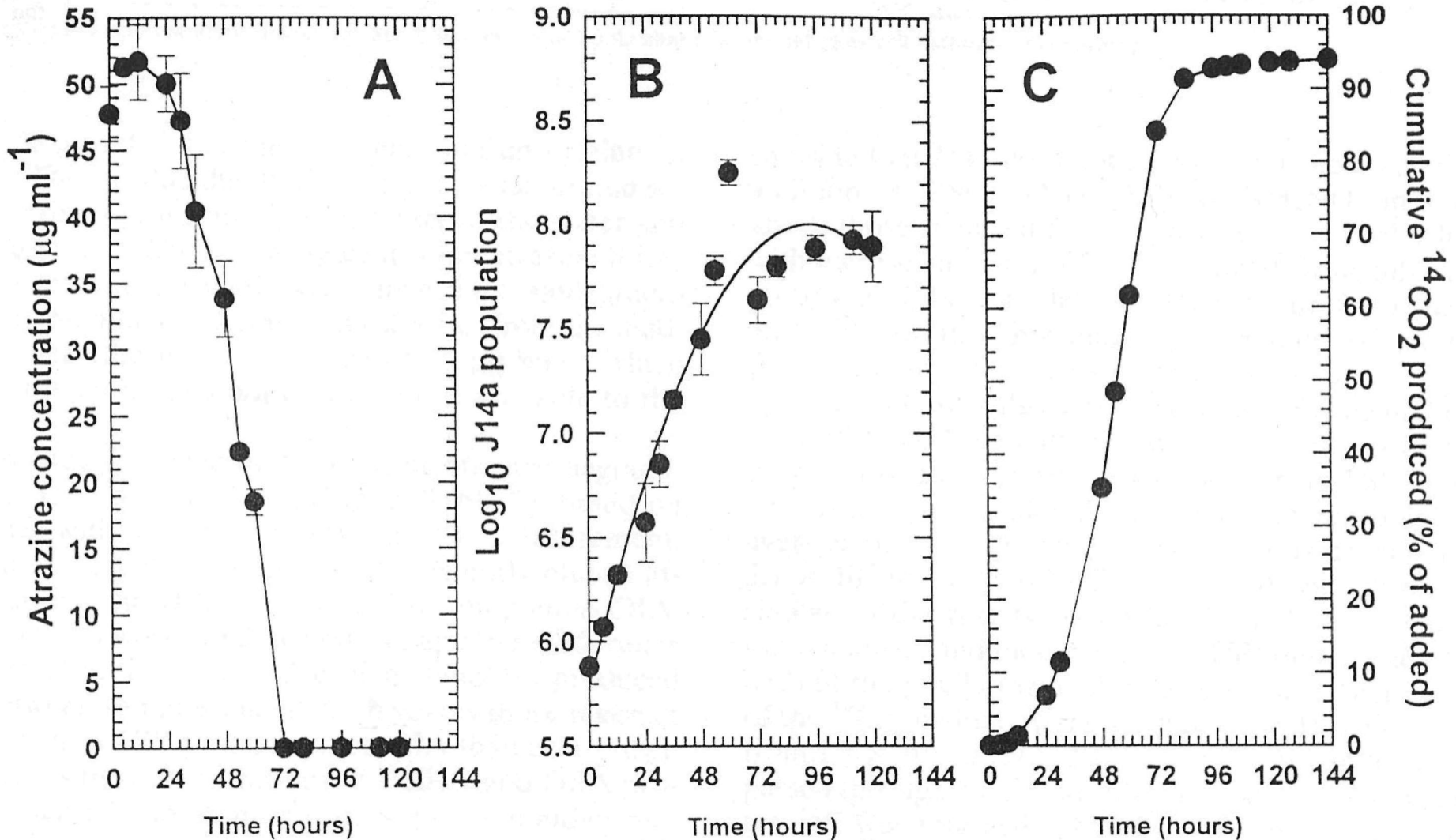
2. Καταβολισμός / Ανοργανοποίηση

Καταβολισμός ή Ανοργανοποίηση

Το φαινόμενο κατά το οποίο οι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν ξενοβιοτικές ουσίες και να χρησιμοποιούν την ενέργεια που παράγεται για την αύξηση και ανάπτυξη τους



Παράδειγμα καταβολισμού – ανοργανοποίησης atrazine

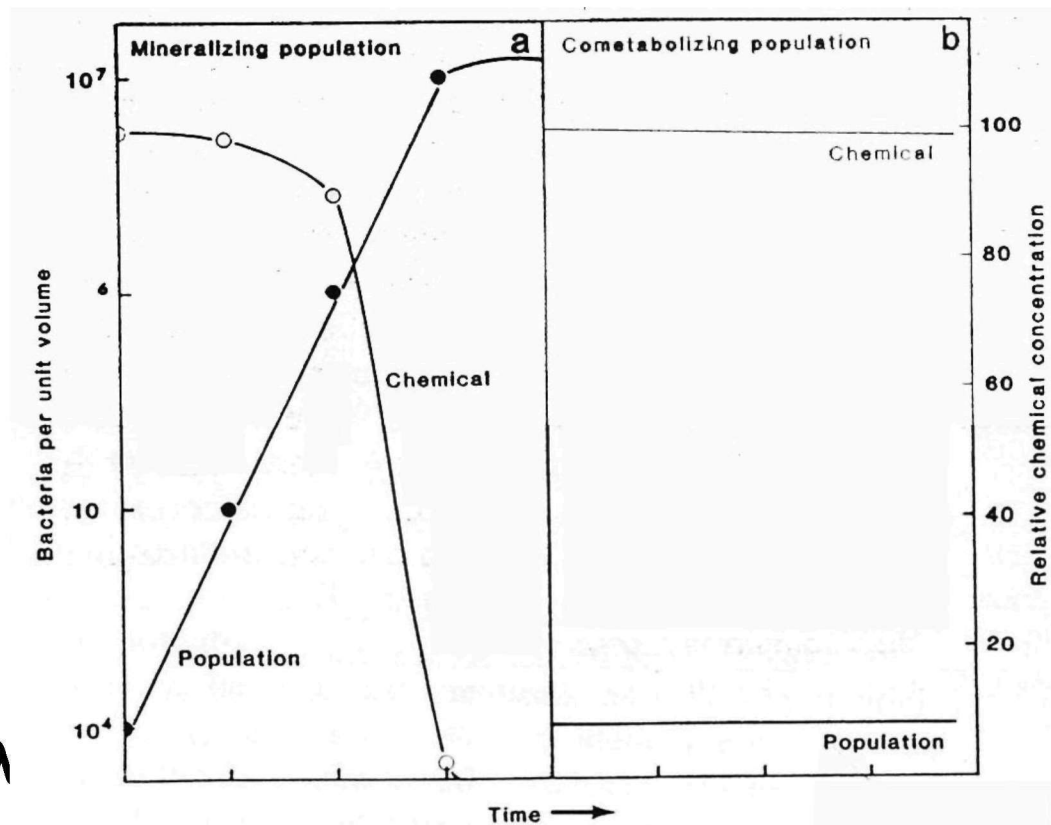


Αρχές Καταβολισμού/Ανοργανοποίησης

- Ταχύτατος ρυθμός αποδόμησης των ξενοβιοτικών ουσιών
- Η ενέργεια που παράγεται κατά την διάρκεια του μεταβολισμού των ξενοβιοτικών ουσιών χρησιμοποιείται άμεσα από τους μικροοργανισμούς για την αύξηση και ανάπτυξη τους
- Οι μικροοργανισμοί συνεχίζουν να μεταβολίζουν τις ξενοβιοτικές ουσίες ως βασικό υπόστρωμα ακόμη και παρουσία εύκολα διαθέσιμων εναλλακτικών πηγών C ή N.
- Ο καταβολισμός οδηγεί στην παραγωγή απλούστερων μορίων που μπορούν να μεταβολισθούν παραπέρα από τους μικροοργανισμούς προς $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
- Οι μικροοργανισμοί κατέχουν εξειδικευμένα ενζυμικά συστήματα για την αποδόμηση των συγκεκριμένων ξενοβιοτικών ουσιών

Συμμεταβολισμός

Το φαινόμενο κατά το οποίο μικροοργανισμοί έχουν ενζυμικά συστήματα ευρέως φάσματος τα οποία χρησιμοποιούνται για τον μεταβολισμό διαφόρων φυσικών υποστρωμάτων αλλά ταυτόχρονα μπορούν να μεταβολίζουν και ξενοβιοτικές ουσίες στο περιβάλλον.

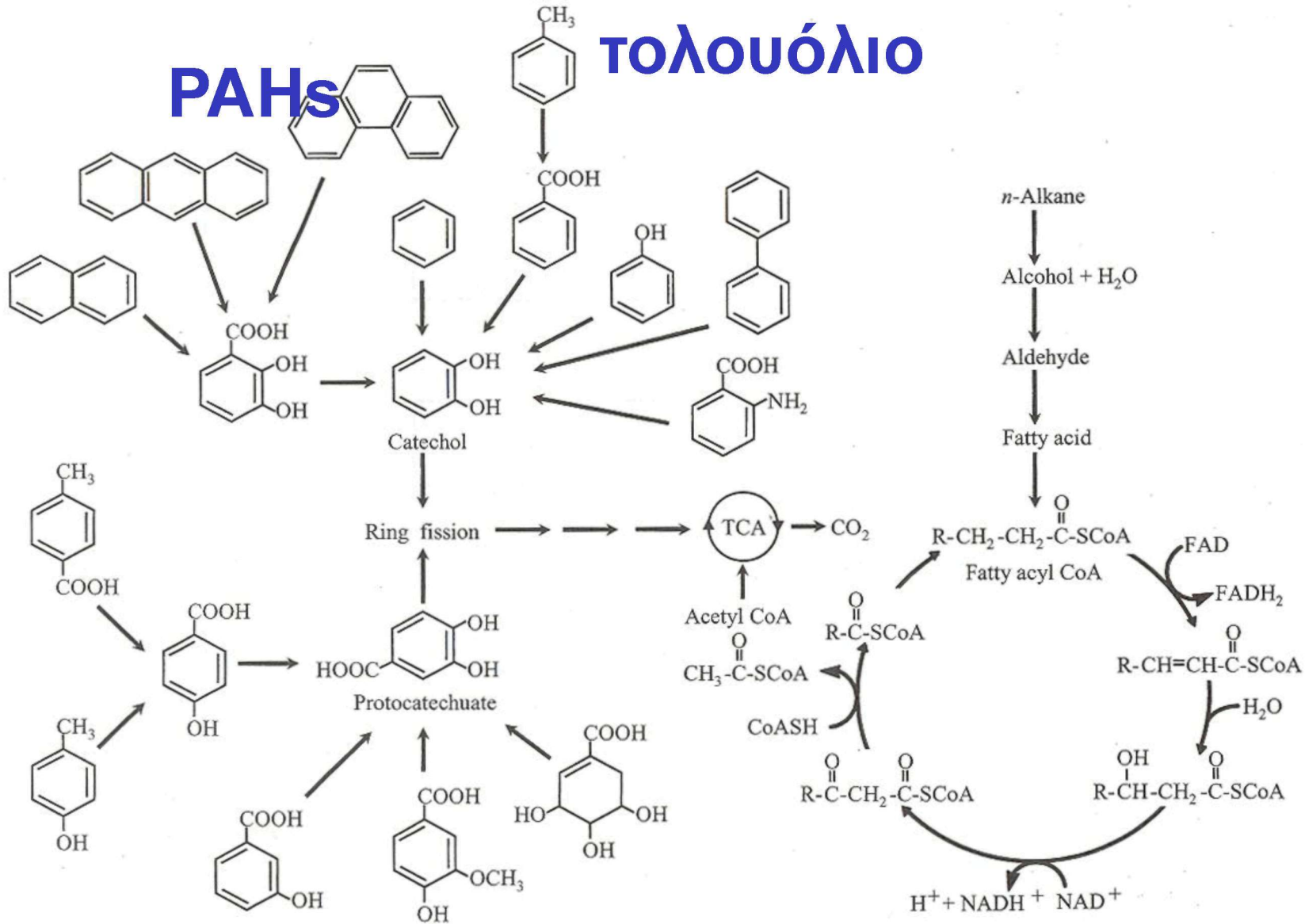


Συμμεταβολισμός

- Βραδύς μεταβολισμός με σταθερό ρυθμό αποδόμησης
- Οι μικροοργανισμοί δεν αποκομίζουν ενεργειακό όφελος από την αποδόμηση των ξενοβιοτικών ουσιών για την ανάπτυξη τους
- Παρουσία εναλλακτικών πηγών C ή N αναστέλλεται ο μεταβολισμός των ξενοβιοτικών ουσιών
- Ο συμμεταβολισμός οδηγεί στην παραγωγή προϊόντων μεταβολισμού που δεν μπορούν να μεταβολισθούν παραπέρα από τους μικροοργανισμούς
- Οι μικροοργανισμοί κατέχουν ενζυμικά συστήματα ευρέως φάσματος

