



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**  
**ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΕΙΩΝ - ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΩΝ**  
**ΤΟΜΕΑΣ ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ**  
Εργαστήριο Επιστήμης και Τεχνολογίας Προστασίας Περιβάλλοντος  
στη Μεταλλουργία και Τεχνολογία Υλικών

**Παράμετροι βιοκαταβύθισης ιόντων μετάλλων  
σε βιολογικούς αντιδραστήρες κλίνης**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Παυλίνα Κούση

Επιβλέπων Καθηγητής  
Μάριος Τσέζος

ΑΘΗΝΑ 2014

© Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2014.

## Επιβλέπων

---

Μάριος Τσέζος

*Καθηγητής Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

## Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

---

Μάριος Τσέζος

*Καθηγητής Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

Στυλιανή Αγατζίνη-Λεονάρδου

*Καθηγήτρια Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

Ευάγγελος Μητσούλης

*Καθηγητής Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

## Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

---

Μάριος Τσέζος

*Καθηγητής Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

Στυλιανή Αγατζίνη-Λεονάρδου

*Καθηγήτρια Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

Ευάγγελος Μητσούλης

*Καθηγητής Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

Γεώργιος Αναστασάκης

*Καθηγητής Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

Ανδρέας Ανδρεαδάκης

*Καθηγητής Σχολής Πολιτικών Μηχανικών Ε.Μ.Π.*

Γεράσιμος Λυμπεράτος

*Καθηγητής Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π.*

Εμμανουέλλα Ρεμουντάκη

*Επίκουρη Καθηγήτρια Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.*

*Ευχαριστώ όλα τα μέλη της Επιτροπής για την προθυμία τους να συμμετάσχουν στην εξέταση της παρούσας διατριβής καθώς και για το χρόνο που διέθεσαν για τη διόρθωση του χειρογράφου.*

*Π.Κ.*



*Λίγα λόγια από τη συγγραφέα...*

Τώρα που τέλειωσαν τα πειράματα, έγινε η επεξεργασία των αποτελεσμάτων, βγήκαν τα συμπεράσματα και ολοκληρώθηκε η συγγραφή του κειμένου, σε αυτές τις σελίδες θέλω πραγματικά να ευχαριστήσω, ειλικρινά και μακριά από τύπους, όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση της διατριβής μου.

Αρχίζω, λοιπόν, από τον άνθρωπο από όπου ξεκίνησαν όλα: τον Καθηγητή κ. Μάριο Τσέζο που, μετά το θέμα της διπλωματικής και της μεταπτυχιακής μου εργασίας, μου εμπιστεύθηκε και το θέμα της διδακτορικής μου διατριβής. Με τη στέρεη επιστημονική του κατάρτιση, την τεχνογνωσία και την εργαστηριακή του εμπειρία στους βιολογικούς αντιδραστήρες αλλά και τη δημιουργική εμμονή του σε ερωτήσεις του τύπου «πώς» και «γιατί», με εισήγαγε στα θέματα των τεχνολογιών προστασίας του περιβάλλοντος, μου έδειξε την πολυπλοκότητα των βιολογικών συστημάτων και μου δίδαξε την αξία της αποσαφήνισης των μηχανισμών που διέπουν τις αλληλεπιδράσεις των μικροοργανισμών με τα μέταλλα. Είναι αλήθεια ότι κάθε συζήτηση μαζί του έδινε νέα ώθηση στη σκέψη μου και καθοδηγούσε τα πειράματα σε λογικά μονοπάτια. Τον ευχαριστώ, λοιπόν, θερμά για την ουσιαστική βοήθειά του.

Το θέμα αποδείχθηκε ιδιαίτερα σύνθετο αφού απαιτούσε το συνδυασμό βασικών γνώσεων από τρία τουλάχιστον επιστημονικά πεδία: χημεία (καταβύθιση και χημεία υδατικών διαλυμάτων), χημική μηχανική (σχεδιασμό αντιδραστήρων) και μικροβιολογία (μεταβολική δραστηριότητα θειοαναγωγικών βακτηρίων). Είναι, επομένως, προφανές ότι η συμβολή της ερευνητικής ομάδας του Εργαστηρίου ήταν καταλυτική για την επιτυχή διαχείριση του θέματος. Δεν είναι δυνατό, λοιπόν, να μην αναφερθώ

- στην Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Εμμανουέλλα Ρεμουντάκη για τη βοήθειά της στην κατανόηση των χημικών φαινομένων αλλά και στο χειρισμό των αναλυτικών οργάνων. Επίσης, θυμάμαι το ενδιαφέρον της για την εξέλιξη της έρευνάς μου αλλά και την έντονη πίεση που μου άσκησε για την ολοκλήρωση της συγγραφής της διατριβής αλλά και των υπόλοιπων σχετικών δημοσιευμένων εργασιών. Εκ των υστέρων, αναγνωρίζω ότι, χωρίς την προτροπή της, δεν θα είχα τολμήσει να ξεπεράσω τις ανασφάλειές μου και να παρουσιάσω τα αποτελέσματα της δουλειάς μου.

- στο Δρ. Αρτίν Χατζηκιοσεγιάν για τη βοήθειά του στην κατανόηση των «ζωντανών» συστημάτων αλλά και στη διαμόρφωση και κατασκευή του συστήματος του αντιδραστήρα. Οι γνώσεις και η εμπειρία του από τη μελέτη των βιολογικών αντιδραστήρων αποδείχθηκαν χρήσιμα εργαλεία που δεν δίστασε να μοιραστεί μαζί μου όποτε χρειάστηκε.

Η υλοποίηση της διατριβής βασίστηκε στην υποδομή και τους πόρους του Εργαστηρίου Επιστήμης & Τεχνολογίας Προστασίας του Περιβάλλοντος, της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών αλλά και του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, γενικότερα. Ως εκ τούτου, οφείλω να ευχαριστήσω

- το Εργαστήριο που μου παρέιχε, σε περιόδους οικονομικής δυσπραγίας, όλα τα απαραίτητα μέσα για την εκπόνηση της διατριβής και μου εμπιστεύθηκε το χειρισμό των διαθέσιμων αναλυτικών οργάνων που ήταν απαραίτητα για την πραγματοποίηση των αναλύσεων των δειγμάτων μου.
- τη Σχολή που εξασφάλισε την πρόσβαση και την εκπαίδευση των ερευνητών σε μεγάλα αναλυτικά όργανα, όπως το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης και το περιθλασίμετρο ακτινών Χ. Ιδιαίτερα ευχαριστώ το Δρ. Τσακίριδη (Εργαστήριο Μεταλλογνωσίας ΕΜΠ) και το Δρ. Ουσταδάκη (Εργαστήριο Μεταλλουργίας ΕΜΠ) για την πολύτιμη και ανιδιοτελή βοήθειά τους στο χειρισμό των οργάνων αυτών. Επίσης, οφείλω να αναγνωρίσω την προσφορά του Αν. Καθηγητή κ. Πάνια που μου παραχώρησε το φασματοφωτόμετρο ανάλυσης ολικού οργανικού άνθρακα.
- το Ίδρυμα που, μέσω της Κεντρικής Βιβλιοθήκης, με το υλικό που διαθέτει αλλά και την εξαιρετική υπηρεσία διαδανεισμού που προσφέρει, εξασφάλισε και διευκόλυνε την πρόσβασή μου σε όλες τις απαραίτητες βιβλιογραφικές πηγές, χωρίς τις οποίες θα ήταν αδύνατο να θεμελιωθεί θεωρητικά το θέμα της διατριβής και να τεκμηριωθούν τα ευρήματα της έρευνάς μου. Ιδιαίτερα ευχαριστώ το προσωπικό της Βιβλιοθήκης που, όπως και το προσωπικό της Γραμματείας της Σχολής, εξυπηρέτησαν κάθε αίτημά μου, διευκολύνοντας τη συνέχιση της μελέτης μου. Ελπίζω κι εύχομαι, μετά την πρόσφατη πολύμηνη περιπέτεια, να επανέλθουν όλοι στις θέσεις τους.

Η διατριβή αυτή ξεκίνησε και υλοποιήθηκε κατά μεγάλο μέρος στο πλαίσιο του ερευνητικού έργου BioMinE (2004-2008, αρ. συμβολαίου NMP1-CT-500329-1), το οποίο υποστηρίχθηκε οικονομικά από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή στο πλαίσιο του 6<sup>ου</sup> Προγράμματος Πλαισίου για την Έρευνα και την Ανάπτυξη. Είναι, επομένως, αυτονόητο ότι αναγνωρίζω τους οικονομικούς πόρους, που εξασφάλισαν τα απαραίτητα υλικά για την εκτέλεση των πειραμάτων καθώς και τη δική μου αμοιβή, αλλά και τις σημαντικές επιστημονικές συνεργασίες που προέκυψαν από το έργο αυτό.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Διεύθυνση Εγκαταστάσεων του Κέντρου Επεξεργασίας Λυμάτων Μεταμόρφωσης (ΕΥΔΑΠ Α.Ε.) για την παροχή υλικού από τη δεξαμενή

αναερόβιας κώνευσης, χωρίς το οποίο δεν θα ήταν δυνατή η διαμόρφωση του μελετώμενου συστήματος.

Με την ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής, 20 χρόνια μετά την πρώτη εγγραφή μου στη Σχολή, κλείνω τον κύκλο που ονειρεύονται να ακολουθήσουν οι περισσότεροι πρωτοετείς φοιτητές του Ιδρύματος. Στη διάρκεια αυτών των χρόνων, είχα την τύχη να γνωρίσω εξαιρετικούς δασκάλους και να συνεργαστώ με ιδιαίτερα και χαρισματικά άτομα που βοήθησαν, ο καθένας με το δικό του τρόπο, να διευρύνω την οπτική μου, να ανακαλύψω νέα μονοπάτια, να ξεπεράσω τις δυσκολίες της διαδρομής και να χαρώ εν τέλει το ταξίδι.

Αισθάνομαι, λοιπόν, την ανάγκη να ευχαριστήσω ξεχωριστά τους καθηγητές μου στη Σχολή που, με τη γνώση και την εμπειρία τους, δίδαξαν πώς πρέπει να σκέφτεται ο Μηχανικός και πώς η εξειδικευμένη γνώση του Μεταλλουργού Μηχανικού μπορεί να ενταχθεί σε ένα ευρύτερο επιστημονικό πλαίσιο. Επίσης, οφείλω να ευχαριστήσω τον εμπνευστή του ΔΠΜΣ «Περιβάλλον και Ανάπτυξη», Καθηγητή κ. Δημήτρη Ρόκο, που με επιμονή έδειξε, πέρα από κάθε αμφιβολία, την ανάγκη για διεπιστημονικότητα και ομαδική προσπάθεια στην επίλυση των πολυδιάστατων σύγχρονων ζητημάτων που σχετίζονται με την ολοκληρωμένη ανάπτυξη.

Επειδή είμαι βέβαιη ότι τίποτα δεν θα ήταν ίδιο χωρίς αυτές, θέλω να αναφέρω δύο ξεχωριστές κυρίες, τη Μαρία (κ. Γρέγου) και την Ασημίνα (Δρ. Κατσιάπη), που, έστω κι από την απόσταση των εργαστηρίων τους, γεμίζουν το χώρο μου με την ενέργειά τους, διαμορφώνοντας ένα οικείο και ευχάριστο περιβάλλον εργασίας. Ιδιαίτερα, όμως, θέλω να σταθώ στη Ρόζα (Δρ. Βιδάλη), τη φίλη και για πολλά χρόνια συνάδελφο, με την οποία περάσαμε πολλές ώρες μπροστά στον πάγκο του εργαστηρίου, με κοινή αγωνία για την επιτυχία του πειράματος ή της μέτρησης αλλά και με πολλά γέλια. Η μοναδική και καθαρή ματιά της στα πράγματα, είτε τεχνικά είτε γενικού ενδιαφέροντος, έδινε πάντα μια άλλη διάσταση σε κάθε μας συζήτηση κι αυτό μου έχει λείψει...

Σήμερα, που κλείνει τυπικά κι αυτό το κεφάλαιο των σπουδών μου, θα ήθελα να αξιοποιήσω την ευκαιρία που μου δίνεται για να ευχαριστήσω, δημόσια και από καρδιάς, όλους εκείνους που, από παιδί ακόμα, μου έδειξαν τη σημασία της αμφισβήτησης και της συνεχούς αναζήτησης αλλά και δρόμους σκέψης και συμπεριφοράς που τελικά με οδήγησαν στο Πανεπιστήμιο, όπου (φυσικά) τα ερωτήματα πολλαπλασιάστηκαν...

Τίποτα, όμως, από όλα αυτά δεν θα είχε γίνει πραγματικότητα αν δεν υπήρχαν στη ζωή μου δύο σπάνιοι άνθρωποι: η μητέρα μου και ο πατέρας μου που, με το χαρακτήρα και τη στάση ζωής τους, μου έμαθαν να βάζω στόχους και να δουλεύω, με υπομονή κι επιμονή, για να τους πετύχω. Εκείνοι με υποστήριζαν σε κάθε μου βήμα χωρίς ποτέ να περιορίσουν τις επιλογές μου. Γι' αυτό και μόνο, η διατριβή αυτή τους ανήκει!

*Παυλίνα Κούση*





*Κούση, Π. (2014). Παράμετροι βιοκαταβύθισης ιόντων μετάλλων σε βιολογικούς αντιδραστήρες κλίνης, Διδακτορική διατριβή. Αθήνα: Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.*

Με αφορμή την έκταση του προβλήματος της όξινης απορροής μεταλλείων που άπτεται άμεσα της μεταλλευτικής και μεταλλουργικής δραστηριότητας καθώς και της εν γένει διαχείρισης των υγρών βιομηχανικών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και μετάλλων, το αντικείμενο της παρούσας διατριβής εστιάστηκε στη μελέτη και στη διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης της αναγωγής των θειικών ιόντων από συγκεκριμένα βακτήρια του κύκλου του θείου για την επεξεργασία τέτοιων αποβλήτων και την απομάκρυνση των ιόντων των μετάλλων από την υδατική φάση μέσω καταβύθισης στο εσωτερικό κατάλληλου βιολογικού αντιδραστήρα.

Το πρόβλημα το οποίο καλείται να αντιμετωπίσει η τεχνολογία που προτείνεται στην παρούσα διατριβή σκιαγραφείται στο Κεφάλαιο 1. Η προτεινόμενη τεχνολογία, που περιγράφεται ως προς την αρχή της αλλά και τις σημαντικότερες παραμέτρους εφαρμογής της στα Κεφάλαια 2 και 3, βασίζεται στην καταβύθιση θειούχων ενώσεων των μετάλλων, μια σημαντική διεργασία στην υδρομεταλλουργική επεξεργασία μεταλλευμάτων και υγρών αποβλήτων με αξιόλογα πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την καταβύθιση υδροξειδίων. Έτσι, και παρά τη σχετικά πρόσφατη ανάπτυξή της σε πιλοτική και βιομηχανική κλίμακα, παραμένουν διεθνώς υπό διερεύνηση σημαντικά ερωτήματα αναφορικά με την αποδοτικότερη εφαρμογή της σε πλήρη κλίμακα.

Στο πλαίσιο αυτό εντάσσεται και η παρούσα διατριβή με σκοπό την ανάπτυξη συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα υψηλής απόδοσης για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων θειικών ιόντων, δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου και την καταβύθιση των μεταλλικών αξιών με τη μορφή θειούχων ενώσεων. Από τον κύριο στόχο της διατριβής προκύπτουν βασικά ερωτήματα, τα οποία αποτελούν ταυτόχρονα επιμέρους ζητούμενα για τον προσδιορισμό των αντίστοιχων παραμέτρων που εξασφαλίζουν την επιτυχή λειτουργία του προτεινόμενου συστήματος και σχετίζονται με (1) τη διαμόρφωση του προτεινόμενου συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα, (2) την ανάπτυξη και προσαρμογή του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης, (3) την πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και την αναλογία οργανικού

άνθρακα:θειικών ιόντων στο διάλυμα τροφοδοσίας και (4) τα χαρακτηριστικά της παραγόμενης ιλύος.

Για την πειραματική διερεύνηση των ερωτημάτων που απορρέουν από τον κύριο στόχο της παρούσας διατριβής καθώς και για την ποσοτική περιγραφή του προτεινόμενου συστήματος σε εργαστηριακή κλίμακα, αναπτύχθηκε συγκεκριμένη μεθοδολογία και εφαρμόστηκαν δόκιμες αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού των επιλεγμένων παραμέτρων, όπως περιγράφονται στο Κεφάλαιο 4.

Στα Κεφάλαια 5-8 παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα της συστηματικής προσπάθειας που έγινε για την ποσοτική περιγραφή της λειτουργίας του προτεινόμενου συστήματος ενώ στο Κεφάλαιο 9 συνοψίζονται τα βασικά συμπεράσματα και οι προοπτικές της παρούσας διατριβής. Τα επιμέρους αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης συμπεριλήφθηκαν σε 5 συνολικά ήδη δημοσιευμένες εργασίες:

- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2007). A study of the operating parameters of a sulphate-reducing fixed-bed reactor for the treatment of metal-bearing wastewater. *Advanced Materials Research* 20-21: 230-234.
- Remoundaki, E., Kousi, P., Jouliau, C., Battaglia-Brunet, F., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2008). Characterization, morphology and composition of biofilm and precipitates from a sulphate-reducing fixed-bed reactor. *Journal of Hazardous Materials* 153(1-2): 514-524.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2009). Precipitation of metals in a fixed-bed sulphate-reducing reactor under theoretical stoichiometric lactate/sulphate ratio. in: Agioutantis, Z. & Komnitsas, K. (Eds.), *Towards sustainable development: Assessing the footprint of resource utilization and hazardous waste management*, Proceedings of the 3rd AMIREG International Conference, Athens, Greece. pp. 237-242.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A., Battaglia-Brunet, F., Jouliau, C., Kousteni, V. & Tsezos, M. (2011). Metal precipitation in an ethanol-fed, fixed-bed sulphate-reducing bioreactor. *Journal of Hazardous Materials* 189: 677-684.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2011). Sulphate-reducing fixed-bed bioreactors fed with different organic substrates for metal precipitation. in: Qiu, G., Jiang, T., Qin, W., Liu, X., Yang, Y. & Wang, H. (Eds.), *Biohydrometallurgy: Biotech key to unlock mineral resources value*, Proceedings of the 19th International Biohydrometallurgy Symposium (IBS 2011), Changsha, China. Central South University Press: pp. 1078-1084.

και 1 πρόσφατη που έχει γίνει δεκτή για προφορική παρουσίαση στο περιφερειακό συνέδριο που διοργανώνει ο οργανισμός International Water Association στην Πάτρα μεταξύ 22 και 24 Μαρτίου 2014:

- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2014). Simultaneous carbon

and sulphur substrates removal by *Desulfobacter postgatei* dominated biofilms in anaerobic packed reactors. in: IWA Regional Symposium on Water, Wastewater and Environment: Traditions and Culture, Patras, Greece.

Η συνεισφορά της παρούσας διατριβής στο ευρύτερο αντικείμενο της επεξεργασίας υγρών αποβλήτων με αξιοποίηση της μεταβολικής δραστηριότητας των θειοαναγωγικών βακτηρίων υπογραμμίζεται από τη δημοσίευση των πρωτότυπων αποτελεσμάτων που παρήχθησαν σε έγκυρα<sup>1</sup> επιστημονικά περιοδικά και διεθνή συνέδρια. Αναλυτικότερα, η σημασία της έγκειται στο ότι οι απαντήσεις που δόθηκαν στα ερωτήματα που διατυπώθηκαν παραπάνω οδήγησαν στην ανάπτυξη και την επιτυχή λειτουργία ενός βιολογικού αντιδραστήρα όπου επιτεύχθηκε ποσοτική απομάκρυνση των θειικών ιόντων και των εξεταζόμενων μετάλλων από όξινα συνθετικά διαλύματα με ελαχιστοποίηση του οργανικού φορτίου στο επεξεργασμένο διάλυμα. Ταυτόχρονα, από τη λειτουργία του προτεινόμενου συστήματος σε εργαστηριακή κλίμακα προέκυψε επιμέρους επιστημονική πληροφορία σχετικά με (1) τα είδη των θειοαναγωγικών βακτηρίων και τη δυνατότητά τους να αποικοδομούν επιλεγμένες πηγές άνθρακα καθώς και (2) τη σύσταση και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της παραγόμενης ιλύος, η οποία και επιβεβαιώθηκε από τη βιβλιογραφία.

Έτσι, με βάση τα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης που υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, προτείνεται κατ' αρχήν ένα απλό σύστημα μιας βαθμίδας με αντιδραστήρα σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής, με αδρανές πληρωτικό υλικό συγκεκριμένων προδιαγραφών που εξασφαλίζει την υδραυλική σταθερότητα του συστήματος αλλά και τη ζητούμενη ακινητοποίηση των θειοαναγωγικών βακτηρίων σε λεπτό βιολογικό στρώμα.

Από τη διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον εμπλουτισμό και την προσαρμογή του αρχικού εμβολίου σε απλές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων, προέκυψε βακτηριακός πληθυσμός όπου επικράτησε το είδος *Desulfobacter postgatei*, το οποίο έχει τη χαρακτηριστική ιδιότητα να αποικοδομεί το οξικό ιόν που σχηματίζεται ενδιάμεσα κατά την οξειδωση του γαλακτικού ιόντος και της αιθανόλης. Το αποτέλεσμα αυτό είναι ιδιαίτερος σημαντικό στην περίπτωση που επιλεχθούν αυτές οι πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων καθώς, έτσι, αξιοποιείται το υψηλότερο δυνατό ποσοστό του οργανικού άνθρακα που τροφοδοτείται στο σύστημα και ελαχιστοποιείται το οργανικό φορτίο του ρεύματος εξόδου.

Έτσι, ο αντιδραστήρας με το συγκεκριμένο σχεδιασμό και βακτηριακό πληθυσμό αποδείχθηκε ότι, όταν τροφοδοτηθεί με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, έχει δυνατότητα ποσοτικής απομάκρυνσης ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου (αρχικής συγκέντρωσης 0,1 g/L) από όξινα (pH 3-3,5) συνθετικά διαλύματα θειικών ιόντων (αρχικής συγκέντρωσης 1,8 g/L). Σε αυτήν την περίπτωση, ο ρυθμός αναγωγής των θειικών ιόντων μπορεί να προσεγγίσει τα 7 g/Ld ενώ ο υπολειπόμενος ολικός οργανικός

---

<sup>1</sup> Ο συντελεστής απήχησης (impact factor) του περιοδικού Journal of Hazardous Materials (ISSN: 0304-3894) υπολογίστηκε σε 3,925 για το έτος 2012 και 4,679 για την πενταετία 2008-2012 (Πηγή: Journal Citation Reports 2013, published by Thomson Reuters, <http://www.journals.elsevier.com/journal-of-hazardous-materials/>).

άνθρακας στο επεξεργασμένο διάλυμα προσδιορίστηκε σε τιμή χαμηλότερη από 40 mg/L. Στην παραγόμενη ιλύ, που αποτελείται κυρίως από άμορφες φάσεις θειούχων ενώσεων των μετάλλων και συγκρατείται κατά μεγάλο μέρος στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα, αναγνωρίστηκαν συμπλέγματα μικροκρυσταλλικών δομών μαρκασίτη ( $\text{FeS}_2$ ), Βουρτσίτη ( $\text{Zn}_5\text{S}_5$ ), σφαλερίτη ( $\text{ZnS}$ ), κοβελλίνη ( $\text{CuS}$ ) και χιζελγουντίτη ( $\text{Ni}_3\text{S}_2$ ).

Με βάση τα παραπάνω ευρήματα αλλά και τα αποτελέσματα από τη συνεχή λειτουργία του αντιδραστήρα, το προτεινόμενο σύστημα θα μπορούσε να εφαρμοστεί πιλοτικά για την επεξεργασία βιομηχανικών υγρών αποβλήτων με υψηλούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων. Σημειώνεται, ωστόσο, ότι, για το σκοπό αυτό, χρειάζονται περαιτέρω δοκιμές ώστε να οριστούν με ακρίβεια τα όρια ανοχής του βακτηριακού πληθυσμού ως προς τις αρχικές συγκεντρώσεις των διαλυτών μετάλλων, να προσδιοριστούν λεπτομερώς τα χαρακτηριστικά της παραγόμενης ιλύος αλλά και να προσομοιωθεί η διεργασία στο σύνολό της.

## Extended abstract

---

Kousi, P. (2014). *Metal ion bioprecipitation parameters in packed bioreactors*, Ph.D. thesis (in Greek). Athens: School of Mining and Metallurgical Engineering, National Technical University of Athens.

Sulphate-reducing bacteria (SRB) (Postgate, 1979) are anaerobic microorganisms that are widespread in anoxic habitats, where they use sulphate as terminal electron acceptor for the degradation of organic compounds resulting in the production of sulphide. It has been estimated that sulphate reduction can account for more than 50% of the organic carbon mineralisation in marine sediments which indicates the importance of sulphate reducers in both the sulphur and carbon cycle (Muyzer *et al.*, 2008). Moreover, the interactions between dissimilatory sulphate-reducing bacteria and metal ions have been studied since the first half of the 20<sup>th</sup> century (Hockin *et al.*, 2007). As SRB have the apparently unique potential to simultaneously remove sulphate, organic content, metals and acidity from aqueous media, various processes have developed for isolating useful organisms from the environment and engineering conditions to promote their growth and activity in controlled systems (Johnson, 2000). As a result, results from pilot-scale reactors were reported in the early 90's (Dvorak *et al.*, 1992) and two major patented biotechnology processes emerged in the late 90's (Boonstra *et al.*, 1999; Rowley *et al.*, 1997). However, critical issues concerning the more efficient full-scale application remain under investigation.

In bioremediation processes based on microbially-mediated sulphate reduction, sulphate reducing bacteria obtain energy for cell synthesis and growth by coupling the oxidation of organic substrates or molecular hydrogen (H<sub>2</sub>), under anaerobic conditions, to the reduction of sulphate (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) to sulphide (H<sub>2</sub>S, HS<sup>-</sup>) (Rabus *et al.*, 2007). The generated sulphide may then react, either in situ or ex situ (Kaksonen *et al.*, 2007), with divalent metal ions, which are then sequestered from wastewater as insoluble metal sulphides, in the form of various mineral phases (Herbert *et al.*, 1998), producing sludge of better qualities compared to conventional chemical treatment (Kaksonen *et al.*, 2007). Sulphide and bicarbonate ions, which are formed during sulphate reduction and carbon source oxidation, equilibrate into a mixture of H<sub>2</sub>S, HS<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>, CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, which buffers the solution pH around neutral to slightly alkaline values (Dvorak *et al.*, 1992). Thus, sulphate-reducing bioreactors may be promising alternative treatment schemes for a broad range of industrial wastewater where sulphate reduction,

wastewater neutralisation, soluble metal species sequestering and easier sludge management may be simultaneously addressed and achieved.

However, the dissolved organic carbon content of most industrial wastewater is very low, usually < 10 mg/L (Johnson, 2000). Therefore, addition of a suitable carbon source and electron donor for sulphate reduction is necessary to promote biogenic sulphide production. The preferred carbon sources for SRB are low molecular-weight compounds such as organic acids (e.g. lactate, pyruvate, formate and malate), fatty acids (e.g. acetate) and alcohols (e.g. ethanol, propanol, methanol and butanol) (Liamleam *et al.*, 2007). Nevertheless, several other materials have been examined as alternative, cost-effective electron donors for the SRB-based sulphate reduction, such as hydrogen (coupled with CO or CO<sub>2</sub> as carbon source) (Foucher *et al.*, 2001; van Houten *et al.*, 1994) and various organic materials, such as molasses (Annachatre *et al.*, 2001) or wastes (Boshoff *et al.*, 2004).

The carbon source/electron donor is clearly an influential variable in the design of a full-scale industrial process for two main reasons: (a) it determines the composition of mixed microbial communities and the growth rate of the involved bacterial species and (b) it is a significant parameter for the economics of the process. The latter may easily be understood as the carbon source is not only an essential and often costly material to be added in the reactor inflow, but it also determines the nature and quantity of the organic substances residing in the reactor outflow as residual organic content demanding further treatment.

The present thesis aims at the development of a high-rate sulphate-reducing system for the treatment of acidic sulphate- and metal-bearing solutions, such as wastewater originating from mining and metallurgical industries which is often acidic and typically characterized by a significant content of sulphate and soluble metals (e.g. Zn, Fe, Cu, Ni, Pb and Cd) and the precipitation of the metal ions as metal sulphides. To determine the parameters that ensure the successful operation of the proposed system, this work addresses some fundamental issues concerning (1) the configuration of the proposed sulphate-reducing reactor system, (2) the growth and the acclimation of the mixed bacterial community populating the reactor bed, (3) the carbon source/electron donor and the organic carbon:sulphate ratio in the feed solution and (4) the characteristics of the generated sludge.

In this frame, the present study presents an extensive experimental work focused on the set-up of a microbially-mediated process for the sequestering of metals from acidic metal-bearing wastewater. In order to optimise the process, three simple carbon sources/electron donors, namely lactate, ethanol and acetate, were tested, aiming to examine their suitability for the maintenance of a characterised sulphate-reducing biofilm, successful sulphate reduction and minimisation of the residual organic carbon in the effluent of packed reactors running at different carbon:sulphate ratios.

Based on the results discussed in the present thesis, a single-stage system comprising of an upflow reactor packed with inert carrier material is proposed. The specified support

material was found to ensure the hydraulic stability of the system as well as the required immobilisation of the sulphate-reducing bacteria in a biofilm.

The process followed for the enrichment and acclimation of the initial inoculum to simple carbon sources/electron donors generated a bacterial community largely dominated by *Desulfobacter postgatei*, an acetate-utilising sulphate-reducer. Acetate oxidation, which depends on the presence of acetate-utilising SRB in the microbial consortium, has been proven the critical step of the process where acetate is intermediately produced, as it controls the generation of alkalinity and the residual organic carbon in the effluent. Therefore, the attained biofilm is capable of utilising the higher possible percentage of the fed carbon source, minimising the organic content of the effluent. This is a particularly important result in case carbon sources which are degraded via acetate generation, such as lactate and ethanol, are selected.

Thus, it is experimentally shown that the proposed bioreactor system, when fed with ethanol and acidic sulphate-bearing solutions (initial concentration 1,8 g/L), has a remarkable capacity for neutralising acidic wastewater (initial pH 3-3.5) as well as for quantitatively sequestering soluble metal species (initial Fe(II), Zn, Cu, Ni concentration 0,1 g/L). In this case, sulphate reduction rate was experimentally determined to about 7 g/Ld whereas the residual organic carbon in the treated solution was determined at a level < 40 mg/L. The generated sludge, which consists mainly of amorphous phases of the precipitated metal sulphides and is largely retained within the bioreactor, also included marcasite ( $\text{FeS}_2$ ), wurtzite ( $\text{Zn}_5\text{S}_5$ ), sphalerite ( $\text{ZnS}$ ), covellite ( $\text{CuS}$ ) and heazlewoodite ( $\text{Ni}_3\text{S}_2$ ) in microcrystalline structure.

Based on the above findings as well as the results from the continuous operation of the reactor, it is drawn that the proposed system could be potentially implemented for the treatment of industrial wastewater at high sulphate loading rates. It is, however, underlined that any upscaling would require further experimental tests to specifically define the bacterial community tolerance to metal ions, to characterise the produced sludge in detail and simulate the whole process.





# Περιεχόμενα

---

Ευχαριστίες .....	i
Σύνοψη .....	v
Extended abstract.....	ix
Περιεχόμενα .....	xiii
Κατάλογος εικόνων .....	xvii
Κατάλογος πινάκων.....	xix
Κατάλογος σχημάτων.....	xxiii

## **Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων. Πηγές προέλευσης και μέθοδοι επεξεργασίας .....**

**1**

1.1. Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων κι ελάχιστο οργανικό φορτίο .....	1
1.1.1. Γένεση της όξινης απορροής μεταλλείων.....	2
1.1.2. Χημεία της όξινης απορροής μεταλλείων.....	4
1.1.3. Μικροβιολογία της όξινης απορροής μεταλλείων .....	7
1.1.4. Περιβαλλοντικές επιπτώσεις OAM .....	10
1.1.5. Προσεγγίσεις αντιμετώπισης: αβιοτικές και βιολογικές μέθοδοι.....	11
1.2. Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα .....	13
1.2.1. Πηγές προέλευσης.....	13
1.2.2. Φυσικοχημικές και βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας.....	14

## **Μικροβιακή αναγωγή θειικών ιόντων και καταβύθιση ιόντων μετάλλων. Περιγραφή διεργασίας.....**

**17**

2.1. Ο κύκλος του θείου .....	17
2.1.1. Αναγωγή οξειδωμένων μορφών του θείου με κυτταρική ανάπτυξη .....	21
2.1.2. Αναγωγή οξειδωμένων μορφών του θείου με αποδέσμευση ενέργειας .....	23
2.1.3. Αυτοοξειδοαναγωγή στοιχειακού θείου και οξειδωμένων μορφών του θείου.....	25
2.2. Θειοαναγωγικά βακτήρια .....	26
2.2.1. Γενικά .....	26
2.2.2. Οικολογικές και άλλες χαρακτηριστικές ιδιότητες των θειοαναγωγικών βακτηρίων .....	27
2.2.3. Δότες ηλεκτρονίων: μεταβολισμός και διατήρηση της ενέργειας .....	29
2.2.4. Συμμετοχή των θειοαναγωγικών βακτηρίων στους βιογεωχημικούς κύκλους στοιχείων που υποστηρίζουν την ανάπτυξη τους ως δέκτες ηλεκτρονίων.....	41
2.2.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων .....	42
2.3. Εφαρμογή θειοαναγωγικών βακτηρίων στην απομάκρυνση ιόντων μετάλλων από	

υδατικά διαλύματα .....	58
2.3.1. Βιοκαταβύθιση ιόντων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων.....	58
2.3.2. Έμμεση χημική καταβύθιση .....	65
2.3.3. Βιοσυσσώρευση από κυτταρικά και εξωκυτταρικά συστατικά .....	65
2.3.4. Αναγωγή μετάλλων, μεταλλοειδών και ραδιοϊσοτόπων.....	66
2.3.5. Προσρόφηση σε ανόργανα κατακρημνίσματα .....	67

### **Μικροβιακή αναγωγή θειικών ιόντων και καταβύθιση ιόντων μετάλλων.**

#### **Παράμετροι τεχνολογικής εφαρμογής ..... 69**

3.1. Επισκόπηση αντιδραστήρων που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές.....	69
3.1.1. Χαρακτηριστικά και ταξινόμηση των αντιδραστήρων .....	69
3.1.2. Αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης (πλανκτονικής βιομάζας) .....	70
3.1.3. Αντιδραστήρες κλίνης (ακίνητοποιημένης βιομάζας) .....	73
3.2. Ιδιότητες ρεύματος τροφοδοσίας.....	81
3.2.1. pH τροφοδοσίας .....	81
3.2.2. Συγκέντρωση θειικών ιόντων και ιόντων μετάλλων .....	82
3.3. Παράμετροι σχεδιασμού διεργασίας.....	83
3.3.1. Θερμοκρασία.....	83
3.3.2. Αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στην τροφοδοσία.....	84
3.3.3. Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων.....	87
3.3.4. Υδραυλικός χρόνος παραμονής στον αντιδραστήρα .....	94
3.3.5. Συγκέντρωση θειούχων ιόντων.....	95
3.3.6. Άλλοι παράγοντες .....	96
3.4. Διαγράμματα ροής και περιπτώσεις εφαρμογής της διεργασίας .....	102
3.4.1. Διαγράμματα ροής διεργασίας.....	102
3.4.2. Εφαρμογή σε πιλοτική και βιομηχανική κλίμακα.....	105

### **Βιοκαταβύθιση ιόντων μετάλλων σε θειοαναγωγικό αντιδραστήρα.**

#### **Πειραματική προσέγγιση ..... 109**

4.1. Αντικείμενο και σκοπός της διατριβής .....	109
4.2. Μεθοδολογία.....	110
4.2.1. Κύκλοι πειραματικών δοκιμών.....	110
4.2.2. Πειραματική διάταξη .....	112
4.3. Θεωρητική διερεύνηση και απλοί υπολογισμοί.....	123
4.3.1. Πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων στο διάλυμα τροφοδοσίας .....	123
4.3.2. Μελέτη χημικής ισορροπίας διαλύματος τροφοδοσίας .....	126
4.3.3. Καταβύθιση θειούχων ενώσεων σιδήρου, ψευδαργύρου, νικελίου και χαλκού.....	128
4.3.4. Ισοζύγια μάζας μετάλλων, θείου και άνθρακα - σχετικές παροδοχές .....	131
4.4. Μέθοδοι προσδιορισμού παραμέτρων στην υγρή φάση .....	132
4.4.1. Συγκέντρωση ιόντων μετάλλων .....	132
4.4.2. Συγκέντρωση θειικών ιόντων .....	134
4.4.3. Συγκέντρωση ολικού οργανικού άνθρακα .....	135
4.4.4. Συγκέντρωση οξικών ιόντων, αιθανόλης και γαλακτικών ιόντων .....	135
4.5. Μέθοδοι χαρακτηρισμού στερεών κατακρημνισμάτων .....	137
4.5.1. Χημική ανάλυση δειγμάτων ιλύος.....	137
4.5.2. Ορυκτολογική ανάλυση δειγμάτων ιλύος .....	137
4.5.3. Μορφολογικός χαρακτηρισμός δειγμάτων ιλύος.....	138
4.6. Μέθοδος χαρακτηρισμού βακτηριακού πληθυσμού .....	140

#### **Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών I ..... 141**

5.1. Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών .....	141
5.2. Διερεύνηση της επίδρασης των συνθηκών λειτουργίας στην απόδοση του συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα .....	142
5.3. Επίδραση του ρυθμού φόρτισης θειικών ιόντων .....	146

5.4.	Επίδραση του ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου .....	150
5.5.	Χαρακτηρισμός στερεών κατακρημνισμάτων .....	153
5.5.1.	Χημική σύσταση.....	153
5.5.2.	Μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση .....	153
5.6.	Χαρακτηρισμός βακτηριακού πληθυσμού κλίνης αντιδραστήρα .....	158
5.7.	Συμπεράσματα .....	160
<b>Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών II.....</b>		<b>161</b>
6.1.	Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών .....	161
6.2.	Επίδραση του ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου .....	163
6.3.	Μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση στερεών κατακρημνισμάτων .....	167
6.4.	Συμπεράσματα .....	170
<b>Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών III .....</b>		<b>171</b>
7.1.	Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών .....	171
7.2.	Προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη.....	174
7.3.	Επίδραση της παροχής αιθανόλης σε στοιχειομετρική αναλογία και της συγκέντρωσης των ιόντων μετάλλων.....	180
7.4.	Χαρακτηρισμός βακτηριακού πληθυσμού κλίνης αντιδραστήρα .....	184
7.5.	Χαρακτηρισμός στερεών κατακρημνισμάτων.....	186
7.5.1.	Χημική σύσταση.....	186
7.5.2.	Μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση .....	186
7.6.	Συμπεράσματα .....	188
<b>Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών IV.....</b>		<b>191</b>
8.1.	Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών .....	191
8.2.	Επίδραση της παροχής των πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια .....	193
8.3.	Συσχέτιση αναγωγής θειικών ιόντων και αποικοδόμησης οργανικού άνθρακα .....	196
8.4.	Επίδραση της αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στην αποικοδόμηση των οξικών ιόντων .....	202
8.5.	Συμπεράσματα .....	205
<b>Συμπεράσματα και Προοπτικές .....</b>		<b>207</b>
9.1.	Συμπεράσματα .....	207
9.1.1.	Διαμόρφωση συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα .....	208
9.1.2.	Ανάπτυξη και προσαρμογή βακτηριακού πληθυσμού.....	208
9.1.3.	Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στο διάλυμα τροφοδοσίας.....	209
9.1.4.	Παραγόμενη ιλύς .....	210
9.2.	Προοπτικές .....	210
<b>Βιβλιογραφία .....</b>		<b>213</b>
<b>Παράρτημα Α.....</b>		<b>233</b>

Παράρτημα Β.....	247
Παράρτημα Γ.....	303

# Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1.1. Όξινη απορροή στην περιοχή Rio Tinto (Ισπανία) όπου η μεταλλευτική δραστηριότητα συνεχίζεται για περισσότερα από 5.000 χρόνια (Stoker, 2002) .....	4
Εικόνα 2.1. Τροποποιημένος κύκλος του κιτρικού οξέος για την αναερόβια οξειδωση του οξικού ιόντος σε τρία είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus et al., 2007) .....	36
Εικόνα 2.2. Οξειδωση του ακετυλο-CoA μέσω της οδού της αφυδρογονάσης C <sub>1</sub> /CO στο <i>Desulfotomaculum acetooxidans</i> (Colleran et al., 1995; Rabus et al., 2007).....	36
Εικόνα 2.3. Οξειδωση αιθανόλης, γαλακτικού και προπιονικού προς οξικό ιόν στο <i>Desulfobulbus propionicus</i> (Rabus et al., 2007) .....	38
Εικόνα 2.4. Αναερόβια αποικοδόμηση της μεθανόλης παρουσία μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών, μεθανογόνων και ομοοξικογόνων βακτηρίων (Weijma et al., 2001) .....	40
Εικόνα 2.5. Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών (Madigan et al., 2003).....	43
Εικόνα 2.6. Κινητικά και θερμοδυναμικά χαρακτηριστικά του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Stams et al., 2003).....	53
Εικόνα 2.7. Προτεινόμενες βέλτιστες τιμές pH διαλύματος για την καταβύθιση διαφόρων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων ή υδροξειδίων (Kaksonen et al., 2007).....	62
Εικόνα 4.1. Φωτογραφία πληρωτικού υλικού (i) A, (ii) B και (iii) Γ .....	113
Εικόνα 4.2. Παρατήρηση θραύσματος σφαιριδίου πληρωτικού υλικού A στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.....	114
Εικόνα 5.1. (i) Φωτογραφία σφαιριδίων πληρωτικού υλικού πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη χρήση στον Αντιδραστήρα I και (ii) φωτογραφία θραυσμένου σφαιριδίου μετά τη χρήση στον αντιδραστήρα όπου φαίνεται η διείσδυση μικρομερών σωματιδίων στους πόρους του υλικού .....	154
Εικόνα 5.2. Παρατήρηση θραύσματος σφαιριδίου πληρωτικού υλικού που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα I, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων Everhart-Thornley (ETD) .....	154
Εικόνα 5.3. Παρατήρηση στερεών κατακρημνισμάτων που συγκρατήθηκαν πάνω σε μεμβράνη 0,22 μm κατά τη διήθηση δείγματος που συλλέχθηκε από την έξοδο του Αντιδραστήρα I σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων ευρέως πεδίου (LFD).....	156
Εικόνα 5.4. Παρατήρηση στερεών κατακρημνισμάτων που συγκρατήθηκαν πάνω σε μεμβράνη 0,22 μm κατά τη διήθηση δείγματος που συλλέχθηκε από την πρώτη θύρα (α) και την έξοδο (β) του Αντιδραστήρα I σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων ευρέως πεδίου (LFD).....	157
Εικόνα 5.5. Μοριακά αποτυπώματα των γονιδίων 16S rRNA του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης του Αντιδραστήρα I μετά από ανάλυση CE-SSCP .....	158
Εικόνα 6.1. Παρατήρηση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων. Εντοπισμός (i) μικτών θειούχων ενώσεων σιδήρου-ψευδαργύρου-νικελίου και (ii) σχεδόν καθαρών, θειούχων ενώσεων χαλκού.....	167
Εικόνα 6.2. Παρατήρηση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή	

δευτερογενών ηλεκτρονίων. Εντοπισμός, σχεδόν καθαρών, θειούχων ενώσεων ψευδαργύρου .....	168
Εικόνα 7.1. Μοριακό αποτύπωμα των γονιδίων 16S rRNA του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης του Αντιδραστήρα III μετά από ανάλυση CE-SSCP .....	185
Εικόνα 7.2. Παρατήρηση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα III, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων. Εντοπισμός μικτών θειούχων ενώσεων σιδήρου-ψευδαργύρου-χαλκού-νικελίου.....	187

# Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1.1. Παραδείγματα υγρών αποβλήτων με υψηλή περιεκτικότητα θειικών ιόντων κι ελάχιστο οργανικό φορτίο (Johnson, 2000).....	2
Πίνακας 1.2. Συνήθη θειούχα μεταλλεύματα που συνδέονται με τη δημιουργία ρυπασμένων μεταλλευτικών απορροών (Brown et al., 2002) .....	3
Πίνακας 1.3. Συνήθη ορυκτά που καταναλώνουν οξύ (Κοντόπουλος, 1998).....	7
Πίνακας 1.4. Οξύφιλα είδη βακτηρίων και αρχαιοβακτηρίων που σχετίζονται με την οξειδωση του θειούχων ορυκτών (Blowes et al., 2003; Johnson, 2003; Johnson et al., 2003) .....	8
Πίνακας 1.5. Φυσικοχημικός και μικροβιολογικός χαρακτηρισμός όξινων απορροών από χώρους μεταλλευτικής δραστηριότητας (Johnson et al., 2003; Κούρτης, 2007) .....	10
Πίνακας 1.6. Χαρακτηριστικά δυναμικών και παθητικών βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας OAM (Kaksonen et al., 2007).....	13
Πίνακας 1.7. Παραδείγματα υγρών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα (Colleran et al., 1995; Lens et al., 1998) .....	13
Πίνακας 2.1. Αποθέματα θείου στη Γη (Lens, 2009; Plante, 2007) .....	18
Πίνακας 2.2. Οργανικές ενώσεις του θείου με μικροβιολογική σημασία (Canfield et al., 2005) .....	18
Πίνακας 2.3. Ενώσεις του θείου με γεω-μικροβιολογική σημασία (Ehrlich, 2002) .....	20
Πίνακας 2.4. Σχέση δόσης-απόκρισης για το υδρόθειο στον ατμοσφαιρικό αέρα (WHO, 2000) .....	27
Πίνακας 2.5. Χαρακτηριστικά παραδείγματα περιβαλλόντων από όπου απομονώθηκαν διάφορα είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων .....	28
Πίνακας 2.6. Παραδείγματα κυτταρικής ανάπτυξης κατά τη μικροβιακή αναγωγή θειικών ιόντων με αποδέσμευση ενέργειας .....	29
Πίνακας 2.7. Μορφολογικές και φυσιολογικές ιδιότητες θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus et al., 2007) .....	30
Πίνακας 2.8. Πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων για τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Colleran et al., 1995) .....	32
Πίνακας 2.9. Ειδικός ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων επιλεγμένων μεσόφιλων θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διάφορες θερμοκρασίες (Knoblauch et al., 1999b).....	44
Πίνακας 2.10. Σταθερές διάστασης μονοκαρβοξυλικών (λιπαρών) οξέων (Dean, 1999) .....	48
Πίνακας 2.11. Αντιδράσεις αναγωγής θειικών, μεθανογένεσης και οξικογένεσης που λαμβάνουν χώρα κατά την αποικοδόμηση της οργανικής ύλης σε αναερόβιες συνθήκες.....	54
Πίνακας 2.12. Κινητικά δεδομένα ανάπτυξης επιλεγμένων υδρογονότροφων θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Oude Elferink et al., 1994; Stams et al., 2003) .....	55
Πίνακας 2.13. Κινητικά δεδομένα ανάπτυξης επιλεγμένων οξικότροφων θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Oude Elferink et al., 1994; Oude Elferink et al., 1998; Stams et al., 2003).....	55
Πίνακας 2.14. Παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού μεταξύ οξικότροφων θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Hulshoff Pol et al., 1998) .....	57
Πίνακας 2.15. Σταθερές γινομένου διαλυτότητας δυσδιάλυτων ενώσεων επιλεγμένων μετάλλων (Dean, 1999) .....	60
Πίνακας 2.16. Παραδείγματα αναγωγής μετάλλων-μεταλλοειδών-ραδιοϊσοτόπων παρουσία	

θειοαναγωγικών βακτηρίων .....	67
Πίνακας 3.1. Παραδείγματα πληρωτικών υλικών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες κλίνης .....	77
Πίνακας 3.2. Τροποποίηση της μεταβολής της ελεύθερης κατά Gibbs ενέργειας των αντιδράσεων αναγωγής θεικών και μεθανογένεσης στην περιοχή 10-55 °C για επιλεγμένους δότες ηλεκτρονίων σε ανασερόβιες συνθήκες (Lettinga et al., 2001; Paulo et al., 2004) .....	83
Πίνακας 3.3. Οργανικά κατάλοιπα διαφόρων δραστηριοτήτων ως θρεπτικά υποστρώματα για την ανάπτυξη θειοαναγωγικών βακτηρίων .....	93
Πίνακας 3.4. Ανασταλτική δράση των διαλελυμένων θειούχων ιόντων και του αδιάστατου υδρόθειου στην ανάπτυξη, την αναγωγή θεικών ιόντων και την οξειδωση του οργανικού υποστρώματος σε θειοαναγωγικά βακτήρια που μεταβολίζουν την αιθανόλη και το οξικό ιόν (Kaksonen et al., 2007).....	97
Πίνακας 3.5. Ενδεικτικά βιβλιογραφικά παραδείγματα μελετών της θειοαναγωγικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης.....	98
Πίνακας 3.6. Ενδεικτικά βιβλιογραφικά παραδείγματα μελετών της θειοαναγωγικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες κλίνης ιλύος.....	99
Πίνακας 3.7. Ενδεικτικά βιβλιογραφικά παραδείγματα μελετών της θειοαναγωγικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες κλίνης.....	100
Πίνακας 3.8. Πιλοτική εφαρμογή τεχνολογίας Thiopaq® και BioSulphide® (Johnson, 2000).....	107
Πίνακας 3.9. Πατενταρισμένες διεργασίες που υποστηρίζει εμπορικά η Paques σήμερα (Paques, 2013).....	108
Πίνακας 4.1. Πληρωτικά υλικά που εφαρμόστηκαν στους αντιδραστήρες σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής .....	113
Πίνακας 4.2. Χαρακτηριστικά σχεδιασμού αντιδραστήρων σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής που λειτούργησαν στο πλαίσιο της πειραματικής μελέτης.....	116
Πίνακας 4.3. Υπολογισμός μεταβλητών για τον προσδιορισμό της εξίσωσης της καμπύλης E <sub>θ</sub> (Levenspiel, 1998) .....	120
Πίνακας 4.4. Μονοπαραμετρικά μοντέλα κατανομής χρόνου παραμονής σε αντιδραστήρες μη ιδανικής εμβολικής ροής (Levenspiel, 1998) .....	120
Πίνακας 4.5. Σύσταση θρεπτικού μέσου κατά τον εμπλουτισμό της αρχικής καλλιέργειας και τη φάση ανάπτυξης του βιολογικού στρώματος (DSMZ, 2005a).....	123
Πίνακας 4.6. Αναγόμενα θειικά ιόντα, παραγόμενη αλκαλικότητα, παραγόμενα θειούχα και θεωρητικά απαιτούμενο οξυγόνο ανά mole πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων .....	125
Πίνακας 4.7. Υπολογισμός περίσσειας πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων στο βασικό θρεπτικό μέσο του Postgate .....	125
Πίνακας 4.8. Περιπτώσεις αναλογιών οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων που μελετήθηκαν .....	126
Πίνακας 4.9. Ιοντική σύσταση διαλύματος τροφοδοσίας (χωρίς την κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων) .....	127
Πίνακας 4.10. Παράμετροι μεθόδου προσδιορισμού της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων με ICP .....	133
Πίνακας 4.11. Παράμετροι θολοσιμετρικής μεθόδου μέτρησης της συγκέντρωσης θειικών ιόντων .....	134
Πίνακας 4.12. Διαμόρφωση συστήματος GC για την ανάλυση υδατικών διαλυμάτων οξικών ιόντων και αιθανόλης.....	136
Πίνακας 4.13. Διαμόρφωση συστήματος XRD και παράμετροι μεθόδου ορυκτολογικής ανάλυσης δειγμάτων ιλύος.....	138
Πίνακας 5.1. Θεωρητικός ποιοτικός χαρακτηρισμός του υπολειπόμενου οργανικού άνθρακα .....	148
Πίνακας 5.2. Σύσταση στερεών κατακρημνισμάτων Αντιδραστήρα I.....	153
Πίνακας 5.3. Κύριες φάσεις στην ιλύ του Αντιδραστήρα I .....	155
Πίνακας 5.4. Ταυτοποίηση πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων Αντιδραστήρα I .....	159
Πίνακας 6.1. Συγκεντρώσεις και παροχές σχεδιασμού.....	163
Πίνακας 6.2. Θεωρητικός ποιοτικός χαρακτηρισμός του υπολειπόμενου οργανικού άνθρακα .....	165
Πίνακας 6.3. Κύριες κρυσταλλικές φάσεις στην ιλύ του Αντιδραστήρα II .....	169
Πίνακας 7.1. Φάσεις ανάπτυξης και προσαρμογής πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων Αντιδραστήρα III.....	173
Πίνακας 7.2. Ταυτοποίηση πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων Αντιδραστήρα III .....	185
Πίνακας 7.3. Σύσταση στερεών κατακρημνισμάτων Αντιδραστήρα III .....	186