ΡΑΗΣ

τολουόλιο

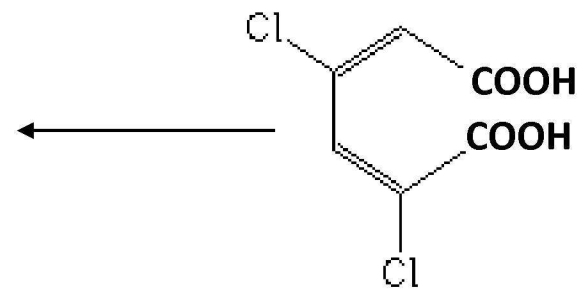
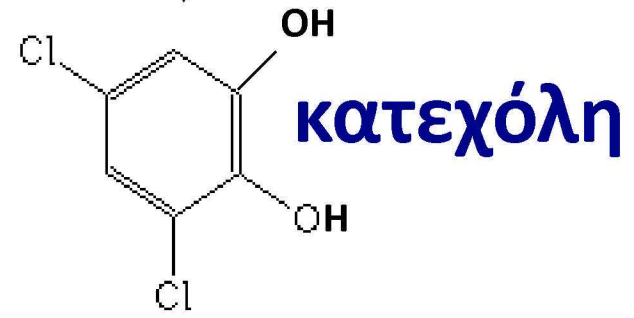
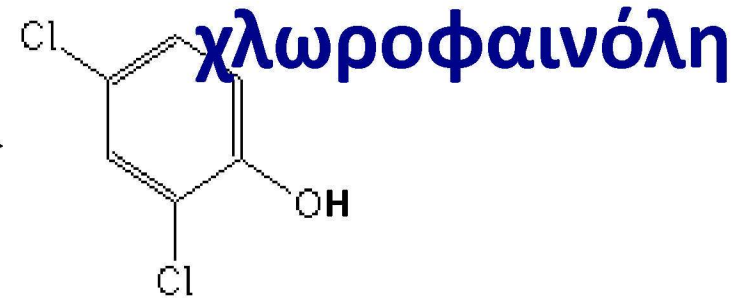
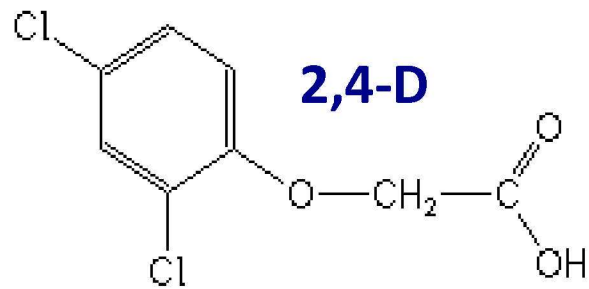


Η μικροβιακή διάσπαση οργανικών ρύπων οδηγεί στην παραγωγή προϊόντων που ενσωματώνονται στον μεταβολισμό των αποδομητικών μικροοργανισμών προς παραγωγή ενέργειας

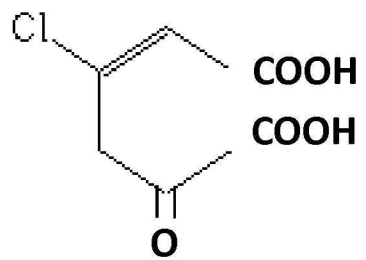
Μεταβολισμός Αρωματικών Ενώσεων

Γενικότερα οι αρωματικές ενώσεις είναι σταθερές στο περιβάλλον και ιδιαίτερα **οι πολυχλωριωμένες ενώσεις που όσο περισσότερα άτομα Cl έχουν τόσο περισσότερο σταθερές είναι**

Συνήθως **πολυχλωριωμένες αρωματικές ενώσεις** μεταβολίζονται υπό αναγωγικές συνθήκες με σταδιακή **απομάκρυνση των ατόμων Cl** και στην συνέχεια ο αρωματικός δακτύλιος συνήθως παραμένει σταθερός ή υπό **αερόβιες συνθήκες σταδιακά διασπάται προς κατεχόλη**



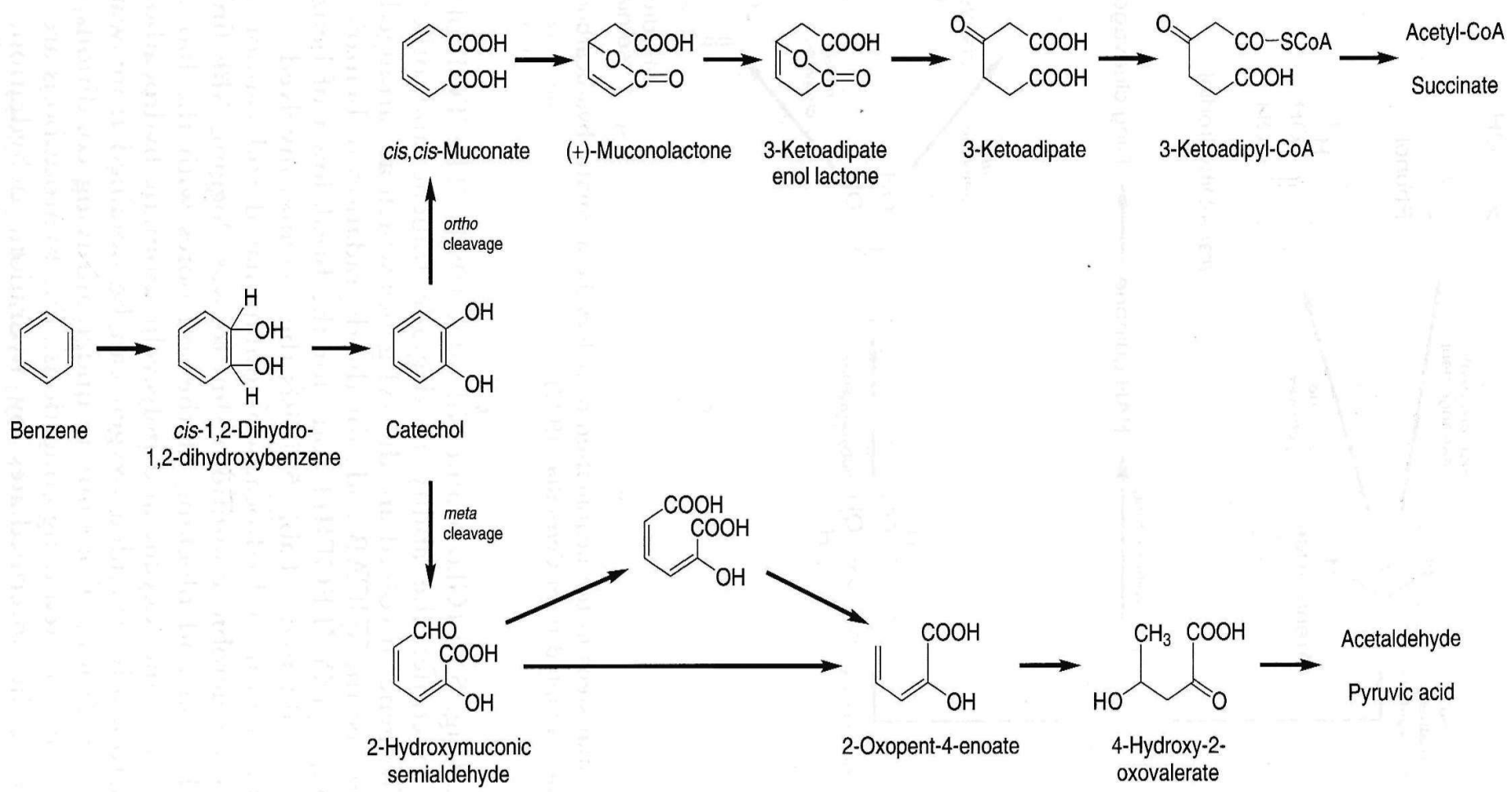
CO₂



Μεταβολισμός μονοκυκλικών υδρογοναθράκων

Μονοκυκλικοί υδρογονάνθρακες όπως βενζόλιο, τολουόλιο αποδομούνται από τους μικροοργανισμούς με ενσωμάτωση δύο $-OH$ στο δακτύλιο (κατεχόλη) και στην συνέχεια ορθο- ή μέτα διάσπαση του δακτυλίου

Τα τελικά προϊόντα της διάσπασης εισέρχονται στον κύκλο του Krebs και συνεπώς βοηθούν στην παραγωγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς



***Μικροοργανισμοί που
συμμετέχουν στην Βιολογική
Απορρύπανση Οργανικών Ρύπων***

Μικροοργανισμοί στην Βιο. Απορρύπανση

- Μύκητες
- Βακτήρια

Η επιλογή του είδους των μικροοργανισμών που θα χρησιμοποιηθούν εξαρτάται από πολλές παραμέτρους όπως είναι **το είδος του ρύπου που πρέπει να απομακρυνθεί και η παρουσία ή όχι και άλλων ρύπων**

Μύκητες Λευκής Σήψης στην Βιολογική Απορρύπανση

Χρησιμοποιούνται για την απορρύπανση εδαφών με υψηλές συγκεντρώσεις διαφόρων υπολειμματικών οργανικών ρύπων όπως PCBs, PAHs, Χλωροφαινόλες κ.α.

Οι μύκητες λευκής σήψης ή λιγνολυτικοί ονομάζονται white rot fungi (WRF) διότι το υπόστρωμα ανάπτυξης τους είναι το ξύλο στο οποίο προκαλούν χαρακτηριστική λευκή σήψη

Οι WRF έχουν ως βασικό υπόστρωμα ανάπτυξης τις κυτταρίνη και ημικυτταρίνη και ως δευτερογενές υπόστρωμα την λιγνίνη



Χαρακτηριστικά Μυκήτων Λ. Σήψης

Χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες ικανότητες που τους καθιστούν **ιδανικούς** για χρήση σε στρατηγικές βιολογικής απορρύπανσης

- 1) **Εξωκυτταρικά ένζυμα:** ο ρύπος δεν χρειάζεται να εισέλθει στον μικροοργανισμό και επίσης υπάρχει δυνατότητα αποδόμησης και ρύπων που βρίσκονται προσροφημένοι και δη προστατευμένοι στα εδαφικά κολλοειδή
- 2) **Χαμηλής Εξειδίκευσης ένζυμα:** τα ένζυμα αυτά έχουν την ικανότητα μεταβολισμού της λιγνίνης, ενός πολύπλοκου πολυμερούς. Η ικανότητα τους αυτή να καταδεικνύει το ευρύ φάσμα δράσης των ενζύμων αυτών των μυκήτων.