Πίνακας 7.4. Κύριες κρυσταλλικές φάσεις στην ιλύ του Αντιδραστήρα III .....	188
Πίνακας 8.1. Αποτελέσματα απόδοσης Αντιδραστήρων IV ως προς την ταυτόχρονη απομάκρυνση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα.....	195
Πίνακας 8.2. Αξιοποίηση του οργανικού υποστρώματος για την αναγωγή των θειικών ιόντων στους Αντιδραστήρες IV.....	198
Πίνακας 8.3. Υπολογισμός πραγματικών γραμμομοριακών αναλογιών κατά το στάδιο της οξειδωσης του γαλακτικού και της αιθανόλης προς οξικό με αναγωγή θειικών ιόντων. Παραγωγή οξικών ιόντων .....	199
Πίνακας 8.4. Υπολογισμός πραγματικών γραμμομοριακών αναλογιών κατά το στάδιο της οξειδωσης του γαλακτικού και της αιθανόλης προς οξικό με αναγωγή θειικών ιόντων. Αναγωγή θειικών ιόντων .....	200



# Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1.1. Βέλτιστες τιμές θερμοκρασίας και pH οξύφιλων προκαρυωτικών μικροοργανισμών (Johnson et al., 2003) .....	8
Σχήμα 1.2. Πιθανές οδοί σιδήρου, θείου και άνθρακα με βάση τις γνωστές μεταβολικές δυνατότητες (①, ②, ③ και ④) των μικροοργανισμών που ενυπάρχουν στα συστήματα OAM (Baker et al., 2003; Plante, 2007) .....	9
Σχήμα 1.3. Βιοσποικοδόμηση οργανικών ενώσεων κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων παρουσία θειικών ιόντων (Lopes, 2007; Visser, 1995) .....	15
Σχήμα 2.1. Θερμοδυναμικά σταθερά υδατοδιαλυτά είδη του θείου (Williamson et al., 1992).....	20
Σχήμα 2.2. Μικροβιακά υποβοηθούμενοι μετασχηματισμοί του θείου.....	21
Σχήμα 2.3. Διαδικασία αναγωγής των θειικών στο εσωτερικό του κυττάρου με αποδέσμευση ενέργειας.....	25
Σχήμα 2.4. Μεταβολική διαδικασία θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus et al., 2007) .....	28
Σχήμα 2.5. Υδατοδιαλυτά είδη θειούχων ιόντων συναρτήσει του pH στους 25 °C .....	46
Σχήμα 2.6. Υδατοδιαλυτά είδη οξικών ιόντων συναρτήσει του pH στους 25 °C .....	48
Σχήμα 2.7. Δισθενή στερεοχημικά ανάλογα θειικού ιόντος.....	52
Σχήμα 2.8. Καμπύλες μεταβολής της συγκέντρωσης των υδατοδιαλυτών ειδών δισθενών μετάλλων συναρτήσει του pH παρουσία όξινων θειούχων ιόντων στους 25 °C .....	60
Σχήμα 3.1. Ταξινόμηση αντιδραστήρων που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές.....	70
Σχήμα 3.2. Διαγραμματική απεικόνιση αντιδραστήρων πλήρους ανάμιξης που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές (Kaksonen et al., 2007; Sreece, 1983) .....	71
Σχήμα 3.3. Διακριτά μέρη και διεργασίες συστημάτων ακινητοποιημένης βιομάζας (Characklis et al., 1990a).....	74
Σχήμα 3.4. Διαγραμματική απεικόνιση λεπτού βιολογικού στρώματος (biofilm) πάχους $L_F$ με ομοιογενή (αριστερά) και ετερογενή ή διαστρωματωμένη (δεξιά) κατανομή βιομάζας (Lewandowski et al., 2011).....	75
Σχήμα 3.5. Διαγραμματική απεικόνιση αντιδραστήρων κλίνης που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές (Kaksonen et al., 2007; Sreece, 1983) .....	77
Σχήμα 3.6. Διαγραμματική απεικόνιση υβριδικού αντιδραστήρα και αντιδραστήρα με πετάσματα που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές (Kaksonen et al., 2007; Sreece, 1983) .....	81
Σχήμα 3.7. Δότες ηλεκτρονίων και πηγές άνθρακα που έχουν μελετηθεί για την τεχνολογική εφαρμογή της μικροβιακής αναγωγής θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες.....	88
Σχήμα 3.8. Διαγράμματα ροής μίας βαθμίδας .....	102
Σχήμα 3.9. Διαγράμματα ροής δύο βαθμίδων όπου ο θειοαναγωγικός αντιδραστήρας αποτελεί μέρος του κυκλώματος επεξεργασίας του αποβλήτου .....	103
Σχήμα 3.10. Διάγραμμα ροής δύο βαθμίδων όπου ο θειοαναγωγικός αντιδραστήρας δεν αποτελεί μέρος του κυκλώματος επεξεργασίας του αποβλήτου .....	104
Σχήμα 4.1. Διαγραμματική παρουσίαση κύκλων πειραματικών δοκιμών που υλοποιήθηκαν στο πλαίσιο της διατριβής.....	111

Σχήμα 4.2. Διαγράμματα ροής θειοαναγωγικών αντιδραστήρων σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής που λειτούργησαν στο πλαίσιο της πειραματικής μελέτης .....	117
Σχήμα 4.3. Καμπύλη απόκρισης αντιδραστήρα κατά τη βηματική εφαρμογή ικνηθέτη .....	119
Σχήμα 4.4. Καμπύλη απόκρισης αντιδραστήρα κατά την παλμική εφαρμογή ικνηθέτη.....	119
Σχήμα 4.5. Καμπύλη κατανομής χρόνου παραμονής με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα της παλμικής εφαρμογής του ικνηθέτη καθώς και με εφαρμογή των μοντέλων μικρής διασποράς και N αντιδραστήρων σε σειρά .....	121
Σχήμα 4.6. Διάγραμμα $E_h$ -pH για τις επικρατούσες φάσεις σιδήρου στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα.....	129
Σχήμα 4.7. Διάγραμμα $E_h$ -pH για τις επικρατούσες φάσεις ψευδαργύρου στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα.....	129
Σχήμα 4.8. Διάγραμμα $E_h$ -pH για τις επικρατούσες φάσεις νικελίου στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα.....	130
Σχήμα 4.9. Διάγραμμα $E_h$ -pH για τις επικρατούσες φάσεις χαλκού στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα.....	130
Σχήμα 4.10. Τυπικές καμπύλες βαθμονόμησης μεθόδου ICP .....	133
Σχήμα 4.11. Τυπική καμπύλη βαθμονόμησης μεθόδου προσδιορισμού της συγκέντρωσης θειικών ιόντων .....	134
Σχήμα 4.12. Γεωμετρική απεικόνιση του Νόμου του Bragg .....	138
Σχήμα 4.13. Αλληλεπιδράσεις δέσμης-ηλεκτρονίων - δείγματος στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Zhou et al., 2007) .....	139
Σχήμα 5.1. Χρονική μεταβολή του pH στην είσοδο και στην έξοδο του Αντιδραστήρα I.....	143
Σχήμα 5.2. Χρονική μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στην είσοδο και στην έξοδο του Αντιδραστήρα I .....	144
Σχήμα 5.3. Χρονική μεταβολή του ρυθμού φόρτισης και αναγωγής θειικών ιόντων στον Αντιδραστήρα I .....	144
Σχήμα 5.4. Χρονική μεταβολή της συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα στην είσοδο και στην έξοδο του Αντιδραστήρα I.....	145
Σχήμα 5.5. Χρονική μεταβολή του ρυθμού φόρτισης και οξειδωσης οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα I .....	145
Σχήμα 5.6. Καθ' ύψος μεταβολή του pH στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων.....	146
Σχήμα 5.7. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων.....	147
Σχήμα 5.8. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων.....	147
Σχήμα 5.9. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου & ψευδαργύρου στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων .....	149
Σχήμα 5.10. Καθ' ύψος μεταβολή του pH στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου .....	150
Σχήμα 5.11. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου .....	151
Σχήμα 5.12. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου .....	151
Σχήμα 5.13. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου & ψευδαργύρου στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου .....	152
Σχήμα 5.14. Ακτινοδιάγραμμα ιλύος που συλλέχθηκε καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του Αντιδραστήρα I .....	155
Σχήμα 6.1. Καθ' ύψος μεταβολή του pH στον Αντιδραστήρα II για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου .....	164
Σχήμα 6.2. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα II για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου.....	165
Σχήμα 6.3. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων στον Αντιδραστήρα II για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου .....	166
Σχήμα 6.4. Ακτινοδιάγραμμα δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα	

II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του .....	169
Σχήμα 7.1. Σταδιακή αλλαγή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων στην τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III .....	172
Σχήμα 7.2. Μεταβολή του pH κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη .....	175
Σχήμα 7.3. Κινητική μελέτη pH σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη .....	175
Σχήμα 7.4. Μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη.....	176
Σχήμα 7.5. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη .....	176
Σχήμα 7.6. Μεταβολή της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη .....	177
Σχήμα 7.7. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη .....	177
Σχήμα 7.8. Μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη.....	178
Σχήμα 7.9. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη .....	179
Σχήμα 7.10. Κινητική μελέτη pH κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	181
Σχήμα 7.11. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	181
Σχήμα 7.12. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	182
Σχήμα 7.13. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης αιθανόλης και οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	182
Σχήμα 7.14. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.....	183
Σχήμα 7.15. Ακτινοδιάγραμμα δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα III, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του.....	188
Σχήμα 8.1. Συγκριτική κινητική μελέτη pH κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	193
Σχήμα 8.2. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	194
Σχήμα 8.3. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	195
Σχήμα 8.4. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	196
Σχήμα 8.5. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης αιθανόλης και οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[E] με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	197
Σχήμα 8.6. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης γαλακτικών και οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[L] με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	197
Σχήμα 8.7. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[A] με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% .....	198
Σχήμα 8.8. Στάδια αποικοδόμησης οργανικού υποστρώματος κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων .....	201
Σχήμα 8.9. Στάδια αποικοδόμησης οργανικού υποστρώματος κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων .....	201
Σχήμα 8.10. Συγκριτική κινητική μελέτη pH κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων .....	203
Σχήμα 8.11. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων .....	204

Σχήμα 8.12. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων .....	204
Σχήμα 8.13. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων .....	205

# 1

## Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων. Πηγές προέλευσης και μέθοδοι επεξεργασίας

---

Τα υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων αποτελούν σημαντικό πρόβλημα της βιομηχανίας καθώς αυξάνουν τη συγκέντρωση των ολικών διαλυμένων στερεών στους αποδέκτες. Γι' αυτό, έχουν οριστεί ανώτερες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις θειικών ιόντων για τα απόβλητα που απορρίπτονται σε υδάτινους αποδέκτες (π.χ. 200 mg/L για τη λεκάνη απορροής του Ασωπού (ΦΕΚ 749, 2010) κατ' εφαρμογή της Ευρωπαϊκής Οδηγίας 2008/105/EC όπως αυτή ενσωματώθηκε στην Ελληνική Νομοθεσία (ΦΕΚ 1909, 2010) και 1.000 mg/L για τους αποδέκτες του Ν. Θεσσαλονίκης (ΦΕΚ 1079, 2010)). Στη δε περίπτωση βιολογικής επεξεργασίας αποβλήτων με υψηλό οργανικό φορτίο, επηρεάζουν αρνητικά τη διεργασία της μεθανογένεσης, με αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή μεθανίου που αποτελεί πολύτιμο καύσιμο. Έτσι, σε κάθε περίπτωση, επιβάλλεται ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη εξειδικευμένων τεχνολογιών επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων πριν την τελική διάθεσή τους.

### 1.1. Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων κι ελάχιστο οργανικό φορτίο

Υγρά απόβλητα, με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και σχετικά χαμηλή συγκέντρωση διαλυμένου οργανικού άνθρακα, μπορεί να προκύψουν ως αποτέλεσμα διαφόρων βιομηχανικών διεργασιών, όπως οι επιμεταλλώσεις, ο καθαρισμός των απαερίων των μονάδων ηλεκτροπαραγωγής και η απομάκρυνση τοξικών ουσιών από εδάφη ρυπασμένα με μέταλλα (Πίνακας 1.1). Ωστόσο, ο μεγαλύτερος όγκος τέτοιων αποβλήτων παράγεται κατά την εξόρυξη, τον εμπλουτισμό και την επεξεργασία θειούχων μεταλλευμάτων βασικών (π.χ. χαλκός,

μόλυβδος και ψευδάργυρος) και πολύτιμων (π.χ. χρυσός) μετάλλων (Johnson, 2000).

Τα πλούσια σε ιόντα μετάλλων και θειικά ιόντα απόβλητα που παράγονται στα ενεργά και εγκαταλελειμμένα μεταλλεία καλούνται «όξινη απορροή μεταλλείων» (OAM). Λόγω της έκτασης της μεταλλευτικής δραστηριότητας και του μεγάλου όγκου των παραγόμενων αποβλήτων, η ρύπανση των υδατικών πόρων από την παραγόμενη OAM έχει λάβει τεράστιες διαστάσεις σε παγκόσμια κλίμακα. Γι' αυτό, έχουν διερευνηθεί εναλλακτικές προσεγγίσεις και έχουν αναπτυχθεί ποικίλες μέθοδοι για την αντιμετώπιση του φαινομένου.

*Πίνακας 1.1. Παραδείγματα υγρών αποβλήτων με υψηλή περιεκτικότητα θειικών ιόντων κι ελάχιστο οργανικό φορτίο (Johnson, 2000)*

Πηγή προέλευσης	Θειικά ιόντα (g/L)	Θειώδη ιόντα (g/L)	Άλλοι ρυπαντές
Μεταλλευτική βιομηχανία	0,1 - 20	-	Βαρέα μέταλλα
Χημική βιομηχανία	0,2 - 50	0 - 5	
Διεργασίες επιμετάλλωσης	0,2 - 50	0 - 25	Βαρέα μέταλλα
Καθαρισμός καπναερίων	1 - 2	1 - 2	

#### **1.1.1. Γένεση της όξινης απορροής μεταλλείων**

Με τον όρο «όξινη απορροή μεταλλείων» (OAM) περιγράφεται η απορροή που συμβαίνει ως αποτέλεσμα της φυσικής οξείδωσης των θειούχων ορυκτών όταν αυτά εκτεθούν στη συνεργιστική δράση ύδατος και ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Η OAM είναι σύνηθες φαινόμενο στα πολυμεταλλικά θειούχα μεταλλεία καθώς και στα ανθρακωρυχεία και λιγνιτωρυχεία. Ωστόσο, το φαινόμενο δεν περιορίζεται μόνο στα μεταλλεία αλλά συμβαίνει όποτε θειούχα ορυκτά εκτίθενται στον αέρα και στο νερό. Τυπικές πηγές προέλευσης OAM είναι (Κοντόπουλος, 1998):

- Υπόγεια και επιφανειακά μεταλλευτικά έργα
- Σωροί μεταλλευτικών απορριμμάτων, υπερκειμένων
- Απορρίμματα εμπλουτισμού
- Προσωρινοί ή μόνιμοι σωροί συμπυκνωμάτων, που είτε πρόκειται να πωληθούν είτε δεν έχουν αγορά (π.χ. συμπυκνώματα σιδηροπυριτών)

Οι πηγές αυτές παραμένουν ενεργές επί δεκάδες ή και εκατοντάδες χρόνια μετά τον τερματισμό της εκμετάλλευσης.

Τα πολυμεταλλικά θειούχα μεταλλεύματα είναι σημαντική πηγή για την παραγωγή μετάλλων όπως ο χαλκός, το νικέλιο, ο ψευδάργυρος, ο μόλυβδος και ο χρυσός (Πίνακας 1.2). Η εκμετάλλευση των κοιτασμάτων αυτών έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή τεράστιων ποσοτήτων μεταλλευτικών απορριμμάτων και απορριμμάτων εμπλουτισμού που περιέχουν υπολειμματικά θειούχα ορυκτά. Η μη ορθή περιβαλλοντική διαχείριση των απορριμμάτων αυτών κατά το παρελθόν, αλλά σε κάποιο βαθμό και στις τρέχουσες εκμεταλλεύσεις, οδήγησε στην ανεξέλεγκτη γένεση OAM, η οποία επιμόλυνε (και επιμολύνει) εδάφη, υπόγεια και επιφανειακά νερά σε μεγάλη έκταση με θειικό οξύ, βαρέα μέταλλα και άλλα στοιχεία. Το φαινόμενο είναι ιδιαίτερα καταστροφικό σε αργούντα μεταλλεία όπου τα υπολείμματα των θειούχων



μεταλλευμάτων στις στοές και οι παλαιοί σωροί των απορριμμάτων έχουν σήμερα εξελιχθεί σε ενεργές πηγές ΟΑΜ οι οποίες επιμολύνουν συνεχώς το περιβάλλον. Η ΟΑΜ από λιγνιτωρυχεία και ανθρακωρυχεία περιέχει οξύτητα, διαλυμένο σίδηρο και αργίλιο αλλά συνήθως χαρακτηρίζεται από χαμηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων.

Πίνακας 1.2. Συνήθη θειούχα μεταλλεύματα που συνδέονται με τη δημιουργία ρυπασμένων μεταλλευτικών απορροών (Brown et al., 2002)

Μετάλλευμα	Σύσταση	Υδατοδιαλυτά τελικά προϊόντα πλήρους οξειδωσης
Άμορφος πυρίτης	FeS	Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Αρσеноπυρίτης	FeAsS	Fe <sup>3+</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Βορνίτης	Cu <sub>5</sub> FeS <sub>4</sub>	Cu <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Γαληνίτης	PbS	Pb <sup>2+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Κιννάβαρη	HgS	Hg <sup>2+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Κίτρινη σανδαράχη	As <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Κοβαλίτης	CoAsS	Co <sup>2+</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Κόκκινη σανδαράχη	AsS	AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Μακιναβίτης	FeS	Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Μαρκασίτης	FeS <sub>2</sub>	Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Μολυβδαινίτης	MoS <sub>2</sub>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Νικολίτης	NiAs	Ni <sup>2+</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Πεντλανδίτης	(Fe,Ni) <sub>9</sub> S <sub>8</sub>	Fe <sup>3+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Πυρροτίτης	Fe <sub>1-x</sub> S	Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Σιδηροπυρίτης	FeS <sub>2</sub>	Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Σφαλερίτης	ZnS	Zn <sup>2+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Τετραεδρίτης	Cu <sub>12</sub> (Sb,As <sub>4</sub> )S <sub>13</sub>	Cu <sup>2+</sup> , SbO <sub>3</sub> <sup>3-</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Χαλκοπυρίτης	CuFeS <sub>2</sub>	Cu <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>
Χαλκοσίνης	Cu <sub>2</sub> S	Cu <sup>2+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>

Οι πηγές της ΟΑΜ περιέχουν αφ' ενός μεν θειούχα ορυκτά που έχουν τη δυνατότητα να παράγουν οξύτητα αφ' ετέρου δε άλλα ορυκτά, μερικά από τα οποία έχουν τη δυνατότητα να καταναλώσουν την οξύτητα. Η ΟΑΜ είναι το συνολικό αποτέλεσμα μιας περίπλοκης σειράς χημικών αντιδράσεων που περιλαμβάνουν:

- Παραγωγή θειικού οξέος λόγω της οξειδωσης των θειούχων ορυκτών από τη συνδυασμένη δράση του νερού και του ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Αυτές οι αντιδράσεις είναι αυτοκαταλυτικές και, επιπλέον, η ταχύτητά τους επιταχύνεται από τη δράση των θειο- και σιδηρο-οξειδωτικών βακτηρίων.

- Κατανάλωση του παραχθέντος οξέος από τα συστατικά που καταναλώνουν οξύτητα. Αυτές οι αντιδράσεις οδηγούν στην παραγωγή γύψου και υδροξειδίων των βαρέων μετάλλων καθώς και οξυ-υδροξειδίων και άλλων ενώσεων.

Τα διαλύματα της ΟΑΜ έχουν το χαρακτηριστικό καστανοκόκκινο χρώμα (Εικόνα 1.1) που οφείλεται στον τρισθενή σίδηρο. Μπορεί, επίσης, αν περιέχουν δισθενή σίδηρο, να έχουν γαλαζοπράσινο χρώμα που, με την έκθεση στον ατμοσφαιρικό αέρα, μετατρέπεται βαθμιαία σε καστανοκόκκινο λόγω της οξειδωσης του δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή. Επιπλέον, η ΟΑΜ περιέχει εν αιωρήσει προϊόντα των αντιδράσεων καταβύθισης που δίδουν το χρώμα τους στην ΟΑΜ, όπως κόκκινο (οξυ-υδροξειδία τρισθενούς σιδήρου), λευκό (υδροξειδίο αργιλίου) κ.λπ.



Εικόνα 1.1. Όξινη απορροή στην περιοχή Rio Tinto (Ισπανία) όπου η μεταλλευτική δραστηριότητα συνεχίζεται για περισσότερα από 5.000 χρόνια (Stoker, 2002)

### 1.1.2. Χημεία της όξινης απορροής μεταλλείων

#### Αντιδράσεις οξείδωσης και παραγωγής οξύτητας

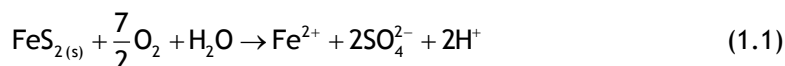
Η οξείδωση των θειούχων ορυκτών επέρχεται μέσω μιας σειράς πολύπλοκων αντιδράσεων που εξελίσσονται μέσω άμεσων ή έμμεσων χημικών ή βακτηριακών μηχανισμών. Μερικές αντιδράσεις παράγουν θειικό οξύ ενώ άλλες προκαλούν τη διαλυτοποίηση και κινητοποίηση βαρέων μετάλλων. Ο σιδηροπυρίτης, ή απλά πυρίτης ( $\text{FeS}_2$ ), είναι το κύριο ορυκτό που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή οξύτητας, γι' αυτό και μελετάται συστηματικά η διαδικασία οξείδωσής του.

Ο πυρίτης είναι ένα σταθερό και αδιάλυτο ορυκτό όταν δεν βρίσκεται σε επαφή με το νερό και το οξυγόνο. Όμως, ως αποτέλεσμα της μεταλλευτικής δραστηριότητας, ο πυρίτης εκτίθεται στην ταυτόχρονη επίδραση νερού και οξυγόνου, με αποτέλεσμα την οξείδωσή του.

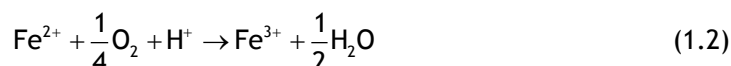
Η οξείδωση του πυρίτη είναι μια σύνθετη υδρο-βιο-γεωχημική διεργασία που περιλαμβάνει τρεις σημαντικούς καταλύτες: την ημιαγωγίμη επιφάνεια του πυρίτη, ορισμένα χημολιθο-αυτότροφα βακτήρια και τα ιόντα του τρισθενούς σιδήρου σε υδατικό διάλυμα

(Nordstrom, 2000).

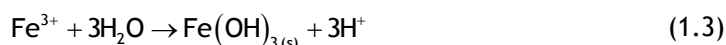
Η οξειδωση του πυρίτη περιλαμβάνει μια σειρά αντιδράσεων (Stumm *et al.*, 1996) όπου η αναρκτήρια αντίδραση (1.1) αφορά την οξειδωση των θειούχων του πυρίτη σε θειικά με ταυτόχρονη απελευθέρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου και οξύτητας στο νερό.



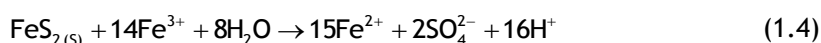
Ακολουθεί ένας κύκλος τριών αντιδράσεων ((1.2)-(1.4)) όπου οφείλεται και η αέναη εξέλιξη του φαινομένου. Η οξειδωση του δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή (αντίδραση (1.2)) είναι η αντίδραση που καθορίζει την ταχύτητα της συνολικής διεργασίας στα σχετικά χαμηλά pH που επικρατούν κατά τη διαλυτοποίηση του πυρίτη (Stumm *et al.*, 1996). Η αντίδραση αυτή εξελίσσεται μόνο παρουσία οξυγόνου και, σε όξινα (pH < 4) διαλύματα όπου η αβιοτική οξειδωση του σιδήρου είναι αμελητέα (Stumm *et al.*, 1996), καταλύεται από την παρουσία οξύφιλων σιδηρο-οξειδωτικών βακτηρίων (Johnson *et al.*, 2003). Οι μικροοργανισμοί αυτοί επιταχύνουν την ταχύτητα οξειδωσης του σιδήρου σε χαμηλό pH κατά πέντε τάξεις μεγέθους, αυξάνοντας έτσι την ταχύτητα διαλυτοποίησης του σιδηροπυρίτη κατά την αντίδραση (1.5) (Baker *et al.*, 2003).



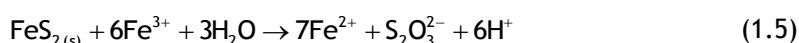
Σε τιμές pH μεταξύ 2,3 και 3,5, ο τρισθενής σίδηρος δεν είναι διαλυτός στο νερό, με αποτέλεσμα να καταβυθίζεται με τη μορφή αδιάλυτου υδροξειδίου (αντίδραση (1.3)), μειώνοντας περαιτέρω την τιμή pH του διαλύματος (Brown *et al.*, 2002):



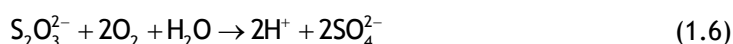
Τα ιόντα τρισθενούς σιδήρου που παραμένουν εν διαλύσει ανάγονται κατά την επαφή τους με την επιφάνεια του πυρίτη, παράγοντας ιόντα δισθενούς σιδήρου (αντίδραση (1.4)) που μπορούν να συμμετέχουν εκ νέου στον κύκλο των αντιδράσεων μέσω της (1.2). Κατά την οξειδωση του πυρίτη, παράγονται θειικά ιόντα και οξύτητα:



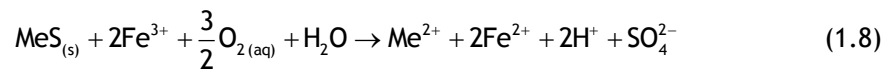
Η οξειδωση των θειούχων του σιδηροπυρίτη σε θειικά (αντιδράσεις (1.1) και (1.4)) πραγματοποιείται μέσω ενδιάμεσων σταδίων όπου παράγονται θειοθειικά ιόντα (Nordstrom, 2000). Για παράδειγμα, κατά την προσβολή του ορυκτού από τα ιόντα Fe(III), παράγονται ιόντα Fe(II), θειοθειικά ιόντα και πρωτόνια (Johnson, 2003):



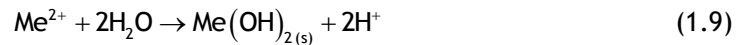
Τα θειοθειικά ιόντα είναι ασταθή σε όξινα διαλύματα, ιδιαιτέρως παρουσία ιόντων τρισθενούς σιδήρου, με αποτέλεσμα την οξειδωσή τους σε άλλες σταθερότερες ανηγμένες ανόργανες ενώσεις του θείου (Johnson, 2003). Παρουσία θειο-οξειδωτικών βακτηρίων, τα θειοθειικά ιόντα οξειδώνονται σε θειικά, παράγοντας θειικό οξύ (Johnson *et al.*, 2003):



Όπως αναφέρθηκε προηγουμένα, ο σιδηροπυρίτης είναι το κύριο θειούχο ορυκτό και ευθύνεται για τον κύριο όγκο του παραγόμενου οξέος. Ωστόσο, υπάρχουν και άλλα θειούχα ορυκτά (Πίνακας 1.2) που συνεισφέρουν στη δημιουργία οξύτητας ή στον εμπλουτισμό της ΟΑΜ με κατιόντα βαρέων μετάλλων. Για παράδειγμα, τα θειούχα ορυκτά των δισθενών μετάλλων (MeS) οξειδώνονται άμεσα (αντίδραση (1.7)) ή έμμεσα από το Fe(III) (αντίδραση (1.8)), με αποτέλεσμα την κινητοποίηση των κατιόντων των μετάλλων και την παραγωγή θειικών ριζών:



Οι αντιδράσεις αυτές δεν παράγουν οξύτητα πρωτονίων (τα υδρογονοκατιόντα που παράγονται από την αντίδραση (1.8) καταναλώνονται στην αντίδραση (1.2) όπου αναγεννάται Fe(III)), εκτός αν υδρολυθεί το κατιόν του μετάλλου:



Εξετάζοντας τις συγκεντρώσεις των ελεύθερων κατιόντων σε ισορροπία με τα αντίστοιχα υδροξείδια συναρτήσε του pH (Stumm *et al.*, 1996), προκύπτει ότι η διαλυτότητα των  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  και  $\text{Ni}^{2+}$  είναι σχετικά υψηλή στην περιοχή pH μεταξύ 4,5 και 7,5, οπότε, τα ιόντα αυτά δεν αναμένεται να υδρολυθούν σε σημαντικό βαθμό ώστε να παράγουν οξύτητα. Θα συνεισφέρουν, όμως, στη φόρτιση του διαλύματος με βαρέα μέταλλα. Στην περιοχή pH μεταξύ 5 και 6, το  $\text{Cu}^{2+}$  καταβυθίζεται ως  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ , παράγοντας οξύτητα. Το  $\text{Pb}^{2+}$  καταβυθίζεται ως αδιάλυτο  $\text{PbSO}_4$ .

Συμπερασματικά, στις όξινες απορροές μεταλλευτικών σωρών απαντώνται κυρίως δύο είδη οξύτητας (Johnson, 2003; Κοντόπουλος, 1998):

- οξύτητα πρωτονίων (*proton acidity*), που συνδέεται με τη συγκέντρωση υδρογονοκατιόντων στην ΟΑΜ και
- οξύτητα μεταλλικών ιόντων (*mineral acidity*), που συνδέεται με τη συγκέντρωση των διαλελυμένων ιόντων μετάλλων τα οποία μπορεί να υδρολυθούν παράγοντας υδρογονοκατιόντα

Ωστόσο, στην ολική οξύτητα των ΟΑΜ ενδεχομένως να συνεισφέρει και η οργανική οξύτητα (*organic acidity*) που συνδέεται με την, αμελητέα στις περισσότερες περιπτώσεις, συγκέντρωση των οργανικών οξέων καθώς και η οξύτητα που παράγεται κατά την οξειδωση των ενδιάμεσων θειούχων ενώσεων προς θειικά (αντίδραση (1.6)) (Johnson, 2003).

#### Αντιδράσεις εξουδετέρωσης και άλλες αντιδράσεις

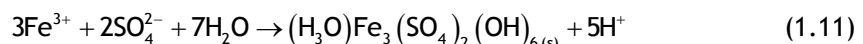
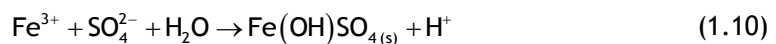
Συνήθως, μαζί με τα θειούχα ορυκτά, συνυπάρχουν και ορυκτά που καταναλώνουν οξύ (βασικά ορυκτά), όπως τα ανθρακικά και τα αργιλοπυριτικά (Πίνακας 1.3), τα οποία εξουδετερώνουν το παραγόμενο από την οξείδωση των θειούχων ορυκτών οξύ. Η κύρια πηγή αλκαλικότητας στα νερά των μεταλλείων είναι το  $\text{H}_2\text{CO}_{3(aq)}$  που μπορεί να υπάρχει ως  $\text{CO}_{2(aq)}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  ή  $\text{CO}_3^{2-}$ , ανάλογα με το pH του διαλύματος.

Κατά την εξέλιξη των αντιδράσεων εξουδετέρωσης και, καθώς αυξάνει το pH, τα βαρέα μέταλλα καταβυθίζονται ως υδροξειδία (αντιδράσεις (1.3) και (1.9)), παράγοντας οξύτητα. Επίσης, καταβυθίζεται γύψος (CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) μόλις συμβεί υπέρβαση του γινομένου διαλυτότητας της.

Πίνακας 1.3. Συνήθη ορυκτά που καταναλώνουν οξύ (Κοντόπουλος, 1998)

Ορυκτό	Χημικός τύπος	Ρυθμιστικό pH
Ανκερίτης	CaCO <sub>3</sub> / FeCO <sub>3</sub>	
Αραγωνίτης	CaCO <sub>3</sub>	5,5 - 6,9
Ασβεστίτης	CaCO <sub>3</sub>	5,5 - 6,9
Βιδερίτης	BaCO <sub>3</sub>	
Βρουκίτης	Mg(OH) <sub>3</sub>	
Γιββσίτης	Al(OH) <sub>3</sub>	4,3 - 3,7
Γκαϊτίτης	FeOOH	3,0 - 3,7
Δολομίτης	CaCO <sub>3</sub> / MgCO <sub>3</sub>	
Λειμωνίτης	FeOOH	3,0 - 3,7
Μαγγανίτης	MnOOH	
Μαγνησίτης	MgCO <sub>3</sub>	
Μαλαχίτης	CuCO <sub>3</sub> / Cu(OH) <sub>2</sub>	5,1 - 6,0
Ροδοχρωσίτης	MnCO <sub>3</sub>	
Σιδερίτης	FeCO <sub>3</sub>	5,1 - 6,0

Επίσης, σε χαμηλό pH, μπορεί να συμβούν και άλλες αντιδράσεις καταβύθισης, με κυρίαρχες αυτές που περιλαμβάνουν τον τρισθενή σίδηρο. Αυτές οι αντιδράσεις δίδουν βασικά θειικά άλατα ή ζαροσίτη ενώ έχουν αναφερθεί και προϊόντα καταβύθισης όπως το FeSO<sub>4</sub>·xH<sub>2</sub>O (Κοντόπουλος, 1998).

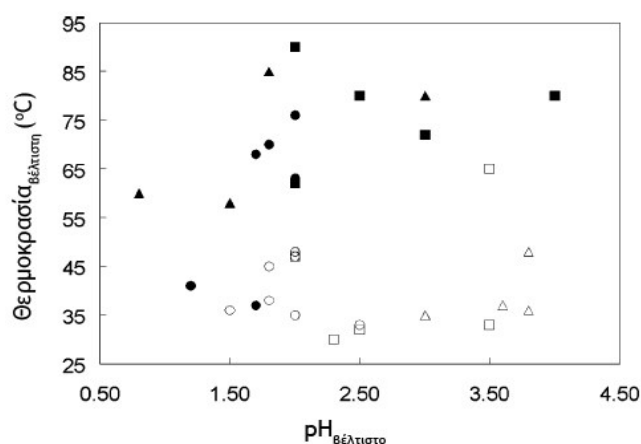


### 1.1.3. Μικροβιολογία της όξινης απορροής μεταλλείων

Κάθε σύστημα OAM είναι ξεχωριστό από την άποψη ότι οι διακυμάνσεις στη θερμοκρασία, την ιονική ισχύ και το pH ευνοούν την ανάπτυξη μικροβιακών κοινοτήτων που χαρακτηρίζονται από διαφορετικά μίγματα οργανισμών (Σχήμα 1.1)<sup>2</sup>. Ωστόσο, οι οργανισμοί αυτοί ανήκουν σε περιορισμένο αριθμό ειδών (Πίνακας 1.4), γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στον περιορισμένο αριθμό αντιδράσεων παραγωγής ενέργειας που είναι δυνατό να συμβούν στα περιβάλλοντα OAM. Επομένως, οι διεργασίες οξειδωσης του σιδήρου, οξειδωσης του θείου, οξειδωσης του οργανικού άνθρακα, δέσμευσης του άνθρακα, δέσμευσης του αζώτου, παραγωγής εξωκυτταρικών ουσιών EPS, καθώς και της αναγωγής του σιδήρου και του θείου εκτελούνται

<sup>2</sup> Οξύφιλοι ονομάζονται οι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί που παρουσιάζουν βέλτιστη ανάπτυξη σε pH < 5,5. Υπάρχουν δε ορισμένα είδη οξύφιλων μικροοργανισμών που αναπτύσσονται καλύτερα σε pH < 3 (Madigan *et al.*, 2003). Εκτός αυτών των μικροοργανισμών που χρειάζονται τις υψηλές συγκεντρώσεις πρωτονίων για να διατηρήσουν τη σταθερότητα της μεμβράνης τους, υπάρχουν και ορισμένα άλλα είδη που παραμένουν μεταβολικά ενεργά σε εξαιρετικά όξινα περιβάλλοντα, με pH < 3-4, επιδεικνύοντας ανοχή στην οξύτητα (Johnson *et al.*, 2003; Madigan *et al.*, 2003).

από ορισμένα είδη, ή συνδυασμούς ειδών στα περισσότερα περιβάλλοντα ΟΑΜ και, ιδιαίτερος, στα υπεδάφια (Baker *et al.*, 2003).



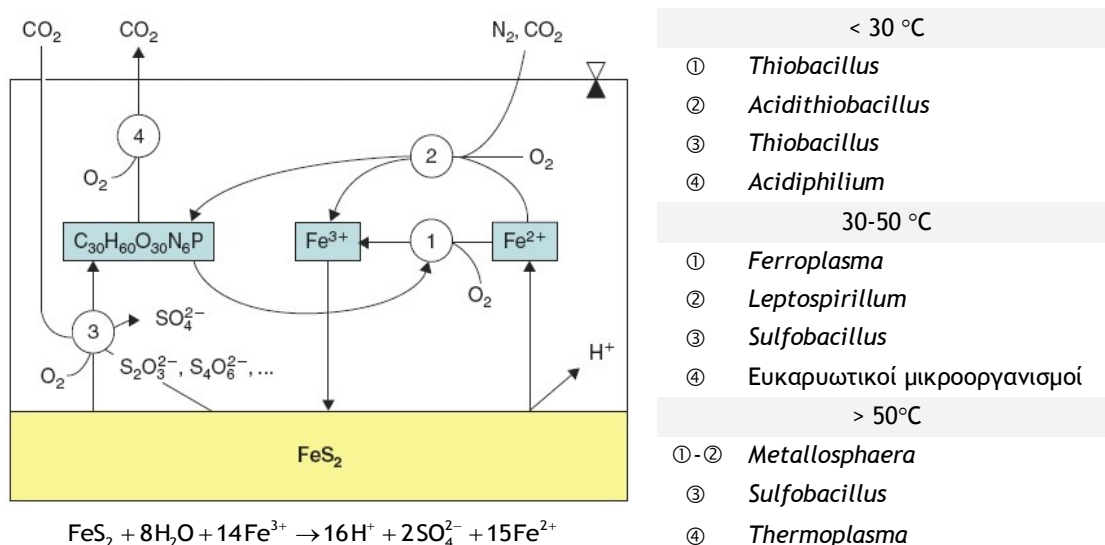
Σχήμα 1.1. Βέλτιστες τιμές θερμοκρασίας και pH οξύφιλων προκαρυωτικών μικροοργανισμών (Johnson *et al.*, 2003)

(○: σιδηρο-οξειδωτικά βακτήρια, ●: σιδηρο-οξειδωτικά αρχαιοβακτήρια, □: θειο-οξειδωτικά βακτήρια, ■: θειο-οξειδωτικά αρχαιοβακτήρια, △: ετερότροφα βακτήρια, ▲: ετερότροφα αρχαιοβακτήρια)

Πίνακας 1.4. Οξύφιλα είδη βακτηρίων και αρχαιοβακτηρίων που σχετίζονται με την οξείδωση του θειούχων ορυκτών (Blowes *et al.*, 2003; Johnson, 2003; Johnson *et al.*, 2003)

	Βέλτιστη θερμοκρασιακή περιοχή	Σιδηρο-οξειδωτικά	Σιδηρο/Θειο-οξειδωτικά	Θειο-οξειδωτικά
ΒΑΚΤΗΡΙΑ	< 40 °C	<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>
		<i>Ferroplasma acidiphilum</i>	<i>Thiobacillus prosperus</i>	<i>Thiomonas cuprina</i>
		<i>Ferrimicrobium acidiphilum</i>	<i>Sulfobacillus montserratensis</i>	
		<i>Leptospirillum ferriphilum</i>		
		" <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> " m-1		
		" <i>Ferroplasma acidarmanus</i> "		
ΒΑΚΤΗΡΙΑ	40-60 °C	<i>Leptospirillum thermoferrooxidans</i>	<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	<i>Acidithiobacillus caldus</i>
		<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>	<i>Sulfobacillus acidophilus</i>	
ΑΡΧΑΙΟ-ΒΑΚΤΗΡΙΑ	> 60 °C		<i>Acidianus brierleyi</i>	<i>Metallosphaera sedula</i>
			<i>Sulfolobus metallicus</i>	<i>Sulfolobus solfataricus</i>
			<i>Sulfurococcus yellowstonensis</i>	<i>Sulfolobus ambivalens</i>

Στα συστήματα OAM που εκτίθενται στην ηλιακή ακτινοβολία, η φωτοσύνθεση είναι μια σημαντική πηγή ενέργειας και άνθρακα. Ωστόσο, ο άνθρακας και το άζωτο που εισέρχονται στα υπεδάφια συστήματα OAM είναι ελάχιστα. Οι κύριες μεταβολικές κατηγορίες που εντοπίστηκαν σε περιοχές OAM είναι λιθοαυτότροφοι οργανισμοί που οξειδώνουν το  $Fe^{2+}$  και το  $S^-$  που απελευθερώνονται από τη διαλυτοποίηση του πυρίτη, οργανοετερότροφοι οργανισμοί που καταναλώνουν τον άνθρακα που παράγουν οι λιθοαυτότροφοι, λιθοετερότροφοι οργανισμοί που οξειδώνουν το σίδηρο και το θείο και αναερόβιοι οργανισμοί που συνδυάζουν την οξείδωση του θείου ή του οργανικού άνθρακα με την αναγωγή του  $Fe(III)$ . Ορισμένοι από αυτούς τους οργανισμούς πρέπει να παράγουν τον άνθρακα και το άζωτο που απαιτούνται για τη διατήρηση του μικροβιακού πληθυσμού. Εκτός του  $S^-$ , τα ενδιάμεσα προϊόντα της οξείδωσης του θείου μπορεί να λειτουργήσουν ως δότες ηλεκτρονίων για το  $O_2$  ή το  $Fe(III)$  (που παράγεται κατά την οξείδωση του  $Fe(II)$  με  $O_2$ ) καθώς τα ιόντα αυτά είναι οι μόνοι κατάλληλοι δέκτες ηλεκτρονίων που υπάρχουν σε σημαντικές συγκεντρώσεις. Η λειτουργία του  $Fe(III)$ , και ενδεχομένως των θειικών, ως δέκτες ηλεκτρονίων είναι δυνατή και σε ανοξικές συνθήκες. Στο Σχήμα 1.2 απεικονίζεται ένα απλουστευμένο σύστημα OAM και δίνονται παραδείγματα μικροοργανισμών που είναι δυνατό να ελέγχουν τη ροή σιδήρου, θείου, αζώτου, άνθρακα και ενέργειας σε διάφορες θερμοκρασιακές συνθήκες (Baker *et al.*, 2003).



Σχήμα 1.2. Πιθανές οδοί σιδήρου, θείου και άνθρακα με βάση τις γνωστές μεταβολικές δυνατότητες (①, ②, ③ και ④) των μικροοργανισμών που ενυπάρχουν στα συστήματα OAM (Baker *et al.*, 2003; Plante, 2007)

Ο σιδηροπυρίτης απεικονίζεται με κίτρινο χρώμα στο κάτω μέρος της εικόνας ενώ το λευκό υπερκείμενο στρώμα αντιστοιχεί στο διάλυμα OAM. Στη συνολική αντίδραση οξείδωσης του σιδηροπυρίτη εμφανίζεται ο  $Fe(III)$  ως κύριο οξειδωτικό μέσο. Οι ενδιάμεσες θειούχες ενώσεις απεικονίζονται ως  $S_2O_3^{2-}$ ,  $S_4O_6^{2-}$  ενώ οι ενώσεις οργανικού άνθρακα δίνονται ως  $C_{30}H_{60}O_{30}N_6P$ .

#### 1.1.4. Περιβαλλοντικές επιπτώσεις ΟΑΜ

Μετά τη γένεσή της, η ΟΑΜ τείνει να μεταναστεύσει προς το περιβάλλον, συμμετέχοντας σε σειρά χημικών και φυσικοχημικών αντιδράσεων, και να καταλήξει εν τέλει στους τελικούς αποδέκτες, που μπορεί να είναι είτε ένα φυσικό υδάτινο σώμα είτε το έδαφος, επιβαρύνοντάς τους με τοξικό φορτίο (Πίνακας 1.5).

Πίνακας 1.5. Φυσικοχημικός και μικροβιολογικός χαρακτηρισμός όξινων απορροών από χώρους μεταλλευτικής δραστηριότητας (Johnson et al., 2003; Κούρτης, 2007)

Παράμετρος	Wheal Jane, Αγγλία	Killingdal, Νορβηγία	Rio Tinto, Ισπανία	Iron Mountain, Η.Π.Α.	Στρατώνι, Ελλάδα
pH	3,4	2,77	2,2	0,5 - 1	2,6
Eh (mV)	+462	—	+450	—	—
Fe(ολικός)	290	265	$2,3 \times 10^3$	$13-19 \times 10^3$	200
Fe(II)	250	—	$1,5 \times 10^3$	$13-19 \times 10^3$	—
Al	27	38,3	—	$1,4-6,7 \times 10^3$	—
Mn	8	4,24	—	17-120	70
Cu	1,2	5,65	109	120-650	2,08
Zn	132	61,1	225	$0,7-2,6 \times 10^3$	90
Θειικά	$0,4 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	$10 \times 10^3$	$20-108 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$
Fe-οξειδωτικά (μετρίως οξύφιλα)	$3,0 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$	—	—	—
Fe-οξειδωτικά (εξαιρετικά οξύφιλα)	$1,0 \times 10^3$	$2,1 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	—	—
S-οξειδωτικά (εξαιρετικά οξύφιλα)	$< 10^2$	$< 10^2$	$6,1 \times 10^6$	—	—
Ετερότροφα οξύφιλα	$3,0 \times 10^2$	$2,4 \times 10^5$	—	—	—

—: δεν αναφέρεται. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων δίνονται σε mg/L και των οξύφιλων μικροοργανισμών σε #/mL

Οι επικίνδυνες περιβαλλοντικές επιπτώσεις της ΟΑΜ δεν περιορίζονται στην άμεση περιοχή δημιουργίας της αλλά επεκτείνονται σε μεγάλες αποστάσεις, μέσω των οδών διάδοσης, μεταβάλλοντας τη χημική σύσταση του νερού με την εισαγωγή θειικού οξέος και διαλυμένων μετάλλων και εμπλουτίζοντας τα ιζήματα με μέταλλα που επιδρούν τοξικά στη χλωρίδα και την πανίδα. Επίσης, λόγω της καταβύθισης διαφόρων υδροξυ-θειικών ενώσεων του τρισθενούς σιδήρου που διοχετεύονται μέσω του ρεύματος της ΟΑΜ προς τον τελικό υδάτινο αποδέκτη, οι μεταλλικές αξίες που προσροφώνται σε αυτά τα σωματίδια μεταφέρονται σε άλλες περιοχές. Προφανώς, παρατηρούνται και φαινόμενα επιμόλυνσης των πηγών πόσιμου νερού καθώς η ΟΑΜ διεισδύει στα επιφανειακά νερά καθώς και στους υπόγειους υδροφορείς. Το πρόβλημα έχει παγκόσμιες διαστάσεις καθώς παρατηρείται οπουδήποτε υπάρχουν εκτεθειμένα θειούχα ορυκτά.

Στο πλαίσιο των αρχών της αειφόρου ανάπτυξης, η μεταλλευτική δραστηριότητα οφείλει να συνοδεύεται από προσεκτικό περιβαλλοντικό σχεδιασμό και εφαρμογή σε όλα τα στάδια: από την έρευνα, την εκμετάλλευση και την κατεργασία μέχρι και την περιβαλλοντικά αποδεκτή διαχείριση των απορριμμάτων και των αποβλήτων και την τελική ανάπλαση (EC, 2009; Κοντόπουλος, 1998). Είναι πλέον σαφές ότι η αειφόρος εκμετάλλευση των μεταλλείων μικτών



θειούχων περιλαμβάνει και την εφαρμογή κατάλληλων τεχνολογιών για τον έλεγχο και την αντιμετώπιση της OAM (Directive 2006/21/EC, 2006; ΚΜΛΕ, 2011).

#### 1.1.5. Προσεγγίσεις αντιμετώπισης: αβιοτικές και βιολογικές μέθοδοι

Κατά καιρούς, έχουν προταθεί και εφαρμοστεί διάφορες μηχανικές, χημικές και βιολογικές μέθοδοι για την πρόληψη του σχηματισμού OAM ή, όπου αυτό δεν είναι εφικτό, για την αποκατάσταση των ρυπασμένων νερών.

Οι προληπτικές μέθοδοι, οι οποίες στοχεύουν στην αποφυγή γένεσης οξύτητας, περιλαμβάνουν (Johnson, 2000; Johnson *et al.*, 2005; Κορνίτσας *et al.*, 2001; Κοντόπουλος, 1998):

- την απομάκρυνση και απομόνωση των θειούχων ορυκτών (με επίπλευση ή μικροεγκιβωτισμό)
- την αποφυγή έκθεσης σε οξυγόνο με υδατικά καλύμματα (σε φράγματα, φυσικές λίμνες, με υποθαλάσσια απόρριψη ή με πλημμύρισμα των υπόγειων εκμεταλλεύσεων)
- την αποφυγή έκθεσης σε οξυγόνο με ξηρά καλύμματα (συμβατικά ή οργανικά)
- τη χρήση αλκαλικών προσθέτων
- τη χρήση βακτηριοκτόνων ουσιών (όπως αντιβιοτικά ή ανιονικά τασιενεργά)

Ορισμένες από τις παραπάνω μεθόδους, όπως η υποθαλάσσια απόρριψη και η χρήση αντιβιοτικών, δεν θεωρούνται πλέον αποδεκτές λόγω των επιβλαβών συνεπειών τους στα υδατικά οικοσυστήματα.

Δεδομένων των πρακτικών δυσκολιών που συνεπάγεται η αναστολή του σχηματισμού OAM στην πηγή, συχνά η μόνη εφικτή εναλλακτική λύση είναι η παρεμπόδιση της διάδοσης και η ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων των ρυπασμένων νερών στο περιβάλλον, με συλλογή και επεξεργασία της OAM σε κατάλληλες εγκαταστάσεις με βιολογικές ή φυσικοχημικές (αβιοτικές) μεθόδους. Σε καθεμία από αυτές τις κατηγορίες διακρίνονται δυναμικές (οι οποίες εφαρμόζονται σε εργοστασιακές μονάδες) και παθητικές (όπου αξιοποιείται η φυσική ικανότητα του οικοσυστήματος να επεξεργάζεται την OAM) μέθοδοι.

#### Αβιοτικές μέθοδοι επεξεργασίας

Η ευρύτερα εφαρμοζόμενη αβιοτική μέθοδος επεξεργασίας OAM σε βιομηχανική κλίμακα είναι δυναμική και περιλαμβάνει αερισμό, προς οξείδωση του περιεχόμενου δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή, και εξουδετέρωση των όξινων νερών με κάποιο αλκαλικό υλικό (όπως το ανθρακικό ασβέστιο ( $\text{CaCO}_3$ , ασβεστόλιθος), το υδροξείδιο ( $\text{Ca(OH)}_2$ , υδράσβεστος) ή το οξείδιο ( $\text{CaO}$ , άνυδρη άσβεστος) του ασβεστίου, το ανθρακικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ή το υδροξείδιο του νατρίου ( $\text{NaOH}$ ) ή η αμμωνία ( $\text{NH}_3$ ), με αποτέλεσμα την αύξηση του pH και την καταβύθιση των διαλυμένων μετάλλων με τη μορφή υδροξειδίων και ανθρακικών ενώσεων (EPA, 1983).

Η παραγόμενη ιλύς έχει πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε στερεά, τυπικά 2-5%, ενώ τείνει

να είναι κολλοειδής και ζελατινώδης και να καταβυθίζεται πολύ δύσκολα χωρίς την προσθήκη κροκιδωτικών. Γι' αυτό, η μέθοδος τροποποιήθηκε ώστε να περιλαμβάνει ανακύκλωση της ιλύος, με αποτέλεσμα την παραγωγή ιλύος με περιεκτικότητα σε στερεά 20% περίπου, ποσοστό που βελτιώνεται ακόμα περισσότερο (στο 50% περίπου) μετά την πάχυνση (Johnson *et al.*, 2005; Κοντόπουλος, 1998).

Εναλλακτική προσέγγιση για την εξουδετέρωση της ΟΑΜ αποτελεί η εφαρμογή των ανοξικών ασβεστολιθικών τάφρων, όπου όξινα νερά με ελάχιστη ή μηδενική συγκέντρωση διαλελυμένου οξυγόνου έρχονται σε επαφή με ασβεστόλιθο. Παράλληλα, αποφεύγεται η οξειδωση του δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή καθώς η καταβύθιση  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  προκαλεί την αδρανοποίηση του ασβεστολιθικού στρώματος. Οι ανοξικές ασβεστολιθικές τάφροι χρησιμοποιούνται συνήθως ως βαθμίδα προκατεργασίας σε παθητικά συστήματα αερόβιων ή αναερόβιων υγρότοπων, βελτιώνοντας σημαντικά την απόδοση των μονάδων (Johnson *et al.*, 2005; Κοντόπουλος, 1998).

#### Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

Οι τεχνολογίες βιολογικής επεξεργασίας της ΟΑΜ (Sheoran *et al.*, 2010) στηρίζονται στην ικανότητα ορισμένων μικροοργανισμών να ανάγουν τα θειικά ιόντα, παράγοντας αλκαλικότητα και ακινητοποιώντας τα ιόντα των διαλελυμένων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων (ενότητα 2.3.1) ή να οξειδώνουν το δισθενή σίδηρο προς τρισθενή, με αποτέλεσμα την υδρόλυση και την καταβύθισή του ως υδροξείδιο.

Οι περισσότερες από αυτές τις μεθόδους αναπτύσσονται σε παθητικά συστήματα, όπως οι αερόβιοι και οι αναερόβιοι υγρότοποι οργανικού υποστρώματος και τα διαπερατά κατακόρυφα φράγματα (Brown *et al.*, 2002; Doshi, 2006; Gazea *et al.*, 1996; Johnson *et al.*, 2005; Kaksonen *et al.*, 2007; Kaksonen *et al.*, 2008; Neculita *et al.*, 2007; Κούρτης, 2007; Μπάρτζας, 2007). Στο πλαίσιο της δυναμικής επεξεργασίας της ΟΑΜ, έχουν σχεδιαστεί και μελετηθεί διάφοροι αντιδραστήρες (ενότητα 3.1) και διαγράμματα ροής εγκαταστάσεων (ενότητα 3.4) όπου επιδιώκεται η εξουδετέρωση της ΟΑΜ και η απομάκρυνση των διαλελυμένων μετάλλων με τη μορφή αδιάλυτων θειούχων ενώσεων, όπως και στα παθητικά συστήματα, αλλά με γνώμονα τη βελτιστοποίηση της παραγωγής υδρόθειου και την εκλεκτική ανάκτηση των μετάλλων. Τυχόν περίσσεια θειούχων ιόντων μετατρέπεται σε αδιάλυτο στοιχειακό θείο μετά από οξείδωση με οξυγόνο σε δεύτερο βιοαντιδραστήρα (Buisman *et al.*, 1990; Janssen *et al.*, 1999; van den Bosch *et al.*, 2007).

Οι παθητικές βιολογικές μέθοδοι αποτελούν μακροπρόθεσμες λύσεις χαμηλού κόστους, χωρίς εντατική παρακολούθηση και συντήρηση, για την επεξεργασία της ΟΑΜ και, γι' αυτό, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις απομακρυσμένες περιοχές μεταλλευτικών εκμεταλλεύσεων. Ωστόσο, η μεγάλη απαιτούμενη έκταση γης, η δύσκολη ανάκτηση των μετάλλων καθώς και η μη ικανοποιητική προβλεψιμότητα λόγω των εποχιακών διακυμάνσεων αποτελούν μειονεκτήματα των παθητικών συστημάτων που επιχειρείται να αντιμετωπιστούν στο ελεγχόμενο περιβάλλον των βιολογικών αντιδραστήρων (Πίνακας 1.6, (Johnson, 2000;

Kaksonen *et al.*, 2007)).

Πίνακας 1.6. Χαρακτηριστικά δυναμικών και παθητικών βιολογικών συστημάτων επεξεργασίας ΟΑΜ (Kaksonen *et al.*, 2007)

Χαρακτηριστικά	Δυναμικά συστήματα	Παθητικά συστήματα
Κόστος	Υψηλό	Χαμηλό
Απαιτούμενη εργασία	Υψηλή	Χαμηλή
Έκταση εγκατάστασης επεξεργασίας	Μικρή	Μεγάλη
Ανάκτηση μετάλλων	Εύκολη	Δύσκολη
Έλεγχος	Ικανοποιητικός	Μη ικανοποιητικός
Προβλεψιμότητα	Ικανοποιητική	Μη ικανοποιητική

## 1.2. Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα

### 1.2.1. Πηγές προέλευσης

Υγρά απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα παράγονται από ποικίλες βιομηχανικές διεργασίες (Πίνακας 1.7) όπου χρησιμοποιείται θειικό οξύ ή πρώτη ύλη πλούσια σε θειικά. Επίσης, η βιομηχανική χρήση λιγότερο οξειδωμένων ενώσεων των θείου (θειούχες, θειώδεις ή θειοθειικές) έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή υγρών αποβλήτων εμπλουτισμένων σε θειικά ιόντα.

Πίνακας 1.7. Παραδείγματα υγρών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα (Colleran *et al.*, 1995; Lens *et al.*, 1998)

Πηγή προέλευσης	Θειικά ιόντα (g/L)	Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (mg/L)
Βυρσοδεψία	1,2 - 2,0	4,8 - 8,0
Ελαιουργία	40 - 50	40 - 50
Επεξεργασία θαλασσινών	2,1 - 2,7	12,4 - 16,9
Οικιακά λύματα	0,02 - 0,5	
Οινοποιία	1 - 4	17
Παραγωγή αλκοόλης	2,9	50,6
Παραγωγή κιτρικού οξέος	2,5 - 4,5	30
Παραγωγή TNT	51,4	68,5
Φωτογραφία	8	67,8
Χαρτοβιομηχανία	1,2 - 1,5	7,5 - 10,4

### 1.2.2. Φυσικοχημικές και βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

#### Φυσικοχημικές μέθοδοι

Στην περίπτωση που η συγκέντρωση των θειικών ιόντων είναι υψηλή, είναι δυνατή η εφαρμογή της μεθόδου της χημικής καταβύθισης, με προσθήκη αλάτων ασβεστίου ή βαρίου, με αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης των θειικών σε τιμές χαμηλότερες του 1,2 g/L, επιτρέποντας την επακόλουθη αερόβια βιολογική επεξεργασία του αποβλήτου για την οξειδωση του οργανικού άνθρακα (Fernandez-Polanco *et al.*, 2006).

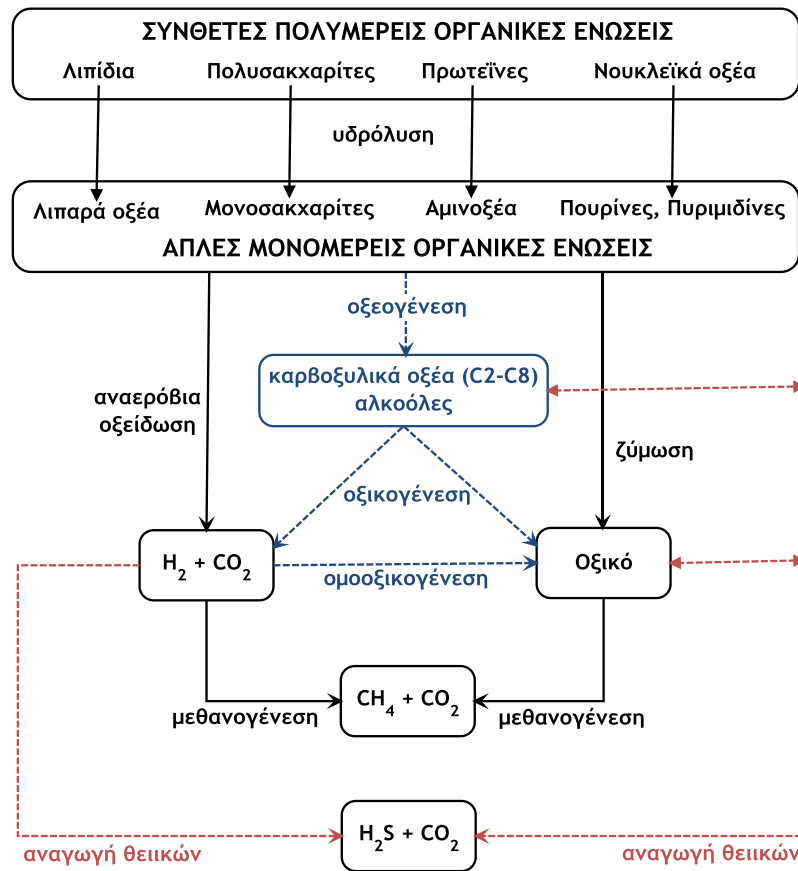
Ωστόσο, παρ' όλο που οι φυσικοχημικές μέθοδοι είναι αποτελεσματικές όσο αφορά την απομάκρυνση των θειικών ιόντων από το απόβλητο, τα ζητήματα που σχετίζονται με το διαχωρισμό και τη διάθεση της παραγόμενης γύψου αλλά και το σχετικά υψηλό κόστος και την κατανάλωση ενέργειας περιορίζουν την εφαρμογή τους.

#### Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

Η τυπική αερόβια βιολογική επεξεργασία των υγρών αποβλήτων με υψηλό οργανικό φορτίο δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση των διαλελυμένων θειικών ιόντων. Οπότε, η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί μόνο στην περίπτωση που η συγκέντρωση των θειικών είναι κατώτερη των επιτρεπόμενων ορίων απόρριψης ή σε πολυβάθμια εγκατάσταση όπου προηγείται στάδιο χημικής καταβύθισης ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση των θειικών στα επιτρεπόμενα όρια (Fernandez-Polanco *et al.*, 2006). Εκτός αυτού, η μεγάλη επιφάνεια της απαιτούμενης εγκατάστασης (αντιδραστήρας και δεξαμενή καθίζησης), η παραγωγή μεγάλου όγκου ιλύος και μεγάλων ποσοτήτων μικροβιακών κυττάρων, οι εκπομπές θορύβου, οσμών και αερολυμάτων, η χαμηλή απόδοση της διεργασίας καθώς και η υψηλή κατανάλωση ενέργειας δεν ευνοούν την επιλογή των αερόβιων τεχνολογιών επεξεργασίας (Heijnen *et al.*, 1990; Sreece, 1983).

Για τους παραπάνω λόγους, προτιμώνται οι αναερόβιες βιολογικές μέθοδοι (Lyberatos *et al.*, 1999; McCarty, 1971; Pavlostathis *et al.*, 1991; Sreece, 1983) σε βιομηχανική κλίμακα. Η αναερόβια, μικροβιακά υποβοηθούμενη μετατροπή του οργανικού άνθρακα σε μεθάνιο είναι μία σύνθετη βιολογική διεργασία που περιλαμβάνει διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών που συνδέονται μεταξύ τους με άμεσες και έμμεσες συμβιωτικές σχέσεις (Pohland, 1992).

Ωστόσο, η παρουσία θειικών ιόντων στο απόβλητο, ενισχύει την πολυπλοκότητα των μηχανισμών αναερόβιας βιοαποικοδόμησης του οργανικού άνθρακα στις διεργασίες μεθανογένεσης (Σχήμα 1.3) λόγω του ανταγωνισμού μεταξύ των θειοαναγωγικών και των υπόλοιπων αναερόβιων βακτηρίων για το διαθέσιμο οργανικό υπόστρωμα (Lens *et al.*, 2000a; Rinzema *et al.*, 1988). Η ανταγωνιστική αυτή σχέση, καθώς και τα προβλήματα που απορρέουν από αυτήν, περιγράφονται στην ενότητα 2.2.5, *Παρουσία ανταγωνιστικών βακτηριακών πληθυσμών*.



Σχήμα 1.3. Βιοαποικοδόμηση οργανικών ενώσεων κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων παρουσία θεικών ιόντων (Lopes, 2007; Visser, 1995)



# 2

## Μικροβιακή αναγωγή θειικών ιόντων και καταβύθιση ιόντων μετάλλων. Περιγραφή διεργασίας

---

*Για την ελαχιστοποίηση της συγκέντρωσης των θειικών ιόντων στα υγρά απόβλητα προς διάθεση, μελετάται η μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων με συγκεκριμένα βακτήρια του κύκλου του θείου καθώς προσφέρει πολλαπλά πλεονεκτήματα σε σχέση με την εξουδετέρωση των όξινων αποβλήτων και την ακινητοποίηση τυχόν διαλυμένων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων.*

### 2.1. Ο κύκλος του θείου

Ο κύκλος του θείου (S) περιλαμβάνει σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της πεδόσφαιρας, της υδρόσφαιρας, της βιόσφαιρας και της ατμόσφαιρας, όπου λαμβάνουν χώρα χημικοί και μικροβιακά υποβοηθούμενοι μετασχηματισμοί. Στη βιόσφαιρα, όπου βρίσκονται ορισμένες εξαιρετικά κινητικές μορφές του θείου, εξελίσσονται, επιταχύνονται και, μερικές φορές, ελέγχονται ολοκληρωτικά από μικροβιακή δράση πολλές θεμελιώδεις αντιδράσεις του κύκλου. Η μικροβιακή βιομάζα του εδάφους δρα ως κινητήρια δύναμη για τους μετασχηματισμούς που λαμβάνουν χώρα κατά τη μετατροπή του οργανικού σε ανόργανο θείο, την ακινητοποίηση καθώς και κατά την οξείδωση/αναγωγή (Plante, 2007).

Ο μεγαλύτερος ταμειυτήρας θείου στη Γη είναι η λιθόσφαιρα (Πίνακας 2.1). Στα εδάφη, το κλάσμα του ανόργανου θείου είναι γενικά μικρό σε σύγκριση με το οργανικό κλάσμα που αντιστοιχεί στο 90% του ολικού S στο έδαφος (Plante, 2007).

Πίνακας 2.1. Αποθέματα θείου στη Γη (Lens, 2009; Plante, 2007)

Διαμέρισμα	Ολικό θείο (x 10 <sup>15</sup> g)
Ατμόσφαιρα	0,0048
Βιόσφαιρα	0,76
Πεδόσφαιρα	260
Οργανική ύλη εδάφους	1,1
Υδρόσφαιρα	1.300.000
Ωκεανοί	1.300.000
Θαλάσσιοι οργανισμοί	0,024
Πόσιμα νερά	3,0
Πάγος	6,0
Λιθόσφαιρα	24.300.000
ηπειρωτικά	21.800.000
ωκεανοί	2.500.000

Το οργανικό θείο (Πίνακας 2.2) εμφανίζεται κατά 30% σε δεσμούς με τα άτομα άνθρακα αμινοξέων (όπως η κυστεΐνη, η κυστίνη και η μεθειονίνη), πρωτεϊνών Fe-S (φερρεδοξίνη), πολυπεπτιδίων, ετεροκυκλικών ενώσεων (όπως η βιοτίνη και η θειαμίνη),θειονικών ενώσεων (-S=O-), σουλφονών (-SO<sub>2</sub>-), αλάτων του σουλφονικού οξέος (-SO<sub>2</sub>O<sup>-</sup>) και σουλφοξειδίων (-SO-) και κατά 30-75% σε θειικούς εστέρες (C-O-S), σουλφαμικές ενώσεις (C-N-S) και θειογλυκοζίτες (N-O-S). Στη μικροβιακή βιομάζα αντιστοιχεί μόνο το 2-3% του συνολικού οργανικού θείου του εδάφους (Plante, 2007).

Πίνακας 2.2. Οργανικές ενώσεις του θείου με μικροβιολογική σημασία (Canfield et al., 2005)

Κοινά αμινοξέα
Κυστεΐνη
Μεθειονίνη
Συμπαραγόντες (συνένζυμα, βιταμίνες, μεταφορείς ηλεκτρονίων)
Θειαμίνη (βιταμίνη B1)
Βιοτίνη (βιταμίνη H)
Συνένζυμο A (συνένζυμο)
Φερρεδοξίνη (κέντρο ηλεκτρονίων)
Συνένζυμο M (συνένζυμο, μεθανογόνα βακτήρια)
Θειικοί εστέρες
Θειική χολίνη (σε μύκητες και βακτήρια)
Σουλφονικά
Σουλφολιπίδιο (σε φυτά και φωτοσυνθετικά βακτήρια)

Το ανόργανο θείο εμφανίζεται κυρίως με τη μορφή θειικών ιόντων στα ασβεστούχα εδάφη των άνυδρων και ημι-άνυδρων περιοχών, στην ηφαιστειακή τέφρα και σε πρόσφατα αποξηραμένα θαλάσσια έλη. Απαντάται κυρίως ως γύψος (CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O), ένυδρο θειικό μαγνήσιο (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), βασικό θειικό αλουμίνιο ή ως πρόσμιξη του CaCO<sub>3</sub> σε συγκεντρώσεις που προσεγγίζουν τα 3.000 μg/g (Plante, 2007), με αποτέλεσμα το ιόν της θειικής ρίζας να είναι το 2<sup>ο</sup> πιο συχνά εμφανιζόμενο ιόν, μετά τα χλωριόντα του θαλασσινού νερού και τα ανθρακικά ιόντα των υπόγειων και επιφανειακών νερών (Loka Bharathi, 2010). Σε μικρότερες ποσότητες,



το ανόργανο θείο εμφανίζεται ως σιδηροπυρίτης (FeS<sub>2</sub>), σφαλερίτης (ZnS) ή χαλκοπυρίτης (CuFeS<sub>2</sub>) (Ehrlich, 2002). Τα περισσότερα από 2.000 θειούχα ορυκτά, με περιεκτικότητα σε θείο μεταξύ 7 και 53%, καθιστούν το θείο το 13<sup>ο</sup> πιο συχνά εμφανιζόμενο στοιχείο του φλοιού της Γης (Plante, 2007).

Η πολυπλοκότητα του κύκλου του θείου οφείλεται στην πληθώρα των οξειδωτικών του καταστάσεων, από -2 (πλήρως ανηγμένη μορφή<sup>3</sup>) έως +6 (πλήρως οξειδωμένη μορφή, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), καθώς και στη δυνατότητα που έχει να μετασχηματίζεται με χημικό και βιολογικό τρόπο. Ο Πίνακας 2.3 παρουσιάζει τις σημαντικές, από γεω-μικροβιολογική άποψη, ενώσεις του θείου ενώ στο Σχήμα 2.1 απεικονίζονται οι σχέσεις μεταξύ των θερμοδυναμικά σταθερών, υδατοδιαλυτών ειδών του θείου.

Ορισμένες αβιοτικές αντιδράσεις του στοιχειακού θείου έχουν γεω-μικροβιολογική σημασία. Για παράδειγμα, το στοιχειακό θείο (που συνήθως γράφεται S<sup>0</sup> ενώ, στην πραγματικότητα, είναι S<sub>8</sub> επειδή αποτελείται από ένα δακτύλιο οκτώ ατόμων θείου) μπορεί να αντιδράσει αντιστρεπτά με θειώδη ιόντα (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), με αποτέλεσμα το σχηματισμό θειοθειικών ιόντων (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) (Ehrlich, 2002):



Η προς τα δεξιά αντίδραση ευνοείται σε ουδέτερα και αλκαλικά pH ενώ η προς τα αριστερά αντίδραση ευνοείται σε όξινα pH. Τα θειοθειικά είναι πολύ ασταθή σε υδατικό διάλυμα με pH κάτω από 5. Στη σταθερή τους μορφή, μπορούν να οξειδωθούν ή να αναχθούν από διάφορα είδη βακτηρίων (Ehrlich, 2002).

Το στοιχειακό θείο αντιδρά με τα θειούχα, σχηματίζοντας πολυθειούχα ιόντα (S<sub>x</sub><sup>2-</sup>, όπου x = 2, 3, ...), σε μία αντίδραση που μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό του στοιχειακού θείου:



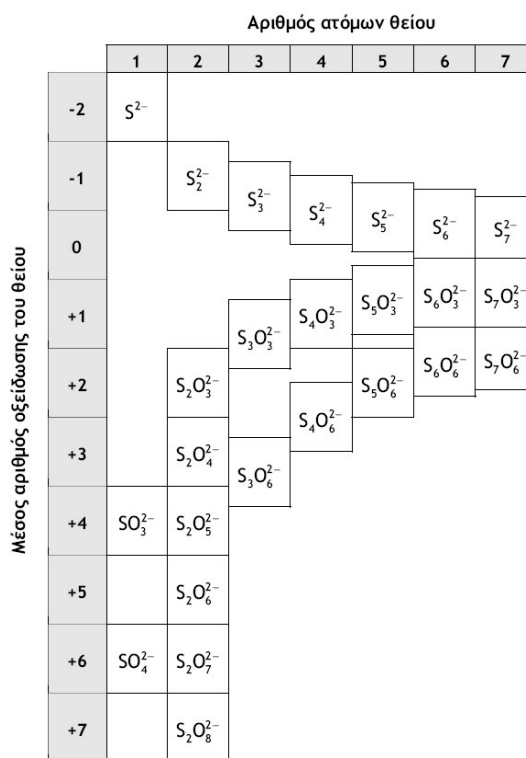
όπου x = 2, 3, ... Η τιμή του x σχετίζεται με τη συγκέντρωση των θειούχων (Ehrlich, 2002).

Τα πολυθειονικά ιόντα (S<sub>x</sub>O<sub>6</sub><sup>2-</sup>, όπου x = 2, 3, ...6) σχηματίζονται ως παραπροϊόντα κατά την οξείδωση των θειούχων και του στοιχειακού θείου προς θειικά ιόντα καθώς και σε αντιδράσεις αυτοοξειδοαναγωγής. Τα πολυθειονικά ιόντα μεταβολίζονται επίσης από ορισμένους μικροοργανισμούς (Ehrlich, 2002).

<sup>3</sup> Σε αυτή την οξειδωτική κατάσταση, οι διαλελυμένες μορφές του θείου εξαρτώνται από το pH (Σχήμα 2.5, σελ. 46).

Πίνακας 2.3. Ενώσεις του θείου με γεω-μικροβιολογική σημασία (Ehrlich, 2002)

Όνομασία	Χημικός τύπος
Οργανικό	S (R-SH)
Θειούχα	H <sub>2</sub> S, HS <sup>-</sup> , S <sup>2-</sup>
Πολυθειούχα	S <sub>n</sub> <sup>2-</sup>
Στοιχειακό θείο	S <sub>8</sub>
Διθειονώδη	S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Θειώδη	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
Θειοθειικά	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
Διθειονικά	S <sub>2</sub> O <sub>6</sub> <sup>2-</sup>
Τριθειονικά	S <sub>3</sub> O <sub>6</sub> <sup>2-</sup>
Τετραθειονικά	S <sub>4</sub> O <sub>6</sub> <sup>2-</sup>
Πενταθειονικά	S <sub>5</sub> O <sub>6</sub> <sup>2-</sup>
Θειικά	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>

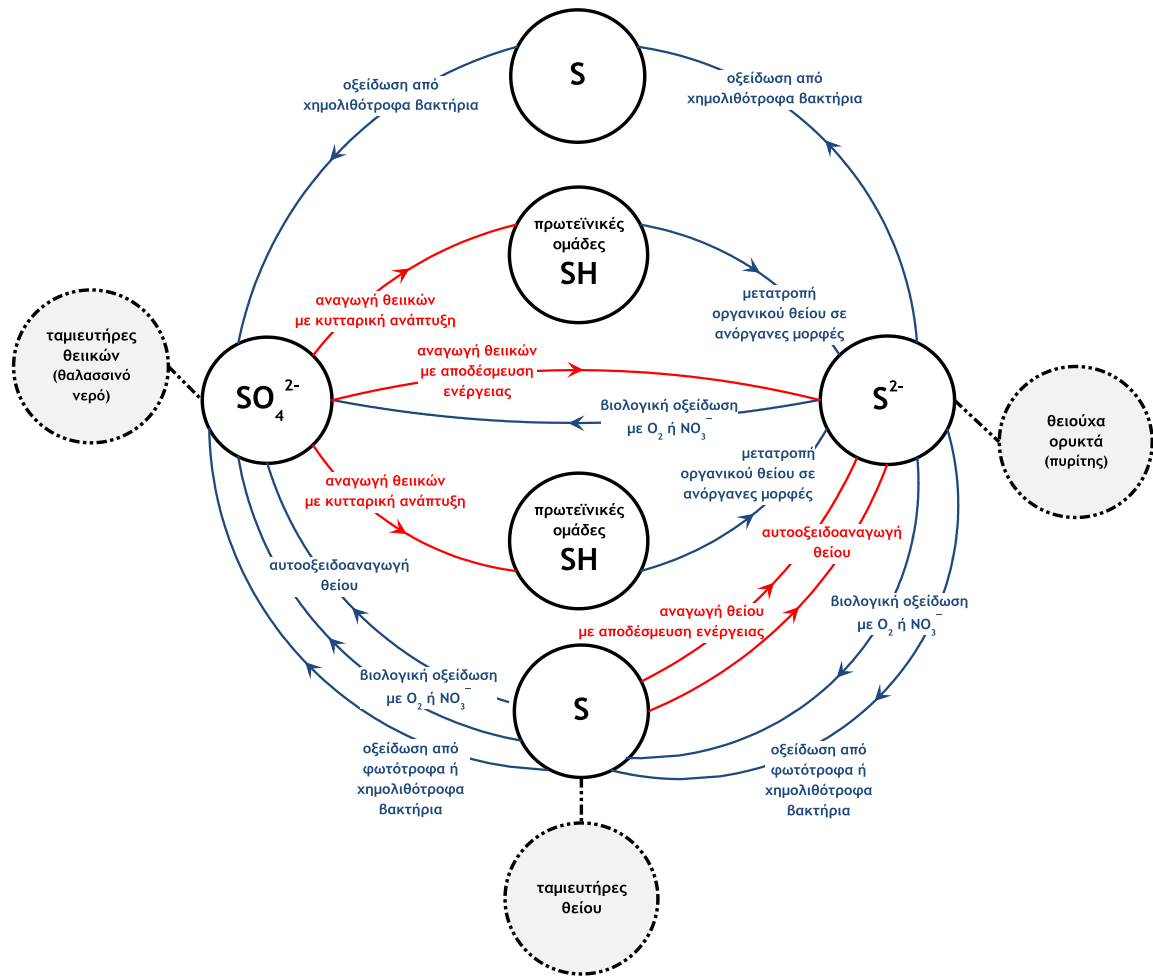


Σχήμα 2.1. Θερμοδυναμικά σταθερά υδατοδιαλυτά είδη του θείου (Williamson et al., 1992)

Το θείο είναι ένα απαραίτητο στοιχείο για τους ζώντες οργανισμούς (Ehrlich, 2002; Plante, 2007). Σε κυτταρικό επίπεδο, τα αμινοξέα που περιέχουν θείο σταθεροποιούν τις δευτεροταγείς, τριτοταγείς και τεταρτοταγείς δομές των πρωτεϊνών μέσω δισουλφιδικών δεσμών (-S-S-). Επίσης, αν καταστραφούν οι σουλφυδρυλομάδες (-SH), οι οποίες συμμετέχουν στη δέσμευση των υποστρωμάτων, μετά από επεξεργασία των ενζύμων με συγκεκριμένα αντιδραστήρια, αναστέλλεται η ενζυμική δράση (Plante, 2007).

Επίσης, οι αντιδράσεις οξειδοαναγωγής του στοιχειακού θείου και των διαφόρων θειούχων ενώσεων έχουν ιδιαίτερη γεω-μικροβιολογική σημασία στον κύκλο του θείου που εξελίσσεται στη βιόσφαιρα, με τους μικροοργανισμούς να παίζουν σημαντικό ρόλο στους διάφορους μετασχηματισμούς που συμβαίνουν στα εδαφικά και υδατικά περιβάλλοντα (Σχήμα 2.2). Για παράδειγμα, οι ανηγμένες μορφές του θείου μπορούν να λειτουργήσουν ως πηγές ενέργειας σε ορισμένα είδη προκαρυωτικών οργανισμών (π.χ. οξειδωση των θειούχων ιόντων από χημολιθότροφα βακτήρια) ενώ οι οξειδωμένες μορφές, και ειδικότερα τα θειικά ιόντα, μπορούν να λειτουργήσουν ως τελικός δέκτης ηλεκτρονίων σε άλλα είδη (π.χ. αναγωγή των θειικών ιόντων με αποδέσμευση ενέργειας από θειοαναγωγικά βακτήρια<sup>4</sup>).

<sup>4</sup> Επειδή τα θειικά ιόντα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τελικός δέκτης ηλεκτρονίων τόσο από είδη που ανήκουν στον τομέα των Βακτηρίων αλλά και των Αρχαιοβακτηρίων, ορισμένοι ερευνητές χρησιμοποιούν τον όρο θειοαναγωγικοί προκαρυωτικοί οργανισμοί ή θειοαναγωγικοί μικροοργανισμοί. Στο κείμενο αυτό, χρησιμοποιείται ο όρος θειοαναγωγικά βακτήρια για αναφορά σε είδη και των δύο αυτών τομέων.



Σχήμα 2.2. Μικροβιακά υποβοηθούμενοι μετασχηματισμοί του θείου

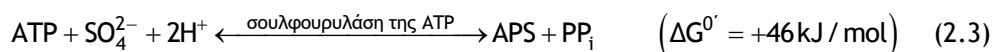
Στις παραγράφους που ακολουθούν περιγράφονται με περισσότερες λεπτομέρειες οι οδοί αναγωγής του στοιχειακού θείου και των οξειδωμένων μορφών του θείου, στις οποίες και εντοπίζεται το αντικείμενο της διατριβής.

### 2.1.1. Αναγωγή οξειδωμένων μορφών του θείου με κυτταρική ανάπτυξη

Τα φυτά και οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αφομοιώνουν το ανόργανο θείο με τη μορφή θεικών. Μία πιθανή οδός αφομοίωσης (*assimilation*) στα βακτήρια είναι η αναγωγή των θεικών σε θειούχα και η επακόλουθη αντίδρασή τους με σερίνη, με αποτέλεσμα το σχηματισμό κυστεΐνης (Ehrlich, 2002).

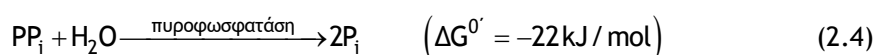
Το ελεύθερο ανιόν της θειικής ρίζας ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), με τα άτομα του οξυγόνου σε τετραεδρική διάταξη, είναι χημικά αδρανές και δεν ανάγεται εύκολα. Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του ελεύθερου ζεύγους ανιόντων  $\text{SO}_4^{2-}/\text{SO}_3^{2-}$  είναι χαμηλότερο ( $E'_0 = -0,516 \text{ V}$ ) από τα οξειδοαναγωγικά δυναμικά των περισσότερων καταβολικών ζευγών (Rabus *et al.*, 2007). Γι'

αυτό, το πρώτο βήμα της αφομοίωσης του θείου είναι η ενεργοποίηση των θειικών από την ATP<sup>5</sup> (αντίδραση (2.3)), όπου μία τρoσφεράση, η σουλφουρυλάση της ATP (ATP-sulfurylase ή ATP:sulfate adenylyltransferase / EC 2.7.7.4) (BRENDA, 2012; IUBMB, 2012), καταλύει την αντικατάσταση δύο φωσφορικών ομάδων της ATP από τη σουλφουρυλική ομάδα, με αποτέλεσμα το σχηματισμό φωσφοθειικής αδενοσίνης (APS ή adenosine 5-phosphatosulfate) και πυροφωσφορικής ρίζας (PP<sub>i</sub> ή inorganic pyrophosphate) (Peck, 1975; Rabus *et al.*, 2007; Σαρρή, 2012).

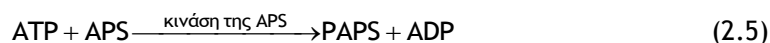


Η σουλφουρυλάση της ATP είναι μία μεταλλοπρωτεΐνη που περιέχει κοβάλτιο και ψευδάργυρο (Barton *et al.*, 2009) και ρυθμίζεται από διάφορους εξωτερικούς (π.χ. ηλιακή ακτινοβολία) και εσωτερικούς (π.χ. ανηγμένες θειούχες ενώσεις) παράγοντες ενώ η παραγόμενη APS λειτουργεί ως υπόστρωμα για τη σύνθεση θειικών εστέρων ή την αναγωγή των θειικών ιόντων (Σαρρή, 2012).

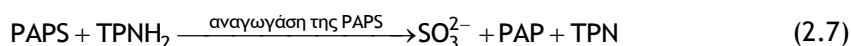
Καθώς ο σχηματισμός του πυροφωσφορικού ιόντος δεν ευνοείται θερμοδυναμικά, η αντίδραση (2.3) πρέπει να εξαναγκαστεί προς αυτή την κατεύθυνση. Αυτό συμβαίνει με την υδρόλυση της σχηματιζόμενης πυροφωσφορικής ρίζας (αντίδραση (2.4), που καταλύεται από το ένζυμο πυροφωσφατάση (EC 3.6.1.1), με αποτέλεσμα η αντίδραση (2.3) να προχωρά προς το σχηματισμό της APS (Peck, 1975; Rabus *et al.*, 2007):



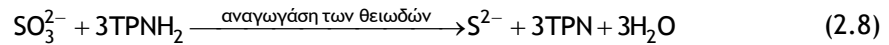
Η ισορροπία της αντίδρασης (2.3) επηρεάζεται και από μία αντίδραση φωσφορυλίωσης (αντίδραση (2.5)), από μία κίνηση της APS, που οδηγεί στο σχηματισμό φωσφοθειικής φωσφοαδενοσίνης (PAPS ή adenosine 3-phosphate-5-sulfatophosphate). Η PAPS λειτουργεί ως υπόστρωμα για όλες τις αντιδράσεις (π.χ. (2.6)) όπου σχηματίζεται θειικός εστέρας και PAP (adenosine 3,5-diphosphate), με τη βοήθεια συγκεκριμένων ενζύμων που λέγονται σουλφοτρoσφεράσες (Peck, 1975).



Επίσης, θεωρείται ότι η PAPS είναι ο φορέας για την αναγωγή των θειικών ιόντων σε θειώδη μέσω της οξειδωσης του νουκλεοτιδίου TPNH<sub>2</sub> (triphosphopyridine) και με τη βοήθεια μίας αναγωγάσης της PAPS (αντίδραση (2.7)). Η αντίδραση αναγωγής των θειωδών σε θειούχα (αντίδραση (2.8)) καταλύεται από μία αναγωγάση των θειωδών (Peck, 1975):



<sup>5</sup> ATP (adenosine triphosphate ή τριφωσφορική αδενοσίνη): συνένζυμο, νουκλεοτίδιο-φορέας χημικής ενέργειας (εντοπιζόμενη στους δεσμούς φωσφορικών) στους ζώντες οργανισμούς, αποτελούμενο από αδείνη ενωμένη με ριβόζη που φέρει τριφωσφορική αλυσίδα. ATP παράγεται στα μιτοχόνδρια κατά την καύση των λιπαρών οξέων ενώ αποδίδει χημική ενέργεια κατά την υδρόλυσή της προς ADP ή AMP, τροφοδοτώντας ενεργειακά πλήθος μεταβολικών αντιδράσεων. (Πηγή: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Αγγλοελληνικό / Ελληνοαγγλικό Λεξικό Χημείας. <http://www.chem.uoa.gr/vocabulary/login.asp>)

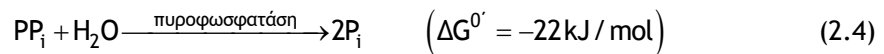
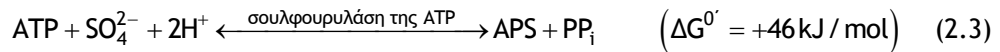


Ακολουθεί η αντίδραση (2.9) με το αμινοξύ σερίνη που οδηγεί στο σχηματισμό κυστεΐνης (Ehrlich, 2002). Η κυστεΐνη είναι το πρώτο σταθερό παράγωγο της αφομοιωτικής αναγωγής των θειικών ιόντων και δρα ως πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση όλων των άλλων οργανικών ενώσεων που περιέχουν ανηγμένο θείο καθώς και για άλλες βιοσυνθετικές οδούς, όπως ο σχηματισμός αιθυλενίου (Σαρρής, 2012).

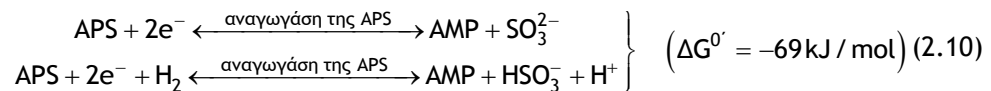


### 2.1.2. Αναγωγή οξειδωμένων μορφών του θείου με αποδέσμευση ενέργειας

Οι αρχικές αντιδράσεις ((2.3) και (2.4)) στη διαδικασία αναγωγής των θειικών ιόντων με αποδέσμευση ενέργειας (*dissimilation*) είναι ίδιες με αυτές που παρουσιάστηκαν παραπάνω για την αναγωγή των θειικών ιόντων με κυτταρική ανάπτυξη (*assimilation*).



Η αναγωγή της APS (αντίδραση (2.10)) προς θειώδη ή όξινα θειώδη και μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP ή adenosine monophosphate) είναι η πρώτη αντίδραση οξειδοαναγωγής που συμβαίνει και κατά τη διάρκειά της απελευθερώνεται περισσότερη ενέργεια από ό,τι κατά τη διάσπαση του πυροφωσφορικού ιόντος (Barton *et al.*, 2009). Η αντίδραση είναι αντιστρεπτή και έχει βρεθεί ότι λειτουργεί κατά την οξείδωση του θείου σε θειικά καθώς και σε αερόβια φωτοσυνθετικά βακτήρια που οξειδώνουν τις θειούχες ενώσεις (Postgate, 1979).

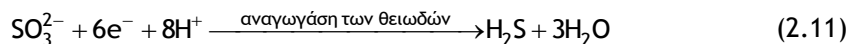


Η αναγωγή της APS (EC 1.8.99.2) είναι μία κυτταροπλασματική φλαβοπρωτεΐνη σιδήρου-θείου που περιέχει ένα μόριο FAD<sup>6</sup> και οκτώ άτομα σιδήρου διατεταγμένα σε δύο κέντρα [4Fe-4S] (Barton *et al.*, 2009; Rabus *et al.*, 2007). Ωστόσο, δεν έχει καθοριστεί ακόμα το κυτταρικό μόριο που δρα ως δότης ηλεκτρονίων για την αναγωγή της APS.

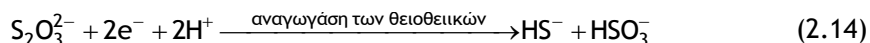
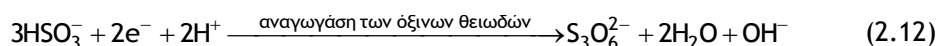
Τα θειώδη ( $\text{SO}_3^{2-}$ ) ή όξινα θειώδη ( $\text{HSO}_3^-$ ), που απαντώνται σχεδόν εξίσου σε pH 7 ( $\text{pK}_{a2} = 6,99$ ), είναι πυραμιδικά μόρια με ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων στο θείο, πολύ πιο δραστικά από τα θειικά και, για το μεταβολισμό τους, δεν χρειάζεται περαιτέρω ενεργοποίηση με ATP. Έχει προταθεί ότι το πραγματικό υπόστρωμα για την αναγωγή προς θειούχα είναι τα όξινα θειώδη και όχι τα θειώδη, γι' αυτό και η αναγωγή των θειωδών αναφέρεται συχνά ως αναγωγή των όξινων θειωδών (Rabus *et al.*, 2007).

<sup>6</sup> FAD (flavin-adenine-dinucleotide ή φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο): συνένζυμο, αποτελούμενο από φωσφορυλιωμένη ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B2) ενωμένη με μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP). (Πηγή: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Αγγλοελληνικό / Ελληνοαγγλικό Λεξικό Χημείας. <http://www.chem.uoa.gr/vocabulary/login.asp>)

Όσο αφορά το μηχανισμό αναγωγής των θειωδών ή όξινων θειωδών (+4) προς θειούχα (-2), έχουν προταθεί δύο εναλλακτικά σενάρια. Κατά το πρώτο, συμβαίνει απευθείας αναγωγή με μεταφορά έξι ηλεκτρονίων (αντίδραση (2.11)), που καταλύεται από την αναγωγή των θειωδών (EC 1.8.99.1) και αντισταθμίζει την ενέργεια που καταναλώθηκε κατά την ενεργοποίηση των θειικών ενώ ταυτόχρονα αποδίδει περισσότερα μόρια ATP που προσφέρονται για ανάπτυξη (Barton *et al.*, 2009).



Ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει μία πολυβάθμια διαδικασία διαδοχικής αναγωγής, που ολοκληρώνεται σε τρία βήματα μεταφοράς δύο ηλεκτρονίων κάθε φορά, κατά την οποία παράγονται τριθειονικά ( $\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$ ) και θειοθειικά ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) ιόντα ως ενδιάμεσα προϊόντα (αντιδράσεις (2.12)-(2.14)) και αναγεννώνται όξινα θειώδη (Barton *et al.*, 2009; Ehrlich, 2002; Gibson, 1990; Hansen, 1994; Peck, 1975; Postgate, 1979; Rabus *et al.*, 2007). Επίσης, σύμφωνα με τον Postgate (Postgate, 1979), η αντίδραση (2.12) εξελίσσεται μέσω του σχηματισμού ενδιάμεσων προϊόντων, όπως τα μεταδιθειώδη ( $\text{S}_2\text{O}_5^-$ ) και τα διθειονώδη ( $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ ).

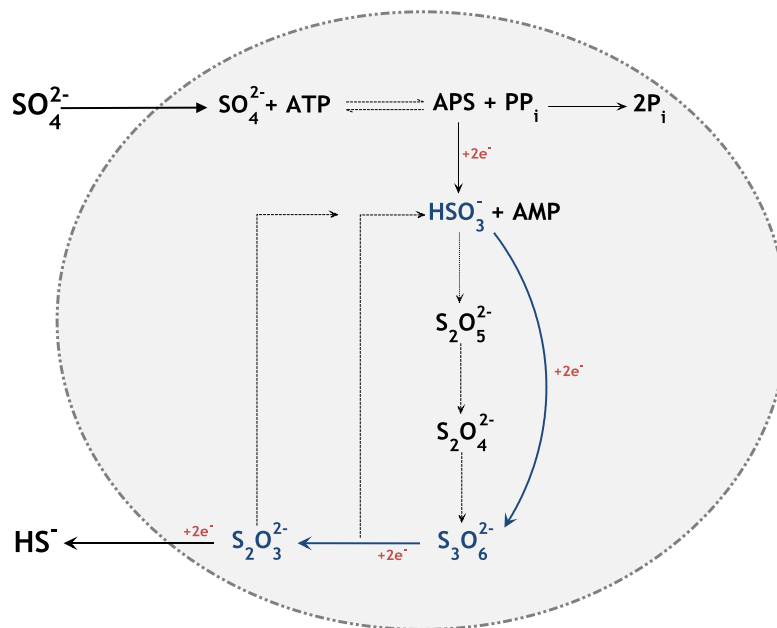


Η αναγωγή των θειωδών ή όξινων θειωδών (DSR, EC 1.8.99.1) έχει εντοπιστεί σε όλα τα είδη των θειοαναγωγικών βακτηρίων που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα και έχει βρεθεί ότι αποτελείται από κέντρα [4Fe-4S] και μία προσθετική ομάδα που μοιάζει με την αίμη<sup>7</sup> (Barton *et al.*, 2009). Με βάση τα φάσματα απορρόφησης στο υπεριώδες/ορατό και άλλα μοριακά χαρακτηριστικά, διακρίνονται τέσσερις διαφορετικές μορφές αυτής της αναγωγής που έχουν εντοπιστεί σε διαφορετικά γένη θειοαναγωγικών βακτηρίων (Barton *et al.*, 2009; Rabus *et al.*, 2007):

- Desulfovirdin, πράσινη πρωτεΐνη που έχει εντοπιστεί στα γένη *Desulfovibrio*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *Desulfomonile* και *Desulforegula*
- Desulforubidin, καφε-κόκκινη πρωτεΐνη που έχει εντοπιστεί στα γένη *Desulfomicrobium*, *Desulfosarcina*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter* και *Desulfocurvus*
- Desulfofuscidin, καφέ πρωτεΐνη που έχει εντοπιστεί στα θερμόφιλα γένη των θειοαναγωγικών βακτηρίων, όπως τα *Thermodesulfobacterium* και *Thermodesulfovibrio*
- P582 που έχει εντοπιστεί σε αρκετά είδη του γένους *Desulfotomaculum*

Στο Σχήμα 2.3 παρουσιάζεται η προτεινόμενη διαδικασία αναγωγής των θειικών στο εσωτερικό του κυττάρου με αποδέσμευση ενέργειας, με σχηματισμό ενδιάμεσων προϊόντων.

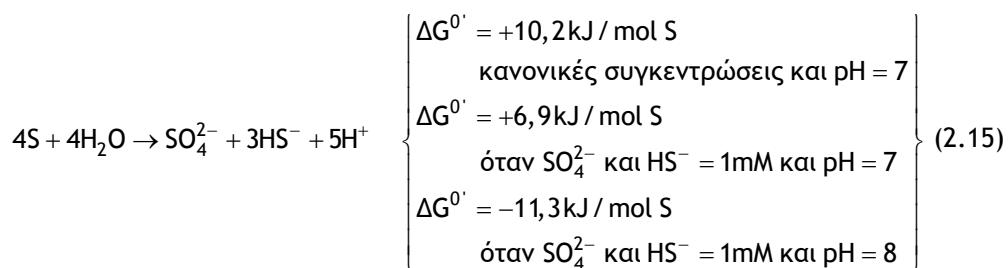
<sup>7</sup> Siroheme (Murphy *et al.*, 1974)



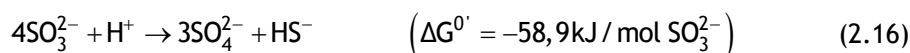
Σχήμα 2.3. Διαδικασία αναγωγής των θειικών στο εσωτερικό του κυττάρου με αποδέσμευση ενέργειας

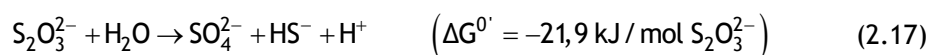
### 2.1.3. Αυτοοξειδοαναγωγή στοιχειακού θείου και οξειδωμένων μορφών του θείου

Η αυτοοξειδοαναγωγή (*disproportionation*) του στοιχειακού θείου προς θειικά και θειούχα δεν ευνοείται από θερμοδυναμικής άποψης (αντίδραση (2.15)) όταν οι συγκεντρώσεις των προϊόντων προσεγγίζουν τις κανονικές τιμές τους (Barton *et al.*, 2009; Rabus *et al.*, 2007). Ωστόσο, επειδή η ενεργότητα του αδιάλυτου, στοιχειακού θείου ισούται πάντα με 1, η ελεύθερη ενέργεια της αντίδρασης επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από τις συγκεντρώσεις των προϊόντων και το pH (Rabus *et al.*, 2007):



Η διαδικασία της αυτοοξειδοαναγωγής των θειωδών ή των θειοθειικών ιόντων (αντιδράσεις (2.16) και (2.17), αντίστοιχα) μπορεί να χαρακτηριστεί και ως ανόργανη ζύμωση (*inorganic fermentation*, (Barton *et al.*, 2009; Rabus *et al.*, 2007)) και αποτελεί σημαντικό τμήμα του κύκλου του θείου. Σε θαλάσσια ιζήματα της Δανίας (φιορδ Kysing), ως κύριο ενδιάμεσο προϊόν της αναερόβιας οξειδωσης των θειούχων, αναγνωρίστηκαν τα θειοθειικά, τα οποία, ταυτόχρονα, ανάγονταν προς θειούχα, οξειδώνονταν προς θειικά και αυτοοξειδοανέγονταν προς θειούχα και θειικά. Η διαδικασία αυτή εξελισσόταν με ταχύ ρυθμό καθώς δεν εντοπίστηκε σημαντικό υπόλειμμα θειοθειικών (Ehrlich, 2002).





Η αυτοοξειδοαναγωγή του στοιχειακού θείου όσο και των θειοθειικών εξελίσσεται μέσω του σχηματισμού θειωδών, όπου για τα μεν θειοθειικά ο μηχανισμός είναι ξεκάθαρος και καταλύεται από την αναγωγή των θειοθειικών ενώ, στην περίπτωση του στοιχειακού θείου, οι αντιδράσεις μετατροπής του σε θειώδη και θειούχα δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί (Canfield *et al.*, 2005). Ο περαιτέρω μετασχηματισμός των θειωδών προχωρά όπως κατά την οξείδωση των θειούχων από φωτότροφα βακτήρια (Canfield *et al.*, 2005).

## 2.2. Θειοαναγωγικά βακτήρια

### 2.2.1. Γενικά

Η μελέτη των μικροοργανισμών που συμμετέχουν στον κύκλο του θείου άρχισε στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, οπότε οι Meyer (1864) και Cohn (1867) αναγνώρισαν την παραγωγή σημαντικών συγκεντρώσεων υδρόθειου σε υδατικά συστήματα ως αποτέλεσμα της βιολογικά υποβοηθούμενης αναγωγής των θειικών ιόντων. Ερευνώντας τη μικροβιακή παραγωγή θειούχων, ο Beijerinck (1895) επέτυχε την απομόνωση του πρώτου θειοαναγωγικού βακτηρίου (*Spirillum desulfuricans*) που αναγνωρίστηκε ως αυστηρά αναερόβιο. Το διάστημα 1950-1960 αποκτήθηκαν οι πρώτες γνώσεις σχετικά με τη βιοχημεία των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Το πρώτο αναερόβιο βακτήριο όπου εντοπίστηκε κυτόχρωμα είναι το *Desulfovibrio*. Τη δεκαετία του 1960 έγιναν οι πρώτες προσπάθειες ταξινόμησης των υπαρχόντων στελεχών ενώ τη δεκαετία του 1970 προχώρησε σημαντικά ο χαρακτηρισμός διαφόρων φορέων ηλεκτρονίων, π.χ. η ανάλυση της κρυσταλλικής δομής του κυτοχρώματος  $c_3$  στο *Desulfovibrio*. Από το 1980 ξεκίνησε η σε βάθος διερεύνηση των ενζυματικών αντιδράσεων και της μεταφοράς ενέργειας σε ολόκληρες μεταβολικές οδούς των θειοαναγωγικών βακτηρίων καθώς και η μελέτη των λειτουργικών γονιδίων. Τέλος, η εισαγωγή των μοριακών μεθόδων, και ιδιαίτερα εκείνων που βασίζονται στις ακολουθίες 16S rRNA, στη μικροβιακή οικολογία αποδείχθηκε εξαιρετικά χρήσιμη για τη μελέτη των πληθυσμών θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus *et al.*, 2007).

Για πολλά χρόνια, η βιολογική αναγωγή των θειικών ιόντων ήταν μία παράπλευρη, και σε μεγάλο βαθμό, ανεπιθύμητη, διεργασία που λάμβανε χώρα στις εγκαταστάσεις αναερόβιας επεξεργασίας οργανικών αποβλήτων (Hulshoff Pol *et al.*, 1998), λόγω του παραγόμενου δύσοσμου<sup>8</sup> υδρόθειου και των δυσμενών επιπτώσεων του (Πίνακας 2.4) στην υγεία των ανθρώπων (Roth *et al.*, 1999; Syed *et al.*, 2006) καθώς και της συμβολής του στην επιτάχυνση της διάβρωσης χαλύβδινων σωληνώσεων και εξαρτημάτων (Coetser *et al.*, 2005; Gadd, 2010; Lewandowski *et al.*, 2011). Ενδεικτικό αυτού είναι ότι, τη δεκαετία 1970-1980, αντικείμενο της έρευνας ήταν η παρεμπόδιση ή η ελαχιστοποίηση της δράσης των θειοαναγωγικών βακτηρίων στις εγκαταστάσεις μεθανογένεσης. Από το 1990, όμως, η έρευνα άρχισε να εστιάζει στην

<sup>8</sup> Προκειμένου να μην υπάρχει όχληση στον εκτιθέμενο πληθυσμό λόγω δυσσομίας, η μέση συγκέντρωση (σε διάστημα 30 λεπτών) του υδρόθειου στον ατμοσφαιρικό αέρα δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 7  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (WHO, 2000).



τεχνολογική αξιοποίηση των μεταβολικών ιδιοτήτων των θειοαναγωγικών βακτηρίων και στην εφαρμογή τους για την επεξεργασία συγκεκριμένων τύπων υγρών αποβλήτων με στόχο την ασφαλή απόρριψη ή επαναχρησιμοποίησή τους καθώς και την ανάκτηση μεταλλικών αξιών.