Ένζυμα ΜΛΣ - Υπεροξειδάσες

Οι ΜΛΣ παράγουν τρεις κατηγορίες ενζύμων (υπεροξειδάσες) που οξειδώνουν την λιγνίνη παρουσία H_2O_2 (εκτός από λακκάσες)

- **Λιγνινο-υπεροξειδάσες (LiP):** Οξειδώνουν μη φαινολικά τμήματα της λιγνίνης αφαιρώντας ένα ηλεκτρόνιο και σχηματίζοντας κατιονικές ρίζες που διασπώνται χημικά
- **Μαγγάνιο-υπεροξειδάσες (MnP):** Οξειδώνουν Mn^{+2} σε Mn^{+3} το οποίο οξειδώνει φαινολικά τμήματα της λιγνίνης προς φαινοξικές ρίζες με αποτέλεσμα την διάσπαση των ουσιών
- **Λακκάσες (Lac):** Είναι Cu-οξειδάσες που χρησιμοποιούν μοριακό O_2 για την οξείδωση κυρίως φαινολικών ενώσεων προς φαινοξικές ρίζες

Προβλήματα εφαρμογής μυκήτων λευκής σήψης στην βιολογική απορρύπανση

1. Περιορισμένη γνώση της φυσιολογίας και λειτουργίας των λιγνολυτικών ενζυμικών συστημάτων των μυκήτων
2. Υψηλό κόστος μαζικής παραγωγής εμβολίου
3. Προβληματικός ο σχεδιασμός σε επίπεδο αγρού
4. Αργή δράση και χαμηλή ικανότητα ανταγωνισμού με την ενδογενή μικροβιακή κοινότητα

Βακτήρια στην Βιολογική Απορρύπανση

Σημαντικός αριθμός βακτηρίων έχουν απομονωθεί από ρυπασμένα εδάφη που έχουν την ικανότητα να αποδομούν γεωργικά φάρμακα, πετρέλαια, PCP, PCBs.

Η χρήση βακτηρίων στην βιολογική απορρύπανση αποτελεί σημαντική μέθοδο ιδιαίτερα μέσω ενεργοποίησης της ενδογενούς μικροχλωρίδας με την δημιουργία βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης

Η προσθήκη βακτηρίων στο έδαφος για την βιολογική απορρύπανση εδαφών έχει δοκιμασθεί σε πλήθος περιπτώσεων με αντικρουόμενα αποτελέσματα

Προβλήματα εφαρμογής βακτηρίων στην βιολογική απορρύπανση

- 1) Κατά κανόνα τα εξωγενή βακτήρια (βιολογικός εμπλουτισμός) δεν έχουν την ικανότητα να ανταγωνιστούν την ενδογενή μικροβιακή κοινότητα
- 2) Τα καταβολικά ένζυμα των βακτηρίων είναι συνήθως εξειδικευμένα για το μεταβολισμό περιορισμένου αριθμού οργανικών ρύπων και συνεπώς η χρήση τους περιορίζεται μόνο σε περιπτώσεις που το έδαφος περιέχει ένα μόνο σημαντικό ρύπο

*Βιολογική απορρύπανση
ανόργανων ρύπων*

Το βασικότερο πρόβλημα που έχει να αντιμετωπίσει η βιολογική απορρύπανση είναι η ανθεκτικότητα των μετάλλων στην μικροβιακή διάσπαση με συνέπεια οι μικροοργανισμοί να έχουν αναπτύξει **άλλους μηχανισμούς** για την απομάκρυνση τους

Βιολογική Απομάκρυνση Νιτρικών

- **Απονιτροποίηση:** Αναερόβια διεργασία κατά την οποία NO_3^- ανάγονται προς NO , N_2O , N_2 και ελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα



- Πραγματοποιείται σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης O_2 από βακτήρια που παράγουν ATP κατά την μεταφορά e^- μέσω της κυτοχρωμικής αλυσίδας από ένα δότη e^- σε NO_3^-

Εφαρμογές – Βιολογική απομάκρυνση NO_3

Παραδοσιακά, η **απονιτροποίηση** βρίσκει εφαρμογή στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις NO_3

Εφαρμογή αναερόβιων ζωνών ή δεξαμενών στην βιολογική επεξεργασία αποβλήτων και προσθήκη οργανικών υποστρωμάτων ως δότες ηλεκτρονίων (μεθανόλη, οξικό οξύ) οδηγούν στην απομάκρυνσης NO_3 από τα υγρά απόβλητα

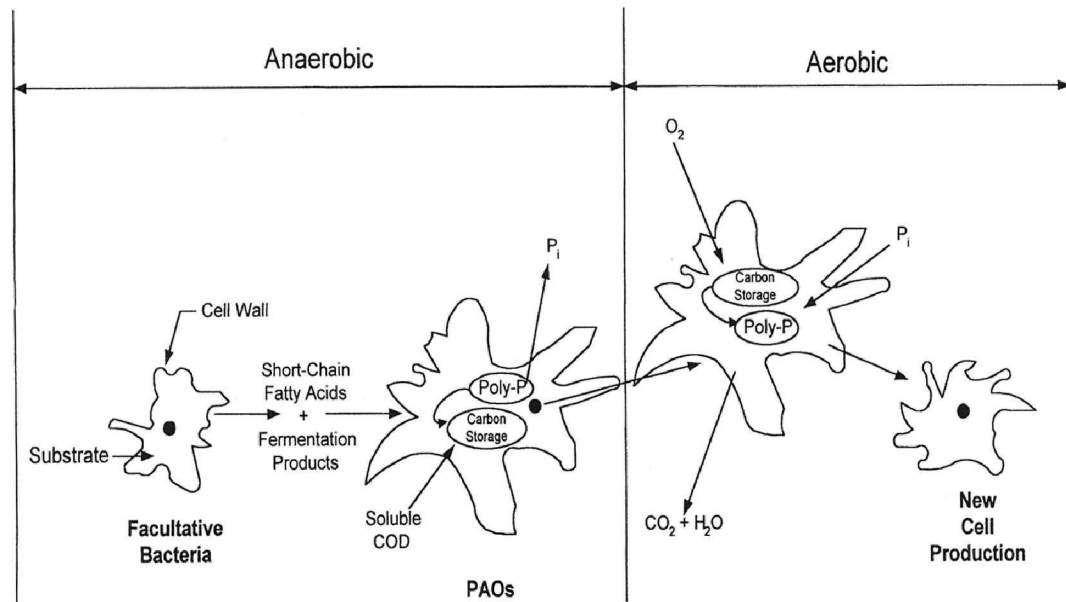
Βιολογική Απομάκρυνση Φωσφορικών

Διαδικασία που χρησιμοποιείται στην απομάκρυνση φωσφορικών από υγρά απόβλητα και περιλαμβάνει την πρόσληψη και συσσώρευση από εξειδικευμένα βακτήρια φωσφορικών με την μορφή πολυφωσφορικών κόκκων στο εσωτερικό του κυττάρου ή εξωκυτταρικών πολυμερών

Βιολογική Απομάκρυνση Φωσφόρου

Τα βακτήρια υπό αερόβιες συνθήκες και παρουσία πηγών C συσσωρεύουν φωσφορικά υπό την μορφή πολυφωσφορικών (ως και 10^4 μονομερή)

Υπό αναερόβιες συνθήκες τα βακτήρια υδρολύουν τα πολυφωσφορικά για την παραγωγή ATP (ενέργειας) με παράλληλη ελευθέρωση των φωσφορικών



Βιολογική Απομάκρυνση Μετάλλων

- Βιοπροσρόφηση / Βιοσυσσώρευση
- Αναγωγή
- Κατακρήμνιση
- Μεθυλίωση

Βιολογική Απομάκρυνση Μετάλλων

- **Βιοπροσρόφηση / Βιοσυσσώρευση**
- Αναγωγή
- Κατακρήμνιση
- Μεθυλίωση

Βιοπροσρόφηση / Βιοσυσσώρευση

Η παθητική (βιοπροσρόφηση) ή ενεργητική (βιοσυσσώρευση) προσρόφηση ή απορρόφηση μετάλλων από τους μικροοργανισμούς

Κύρια Χαρακτηριστικά

- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί νεκρή (AlgaSORB®) ή ζωντανή μικροβιακή μάζα
- Τεράστιες διαφορές στην ικανότητα προσρόφησης μετάλλων από τους διάφορους μικροοργανισμούς (εξειδίκευση?)

Βιοπροσρόφηση και Βιοσυσσώρευση

Μηχανισμοί

1. Δημιουργία οργανικών συμπλόκων μεταξύ μετάλλων και εξωκυτταρικών πολυμερών που παράγουν οι μικροοργανισμοί
2. Δέσμευση των κατιόντων μετάλλων στα αρνητικά φορτισμένα συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών όπως τειχικό οξύ (θετικά κατά Gram βακτήρια) και στα στρώματα S (θετικά κατά Gram βακτήρια και Αρχαία)

Βιολογική Απομάκρυνση Μετάλλων

➤ Βιοπροσρόφηση / Βιοσυσσώρευση

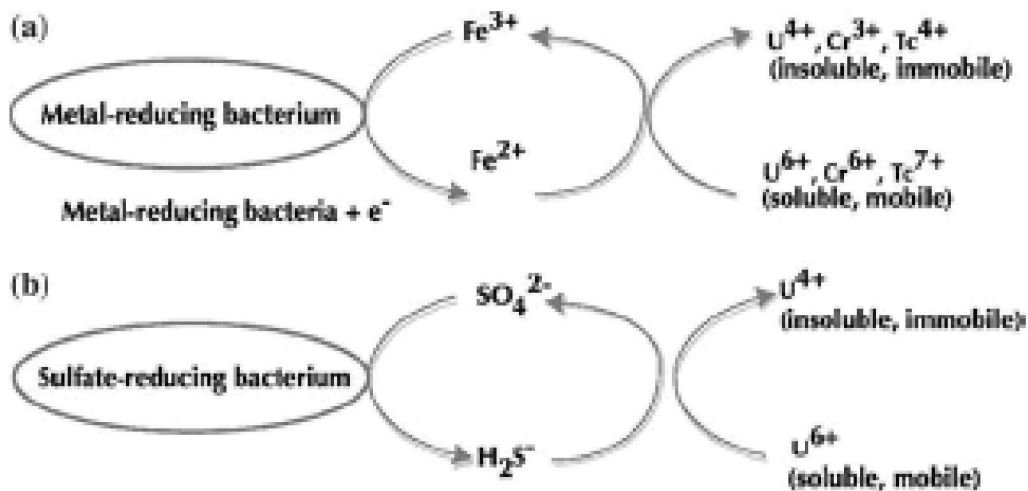
➤ **Αναγωγή**

➤ Κατακρήμνιση

➤ Μεθυλίωση

Αναγωγή

Μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να ανάγουν μέταλλα και συνήθως αυτό οδηγεί σε μορφές με χαμηλότερη διαλυτότητα και άρα περιορισμένη διαθεσιμότητα των μετάλλων για το περιβάλλον



Αναγωγή

Οι μικροοργανισμοί αυτοί συνήθως **υπό αναερόβιες συνθήκες** και **παρουσία κάποιου οργανικού μορίου ως δότη ηλεκτρονίων και πηγή C**, χρησιμοποιούν τα μέταλλα (ή οξειδωμένες τους μορφές) ως **τερματικούς δέκτες ηλεκτρονίων** για την παραγωγή ενέργειας (ATP)

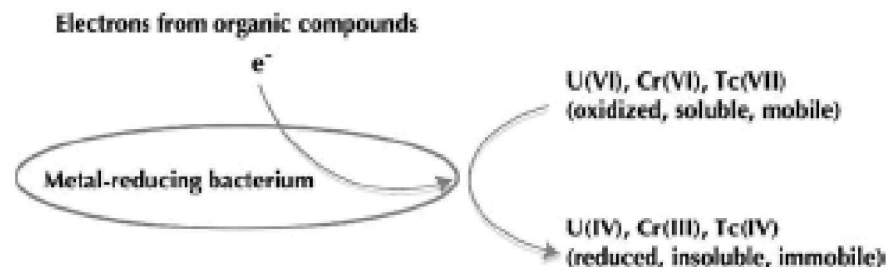


Figure 3. Direct enzymatic reduction of soluble heavy metals and radionuclides by metal-reducing bacteria. Non-hazardous organic compounds, such as lactate or acetate, provide electrons used by these microorganisms. Note, however, that if completed, the reduced species may become mobile.

Αναγωγή

Μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στην αναγωγή μετάλλων:

- Θειο-αναγωγικά βακτήρια (*Desulfonibrio* spp.)
- Μέταλο-αναγωγικά βακτήρια (*Geobacter* spp.)

Βιολογική Απομάκρυνση Μετάλλων

- Βιοπροσρόφηση / Βιοσυσσώρευση
- Αναγωγή
- **Κατακρήμνιση**
- Μεθυλίωση

Κατακρήμνιση

Η ικανότητα διαφόρων μικροοργανισμών να μετατρέπουν διαλυτοποιημένες μορφές μετάλλων σε αδιάλυτες μορφές όπως σουλφίδια (MS) ή σύμπλοκα με φωσφορικές ομάδες

Κατακρήμνιση - Μηχανισμοί

Υπό αναερόβιες συνθήκες και παρουσία οργανικών υποστρωμάτων τα θείο-αναγωγικά βακτήρια μετατρέπουν διαλυτά μέταλλα ή διαλυτές μορφές μετάλλων προς αδιάλυτα σουλφίδια (MS)

Βιολογική Απομάκρυνση Μετάλλων

- Βιοπροσρόφηση / Βιοσυσσώρευση
- Αναγωγή
- Κατακρήμνιση
- **Μεθυλίωση**

Μεθυλίωση

Η μεθυλίωση διαφόρων μετάλλων μπορεί να οδηγήσει σε πιο τοξικά παράγωγα (Hg) ή σε πτητικά παράγωγα με χαμηλή τοξικότητα που ελευθερώνονται στον αέρα (Se)

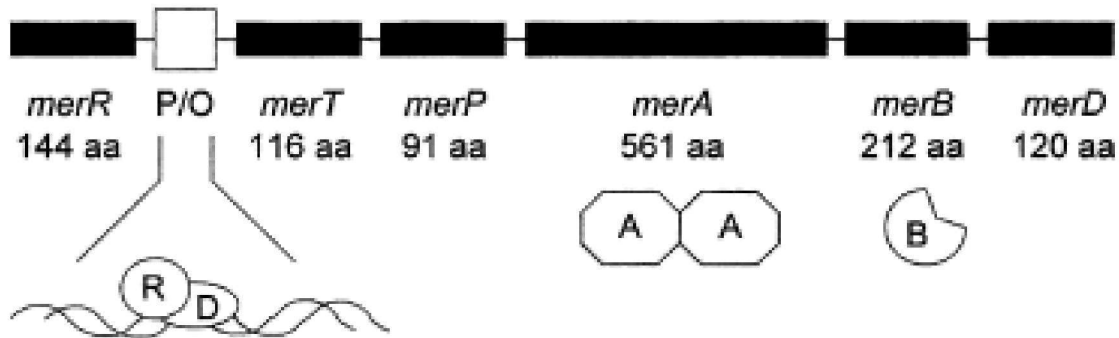
*Παραδείγματα εφαρμογών
βιολογικής απορρύπανσης για
επιμέρους μέταλλα*

Υδράργυρος

- Διάφορα βακτήρια έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν Hg^{+2} προς Hg^0 το οποίο λόγω πτητικότητας ελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα με παράλληλη μείωση της τοξικότητας του Hg στο περιβάλλον
- **Η μεθυλίωση του Hg οδηγεί σε αύξηση της τοξικότητας**

Υδράργυρος

Ο γενετικός μηχανισμός ανθεκτικότητας των βακτηρίων στον υδράργυρο είναι πλέον γνωστό και ελέγχεται από 6 γονίδια που βρίσκονται σε ένα οπερόνιο (*mer* γονίδια)



Χρώμιο

Διάφορα βακτήρια έχουν την ικανότητα να ανάγουν το Cr^{+6} σε Cr^{+3} που παρουσιάζει χαμηλότερη τοξικότητα και είναι δυσδιάλυτο

Αερόβια και αναερόβια βακτήρια που παρουσιάζουν ανεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις Cr μπορούν να απομακρύνουν >99% της αρχικής ποσότητας Cr

Βιολογική Απορρύπανση Ραδιονουκλεϊδίων

Τα δύο βασικά ραδιονουκλεοτίδια που αποτελούν ποσοτικά σημαντικούς περιβαλλοντικούς ρύπους είναι τα **Ουράνιο (U)** και **Τεχνήτιο (Te)** που αποτελεί προϊόν της επεξεργασίας του U

Μηχανισμοί Βιολογικής Απορρύπανσης Ουρανίου

1. Αναγωγή διαλυτού U^{+6} προς αδιάλυτο U^{+4}

Πραγματοποιείται από θείο-αναγωγικά βακτήρια του γένους *Geobacter* sp., και *Anaeromixobacter* sp.

Αντιδράσεις παρόμοιες με αυτές που περιγράφηκαν για την αναγωγή μετάλλων από μικροοργανισμούς και οδηγούν στην μετατροπή διαλυτών μορφών (U^{+6}) σε αδιάλυτες μορφές (U^{+4})

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Οι μικροοργανισμοί ως βιολογικά εργοστάσια
παραγωγής νέων βιοτεχνολογικών προϊόντων

1. Βιοαιθανόλη
2. Βιοπλαστικά

Πρόγραμμα Δια Βίου Μάθησης ΑΕΙ για την Επικαιροποίηση Γνώσεων Αποφοίτων ΑΕΙ

Οι σύγχρονες τεχνικές βιοανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
Περίοδος προτεραιότητας 2007-2013

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ



ΕΣΠΑ
2007-2013
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Βιοαιθανόλη

Η αιθανόλη βιολογικής προέλευσης παράγεται από την μικροβιακή ζύμωση υδατανθράκων που προέρχονται από βιομάζα που βρίσκεται άφθονη και σε χαμηλό κόστος στην φύση

Χαρακτηριστικά της βιοαιθανόλης ως καύσιμο

- Υψηλότερη αξιολόγηση σε οκτάνια από το πετρέλαιο που δίνει την δυνατότητα αυξημένης απόδοσης κατά 15%
- Χαμηλότερη ενεργειακή αξία από την βενζίνη (2/3)

Πως χρησιμοποιείται ως καύσιμο?

- Αυτούσια (95.5%) αιθανόλη σε κατάλληλες μηχανές εσωτερικής καύσης (αυτοκίνητα σε Βραζιλία ή ΗΠΑ)
- Σε μίγματα διαφορετικής σύστασης με βενζίνη

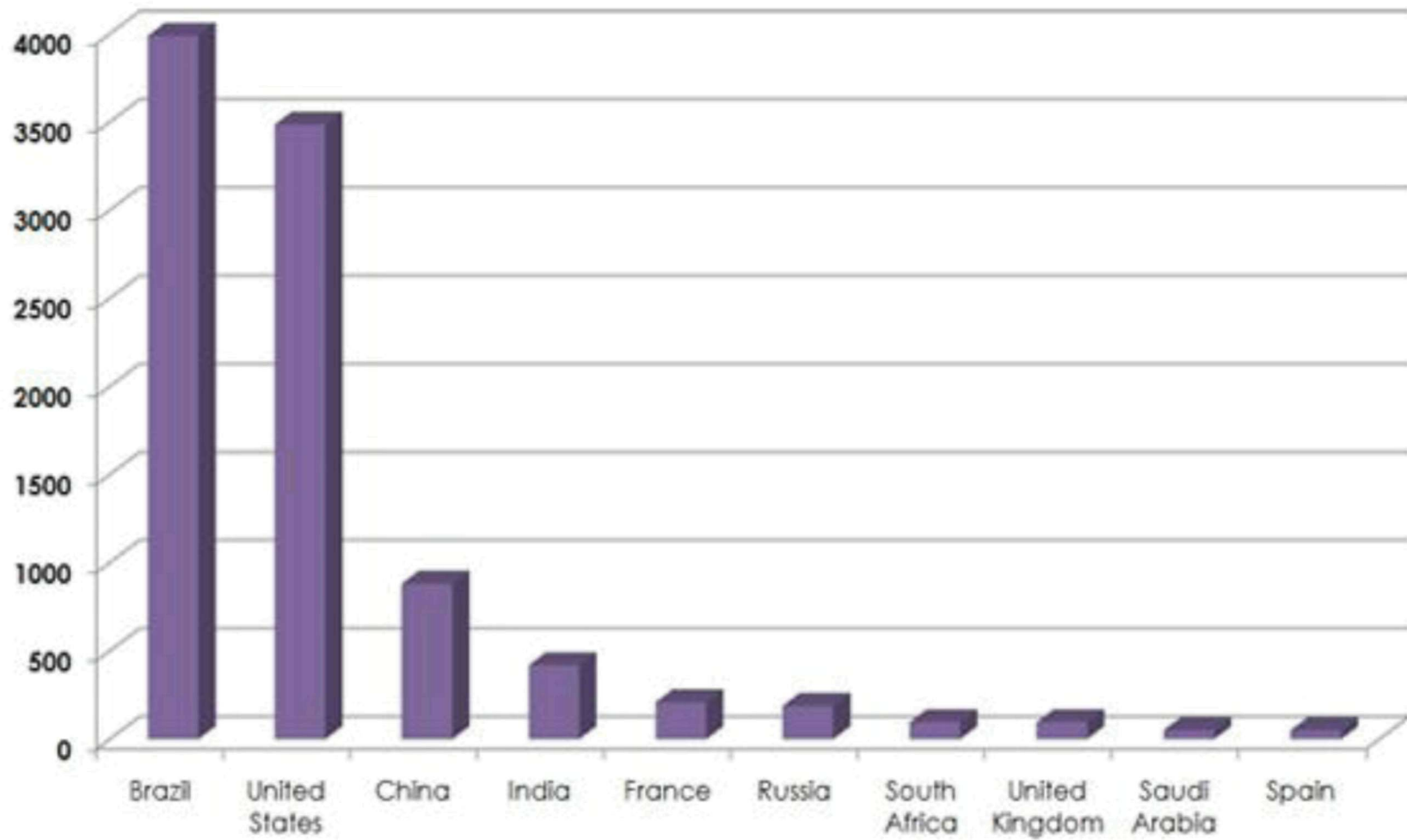
Καύσιμο	Περιεκτικότητα σε αιθανόλη (%)
E85 (N. Αμερική)	85
Βενζίνη (Βραζιλία)	24
E10 (Gazohol) (N. Αμερική)	10
Οξυγονομένο καύσιμο (ΗΠΑ)	7.6
Βιοντίζελ (Σουηδία)	15



Γιατί προτιμούμε την βιοαιθανόλη?