*Πίνακας 2.4. Σχέση δόσης-απόκρισης για το υδρόθειο στον ατμοσφαιρικό αέρα (WHO, 2000)*

Συγκέντρωση H <sub>2</sub> S		Επιπτώσεις
mg/m <sup>3</sup>	ppm	
1.400-2.800	1.000-2.000	Άμεση κατάρρευση με αναπνευστική παράλυση
750-1.400	530-1.000	Έντονος ερεθισμός του κεντρικού νευρικού συστήματος, υπέρπνοια που ακολουθείται από αναπνευστική ανεπάρκεια
450-750	320-530	Πνευμονικό οίδημα, με κίνδυνο θανάτου
210-350	150-250	Απώλεια της αίσθησης της όσφρησης
70-140	50-100	Σοβαρή οφθαλμική βλάβη
15-30	10-20	Κατώφλι οφθαλμικού ερεθισμού

### **2.2.2. Οικολογικές και άλλες χαρακτηριστικές ιδιότητες των θειοαναγωγικών βακτηρίων**

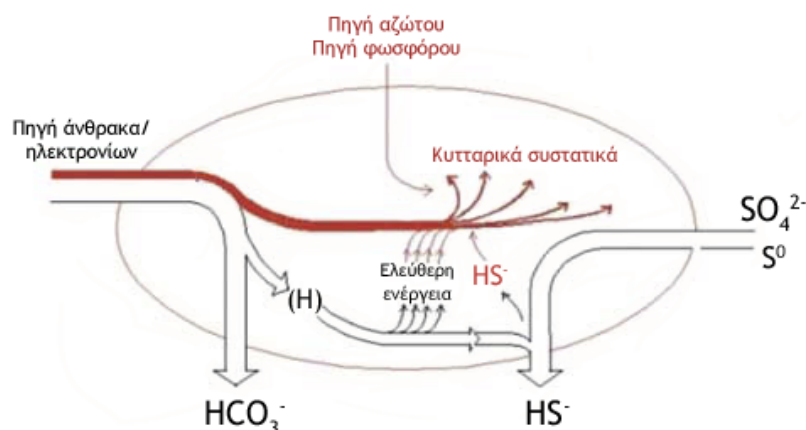
Συχνά, η παρουσία και η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων στα φυσικά συστήματα γίνεται αντιληπτή από τη χαρακτηριστική μυρωδιά του παραγόμενου υδρόθειου, τα μαύρα κατακρημνίσματα θειούχων ενώσεων του σιδήρου (όπου υπάρχει διαλελυμένος δισθενής σίδηρος) και τους λευκούς σχηματισμούς στοιχειακού θείου που δημιουργούνται κατά την επαφή του υδρόθειου με τον ατμοσφαιρικό αέρα και την επακόλουθη οξειδωσή του (Rabus *et al.*, 2007).

Τα θειοαναγωγικά βακτήρια είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα στην ιλύ των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων (Hao, 2003) ενώ απαντώνται σε ποικίλα φυσικά περιβάλλοντα (Πίνακας 2.5) και, κυρίως, σε ανοξικά περιβάλλοντα ή κοντά στη διεπιφάνεια οξικών/ανοξικών ζωνών σε θαλάσσια ιζήματα (Laanbroek *et al.*, 1981), όπου παίζουν σημαντικό ρόλο στους αναερόβιους μηχανισμούς αποικοδόμησης της οργανικής ύλης. Έχει υπολογιστεί ότι περισσότερο από το 50% της συνολικής αποικοδόμησης οργανικού άνθρακα στα θαλάσσια ιζήματα οφείλεται στη μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων, γεγονός που υποδεικνύει τη σημασία των θειοαναγωγικών βακτηρίων στον κύκλο του θείου και του άνθρακα (Muyzer *et al.*, 2008).

Πίνακας 2.5. Χαρακτηριστικά παραδείγματα περιβαλλόντων από όπου απομονώθηκαν διάφορα είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων

Περιβάλλον εντοπισμού	Θερμοκρασία	pH	Βιβλιογραφική αναφορά
Ανοξική ζώνη εδάφους ορυζώνα (Kou Valley, Μπουρκίνα Φάσο)	33 °C	7,00	(Ouattara <i>et al.</i> , 1999)
Ατμίδα ηφαιστείου (Hveragerði, Ισλανδία)	0 °C	5,00	(Alexandrino <i>et al.</i> , 2011)
Λίμνη όπου εκβάλει ποταμός που προέρχεται από ηφαιστειο (Caviahue, Αργεντινή)	4,5 °C	2,60	(Koschorreck <i>et al.</i> , 2003)
Συγκρότημα μεταλλευτικών και μεταλλουργικών εγκαταστάσεων Ni-Pd-Pt-Cu-Co (Norilsk, Β. Σιβηρία)	2-18,8 °C	5,59-9,28	(Karnachuk <i>et al.</i> , 2005)
Υπεράλμυρες λίμνες (Kulunda, ΝΑ Σιβηρία)		9,15-10,65	(Foti <i>et al.</i> , 2007)
Υπόγεια νερά σε χώρο απόθεσης απορριμμάτων εμπλουτισμού U (Shirrock, Νέο Μεξικό)	8,4-30 °C	6,53-8,00	(Chang <i>et al.</i> , 2001)
Υπόγειο μεταλλείο Cu-Pb-Zn (Toyoha, Ιαπωνία)	48-73 °C	6,30-7,00	(Nakagawa <i>et al.</i> , 2002)
Χώρος όξινης απορροής μεταλλείων (Βραζιλία)	35 °C	2,40	(Rampinelli <i>et al.</i> , 2008)

Τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Πίνακας 2.7) αποτελούν μία ποικιλόμορφη, από φυσιολογικής και φυλογενετικής άποψης (Castro *et al.*, 2000), ομάδα βακτηρίων που χαρακτηρίζονται από τη δυνατότητά τους να χρησιμοποιούν διάφορους δότες (ενότητα 2.2.3) και δέκτες (ενότητα 2.2.4) ηλεκτρονίων κατά τη μεταβολική διαδικασία, συμμετέχοντας έτσι στους βιογεωχημικούς κύκλους άλλων στοιχείων. Γενικά, τα θειοαναγωγικά βακτήρια λαμβάνουν την ενέργεια που απαιτείται για κυτταρική σύνθεση και ανάπτυξη συνδυάζοντας την οξειδωση απλών οργανικών ενώσεων ή μοριακού υδρογόνου με την αναγωγή θειικών ιόντων προς θειούχα (Σχήμα 2.4, (Rabus *et al.*, 2007)).



Σχήμα 2.4. Μεταβολική διαδικασία θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus *et al.*, 2007)  
Ο ενεργειακός μετασχηματισμός παρουσιάζεται με μαύρο χρώμα και η κυτταρική σύνθεση με κόκκινο χρώμα.

Το μεγαλύτερο μέρος της πηγής ηλεκτρονίων που καταναλώνεται κατά τη μεταβολική διαδικασία των θειοαναγωγικών βακτηρίων οξειδώνεται κατά τον ενεργειακό μετασχηματισμό όπως αποδεικνύεται από τις σχετικά χαμηλές αποδόσεις κυτταρικής ανάπτυξης (Πίνακας 2.6). Το ποσοστό της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων που αφομοιώνεται στην παραγωγή κυτταρικού υλικού βρέθηκε περίπου 9% (οξικό) και 11% (γαλακτικό, Βενζοϊκό) (Rabus *et al.*, 2007).

Πίνακας 2.6. Παραδείγματα κυτταρικής ανάπτυξης κατά τη μικροβιακή αναγωγή θειικών ιόντων με αποδέσμευση ενέργειας

Είδος	Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων	Y <sub>θειικά</sub> (g / mol SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	Υδρογόνο (με οξικό και CO <sub>2</sub> ως πηγή άνθρακα)	8,3
<i>Desulfobacter postgatei</i>	Οξικό	4,8
<i>Desulfovibrio inopinatus</i>	Γαλακτικό (ατελής οξειδωση)	17,8
<i>Desulfococcus multivorans</i>	Βενζοϊκό (τέλεια οξειδωση)	6,2

\* Η απόδοση Y δίνεται σε γραμμάρια ξηρής μάζας κυττάρων που παράγονται ανά mol θειικών που ανάγονται

### 2.2.3. Δότες ηλεκτρονίων: μεταβολισμός και διατήρηση της ενέργειας

Από τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν τα τελευταία 40 χρόνια προκύπτει η τεράστια ποικιλία υποστρωμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Πριν το 1975, υπήρχε η αντίληψη ότι μόνο ένας μικρός αριθμός ενώσεων μικρού μοριακού βάρους (που σχηματίζονται ως ενδιάμεσα προϊόντα του μεταβολισμού) μπορούσαν να λειτουργήσουν ως πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων για τα θειοαναγωγικά βακτήρια: υδρογόνο, μυρμηκικό ιόν, γαλακτικό ιόν, πυροσταφυλικό ιόν, δικαρβοξυλικά οξέα (όπως το μηλικό και το φουμαρικό) και ορισμένες πρωτοταγείς αλκοόλες.

Παρόλο που τα θειοαναγωγικά βακτήρια δεν φαίνεται να έχουν ικανότητα υδρόλυσης πολυμερικών ουσιών, πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι στο φάσμα των υποστρωμάτων που μπορούν να μεταβολίσουν περιλαμβάνονται αντιπροσωπευτικές ενώσεις από όλες σχεδόν τις κατηγορίες μονομερικών ουσιών (Πίνακας 2.8). Όπως προκύπτει, οι οργανικές ενώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δότες ηλεκτρονίων στο μεταβολισμό των θειοαναγωγικών βακτηρίων (και, συχνά, ταυτόχρονα ως πηγές άνθρακα για την κυτταρική σύνθεση) είναι περισσότερες από 100, όπως υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, μονοκαρβοξυλικά οξέα, δικαρβοξυλικά οξέα, αμινοξέα, σάκχαρα και αρωματικές ενώσεις (Barton *et al.*, 2002).

Πίνακας 2.7. Μορφολογικές και φυσιολογικές ιδιότητες θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus et al., 2007)

Γένος	Μορφολογία	Βέλτιστη θερμοκρασία (°C)	Δέκτες ηλεκτρονίων για ανάπτυξη (εκτός των $\text{SO}_4^{2-}$ )	Οξειδωση οργανικών δοτών ηλεκτρονίων	Υδρογόνο	Οξικό	Δότες ηλεκτρονίων						
							Προπιονικό	Άλλα λιπαρά οξέα	Αιθανόλη	Γαλακτικό	Ηλεκτρικό, Φουμαρικό, Μηλικό	Φρουκτόζη, Γλυκόζη	
<i>Desulfacinum</i>	Ωοειδή	60	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	Δ.Α.	+	+	+	+	+	+	+	-	
<i>Desulfoarculus</i>	Δονάκια	35-39	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	T (μονοξειδίο)	-	(+)	(+)	+	-	-	-	-	
<i>Desulfobacca</i>	Ωοειδή	37	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	T	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Desulfobacter</i>	Ωοειδή ή δονάκια	28-32	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	T (κιτρικό)	±	+	-	-	±	-	-	-	
<i>Desulfobacterium</i>	Ωοειδή	20-35	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	T (μονοξειδίο)	±	(+)	(±)	±	±	±	±	-	
<i>Desulfobacula</i>	Ραβδία	28	Δ.Α.	T	-	+	-	-	+	-	+	Δ.Α.	
<i>Desulfobotulus</i>	Δονάκια	34	$\text{SO}_3^{2-}$	A	-	-	-	+	-	+	-	-	
<i>Desulfobulbus</i>	Ωοειδή	28-39	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , $\text{NO}_3^-$	A	+	-	+	-	+	+	-	-	
<i>Desulfocapsa</i>	Ραβδία	20-30	—	A	-	-	-	Δ.Α.	+	-	-	-	
<i>Desulfocella</i>	Δονάκια	34	—	A	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Desulfococcus</i>	Σφαιροειδή	28-36	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	T (μονοξειδίο)	-	(+)	+	+	+	+	-	-	
<i>Desulfofaba</i>	Ραβδία	7	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	A	-	-	+	-	+	+	+	-	
<i>Desulfofrigus</i>	Ραβδία	10	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , κιτρικός Fe(III)	T	±	+	-	+	+	+	+	-	
<i>Desulfofustis</i>	Ραβδία	28	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}^0$	A	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Desulfohalobium</i>	Ραβδία	37-40	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , $\text{S}^0$	A	+	-	-	Δ.Α.	+	+	-	-	
<i>Desulfomicrobium</i>	Ωοειδή ή ραβδία	28-37	$\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	A	+	-	-	-	±	+	+	-	
<i>Desulfomonile</i>	Ραβδία	37	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , 3-χλωροβενζοϊκό	T	+	-	Δ.Α.	Δ.Α.	-	-	-	-	

<i>Desulfonatronovibrio</i>	Δονάκια	37	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Δ.Α.	+	-	-	Δ.Α.	-	-	-	-
<i>Desulfonatronum</i>	Δονάκια	37-40	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	A	+	-	-	Δ.Α.	+	-	-	-
<i>Desulfonema</i>	Πολυκυτταρικά νημάτια	30-32	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	T	±	(+)	+	+	-	±	+	-
<i>Desulforhabdus</i>	Ραβδία	37	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	T	+	+	+	Δ.Α.	+	+	-	-
<i>Desulforhopalus</i>	Ωοειδή	18-19	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	A	+	-	+	Δ.Α.	+	+	-	-
<i>Desulfosarcina</i>	Ωοειδή	33	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	T (μονοξειδίο)	+	(+)	+	+	+	+	±	-
<i>Desulfospira</i>	Καμπύλα ραβδία	26-30	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sup>0</sup>	T	+	-	-	+	-	+	+	-
<i>Desulfosporosinus</i>	Ευθεία ή καμπύλα ραβδία, σχηματίζει σπορία	30-37	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	A	+	-	-	Δ.Α.	+	+	Δ.Α.	-
<i>Desulfotalea</i>	Ραβδία	10	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , κιτρικός Fe(III)	A	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Desulfotomaculum</i>	Ευθεία ή καμπύλα ραβδία, σχηματίζει σπορία	30-38 50-65	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , φουμαρικό	A ή T (μονοξειδίο)	±	±	±	±	+	±	±	±
<i>Desulfovibrio</i>	Δονάκια	30-38	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , φουμαρικό	A	+	-	-	-	+	+	±	±
<i>Desulfuromusa</i>	Ραβδία	30	S <sup>0</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , φουμαρικό, διμεθυλοσουλφοξειδίο (DMSO), κιτρικός Fe(III)	T	Δ.Α.	+	+	±	-	+	+	-
<i>Thermodesulfobacterium</i>	Ραβδία	65-70	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	A	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Thermodesulforhabdus</i>	Ραβδία	60	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	T	-	+	-	+	+	+	+	Δ.Α.
<i>Thermodesulfovibrio</i>	Δονάκια	65	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	A	+	-	-	-	-	+	-	-

**Σύμβολα:** A: ατελής οξειδωση προς οξικό ως τελικό προϊόν / T: τέλεια οξειδωση προς CO<sub>2</sub> μέσω άγνωστου μηχανισμού / T (κιτρικό): τέλεια οξειδωση προς CO<sub>2</sub> μέσω του κύκλου του κιτρικού οξέος / T (μονοξειδίο): τέλεια οξειδωση προς CO<sub>2</sub> μέσω της αφυδρογονάσης μονοξειδίου του άνθρακα / +: μεταβολίζεται / (+): μεταβολίζεται αλλά όχι ικανοποιητικά / ±: μεταβολίζεται ή δεν μεταβολίζεται / (±): δεν μεταβολίζεται ικανοποιητικά ή καθόλου / -: δεν μεταβολίζεται / Δ.Α.: δεν αναφέρεται.

Πίνακας 2.8. Πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων για τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Colleran et al., 1995)

Κατηγορία ενώσεων	Επιμέρους ενώσεις
Μονοκαρβοξυλικά οξέα	Μυρμηκικό, οξικό, προπιονικό, βουτυρικό, πυροσταφυλικό, γαλακτικό, λιπαρά οξέα έως C <sub>20</sub>
Δικαρβοξυλικά οξέα	Ηλεκτρικό, φουμαρικό, μηλικό, οξαλικό, γλουταρικό
Αλκοόλες	Μεθανόλη, αιθανόλη, προπανάλη, βουτανόλη, ισοβουτανόλη, γλυκερόλη
Αμινοξέα	Γλυκίνη, σερίνη, αλανίνη, κυστεΐνη, κυστίνη, θρεονίνη, βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη, ασπαρτικό, γλουταμικό, φαινυλαλανίνη
Σάκχαρα	Φρουκτόζη, γλυκόζη
Αρωματικές ενώσεις	> 35 γνωστές αρωματικές ενώσεις (π.χ. φαινόλη)
Ανόργανες ενώσεις	Υδρογόνο, διοξείδιο του άνθρακα

Οι δότες ηλεκτρονίων καθορίζουν τις βιοενεργητικές διεργασίες όπου συμμετέχουν τα θειοαναγωγικά βακτήρια και πολλοί από αυτούς προκύπτουν ως προϊόντα ζύμωσης κατά τη βιοαποικοδόμηση της βιομάζας, γεγονός που αντανάκλα τη σημασία των θειοαναγωγικών βακτηρίων ως τελικών βιοαποικοδομητών σε ανοξικά περιβάλλοντα, πλούσια σε θειικά ιόντα, όπως τα θαλάσσια ιζήματα (Rabus et al., 2007).

Απουσία θειικών ιόντων ή άλλου ανόργανου δέκτη ηλεκτρονίων, πολλά είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων έχουν δυνατότητα ανάπτυξης με γαλακτικό, αιθανόλη και πυροσταφυλικό, μέσω αντιδράσεων ζύμωσης ή οξεικογένεσης. Έτσι, αναφέρεται η ανάπτυξη ειδών του γένους *Desulfobulbus* μετά από ζύμωση του γαλακτικού ή της αιθανόλης με CO<sub>2</sub> και σχηματισμό προπιονικού και οξικού (Rabus et al., 2007) ενώ κατά τη ζύμωση του γαλακτικού και του πυροσταφυλικού από το *Desulfonibrio desulfuricans* παράγεται οξικό, CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub> (Pankhania et al., 1988; Rabus et al., 2007). Ενδιαφέρουσα είναι, επίσης, η ικανότητα βακτηρίων *Desulfonibrio*, μαζί με υδρογονότροφα μεθανογόνα βακτήρια, να οξειδώνουν το γαλακτικό και την αιθανόλη προς οξικό και υδρογόνο όταν η συγκέντρωση των θειικών ιόντων του διαλύματος είναι πολύ χαμηλή (Bryant et al., 1977; Zellner et al., 1994). Ωστόσο, παρουσία θειικών ιόντων, αυτοί οι δότες ηλεκτρονίων οξειδώνονται κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος (Lens, 2009).

Γενικά, σε σύγκριση με το μηχανισμό της ζύμωσης, ο καταβολισμός οργανικών δοτών ηλεκτρονίων σε συνδυασμό με την αναγωγή ενός εξωτερικού δέκτη ηλεκτρονίων προσφέρει δύο πλεονεκτήματα (Rabus et al., 2007):

- Σε σχέση με τη ζύμωση, όπου μέρος του οργανικού υποστρώματος χρησιμοποιείται για την κατανάλωση της περίσσειας αναγωγικών ισοδυνάμων (π.χ. αναγέννηση NADP<sup>+</sup>), η

φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος<sup>9</sup> έχει μεγαλύτερη απόδοση παρουσία εξωτερικού δέκτη ηλεκτρονίων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό περισσότερων μορίων ATP.

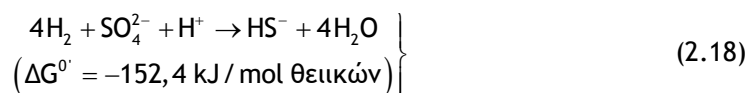
- Η αναγωγή εξωτερικού δέκτη ηλεκτρονίων μπορεί να συσχετισθεί με ένα μηχανισμό μεταφοράς ηλεκτρονίων που επιτρέπει τη διαβάθμιση στη συγκέντρωση πρωτονίων εκατέρωθεν της μεμβράνης και τη χημειωσμητική σύνθεση ATP. Στην περίπτωση των θειοαναγωγικών βακτηρίων, έχουν μελετηθεί λεπτομερώς διάφορα ένζυμα που καταλύουν τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις καθώς και πρωτεΐνες με δυνατότητα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Ωστόσο, δεν υπάρχει μηχανισμός μεταφοράς ηλεκτρονίων που να ισχύει για όλα τα είδη των θειοαναγωγικών βακτηρίων.

Στις παραγράφους που ακολουθούν, περιγράφεται η αξιοποίηση διαφόρων δοτών ηλεκτρονίων για την αναγωγή θειικών ιόντων από άποψη φυσιολογίας, ενζύμων και ενέργειας.

### Υδρογόνο

Το μοριακό υδρογόνο (H<sub>2</sub>) είναι (εκτός του οξικού) βασικό ενδιάμεσο προϊόν που προκύπτει κατά τη φυσική αποικοδόμηση των οργανικών υποστρωμάτων σε ιζήματα, δεξαμενές κώνευσης ιλύος και άλλα ανοξικά οικοσυστήματα. Επίσης, το γεγονός ότι πολλά είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων χρησιμοποιούν το υδρογόνο ως μοναδικό δότη ηλεκτρονίων (Πίνακας 2.7) υπογραμμίζει την οικολογική σημασία του ελαφρύτερου των μορίων.

Από ενεργειακής άποψης, σε κανονική πίεση, ευνοείται η λειτουργία του υδρογόνου (2H<sup>+</sup>/H<sub>2</sub>, E<sup>0'</sup> = -0,414 V) ως δότη ηλεκτρονίων (αντίδραση (2.18)). Παρουσία θειικών ιόντων και H<sub>2</sub>, τα θειοαναγωγικά βακτήρια αναπτύσσονται, δημιουργώντας νέο κυτταρικό υλικό, με οξικά ιόντα και διοξείδιο του άνθρακα (χημειολιθοετερότροφα είδη) ή μόνο διοξείδιο του άνθρακα (αυτότροφα είδη) ως πηγή άνθρακα.



Η αντιστρεπτή διάσπαση του μοριακού υδρογόνου και η οξειδωση του σχηματιζόμενου ιόντος υδριδίου (H<sup>-</sup>) (αντίδραση (2.19)) καταλύεται από ειδικό ένζυμο (υδρογενάση<sup>10</sup>). Ο κύριος δέκτης των παραγόμενων ηλεκτρονίων είναι το περιπλασμικό κυτόχρωμα c<sub>3</sub> που περιλαμβάνει πολλές ομάδες αίμης. Η ενζυμική δράση της υδρογενάσης έχει αποδειχθεί σε είδη *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfosarcina*, *Desulfotomaculum* και *Thermodesulfobacterium*, επιβεβαιώνοντας έτσι τη δυνατότητα πολλών γνωστών ειδών θειοαναγωγικών βακτηρίων να αναπτύσσονται με υδρογόνο (Rabus *et al.*, 2007).

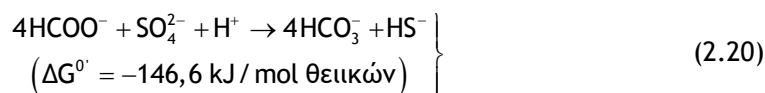
<sup>9</sup> Φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος (*substrate-level phosphorylation*): σύνθεση φωσφορικών δεσμών υψηλής ενέργειας με την ενσωμάτωση ανόργανων φωσφορικών ριζών σε ένα ενεργοποιημένο οργανικό υπόστρωμα. (Πηγή: «Brock: Βιολογία των μικροοργανισμών», μετάφραση του (Madigan *et al.*, 2003) στην Ελληνική γλώσσα, Επιμέλεια: Τ. Οικονόμου, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης 2005.)

<sup>10</sup> Στα είδη *Desulfovibrio*, διακρίνονται τρεις τύποι υδρογενάσης με βάση τη σύσταση: [Fe], [NiFe] και [NiFeSe]. Και οι τρεις τύποι έχουν ετεροδιμερείς δομές αβ και βρίσκονται κυρίως στο περίπλασμα. Ωστόσο, υπάρχουν σημαντικές διαφορές όσο αφορά τη μοριακή δομή, την ικανότητα δέσμευσης υδρογόνου καθώς και την ευαισθησία σε CO, NO, NO<sub>2</sub> και ασετυλίνη. Οι τρεις τύποι ενζύμων δεν κατανομούνται ομοιόμορφα σε όλα τα είδη *Desulfovibrio* (Rabus *et al.*, 2007).



### Μυρμηκικό ιόν

Το μυρμηκικό ιόν ( $\text{HCOO}^-$ ), το οποίο είναι προϊόν ζύμωσης σε πολλά αναερόβια βακτήρια, μπορεί (από ενεργειακής άποψης) να θεωρηθεί εναλλακτικός δότης ηλεκτρονίων (αντίδραση (2.20)), ισοδύναμος του υδρογόνου, καθώς το δυναμικό οξειδοαναγωγής του ζεύγους  $\text{HCO}_3^- / \text{HCOO}^-$  ( $E^{0'} = -0,420 \text{ V}$ ) είναι παραπλήσιο του ζεύγους  $2\text{H}^+ / \text{H}_2$ .



Ωστόσο, αυτό δεν μπορεί να θεωρηθεί γενικός κανόνας καθώς υπάρχουν είδη που δεν μπορούν να μεταβολίσουν το μυρμηκικό ενώ λειτουργούν με υδρογόνο ως δότη ηλεκτρονίων (π.χ. *Desulfobulbus propionicus*) και άλλα που χρησιμοποιούν το μυρμηκικό αλλά όχι το υδρογόνο (π.χ. *Desulfovibrio baarsii*) (Colleran *et al.*, 1995).

Η δυνατότητα ανάπτυξης με μυρμηκικό έχει παρατηρηθεί στα περισσότερα γένη θειοαναγωγικών βακτηρίων. Η μυρμηκική αφυδρογονάση<sup>11</sup> (FDH) βρέθηκε σε είδη *Desulfovibrio* καθώς και σε είδη που οξειδώνουν πλήρως την πηγή άνθρακα, εκτός των *Desulfobacter*. Στα *Desulfovibrio*, η μυρμηκική αφυδρογονάση είναι περιπλασμική πρωτεΐνη που στο *Desulfovibrio gigas* χρησιμοποιεί το κυτόχρωμα  $c_3$  ως δέκτη ηλεκτρονίων. Τα θειοαναγωγικά βακτήρια που οξειδώνουν πλήρως την πηγή άνθρακα ακολουθούν την οδό της αφυδρογονάσης  $\text{C}_1/\text{CO}$  για την οξείδωση του ακετυλο- $\text{CoA}$ , περιέχουν πάντα μυρμηκική αφυδρογονάση και αναπτύσσονται συχνά με μυρμηκικό. Ωστόσο, παρά την υψηλή δραστηριότητα της μυρμηκικής αφυδρογονάσης, η ανάπτυξη του *Desulfotomaculum acetoxidans* με μυρμηκικό είναι μικρή και επιτυγχάνεται δύσκολα λόγω της έλλειψης κατάλληλου μηχανισμού μεταφοράς. Το μυρμηκικό οξύ είναι λιγότερο λιπόφιλο και έχει χαμηλότερη τιμή  $\text{pK}_a$  από το οξικό οξύ (3,75 αντί 4,76, Πίνακας 2.10), με αποτέλεσμα να μην μπορεί πιθανώς να διεισδύσει στο κύτταρο μέσω της μεμβράνης (Rabus *et al.*, 2007).

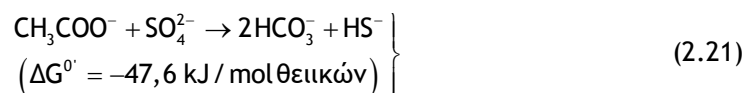
<sup>11</sup> Στο *Desulfovibrio gigas*, βρέθηκε μυρμηκική αφυδρογονάση που περιέχει βολφράμιο. Η πρωτεΐνη αυτή βρέθηκε να έχει ετεροδιμερή δομή και να περιέχει περίπου επτά Fe ανά μόριο, πιθανότατα σε δύο συμπλέγματα  $[4\text{Fe-4S}]$ , με το βολφράμιο να βρίσκεται συνδεδεμένο σε ένα συμπράγοντα μολυβδαινίου. Επίσης, η μυρμηκική αφυδρογονάση βρέθηκε να περιέχει μολυβδαινίο, κέντρα σιδήρου-θείου και αίμης στο *Desulfovibrio desulfuricans* (Rabus *et al.*, 2007).



### Οξικό ιόν

Η οξειδωση των οργανικών υποστρωμάτων στα θειοαναγωγικά βακτήρια μπορεί να είναι τέλεια, όπου το τελικό προϊόν είναι διοξείδιο του άνθρακα, ή ατελής, όπου το τελικό προϊόν είναι το οξικό ιόν ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) λόγω απουσίας μηχανισμού οξειδωσης του ακετυλο-CoA. Η τέλεια οξειδωση των οργανικών υποστρωμάτων από θειοαναγωγικά βακτήρια που δεν έχουν δυνατότητα οξειδωσης του οξικού ιόντος είναι δυνατή μόνο στην περίπτωση οργανικών ενώσεων με ένα άτομο άνθρακα ( $\text{C}_1$ ), όπως το μυρμηκικό ή η μεθανόλη, ή ενώσεων με δύο άτομα άνθρακα ( $\text{C}_2$ ) που βρίσκονται σε υψηλότερη οξειδωτική κατάσταση από το οξικό, όπως το γλυκολικό ή το οξαλικό ιόν (Rabus *et al.*, 2007).

Η δυνατότητα τέλει οξειδωσης διαφόρων οργανικών υποστρωμάτων, δηλαδή η ύπαρξη μηχανισμού οξειδωσης του ακετυλο-CoA, συνεπάγεται συνήθως την ικανότητα αξιοποίησης του ελεύθερου οξικού ως υποστρώματος ανάπτυξης (αντίδραση (2.21)). Για παράδειγμα, τα είδη του γένους *Desulfobacter* χρησιμοποιούν το οξικό κατά προτίμηση ή, ακόμα και, αποκλειστικά.

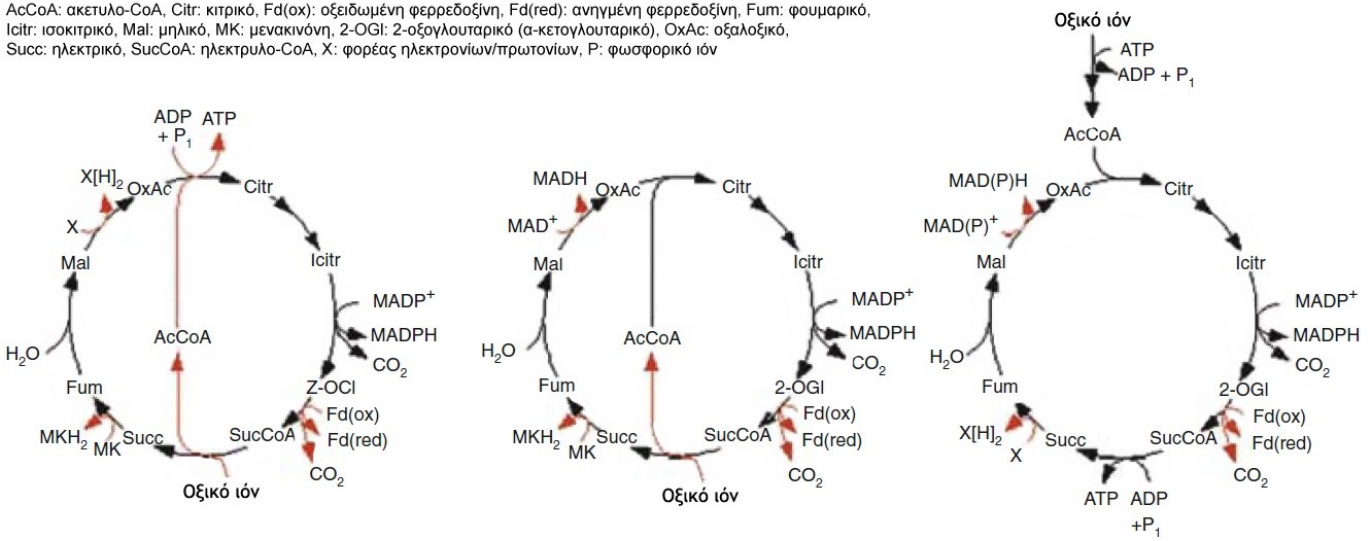


Στο *Desulfobacter postgatei*, όπου βρέθηκαν όλα τα ένζυμα του κύκλου του κιτρικού οξέος (Brandis-Heep *et al.*, 1983), η οξειδωση του οξικού ιόντος πραγματοποιείται μέσω ενός τροποποιημένου κύκλου του κιτρικού οξέος (Εικόνα 2.1) όπου το οξικό ιόν ενεργοποιείται από το ηλεκτρυλο-CoA και επιτρέπεται ο σχηματισμός ATP μέσω φωσφορυλίωσης σε επίπεδο υποστρώματος. Ωστόσο, στο είδος *Desulfotomaculum acetooxidans* δεν υπάρχει κύκλος του κιτρικού οξέος, όπως φαίνεται από την απουσία βασικών ενζύμων: της α-κετογλουταρικής αφυδρογονάσης και της κιτρικής συνθάσης (Gibson, 1990). Μαζί με το είδος *Desulfonivibrio baarsi*, το *Desulfobacterium autotrophicum* και είδη του γένους *Desulfococcus*, ακολουθούν μια μη κυκλική οδό όπου το μόριο με δύο άτομα άνθρακα διασπάται σε μονοξείδιο του άνθρακα και μια μεθυλική ένωση, καθένα από τα οποία οξειδώνεται ανεξάρτητα προς  $\text{CO}_2$  (Εικόνα 2.2), ακολουθώντας αντίστροφα την οδό οξικογένεσης (Colleran *et al.*, 1995; Rabus *et al.*, 2007).

Για την ενεργοποίηση του οξικού ιόντος στο είδος *Desulfotomaculum acetooxidans* απαιτείται κατανάλωση ATP (αντίθετα με το είδος *Desulfobacter postgatei*) και η μη κυκλική οδός δεν επιτρέπει φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος. Έτσι, εξηγείται και ο χαμηλότερος ρυθμός ανάπτυξης του *Desulfotomaculum acetooxidans* (χρόνος διπλασιασμού: 30 ώρες) σε σχέση με το *Desulfobacter postgatei* (χρόνος διπλασιασμού: 20 ώρες) όταν χρησιμοποιείται οξικό ιόν ως δότης ηλεκτρονίων (Colleran *et al.*, 1995; Rabus *et al.*, 2007).

**Συνοπτεύσεις:**

AcCoA: ακετυλο-CoA, Citr: κιτρικό, Fd(ox): οξειδωμένη φερρεδοξίνη, Fd(red): αναγμένη φερρεδοξίνη, Fum: φουμαρικό, Icitr: ισοκιτρικό, Mal: μηλικό, MK: μενακινόνη, 2-OGl: 2-οξογλουταρικό (α-κετογλουταρικό), OxAc: οξαλοξικό, Succ: ηλεκτρικό, SucCoA: ηλεκτρυλο-CoA, X: φορέας ηλεκτρονίων/πρωτονίων, P: φωσφορικό ιόν

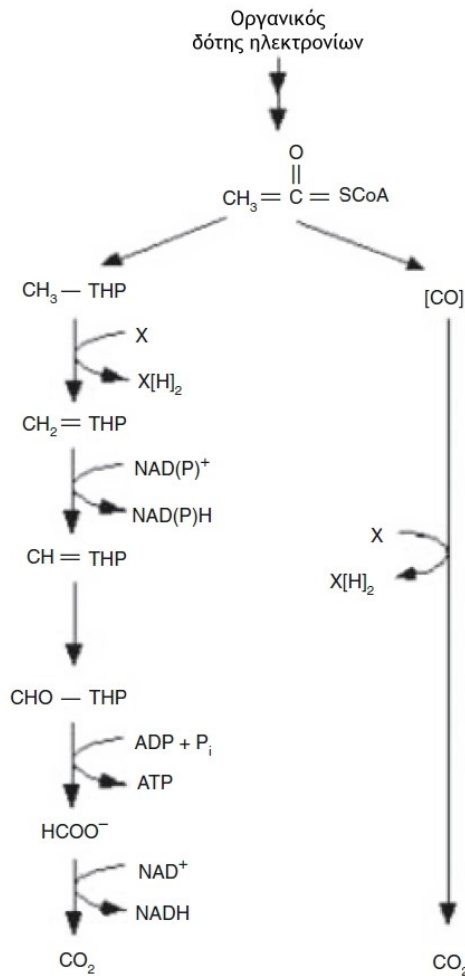


*Desulfobacter postgatei*

*Desulfuromonas acetoxidans*

*Desulforella acetivorans*

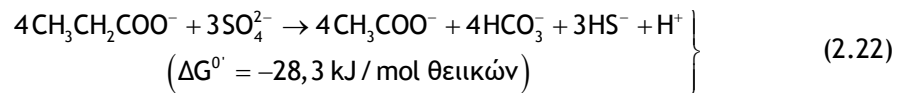
**Εικόνα 2.1. Τροποποιημένος κύκλος του κιτρικού οξέος για την αναερόβια οξείδωση του οξικού ιόντος σε τρία είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων (Rabus et al., 2007)**



**Εικόνα 2.2. Οξείδωση του ακετυλο-CoA μέσω της οδού της αφυδρογονάσης C<sub>1</sub>/CO στο *Desulfotomaculum acetooxidans* (Colleran et al., 1995; Rabus et al., 2007)**

### Προπιονικό, Βουτυρικό και άλλα λιπαρά οξέα

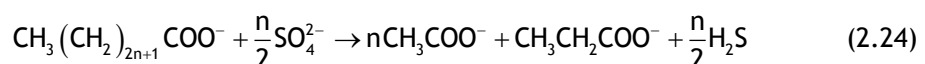
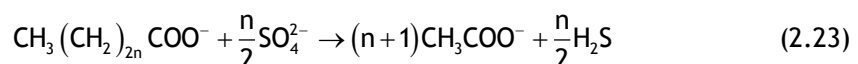
Μετά το οξικό, το προπιονικό ιόν ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$ ) είναι ίσως το σημαντικότερο προϊόν ζύμωσης σε πολλά φυσικά οικοσυστήματα ενώ αποτελεί, επίσης, βασικό ενδιάμεσο προϊόν στις αναερόβιες δεξαμενές κώνευσης (Colleran *et al.*, 1995; Gibson, 1990). Το προπιονικό ιόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων κατά το μεταβολισμό θειοαναγωγικών βακτηρίων (αντίδραση (2.22)) με δυνατότητα τέλειας (π.χ. *Desulfococcus*) ή ατελούς (π.χ. *Desulfobulbus*) οξειδωσης του οργανικού υποστρώματος (Colleran *et al.*, 1995; Rabus *et al.*, 2007).

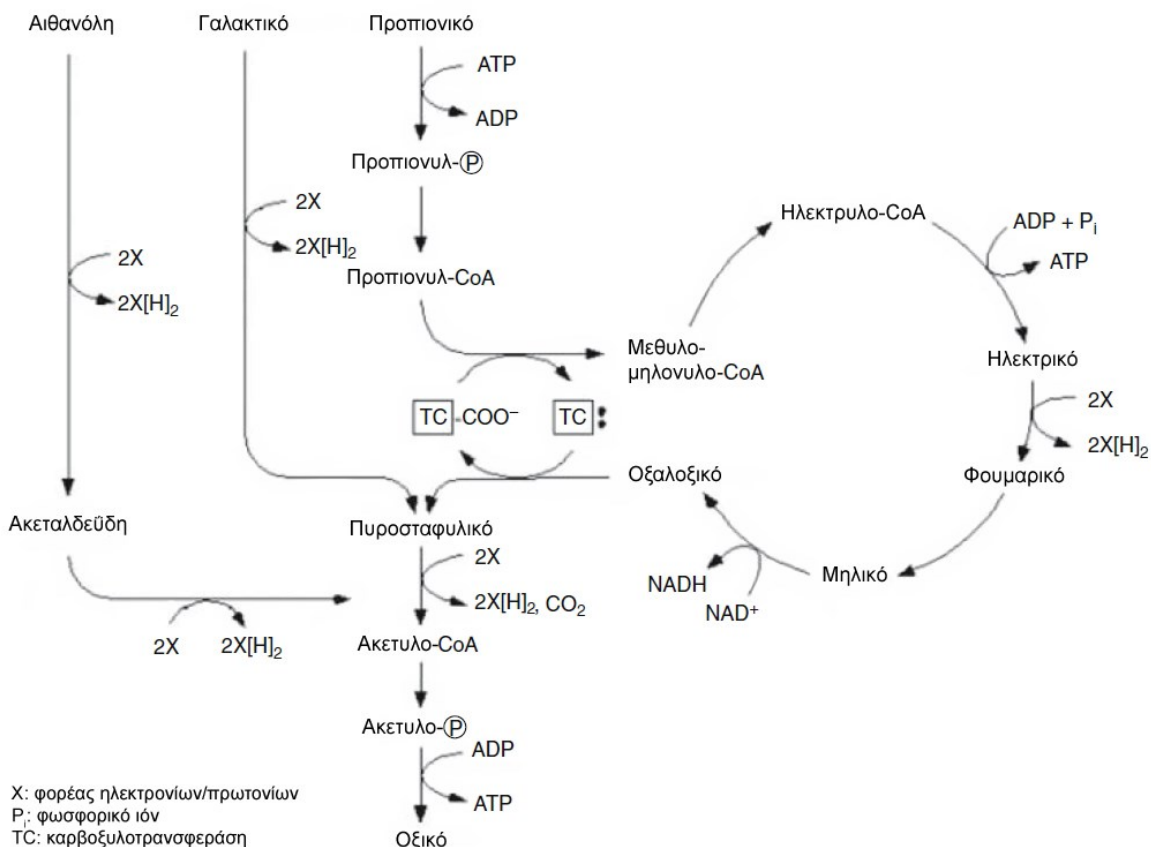


Στο *Desulfobulbus propionicus*, η οξειδωση του προπιονικού ιόντος προχωρά μέσω της καρβοξυλίωσης του προπιονυλ-CoA και του σχηματισμού ηλεκτρικού και πυροσταφυλικού ιόντος και καταλήγει στο σχηματισμό οξικού ιόντος (Εικόνα 2.3). Στο *Desulfococcus multivorans*, η οξειδωση του προπιονικού ιόντος προχωρά μέχρι το σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα καθώς σχηματίζεται πυροσταφυλικό ιόν (ξανά μέσω της οδού του ηλεκτρικού ιόντος) το οποίο οξειδώνεται σε  $\text{CO}_2$  μέσω της οδού της αφυδρογονάσης  $\text{C}_1/\text{CO}$  (Rabus *et al.*, 2007).

Γι' αυτό, αν συγκριθεί η κυτταρική απόδοση των δύο ειδών με προπιονικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, βρίσκεται σχεδόν διπλάσια στην περίπτωση του *Desulfococcus* (περίπου 10 g/mol προπιονικού έναντι 4 g/mol προπιονικού για το *Desulfobulbus*) ως προς τη συγκέντρωση του προπιονικού ιόντος, αλλά σχεδόν ίση (περίπου 5,7 g/mol θειικών για το *Desulfococcus* έναντι 5,3 g/mol θειικών για το *Desulfobulbus*) ως προς τη συγκέντρωση των θειικών ιόντων (Rabus *et al.*, 2007).

Το βουτυρικό ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ ) και τα λιπαρά οξέα με μεγαλύτερη ανθρακική αλυσίδα μεταβολίζονται από πολλά είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων με δυνατότητα τέλειας ή ατελούς οξειδωσης του οργανικού υποστρώματος. Τα θειοαναγωγικά βακτήρια (π.χ. *Desulfosarcina*, *Desulfonema*, *Desulfobacterium*) που μπορούν να οξειδώσουν πλήρως το οργανικό υπόστρωμα, παράγοντας μόνο διοξείδιο του άνθρακα, μπορούν να μεταβολίσουν λιπαρά οξέα με 10-16 άτομα άνθρακα. Κατά την ατελή οξειδωση λιπαρών οξέων με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα, σχηματίζεται μόνο οξικό ιόν (αντίδραση (2.23)) ενώ, κατά την ατελή οξειδωση λιπαρών οξέων με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα, σχηματίζεται οξικό και προπιονικό ιόν (αντίδραση (2.24)). Και στις δύο περιπτώσεις, τέλειας και ατελούς οξειδωσης, ακολουθείται η οδός της οξειδωσης β για τη διάσπαση των λιπαρών οξέων (Colleran *et al.*, 1995; Rabus *et al.*, 2007).



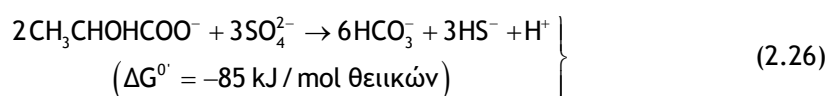
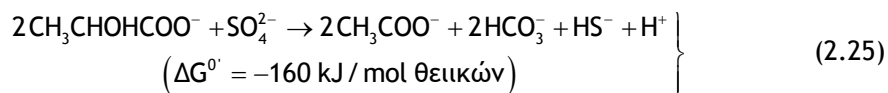


Εικόνα 2.3. Οξείδωση αιθανόλης, γαλακτικού και προπιονικού προς οξικό ιόν στο *Desulfobulbus propionicus* (Rabus et al., 2007)

### Γαλακτικό ιόν

Το γαλακτικό ιόν ( $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ ), το «κλασικό» υπόστρωμα για την καλλιέργεια θειοαναγωγικών βακτηρίων, μεταβολίζεται από τα περισσότερα είδη σχεδόν κάθε γένους. Ωστόσο, δεν μεταβολίζεται, για παράδειγμα, από το είδος *Desulfoarculus baarsii*, αρκετά είδη του γένους *Desulfobacter* και ορισμένα είδη των γενών *Desulfobacterium*, *Desulfonema* και *Desulfotomaculum* (Rabus et al., 2007).

Η οξείδωση του γαλακτικού ιόντος, που εξελίσσεται μέσω του σχηματισμού πυροσταφυλικού ιόντος, μπορεί να είναι ατελής (αντίδραση (2.25)) ή τέλεια (αντίδραση (2.26)) αφού εξαρτάται από την παρουσία μηχανισμού οξείδωσης του ακετυλο-CoA για την οξείδωση του τελικά παραγόμενου οξικού ιόντος (Εικόνα 2.3).

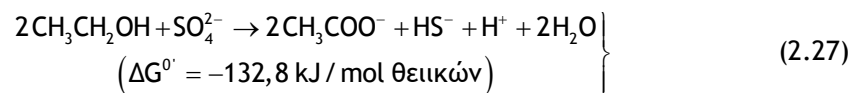


Η ατελής οξείδωση του γαλακτικού προς οξικό ιόν από τα είδη *Desulfobulbus* έδωσε το έναυσμα ώστε να διερευνηθεί η συσχέτιση της οξείδωσης των οργανικών υποστρωμάτων από τα

θειοαναγωγικά βακτήρια με ένα χημειωσμητικό μηχανισμό διατήρησης της ενέργειας, εκτός της φωσφορυλίωσης σε επίπεδο υποστρώματος. Από έναν απλό υπολογισμό προκύπτει ότι το καθαρό κέρδος ATP από τη φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος κατά την ανάπτυξη *Desulfovibrio* με γαλακτικό και θειικά είναι μηδενικό: τα δύο μόρια ATP που παράγονται κατά την οξειδωση των δύο μορίων γαλακτικού ανά μόριο θειικών ιόντων και την απελευθέρωση του οξικού μέσω της οξικής κινάσης (αντίδραση (2.25)) καταναλώνονται για την ενεργοποίηση των θειικών ιόντων (ενότητα 2.1.2). Οπότε, πρέπει να υπάρχει πρόσθετος μηχανισμός για την παραγωγή ATP (Rabus *et al.*, 2007).

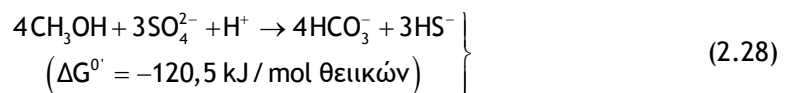
### Αιθανόλη

Η αιθανόλη (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) αποτελεί πολύ κοινό δότη ηλεκτρονίων και πηγή άνθρακα για θειοαναγωγικά βακτήρια που οξειδώνουν, τέλεια ή ατελώς, το οργανικό υπόστρωμα. Η αιθανόλη οξειδώνεται, μέσω ακεταλδεΐδης, προς οξικό ιόν (Εικόνα 2.3, αντίδραση (2.27)). Ανάλογα με το είδος του βακτηρίου, το οξικό ιόν μπορεί να οξειδωθεί περαιτέρω προς διοξείδιο του άνθρακα (αντίδραση (2.21)), ακολουθώντας τις βιοχημικές οδούς που περιγράφονται παραπάνω (Rabus *et al.*, 2007).



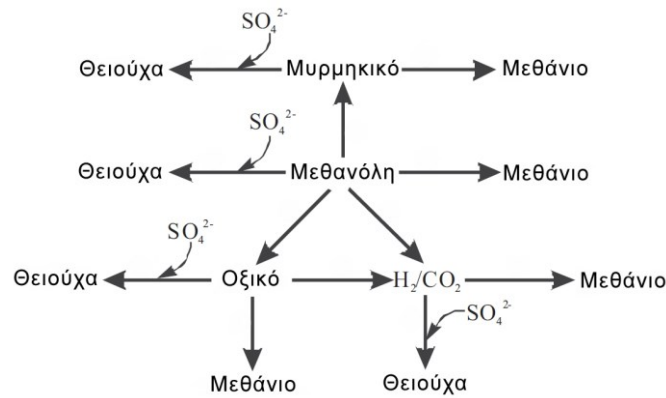
### Μεθανόλη και άλλες αλκοόλες

Η μεθανόλη (CH<sub>3</sub>OH) χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για την ανάπτυξη θειοαναγωγικών βακτηρίων (αντίδραση (2.28)) λόγω του χαμηλότερου ρυθμού ανάπτυξης που επιτυγχάνεται σε αυτή την περίπτωση καθώς και επειδή, συχνά και παρά την παρουσία θειικών ιόντων, επικρατούν τα μεθανογόνα βακτήρια (Rabus *et al.*, 2007).



Ωστόσο, εκτός της απευθείας οξειδωσης της μεθανόλης προς όξινα ανθρακικά ιόντα (αντίδραση (2.28)), η αναερόβια αποικοδόμηση της μεθανόλης μπορεί να ακολουθήσει και πιο σύνθετες οδούς (Εικόνα 2.4) που εξαρτώνται από την παράλληλη δραστηριότητα θειοαναγωγικών, μεθανογόνων και ομοοξικογόνων βακτηρίων (Weijma *et al.*, 2001).

Οι πρωτοταγείς αλκοόλες με περισσότερα από 2 άτομα άνθρακα, όπως η προπανόλη και η βουτανόλη, μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως πηγές άνθρακα για τα θειοαναγωγικά βακτήρια. Για παράδειγμα, τα είδη του γένους *Desulfovibrio* μεταβολίζουν τις αλκοόλες αυτές με αποτέλεσμα το σχηματισμό των αντίστοιχων λιπαρών οξέων (προπιονικό και βουτυρικό, αντίστοιχα) ενώ τα είδη του γένους *Desulfobulbus* οξειδώνουν ατελώς την προπανόλη προς οξικό ιόν (Rabus *et al.*, 2007).



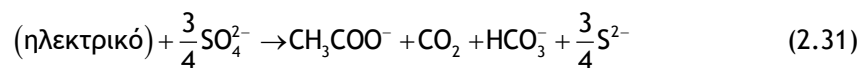
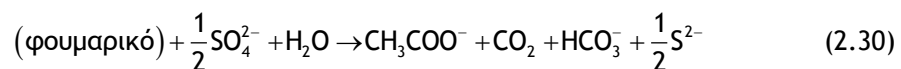
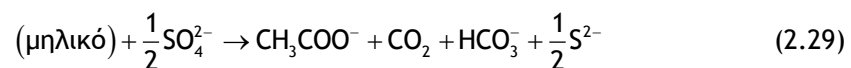
Εικόνα 2.4. Αναερόβια αποικοδόμηση της μεθανόλης<sup>12</sup> παρουσία μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών, μεθανογόνων και ομοοξικογόνων βακτηρίων (Weijma et al., 2001)

### Σάκχαρα

Γενικά, τα σάκχαρα ευνοούν την επικράτηση βακτηρίων που συμμετέχουν σε διεργασίες ζύμωσης, αντί των θειοαναγωγικών βακτηρίων, επειδή αυτά αναπτύσσονται με πολύ ταχύτερους ρυθμούς (Rabus et al., 2007). Ωστόσο, αναφέρονται είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων (π.χ. *Desulfovibrio fructosovorans* (Ollivier et al., 1988) ή *Desulfotomaculum nigrificans* (Rabus et al., 2007)) που αναπτύσσονται, παρουσία ή απουσία θειικών ιόντων, με φρουκτόζη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων.

### Δικαρβοξυλικά οξέα

Τα δικαρβοξυλικά οξέα που συμμετέχουν στον κύκλο του κιτρικού οξέος (μηλικό<sup>13</sup>, φουμαρικό<sup>14</sup> και ηλεκτρικό<sup>15</sup> ιόν, αντιδράσεις (2.29)-(2.31)) είναι σχετικά κοινά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των θειοαναγωγικών βακτηρίων με δυνατότητα τέλει ή ατελούς οξειδωσης του οργανικού υποστρώματος.



Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι το είδος *Desulfovibrio desulfuricans* μπορεί να συνδυάσει διεργασίες όπως η οξειδωση του μηλικού ιόντος με την αναγωγή του φουμαρικού προς ηλεκτρικό ιόν (αντίδραση (2.32)). Το ηλεκτρικό και το φουμαρικό συσσωρεύονται κατά την οξειδωση του μηλικού και το φουμαρικό μπορεί να λειτουργήσει ως εναλλακτικός δέκτης ηλεκτρονίων (αναγόμενο προς ηλεκτρικό), αντί των θειικών ιόντων, κατά την οξειδωση του

<sup>12</sup> Η στοιχειομετρία και η μεταβολή της ελεύθερης κατά Gibbs ενέργειας σε κανονικές συνθήκες και pH 7 των επιμέρους αντιδράσεων δίνονται στη σελ. 54 (Πίνακας 2.11).

<sup>13</sup> Μηλικό:  $^- \text{OOC} - \text{CH}_2\text{CHOH} - \text{COO}^-$

<sup>14</sup> Φουμαρικό (trans-βουτενοδικό οξύ):  $^- \text{OOC} - \text{CH} = \text{CH} - \text{COO}^-$

<sup>15</sup> Ηλεκτρικό (1,4-βουτανοδικό οξύ):  $^- \text{OOC} - \text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{COO}^-$

υδρογόνου ή του γαλακτικού ιόντος, υποστηρίζοντας ακόμα και ανάπτυξη απουσία θειικών ιόντων σε ορισμένα είδη. Στο *Desulfovibrio desulfuricans* έχει βρεθεί το ειδικό ένζυμο που καταλύει την αντιστρεπτή ενυδάτωση του φουμαρικού προς μηλικό (φουμαράση) όπως έχει βρεθεί το ένζυμο που μετατρέπει το μηλικό απευθείας σε πυροσταφυλικό στο *Desulfovibrio gigas* (Postgate, 1979).



Γενικά, ο ρυθμός ανάπτυξης με μηλικό και φουμαρικό ιόν είναι υψηλότερος από ό,τι με το ηλεκτρικό ιόν. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη μερική κατανάλωση της παραγόμενης ενέργειας κατά την αντίστροφη μεταφορά ηλεκτρονίων για την οξειδωση του ηλεκτρικού ιόντος (φουμαρικό/ηλεκτρικό,  $E^0 = +0,033 \text{ V}$ ). Ορισμένα δε είδη μπορούν να χρησιμοποιήσουν μόνο μία ή δύο από αυτές τις ενώσεις γιατί απουσιάζουν συγκεκριμένοι μηχανισμοί μεταφοράς (Rabus *et al.*, 2007).

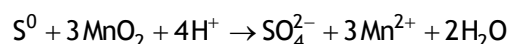
#### 2.2.4. Συμμετοχή των θειοαναγωγικών βακτηρίων στους βιογεωχημικούς κύκλους στοιχείων που υποστηρίζουν την ανάπτυξή τους ως δέκτες ηλεκτρονίων

Εκτός των θειικών, τα θειοαναγωγικά βακτήρια μπορούν να ανάγουν το στοιχειακό θείο καθώς και πληθώρα οξυανιόντων του θείου, όπως τα τετραθειονικά, τα τριθειονικά, τα θειοθειικά και τα θειώδη, τα οποία δεν συσσωρεύονται στο περιβάλλον αλλά σχηματίζονται ως ενδιάμεσα προϊόντα κατά το μεταβολισμό των θειοαναγωγικών βακτηρίων (ενότητες 2.1.1, 2.1.2 και 2.1.3).

Αρκετά στελέχη θειοαναγωγικών βακτηρίων σταθεροποιούν το άζωτο (N) και αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας το  $\text{N}_2$  ως μοναδική πηγή αζώτου (Barton *et al.*, 2002) ενώ μερικά από τα κοινά στελέχη των θειοαναγωγικών βακτηρίων ανάγουν τα νιτρικά ιόντα (Mouga *et al.*, 1997). Σε αυτή την περίπτωση, το τελικό προϊόν της αναγωγής των νιτρικών, η οποία εξελίσσεται μέσω του σχηματισμού νιτρωδών, είναι η αμμωνία και όχι το  $\text{N}_2$  όπως συμβαίνει στα απονιτροποιητικά βακτήρια (Rabus *et al.*, 2007).

Επίσης, έχουν εντοπιστεί θειοαναγωγικοί μικροοργανισμοί που μπορούν να αναπτυχθούν χρησιμοποιώντας εναλλακτικούς (εκτός του κύκλου του θείου) δέκτες ηλεκτρονίων. Για παράδειγμα,

- Οι Lovley & Phillips έδειξαν ότι το βακτήριο *Desulfovibrio desulfuricans* μπορεί να ανάγει το Mn(IV) σε Mn(II) οξειδώνοντας παράλληλα το στοιχειακό θείο προς θειικά ιόντα κατά την αντίδραση (Lovley *et al.*, 1994b):



- Η Macy και οι συνεργάτες της απομόνωσαν δύο βακτήρια από ρυπασμένα με ουράνιο εδάφη και απέδειξαν ότι είχαν δυνατότητα παράλληλης αναγωγής θειικών και αρσενικών ιόντων, ακολουθώντας ωστόσο διαφορετικό μηχανισμό. Από τα δύο αυτά βακτήρια, μόνο σε αυτό που ανήκε στο γένος *Desulfomicrobium* η αναγωγή των αρσενικών ιόντων βρέθηκε ότι υποστηρίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων (Macy *et al.*, 2000).

- Οι Tebo & Obraztsova απομόνωσαν θειοαναγωγικό βακτήριο από τα ρυπασμένα με Cr(VI) και άλλα βαρέα μέταλλα εδάφη ναυπηγείου στην Καλιφόρνια (Η.Π.Α.) και έδειξαν ότι μπορεί να αναπτυχθεί συνδυάζοντας την οξειδωση οργανικών ενώσεων με την αναγωγή Fe(III) σε Fe(II), Cr(VI) σε Cr(III), Mn(IV) σε Mn(II) ή U(VI) σε U(IV), ακόμα και απουσία θειικών ιόντων, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις (Tebo *et al.*, 1998):

Αντίδραση	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol, pH=7)
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 4 \text{Fe}^{3+} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + 4 \text{Fe}^{2+} + 5 \text{H}^+$	-409
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{2}{3} \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + \frac{4}{3} \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{3} \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{4}{3} \text{Cr}(\text{OH})_3$	-333
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2 \text{MnO}_2 + 3 \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + 2 \text{Mn}^{2+} + 2 \text{H}_2\text{O}$	-291
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2 \text{UO}_2^{2+} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + 2 \text{UO}_2 + 5 \text{H}^+$	-130
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{1}{4} \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{1}{2} \text{HS}^- + \frac{1}{2} \text{H}^+$	-28

Εκτός όσων αναφέρθηκαν παραπάνω για πιθανούς μηχανισμούς που υποστηρίζουν την ανάπτυξη των θειοαναγωγικών βακτηρίων, τα θειοαναγωγικά βακτήρια επηρεάζουν περαιτέρω τη διαδρομή/τύχη των δισθενών μετάλλων, του τρισθενούς σιδήρου, του μαγγανίου, του σεληνίου, του μολυβδαινίου, του χρωμίου, του ουρανίου και του αρσενικού στο περιβάλλον, αναλαμβάνοντας σημαντικό ρόλο στους βιογεωχημικούς κύκλους των μετάλλων, των μεταλλοειδών και των ακτινιδών σε ανοξικά περιβάλλοντα. Οι μηχανισμοί απομάκρυνσης των στοιχείων αυτών από υδατικά διαλύματα περιγράφονται αναλυτικά στην ενότητα 2.3.

#### 2.2.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων

Η ανάπτυξη και η δραστηριότητα των μικροοργανισμών επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από τη φυσική και τη χημική κατάσταση του περιβάλλοντός τους (Madigan *et al.*, 2003). Στη συνέχεια, περιγράφεται η επίδραση των κυριότερων φυσικοχημικών παραγόντων στην ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων.

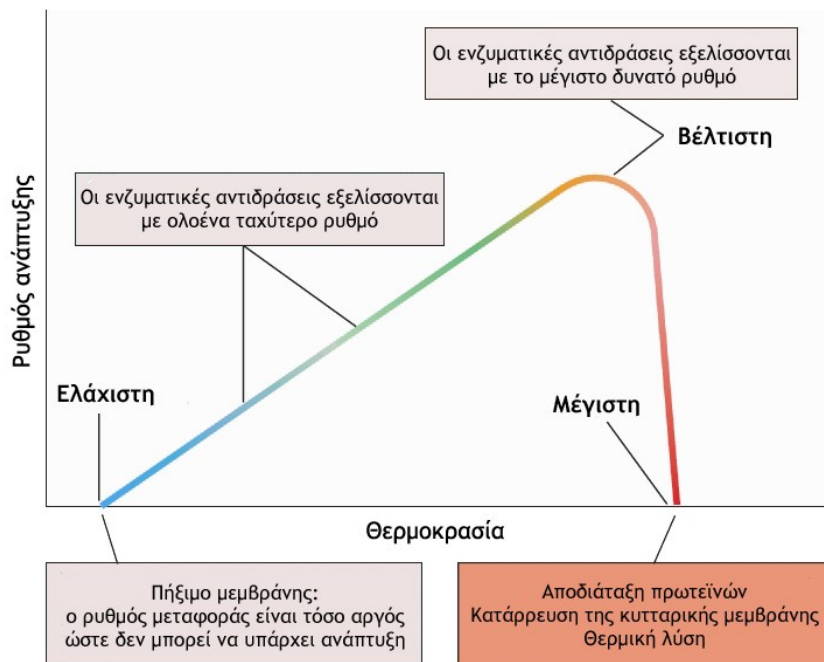
##### Παρουσία οξυγόνου

Παρόλο που τα θειοαναγωγικά βακτήρια ταξινομούνται ως αυστηρά αναερόβια (Rabus *et al.*, 2007), βρέθηκε ότι ορισμένα στελέχη έχουν δυνατότητα αναπνοής παρουσία οξυγόνου, χρησιμοποιώντας το οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων και ανάγοντάς το σε νερό (Cypionka *et al.*, 1985; Dannenberg *et al.*, 1992; Dilling *et al.*, 1990). Μέχρι σήμερα, όμως, δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά η αερόβια ανάπτυξη καθαρών καλλιεργειών θειοαναγωγικών βακτηρίων (Cypionka, 2000; Lens, 2009). Ωστόσο, η ικανότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων να ανάγουν τα θειικά ιόντα σε αερόβιες συνθήκες, μέσω συγκεκριμένων αμυντικών μηχανισμών προσαρμογής (Dolla *et al.*, 2006), παραμένει ενδιαφέρουσα και θα μπορούσε να έχει σημαντική αξία για τους κύκλους του θείου σε μικροκλίμακα.



## Θερμοκρασία

Για κάθε μικροοργανισμό, υπάρχει ένα συγκεκριμένο θερμοκρασιακό εύρος (25-40 βαθμών) όπου επιτρέπεται η ανάπτυξή του (Εικόνα 2.5).



Εικόνα 2.5. Επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών (Madigan *et al.*, 2003)

Η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξης αντιστοιχεί στο σημείο όπου η κυτταρική μεμβράνη παύει να είναι σε ημίρρευση κατάσταση, με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατές οι λειτουργίες μεταφοράς συστατικών στο εσωτερικό του κυττάρου ή να μην αναπτύσσεται πρωτονιαγεργτική δύναμη<sup>16</sup>. Η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη του κυττάρου αντιστοιχεί σε μια κατάσταση όπου όλα ή περισσότερα από τα κυτταρικά συστατικά λειτουργούν με το μέγιστο δυνατό ρυθμό και, συνήθως, βρίσκεται πλησιέστερα στη μέγιστη παρά στην ελάχιστη τιμή (Madigan *et al.*, 2003).

Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, από την ελάχιστη προς τη βέλτιστη τιμή, οι χημικές και ενζυματικές αντιδράσεις του κυττάρου εξελίσσονται με ταχύτερο ρυθμό, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της κυτταρικής ανάπτυξης. Ωστόσο, όταν η θερμοκρασία υπερβεί μια κρίσιμη μέγιστη τιμή, τα συστατικά του κυττάρου υφίστανται ανεπανόρθωτη βλάβη και οι κυτταρικές λειτουργίες διακόπτονται (Madigan *et al.*, 2003).

Καθώς μειώνεται η θερμοκρασία, από τη βέλτιστη προς την ελάχιστη τιμή, και λόγω της μειωμένης δυνατότητας μεταφοράς συστατικών μέσω της μεμβράνης, ελαττώνεται ο βαθμός συγγένειας με το διαθέσιμο υπόστρωμα, με αποτέλεσμα τη μείωση της ειδικής ταχύτητας ανάπτυξης (Nedwell, 1999). Επίσης, έχει βρεθεί ότι η μείωση της ενζυμικής δράσης καθώς

<sup>16</sup> Πρωτονιαγεργτική (ή πρωτονοικινητική) δύναμη (proton-motive force, PMF): πηγή ενέργειας που εγκαθιδρύεται από τη διαβάθμιση της συγκέντρωσης πρωτονίων εκατέρωθεν μιας μεμβράνης. Η άντληση των πρωτονίων στην εξωτερική πλευρά της μεμβράνης επιτυγχάνεται με δαπάνη ενέργειας που προέρχεται από μια αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Madigan *et al.*, 2003).

μειώνεται η θερμοκρασία είναι εκθετική, όπου μείωση της θερμοκρασίας κατά 10 °C συνεπάγεται ελάττωση της ενζυμικής δράσης κατά 2-4 φορές (Feller *et al.*, 2003).

Με βάση τη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης, διακρίνονται ψυχρόφιλοι (< 15 °C), μεσόφιλοι (20-45 °C), θερμόφιλοι (45-80 °C) και υπερθερμόφιλοι (> 80 °C) μικροοργανισμοί<sup>17</sup> (Madigan *et al.*, 2003). Δεδομένου ότι τα περισσότερα είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων είναι μεσόφιλα (Πίνακας 2.7), ιδιαίτερη σημασία για την αξιοποίησή τους σε ψυχρά κλίματα έχουν οι μεσόφιλοι ψυχροανεκτικοί μικροοργανισμοί που μπορούν να αναπτύσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες (ακόμα και 0 °C) ενώ η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξή τους βρίσκεται στην περιοχή 20-40 °C (Madigan *et al.*, 2003). Παρά, όμως, τη δυνατότητά τους να προσαρμόζονται σε ψυχρότερες συνθήκες, παρατηρείται σημαντική μείωση στην ταχύτητα ανάπτυξής τους καθώς και στο ρυθμό αναγωγής των θειικών ιόντων (Πίνακας 2.9, (Isaksen *et al.*, 1996; Knoblauch *et al.*, 1999a; Knoblauch *et al.*, 1999b)).

Πίνακας 2.9. Ειδικός ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων επιλεγμένων μεσόφιλων θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διάφορες θερμοκρασίες (Knoblauch *et al.*, 1999b)

Είδος	Δότης ηλεκτρονίων	Ειδικός ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων (mol/d·κύτταρο)		
		4 °C	8 °C	13 °C
<i>Desulfobacter postgatei</i>	Οξικό	11,0 ± 1,6	19,4 ± 1,4	37,9 ± 5,9
<i>Desulfobacter hydrogenophilus</i>	Υδρογόνο	8,0 ± 0,3	7,8 ± 2,8	20,0 ± 3,3
<i>Desulfovibrio salexigens</i>	Γαλακτικό	0,7 ± 0,06	1,4 ± 0,07	3,9 ± 0,4
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	Γαλακτικό	0,4 ± 0,05	0,8 ± 0,06	2,1 ± 0,1
<i>Desulfobacterium autotrophicum</i>	Γαλακτικό	1,6 ± 0,07	2,9 ± 0,2	4,4 ± 0,4
<i>Desulfofustis glycolicus</i>	Γλυκολικό	0,3 ± 0,01	0,5 ± 0,06	1,1 ± 0,1

## pH

Για πολλά χρόνια μετά την ανακάλυψη του πρώτου θειοαναγωγικού βακτηρίου, η κυρίαρχη άποψη ήταν ότι η ανάπτυξη και η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων ευνοείται σε περιβάλλον με τιμές pH μεταξύ 6 και 8 (Hao, 2003). Σε πειραματική μελέτη της επίδρασης της μεταβολής του pH στην περιοχή 5,8-7,0 στην ανάπτυξη μικτής καλλιέργειας θειοαναγωγικών βακτηρίων με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και απομάκρυνση του παραγόμενου υδρόθειου, αναφέρεται ότι η ειδική ταχύτητα ανάπτυξης καθώς και η κυτταρική απόδοση αυξάνονται με την αύξηση του pH προσεγγίζοντας τη μέγιστη τιμή τους όταν pH = 6,7 (Reis *et al.*, 1992).

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν προκύψει αρκετές ενδείξεις για τη δυνατότητα αναερόβιας αναγωγής των θειικών ιόντων σε τιμές pH κάτω του 5. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές θειοαναγωγικής δραστηριότητας στα ιζήματα όξινων λιμνών. Στις περισσότερες από

<sup>17</sup> Στην παρένθεση δίνεται το εύρος των βέλτιστων θερμοκρασιών ανάπτυξης για κάθε κατηγορία μικροοργανισμών.

αυτές τις μελέτες, όμως, οι συνθήκες στο ίζημα ήταν λιγότερο όξινης από ό,τι στο νερό της λίμνης, με αποτέλεσμα η μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων να εξελίσσεται σε συνθήκες σχεδόν ουδέτερου pH (Koschorreck, 2008). Ωστόσο, αναφέρεται θειοαναγωγική δραστηριότητα στο ίζημα όξινης λίμνης που σχετίζεται με μεταλλευτική δραστηριότητα όπου το pH του ιζήματος ήταν <4 (Gyure *et al.*, 1990) καθώς και σε ηφαιστειακή λίμνη όπου το pH του ιζήματος ήταν 3 (Koschorreck *et al.*, 2003).

Σε εργαστηριακή κλίμακα, έχει δείχθει η δυνατότητα παραγωγής θειούχων ιόντων κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων από μικτές καλλιέργειες θειοαναγωγικών βακτηρίων σε pH 4,0 (Lopes, 2007), 3,8 (Kimura *et al.*, 2006) και 3,0 (Sen *et al.*, 1999; Sen *et al.*, 2004). Στις παραπάνω μελέτες παρατηρήθηκαν, όμως, μειωμένοι ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης και ανάγωγης των θειικών ιόντων σε σύγκριση με τη λειτουργία σε υψηλότερα pH. Αυτό, ενδεχομένως, να οφείλεται στην αυξημένη ενέργεια που απαιτείται για τη διατήρηση της διαφοράς της συγκέντρωσης πρωτονίων εντός και εκτός της κυτταρικής μεμβράνης<sup>18</sup> λόγω του χαμηλότερου pH διαλύματος, με αποτέλεσμα να καταναλώνεται περισσότερη ενέργεια για συντήρηση και λιγότερη για ανάπτυξη (Bijmans *et al.*, 2010).

Συχνά, η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων σε χαμηλές τιμές pH διαλύματος ερμηνεύεται με βάση την παρουσία μικρονησίδων υψηλού pH γύρω από τα κύτταρα. Από θερμοδυναμικής άποψης, στα συστήματα όπου επιτρέπεται η ελεύθερη διάχυση των διαλελυμένων ουσιών, οι μικρονησίδες αυτές διατηρούνται μέσω μιας ενεργής διεργασίας όπου καταναλώνεται ενέργεια. Στην περίπτωση ουδέτερης μικρονησίδας σε όξινο περιβάλλον, η διεργασία αυτή πρέπει να περιλαμβάνει την κατανάλωση πρωτονίων, όπως είναι η αναερόβια αναγωγή των θειικών ιόντων. Οπότε, θεωρητικά, τα θειοαναγωγικά βακτήρια μπορούν να διατηρήσουν μία ζώνη αυξημένου pH (Koschorreck, 2008). Επίσης, από θερμοδυναμικής άποψης, το όξινο περιβάλλον δεν περιορίζει την αναγωγή των θειικών ιόντων καθώς η ελεύθερη κατά Gibbs ενέργεια της αντίδρασης αυξάνεται όταν μειώνεται το pH (Bijmans *et al.*, 2010).

Εκτός της ενδεχόμενης αρνητικής επίδρασης του χαμηλού pH σε οργανισμούς που αποδίδουν μικρή ενέργεια κατά το μεταβολισμό τους, όπως τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Koschorreck, 2008), τα προϊόντα της μεταβολικής διαδικασίας των θειοαναγωγικών βακτηρίων, όπως το υδρόθειο και το οξικό οξύ, έχουν τοξική επίδραση σε χαμηλές τιμές pH, όπως αναλύεται στις επόμενες παραγράφους.

### Παρουσία θειούχων ιόντων

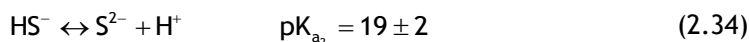
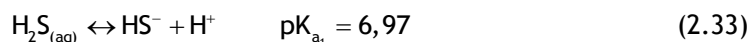
Η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων παρεμποδίζεται ή αναστέλλεται παρουσία διαφόρων ειδών του θείου, των οποίων η ανασταλτική επίδραση αυξάνεται με την εξής σειρά:

---

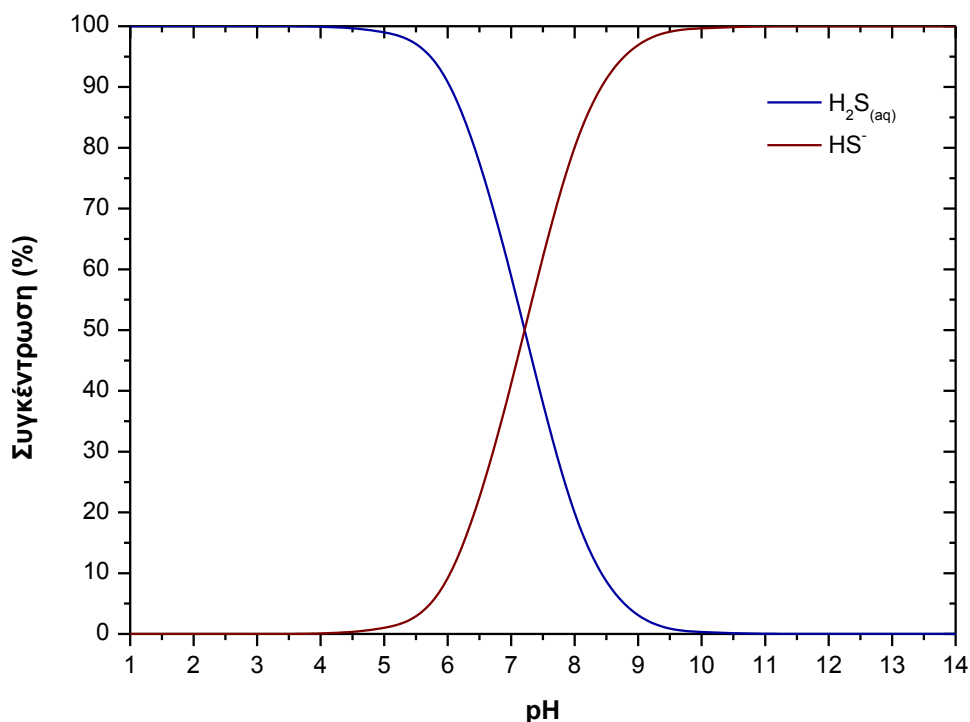
<sup>18</sup> Η δυνατότητα ορισμένων μικροοργανισμών να επιβιώνουν ή να αναπτύσσονται σε πολύ όξινα περιβάλλοντα (pH < 3-4) οφείλεται σε συγκεκριμένα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να διατηρούν μεγάλη διαφορά pH στις δύο πλευρές της κυτταρικής μεμβράνης, αφού το ενδοκυτταρικό pH είναι περίπου ουδέτερο. Η διατήρηση σταθερής ενδοκυτταρικής οξύτητας επιτυγχάνεται με ορισμένους ομοιοστατικούς μηχανισμούς που καταναλώνουν ενέργεια (Baker-Austin *et al.*, 2007).

θειικά < θειοθειικά < θειώδη < ολικά θειούχα < υδρόθειο (Neculita *et al.*, 2007).

Στα υδατικά διαλύματα, τα θειούχα ιόντα απαντώνται σε διάφορες μορφές ανάλογα με το pH του διαλύματος. Μελετώντας τη διάσταση του υδρόθειου σε συνθήκες χημικής ισορροπίας στους 25 °C (αντιδράσεις (2.33) και (2.34)), προκύπτει κατ' αρχήν μια αβεβαιότητα ως προς την τιμή της σταθεράς της δεύτερης διάστασης<sup>19</sup> (Myers, 1986; Stumm *et al.*, 1996):



Από τις παραπάνω αντιδράσεις προκύπτει ότι, καθώς η σταθερά της πρώτης διάστασης είναι ~7, τυχόν μικρές διακυμάνσεις του pH στην περιοχή 6-8 θα επηρεάζουν σημαντικά τη συγκέντρωση των διαλελυμένων ειδών. Επίσης, η τιμή της σταθεράς της δεύτερης διάστασης, υποδηλώνει ότι είναι πρακτικά αδύνατο να υπάρχουν διαλελυμένα θειούχα ιόντα σε υδατικά διαλύματα, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα των υδατοδιαλυτών ειδών (Σχήμα 2.5) που προκύπτει από τα αποτελέσματα της προσομοίωσης της χημικής ισορροπίας του συστήματος των θειούχων ιόντων με το λογισμικό Visual Minteq (Gustafsson, 2011) για  $\text{pK}_{\text{a}_2} = 17,4$ <sup>20</sup> στους 25 °C.



Σχήμα 2.5. Υδατοδιαλυτά είδη θειούχων ιόντων συναρτήσει του pH στους 25 °C

<sup>19</sup> Οι τιμές που αναφέρονταν στη βιβλιογραφία για τη σταθερά της δεύτερης διάστασης του υδρόθειου διέφεραν κατά 6 τάξεις μεγέθους και κυμαίνονταν μεταξύ 13 και 19 ενώ, προσφάτως, περιορίστηκαν μεταξύ 17 και 19 με φασματοφωτομετρικές μεθόδους (Stumm *et al.*, 1996). Το σφάλμα στον προσδιορισμό φαίνεται να οφείλεται στην οξειδωση του S<sup>2-</sup> σε αλκαλικά διαλύματα και στην παρουσία πολυθειούχων ιόντων.

<sup>20</sup> Η τιμή αυτή συμπίπτει με τα αποτελέσματα πρόσφατων μετρήσεων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Migdisov *et al.*, 2002).

Το pH είναι ο παράγοντας που καθορίζει την αναλογία των ιοντικών ειδών (Σχήμα 2.5). Σε  $pH < 5$  υπάρχει μόνο η αδιάστατη μορφή του  $H_2S$  ενώ στην περιοχή  $6 < pH < 9$  ο λόγος  $H_2S/HS^-$  μειώνεται όσο αυξάνεται το pH. Από όλες σχεδόν τις μελέτες της βιβλιογραφίας (Moosa *et al.*, 2006; O'Flaherty *et al.*, 1998; Oleszkiewicz *et al.*, 1989), προκύπτει ότι σε  $pH < 7,5$  το αδιάστατο  $H_2S$  είναι η πλέον τοξική μορφή των θειούχων, γεγονός που αποδίδεται στη μεγαλύτερη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης από το αφόρτιστο αέριο, ενώ σε  $pH > 7,5$  το κλάσμα  $H_2S$  είναι πολύ μικρό, με αποτέλεσμα η ανασταλτική δράση των ολικών θειούχων να υπερισχύει της ανασταλτικής δράσης του αδιάστατου  $H_2S$ . Οι O'Flaherty & Colleran έδειξαν ότι η αύξηση του pH στην περιοχή 6,8-8,5 οδήγησε στην ανοχή υψηλότερων συγκεντρώσεων διαλελυμένων θειούχων (O'Flaherty *et al.*, 1999a).

Όσο αφορά το μηχανισμό της ανασταλτικής δράσης των θειούχων, υπάρχουν διάφορες προτεινόμενες απόψεις:

- Το αδιάστατο  $H_2S$  διεισδύει μέσω της κυτταρικής μεμβράνης και, αφού εισέλθει στο κυτταρόπλασμα, μπορεί να συμπλέξει το σίδηρο των κυτόχρωμων και άλλων απαραίτητων σιδηρούχων ενδοκυτταρικών ενώσεων, αδρανοποιώντας έτσι το κύτταρο (Madigan *et al.*, 2003).
- Η αντίδραση του  $H_2S$  με τα κατιόντα των μετάλλων και η επακόλουθη καταβύθιση θειούχων ενώσεων των μετάλλων στερεί από τα θειοαναγωγικά βακτήρια ιχνοστοιχεία που είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση των ενζύμων τους (Nagpal *et al.*, 2000a; Reis *et al.*, 1992).
- Τα κύτταρα των θειοαναγωγικών βακτηρίων αδρανοποιούνται καθώς καλύπτονται από ένα νεφέλωμα που οφείλεται στην απόθεση των θειούχων ενώσεων των μετάλλων πάνω στο κυτταρικό τοίχωμα και/ή κοντά στα κύτταρα. Κατά συνέπεια, οι σχηματιζόμενες στερεές ενώσεις παρεμποδίζουν την επαφή μεταξύ των αντιδρώντων (θειικά ιόντα και πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων) και των απαραίτητων ενζύμων, αναστέλλοντας έτσι το μικροβιακό μεταβολισμό (Utgikar *et al.*, 2002).

Η αναστρεψιμότητα, όμως, της ανασταλτικής δράσης των θειούχων, η οποία έχει αποδειχθεί σε διάφορες εργασίες (Okabe *et al.*, 1992b; Reis *et al.*, 1992), αποδυναμώνει την ισχύ των μηχανισμών αυτών.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων θειούχων ιόντων που προκαλεί μερική ή ολική αναστολή της δράσης των θειοαναγωγικών βακτηρίων: 64-2.059 mg/L για τα ολικά θειούχα (McCartney *et al.*, 1991; O'Flaherty *et al.*, 1999a; Okabe *et al.*, 1992b) και 57-550 mg/L για το αδιάστατο  $H_2S$  (McCartney *et al.*, 1991; Reis *et al.*, 1992; Visser *et al.*, 1996).

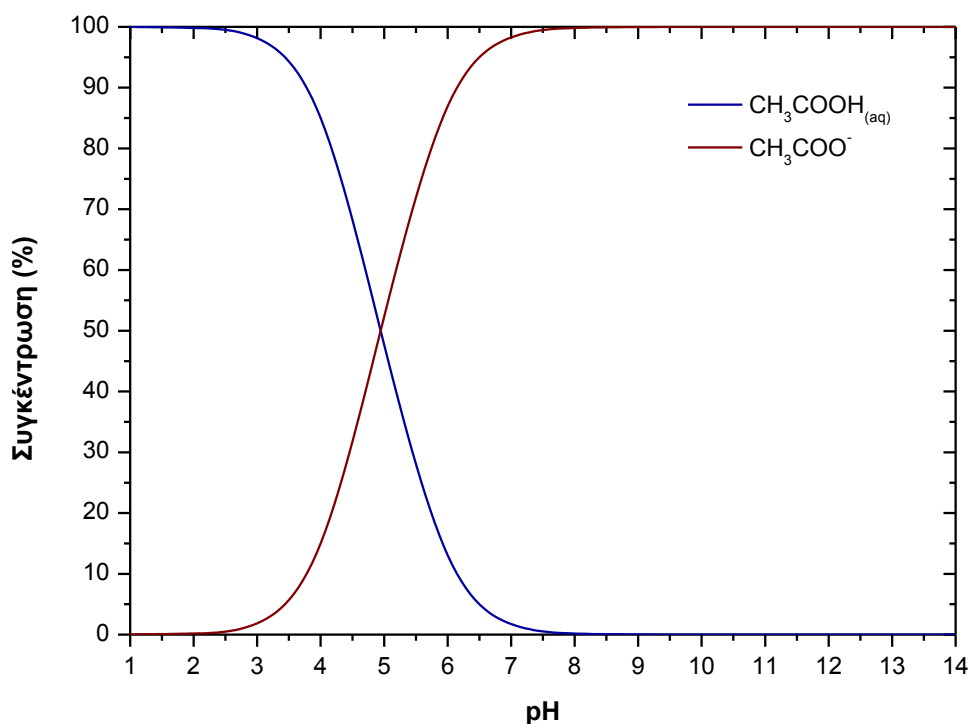
### Παρουσία οργανικών οξέων

Στα υδατικά διαλύματα, η διάσταση των καρβοξυλικών οξέων, τα οποία γενικά θεωρούνται ασθενή οξέα, δεν είναι πλήρης. Με βάση τις σταθερές διάστασης των μονοκαρβοξυλικών οξέων με το μικρότερο αριθμό ατόμων άνθρακα (Πίνακας 2.10), προκύπτει ότι, στην περιοχή των όξινων pH, οι καρβοξυλικές ομάδες απαντώνται κυρίως σε αδιάστατη μορφή.

Πίνακας 2.10. Σταθερές διάστασης μονοκαρβοξυλικών (λιπαρών) οξέων (Dean, 1999)

Κοινή ονομασία	Χημικός τύπος	pK <sub>a</sub>
Μυρμηκικό οξύ	HCOOH	3,75
Οξικό οξύ	CH <sub>3</sub> COOH	4,76
Προπιονικό οξύ	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	4,87
Βουτυρικό οξύ	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	4,82
Βαλεριανικό οξύ	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	4,84

Ειδικότερα, στην περίπτωση του οξικού οξέος, το οποίο παράγεται κατά το μεταβολισμό των περισσότερων οργανικών υποστρωμάτων από τα θειοαναγωγικά βακτήρια, προκύπτει ότι όσο αυξάνεται το pH μειώνεται η συγκέντρωση του αδιάστατου οξέος (Reis *et al.*, 1990), όπως φαίνεται και στο διάγραμμα των υδατοδιαλυτών ειδών (Σχήμα 2.6) που προκύπτει από τα αποτελέσματα της προσομοίωσης της χημικής ισορροπίας του συστήματος των οξικών ιόντων με το λογισμικό Visual Minteq (Gustafsson, 2011) για pK<sub>a</sub> = 4,757 στους 25 °C.



Σχήμα 2.6. Υδατοδιαλυτά είδη οξικών ιόντων συναρτήσει του pH στους 25 °C

Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι το αδιάστατο οξικό οξύ δρα περισσότερο ανασταλτικά στην ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών από το οξικό ιόν (Tang *et al.*, 1989; Wang *et al.*, 1984). Γενικά, είναι αποδεκτό ότι το οξικό οξύ διεισδύει στην κυτταρική μεμβράνη<sup>21</sup> των βακτηρίων διαχεόμενο (παθητικά) (Thauer *et al.*, 1977), μέσω του υδρόφοβου στρώματος, με αποτέλεσμα να προκαλείται μεταβολή στη διαφορά συγκέντρωσης πρωτονίων καθώς και στην πρωτονιεγερτική δύναμη στη μεμβράνη (Baronofsky *et al.*, 1984). Επίσης, η επακόλουθη μείωση του ενδοκυτταρικού pH μπορεί να ωθήσει το κύτταρο να επαναφέρει το pH σε ουδέτερες τιμές, δαπανώντας ενέργεια για τη μεταφορά συστατικών μέσω της μεμβράνης, με αποτέλεσμα να μειωθεί ο διαθέσιμος αριθμός μορίων ATP για ανάπτυξη (Tang *et al.*, 1989).

Γι' αυτό, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση οξικού, έχουν γίνει προσπάθειες τροποποίησης των βιολογικών συστημάτων παραγωγής θειούχων με εμπλουτισμό των καλλιεργειών με βακτήρια που έχουν δυνατότητα αξιοποίησης του οξικού (Nagpal *et al.*, 2000b; Omil *et al.*, 1997) ή με ανάπτυξη μικτών θειοαναγωγικών καλλιεργειών (Johnson *et al.*, 2006) ή ακόμα και με παροχή εναλλακτικών δεκτών ηλεκτρονίων, όπως το οξυγόνο ή τα νιτρικά (Lens *et al.*, 2000b).

Η ανασταλτική δράση των οργανικών οξέων είναι σημαντική στους βιολογικούς αντιδραστήρες και στις καλλιέργειες που αναπτύσσονται σε εργαστηριακή κλίμακα. Δεν συμβαίνει, όμως, το ίδιο στα φυσικά όξινα περιβάλλοντα όπου η μικροβιακή αναγωγή των θειικών ιόντων δεν αναστέλλεται λόγω της παρουσίας πτητικών λιπαρών οξέων (VFA) αλλά της έλλειψης ικανών συγκεντρώσεων μεταβολίσιμων οργανικών υποστρωμάτων (Koschorreck, 2008). Πειραματικά, έχει αποδειχθεί ότι η ανασταλτική δράση των οργανικών οξέων σε όξινα pH μπορεί να αποφευχθεί με τη χρήση μεθανόλης ή γλυκερόλης ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (Kimura *et al.*, 2006).

Συγκρίνοντας την ανασταλτική επίδραση οξικού ιόντος και υδρόθειου, προκύπτει ότι, σε υψηλότερες τιμές όξινων pH, υπερισχύει η ανασταλτική δράση του H<sub>2</sub>S καθώς το ποσοστό του αδιάστατου οξικού οξέος είναι αμελητέο σε σχέση με το ποσοστό του αδιάστατου υδρόθειου λόγω των διαφορετικών σταθερών διάστασης (Reis *et al.*, 1990; Reis *et al.*, 1992). Επίσης, εξετάζοντας τη συνεργιστική επίδραση των δύο αυτών προϊόντων του μεταβολισμού, προκύπτει ότι, όταν είναι υψηλή η συγκέντρωση του αδιάστατου οξικού οξέος, η επίδραση του υδρόθειου στην αναστολή της ανάπτυξης είναι αμελητέα ενώ, αντίθετα, όταν είναι υψηλή η συγκέντρωση του υδρόθειου, τυχόν αύξηση στη συγκέντρωση του οξικού οξέος επιφέρει σημαντική μείωση της ειδικής ταχύτητας ανάπτυξης (Reis *et al.*, 1992).

---

<sup>21</sup> Οι κυτταρικές μεμβράνες αποτελούνται από ένα εσωτερικό υδρόφοβο στρώμα και ένα εξωτερικό υδρόφιλο. Έτσι, επιτρέπεται η κίνηση αφορτιστων μορίων με απλή (ή παθητική) διάχυση, χωρίς δηλαδή την κατανάλωση ενέργειας μεταβολισμού ή την υποβοήθηση με ειδικές πρωτεΐνες. Στην περίπτωση ιόντων, όμως, δεν αρκεί η διαφορά συγκέντρωσης καθώς πρέπει να ληφθεί υπόψη και η διαφορά δυναμικού που σχηματίζεται στη μεμβράνη λόγω της ανομοιόμορφης κατανομής των φορτίων. Επομένως, η κίνηση των διαφόρων μορίων διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης εξαρτάται από δύο παράγοντες: (1) τη διαφορά συγκέντρωσης και (2) τη διαφορά δυναμικού (Prescott *et al.*, 2002).

### Παρουσία ιόντων μετάλλων

Η τοξικότητα των μετάλλων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (Hao, 2000; Kaksonen *et al.*, 2007), ιδιαίτερα στο σύνθετο σύστημα αλληλεπίδρασης μετάλλων με τα θειοαναγωγικά βακτήρια, όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, το πλήθος των κυττάρων, η πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, η συγκέντρωση των θειικών ιόντων, το είδος και η συγκέντρωση των μετάλλων καθώς και η παρουσία και η συγκέντρωση σιδήρου και συμπλοκοποιητικών ενώσεων. Επίσης, σημαντική επίδραση έχουν και οι συνθήκες λειτουργίας του συστήματος, όπως αν πρόκειται για σύστημα συνεχούς λειτουργίας ή διαλείποντος έργου, με πλανκτονική ή ακινητοποιημένη βιομάζα.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η θερμοκρασία και το pH περιβάλλοντος επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων και, επομένως, την ανοχή τους στα μέταλλα. Εκτός αυτού, το pH επηρεάζει την οξειδωτική κατάσταση των μετάλλων και τους δεσμούς που σχηματίζουν τα επικρατούντα είδη (Gadd *et al.*, 1977).

Η συμπλοκοποίηση των μετάλλων, με ανόργανους ή οργανικούς συμπλοκοποιητές, έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ειδών που έχουν διαφορετική τοξική επίδραση στους μικροοργανισμούς και σχηματίζουν διαφορετικούς δεσμούς από τα μη συμπλοκοποιημένα ιόντα (Gadd *et al.*, 1977). Επίσης, ορισμένα θειοαναγωγικά βακτήρια παράγουν πολυμερή (ενότητα 2.3.3), τα οποία συμπλοκοποιούν τα μέταλλα, μειώνοντας έτσι την τοξικότητά τους (Beech *et al.*, 1995).

Η παρουσία ανόργανων κατιόντων μπορεί να επηρεάσει την τοξικότητα των μετάλλων καθώς αυτά ανταγωνίζονται για τις ίδιες ανιονικές θέσεις της επιφάνειας των κυττάρων. Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι ο σίδηρος (Fortin *et al.*, 1994), το μαγνήσιο και το ασβέστιο (Gadd *et al.*, 1977) μειώνουν την τοξικότητα των μετάλλων.

Η ταυτόχρονη παρουσία μετάλλων στο διάλυμα, όπως Ni και Zn ή Cu και Zn, μπορεί να προκαλέσει συνεργιστικές τοξικές επιδράσεις (Tang *et al.*, 2009). Η επίδραση διαλύματος Cu και Zn βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη από την αναμενόμενη με βάση το άθροισμα της τοξικότητας των επιμέρους μετάλλων (Utgikar *et al.*, 2004).

Η ανοχή των μικροοργανισμών στα ιόντα των μετάλλων εξαρτάται και από το στέλεχος (Poulson *et al.*, 1997; Sani *et al.*, 2001a; Sani *et al.*, 2001b; Sani *et al.*, 2003) ενώ η ανοχή των επιμέρους θειοαναγωγικών ειδών που συνυπάρχουν σε μικτούς πληθυσμούς διαφέρει από την αντίστοιχη καθαρών καλλιεργειών (Postgate, 1979). Επίσης, η επίδραση της παρουσίας μετάλλων στο διάλυμα είναι δυσμενέστερη για τους μικροοργανισμούς σε συστήματα διαλείποντος έργου παρά σε συστήματα συνεχούς λειτουργίας (Clancy *et al.*, 1992).

Τα ακινητοποιημένα κύτταρα επιδεικνύουν ανοχή σε υψηλότερες συγκεντρώσεις τοξικών συστατικών από ό,τι τα ελεύθερα αιωρούμενα (Keweloh *et al.*, 1989). Ειδικότερα, έχει δειχθεί ότι τα λεπτά βιολογικά στρώματα έχουν υψηλότερη ανοχή σε χαλκό και μόλυβδο από τα κύτταρα σε πλανκτονική κατάσταση (Teitzel *et al.*, 2003). Αυτό μπορεί να συμβαίνει επειδή οι



εξωτερικές στοιβάδες του βιολογικού στρώματος προστατεύουν τις εσωτερικές από την ανασταλτική δράση των ιόντων μέσω ενός μηχανισμού αντίστασης στη μεταφορά μάζας ή επειδή οι πολυμερικές ουσίες (ενότητα 2.3.3), οι οποίες παράγονται από το στρώμα των ακινητοποιημένων κυττάρων, συμπλοκοποιούν τα ιόντα των μετάλλων, καθυστερώντας έτσι τη διάχυσή τους στο εσωτερικό του βιολογικού στρώματος (Gantzer, 1989).

Σε μία σύνοψη της διαθέσιμης βιβλιογραφίας σε μία πρόσφατη μελέτη (Utgikar *et al.*, 2003), δίνεται το εύρος των τοξικών συγκεντρώσεων<sup>22</sup> για διάφορα μέταλλα: 2-50 mg/L Cu, 13-40 mg/L Zn, 75-125 mg/L Pb, 4-54 mg/L Cd, 10-20 mg/L Ni, 60 mg/L Cr, 74 mg/L Hg.

Σε αντίθεση με τον κοινό τόπο ότι τα μέταλλα έχουν τοξική ή ανασταλτική δράση μόνο σε διαλυτή μορφή, έχει αποδειχθεί (Utgikar *et al.*, 2002) ότι και οι αδιάλυτες ενώσεις των μετάλλων, και ιδιαίτερα οι θειούχες ενώσεις, μπορούν να επηρεάσουν τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων, καθώς κατακρημνίζονται πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου και παρεμποδίζουν την πρόσβαση του μικροοργανισμού σε οργανικό υπόστρωμα και άλλα θρεπτικά στοιχεία.

#### Παρουσία οξυανιόντων

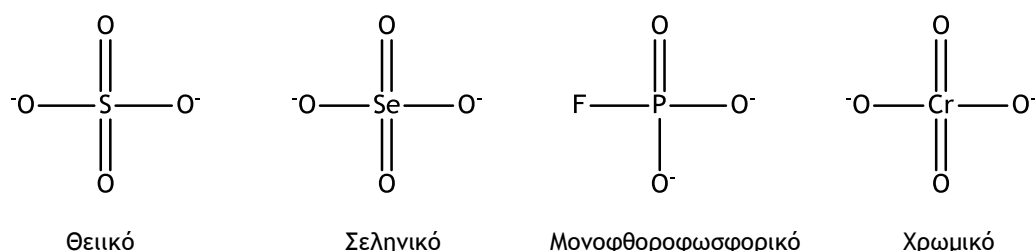
Ορισμένα οξυανιόντα μετάλλων ή μεταλλοειδών επηρεάζουν τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων, είτε αναστέλλοντάς την λόγω τοξικότητας είτε δρώντας ανταγωνιστικά ως προς το θειικό ιόν λόγω της ομοιότητας στη στερεοχημική διάταξη αλλά και στην κατανομή των ηλεκτρονίων που παρουσιάζουν ως προς αυτό (Postgate, 1952; 1979).

Σύμφωνα με μελέτη της δράσης του είδους *Desulfovibrio vulgaris* παρουσία διαφόρων στερεοχημικών αναλόγων του θειικού ιόντος (οξυανιόντων, δηλαδή, με συμμετρική τετραεδρική δομή), προκύπτει ότι μόνο τα δισθενή (Σχήμα 2.7) επηρεάζουν ανταγωνιστικά την ανάπτυξη των βακτηρίων καθώς και την αναγωγή των θειικών ιόντων, αλλά όχι των θειωδών και των θειοθειικών ιόντων. Από αυτά, η επίδραση του σεληνικού και του μονοφθοροφωσφορικού ιόντος αφορά στο σύστημα των θειοαναγωγικών ενζύμων ενώ το χρωμικό ιόν αναστέλλει τη θειοαναγωγική δραστηριότητα λόγω των οξειδωτικών του ιδιοτήτων (Postgate, 1952; 1979). Επίσης, εξετάζεται η πιθανότητα το χρωμικό ιόν να μην μπορεί να προσεγγίσει το ένζυμο λόγω του μεγέθους του καθώς η διάμετρός του είναι σημαντικά μεγαλύτερη από του θειικού, του σεληνικού ή του μονοφθοροφωσφορικού (Postgate, 1952).

Αναφορικά με το μολυβδαίνιο, που είναι απαραίτητο για τη σύνθεση των ενζύμων που συμμετέχουν στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις των θειοαναγωγικών βακτηρίων (Barton *et al.*, 2009), οι υψηλές συγκεντρώσεις μολυβδαινικού ιόντος αναστέλλουν το μεταβολισμό των θειικών ιόντων και έχουν τοξική επίδραση στα θειοαναγωγικά βακτήρια. Το  $\text{MoO}_4^{2-}$  αναστέλλει τη δράση της σουλφουρυλάσης της ATP (Peck, 1959), του πρώτου ενζύμου που συμμετέχει στην ενεργοποίηση των θειικών ιόντων (αντίδραση (2.3)), σχηματίζοντας ένα ασταθές μόριο ισοδύναμο του μορίου της APS (Peck, 1962), με αποτέλεσμα την κατανάλωση της διαθέσιμης

<sup>22</sup> Η συγκέντρωση που προκαλεί παύση της μικροβιακής αναγωγής των θειικών ιόντων

ενέργειας χωρίς τη δημιουργία κατάλληλου δέκτη ηλεκτρονίων. Λόγω της ανασταλτικής του δράσης, το μολυβδαινικό ιόν έχει χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με νιτρώδη ιόντα για τον έλεγχο της μικροβιακά υποβοηθούμενης παραγωγής υδρόθειου (Nemati *et al.*, 2001).



Σχήμα 2.7. Δισθενή στερεοχημικά ανάλογα θειικού ιόντος

### Παρουσία ανταγωνιστικών βακτηριακών πληθυσμών

Ο ανταγωνισμός μεταξύ δύο ή περισσότερων πληθυσμών μικροοργανισμών περιγράφει μια αρνητική σχέση όπου οι διαφορετικοί πληθυσμοί επηρεάζονται αρνητικά αναφορικά με την επιβίωση και την ανάπτυξή τους. Επίσης, ο ανταγωνισμός θεωρείται η σημαντικότερη αλληλεπίδραση μεταξύ των οργανισμών και μια από τις κύριες αιτίες που προκαλούν την επιλογή και την εξέλιξη των ειδών.

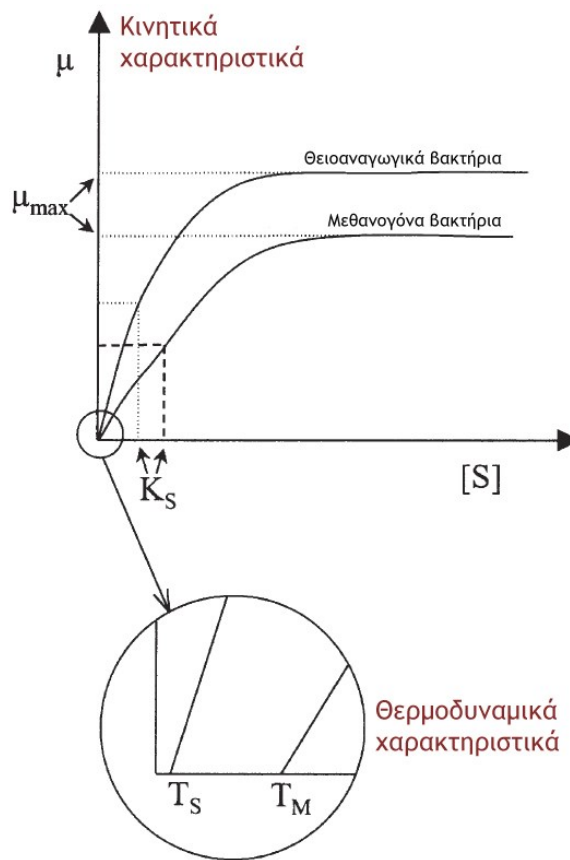
Σε αναερόβιες συνθήκες, παρουσία οργανικού φορτίου και θειικών ιόντων, τα θειοαναγωγικά βακτήρια ανταγωνίζονται τα μεθανογόνα για τα κοινά υποστρώματα, όπως το υδρογόνο, το οξικό, το προπιονικό και το βουτυρικό (Πίνακας 2.11), και το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού καθορίζεται από τα κινητικά (Πίνακας 2.12 και Πίνακας 2.13) και θερμοδυναμικά χαρακτηριστικά των εμπλεκόμενων μικροοργανισμών (Εικόνα 2.6).

Από θερμοδυναμικής άποψης, υπάρχει μια οριακή συγκέντρωση υποστρώματος (τιμή  $T$ , Εικόνα 2.6), κάτω από την οποία η παραγόμενη ενέργεια δεν επαρκεί για τη διατήρηση της διεργασίας. Στην περίπτωση ανταγωνιστικών βακτηρίων, αυτό που μπορεί να αναπτυχθεί σε συγκέντρωση υποστρώματος μικρότερη από την οριακή συγκέντρωση του δεύτερου μικροοργανισμού, επειδή η ενέργεια που παράγεται κατά το μετασχηματισμό του υποστρώματος επαρκεί για τη διατήρησή του, ουσιαστικά αναστέλλει την ανάπτυξη του άλλου βακτηρίου (Stams *et al.*, 2003).

Από κινητικής άποψης, το αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ δύο μικροοργανισμών που ανταγωνίζονται για το ίδιο υπόστρωμα, μπορεί να προβλεφθεί με βάση το μοντέλο του Monod<sup>23</sup> ή των Michaelis-Menten<sup>24</sup>. Στην περίπτωση που δύο βακτήρια, τα οποία

<sup>23</sup> Εξίσωση Monod:  $\mu = \mu_{\max} \times \frac{S}{K_s + S}$ , όπου  $\mu$  ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης και  $K_s$  η συγκέντρωση υποστρώματος για την οποία ισχύει  $\mu = \frac{\mu_{\max}}{2}$ . Το  $K_s$  αποτελεί δείκτη της συγγένειας μεταξύ μικροοργανισμού και υποστρώματος.