- Με την καύση της παράγονται ελάχιστες ποσότητες CO₂ (φαινόμενο θερμοκηπίου) και χαμηλότερες ποσότητες CO, NO_x σε σύγκριση με την βενζίνη
- Παράγεται από ανανεώσιμες πηγές (βιομάζα δεν θα μας λείψει ποτέ!)
- Θα οδηγήσει σε περιορισμό στην χρήση συμβατικών καυσίμων που δημιουργούν περιβαλλοντικά προβλήματα
- **Μπορεί να περιορίσει σε σημαντικό βαθμό την παγκόσμια ενεργειακή εξάρτηση από το πετρέλαιο (τεχνητές κρίσεις, αύξηση τιμών κ.α.)**

TOP 10 ETHANOL PRODUCING, 2004 (MILLIONS GALLONS)

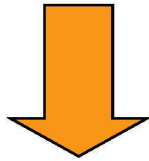


Από τι υλικά παράγεται η βιοαιθανόλη?

- **Ζαχαροκάλαμο**
- **Σπόρους καλαμποκιού**
- **Βιομάζα (κυτταρίνης / ημικυτταρίνης)**

Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Βραζιλία

Η πετρελαϊκή κρίση τα 1970 και η τεράστια παραγωγή ζαχαροκάλαμου που δεν μπορούσε πλέον να απορροφηθεί σε υψηλές τιμές οδήγησε στην χρήση ζαχαροκάλαμου ως υποστρώματος για παραγωγή βιοαιθανόλης (**ProAlcool**)



- Ένα εκατομμύριο νέες θέσεις εργασίας
- 13 δις Lt βιοαιθανόλη/έτος
- Κέρδη 9 δις \$ για την χώρα από την πώληση βιοαιθανόλης αλλά και κέρδος 28.7 δις \$ από την αναστολή εισαγωγής πετρελαίου

Βιοαιθανόλη από Ζαχαροκάλαμο

Η βιοαιθανόλη παράγεται στην Βραζιλία από χυμό από ζαχαροκάλαμο υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα (σουκρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη)

Ο χυμός ζαχαροκάλαμου θερμαίνεται στους 110°C ώστε να αποστειρωθεί το υλικό



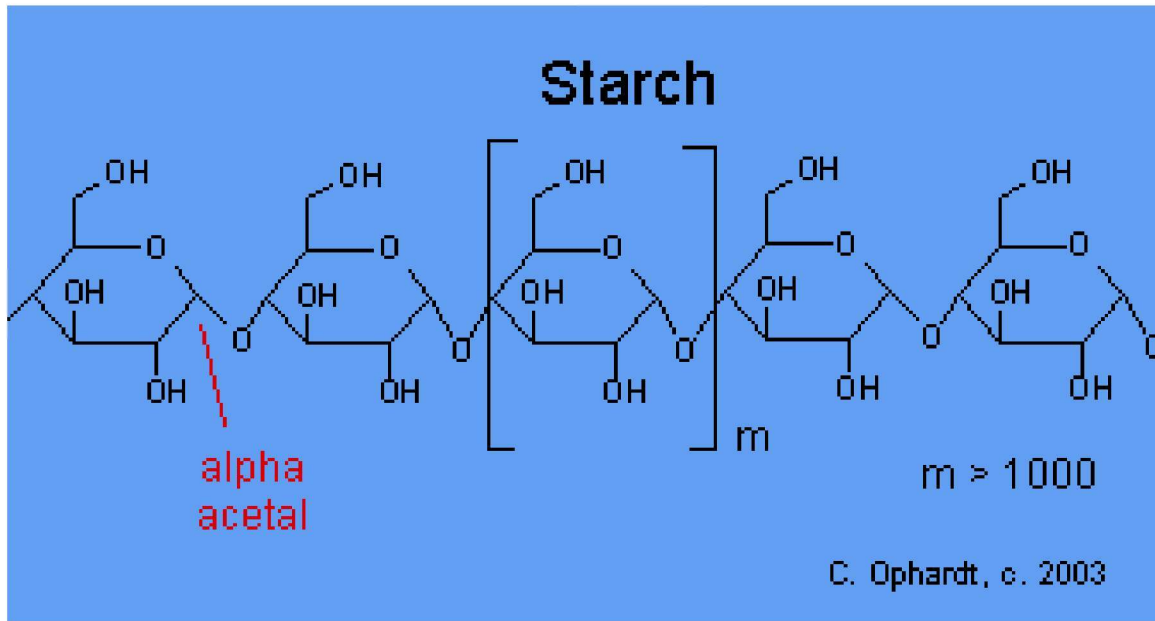
Ακολουθεί εξάτμιση για αύξηση της περιεκτικότητας σε σάκχαρα



Ζύμωση των σακχάρων από την ζύμη *Saccharomyces cerevisiae* και παραγωγή ένυδρης ή ανυδρης αιθανόλης

Βιοαιθανόλη από Καλαμπόκι

Η βιοαιθανόλη παράγεται στην ΗΠΑ από σπόρους καλαμποκιού ή και άλλων δημητριακών χρησιμοποιώντας γενικά υλικά πλούσια σε άμυλο



Πολυσακχαρίδιο που αποτελείται από μονάδες γλυκόζης ενωμένες α-1,4 (αμυλόζη) ή α-1,6 (αμυλοπεκτίνη) γλυκοσιδικούς δεσμούς

Αιθανολογόνοι Μικροοργανισμοί

Η ζύμη *Saccharomyces cerevisiae*

παραδοσιακά χρησιμοποιείται από την βιομηχανία παραγωγής βιοαιθανόλης για την μετατροπή των σακχάρων σε αιθανόλη

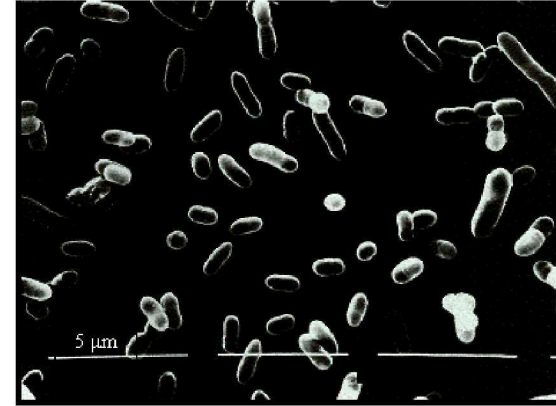


Προβλήματα

1. Μειωμένη παραγωγή αιθανόλης
2. Ευαισθησία σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης
3. Χρήση περιορισμένου φάσματος σακχάρων

Αιθανολογόνι Μικροοργανισμοί

Το βακτήριο *Zygomonas mobilis* παρουσιάζει πλεονεκτήματα σε σχέση με την ζύμη αλλά ακόμη η χρήση του είναι περιορισμένη



Πλεονεκτήματα (σε σχέση με τις ζύμες)

1. Αυξημένη παραγωγή αιθανόλης
2. Ανθεκτικό σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης
3. Ταχύτερη παραγωγή αιθανόλης

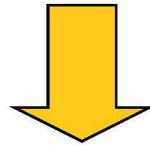
Οι ζύμες γενικότερα ανθεκτικότερες σε αντίξοα περιβάλλοντα και στην ανακύκλωση από τα βακτήρια

Από τι υλικά παράγεται η βιοαιθανόλη?

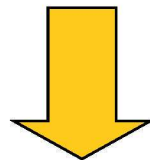
- Ζαχαροκάλαμο
- Σπόρους καλαμποκιού
- **Βιομάζα (κυτταρίνης / ημικυτταρίνης)**

Ποιο το μέλλον της βιοαιθανόλης?

Η παραγωγή αιθανόλης από σπόρους δημητριακών ή ζαχαροκάλαμο **μόνο** δεν μπορεί να καλύψει την αυξανόμενη ζήτηση για βιοαιθανόλη



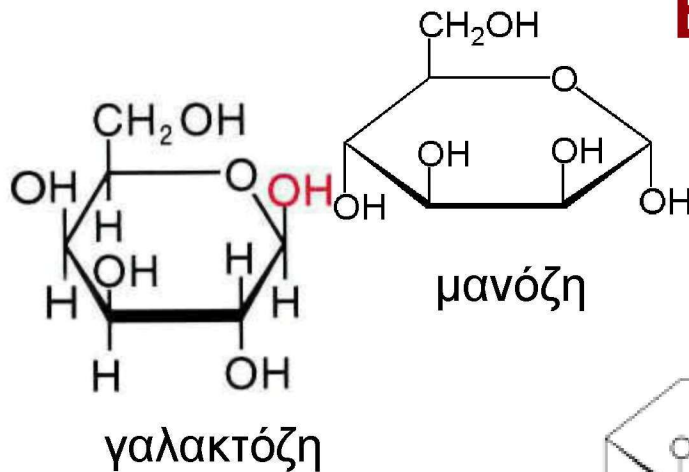
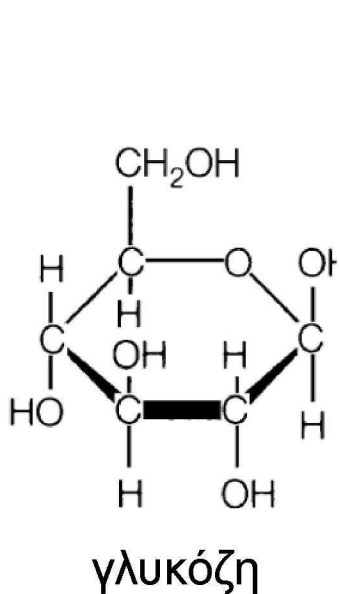
Απαιτείται η χρήση υποστρωμάτων για την παραγωγή βιοαιθανόλης **που θα χαρακτηρίζονται από χαμηλό κόστος και διαθεσιμότητα σε αφθονία**



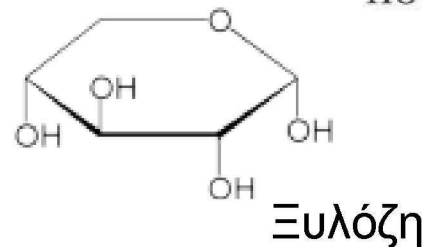
Βιομάζα με υψηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη / ημικυτταρίνη

Δομική σύσταση βιομάζας

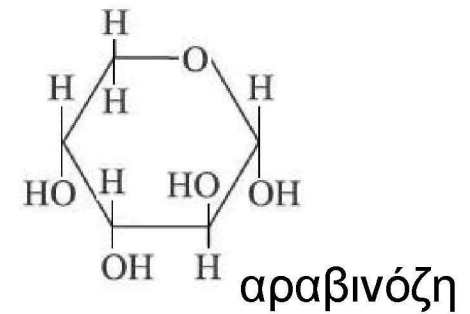
- **Κυτταρίνη (40-50%)**: αποτελείται από γλυκόζη (6C)
- **Ημικυτταρίνη (24-25%)**: αποτελείται από γλυκόζη, γαλακτόζη
μανόζη (6C) και πεντόζες (5C) όπως ξυλόζη, αραβινόζη
- **Λιγνίνη (15-20%)**



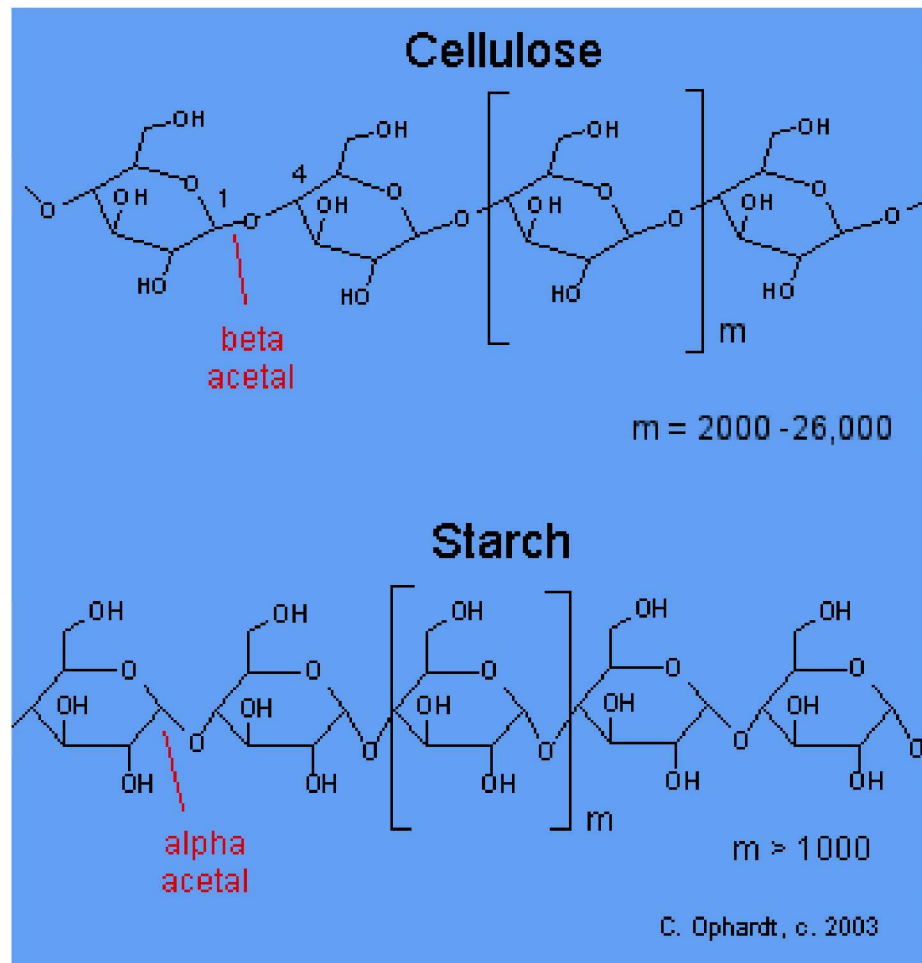
Εξόζες



Πεντόζες



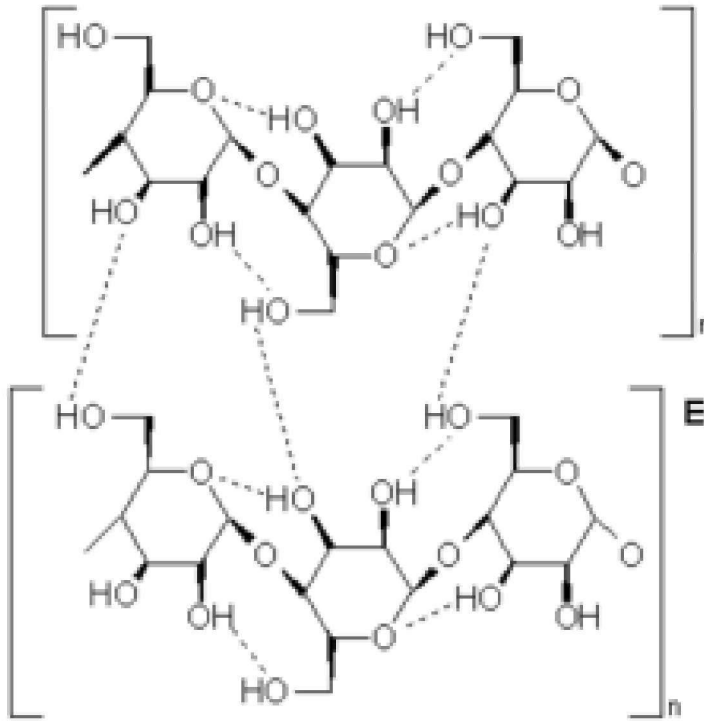
Σε ΗΠΑ, Βραζιλία η παραγωγή αιθανόλης βασίζεται στην υδρόλυση του αμύλου και την παραγωγή αιθανόλης από γλυκόζη
(Εμείς εδώ θέλουμε να χρησιμοποιήσουμε κυτταρίνη)



β - 1,4 γλυκοσιδικούς δεσμούς μεταξύ μορίων γλυκόζης που δεν διασπώνται εύκολα

α -1,4 ή α - 1,6 γλυκοσιδικούς δεσμούς μεταξύ μορίων γλυκόζης που διασπώνται σχετικά εύκολα

Η κυτταρίνη βρίσκεται συνήθως σε κρυσταλλική μορφή
(δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αλυσίδων κυτταρίνης)



Είναι σε συμπλέγματα με **ημικυτταρίνη** και **λιγνίνη** που την προστατεύουν από ενζυμική διάσπαση

Η παραγωγή βιοαιθανόλης από βιομάζα απαιτεί:

- Διάσπαση του συμπλέγματος κυτταρίνης – ημικυτταρίνης – λιγνίνης
- Υδρόλυση των βιοπολυμερών κυτταρίνης και ημικυτταρίνης στα συστατικά τους (σάκχαρα με 6C και 5C)
- Μικροβιακή μετατροπή όλων των σακχάρων (εξόζες και πεντόζες) σε αιθανόλη
- Χρήση της λιγνίνης που προκύπτει ως παραπροϊόν ως καύσιμο υλικό για παραγωγή θερμικής ενέργειας

Στάδια βιομηχανικής παραγωγής βιοαιθανόλης από κυτταρίνη

- Προκαταρτική μεταχείριση
- Σακχαροποίηση
- Μικροβιακή Ζύμωση
- Διαχωρισμός αιθανόλης και παραπροϊόντων

1ο Στάδιο: Προκαταρκτική μεταχείριση

Στόχος: Η διάσπαση της κρυσταλλικής δομής του συμπλέγματος ημικυτταρίνης - κυτταρίνης – λιγνίνης

Μέθοδοι

- **Εφαρμογή αραιού διαλύματος οξέος**
- **Εφαρμογή πυκνού διαλύματος οξέος**
- **Εφαρμογή ενζύμων**

2ο στάδιο: Σακχαροποίηση βιομάζας

Στόχος: η πλήρης μετατροπή κυτταρίνης και ημικυτταρίνης στα δομικά τους σάκχαρα

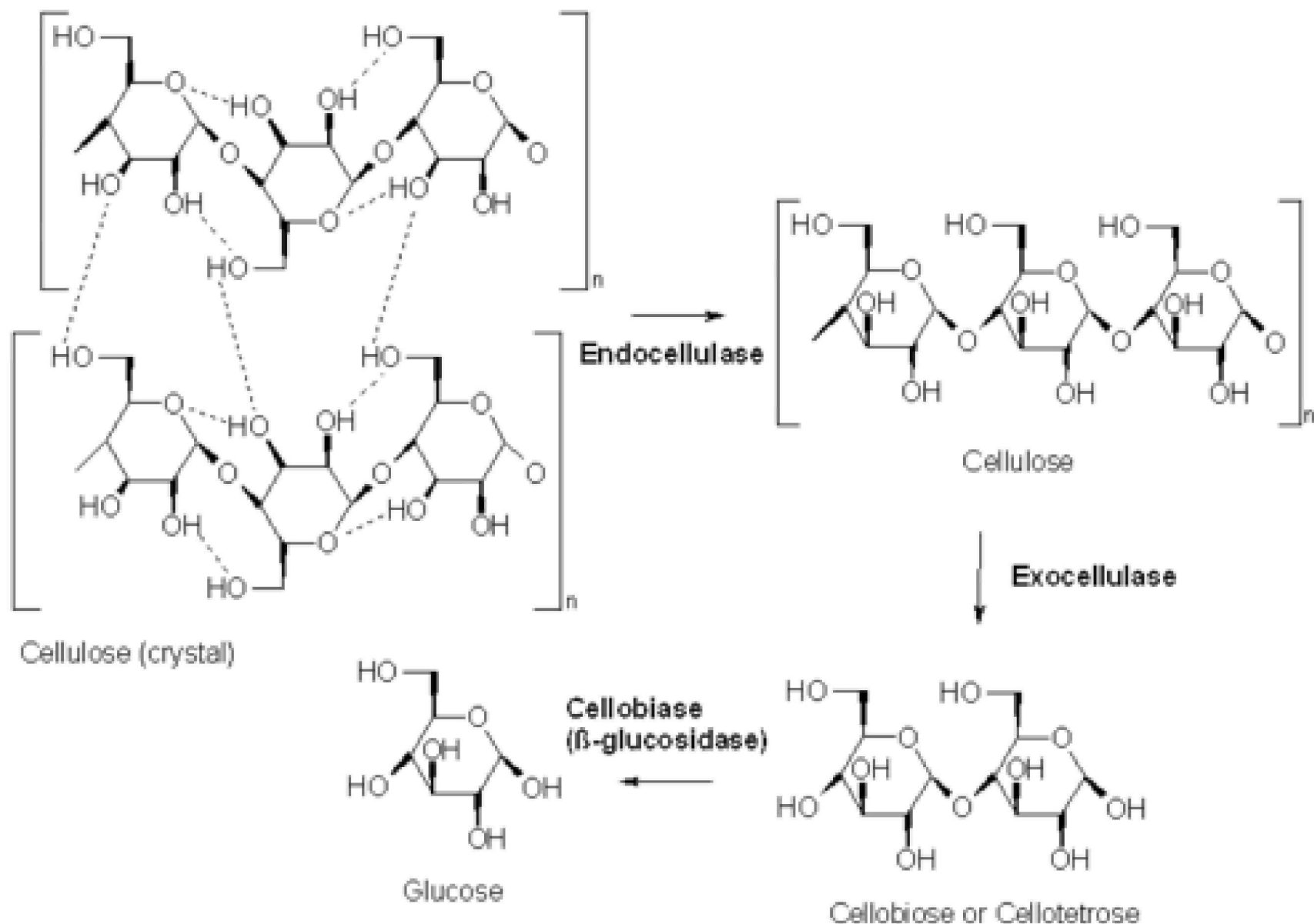
Πως πραγματοποιείται?

Με την χρήση ενζύμων που υδρολύουν την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη στα συστατικά τους μονομερή δηλαδή γλυκόζη, ξυλόζη, αραβινόζη

Ποια ένζυμα χρησιμοποιούνται?