ανταγωνίζονται για το ίδιο υπόστρωμα, αναπτύσσονται πλανκτονικά (σε αιώρημα), επικρατεί ο οργανισμός με την υψηλότερη  $\mu_{max}$  στις υψηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος ενώ, στις χαμηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος, κινητικό πλεονέκτημα έχουν τα βακτήρια με τον υψηλότερο λόγο  $\mu_{max}/K_s$ . Στην περίπτωση, όμως, που τα δύο αυτά βακτήρια αναπτύσσονται σε ακινητοποιημένη κατάσταση (σε λεπτό βιολογικό στρώμα, όπου, λόγω της υψηλής πυκνότητας βιομάζας, η βακτηριακή ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα), ο λόγος  $V_{max}/K_m$  μπορεί να δείξει ποιος τύπος οργανισμού διαθέτει τα καταλληλότερα ενζυμικά συστήματα για την αποικοδόμηση των υποστρωμάτων (Oude Elferink *et al.*, 1994; Robinson *et al.*, 1984; Stams *et al.*, 2003; Visser, 1995).



Εικόνα 2.6. Κινητικά και θερμοδυναμικά χαρακτηριστικά του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Stams *et al.*, 2003)

<sup>24</sup> Εξίσωση Michaelis-Menten:  $V = V_{max} \times \frac{S}{K_m + S}$ , όπου  $V$  ο ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος και  $K_m$  ο συντελεστής ημικορεσμού.

Πίνακας 2.11. Αντιδράσεις αναγωγής θειικών, μεθανογένεσης και οξικογένεσης που λαμβάνουν χώρα κατά την αποικοδόμηση της οργανικής ύλης σε αναερόβιες συνθήκες

Αντίδραση	$\Delta G_0'$ kJ/mol υποστρώματος*
<b>Αντιδράσεις αναγωγής θειικών</b>	
$4\text{HCOO}^- + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow 4\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-36,7
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47,6
$4\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 4\text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{HCO}_3^- + 3\text{HS}^- + \text{H}^+$	-37,7
$2\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 4\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HS}^- + \text{H}^+$	-27,8
$2\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}^+$	-80,0
$4\text{CH}_3\text{OH} + 3\text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow 4\text{HCO}_3^- + 3\text{HS}^-$	-90,4
$2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HS}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	-66,4
$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-38,1
<b>Αντιδράσεις μεθανογένεσης</b>	
$4\text{HCOO}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{HCO}_3^-$	-132,0
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31,0
$4\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-78,2
$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-33,9
<b>Αντιδράσεις οξικογένεσης</b>	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2 + \text{H}^+$	+76,1
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+48,3
$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	-4,2
$\text{CH}_3\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2 + \text{H}^+$	+23,5
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+9,6
<b>Αντιδράσεις ομοοξικογένεσης</b>	
$2\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$	-56,6
$4\text{CH}_3\text{OH} + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-55,0
$2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	-42,6
$4\text{H}_2 + 2\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-26,2

\* $\Delta G_0'$ : Μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας σε κανονικές συνθήκες (T = 25 °C και P = 1 atm) σε pH = 7

Πίνακας 2.12. Κινητικά δεδομένα ανάπτυξης επιλεγμένων υδρογονότροφων θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Oude Elferink et al., 1994; Stams et al., 2003)

Μικροοργανισμός	Y (g/mol)	K <sub>s</sub> (μM)	μ <sub>max</sub> (1/d)	K <sub>m</sub> (μM)	V <sub>max</sub> (μmol/g min)
Θειοαναγωγικά Βακτήρια					
<i>Desulfobacter hydrogenophilus</i>			1,0		
<i>Desulfobacterium autotrophicum</i>			0,7-1,1		
<i>Desulfobulbus propionicus</i>			0,2-1,7		
<i>Desulfomicrobium escambium</i>			1,4		
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	1,9		2,6-4,3	1,8-4,0	88
<i>Desulfovibrio G11</i>	1,4-2,0	2,4-4,2	1,2-1,6	1,1	65
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	0,6-2,6	4,0	0,7-5,5	1,3-4,0	30
Μεθανογόνα Βακτήρια					
<i>Methanobacterium bryantii</i>	0,6		0,3-0,4		
<i>Methanobacterium formicicum</i>	0,9		1,2-2,8	2,0	
<i>Methanobacterium ivanovii</i>	1,1		0,8-1,7	14,0	
<i>Methanobrevibacter arboriphilus</i>	0,6-1,3		1,4-3,4	6,6	
<i>Methanobrevibacter smithii</i>			4,1		
<i>Methanosarcina barkeri</i>	1,6-2,2		1,4	13,0	110
<i>Methanosarcina mazei</i>			1,4-1,7		
<i>Methanospirillum hungatei</i>	0,3-0,5	5,8-7,3	1,2-1,3	5,0	70

1) Η απόδοση Y δίνεται σε γραμμάρια ξηρής μάζας κυττάρων που παράγονται ανά mol υποστρώματος.

2) Τα εύρη τιμών αντιστοιχούν σε ευρήματα μελετών με διαφορετικά στελέχη του κάθε είδους μικροοργανισμού.

Πίνακας 2.13. Κινητικά δεδομένα ανάπτυξης επιλεγμένων οξικότροφων θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Oude Elferink et al., 1994; Oude Elferink et al., 1998; Stams et al., 2003)

Μικροοργανισμός	Y (g/mol)	K <sub>s</sub> (μM)	μ <sub>max</sub> (1/d)	K <sub>m</sub> (μM)	V <sub>max</sub> (μmol/g min)
Θειοαναγωγικά Βακτήρια					
<i>Desulfobacca acetoxidans</i>			0,3-0,4	0,6	43
<i>Desulfobacter curvatus</i>			0,8		
<i>Desulfobacter hydrogenophilus</i>			0,9		
<i>Desulfobacter latus</i>			0,8		
<i>Desulfobacter postgatei</i>	4,3-4,8		0,7-1,1	0,1-0,2	53
<i>Desulfomaculum acetoxidans</i>	5,6		0,7-1,4		
<i>Desulforhabdus amnigenus</i>			0,1-0,2	0,6	28
Μεθανογόνα Βακτήρια					
<i>Methanosaeta concilii</i>	1,1-1,2	1,2	0,2-0,7	0,8	16
<i>Methanosaeta soehngenii</i>	1,1-1,4	0,5-0,7	0,1-0,3	0,4-1,2	38-42
<i>Methanosarcina barkeri</i>	1,6-3,4	5,0	0,5-0,7	3,0	
<i>Methanosarcina mazei</i>	1,9		0,5		

1) Η απόδοση Y δίνεται σε γραμμάρια ξηρής μάζας κυττάρων που παράγονται ανά mol υποστρώματος.

2) Τα εύρη τιμών αντιστοιχούν σε ευρήματα μελετών με διαφορετικά στελέχη του κάθε είδους μικροοργανισμού.

Αναφορικά με τον ανταγωνισμό για το υδρογόνο, τα υδρογονότροφα θειοαναγωγικά βακτήρια επικρατούν των αντίστοιχων μεθανογόνων με την προϋπόθεση ότι δεν είναι περιορισμένη η συγκέντρωση των θειικών ιόντων (Omil *et al.*, 1996; Rinzema *et al.*, 1988; Visser *et al.*, 1993a). Θερμοδυναμικά, ευνοείται περισσότερο η αναγωγή θειικών ιόντων, λιγότερο η μεθανόγενεση και ακόμα λιγότερο η ομοοξικογένεση (Πίνακας 2.11). Επίσης, επειδή τα υδρογονότροφα θειοαναγωγικά βακτήρια κερδίζουν περισσότερη ενέργεια από την κατανάλωση του μοριακού υδρογόνου και έχουν υψηλότερη συγγένεια ως προς το υπόστρωμα σε σχέση με τα αντίστοιχα μεθανογόνα (Lens *et al.*, 2000a), διατηρούν τη συγκέντρωση του υδρογόνου χαμηλότερα από την οριακή τιμή που ισχύει για τα μεθανογόνα, με αποτέλεσμα να μην ευνοείται ενεργειακά η κατανάλωση του υδρογόνου για παραγωγή μεθανίου (Lovley *et al.*, 1982; Lovley, 1985). Η αναμενόμενη επικράτηση των θειοαναγωγικών βακτηρίων έναντι των μεθανογόνων έχει παρατηρηθεί σε μελέτες με ιζήματα (Lovley *et al.*, 1982) καθώς και σε αναερόβιους αντιδραστήρες (Rinzema *et al.*, 1988; Visser, 1995).

Αναφορικά με τον ανταγωνισμό για το οξικό, τα οξικότροφα θειοαναγωγικά βακτήρια φαίνεται ότι έχουν θερμοδυναμικό πλεονέκτημα έναντι των μεθανογόνων (Πίνακας 2.11) και η αναμενόμενη επικράτησή τους σε συνθήκες περίσσειας θειικών ιόντων έχει επιβεβαιωθεί σε αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης (Gupta *et al.*, 1994). Ωστόσο, το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού δεν είναι πάντα προβλέψιμο στους σύγχρονους αναερόβιους αντιδραστήρες ακινητοποιημένης βιομάζας (Lens *et al.*, 2000a), καθώς επηρεάζεται από αρκετούς παράγοντες (Πίνακας 2.14) εκτός της κινητικής ανάπτυξης (Oude Elferink *et al.*, 1998), όπως η συγκέντρωση του οξικού και των θειικών, ο αρχικός αριθμός των βακτηρίων στο εμβόλιο, η θερμοκρασία, το pH, η παρουσία τοξικών συστατικών και άλλων ιχνοστοιχείων (Oude Elferink *et al.*, 1994; Visser, 1995).

Γενικά, η ένταση και το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από το λόγο  $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-}$  του διαλύματος προς επεξεργασία καθώς και από το pH που επικρατεί στο εσωτερικό του αντιδραστήρα. Ο λόγος  $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-}$  καθορίζει αν θα είναι τα θειικά ή ο άνθρακας το υπόστρωμα που θα περιορίζει την ανάπτυξη των θειοαναγωγικών βακτηρίων (Harada *et al.*, 1994; McCartney *et al.*, 1993; Uberoi *et al.*, 1995), ενώ το pH επηρεάζει το βαθμό της ανασταλτικής δράσης των θειούχων ειδών (Maillacherunu *et al.*, 1993; McCartney *et al.*, 1991; Okabe *et al.*, 1995; Reis *et al.*, 1992). Αυτό είναι ιδιαίτερος σημαντικό στην περίπτωση των οξικότροφων θειοαναγωγικών βακτηρίων που επιδεικνύουν υψηλή ευαισθησία προς το αδιάστατο υδρόθειο (Maillacherunu *et al.*, 1996; Stucki *et al.*, 1993).

Πίνακας 2.14. Παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού μεταξύ οξικότροφων θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Hulshoff Pol *et al.*, 1998)

Παράγοντας	Βιβλιογραφική αναφορά
<b>Εμβόλιο</b>	
Τύπος εμβολίου	(McCartney <i>et al.</i> , 1991)
Σύνθεση βακτηριακού πληθυσμού	(Harada <i>et al.</i> , 1994; Omil <i>et al.</i> , 1998)
Ακίνητοποίηση βακτηρίων	(Isa <i>et al.</i> , 1986)
<b>Τροφοδοσία</b>	
Είδος οργανικού άνθρακα	(Polprasert <i>et al.</i> , 1995)
Συγκέντρωση οξικού	(Yoda <i>et al.</i> , 1987)
Συγκέντρωση θειικών	(Overmeire <i>et al.</i> , 1994)
Συγκέντρωση θειούχων	(Omil <i>et al.</i> , 1996)
Συγκέντρωση Ca <sup>2+</sup> και Mg <sup>2+</sup>	(de Smul <i>et al.</i> , 1999b)
<b>Συνθήκες λειτουργίας</b>	
pH	(de Smul <i>et al.</i> , 1999b; Visser <i>et al.</i> , 1996)
Θερμοκρασία	(Visser <i>et al.</i> , 1992)
Εμβολιασμός με νέα βακτηριακά είδη	(Omil <i>et al.</i> , 1997)
Διάρκεια πειράματος	(Harada <i>et al.</i> , 1994; Omil <i>et al.</i> , 1998)

### 2.3. Εφαρμογή θειοαναγωγικών βακτηρίων στην απομάκρυνση ιόντων μετάλλων από υδατικά διαλύματα

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των θειοαναγωγικών βακτηρίων και των ιόντων μετάλλων καθώς και η δυνατότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων να προκαλούν μεταβολές στην οξειδωτική κατάσταση των μετάλλων μελετώνται από το πρώτο μισό του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Οι πρώτες μελέτες ήταν εστιασμένες στην ανεπιθύμητη, μικροβιακά υποβοηθούμενη, θειοαναγωγική δραστηριότητα και οι αλληλεπιδράσεις με τα μέταλλα διερευνώνταν συχνά στο πλαίσιο της χρήσης των μετάλλων ως ανασταλτικών παραγόντων για τον περιορισμό της ανάπτυξης και της δράσης των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Όσο, όμως, αναγνωριζόταν η σημασία της συνεισφοράς των μικροοργανισμών στους βιογεωχημικούς κύκλους, το πεδίο της έρευνας μετατοπιζόταν προς τον περιβαλλοντικό ρόλο των θειοαναγωγικών βακτηρίων και την ικανότητά τους να ελέγχουν την κινητικότητα των μετάλλων (Hockin *et al.*, 2007).

#### 2.3.1. Βιοκαταβύθιση ιόντων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων

##### Γενικά

Η καταβύθιση θειούχων ενώσεων των μετάλλων είναι μια σημαντική διεργασία στην υδρομεταλλουργική επεξεργασία μεταλλευμάτων και υγρών αποβλήτων και έχει μελετηθεί με στερεές (FeS, CaS), υγρές (Na<sub>2</sub>S) ή αέριες (H<sub>2</sub>S) πηγές θειούχων ιόντων (Lewis, 2010) καθώς προσφέρει αξιολογικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την καταβύθιση υδροξειδίων (Huisman *et al.*, 2006):

- Υψηλή αντιδραστικότητα των θειούχων ιόντων με τα ιόντα των βαρέων μετάλλων και πολύ χαμηλή διαλυτότητα των αντίστοιχων θειούχων ενώσεων σε μεγάλος εύρος τιμών pH, με αποτέλεσμα χαμηλότερες συγκεντρώσεις στο επεξεργασμένο διάλυμα.
- Η κατακρήμνιση θειούχων ενώσεων δεν επηρεάζεται από την παρουσία συμπλόκων και των περισσότερων συμπλοκοποιητών.
- Παρουσία θειούχων ιόντων, επιτυγχάνεται απομάκρυνση των χρωμικών και διχρωμικών ιόντων χωρίς να απαιτείται προηγούμενη αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου σε τρισθενές.
- Υπάρχει δυνατότητα εκλεκτικής καταβύθισης των μετάλλων.
- Η παραγόμενη ιλύς είναι, γενικά, πυκνότερη (6-10 φορές μικρότερος όγκος ιλύος) και σταθερότερη σε σύγκριση με την ιλύ των υδροξειδίων, με καλύτερες ιδιότητες πάχυνσης και αφύγρανσης, με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η περαιτέρω επεξεργασία της.

Η μέθοδος αυτή έχει αποδειχθεί εφικτή και αποτελεσματική σε πειράματα επαφής αραιών διαλυμάτων μετάλλων με Na<sub>2</sub>S όπου το κάδμιο, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός απομακρύνθηκαν από την υδατική φάση σε ποσοστό μεγαλύτερο του 99% ενώ η τελική συγκέντρωση των ιόντων των μετάλλων αυτών ήταν 0,05-0,1 mg/L (Bhattacharyya *et al.*, 1979). Η αποτελεσματικότητα της διεργασίας όσο αφορά την ποσοτική καταβύθιση θειούχων ενώσεων διαφόρων δισθενών



μετάλλων με βιολογικά παραγόμενο υδρόθειο (Cao *et al.*, 2009; Foucher *et al.*, 2001) ή θειούχα ιόντα (Jong *et al.*, 2003) έχει δειχθεί σε πληθώρα μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε ποικίλες συνθήκες (Hao, 2000), με τα ανόργανα κατακρημνίσματα να εντοπίζονται στο κυτταρικό τοίχωμα (Fortin *et al.*, 1994), στο λεπτό βιολογικό στρώμα ή στον όγκο του ρευστού (Villa-Gomez *et al.*, 2011).

#### Διαλυτότητα στερεών θειούχων ενώσεων των δισθενών μετάλλων

Όπως προκύπτει από τη μεταβολή της συγκέντρωσης των ειδών των θειούχων ιόντων συναρτήσει του pH (Σχήμα 2.5), στην περιοχή των ουδέτερων και αλκαλικών pH επικρατούν τα όξινα θειούχα ιόντα, τα οποία είναι το κύριο προϊόν της μικροβιακά υποβοηθούμενης αναγωγής των θειικών ιόντων (ενότητα 2.1.2). Τα όξινα θειούχα είναι ένα εξαιρετικά δραστικό είδος, με τάση σχηματισμού δεσμών με τα κατιόντα των μετάλλων που βρίσκονται στο διάλυμα. Ως αποτέλεσμα, σχηματίζονται θειούχες ενώσεις, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως ελάχιστα διαλυτές, σε ισορροπία με τις στερεές και τις υδατικές φάσεις. Ο βαθμός διαλυτοποίησης εκφράζεται με τη σταθερά του γινομένου διαλυτότητας,  $K_{sp}$ , και δίνεται από την παρακάτω αντίδραση (Stumm *et al.*, 1996):



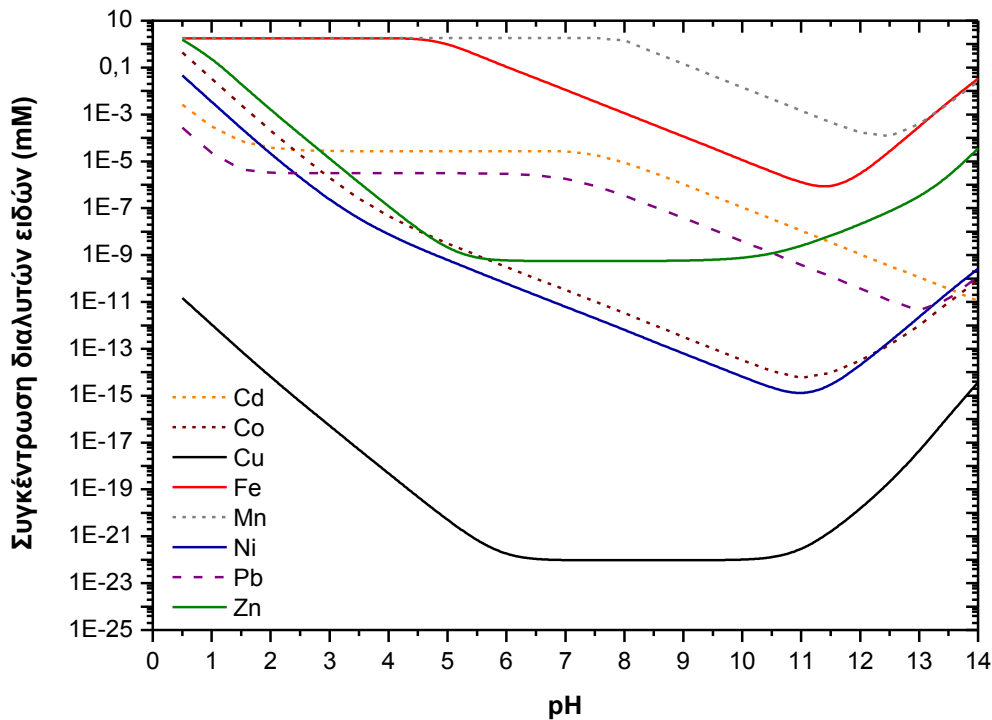
όπου Me ένα δισθενές κατιόν μετάλλου.

Σύμφωνα με την αντίδραση ισορροπίας (2.35), η συγκέντρωση του μετάλλου που παραμένει στο διάλυμα είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης των όξινων θειούχων. Θεωρώντας ότι τα θειικά ιόντα απαντώνται σε συγκεντρώσεις  $10^3$  φορές υψηλότερες από τις συγκεντρώσεις των ιόντων μετάλλων, προκύπτει ότι η καταβύθιση θειούχων ενώσεων είναι αποτελεσματικός τρόπος απομάκρυνσης των μετάλλων από το διάλυμα ακόμα και σε συνθήκες περιορισμένης θειοαναγωγικής δραστηριότητας (Hockin *et al.*, 2007). Για παράδειγμα, αναφέρεται στη βιβλιογραφία μελέτη λειτουργίας θειοαναγωγικού αντιδραστήρα ρευστοστερεής κλίνης για την επεξεργασία υδατικού διαλύματος καδμίου αρχικής συγκέντρωσης 100 mg/L όπου η απομάκρυνση των ιόντων καδμίου ήταν ποσοτική (έως < 1 mg/L) ακόμα και για αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων 125 mg/L (Ma *et al.*, 1997).

Η διαλυτότητα των περισσότερων θειούχων ενώσεων των μετάλλων είναι εξαιρετικά χαμηλή (Πίνακας 2.15), που σημαίνει ότι οι περισσότερες από αυτές είναι πρακτικά αδιάλυτες σε αναερόβιες συνθήκες και περίπου ουδέτερο pH. Επίσης, λόγω των εξαιρετικά χαμηλών γινομένων διαλυτότητας και των ευρέων πεδίων σταθερότητας πολλών θειούχων ενώσεων μετάλλων (Σχήμα 2.8), υπάρχει καταβύθιση και σε όξινα pH όταν υπάρχουν διαθέσιμα θειούχα ιόντα σε στοιχειομετρική περίσσεια. Ωστόσο, υπάρχουν διαφορές αρκετών τάξεων μεγέθους αναφορικά με τη σταθερά  $K_{sp}$  διαφορετικών θειούχων φάσεων του ίδιου μετάλλου ενώ υπάρχουν και είδη, όπως το μαγγάνιο (Mn), με αρκετά πολύπλοκη χημεία και πιο διαλυτές θειούχες ενώσεις.

Πίνακας 2.15. Σταθερές γινομένου διαλυτότητας δυσδιάλυτων ενώσεων επιλεγμένων μετάλλων (Dean, 1999)

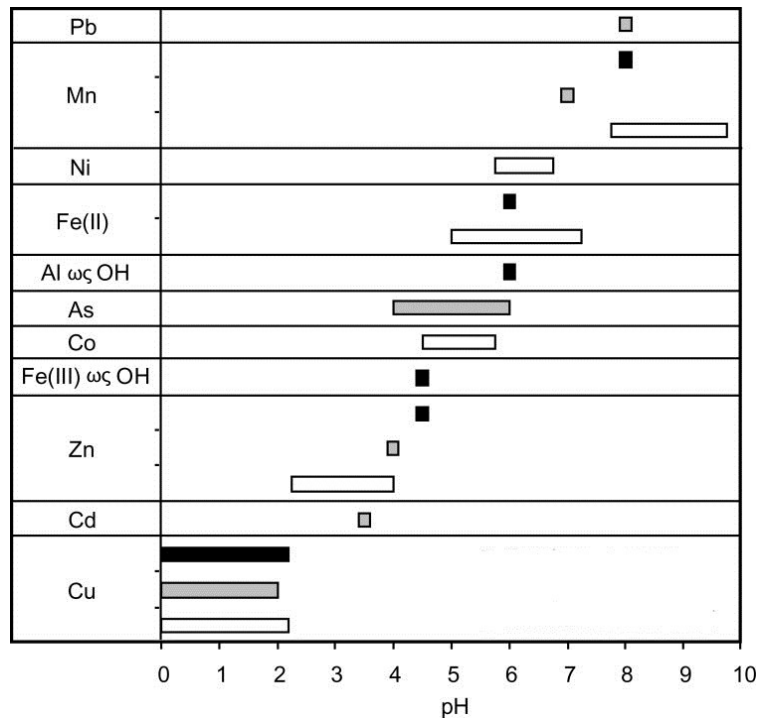
Μέταλλο	Ανθρακική ένωση	Υδροξείδιο	Θειούχος ένωση
Κάδμιο (Cd)	$1,0 \times 10^{-12}$	$7,2 \times 10^{-15}$	$8,0 \times 10^{-27}$ CdS
Κοβάλτιο (Co)	$1,4 \times 10^{-13}$	$5,9 \times 10^{-15}$	$4,0 \times 10^{-21}$ α-CoS $2,0 \times 10^{-25}$ β-CoS
Μαγγάνιο (Mn)	$2,3 \times 10^{-11}$	$1,9 \times 10^{-13}$	$2,5 \times 10^{-10}$ άμορφο MnS $2,5 \times 10^{-13}$ κρυσταλλικό MnS
Μόλυβδος (Pb)	$7,4 \times 10^{-14}$	$1,4 \times 10^{-15}$	$8,0 \times 10^{-28}$ PbS
Νικέλιο (Ni)	$1,4 \times 10^{-7}$	$5,5 \times 10^{-16}$	$3,2 \times 10^{-19}$ α-NiS $1,0 \times 10^{-24}$ β-NiS $2,0 \times 10^{-26}$ γ-NiS
Σίδηρος (Fe-II)	$3,1 \times 10^{-11}$	$4,9 \times 10^{-17}$	$6,3 \times 10^{-18}$ FeS
Υδράργυρος (Hg)		$3,2 \times 10^{-26}$	$1,6 \times 10^{-52}$ μαύρο HgS $4,0 \times 10^{-53}$ κόκκινο HgS
Χαλκός (Cu)	$1,4 \times 10^{-10}$	$2,2 \times 10^{-20}$	$6,3 \times 10^{-36}$ CuS
Ψευδάργυρος (Zn)	$1,5 \times 10^{-10}$	$3,0 \times 10^{-17}$	$2,5 \times 10^{-22}$ β-ZnS $1,6 \times 10^{-24}$ α-ZnS



Σχήμα 2.8. Καμπύλες μεταβολής της συγκέντρωσης των υδατοδιαλυτών ειδών δισθενών μετάλλων συναρτήσει του pH παρουσία όξινων θειούχων ιόντων στους 25 °C (Αρχική συγκέντρωση ιόντων μετάλλου 100 mg/L και όξινων θειούχων ιόντων 500 mg/L, λογισμικό Visual Minteq)

Θεωρητικά, ελέγχοντας το pH και τη συγκέντρωση των θειούχων ιόντων εντός μιας συγκεκριμένης περιοχής, είναι δυνατό να καταβυθιστεί μόνο η θειούχος ένωση του μετάλλου με τη χαμηλότερη τιμή γινομένου διαλυτότητας (Veecken *et al.*, 2003b), επιτυγχάνοντας έτσι εκλεκτική καταβύθιση συγκεκριμένου μετάλλου από πολυμεταλλικά διαλύματα. Στη βιβλιογραφία, προτείνονται βέλτιστες περιοχές pH για την καταβύθιση διαφόρων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων (Εικόνα 2.7) ενώ, σε πρόσφατες εργασίες, μελετήθηκε και επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα διαχωρισμού μεταλλικών αξιών από μικτά διαλύματα με έλεγχο των συνθηκών λειτουργίας των θειοαναγωγικών αντιδραστήρων. Έτσι,

- σε θειοαναγωγικό αντιδραστήρα με παροχή αερίου που λειτουργούσε σε pH 5 επιτεύχθηκε ανάκτηση νικελίου υψηλότερη από 99,9% από διάλυμα νικελίου-δισθενούς σιδήρου, με τελική συγκέντρωση νικελίου στο επεξεργασμένο διάλυμα <0,05 μM και καταβύθιση NiS με περιεκτικότητα σε νικέλιο υψηλότερη από 83% ενώ ο δισθενής σίδηρος παρέμενε στο διάλυμα (Bijmans *et al.*, 2009c)
- για την εκλεκτική καταβύθιση χαλκού και ψευδαργύρου από όξινο διάλυμα που περιείχε και δισθενή σίδηρο και αλουμίνιο σε σύστημα δύο θειοαναγωγικών αντιδραστήρων σταθερής κλίνης ανοδικής ροής που λειτουργούσαν σε σειρά, παρατηρήθηκε πλήρης απομάκρυνση του χαλκού στον πρώτο αντιδραστήρα σε pH 2,2-2,5 με ελάχιστη καταβύθιση ψευδαργύρου και πλήρης απομάκρυνση του ψευδαργύρου στο δεύτερο αντιδραστήρα σε pH 4,0 ενώ ο δισθενής σίδηρος παρέμενε στο διάλυμα (Nancuccheo *et al.*, 2012)
- σε αντίστοιχη μελέτη εκλεκτικής καταβύθισης χαλκού και ψευδαργύρου σε σύστημα 3 βαθμίδων (Σχήμα 3.9, (α) και (β)) χρησιμοποιήθηκε το αέριο υδρόθειο που σχηματιζόταν κατά τη λειτουργία θειοαναγωγικού αντιδραστήρα με πετάσματα για την καταβύθιση του χαλκού σε pH<2 (χωρίς καταβύθιση του ψευδαργύρου) και το ρεύμα εξόδου του αντιδραστήρα που περιείχε θειούχα ιόντα και αλκαλικότητα για την καταβύθιση του ψευδαργύρου σε ποσοστό 84-98% ανάλογα με την αναλογία θειούχων ιόντων/ιόντων ψευδαργύρου (Sahinkaya *et al.*, 2009)
- ο Tabak και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια σύνθετη διεργασία 6 βαθμίδων για την καταβύθιση θειούχων ενώσεων χαλκού, ψευδαργύρου, δισθενούς σιδήρου και μαγγανίου με χρήση βιολογικά παραγόμενου υδρόθειου καθώς και υδροξειδίων αργιλίου και τρισθενούς σιδήρου με χρήση καυστικού νατρίου (Tabak *et al.*, 2003b)



Εικόνα 2.7. Προτεινόμενες βέλτιστες τιμές pH διαλύματος για την καταβύθιση διαφόρων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων ή υδροξειδίων (Kaksonen *et al.*, 2007)

#### Σχηματισμός και στοιχειομετρία στερεών θειούχων ενώσεων

Η αντίδραση (2.35) περιγράφει απλουστευμένα το σχηματισμό θειούχων ενώσεων των μετάλλων, ο οποίος, στην πραγματικότητα, εξελίσσεται μέσω μιας διαδικασίας πολλών σταδίων και, γενικά, καταλήγει στην αρχική κατακρήμνιση μη στοιχειομετρικών φάσεων που υφίστανται διαγενετική αναδιάταξη προς πιο κρυσταλλικές φάσεις (Hockin *et al.*, 2007).

Οι διάφορες θειούχες ενώσεις του σιδήρου, του ψευδαργύρου, του χαλκού, του καδμίου και του μολύβδου αποδίδουν μικροσκοπικά συμπλέγματα, τα οποία ονομάζονται και μοριακά συμπλέγματα, που αποτελούνται από απροσδιόριστο αριθμό μοριακών μονάδων με συγκεκριμένη στοιχειομετρία. Τα συμπλέγματα αυτά, μεγέθους 0,5-1 nm, που συμβολίζονται με το γενικό τύπο  $MeS_{aq}$ , σχηματίζονται γρήγορα με στοιχειομετρία του τύπου  $Me_2S_2$  για το σίδηρο και  $Me_3S_3$ ,  $Me_4S_4$  και  $Me_4S_6$  για τον ψευδάργυρο, το χαλκό, το μόλυβδο και τον άργυρο και είναι εξαιρετικά σταθερά. Οι στοιχειομετρίες αυτές ισχύουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (< 2  $\mu M$ ) ιόντων μετάλλων και θειούχων ενώ, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (> 10  $\mu M$ ), συμβαίνει συσσωμάτωση σε αυστηρότερης τάξης πολυατομικά νανοκρυσταλλικά σωματίδια (Luther *et al.*, 2005).

Στην περίπτωση των θειούχων ενώσεων του δισθενούς σιδήρου, προκύπτει ότι η πρώτη φάση που σχηματίζεται είναι νανοσωματιδιακός, μετασταθής μακιναβίτης, μεγέθους σωματιδίου 2  $\mu m$ , σηματοδοτώντας το τέλος ενός συνεχούς μέσου μεταξύ των υδατικών συμπλεγμάτων  $FeS$  και του στερεού υλικού. Η παρατήρηση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τον κανόνα Ostwald,

κατά τον οποίο κατακρημνίζεται πρώτα η φάση με την υψηλότερη διαλυτότητα (δηλαδή, η λιγότερο σταθερή στερεή φάση) σε μια συνεχή αντίδραση καταβύθισης, υποδεικνύοντας ότι ο σχηματισμός των ανόργανων φάσεων συμβαίνει μέσω πρόδρομων (ενδιάμεσων) ενώσεων που αναγνωρίζονται σε μοριακό επίπεδο (Luther *et al.*, 2005).

Σε χαμηλή θερμοκρασία (< 100 °C), η αντίδραση των ιόντων δισθενούς σιδήρου και των πολυθειούχων ιόντων αποδίδει αρχικά άμορφο FeS καθώς ο σχηματισμός πυρήνων FeS<sub>2</sub> είναι εξαιρετικά αργός. Κάτω από τους 100 °C, η μετατροπή του μακιναβίτη (FeS) σε πυρίτη (FeS<sub>2</sub>) εξελίσσεται με σημαντική ταχύτητα μόνο εφόσον υπάρχουν είδη του θείου ενδιάμεσης οξειδωτικής κατάστασης (π.χ. πολυθειούχα, πολυθειονικά ή θειοθειικά ιόντα, Πίνακας 2.3). Απουσία ειδών θείου ή όταν υπάρχουν μόνο όξινα θειούχα ιόντα ή υδρόθειο (καθώς τα υπόλοιπα ενδιάμεσα είδη του θείου δεν αναμένονται σε σημαντικές συγκεντρώσεις σε ισχυρά αναγωγικές συνθήκες), η μετατροπή του FeS σε FeS<sub>2</sub> εξελίσσεται με αμελητέα ταχύτητα (Benning *et al.*, 2000; Schoonen *et al.*, 1991a; b).

Ο δισθενής ψευδάργυρος, Zn(II), απαντάται στα υδατικά διαλύματα σε οκταεδρική διάταξη, ως  $Zn(H_2O)_6^{2+}$  (Greenwood *et al.*, 1997). Η σταθερή θειούχος φάση του ψευδαργύρου, ο σφαλερίτης, σχηματίζεται με επαναλαμβανόμενες σειρές μονάδων ZnS, με το Zn και το S σε τετραεδρική διάταξη (Wells, 1975). Για τη μετάβαση από τη μια κατάσταση στην άλλη, πρέπει να συμβεί μια σειρά αντιδράσεων μεταξύ των ειδών  $Zn^{2+}$  και  $S^{2-}$  που θα προωθούν την αρχική αντικατάσταση του νερού από θειούχα ιόντα. Έπειτα, σχηματίζονται τα ενδιάμεσα προϊόντα των αντιδράσεων και αλλάζει ο αριθμός σύνταξης του ψευδαργύρου και του θείου. Η διαδικασία περιπλέκεται ακόμα περισσότερο λόγω της απελευθέρωσης πρωτονίων, καθώς το  $S^{2-}$  δεν έχει σημαντική ενεργότητα στα υδατικά διαλύματα. Το προϊόν είναι μια άμορφη φάση ZnS που αναπτύσσει μια προτιμώμενη δομή, συνήθως σφαλερίτη αλλά συχνά με ίχνη της μετασταθούς δίμορφης φάσης του, του βουρτσιήτη. Το σύμπλεγμα Zn<sub>4</sub>S<sub>6</sub> είναι δομικά ανάλογο του ορυκτού ZnS (ειδικότερα, του σφαλερίτη) και αποτελεί βιώσιμη πρόδρομη φάση για το σχηματισμό του αντίστοιχου ορυκτού (Luther *et al.*, 1999).

Η περίπτωση του συστήματος χαλκού-θείου είναι πιο πολύπλοκη καθώς ο Cu(II) ανάγεται σε Cu(I), παρουσία των διαλελυμένων θειούχων ιόντων, πριν καταβυθιστεί ως CuS (Luther *et al.*, 1996; Luther *et al.*, 2002). Ως αποτέλεσμα, σχηματίζονται διάφορα σύμπλοκα με τα όξινα θειούχα, θειούχα και πολυθειούχα ιόντα τύπου μικτού υποκαταστάτη καθώς και μονοπύρηνια και πολυπύρηνια σύμπλοκα (Luther *et al.*, 1996) και παρατηρούνται πολλές σταθερές, μετασταθείς και ενδιάμεσες φάσεις, μεταξύ του χαλκοσίτη (Cu<sub>2</sub>S) και του κοβελίνης (CuS), με διαφορετική αναλογία ατόμων χαλκού και θείου στο πλέγμα (Pattrick *et al.*, 1997). Σε συγκεντρώσεις μΜ, θεωρείται ότι σχηματίζονται στο διάλυμα δακτύλιοι Cu<sub>3</sub>S<sub>3</sub>, οι οποίοι οικοδομούν στη συνέχεια τα υδατικά συμπλέγματα CuS που προκαλούν την κατακρήμνιση θειούχων φάσεων του χαλκού (Luther *et al.*, 2002). Υπό αυτές τις συνθήκες, σχηματίζονται νανοσωματίδια 1-1.000 nm (Ciglenc̆ki *et al.*, 2005).

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται η καταβύθιση άμορφων φάσεων FeS σε συσσωματώματα

που δεν διακρίνονταν ικανοποιητικά στο SEM, γεγονός που δηλώνει μέγεθος σωματιδίου μικρότερο από 35 nm (Rickard *et al.*, 1997) καθώς και ο σχηματισμός και η καταβύθιση λεπτόκοκκων σωματιδίων, διαμέτρου 100-300 nm, σε συσσωματώματα 1-2 μm σε περιβάλλον θειοαναγωγικών βακτηρίων (Herbert *et al.*, 1998). Λεπτόκοκκα σωματίδια ZnS μεγέθους  $4,7 \pm 0,9$  nm μαζί με μεγαλύτερα σφαιρικά συσσωματώματα κρυστάλλων FeS<sub>2</sub> αναγνωρίστηκαν σε δείγμα λεπτού βιολογικού στρώματος που συλλέχθηκε από γεώτρηση βάθους 1,5 km σε μεταλλείο χρυσού (MacLean *et al.*, 2007). Επίσης, σε λεπτό βιολογικό στρώμα θειοαναγωγικών βακτηρίων της οικογένειας *Desulfobacteriaceae* που βρέθηκε σε πλημμυρισμένες σήραγγες εγκαταλελειμμένου μεταλλείου εντοπίστηκαν σχετικά καθарές, νανοκρυσταλλικές ενώσεις του ψευδαργύρου (κυρίως, σφαλερίτης και βουρτσιίτης) (Druschel *et al.*, 2002).

#### Κοκκομετρική κατανομή θειούχων κατακρημνισμάτων

Η κοκκομετρική κατανομή των κατακρημνισμάτων εξαρτάται από το pH καθώς το μέγεθος των σωματιδίων μειώνεται όσο αυξάνεται το pH: η διάμετρος των διακριτών κόκκων βρέθηκε 2-5 μm σε pH < 4 και 0,1-2 μm σε pH > 6 (Schoonen *et al.*, 1991b).

Επίσης, η κοκκομετρική κατανομή των σχηματιζόμενων κατακρημνισμάτων εξαρτάται από το βαθμό υπερκορεσμού<sup>25</sup> του διαλύματος καθώς, σε συνθήκες έντονου υπερκορεσμού, ευνοείται η διαδικασία της πυρήνωσης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό πολύ λεπτομερών σωματιδίων (Mersmann, 1999). Ωστόσο, στην περίπτωση που οι σχηματιζόμενες στερεές φάσεις έχουν εξαιρετικά χαμηλή διαλυτότητα, το μέγεθος των σωματιδίων καθορίζεται σε σημαντικό βαθμό από τη διαδικασία της συσσωμάτωσης (Al-Tarazi *et al.*, 2004) καθώς και από τις συνθήκες ανάμιξης (Samraio *et al.*, 2009), το χρόνο παραμονής στον αντιδραστήρα και τις αρχικές συγκεντρώσεις (Veeken *et al.*, 2003a).

Οπότε, από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι, στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες που λειτουργούν σε αναερόβιες συνθήκες, θερμοκρασία 25 °C περίπου και σχεδόν ουδέτερες τιμές pH, χωρίς έλεγχο της συγκέντρωσης των παραγόμενων θειούχων ιόντων, ευνοείται η επικράτηση άμορφων ή μικροκρυσταλλικών φάσεων των θειούχων ενώσεων των μετάλλων, επηρεάζοντας έτσι την περαιτέρω τύχη της παραγόμενης ιλύος. Για παράδειγμα, στην περίπτωση διάθεσης, η ιλύς αυτή είναι περισσότερο επιδεκτική σε αλλοιώσεις λόγω φυσικής οξειδωσης από ό,τι ιλύς που αποτελείται κυρίως από κρυσταλλικές φάσεις, με αποτέλεσμα η διάσπαση των κατακρημνισμένων θειούχων φάσεων στη διεπιφάνεια οξικού-ανοξικού περιβάλλοντος να προκαλεί τη διαλυτοποίηση και την απελευθέρωση των δεσμευμένων καθώς και τυχόν άλλων προσροφημένων ιόντων μετάλλων. Ωστόσο, στην περίπτωση που επιχειρηθεί ανάκτηση των μεταλλικών αξιών, η επεξεργασία της ιλύος που αποτελείται κυρίως από άμορφες φάσεις είναι ευκολότερη.

---

<sup>25</sup> Η κοκκομετρική κατανομή των κατακρημνισμάτων εξαρτάται κυρίως από την κινητική της καταβύθισης, δηλαδή από το ρυθμό σχηματισμού πυρήνων κρυστάλλωσης (πυρήνωση) και το ρυθμό ανάπτυξης των κρυστάλλων. Η κινητική των δύο αυτών ανταγωνιστικών διεργασιών ελέγχεται από το βαθμό υπερκορεσμού του διαλύματος (Mersmann, 1999).

### 2.3.2. Έμμεση χημική καταβύθιση

Κατά τη μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων και όταν ο δότης ηλεκτρονίων είναι κοινός με την πηγή άνθρακα, παράγεται αλκαλικότητα με τη μορφή όξινων ανθρακικών ιόντων (ενότητα 2.2.3). Σε αυτή την περίπτωση, λόγω της θειοαναγωγικής δραστηριότητας, εξουδετερώνεται τυχόν οξύτητα του υδατικού διαλύματος (αντίδραση (2.36)), με επακόλουθη αύξηση του pH (συνήθως στην περιοχή 6-7) και αποτέλεσμα την ενίσχυση της καταβύθισης θειούχων ενώσεων (Gadd, 2001) ή την καταβύθιση υδροξειδίων ορισμένων μετάλλων, όπως το Al ή το Mn, που δεν σχηματίζουν θειούχες ενώσεις (Dvorak *et al.*, 1992).



### 2.3.3. Βιοσυσσώρευση από κυτταρικά και εξωκυτταρικά συστατικά

Η ρόφηση των μετάλλων σε κύτταρα και κυτταρικά συστατικά ελέγχεται από πληθώρα φυσικοχημικών μηχανισμών και αλληλεπιδράσεων, όπως ιοντοεναλλαγή, συμπλοκοποίηση, προσρόφηση και διάχυση μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων και μεμβρανών (Flemming, 1995; Gadd, 2002; van Hullebusch *et al.*, 2003). Ειδικότερα, όταν τα βακτήρια αναπτύσσονται ακινητοποιημένα σε λεπτό βιολογικό στρώμα, σημαντικό ρόλο στη ρόφηση ανόργανων συστατικών παίζουν οι εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες (EPS)<sup>26</sup> και η ανομοιογενής μήτρα που δημιουργείται. Σε αυτή την περίπτωση, η ρόφηση των μετάλλων πραγματοποιείται κυρίως μέσω του σχηματισμού μονοδοντικών, διδοντικών και πολυδοντικών συμπλόκων των κατιόντων με τις ανιονικές ομάδες των μορίων των ουσιών EPS. Η δέσμευση των ιόντων και τα χαρακτηριστικά της ακινητοποίησης εξαρτώνται κυρίως από την ιοντική κατάσταση και την πυκνότητα των φορτίων της μήτρας EPS (Geesey *et al.*, 1988).

Η ροφητική ικανότητα ειδών του (αρνητικού κατά Gram) γένους *Desulfovibrio* έχει μελετηθεί κατά την απομάκρυνση αλουμινίου (Hard *et al.*, 1999), χαλκού και ψευδαργύρου (Chen *et al.*, 2000), παλλαδίου (de Vargas *et al.*, 2004; Yong *et al.*, 2002) και λευκόχρυσου (de Vargas *et al.*, 2004) από υδατικά διαλύματα. Αντίστοιχα πειράματα ρόφησης έχουν πραγματοποιηθεί και με μικτές καλλιέργειες θειοαναγωγικών βακτηρίων για την απομάκρυνση χαλκού (Hsu *et al.*, 2009) και καδμίου (Pagnanelli *et al.*, 2010) ενώ η εξωκυτταρική δέσμευση χαλκού επιβεβαιώθηκε και για το είδος *Desulfococcus multivorans* (Bridge *et al.*, 1999).

Επίσης, η μήτρα EPS των λεπτών βιολογικών στρωμάτων μπορεί να λειτουργήσει παράλληλα με το μηχανισμό της βιοκαταβύθισης, εγκλωβίζοντας φυσικά ή προσροφώντας χημικά τα ανόργανα κατακρημνίσματα που σχηματίζονται στον όγκο του διαλύματος, βελτιώνοντας έτσι την απομάκρυνση των μετάλλων από τη διαλυτή φάση, ιδιαίτερα στην

---

<sup>26</sup> Οι εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες (Extracellular Polymeric Substances, EPS) είναι βιοσυνθετικά πολυμερή που παράγονται από προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε φυσικά καθώς και τεχνητά περιβάλλοντα, είτε ως αυτόνομα είδη είτε σε ετερογενείς κοινότητες. Ανεξάρτητα από την προέλευσή τους, οι ουσίες EPS βρίσκονται πάνω ή έξω από την επιφάνεια των κυττάρων των βακτηρίων και αποτελούνται από πληθώρα οργανικών μακρομορίων υψηλού μοριακού βάρους, όπως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα και φωσφολιπίδια, καθώς και άλλα μη πολυμερικά συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους (Flemming *et al.*, 2001; Pal *et al.*, 2008).

περίπτωση σχηματισμού κολλοειδών ή εξαιρετικά λεπτομερών σωματιδίων (White *et al.*, 2000; White *et al.*, 2003). Η συνεργιστική συνεισφορά των μηχανισμών καταβύθισης, ρόφησης και εγκλωβισμού σωματιδίων παρατηρήθηκε κατά την απομάκρυνση κατιόντων μετάλλων, παρουσία θειοαναγωγικών βακτηρίων, σε σύστημα τεχνητών υγρότοπων (Webb *et al.*, 1998).

Η συσσώρευση των κατακρημνισμάτων των θειούχων ενώσεων στις επιφανειακές στοιβάδες των λεπτών βιολογικών στρωμάτων επιβεβαιώνει το μηχανισμό του εγκλωβισμού των αιωρούμενων σωματιδίων στη μήτρα EPS, όπως παρατηρήθηκε για την ακινητοποίηση κόκκων σεληνίου (Hockin *et al.*, 2003). Ωστόσο, τα ευρήματα άλλης εργασίας όπου μόνο το 10% των καταβυθισμένων χρωμικών βρέθηκαν να σχετίζονται με συστατικά του λεπτού βιολογικού στρώματος (Smith *et al.*, 2000) υποδεικνύουν ότι η προσρόφηση στη μήτρα EPS μπορεί να εξαρτάται από τη χημεία της επιφάνειας και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ βιολογικών και μη βιολογικών συστατικών (Hockin *et al.*, 2007).

Συγκρίνοντας την απόδοση μικτών και καθαρών καλλιιεργειών θειοαναγωγικών βακτηρίων ως προς την απομάκρυνση καδμίου από υδατικά διαλύματα, οι White & Gadd έδειξαν ότι οι μικτές καλλιιεργείες είναι αποτελεσματικότερες γιατί, σε αυτή την περίπτωση, εκτός από την καλύτερη απόδοση του μεταβολισμού τους, παράγεται μεγαλύτερη ποσότητα ουσιών EPS (White *et al.*, 1998).

#### **2.3.4. Αναγωγή μετάλλων, μεταλλοειδών και ραδιοϊσοτόπων**

Τα θειοαναγωγικά βακτήρια έχουν την προφανή ικανότητα να προκαλούν την άμεση, ενζυμικά υποβοηθούμενη, αναγωγή οξειδωμένων μορφών μετάλλων (Au, Cr, Fe, Mn, Mo, Pd), μεταλλοειδών (As, Se, Te) και ραδιοϊσοτόπων (Tc, U) προς λιγότερο διαλυτά είδη (Πίνακας 2.16), με αποτέλεσμα την ακινητοποίησή τους (Gadd, 2010; Lloyd *et al.*, 2003). Ωστόσο, είναι σπάνιες οι περιπτώσεις όπου η αποδεσμευόμενη ενέργεια αξιοποιείται για την ανάπτυξη των βακτηρίων (Lovley *et al.*, 1994b; Macy *et al.*, 2000; Tebo *et al.*, 1998), όπως συμβαίνει κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων (ενότητα 2.2.4).

Εκτός της ενζυμικής αναγωγής, είναι πιθανή και η χημική αναγωγή των ειδών αυτών λόγω των εξαιρετικά αναγωγικών συνθηκών που επικρατούν παρουσία των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Ο χημικός χαρακτήρας της αναγωγής, με ταυτόχρονη οξείδωση των θειούχων προς στοιχειακό θείο, έχει επιβεβαιωθεί πειραματικά με την παρατήρηση εξωκυτταρικών κατακρημνισμάτων ουρανίου (ως UO<sub>2</sub>, (Barton *et al.*, 1996)), τεχνητίου (Lloyd *et al.*, 1998a) και χρωμίου (Fude *et al.*, 1994). Ωστόσο, παραμένει αβέβαιη η σχετική συνεισφορά της χημικής και της ενζυμικής αναγωγής στην απομάκρυνση των συγκεκριμένων στοιχείων από υδατικά διαλύματα (Hockin *et al.*, 2007).

Σε αντίθεση με την αναγωγική καταβύθιση που περιγράφεται παραπάνω, η αναγωγή του αρσενικού από As<sup>5+</sup> σε As<sup>3+</sup> ενισχύει τη διαλυτότητά του, με αποτέλεσμα η μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή του αρσενικού να θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους μηχανισμούς επιβάρυνσης του υδάτινου περιβάλλοντος με αρσενικό. Ωστόσο, στο πλαίσιο



εφαρμογών βιοαποκατάστασης, μπορεί να εξεταστεί η δυνατότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων να ανάγουν το αρσενικό και να συμβάλλουν στην καταβύθιση του διαλυτού  $As^{3+}$  με τη μορφή θειούχων ενώσεων (Battaglia-Brunet *et al.*, 2012; Macy *et al.*, 2000).

Πίνακας 2.16. Παραδείγματα αναγωγής μετάλλων-μεταλλοειδών-ραδιοϊσοτόπων παρουσία θειοαναγωγικών βακτηρίων

Στοιχείο	Αναγωγική καταβύθιση	Βιβλιογραφική αναφορά
Μαγγάνιο	$Mn^{4+} \rightarrow Mn^{2+}$	(Lovley <i>et al.</i> , 1994b)
Μολυβδαίνιο	$Mo^{6+} \rightarrow Mo^{5+} \rightarrow Mo^{4+}$	(Biswas <i>et al.</i> , 2009; Chen <i>et al.</i> , 1998; Tucker <i>et al.</i> , 1997; Tucker <i>et al.</i> , 1998a; Tucker <i>et al.</i> , 1998b)
Ουράνιο	$U^{6+} \rightarrow U^{4+}$	(Barton <i>et al.</i> , 1996; Beyenal <i>et al.</i> , 2004; Lovley <i>et al.</i> , 1992; Lovley, 1993; Lovley <i>et al.</i> , 1993; Tucker <i>et al.</i> , 1998b)
Παλλάδιο	$Pd^{2+} \rightarrow Pd^0$	(Creamer <i>et al.</i> , 2006; Lloyd <i>et al.</i> , 1998b)
Σελήνιο	$Se^{6+} \rightarrow Se^{4+} \rightarrow Se^0$	(Hockin <i>et al.</i> , 2003; 2006; Tomei <i>et al.</i> , 1995; Tucker <i>et al.</i> , 1998a)
Σίδηρος (III)	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$	(Lovley <i>et al.</i> , 1993)
Τελλούριο	$Te^{6+} \rightarrow Te^{4+} \rightarrow Te^0$	(Lloyd <i>et al.</i> , 2001)
Τεχνήτιο	$Tc^{7+} \rightarrow Tc^{4+}$	(de Luca <i>et al.</i> , 2001; Lloyd <i>et al.</i> , 1998a)
Χρυσός	$Au^{3+} \rightarrow Au^0$	(Creamer <i>et al.</i> , 2006)
Χρώμιο	$Cr^{6+} \rightarrow Cr^{3+}$	(Chardin <i>et al.</i> , 2003; Fude <i>et al.</i> , 1994; Goulhen <i>et al.</i> , 2006; Humphries <i>et al.</i> , 2002; Lovley <i>et al.</i> , 1994a; Michel <i>et al.</i> , 2001; Michel <i>et al.</i> , 2003; Smith <i>et al.</i> , 2000; Tucker <i>et al.</i> , 1998a)

### 2.3.5. Προσρόφηση σε ανόργανα κατακρημνίσματα

Στη συνολική απομάκρυνση των ιόντων από το διάλυμα ενδεχομένως να συνεισφέρει και η προσρόφηση στα σωματίδια των θειούχων ενώσεων των μετάλλων, τα οποία σχηματίζονται λόγω της θειοαναγωγικής δράσης και αποτίθενται στη μήτρα του λεπτού βιολογικού στρώματος ή ακινητοποιούνται εκεί (Fortin *et al.*, 1997; Morse *et al.*, 1993; Watson *et al.*, 1995; Watson *et al.*, 2001). Οι ροφητικές ιδιότητες της βιολογικά παραγόμενης ιλύος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα έχουν επιβεβαιωθεί σε πειραματική μελέτη όπου βρέθηκαν συγκρίσιμες με τα χαρακτηριστικά άλλων ροφητικών υλικών, αναφορικά με τη δυνατότητα συγκράτησης μιας σειράς μετάλλων και την τελική επιτυχανόμενη συγκέντρωση των μετάλλων στο διάλυμα (Jong *et al.*, 2004).