- **Ενδογλυκανάσες:** διασπούν τυχαία την κυτταρίνη παράγοντας ολιγοσακχαρίδια μικρότερου μοριακού βάρους
- **Εξωγλυκανάσες:** δεσμεύονται στα μη-αναγωγικά άκρα των ολιγοσακχαριδίων που προέκυψαν και τα διασπούν προς διμερή κυτταρίνης (cellobiose)
- **β-γλυκοσιδάσες:** Υδρολύουν cellobiose και άλλα ολιγοσακχαρίδια προς γλυκόζη
- **Ημικυτταρινάσες:** Διασπούν β-1,4 ξυλάνια (ξυλανάσες) και διάφορες πλευρικές αλυσίδες

Ενζυμική διάσπαση κυτταρίνης



Προέλευση Ενζύμων

Ο μικροοργανισμός από τον οποίο απομονώθηκαν οι πρώτες **κυτταρινάσες** είναι ο μύκητας *Trichoderma reesei*

Νέα δραστικά ένζυμα έχουν απομονωθεί από το θερμόφιλο βακτήριο *Acidothermus cellulolyticus* (ενδογλυκανάση) και από τον μύκητα *Aspergillus niger* (β-γλυκοσιδάση)

Ημικυτταρινάσες που να έχουν βιομηχανικό ενδιαφέρον δεν έχουν απομονωθεί ως σήμερα

Χρησιμοποιούνται σε βιομηχανική κλίμακα μίγματα ενζύμων (εξωγλυκανάσες, ενδογλυκανάσες, β-γλυκοσιδάσες)

3ο Στάδιο: Μικροβιακή ζύμωση σακχάρων

Χρησιμοποιούνται κυρίως γενετικά τροποποιημένα βακτήρια

➤ *Zymomonas mobilis*

➤ *E. coli*

➤ *Klebsiella oxytoca*

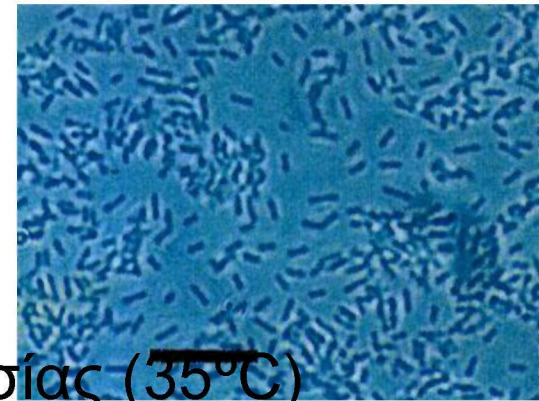
➤ *Erwinia chrysanthemi*

Η ζύμη *S. cerevisiae* δεν χρησιμοποιείται λόγω της αδυναμίας της να χρησιμοποιεί και πεντόζες για την παραγωγή αιθανόλης

Γενετική Βελτίωση Αιθανολογόνων Μικροοργανισμών

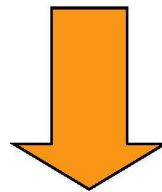
- Ενσωμάτωση στο γονιδίωμα μικροοργανισμών που έχουν την ικανότητα να παράγουν αιθανόλη από εξόζες, νέων μονοπατιών ώστε να χρησιμοποιούν και πεντόζες όπως ξυλόζη και αραβινόζη για την παραγωγή βιοαιθανόλης (*Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*)
- Βελτίωση της παραγωγικότητας σε αιθανόλη μικροοργανισμών που έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν εξόζες και πεντόζες (*E. coli*, *K. oxytoca*)

Klebsiella oxytoca



Πλεονεκτήματα

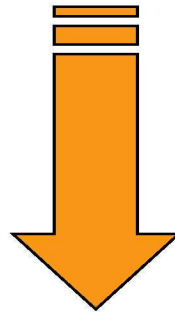
1. Βέλτιστες συνθήκες pH (<5) και θερμοκρασίας (35°C)
2. Μπορεί να χρησιμοποιήσει μεγάλο φάσμα σακχάρων (εξόζες, πεντόζες, cellobiose, cellotriose)



Ιδανικά βακτήρια για συστήματα SSF (ταυτόχρονη σακχαροποίηση & ζύμωση), η χρήση τους θα οδηγήσει σε μείωση της χρήση εξωγλυκανασών (υδρολύουν cellobiose, cellotriose)

Σύνοψη – Τι πρέπει να βελτιώσουμε?

- Παραγωγή αποδοτικότερων ενζύμων
- Δημιουργία γενετικά βελτιωμένων μικροοργανισμών
- Βελτίωση τεχνολογιών



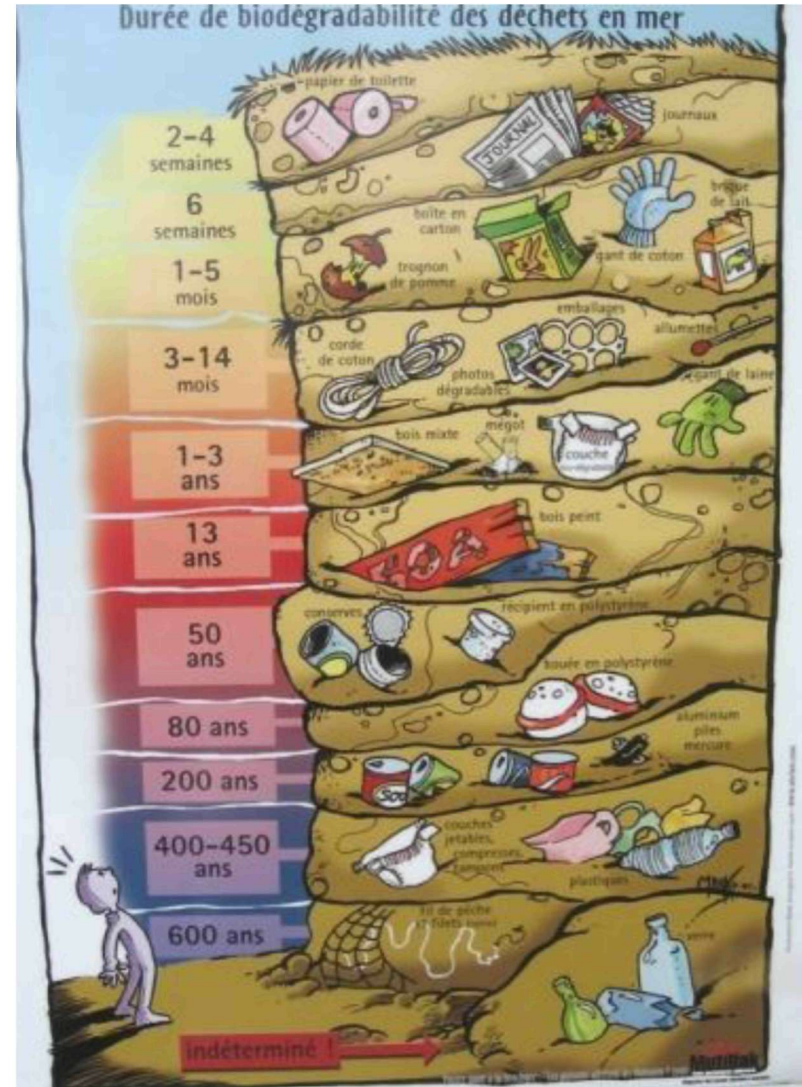
Χαμηλότερο κόστος για να γίνει η αιθανόλη πλήρως ανταγωνιστική ως προς το πετρέλαιο

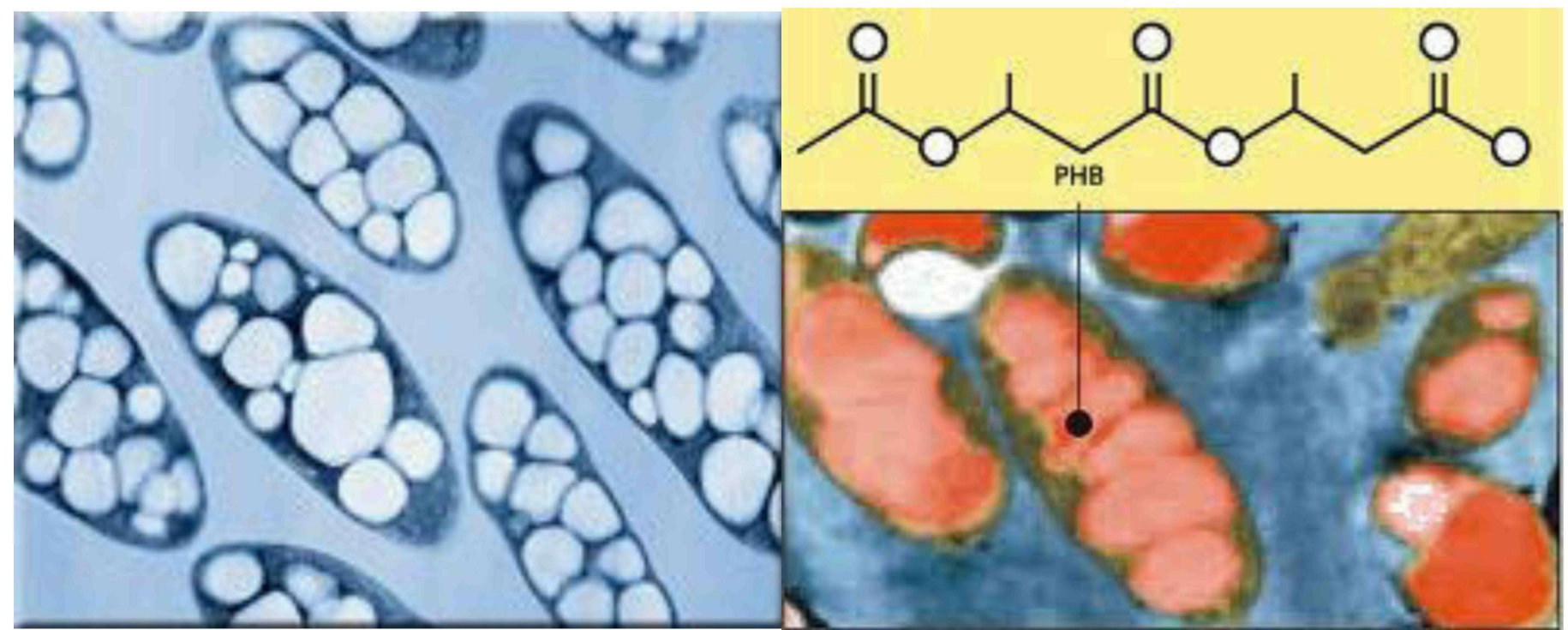
Βιοπλαστικά

**Πως παράγονται από τους
μικροοργανισμούς;**

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

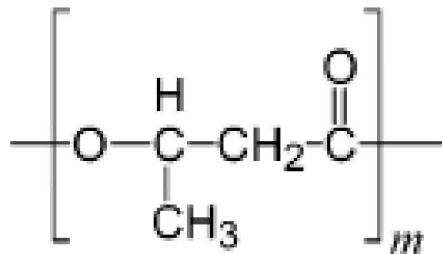
Κόκκοι με βιοπολυμερή στο βακτήριο *Pseudomonas oleovorans*

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

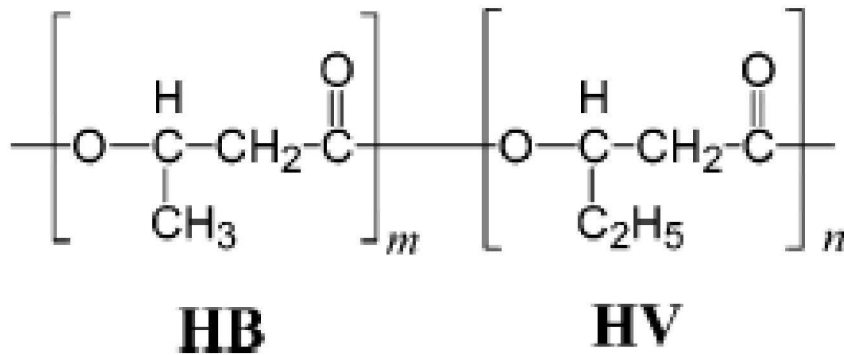
Το πρώτο βιοπολυμερές απομονώθηκε από καλλιέργειες του βακτηρίου *Bacillus megaterium* και αποτελούταν από μονάδες 3-Υδροξυβουτυρικού Οξέος (HB)



HB

Το πολυμερές PHB παρουσίαζε 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)



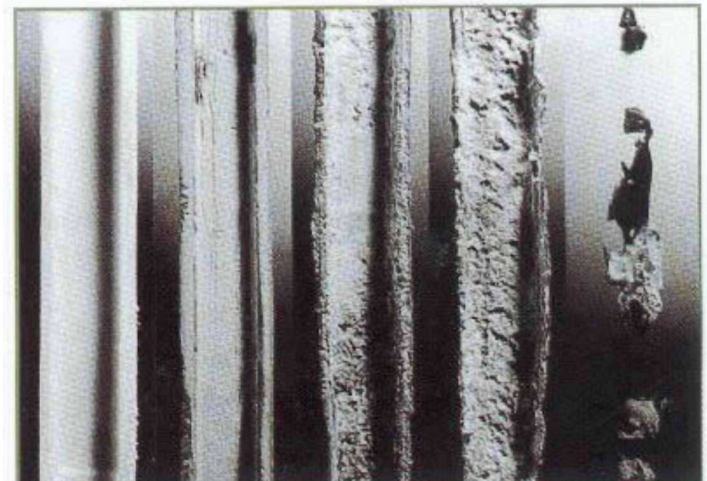
Το συγκεκριμένο πολυμερές χρησιμοποιείται σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές με το εμπορικό όνομα Biopol® και απομονώθηκε για πρώτη φορά από το βακτήριο *Wautersia eutropha* σε καλλιέργειες με πηγή C γλυκόζη και προπιονικό οξύ

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%

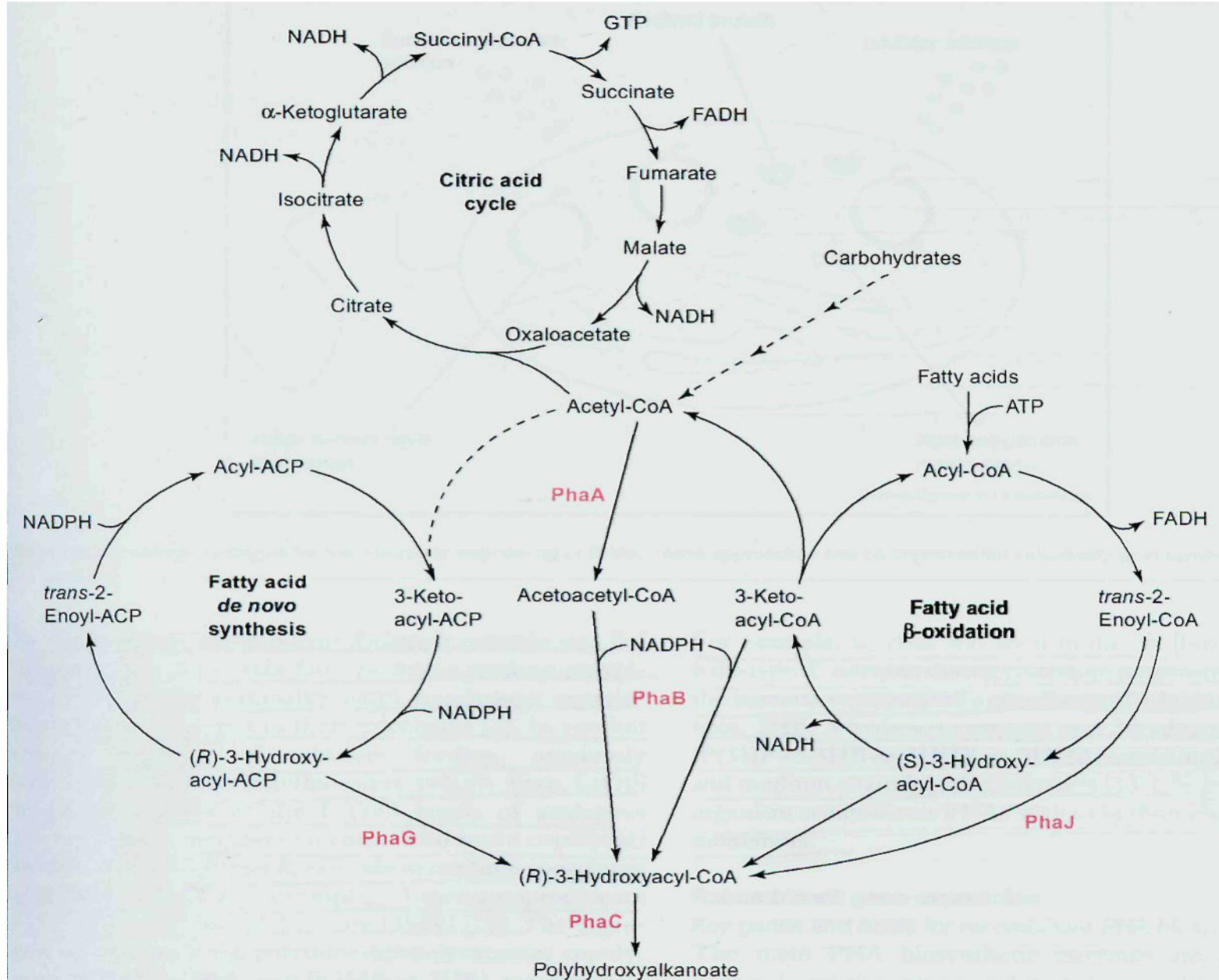
Φυσιολογικός ρόλος βιο. πλαστικών

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

Διεργασία παραγωγής βιοπλαστικών

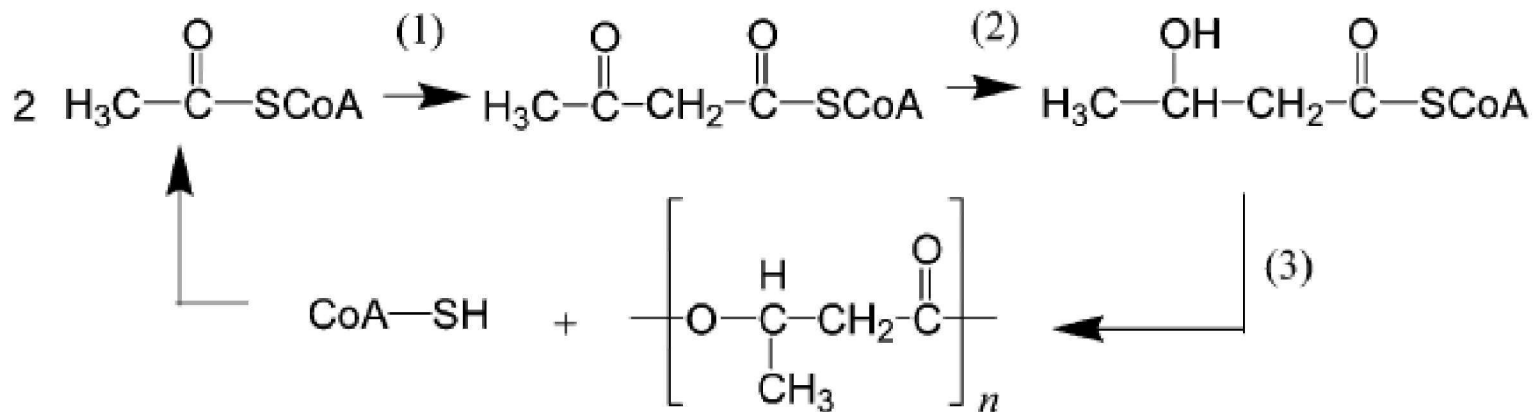
- Διάφορα βακτήρια έχουν την ικανότητα, σε συνθήκες έλλειψης N, S, P να αναστέλλουν την χρήση των ακέτυλο μονάδων στον κύκλο του Krebs (λόγω έλλειψης θρεπτικών) αλλά να τις χρησιμοποιούν για τον σχηματισμό πολυμερών με δομική μονάδα υδροξυ-αλκανοϊκά οξέα (PHAs)
- Επαναφορά των βακτηρίων σε συνθήκες μη-έλλειψης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

Βιοσύνθεση βιο-πλαστικών



Βιοσύνθεση των βιοπλαστικών

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

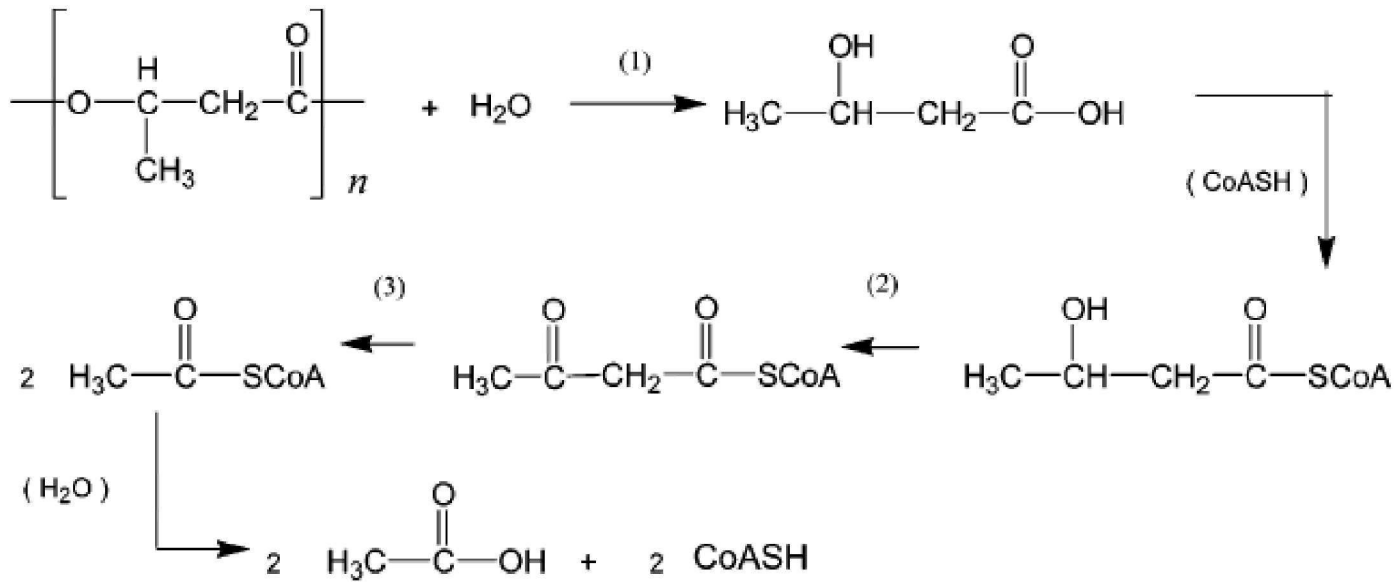


Βακτήρια που συνθέτουν βιοπλαστικά

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 πολυμεράσεις 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

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 (ATO, Ολλανδία)

Biorol™ 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)

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 παραγωγής 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

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*