Με το μηχανισμό αυτό, απομακρύνονται από το διάλυμα και ιόντα μετάλλων με σχετικά πιο διαλυτές θειούχες ενώσεις, όπως το μαγγάνιο (Arakaki *et al.*, 1993), ή ιόντα που δεν ανάχθηκαν, όπως τα σεληνικά (Hockin *et al.*, 2007; Naveau *et al.*, 2007), μετά από προσρόφηση σε σωματίδια θειούχου σιδήρου.



# 3

## Μικροβιακή αναγωγή θειικών ιόντων και καταβύθιση ιόντων μετάλλων. Παράμετροι τεχνολογικής εφαρμογής

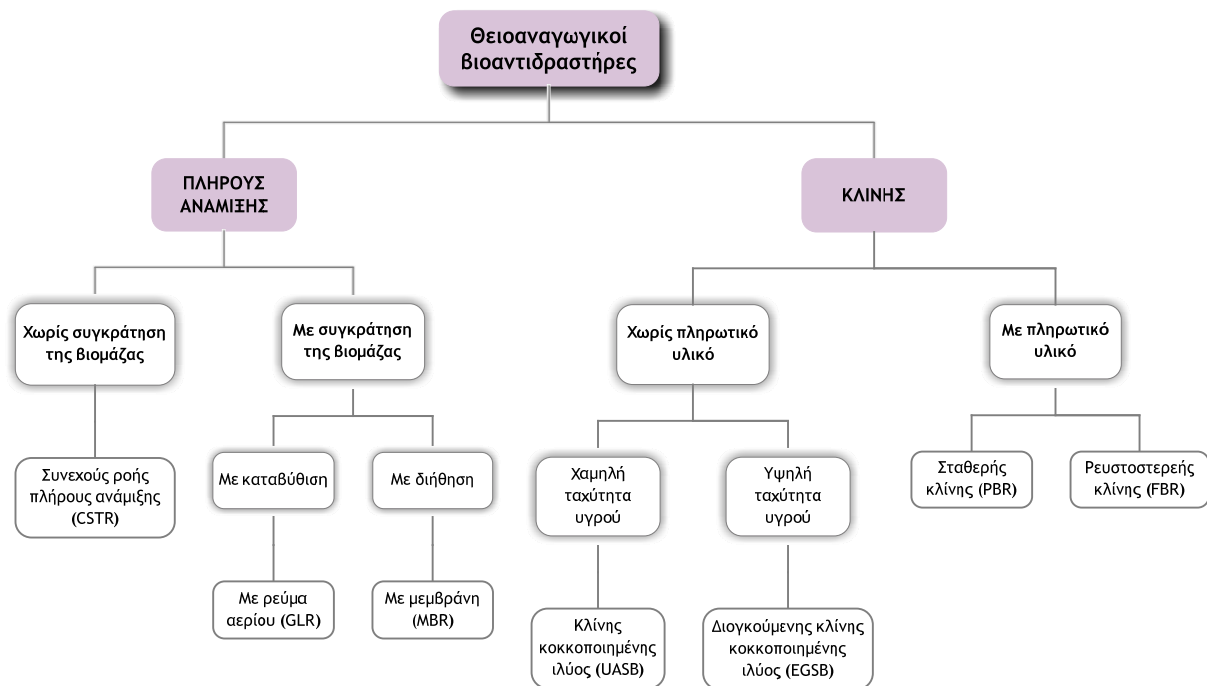
---

*Η ταχύτητα και η απόδοση της μικροβιακά υποβοηθούμενης αναγωγής των θειικών ιόντων εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τις συνθήκες της διεργασίας. Ορισμένες από αυτές τις συνθήκες, όπως η θερμοκρασία και το pH, καθορίζονται από τις ιδιότητες του αποβλήτου ενώ άλλες, όπως ο τύπος του αντιδραστήρα, το είδος και η συγκέντρωση της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του ρευστού μέσα στον αντιδραστήρα, αποτελούν τις παραμέτρους σχεδιασμού. Οι συγκεντρώσεις θειούχων, μετάλλων και θειικών μέσα στο βιολογικό αντιδραστήρα εξαρτώνται από τη σύσταση του ρεύματος τροφοδοσίας αλλά και τον τρόπο λειτουργίας της εγκατάστασης.*

### 3.1. Επισκόπηση αντιδραστήρων που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές

#### 3.1.1. Χαρακτηριστικά και ταξινόμηση των αντιδραστήρων

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν αναφορές σε διάφορους τύπους αντιδραστήρων, πλήρους ανάμιξης και κλίνης, που έχουν εφαρμοστεί για την αναερόβια επεξεργασία υγρών βιομηχανικών αποβλήτων παρουσία θειοαναγωγικών βακτηρίων (Σχήμα 3.1).

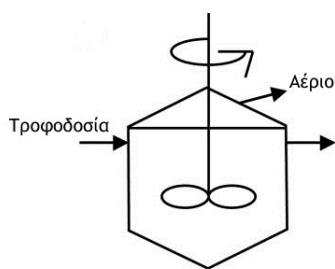


Σχήμα 3.1. Ταξινόμηση αντιδραστήρων που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές

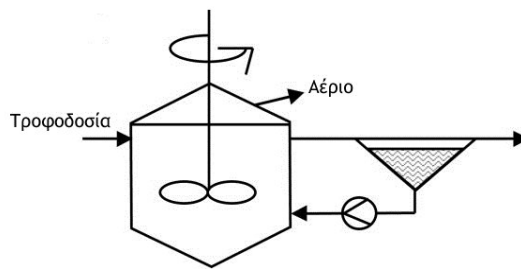
### 3.1.2. Αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης (πλανκτονικής βιομάζας)

Η απόδοση της θειοαναγωγικής διεργασίας στους βιολογικούς αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης (Σχήμα 3.2) καθορίζεται από τη δραστηριότητα και τη συγκέντρωση της βιομάζας. Ιδιαίτερα, η συγκέντρωση της βιομάζας είναι εξαιρετικά σημαντικός παράγοντας λόγω του χαμηλού ρυθμού ανάπτυξης των θειοαναγωγικών βακτηρίων (Bijmans *et al.*, 2011). Γι' αυτό, επιδιώκεται η καλύτερη δυνατή συγκράτηση της βιομάζας στο εσωτερικό του αντιδραστήρα προκειμένου να διασφαλιστεί η σταθερότητα της διεργασίας και να ελαχιστοποιηθεί η παραγωγή ιλύος (Spreese, 1983).

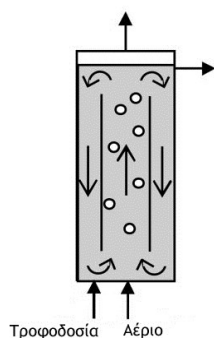
Ως εκ τούτου, εφαρμόζονται διάφορες μέθοδοι για τη συγκράτηση της παραγόμενης βιομάζας. Οι περισσότερες από αυτές τις μεθόδους βασίζονται στη διαφορά πυκνότητας μεταξύ της παραγόμενης ιλύος και του υγρού που επεξεργάζεται ο αντιδραστήρας, με αποτέλεσμα την καταβύθιση ή την επίπλευση της ιλύος. Τα συνηθέστερα συστήματα συγκράτησης βιομάζας για τους αναερόβιους αντιδραστήρες είναι οι τριφασικοί διαχωριστές (εσωτερικοί παχυντές), όπου διαχωρίζεται η αέρια, η υγρή και η στερεή φάση. Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν εξωτερικοί παχυντές, ως αυτόνομα συστήματα ή σε συνδυασμό με τους εσωτερικούς παχυντές. Η φυγοκέντριση δεν εφαρμόζεται συχνά για τη συγκράτηση της βιομάζας λόγω του υψηλού λειτουργικού κόστους (Bijmans *et al.*, 2011).



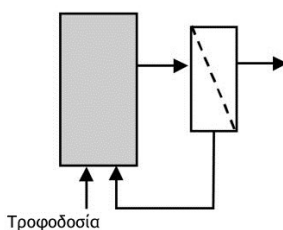
Αντιδραστήρας  
συνεχούς ροής πλήρους ανάμιξης  
(*Continuous Stirred-Tank Reactor, CSTR*)



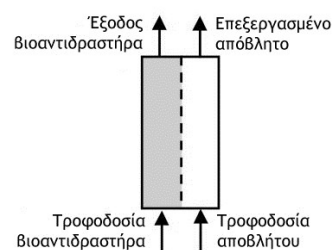
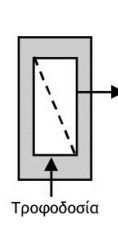
Αντιδραστήρας συνεχούς ροής πλήρους ανάμιξης  
με ανακύκλωση στερεών  
(*Anaerobic Contact Process, ACP*)



Αντιδραστήρας  
με ρεύμα αερίου  
(*Gas-Lift Bioreactor, GLR*)



Αντιδραστήρας με μεμβράνη  
με ξεχωριστή / βυθισμένη μονάδα διήθησης και με περατή μεμβράνη  
(*Membrane Bioreactor, MBR*)



Σχήμα 3.2. Διαγραμματική απεικόνιση αντιδραστήρων πλήρους ανάμιξης που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές (Kaksonen et al., 2007; Sreece, 1983)

### Αντιδραστήρας συνεχούς ροής πλήρους ανάμιξης

Ο σχεδιασμός των αντιδραστήρων συνεχούς ροής πλήρους ανάμιξης (CSTR) επηρεάζει την αναλογία χρόνου παραμονής ιλύος/υδραυλικού χρόνου παραμονής (SRT/HRT) στους αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας καθώς ευνοεί την απώλεια βιομάζας με το επεξεργασμένο απόβλητο. Γι' αυτό και προκειμένου να αυξηθεί ο λόγος SRT/HRT, τροποποιήθηκε ο σχεδιασμός του CSTR σε ACP όπου διαχωρίζεται η βιομάζα από το επεξεργασμένο απόβλητο και ανακυκλώνεται στον αντιδραστήρα (Sreece, 1983).

Οι αντιδραστήρες CSTR έχουν εφαρμοστεί σε μελέτες προσομοίωσης (Gurta et al., 1994; Herrera et al., 1993; Nagpal et al., 2000a; Sahinkaya, 2009a; van Houten et al., 1994) αλλά και σε μελέτες επιμέρους βασικών αρχών της θειοαναγωγικής διεργασίας. Για παράδειγμα, αντιδραστήρας CSTR διαλείποντος έργου χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της θειοαναγωγικής διεργασίας σε pH 3,8 με προσθήκη ψευδαργύρου για την καταβύθιση των παραγόμενων θειούχων (Kimura et al., 2006) όπως και για τη διερεύνηση της αντοχής μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης βαρέων μετάλλων (Kieu et al., 2011). Ωστόσο, οι υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις και η ανάγκη για εξωτερικό σύστημα

συγκράτησης της βιομάζας περιορίζουν τη βιομηχανική τους εφαρμογή σε διεργασίες περιβαλλοντικής βιοτεχνολογίας (Bijmans *et al.*, 2011).

Η εφαρμογή αντιδραστήρων πλανκτονικής βιομάζας (όπως οι CSTR) επιτρέπεται, όμως, σε διεργασίες επεξεργασίας απαερίων με υψηλή περιεκτικότητα SO<sub>2</sub> (Lens *et al.*, 2003a), όπου δεν απαιτείται συγκράτηση της βιομάζας για τη μεταφορά συστατικών από την αέρια στην υγρή φάση.

#### Αντιδραστήρας με ρεύμα αερίου

Ο σχεδιασμός των αντιδραστήρων με ρεύμα αερίου (GLR) εξασφαλίζει καλή ανάμιξη και ευνοεί την υψηλή μεταφορά μάζας μεταξύ αέριας και υγρής φάσης (Bijmans *et al.*, 2011; Kaksonen *et al.*, 2007). Γι' αυτό, επιλέγεται συνήθως σε θειοαναγωγικές εφαρμογές όπου χρησιμοποιείται αέριος δότης ηλεκτρονίων.

Οι αντιδραστήρες GLR, με τροφοδοσία H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, έχουν δοκιμαστεί με επιτυχία (Πίνακας 3.5) για την αναγωγή θειικών ιόντων από μεσόφιλους μικροοργανισμούς σε ουδέτερες (van Houten *et al.*, 1994; van Houten *et al.*, 1995; van Houten *et al.*, 1996) και όξινες (Bijmans *et al.*, 2008a) τιμές pH. Επίσης, έχει μελετηθεί η δυνατότητα εφαρμογής τους σε συνθήκες χαμηλής (Nevatalo *et al.*, 2010a) και υψηλής (Sipma *et al.*, 2007; van Houten *et al.*, 1997) θερμοκρασίας αλλά και σε βιομηχανική κλίμακα (van Houten *et al.*, 2009; van Houten, 2006; van Houten *et al.*, 2006).

Συνήθως, οι αντιδραστήρες GLR λειτουργούν σε συνδυασμό με τριφασικό διαχωριστή (Esposito *et al.*, 2003; van Houten *et al.*, 1994; Weijma *et al.*, 2002) ή εξωτερικό παχυντή (Sipma *et al.*, 2007) για τη συγκράτηση της βιομάζας στο σύστημα. Επίσης, οι αντιδραστήρες αυτού του τύπου μπορούν να λειτουργήσουν με ή χωρίς υπόστρωμα για τη συγκράτηση της βιομάζας. Για παράδειγμα, σε εργαστηριακής κλίμακας αντιδραστήρα GLR με τροφοδοσία υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ελαφρόπετρα και βασάλτης (van Houten *et al.*, 1994) ενώ σε παρόμοιο αντιδραστήρα με τροφοδοσία μονοξειδίου του άνθρακα εφαρμόστηκε φυσική κοκκοποίηση της ιλύος για το διαχωρισμό της βιομάζας (Sipma *et al.*, 2007). Ακόμα και τα σωματίδια των θειούχων ενώσεων που παράγονται μέσα στον αντιδραστήρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα για τη συγκράτηση της βιομάζας (Bijmans *et al.*, 2011).

#### Αντιδραστήρας με μεμβράνη

Οι αντιδραστήρες με μεμβράνη (MBR) εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές διεργασίες τα τελευταία χρόνια (Mack *et al.*, 2004) καθώς προσφέρουν το πλεονέκτημα της σχεδόν ποσοτικής συγκράτησης της βιομάζας, χαρακτηριστικό ιδιαίτερα σημαντικό σε διεργασίες όπου ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι ιδιαίτερα αργός.

Ο γενικός σχεδιασμός περιλαμβάνει βιολογικό αντιδραστήρα πλανκτονικής βιομάζας και μια μονάδα διήθησης με μεμβράνη, η οποία είτε ακολουθεί ως ξεχωριστή βαθμίδα είτε βυθίζεται στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα. Στη δεύτερη περίπτωση, δεν υπάρχει ρεύμα ανακύκλωσης και εξασφαλίζεται σημαντικά μεγαλύτερη επιφάνεια μεμβράνης ανά μονάδα όγκου για το

διαχωρισμό της βιομάζας. Επίσης, όταν η μονάδα διήθησης είναι βυθισμένη, λειτουργεί με πολύ χαμηλότερες πιέσεις και ταχύτητες του υγρού. Έτσι, για τη λειτουργία του συστήματος απαιτείται μικρότερη κατανάλωση ενέργειας και, συνεπώς, μικρότερο κόστος (Mack *et al.*, 2004).

Επίσης, έχει διερευνηθεί η απόδοση αντιδραστήρων MBR όπου μια επιλεκτικά περατή μεμβράνη διαχωρίζει τη μικροβιακή καλλιέργεια από το ρεύμα του αποβλήτου, επιτρέποντας τη διέλευση του μικροβιακά παραγόμενου  $H_2S$  για την καταβύθιση των ιόντων των μετάλλων. Εφόσον η μεμβράνη είναι αδιαπέρατη για οποιοδήποτε άλλο φορτισμένο είδος του αποβλήτου, τα θειοαναγωγικά βακτήρια προστατεύονται από τυχόν τοξικά μέταλλα, χαμηλό pH ή υψηλή αλατότητα του αποβλήτου. Ωστόσο, σε αυτόν τον τύπο αντιδραστήρα δεν μπορούν να αξιοποιηθούν τα θειικά ιόντα του αποβλήτου για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα να απαιτείται προσθήκη κατάλληλου δέκτη ηλεκτρονίων (Mack *et al.*, 2004).

Οι αντιδραστήρες MBR με βυθισμένη μονάδα διήθησης έχουν μελετηθεί (Πίνακας 3.5) κατά τη θειοαναγωγική επεξεργασία αποβλήτων σε συνθήκες χαμηλού pH (Bijmans *et al.*, 2008b; Bijmans *et al.*, 2009a), υψηλής αλατότητας (Vallero *et al.*, 2005) καθώς και χαμηλής θερμοκρασίας (Nevatalo *et al.*, 2010b). Ωστόσο, κατά την εφαρμογή τους, παρατηρούνται προβλήματα έμφραξης των μεμβρανών λόγω της απόθεσης μικροοργανισμών ή κατακρημνισμάτων θειούχων ενώσεων πάνω στη μεμβράνη (Tabak *et al.*, 2003a; Vallero *et al.*, 2005), με αποτέλεσμα να απαιτείται έκπλυσή της. Για παράδειγμα, κατά τη μελέτη αντιδραστήρα MBR με περατή μεμβράνη για την απομάκρυνση ψευδαργύρου από συνθετικό διάλυμα, παρατηρήθηκε ότι η απόθεση σωματιδίων  $ZnS$  πάνω στη μεμβράνη, στο χώρο του αποβλήτου, περιόριζε τη μεταφορά μάζας για το  $H_2S$  (Chuichulcherm *et al.*, 2001).

### 3.1.3. Αντιδραστήρες κλίνης (ακίνητοποιημένης βιομάζας)

#### Ακίνητοποίηση βιομάζας σε λεπτό βιολογικό στρώμα (biofilm)

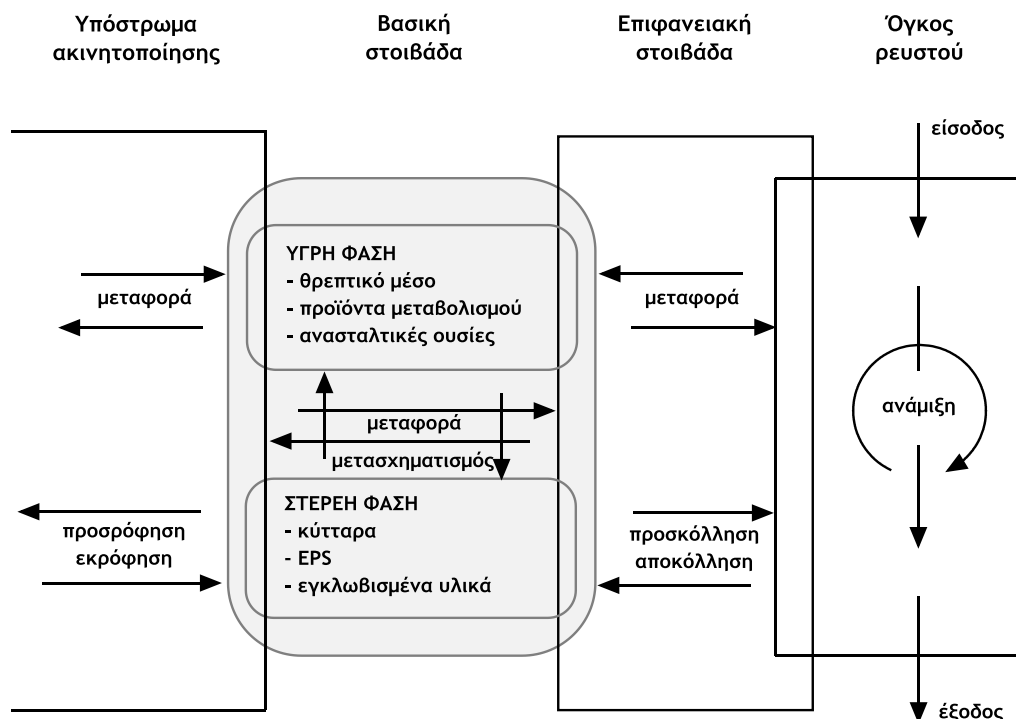
Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί μπορούν να σχηματίσουν λεπτά βιολογικά στρώματα (*biofilm*) αφού ποσοστό μεγαλύτερο από το 99% όλων των μικροοργανισμών που υπάρχουν στη Γη ζουν σε τέτοια μορφή. Τα λεπτά αυτά βιολογικά στρώματα απαντώνται συνήθως σε φυσικά περιβάλλοντα, ως επικάλυψη των σωματιδίων του εδάφους ή στη διεπιφάνεια νερού-ιζημάτων, αλλά και σε τεχνητά περιβάλλοντα, όπως οι βιολογικοί αντιδραστήρες (van Hullebusch *et al.*, 2003).

Τα συστήματα ακίνητοποιημένης βιομάζας αποτελούνται από (Characklis *et al.*, 1990a):

- το υπόστρωμα, πάνω στο οποίο ακίνητοποιείται η βιομάζα και σχηματίζεται το λεπτό βιολογικό στρώμα. Γενικά, πρόκειται για στερεό υλικό που μπορεί να είναι αδιαπέρατο και συμπαγές ή πορώδες ή να λειτουργεί ως θρεπτικό μέσο για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών (π.χ. κυτταρίνη). Τα χαρακτηριστικά του υποστρώματος είναι κρίσιμα για τον αρχικό σχηματισμό του λεπτού βιολογικού στρώματος και μπορεί να επηρεάσουν το ρυθμό συσσώρευσης των κυττάρων καθώς και την αρχική κατανομή του πληθυσμού.

- το λεπτό βιολογικό στρώμα, όπου διακρίνεται βασική και επιφανειακή στοιβάδα. Η βασική στοιβάδα είναι σταθερή και καλά δομημένη με σχετικά σαφή όρια, ενώ η επιφανειακή στοιβάδα, που χαρακτηρίζεται από σχετικά ακανόνιστη τοπογραφία, αποτελεί μια μεταβατική περιοχή, μεταξύ της βασικής στοιβάδας και του όγκου του ρευστού, όπου έχει ιδιαίτερη σημασία η μεταβολή των ιδιοτήτων του βιολογικού στρώματος συναρτήσει της απόστασης από την επιφάνεια του υποστρώματος (π.χ. μείωση της πυκνότητας). Γενικά, το λεπτό βιολογικό στρώμα περιλαμβάνει τουλάχιστον δύο φάσεις: (1) μια συνεχή υγρή φάση (νερό) που περιέχει διάφορα διαλυμένα και αιωρούμενα σωματιδιακά συστατικά και (2) μια σειρά στερεών φάσεων που αποτελούνται από συγκεκριμένη σωματιδιακή ύλη, όπως κύτταρα, εξωκυτταρικό υλικό ή ανόργανα σωματίδια.
- τον όγκο του ρευστού που περιβάλλει το λεπτό βιολογικό στρώμα. Οι διεργασίες που πραγματοποιούνται εκεί επηρεάζουν την απόδοση των συστημάτων ακινητοποιημένης βιομάζας κυρίως λόγω της ανάμιξης και του χαρακτηριστικού τρόπου ροής σε αντιδραστήρα συγκεκριμένης γεωμετρίας.
- το αέριο που, σε ορισμένους αντιδραστήρες, βρίσκεται πάνω από τον όγκο του ρευστού, εξασφαλίζοντας τον απαραίτητο αερισμό για την εξέλιξη της διεργασίας ή την απομάκρυνση των αέριων προϊόντων του μεταβολισμού.

Τα διακριτά αυτά μέρη των συστημάτων ακινητοποιημένης βιομάζας αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με συγκεκριμένες διεργασίες μεταφοράς και μετασχηματισμών (Σχήμα 3.3).

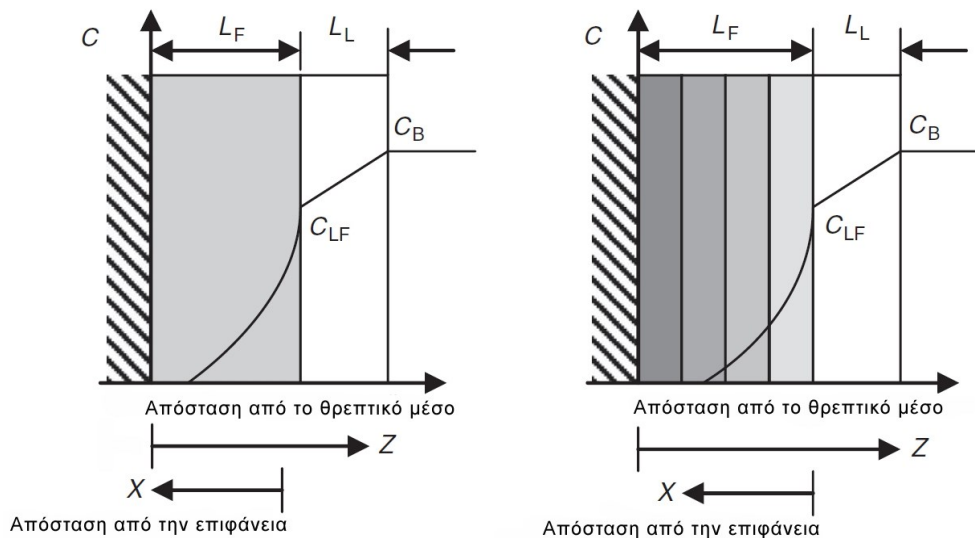


Σχήμα 3.3. Διακριτά μέρη και διεργασίες συστημάτων ακινητοποιημένης βιομάζας (Characklis et al., 1990a)



Η κρίσιμη διαφορά των βιολογικών συστημάτων ακινητοποιημένης βιομάζας από τα συστήματα πλανκτονικής βιομάζας εντοπίζεται στο ρόλο των φαινομένων μεταφοράς που, γενικά, ελέγχουν την ταχύτητα των πραγματοποιούμενων διεργασιών. Έτσι, ο ρυθμός μεταφοράς μάζας (διαλυτών και σωματιδιακών συστατικών) μπορεί να επηρεάσει τον παρατηρούμενο ρυθμό διαφόρων μετασχηματισμών που λαμβάνουν χώρα στα συστήματα ακινητοποιημένης βιομάζας. Ειδικότερα, ο ρυθμός μεταφοράς μάζας ελέγχει την ταχύτητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών καθώς ο ρυθμός μεταφοράς θρεπτικών συστατικών από τον όγκο του υγρού στο λεπτό βιολογικό στρώμα είναι πιο αργός από το ρυθμό κατανάλωσης των θρεπτικών από τους μικροοργανισμούς, ενώ ο ρυθμός διάχυσης των θρεπτικών συστατικών μέσα στο λεπτό βιολογικό στρώμα ελέγχει την ταχύτητα ανάπτυξης των μικροοργανισμών που βρίσκονται σε μεγάλο βάθος μέσα σε αυτό. Έτσι, ελέγχεται ο ρυθμός της παρατηρούμενης μικροβιακής δραστηριότητας και, κατά συνέπεια, η ταχύτητα της βιολογικής διεργασίας (Characklis *et al.*, 1990b).

Η βαθμωτή μεταβολή της συγκέντρωσης του θρεπτικού μέσου μέσα στο οριακό στρώμα<sup>27</sup> καθώς και μέσα στο λεπτό βιολογικό στρώμα (Σχήμα 3.4), που παρατηρείται στα συστήματα ακινητοποιημένης βιομάζας, νοείται ως αντίσταση στη μεταφορά μάζας και εξαρτάται από το πάχος του βιολογικού στρώματος, την ετερογένεια της επιφάνειας καθώς και από τα υδροδυναμικά χαρακτηριστικά του αντιδραστήρα (Lewandowski *et al.*, 2011).



**Σχήμα 3.4. Διαγραμματική απεικόνιση λεπτού βιολογικού στρώματος (biofilm) πάχους  $L_F$  με ομοιογενή (αριστερά) και ετερογενή ή διαστρωματωμένη (δεξιά) κατανομή βιομάζας (Lewandowski *et al.*, 2011)**

Η συγκέντρωση του διαλυτού θρεπτικού μέσου με τιμή  $C_B$  στον όγκο του υγρού μειώνεται μέσα στο οριακό στρώμα μεταφοράς μάζας πάχους  $L_L$  μέχρι να προσεγγίσει τη συγκέντρωση  $C_{LF}$  στη διεπιφάνεια υγρού-biofilm και, στη συνέχεια, μειώνεται περαιτέρω στο εσωτερικό του λεπτού βιολογικού στρώματος.

<sup>27</sup> Το οριακό στρώμα (*boundary layer*) ορίζεται μεταξύ του όγκου του υγρού και της επιφάνειας του λεπτού βιολογικού στρώματος.

Στην περίπτωση ανάπτυξης του λεπτού βιολογικού στρώματος σε πορώδη υλικά, η συσσώρευση της βιομάζας επηρεάζει τα υδροδυναμικά χαρακτηριστικά της ροής του ρευστού μέσα στους πόρους καθώς μειώνεται ο ωφέλιμος όγκος των πόρων, με αποτέλεσμα τη μείωση του πορώδους και της διαπερατότητας του μέσου καθώς και της ταχύτητας του ρευστού μέσα στους πόρους. Έτσι, μειώνεται η συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών στη διεπιφάνεια ρευστού-βιολογικού στρώματος και, κατά συνέπεια, ο ρυθμός ανάπτυξης. Ωστόσο, επειδή η μείωση της ταχύτητας του ρευστού μέσα στους πόρους συνεπάγεται και μειωμένες διατμητικές τάσεις, περιορίζεται ο ρυθμός αποκόλλησης των κυττάρων. Έτσι, με τη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης αλλά και του ρυθμού αποκόλλησης, διαμορφώνεται μια νέα κατάσταση ισορροπίας (Cunningham, 1989; Cunningham *et al.*, 1990).

#### Πληρωτικό υλικό αντιδραστήρων κλίνης

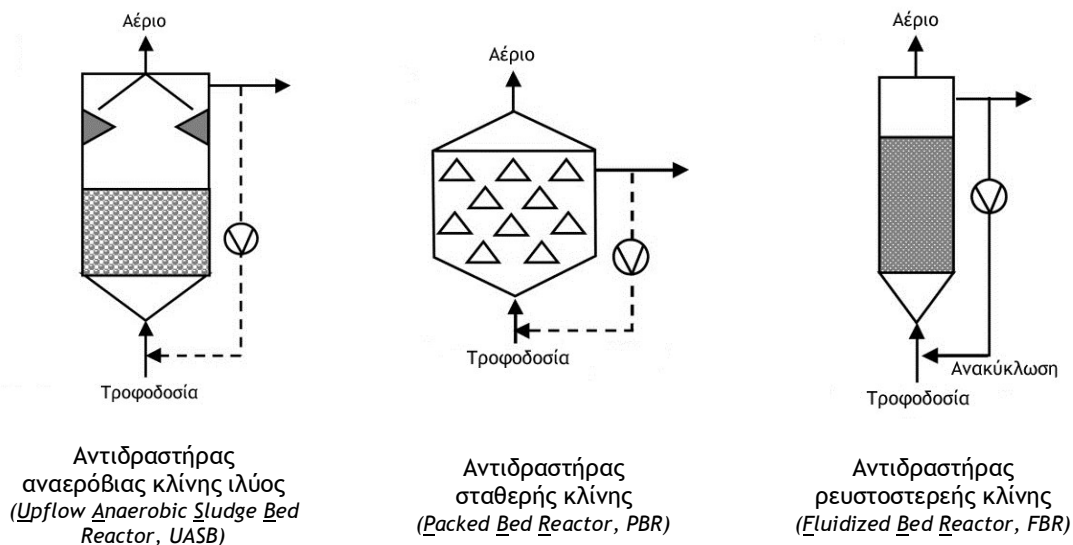
Στους αντιδραστήρες κλίνης (Σχήμα 3.5) η μικροβιακή βιομάζα ακινητοποιείται πάνω σε άλλη βιομάζα (κοκκοποιημένη ιλύς) ή σε κατάλληλο πληρωτικό υλικό. Ειδικότερα, στους αντιδραστήρες σταθερής ή ρευστοστερεής κλίνης, η βιομάζα ακινητοποιείται με τη μορφή λεπτού βιολογικού στρώματος πάνω σε σωματίδια αδρανούς πληρωτικού υλικού (Πίνακας 3.1) ενώ παράλληλα συγκρατείται και στα κενά που δημιουργούνται μεταξύ των σωματιδίων του υποστρώματος (Spreese, 1983). Έτσι, διευκολύνεται ο διαχωρισμός και η συγκράτηση της βιομάζας στο εσωτερικό του αντιδραστήρα (Bijmans *et al.*, 2011).

Η επιλογή του πληρωτικού υλικού για την ακινητοποίηση της βιομάζας είναι εξαιρετικής σημασίας για τη σταθερότητα του λεπτού βιολογικού στρώματος και, κατ' επέκταση, τη συνολική απόδοση του αντιδραστήρα. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι επιταχύνεται η διαδικασία εκκίνησης ενός αντιδραστήρα κλίνης στην περίπτωση που επιτευχθεί γρήγορη, ισχυρή και ομοιόμορφη προσκόλληση των μικροοργανισμών στην επιφάνεια του πληρωτικού υλικού (Oliveira *et al.*, 2003).

Γενικά, το υλικό πρέπει να ευνοεί την πρόσφυση των μικροοργανισμών, να είναι σκληρό και ανθεκτικό στις έντονες υδροδυναμικές διατμητικές τάσεις, να είναι χαμηλού κόστους κι εύκολα διαθέσιμο. Για τη δημιουργία σταθερού βιολογικού στρώματος, το υλικό πρέπει να είναι αρκετά υδρόφοβο, να διαθέτει δισθενή κατιόντα ( $Ca^{2+}$  και  $Mg^{2+}$ ) στην επιφάνεια και να έχει τραχεία επιφάνεια. Επίσης, ο βαθμός αποκόλλησης της βιομάζας, λόγω των υδροδυναμικών διατμητικών τάσεων ή της εκτριβής μεταξύ των σωματιδίων του πληρωτικού υλικού, εξαρτάται από την τραχύτητα και το πορώδες του υλικού. Ειδικότερα, η ακινητοποίηση μικροοργανισμών που αναπτύσσονται με αργό ρυθμό και χαμηλή απόδοση κυτταρικού υλικού ευνοείται ιδιαίτερα από την επιλογή πληρωτικού υλικού με τραχεία επιφάνεια και μεγάλους πόρους<sup>28</sup>, όπου δηλαδή εξασφαλίζεται μεγάλη ειδική επιφάνεια (Oliveira *et al.*, 2003).

---

<sup>28</sup> Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι επιτυγχάνεται μέγιστη πυκνότητα ακινητοποιημένων κυττάρων όταν η μέση διάμετρος του πόρου κυμαίνεται μεταξύ 2-5 φορές τη μέση διάμετρο του κυττάρου (Wang *et al.*, 1989).



Σχήμα 3.5. Διαγραμματική απεικόνιση αντιδραστήρων κλίνης που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές (Kaksonen et al., 2007; Speece, 1983)

Πίνακας 3.1. Παραδείγματα πληρωτικών υλικών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες κλίνης

Υλικό	Βιβλιογραφική αναφορά
Άμμος	(Elliott et al., 1998; Jong et al., 2003; 2006; Maree et al., 1985; Schreyer et al., 1999; Zellner et al., 1995)
Αφρός πολυουρεθάνης	(Silva et al., 2002)
Γυαλί	(Alvarez et al., 2006; Kolmert et al., 2001; Nagpal et al., 2000b)
Ελαφρόπετρα	(Alvarez et al., 2006; McDonald et al., 2009)
Ζεόλιθος	(Sahinkaya et al., 2010a)
Πέτρα	(Maree et al., 1985)
Ποζολάνη	(Battaglia-Brunet et al., 2004; Battaglia-Brunet et al., 2012)
Πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας	(Celis-Garcia et al., 2007; Gallegos-Garcia et al., 2009)
Πολυπροπυλένιο	(El Bayoumy et al., 1999a; El Bayoumy et al., 1999b; Steed et al., 2000)
Πυριτικό ανόργανο υλικό	(Kaksonen et al., 2003a; Kaksonen et al., 2003b; Kaksonen et al., 2004a; Kaksonen et al., 2006; Nevatalo et al., 2010c)
Σκόνη άνθρακα	(Ma et al., 1997)
Flocor	(Thabet et al., 2009)
Flootek®	(Tuppurainen et al., 2002)

### Αντιδραστήρας κλίνης ιλύος

Οι αντιδραστήρες αναερόβιας κλίνης ιλύος με ανοδική ροή (UASB) αναπτύχθηκαν αρχικά για την παραγωγή μεθανίου από υγρά απόβλητα με υψηλό οργανικό φορτίο (Hulshoff Pol *et al.*, 2001), όπου το παραγόμενο μεθάνιο αναμιγνύει το υγρό στο εσωτερικό του αντιδραστήρα, με αποτέλεσμα ένα αρκετά σταθερό σύστημα. Ωστόσο, κατά την εφαρμογή των αντιδραστήρων UASB σε θειοαναγωγικές εφαρμογές, η ανάμιξη εξαρτάται αποκλειστικά από την ανοδική ροή του αποβλήτου καθώς, σε αυτή την περίπτωση, τα παραγόμενα αέρια παραμένουν διαλελυμένα (Bijmans *et al.*, 2011).

Βελτιωμένη έκδοση των αντιδραστήρων UASB αποτελεί ο αντιδραστήρας διογκούμενης κλίνης κοκκοποιημένης ιλύος (EGSB) όπου επιτυγχάνεται καλύτερη ανάμιξη με την ανακυκλοφορία υγρού, από την κορυφή προς τον πυθμένα του αντιδραστήρα, με αποτέλεσμα την αύξηση της ανοδικής ταχύτητας του ρευστού μέσου (Hwu *et al.*, 1997a). Η απόδοση του αντιδραστήρα EGSB βελτιώνεται περαιτέρω με ανακύκλωση της βιομάζας που παρασύρεται με το ρεύμα εξόδου (Hwu *et al.*, 1997b) αλλά και ενσωματώνοντας στήλη εκρόφησης στην ανακυκλοφορία του ρευστού, με αποτέλεσμα να ευνοείται η μεταφορά μάζας προς την αέρια φάση και να ελαττώνεται η συγκέντρωση θειούχων ιόντων στην υγρή φάση (Valdes *et al.*, 2006).

Στους αντιδραστήρες κλίνης ιλύος, η συγκράτηση της βιομάζας βασίζεται στις καλές ιδιότητες καθίζησης της κοκκοποιημένης ιλύος, με αποτέλεσμα να μην απαιτείται πληρωτικό υλικό ή άλλο υπόστρωμα για το διαχωρισμό της βιομάζας (Spreese, 1983). Ωστόσο, στην περίπτωση των θειοαναγωγικών βακτηρίων, η κοκκοποίηση της ιλύος δεν είναι τόσο καλή (Weijma *et al.*, 2002) ή γρήγορη (Steed *et al.*, 2000) όσο παρουσία μεθανογόνων βακτηρίων, ενώ η κοκκοποιημένη ιλύς αποσυντίθεται γρήγορα υπό ορισμένες συνθήκες (Spreese, 1983). Επίσης, λόγω του ανταγωνισμού μεταξύ των θειοαναγωγικών και των μεθανογόνων βακτηρίων για το διαθέσιμο θρεπτικό υπόστρωμα, μειώνεται η απόδοση της διεργασίας όσο αφορά την παραγωγή θειούχων και αλκαλικότητας ανά μονάδα προστιθέμενου υποστρώματος.

Έτσι, παρόλο που το κόστος εκκίνησης ενός αντιδραστήρα ιλύος είναι μικρότερο σε σχέση με τους αντιδραστήρες σταθερής και ρευστοστερεής κλίνης, τυχόν πρόσθετος εξοπλισμός που θα απαιτηθεί για τον έλεγχο του βιοαερίου και η μειωμένη απόδοση καθιστούν τους αντιδραστήρες UASB καταλληλότερους για μικροβιακή παραγωγή μεθανίου παρά θειούχων. Γι' αυτό, ο τύπος UASB έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της επίδρασης της δράσης των θειοαναγωγικών βακτηρίων σε μεθανογόνους αντιδραστήρες (Lens *et al.*, 2003b; Sirma *et al.*, 1999).

Ωστόσο, στη βιβλιογραφία συναντάμε αρκετές μελέτες της θειοαναγωγικής διεργασίας σε εργαστηριακούς αντιδραστήρες UASB και EGSB (Πίνακας 3.6), μελέτη απομάκρυνσης ιόντων δισθενούς χαλκού από υδατικό διάλυμα σε σύστημα δύο βαθμίδων με θειοαναγωγικό αντιδραστήρα EGSB και αντιδραστήρα κρυστάλλωσης CuS (Sierra-Alvarez *et al.*, 2007) αλλά και παραδείγματα εφαρμογής θειοαναγωγικών αντιδραστήρων UASB σε πιλοτική κλίμακα

(Hammack *et al.*, 1998) καθώς και σε εγκαταστάσεις κανονικής λειτουργίας (Boonstra *et al.*, 1999).

#### Αντιδραστήρες κλίνης με αδρανές πληρωτικό υλικό

Οι αντιδραστήρες σταθερής κλίνης (PBR) είναι σχετικά απλοί στη διαχείρισή τους, ανθεκτικοί σε τυχόν μεταβολές των συνθηκών λειτουργίας της εγκατάστασης και εξαιρετικά αποδοτικοί (Kolmert *et al.*, 1997). Για παράδειγμα,

- σε αντιδραστήρα PBR που λειτουργούσε με οξικό ως δότη ηλεκτρονίων ( $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-} = 0,64$ ) σε pH 7,2, επιτεύχθηκε απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από υδατικό διάλυμα σε ποσοστό >99% (από αρχική συγκέντρωση (mg/L) Fe-III 840, Zn 650, Mn 275, Cu 127, Cd 2,3, As 2,1, Pb 1,5 έως συγκέντρωση κοντά στις προδιαγραφές πόσιμου νερού, εκτός του Mn) και καλύτερη συγκράτηση των κατακρημνισμάτων στην κλίνη του αντιδραστήρα σε σύγκριση με αντιδραστήρα UASB (Steed *et al.*, 2000).
- η μακροχρόνια μελέτη (διάρκειας > 900 ημέρες) θειοαναγωγικού αντιδραστήρα PBR που λειτουργούσε με γαλακτικό ως δότη ηλεκτρονίων ( $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-} = 2$ ) σε ουδέτερο pH στους 20 °C, έδειξε ότι η σταθερότητα της απόδοσης της διεργασίας σε περιπτώσεις απότομης αύξησης του οργανικού φορτίου οφειλόταν στην παρουσία πολυπληθούς και σταθερής μικτής καλλιέργειας θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (McDonald *et al.*, 2009).

Στη βιβλιογραφία, υπάρχει πλήθος πειραματικών μελετών εφαρμογής των αντιδραστήρων PBR, κυρίως σε κατακόρυφη διάταξη με ανοδική ροή αλλά και σε οριζόντια διάταξη (Damianovic *et al.*, 2007), για τη θειοαναγωγική επεξεργασία υδατικών διαλυμάτων υψηλής συγκέντρωσης θειικών ιόντων και μετάλλων, με συμβατικές (Πίνακας 3.7) ή εναλλακτικές (Cruz Viggì *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2002; Thabet *et al.*, 2009) πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων. Επίσης, αντιδραστήρες σταθερής κλίνης συναντάμε σε μελέτες βελτιστοποίησης της αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων (El Bayoumy *et al.*, 1999b) αλλά και προσδιορισμού της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων για την οποία επιτυγχάνεται ποσοτική απομάκρυνσή τους από υδατικό διάλυμα (El Bayoumy *et al.*, 1999a) όπως και της τιμής pH όπου διατηρείται η θειοαναγωγική διεργασία (Elliott *et al.*, 1998; Jong *et al.*, 2006). Ακόμα, αυτού του τύπου οι αντιδραστήρες έχουν εφαρμοστεί για τη μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή χρωμικών ιόντων με υδρογόνο ως δότη ηλεκτρονίων σε εργαστηριακή (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002; Battaglia-Brunet *et al.*, 2004; Battaglia-Brunet *et al.*, 2007) και πιλοτική (Battaglia-Brunet *et al.*, 2006) κλίμακα, με αιθανόλη ή οξικό ως δότη ηλεκτρονίων και στοιχειακό θείο ως δέκτη ηλεκτρονίων (Sahinkaya *et al.*, 2012) καθώς και για την απομάκρυνση αρσενικού από όξινα υδατικά διαλύματα με τη μορφή θειούχου ένωσης (Battaglia-Brunet *et al.*, 2009; Battaglia-Brunet *et al.*, 2012).

Το κύριο μειονέκτημα των αντιδραστήρων PBR είναι η έμφραξη της κλίνης λόγω των κατακρημνισμάτων, η δημιουργία καναλιών ροής και η αύξηση της πίεσης στο εσωτερικό του

αντιδραστήρα. Τα προβλήματα αυτά αποφεύγονται στους αντιδραστήρες ρευστοστερεής κλίνης (FBR) με ανακύκλωση μέρους του ρεύματος εξόδου έτσι ώστε να επιτυγχάνεται υψηλή ανοδική ταχύτητα του ρευστού μέσου, με αποτέλεσμα τη «ρευστοποίηση» (διατήρηση, δηλαδή, εν αιωρήσει) του πληρωτικού μέσου<sup>29</sup>.

Με την ανακύκλωση του επεξεργασμένου αποβλήτου στους αντιδραστήρες FBR, επιτυγχάνεται αραίωση των υψηλών συγκεντρώσεων του αποβλήτου, αποτρέποντας έτσι πιθανή καταπόνηση του μικροβιακού πληθυσμού του αντιδραστήρα λόγω της επαφής του με τοξικά συστατικά, αλλά ευνοείται η αποκόλληση της βιομάζας λόγω των έντονων διατμητικών τάσεων που αναπτύσσονται (Rittmann, 1982). Ωστόσο, με την ενίσχυση των διατμητικών τάσεων επιτυγχάνεται ομοιόμορφος σχηματισμός λεπτού βιολογικού στρώματος πάνω στα σωματίδια του πληρωτικού υλικού, αποφεύγοντας έτσι τυχόν διαστρωμάτωση στο εσωτερικό του αντιδραστήρα με σχηματισμό βιολογικού στρώματος μεγάλου πάχους στα σωματίδια που βρίσκονται στο πάνω μέρος της κλίνης (Schreyer *et al.*, 1999). Άλλα πιθανά μειονεκτήματα των αντιδραστήρων FBR είναι το μεγάλο χρονικό διάστημα που απαιτείται για την αρχική θέση σε λειτουργία, η δυσκολία ελέγχου του πάχους του αναπτυσσόμενου βιολογικού στρώματος και η υψηλή κατανάλωση ενέργειας λόγω του υψηλού λόγου ανακυκλοφορίας (Saravanane *et al.*, 2000).

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται αρκετές μελέτες της θειοαναγωγικής διεργασίας σε αντιδραστήρες FBR, σε όξινα pH (Kaksonen *et al.*, 2004a) καθώς και σε χαμηλές/υψηλές θερμοκρασίες (Sahinkaya *et al.*, 2007a; b), σε διατάξεις ανοδικής και καθοδικής ροής όπου διευκολύνεται η συλλογή των θειούχων κατακρημνισμάτων των μετάλλων από το κάτω μέρος του αντιδραστήρα (Πίνακας 3.7). Επίσης, περιγράφεται αναλυτικά η ποικιλομορφία του βακτηριακού πληθυσμού που εγκαθίσταται στην κλίνη αυτών των αντιδραστήρων όταν η κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας είναι το γαλακτικό ιόν ή η αιθανόλη (Kaksonen *et al.*, 2004b; Kaksonen *et al.*, 2004c; Kaksonen *et al.*, 2006).

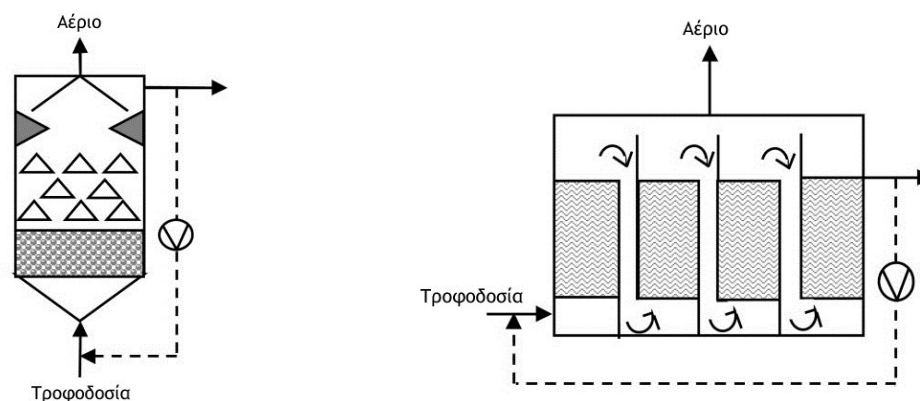
#### Υβριδικός αντιδραστήρας και αντιδραστήρας με πετάσματα

Ο αναερόβιος υβριδικός αντιδραστήρας (AHR, Σχήμα 3.6) είναι συνδυασμός των αντιδραστήρων UASB και PBR, όπου η κλίνη της κοκκοποιημένης ιλύος βρίσκεται στο κάτω μέρος και το πληρωτικό υλικό στο πάνω μέρος του αντιδραστήρα που επιτελεί, έτσι, διπλή λειτουργία: συγκρατεί την ιλύ στο εσωτερικό του αντιδραστήρα, περιορίζοντας έτσι την απώλεια βιομάζας με το ρεύμα εξόδου, ενώ ταυτόχρονα βελτιώνει την απόδοση της επεξεργασίας του ρευστού (Henry *et al.*, 1996). Οι αντιδραστήρες AHR έχουν εφαρμοστεί κυρίως σε μελέτες αναερόβιας επεξεργασίας οργανικών αποβλήτων με υψηλή περιεκτικότητα θειικών ιόντων (Colleran *et al.*, 1994; Colleran *et al.*, 1998; Colleran *et al.*, 2002; O'Flaherty *et al.*, 1999a; O'Flaherty *et al.*, 1999b).

---

<sup>29</sup> Στους αντιδραστήρες FBR, η κλίνη διογκώνεται περισσότερο από 30% επί του αρχικού της όγκου (Saravanane *et al.*, 2000).

Παραλλαγή του αντιδραστήρα UASB αποτελεί και ο αντιδραστήρας με πετάσματα (ABR, Σχήμα 3.6). Πρόκειται για αντιδραστήρα με βαθμίδες που προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών αντιδραστήρων UASB καθώς διαθέτει μεγαλύτερη αντοχή στις απότομες μεταβολές της παροχής ή της συγκέντρωσης οργανικών συστατικών, μεγαλύτερο χρόνο παραμονής της βιομάζας, μικρότερη παραγωγή ιλύος και δυνατότητα μερικού διαχωρισμού των διαφόρων φάσεων του αναερόβιου μεταβολισμού (Barber *et al.*, 1999; Grobicki *et al.*, 1992). Οι αντιδραστήρες ABR έχουν εφαρμοστεί σε μελέτες αναερόβιας επεξεργασίας οργανικών αποβλήτων με υψηλή περιεκτικότητα θειικών ιόντων (Barber *et al.*, 2000; Lens *et al.*, 2000b; Vossoughi *et al.*, 2003) ενώ τα τελευταία χρόνια μελετάται η εφαρμογή τους στην αναερόβια επεξεργασία όξινων αποβλήτων με υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων παρουσία θειοαναγωγικών βακτηρίων (Bayrakdar *et al.*, 2009; Bekmezci *et al.*, 2011; Sahinkaya *et al.*, 2009; Sahinkaya *et al.*, 2010b; Uyanik *et al.*, 2009). Επίσης, πρόσφατα μελετήθηκε η εφαρμογή τους στην επεξεργασία αποβλήτων υφαντουργίας με υψηλή περιεκτικότητα αζωχρωμάτων (Ozdemir *et al.*, 2013).



Υβριδικός αντιδραστήρας  
(*Anaerobic Hybrid Reactor, AHR*)

Αντιδραστήρας με πετάσματα  
(*Anaerobic Baffled Reactor, ABR*)

Σχήμα 3.6. Διαγραμματική απεικόνιση υβριδικού αντιδραστήρα και αντιδραστήρα με πετάσματα που εφαρμόζονται σε θειοαναγωγικές εφαρμογές (Kaksonen *et al.*, 2007; Speece, 1983)

## 3.2. Ιδιότητες ρεύματος τροφοδοσίας

### 3.2.1. pH τροφοδοσίας

Το βέλτιστο pH για τα θειοαναγωγικά βακτήρια αναφέρεται συνήθως στην περιοχή των ουδέτερων τιμών και, επομένως, οι περισσότεροι θειοαναγωγικοί αντιδραστήρες λειτουργούν σε αυτή την περιοχή. Η ανάγκη, όμως, επεξεργασίας όξινων αποβλήτων επέβαλε την τροποποίηση του σχεδιασμού της διεργασίας με ανακύκλωση μέρους του επεξεργασμένου αποβλήτου ή διαχωρισμό του βιολογικού αντιδραστήρα από το στάδιο της καταβύθισης ώστε να αποφεύγεται η επαφή αποβλήτου-βακτηρίων.

Επομένως, δεδομένου ότι η δυνατότητα λειτουργίας του βιολογικού αντιδραστήρα με χαμηλό pH στην τροφοδοσία θα απέφερε μείωση του κατασκευαστικού και του λειτουργικού

κόστους της εγκατάστασης, η πειραματική επιβεβαίωση της δυνατότητας ανάπτυξης θειοαναγωγικών βακτηρίων ανεκτικών στην οξύτητα (ενότητα 2.2.5, pH) οδήγησε στη μελέτη της λειτουργίας θειοαναγωγικών αντιδραστήρων ακινητοποιημένης βιομάζας για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων με pH 5,0 (Bijmans *et al.*, 2008a; Bijmans *et al.*, 2009a), pH 4,2 (Johnson *et al.*, 2006), pH 4,0 (Bijmans *et al.*, 2010), 3,5 (Jong *et al.*, 2006), 3,25 (Elliott *et al.*, 1998), 3,0 (Glombitza, 2001; Kolmert *et al.*, 2001) και 2,5 (Tsukamoto *et al.*, 2004) όπου:

- Η εφαρμογή μικτών καλλιεργειών θειοαναγωγικών βακτηρίων φαίνεται ότι διευκολύνει την εξέλιξη της διεργασίας σε χαμηλό pH σε σύγκριση με τις καθαρές καλλιέργειες.
- Στην περίπτωση αντιδραστήρων εμβολικής ροής όπου δεν υπάρχει έλεγχος του pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα, το όξινο διάλυμα εισόδου έρχεται σε επαφή με ένα μικρό μόνο ποσοστό του βακτηριακού πληθυσμού. Οπότε, η παραγόμενη εκεί αλκαλικότητα προστατεύει το μεγαλύτερο μέρος του αντιδραστήρα από τις όξινες συνθήκες, με αποτέλεσμα η θειοαναγωγική διεργασία να λαμβάνει χώρα σε pH υψηλότερα του pH τροφοδοσίας.

Στην περίπτωση βιομηχανικών αποβλήτων με αλκαλικές τιμές pH, η δράση των θειοαναγωγικών βακτηρίων έχει μελετηθεί μέχρι pH=10 (Pikuta *et al.*, 2003) αλλά οι θειοαναγωγικές διεργασίες έχουν εφαρμογή σε βιομηχανικό επίπεδο μόνο μέχρι pH=8 (van Houten *et al.*, 1995).

### 3.2.2. Συγκέντρωση θειικών ιόντων και ιόντων μετάλλων

Η αρχική συγκέντρωση των θειικών ιόντων είναι σημαντικός παράγοντας καθώς, ως κύριος δέκτης ηλεκτρονίων, επηρεάζει την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Γι' αυτό, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, οπότε ο παράγοντας που περιορίζει την εξέλιξη της θειοαναγωγικής διεργασίας είναι η διάχυση των θειικών ιόντων προς τις κατώτερες στοιβάδες του βιολογικού στρώματος, είναι πιθανή η επικράτηση των μεθανογόνων βακτηρίων (Overmeire *et al.*, 1994). Αντίθετα, η αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης θειικών ιόντων επιταχύνει την αντίδραση αναγωγής, με το συντελεστή ημικορεσμού ( $K_s$ ) να είναι γραμμική αύξουσα συνάρτηση της αρχικής συγκέντρωσης θειικών ιόντων, ενώ δεν επηρεάζεται ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ( $\mu_{max}$ ) και ο συντελεστής βακτηριακής απόδοσης ( $Y$ ) (Moosa *et al.*, 2002). Ωστόσο, η απόδοση της αναγωγής των θειικών ιόντων σε έναν αντιδραστήρα (ή, διαφορετικά, η τελική συγκέντρωση θειικών ιόντων στο επεξεργασμένο απόβλητο συστήματος συνεχούς λειτουργίας), εξαρτάται, κατά κύριο λόγο, από την αναλογία δέκτη/δότη ηλεκτρονίων και τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (White *et al.*, 1996b).

Επίσης, η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία ιόντων μετάλλων. Ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις τα βαρέα μέταλλα ενισχύουν τη θειοαναγωγική δραστηριότητα λόγω της δέσμευσης των παραγόμενων θειούχων, σε υψηλές συγκεντρώσεις έχουν ανασταλτική ή και θανατηφόρα επίδραση (ενότητα 2.2.5, *Παρουσία ιόντων μετάλλων*).



### 3.3. Παράμετροι σχεδιασμού διεργασίας

#### 3.3.1. Θερμοκρασία

Σήμερα, οι περισσότεροι θειοαναγωγικοί αντιδραστήρες λειτουργούν σε μέσες θερμοκρασίες (25-45 °C), όπου οι ταχύτητες ανάπτυξης των βακτηρίων και αναγωγής των θειικών ιόντων έχουν βέλτιστη τιμή (ενότητα 2.2.5, *Θερμοκρασία*). Προφανώς, η ενέργεια που απαιτείται για την ψύξη ή τη θέρμανση του βιολογικού αντιδραστήρα συνεισφέρει στο κόστος της διεργασίας και αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην περίπτωση αραιών ρευμάτων τροφοδοσίας. Επομένως, η λογικότερη λύση είναι η λειτουργία του αντιδραστήρα σε θερμοκρασία κοντά στη θερμοκρασία περιβάλλοντος (του ρεύματος προς επεξεργασία). Γι' αυτό, γίνονται προσπάθειες για προσαρμογή των αντιδραστήρων αυτών σε χαμηλές (5-15 °C) και υψηλές (45-65 °C) θερμοκρασίες.

Η θερμοκρασία επηρεάζει τη μεταβολή της ελεύθερης κατά Gibbs ενέργειας των αντιδράσεων αναγωγής θειικών, μεθανογένεσης και ομοοξικογένεσης (Πίνακας 2.11), θέτοντας θερμοδυναμικούς περιορισμούς στην πραγματοποίηση των αντιδράσεων και τη ροή ηλεκτρονίων προς συγκεκριμένη διεργασία ανάλογα με την πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Για παράδειγμα (Πίνακας 3.2), όσο μειώνεται η θερμοκρασία, αυξάνεται η ενέργεια που αποδεσμεύεται κατά την οξειδοαναγωγική αντίδραση στην περίπτωση που χρησιμοποιείται υδρογόνο ως δότης ηλεκτρονίων, αλλά ελαττώνεται όταν η πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων είναι το οξικό. Επίσης, σε αυξημένη θερμοκρασία ευνοείται περισσότερο η αποικοδόμηση της μεθανόλης από θειοαναγωγικά βακτήρια από ό,τι από μεθανογόνα, σε σύγκριση με τη θερμοκρασία των 25 °C.

Πίνακας 3.2. Τροποποίηση της μεταβολής της ελεύθερης κατά Gibbs ενέργειας των αντιδράσεων αναγωγής θειικών και μεθανογένεσης στην περιοχή 10-55 °C για επιλεγμένους δότες ηλεκτρονίων σε αναερόβιες συνθήκες (Lettinga et al., 2001; Paulo et al., 2004)

Αντίδραση	$\Delta G'$ (kJ/αντίδραση)			
	10 °C	25 °C	37 °C	55 °C
<b>Υδρογόνο</b>				
$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-157,1	-152,4	-148,2	-145,0
$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-140,9	-135,6	-131,3	-125,0
<b>Οξικό</b>				
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-45,3	-47,6	-49,5	-55,0
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-29,2	-31,0	-32,5	-35,0
<b>Μεθανόλη</b>				
$4\text{CH}_3\text{OH} + 3\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}^+ \rightarrow 4\text{HCO}_3^- + 3\text{HS}^-$		-361,6		-385,0
$4\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$		-312,8		-326,0

Επίσης, η θερμοκρασία επηρεάζει τις φυσικές και χημικές ιδιότητες των ρευστών, με συνακόλουθες επιπτώσεις στο σχεδιασμό και τη λειτουργία του συστήματος επεξεργασίας (Lettinga *et al.*, 2001):

- Καθώς η θερμοκρασία μειώνεται κάτω από τους 20 °C, αυξάνεται η διαλυτότητα των αερίων, που σημαίνει ότι οι συγκεντρώσεις του διαλελυμένου μεθανίου, υδροθείου και υδρογόνου θα είναι υψηλότερες στο υγρό αντιδραστήρων που λειτουργούν σε χαμηλή θερμοκρασία έναντι αυτών που λειτουργούν σε υψηλή θερμοκρασία. Επίσης, σε χαμηλές θερμοκρασίες, η μεγάλη αύξηση της διαλυτότητας του διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να οδηγήσει σε μείωση του pH του αντιδραστήρα.
- Σε χαμηλή θερμοκρασία, αυξάνεται το ιξώδες των ρευστών, με αποτέλεσμα να απαιτείται περισσότερη ενέργεια για την ανάμιξη και περισσότερος χρόνος για την καθίζηση των στερεών λόγω του δύσκολου διαχωρισμού στερεών-υγρών. Επίσης, σε αυτή την περίπτωση, δυσχεραίνεται η διάχυση των διαλυτών συστατικών καθώς ο συντελεστής διάχυσης ελαττώνεται κατά περίπου 50% στους 10 °C σε σύγκριση με τη θερμοκρασιακή περιοχή 30-40 °C.

Έτσι, σε υψηλή θερμοκρασία, επιταχύνεται ο ρυθμός ανάπτυξης (αλλά και ο ρυθμός λύσης των κυττάρων) των θειοαναγωγικών βακτηρίων καθώς και όλες οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό του αντιδραστήρα, ενώ παράλληλα μειώνεται η διαλυτότητα του τοξικού υδροθείου. Για παράδειγμα, επιβεβαιώθηκε πειραματικά ότι ο μέσος ρυθμός αναγωγής των θειικών ιόντων είναι τρεις φορές και ο ρυθμός οξειδωσης του οξικού είναι τέσσερις φορές υψηλότερος στους 65 °C από ό,τι στους 8 °C (Sahinkaya *et al.*, 2007a).

Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι απότομη αύξηση της θερμοκρασίας στην περιοχή 45-65 °C μπορεί να βοηθήσει στην επικράτηση μεσόφιλων θειοαναγωγικών βακτηρίων έναντι των μεθανογόνων, κυρίως λόγω του χαμηλότερου ρυθμού ανάπτυξης των δεύτερων και, επομένως, του χαμηλότερου ρυθμού επαναφοράς του πληθυσμού τους μετά την έκθεση σε υψηλή θερμοκρασία (Visser *et al.*, 1993b). Στην περίπτωση θερμόφιλων βακτηρίων, στους 55 °C, βρέθηκε πειραματικά ότι το αποτέλεσμα του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων εξαρτάται από το pH, καθώς μόνο σε πολύ αλκαλικά pH (8,3-8,6) η ροή των ηλεκτρονίων οδηγήθηκε προς την αναγωγή θειικών ιόντων (Visser *et al.*, 1992).

### **3.3.2. Αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στην τροφοδοσία**

Η αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στην τροφοδοσία του αντιδραστήρα είναι κρίσιμος παράγοντας για την τεχνολογική εφαρμογή της διεργασίας για τους εξής λόγους:

- Το οργανικό φορτίο των περισσότερων βιομηχανικών αποβλήτων δεν επαρκεί για τη μικροβιακά υποβοηθούμενη επεξεργασία αποβλήτων με υψηλή περιεκτικότητα σε θειικά ιόντα (ενότητα 1.1). Γι' αυτό, με την προσθήκη κατάλληλης πηγής οργανικού άνθρακα, πρέπει να εξασφαλίζεται η παροχή οργανικού υποστρώματος σε βαθμό που να μην περιορίζεται η διεργασία, δηλαδή η αναγωγή των θειικών ιόντων, λόγω της έλλειψης

δότη ηλεκτρονίων.

- Η συγκέντρωση οργανικού άνθρακα πρέπει να ικανοποιεί τις απαιτήσεις των αντιδράσεων οξειδοαναγωγής καθώς και τις απαιτήσεις ανάπτυξης και διατήρησης ικανού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων, να επαρκεί δηλαδή για την αναγωγή των θειικών ιόντων αλλά και για τη σύνθεση κυτταρικού υλικού. Γι' αυτό, η συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα πρέπει να είναι σε περίσσεια σε σχέση με τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη με βάση τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής.
- Η αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων πρέπει να διατηρείται στην περιοχή όπου ευνοείται η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων, κι αυτό συμβαίνει στις χαμηλές τιμές. Όταν η αναλογία αυτή είναι ιδιαίτερα υψηλή, επικρατούν τα μεθανογόνα βακτήρια (ενότητα 2.2.5, *Παρουσία ανταγωνιστικών βακτηριακών πληθυσμών*). Ειδικότερα, για την περίπτωση που επιλεγεί γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, αναφέρεται ότι, σε υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις, εκτός της οξειδωσης για την αναγωγή των θειικών ιόντων, η αποικοδόμηση του γαλακτικού ενδεχομένως να ακολουθήσει και διαφορετικές οδούς, όπως της ζύμωσης ή της οξικογένεσης (Dag *et al.*, 2008; Oyekola *et al.*, 2009; Qatibi *et al.*, 1990).
- Δεδομένου ότι η οργανική ύλη συνεισφέρει στο λειτουργικό κόστος της εγκατάστασης, επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση του περιεχόμενου οργανικού άνθρακα στο ρεύμα εξόδου, ώστε να αξιοποιείται κατά το βέλτιστο τρόπο το προστιθέμενο υλικό αλλά και να μην απαιτείται περαιτέρω επεξεργασία του ρεύματος εξόδου προς αποικοδόμηση του οργανικού του φορτίου.

Για τους παραπάνω λόγους και στο πλαίσιο της βελτιστοποίησης της τεχνολογικής εφαρμογής της διεργασίας, αλλά και της έλλογης χρήσης των υλικών, υπάρχουν αρκετές μελέτες στη βιβλιογραφία όπου διερευνάται η βέλτιστη περιοχή τιμών για την αναλογία  $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-}$  προκειμένου να επιτυγχάνεται πλήρης αναγωγή των θειικών ιόντων που περιέχονται στο ρεύμα τροφοδοσίας, με διατήρηση της αναλογίας στην περιοχή που ευνοείται η δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων και ελαχιστοποίηση του περιεχόμενου οργανικού φορτίου στο ρεύμα εξόδου. Από τα παρακάτω χαρακτηριστικά παραδείγματα, προκύπτει ότι η βέλτιστη αναλογία εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τη σύνθεση του βακτηριακού πληθυσμού και την πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, δηλαδή από τη συγγένεια βακτηρίων-οργανικού υποστρώματος.

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε κωνικές φιάλες ( $\text{pH} = 7$ ,  $T = 35\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t = 240\text{ h}$ ), με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-}$  μεταξύ 0,67 και 2, παρατηρήθηκε ότι η αναγωγή των θειικών ιόντων, καθώς και η βακτηριακή ανάπτυξη, ήταν ελάχιστη σε αναλογία 0,67 που συμπίπτει με τη στοιχειομετρική αναλογία της αντίδρασης τέλει οξειδωσης του γαλακτικού ιόντος (αντίδραση (2.26)). Αντίθετα, όταν η αναλογία  $\text{ThOD}/\text{SO}_4^{2-}$  διαμορφώθηκε σε 2, η αναγωγή των θειικών ιόντων προσέγγισε το 98% (Barbosa *et al.*, 2009). Σε παρόμοιο αποτέλεσμα κατέληξε η μελέτη της διεργασίας σε αντιδραστήρα

σταθερής κλίνης ανοδικής ροής (pH = 6,7-7, T = 20 °C, HRT = 20 h) με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> μεταξύ 0,75 και 4,5. Προσδιορίστηκε πειραματικά, με αξιολόγηση των παραγόμενων θειούχων ιόντων, ότι οι βέλτιστες τιμές ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> για την εξέλιξη της θειοαναγωγικής διεργασίας βρίσκονταν στην περιοχή 1,5-2,25 (El Bayoumy *et al.*, 1999b).

Είναι αξιοσημείωτο το αποτέλεσμα μελέτης στελέχους Z του *Archaeoglobus fulgidus* στους 80 °C με γαλακτικό σε χαμηλή συγκέντρωση (5 mM) και μεταβλητή συγκέντρωση θειικών ιόντων στην περιοχή 0,3-14 mM. Από τις πειραματικές μετρήσεις προέκυψε ότι, για συγκέντρωση θειικών ιόντων < 0,3 mM, αλλάζει η μεταβολική οδός σε μια αντίδραση όπου ανάγονται λιγότερα mole θειικών ανά mole οργανικού υποστρώματος από ό,τι σε υψηλότερες συγκεντρώσεις θειικών ιόντων (0,6 αντί 1), με σχηματισμό μυρμηκικού ιόντος, και μειώνεται ο ρυθμός αναγωγής των θειικών ιόντων που υπάρχουν στο διάλυμα (Habicht *et al.*, 2005).

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε αντιδραστήρα CSTR διαλείποντος έργου (T = 35 °C, t = 48 h), με προπιονικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε διάφορες αναλογίες προπιονικού:θειικών στο αρχικό διάλυμα, επιτεύχθηκε σχεδόν πλήρης (>98% σε συνθήκες σταθερής κατάστασης) αναγωγή των διαθέσιμων θειικών ιόντων όταν η αναλογία προπιονικού:θειικών ήταν 1,01, δηλαδή περίπου η στοιχειομετρική (Ghigliazza *et al.*, 2000). Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε αντιδραστήρα σταθερής κλίνης ανοδικής ροής (pH = 7-8, T = 20 °C, HRT = 24 h), με προπιονικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> μεταξύ 0,69 και 1,36, η υψηλότερη απομάκρυνση θειικών ιόντων (85%) αλλά και ο υψηλότερος ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων (1 g/Ld) επιτεύχθηκαν για ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 1,36 (Greben *et al.*, 2004).

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε αντιδραστήρα CSTR συνεχούς λειτουργίας (pH = 6,85-7,05, T = 35 °C, HRT = 168 h), με γλυκόζη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> μεταξύ 2 και 5, παρατηρήθηκε ότι τα παραγόμενα θειούχα άρχισαν να δρουν ανασταλτικά στη μεθανογόνο δραστηριότητα όταν η αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> διαμορφώθηκε στην τιμή 2,5 με αύξηση της ποσοστιαίας ροής ηλεκτρονίων προς τη θειοαναγωγική διεργασία, αλλά, στις πειραματικές συνθήκες που μελετήθηκαν, τα μεθανογόνα βακτήρια παρέμειναν ο κύριος αποικοδομητής του οργανικού άνθρακα (Khanal *et al.*, 2005).

Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε αντιδραστήρα σταθερής κλίνης οριζόντιας ροής (pH = 8, T = 30 °C, HRT = 12 h), με σύνθετη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (αποτελούμενη από αιθανόλη, οξικό, προπιονικό και βουτυρικό σε αναλογία COD 10:5:3:2) σε αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> μεταξύ 1 και 5, παρατηρήθηκε ότι η αναγωγή των θειικών ιόντων υπερέβη το 90% όταν η αρχική συγκέντρωσή τους ήταν 1.965 mg/L και η αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> > 1,7. Στην περιοχή τιμών όπου ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> > 2,5, παρατηρήθηκε καθαρά η συμμετοχή μεθανογόνων βακτηρίων στις ολικές

διεργασίες (Damianovic *et al.*, 2007). Συγκρίσιμα αποτελέσματα προέκυψαν από πειραματική εργασία σε αντιδραστήρα UASB (pH = 7, T = 30 °C, HRT = 96 h), με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> μεταξύ 0,67 και 2,5, όπου παρατηρήθηκε επαρκής παραγωγή θειούχων ιόντων για την ποσοτική καταβύθιση των ιόντων μολύβδου αρχικής συγκέντρωσης 200 mg/L, παρά την ατελή οξειδωση της αιθανόλης προς οξικό, όταν η αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> είχε τιμή στην περιοχή 1,5-2,5 (Velasco *et al.*, 2008).

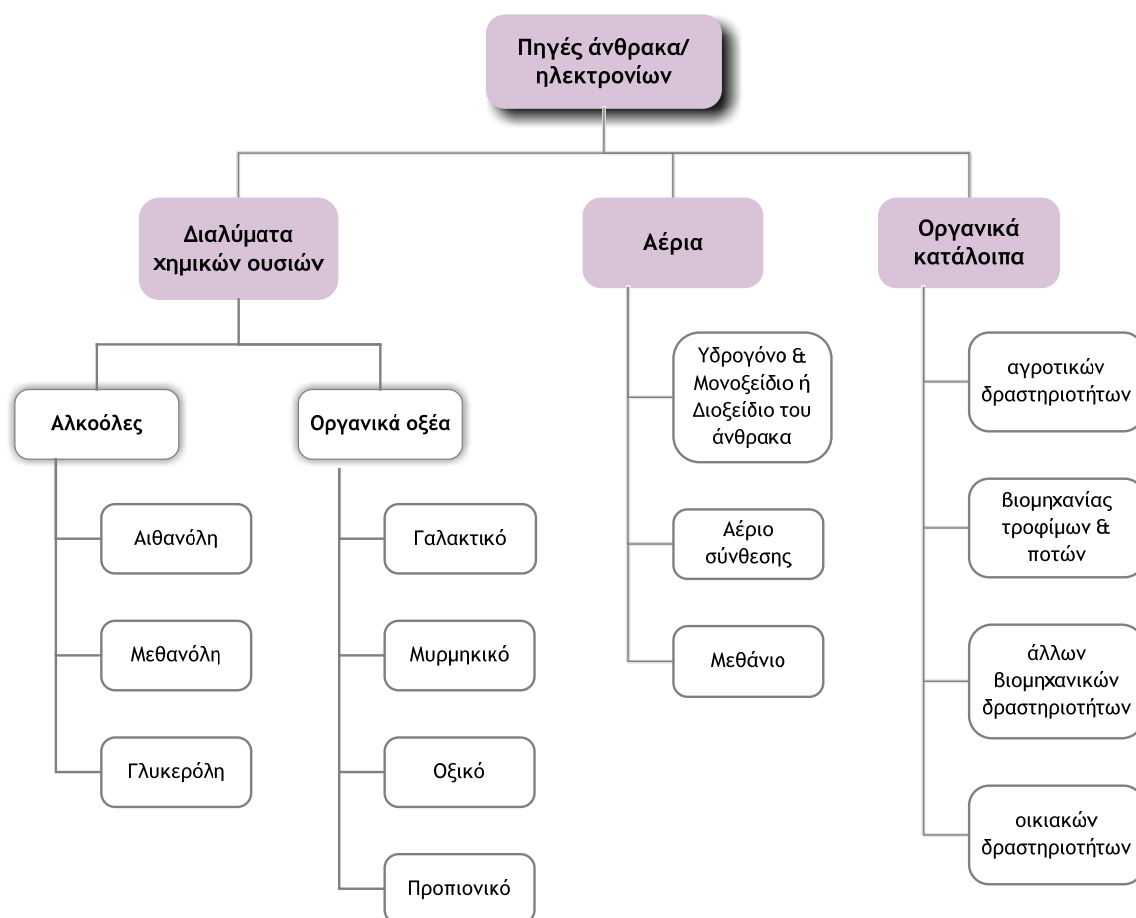
Σε ένα από τα πληρέστερα μοντέλα προσομοίωσης αντιδραστήρα UASB που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, με προσαρμογή σε πειραματικά αποτελέσματα, λαμβάνεται υπόψη η ανάπτυξη και ο μεταβολισμός οξεογόνων, οξικογόνων, μεθανογόνων και θειοαναγωγικών βακτηρίων με σύνθετη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (αποτελούμενη από οξικό, προπιονικό και σακχαρόζη σε αναλογία COD 5:4:1) στους 30 °C. Εκεί, αποδεικνύεται ότι, όταν ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> > 1,5, προκύπτει σημαντική μείωση στο ποσοστό του οξικού που καταναλώνεται από τα θειοαναγωγικά βακτήρια. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, σε συνθήκες ελλείμματος θειικών ιόντων, το οξικό καταναλώνεται από οξικογόνα και υδρογονότροφα θειοαναγωγικά που αναπτύσσονται γρήγορα αντί των οξικότροφων θειοαναγωγικών που χαρακτηρίζονται από αργό ρυθμό ανάπτυξης. Έτσι, λόγω του ελλείμματος θειικών, το οξικό χρησιμοποιείται ελάχιστα ως δότης ηλεκτρονίων στις αντιδράσεις μεταβολισμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων ενώ χρησιμοποιείται κυρίως από τα μεθανογόνα (Kalyuzhnyi *et al.*, 1997a). Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξε πειραματική μελέτη σε αντιδραστήρα UASB (pH = 5, T = 55 °C, HRT = 10 h), με σακχαρόζη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία ThOD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> = 1, όπου το μοναδικό ενδιάμεσο προϊόν της αποικοδόμησης του οργανικού υποστρώματος που ανιχνεύθηκε στο επεξεργασμένο απόβλητο ήταν το οξικό ιόν, λόγω του περιορισμένου αρχικού αριθμού και του αργού ρυθμού ανάπτυξης των οξικότροφων βακτηρίων (Lopes *et al.*, 2010).

### 3.3.3. Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων

Τα περισσότερα είδη βιομηχανικών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και ιόντων μετάλλων έχουν χαμηλό οργανικό φορτίο (ενότητα 1.1). Επομένως, η απόδοση των βιολογικών διεργασιών που βασίζονται στην αναγωγή των θειικών ιόντων εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από το δότη ηλεκτρονίων και την πηγή άνθρακα που θα προστεθούν για την υποστήριξη των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Ως δότες ηλεκτρονίων/πηγές άνθρακα μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαλύματα καθαρών χημικών ουσιών, αέρια ή οργανικά κατάλοιπα (Σχήμα 3.7). Για την επιλογή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων (ή, αλλιώς, του θρεπτικού υποστρώματος) που θα χρησιμοποιηθεί σε συγκεκριμένη εφαρμογή, εξετάζονται αρκετοί παράγοντες:

- η ικανότητα μεταβολισμού του υποστρώματος από τα θειοαναγωγικά βακτήρια
- η καταλληλότητα του υποστρώματος για τη συγκεκριμένη εφαρμογή (παθητική/δυναμική μέθοδος, τύπος αντιδραστήρα κ.λπ)

- η συγκέντρωση των θειικών ιόντων προς αναγωγή και το κόστος του υποστρώματος ανά μονάδα παραγόμενου υδρόθειου
- η διαθεσιμότητα επαρκών ποσοτήτων υποστρώματος
- τυχόν εναπομένον οργανικό φορτίο στο επεξεργασμένο απόβλητο λόγω της ατελούς αποικοδόμησης του υποστρώματος
- οι ισχύοντες κανονισμοί περί ασφάλειας και προστασίας του περιβάλλοντος καθώς και άλλοι παράγοντες, όπως οι απαιτήσεις και το κόστος μεταφοράς και αποθήκευσης (για παράδειγμα, κατά τη μεταφορά και αποθήκευση αλκοολών θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι οι ουσίες αυτές είναι εύφλεκτες)



Σχήμα 3.7. Δότες ηλεκτρονίων και πηγές άνθρακα που έχουν μελετηθεί για την τεχνολογική εφαρμογή της μικροβιακής αναγωγής θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες

Η επιλογή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων επηρεάζει σημαντικά το ρυθμό αναγωγής των θειικών ιόντων ενώ από διαφορετικούς συνδυασμούς δότη-δέκτη ηλεκτρονίων μπορεί να προκύψουν διαφορετικές αποδόσεις βακτηριακής βιομάζας. Παράλληλα, ο ρυθμός κατανάλωσης του υποστρώματος εξαρτάται από τη συγκέντρωση του δότη και του δέκτη ηλεκτρονίων, παράμετροι που επηρεάζουν και τον ανταγωνισμό μεταξύ θειοαναγωγικών και

μεθανογόνων βακτηρίων (Liamleam *et al.*, 2007). Επίσης, προκειμένου να ευνοηθεί η επικράτηση των θειοαναγωγικών βακτηρίων<sup>30</sup>, παράμετροι όπως το pH και η θερμοκρασία μπορεί να περιορίζουν τις δυνατές επιλογές πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων (Kaksonen *et al.*, 2007).

### Οργανικά οξέα και αλκοόλες

Στα συστήματα βιολογικών αντιδραστήρων, προτιμάται η εφαρμογή πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων σε υγρή ή αέρια μορφή ώστε να επιτρέπεται η συνεχής λειτουργία τους χωρίς την ανάγκη αναπλήρωσης του υποστρώματος, όπως θα συνέβαινε στην περίπτωση στερεών υλικών. Αντίθετα, τα υλικά αυτά προτιμώνται στα παθητικά συστήματα επεξεργασίας αποβλήτων όπου επιδιώκεται η λειτουργία με τον ελάχιστο δυνατό εξοπλισμό (π.χ. αντλίες) (Kaksonen *et al.*, 2007).

Το γαλακτικό θεωρείται καλή πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για τα περισσότερα θειοαναγωγικά βακτήρια (Πίνακας 2.7), με υψηλή απόδοση ως προς την παραγωγή βιομάζας (White *et al.*, 1996a) και αλκαλικότητας. Γι' αυτό, χρησιμοποιείται ευρέως ως πρότυπο υπόστρωμα σε διάφορες εργαστηριακές μελέτες, για τον εμπλουτισμό μικτών καλλιιεργειών σε θειοαναγωγικά βακτήρια (Liamleam *et al.*, 2007) καθώς και κατά το στάδιο εκκίνησης ανάλογων βιολογικών αντιδραστήρων. Ωστόσο, το υψηλό κόστος που συνεπάγεται η χρησιμοποίησή του σε εγκαταστάσεις μεγάλης κλίμακας σε συνδυασμό με την ατελή οξειδωσή του από τα περισσότερα είδη βακτηρίων (αντίδραση (2.25)), με αποτέλεσμα την υψηλή συγκέντρωση COD στο επεξεργασμένο απόβλητο, έχουν οδηγήσει την έρευνα στην αναζήτηση εναλλακτικών πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων.

Μια άλλη ελκυστική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων είναι η αιθανόλη που επίσης μεταβολίζεται από πολλά είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων (Πίνακας 2.7), αλλά εξασφαλίζει αργό ρυθμό ανάπτυξης. Ωστόσο, οι White & Gadd έδειξαν ότι η αιθανόλη ήταν πιο αποτελεσματική όσο αφορά την παραγωγή θείουχων σε σχέση με το γαλακτικό, το οποίο, όμως, παρήγαγε τη μεγαλύτερη ποσότητα βιομάζας (White *et al.*, 1996a). Κατά την ατελή οξειδωσή της (αντίδραση (2.27)), δεν παράγεται αλκαλικότητα και συσσωρεύονται ιόντα οξικού στο επεξεργασμένο απόβλητο. Σε σχέση, όμως, με το γαλακτικό, είναι φθηνότερη και ευκολότερα διαθέσιμη.

Η μεθανόλη παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων λόγω της μεγάλης διαθεσιμότητας και του χαμηλού κόστους της. Δεδομένου ότι ο αριθμός των ειδών που μπορούν να μεταβολίσουν τη μεθανόλη είναι περιορισμένος, εφόσον προσαρμοστεί ο βακτηριακός πληθυσμός στη μεθανόλη, σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την έκβαση του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων είναι η θερμοκρασία (Πίνακας 3.2). Έτσι, σε μεσόφιλες συνθήκες, περισσότερο από το 90% της καταναλωθείσας

---

<sup>30</sup> Στις μικτές καλλιέργειες (θειοαναγωγικών, μεθανογόνων και ομοξικογόνων βακτηρίων) που εγκαθίστανται συνήθως στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες, τα θειοαναγωγικά βακτήρια ανταγωνίζονται τα άλλα για την κοινή πηγή άνθρακα.

μεθανόλης χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή μεθανίου ενώ μόνο το 5-10% αξιοποιήθηκε για την αναγωγή θειικών ιόντων (Weijma *et al.*, 2003). Αντίθετα, σε υψηλές θερμοκρασίες (55-70 °C), επικρατούν τα θειοαναγωγικά βακτήρια (Vallero *et al.*, 2004) αλλά η διεργασία αναστέλλεται λόγω του σχηματισμού οξικού (Weijma *et al.*, 2000a).

Τεχνολογικό ενδιαφέρον παρουσιάζει και η περίπτωση της γλυκερόλης, ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για τα θειοαναγωγικά βακτήρια, λόγω της υψηλής διαθεσιμότητάς της ως παραπροϊόν της παραγωγής απορρυπαντικών και ντίζελ βιολογικής προέλευσης. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε COD, έχει μελετηθεί κυρίως ως υπόστρωμα αναερόβιας χώνευσης με στόχο την παραγωγή βιοαερίου (Viana *et al.*, 2012). Ωστόσο, πρόσφατα, διερευνήθηκε η δυνατότητα ανάπτυξης θειοαναγωγικών βακτηρίων με γλυκερόλη ως κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε χαμηλό pH (Kimura *et al.*, 2006; Nancucchio *et al.*, 2013; Sen, 2001) καθώς και η κινητική της αποικοδόμησής της από θειοαναγωγικά βακτήρια (Dinkel *et al.*, 2010). Σε μία επίσης πρόσφατη μελέτη αποδείχθηκε ότι οι ρυθμοί αναγωγής θειικών ιόντων που επιτυγχάνονται με γλυκερόλη και γαλακτικό ιόν ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων είναι συγκρίσιμοι (Bertolino *et al.*, 2013).

Το προπιονικό εξετάζεται ως δυνατή πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για τα θειοαναγωγικά βακτήρια καθώς είναι από τα βασικότερα ενδιάμεσα προϊόντα της αναερόβιας χώνευσης (Σχήμα 1.3) και, μαζί με το οξικό, το κύριο προϊόν της ζύμωσης του γαλακτικού οξέος. Η αποικοδόμηση του προπιονικού σε περιβάλλον θειικών ιόντων μπορεί να ακολουθήσει τουλάχιστον επτά οδούς: τέλεια ή ατελής οξειδωση από θειοαναγωγικά βακτήρια, ζύμωση προς οξικό και υδρογόνο, αποικοδόμηση του παραγόμενου οξικού από θειοαναγωγικά ή μεθανογόνα βακτήρια και χρήση του παραγόμενου υδρογόνου από θειοαναγωγικά ή μεθανογόνα βακτήρια (Maillacherunu *et al.*, 1993; Maillacherunu *et al.*, 1996; Uberoi *et al.*, 1997), όπου αντίστοιχες ομάδες βακτηρίων ανταγωνίζονται για τα διαθέσιμα υποστρώματα (Parkin *et al.*, 1990; Uberoi *et al.*, 1995). Η πολυπλοκότητα του συστήματος ενισχύεται στην περίπτωση που χρησιμοποιείται γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και το προπιονικό εμφανίζεται στη διεργασία κατά τη ζύμωση του γαλακτικού, διεργασία που εξαρτάται από την αναλογία γαλακτικών/θειικών ιόντων στο διάλυμα προς επεξεργασία (Dar *et al.*, 2008).

Γενικά, τα άλατα του οξικού δεν προτιμώνται ως κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες επειδή το οξικό ιόν δεν οξειδώνεται από τα περισσότερα είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων (Πίνακας 2.7) και αποδίδει μικρή ποσότητα βιομάζας ανά μονάδα οξειδούμενης ουσίας. Ωστόσο, το οξικό είναι σημαντικό ενδιάμεσο προϊόν της διάσπασης των οργανικών υποστρωμάτων στις αναερόβιες διεργασίες και, επομένως, η δυνατότητα αξιοποίησής του καθορίζει εν πολλοίς και την απόδοση της θειοαναγωγικής διεργασίας. Γενικά, παρουσία οξικού, τα μεθανογόνα βακτήρια επικρατούν των θειοαναγωγικών λόγω του ταχύτερου ρυθμού ανάπτυξής τους (Yoda *et al.*, 1987), παρόλο που τα δεύτερα έχουν θερμοδυναμικό πλεονέκτημα (Πίνακας 2.11). Ωστόσο, σε μακροχρόνια λειτουργία, τα θειοαναγωγικά επικρατούν σταδιακά των μεθανογόνων λόγω της μεγαλύτερης συγγένειάς τους με το υπόστρωμα και του ταχύτερου ρυθμού οξειδωσης του υποστρώματος (Harada *et al.*,



1994).

Από ενεργειακής άποψης, το μυρμηκικό μπορεί να θεωρηθεί εναλλακτικός δότης ηλεκτρονίων, ισοδύναμος του υδρογόνου (ενότητα 2.2.3, *Μυρμηκικό ιόν*). Γι' αυτό, χρησιμοποιείται συνήθως σε πειράματα εργαστηριακής κλίμακας αντί του υδρογόνου, για λόγους ασφαλείας (Bijmans *et al.*, 2008b; Paulo *et al.*, 2005) και κόστους (Vallero *et al.*, 2004).

### Αέρια

Γενικά, οι αέριες πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων έχουν δύο πλεονεκτήματα: το απόβλητο δεν αραιώνεται με ρεύμα υγρού (που περιέχει την πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων) και δεν εκρέει η πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων μαζί με το επεξεργασμένο απόβλητο από την έξοδο του αντιδραστήρα. Πιθανό μειονέκτημα των αερίων είναι ότι καταλαμβάνουν σημαντικό όγκο και, επομένως, πρέπει να συμπιέζονται κατά τη μεταφορά. Στην περίπτωση αντιδραστήρων GLR, η μεταφορά του αερίου υποστρώματος στον όγκο του υγρού είναι συχνά το στάδιο που περιορίζει την ταχύτητα της διεργασίας λόγω της χαμηλής διαλυτότητας των αερίων, ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες. Ωστόσο, η μεταφορά μάζας μπορεί να βελτιωθεί με καλύτερη επαφή αερίου-υγρού (καλύτερη συγκράτηση του αερίου ή μικρότερες φυσαλίδες) και υψηλότερη μερική πίεση του αερίου (Bijmans *et al.*, 2011).

Το υδρογόνο εμφανίζεται ως ελκυστική πηγή ηλεκτρονίων για τα θειοαναγωγικά βακτήρια επειδή η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας των αντίστοιχων αντιδράσεων ευνοεί την αναγωγή των θειικών ιόντων ως προς την παραγωγή μεθανίου (Πίνακας 2.11). Ωστόσο, σε αυτή την περίπτωση, πρέπει να εξασφαλίζεται κατάλληλη πηγή άνθρακα για την παραγωγή κυτταρικού υλικού. Γι' αυτό, η παροχή υδρογόνου συνοδεύεται συνήθως από διοξείδιο του άνθρακα (αυτότροφα βακτήρια) ή οξικό (χημειολιθοτερότροφα βακτήρια). Το CO<sub>2</sub> οδηγεί σε μείωση του pH, μέσω του σχηματισμού ανθρακικού οξέος, εξουδετερώνοντας έτσι τα υδροξύλια που παράγονται κατά την αναγωγή των θειικών (αντίδραση (2.18)) και ρυθμίζοντας το pH του αντιδραστήρα. Ωστόσο, χρειάζεται προσοχή ώστε να μη φθάσει το pH σε πολύ όξινες τιμές (van Houten *et al.*, 1994). Στις εγκαταστάσεις θειοαναγωγικών αντιδραστήρων, το υδρογόνο μπορεί να παράγεται επί τόπου από άλλες πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων, όπως προπιονικό, μεθανόλη ή γλυκόζη (Liamleam *et al.*, 2007), ή από το μετασχηματισμό φυσικού αερίου ή LPG, οπότε προκύπτει και το απαιτούμενο διοξείδιο του άνθρακα από τη διάσπαση των υδρογονανθράκων (Kaksonen *et al.*, 2007). Λόγω του ιδιαίτερου εξοπλισμού που απαιτείται, η χρήση υδρογόνου προτιμάται σε εφαρμογές μεγάλης κλίμακας, όπου η παραγωγή υδροθείου υπερβαίνει τους 2,5 t/d (Kaksonen *et al.*, 2007) και εξασφαλίζονται οι απαραίτητες συνθήκες ασφαλείας.

Το αέριο σύνθεσης (μίγμα H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> και CO) έχει προταθεί ως οικονομική εναλλακτική λύση έναντι του συνδυασμού υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα για τη μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων (van Houten, 2006). Η ανασταλτική δράση του μονοξειδίου, λόγω της τοξικής επίδρασής του στα θειοαναγωγικά βακτήρια, μπορεί να αντιμετωπιστεί μέσω του εμπλουτισμού της καλλιέργειας με βακτηριακά είδη που έχουν δυνατότητα ανάπτυξης με CO ως πηγή άνθρακα ή μετατροπής του CO σε CO<sub>2</sub>. Για παράδειγμα,

το *Desulfotomaculum carboxydivorans* μπορεί να μετατρέψει το CO σε CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>, τα οποία χρησιμοποιούνται στη συνέχεια για την αναγωγή των θειικών ιόντων (Parshina *et al.*, 2005). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι ορισμένα θερμοφιλά θειοαναγωγικά βακτήρια είναι περισσότερο ανθεκτικά στο CO από ό,τι αναμενόταν (Sirna *et al.*, 2007), γεγονός που μπορεί να επιτρέψει την απευθείας χρήση του αερίου σύνθεσης ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων στους βιολογικούς αντιδραστήρες.

Το μεθάνιο από φυσικό αέριο (80% μεθάνιο) ή βιοαέριο (50-75% μεθάνιο) θα μπορούσε να αποτελέσει μια ενδιαφέρουσα περίπτωση εναλλακτικής πηγής άνθρακα και ηλεκτρονίων, αλλά οι εξαιρετικά αργοί ρυθμοί ανάπτυξης των εμπλεκόμενων βακτηρίων περιορίζουν κατά πολύ τις δυνατότητες εφαρμογής του σε θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες (Gonzalez-Gil *et al.*, 2011; Meuleras *et al.*, 2010).

### Οργανικά κατάλοιπα

Τα οργανικά κατάλοιπα που έχουν μελετηθεί ως προς την ικανότητά τους να λειτουργούν ως δότες ηλεκτρονίων για τη μικροβιακή αναγωγή των θειικών ιόντων είναι παραπροϊόντα και απορρίμματα της βιομηχανίας τροφίμων και ποτών, της χαρτοβιομηχανίας καθώς και των αγροτικών και οικιακών δραστηριοτήτων, με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, κυτταρίνη και υδρογονάνθρακες (Πίνακας 3.3).

Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται επίσης η εφαρμογή μιγμάτων των υλικών αυτών (Cheong *et al.*, 1998; Figueroa *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2001; Hiibel *et al.*, 2011; Lindsay *et al.*, 2008; Neculita *et al.*, 2008; Waybrant *et al.*, 2002; Zagury *et al.*, 2006). Στις περισσότερες δε από αυτές τις περιπτώσεις, προστίθεται και ασβεστόλιθος για τη ρύθμιση της αλκαλικότητας (Cheong *et al.*, 1998; Figueroa *et al.*, 2004; Hiibel *et al.*, 2011; Lindsay *et al.*, 2008; Neculita *et al.*, 2008; Waybrant *et al.*, 2002; Zagury *et al.*, 2006) καθώς και κάποιο αδρανές πορώδες μέσο, όπως άμμος (Lindsay *et al.*, 2008; Neculita *et al.*, 2008; Waybrant *et al.*, 2002; Zagury *et al.*, 2006) ή περλίτης (Cruz Viggi *et al.*, 2010).

Παρόλο που οι ουσίες που αποτελούν τη σύνθετη αυτή οργανική ύλη δεν μπορούν να αξιοποιηθούν ως έχουν από τα θειοαναγωγικά βακτήρια, αποικοδομούνται σε κατάλληλα υποστρώματα (Σχήμα 1.3) που μπορούν, στη συνέχεια, να χρησιμοποιήσουν τα θειοαναγωγικά βακτήρια ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Για να συμβεί, όμως, αυτό, απαιτούνται ειδικά βακτήρια που συμμετέχουν στις εν λόγω ζυμώσεις, προϋποθέτοντας την παρουσία μικτού μικροβιακού πληθυσμού. Έτσι, όταν αυτό δεν συμβαίνει ή δεν επαρκεί και προκειμένου να ενισχυθεί η θειοαναγωγική δραστηριότητα, απαιτείται η προσθήκη συμβατικού δότη ηλεκτρονίων, όπως η αιθανόλη (Silva *et al.*, 2002).

Προς το παρόν, τα οργανικά κατάλοιπα δεν επιλέγονται ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες υψηλής απόδοσης για τους παρακάτω κυρίως λόγους:

- Συχνά, δεν εξασφαλίζεται η ποιότητα και η ποσότητα των υλικών αυτών, με αποτέλεσμα να μην εξασφαλίζεται η σταθερή απόδοση της διεργασίας.

- Ενδεχομένως να περιέχουν οργανική ύλη αργά ή δύσκολα αποικοδομήσιμη ή σε χαμηλή συγκέντρωση. Σε αυτή την περίπτωση, οι αντιδραστήρες θα πρέπει να είναι πολύ μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους που τροφοδοτούνται με καθαρές χημικές ουσίες ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων.

Η αξιοποίηση οργανικών καταλοίπων ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες θα αποτελούσε τη φθηνότερη και πλέον βιώσιμη λύση στην περίπτωση που η οργανική ύλη ήταν συμπυκνωμένη, εύκολα βιοαποικοδομήσιμη, διαθέσιμη καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου, σταθερής ποιότητας και ποσότητας και παραγόταν κοντά στην εγκατάσταση επεξεργασίας των αποβλήτων.

Πίνακας 3.3. Οργανικά κατάλοιπα διαφόρων δραστηριοτήτων ως θρεπτικά υποστρώματα για την ανάπτυξη θειοαναγωγικών βακτηρίων

Οργανικά κατάλοιπα	Βιβλιογραφική αναφορά
Αγροτικά & φυτικά παραπροϊόντα	
Ζωοτροφές	(Wakeman et al., 2010)
Κομπόστ μανιταριών	(Chang et al., 2000; Dvorak et al., 1992)
Κομπόστ φύλλων	(Gibert et al., 2004)
Κοπριά ζώων	(Gibert et al., 2004; Tsukamoto et al., 2004)
Υδρόλυμα φυτικού υλικού	(Lakaniemi et al., 2010)
Υπολείμματα κοπής ξύλου, πριονίδι	(Chang et al., 2000; Tuttle et al., 1969)
Υπολείμματα κοπής χόρτων	(Greben et al., 2007; Greben et al., 2009)
Βιομηχανία τροφίμων & ποτών	
Απόσταγμα αιθανόλης	(Gonçalves et al., 2007)
Μελάσα	(Annachhatre et al., 2001; Geets et al., 2006; Maree et al., 1987; Teclu et al., 2009)
Ορός γάλατος από τυροκομείο	(Christensen et al., 1996; Drury, 1999)
Φλοιός ρυζιού	(Chockalingam et al., 2005; Chockalingam et al., 2006)
Άλλες βιομηχανικές δραστηριότητες	
Απόβλητο βυρσοδεφείων	(Boshoff et al., 2004)
Απόβλητο παραγωγής βιοντίζελ	(Zamzow et al., 2006)
Απόβλητο παραγωγής οργανικών υπεροξειδίων	(Silva et al., 2002)
Ιλύς χαρτοβιομηχανίας	(Chang et al., 2000)
Οικιακά απόβλητα	
Εκχύλισμα ΧΥΤΑ	(Thabet et al., 2009)
Ιλύς επεξεργασίας λυμάτων	(Costa et al., 2008; de Lima et al., 2001; Poinapen et al., 2009a; b; c; Poinapen et al., 2009d; Poinapen et al., 2010a; b; Prasad et al., 1999; Rose et al., 2004; Sahinkaya, 2009b)
Κομπόστ οικιακών απορριμμάτων	(Gibert et al., 2004)

#### 3.3.4. Υδραυλικός χρόνος παραμονής στον αντιδραστήρα

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) του διαλύματος προς επεξεργασία στο εσωτερικό του αντιδραστήρα (και, κατ' επέκταση, η ταχύτητα διέλευσης του υγρού) είναι κρίσιμη παράμετρος για το σχεδιασμό των θειοαναγωγικών αντιδραστήρων καθώς επηρεάζει άμεσα το ρυθμό αναγωγής των θειικών ιόντων και, επομένως, την απόδοση του συστήματος επεξεργασίας.

Είναι προφανές ότι το ζητούμενο για την οικονομικά αποδοτική λειτουργία των αντιδραστήρων είναι ο κατά το δυνατό μικρότερος χρόνος παραμονής, προκειμένου να εξασφαλιστεί υψηλή δυναμικότητα. Παράλληλα, όμως,

- ο χρόνος επαφής του διαλύματος προς επεξεργασία με το λεπτό στρώμα ακινητοποιημένης βιομάζας θα πρέπει να επαρκεί για τη διάχυση των συστατικών από την υγρή φάση στο εσωτερικό του λεπτού βιολογικού στρώματος, λαμβάνοντας υπόψη και την κινητική των βιοχημικών αντιδράσεων.
- οι διατμητικές τάσεις που αναπτύσσονται ανάλογα με την ταχύτητα διέλευσης του υγρού θα πρέπει να επιτρέπουν την παραμονή της βιομάζας σε επαφή με το πληρωτικό υλικό του αντιδραστήρα και να μην προκαλούν την αποκόλληση και, κατά συνέπεια, την εκροή της από το σύστημα επεξεργασίας.

Έτσι, στην περίπτωση που σχηματίζεται οξικό κατά την ατελή οξειδωση της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ανασταλτική δράση της συσσώρευσης οξικών ιόντων στο υγρό του αντιδραστήρα αλλά και το έλλειμμα σε παραγόμενη αλκαλικότητα (Kaksonen *et al.*, 2004a), λόγω του αργού ρυθμού ανάπτυξης των οξικότροφων θειοαναγωγικών βακτηρίων.

Ωστόσο, μεγάλοι χρόνοι παραμονής βρέθηκε ότι ευνοούν την επικράτηση μεθανογόνων βακτηρίων σε αντιδραστήρα CSTR καθώς και την οξειδωση μέρους των παραγόμενων θειούχων προς στοιχειακό θείο (στην περίπτωση που το σύστημα δεν είναι εντελώς ανοξικό και υπάρχουν ίχνη ατμοσφαιρικού αέρα) (Greiben *et al.*, 2000). Ομοίως, η αύξηση του χρόνου παραμονής σε αντιδραστήρα GLR, με CO ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, είχε ως αποτέλεσμα την επικράτηση των υδρογονότροφων μεθανογόνων βακτηρίων (Sirma *et al.*, 2007). Αντίθετα, από μελέτη προσομοίωσης αντιδραστήρα UASB προέκυψε ότι, στην περίπτωση μακροχρόνιας λειτουργίας (>2 μηνών), αύξηση του χρόνου παραμονής συνεπάγεται αύξηση του ποσοστού του οξικού που καταναλώνεται από θειοαναγωγικά βακτήρια, λόγω της ελαττωμένης απώλειας οξικότροφων θειοαναγωγικών βακτηρίων στο ρεύμα εξόδου (Kalyuzhnyi *et al.*, 1997a).

Ειδικότερα, στην περίπτωση αντιδραστήρων κοκκοποιημένης ιλύος (UASB και EGSB), έχει προταθεί η χρήση της ταχύτητας ως εργαλείου ελέγχου του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων (Isa *et al.*, 1986), καθώς παρατηρήθηκε αύξηση της μεθανογόνου δραστηριότητας σε υψηλές ταχύτητες (4-6 m/h) που αποδόθηκε στην καλύτερη δυνατότητα προσκόλλησης των μεθανογόνων έναντι των θειοαναγωγικών βακτηρίων (Omil *et al.*, 1996). Σε παρόμοιο αποτέλεσμα κατέληξε πειραματική μελέτη με μελάσα ως πηγή

άνθρακα/ηλεκτρονίων, όπου παρατηρήθηκε εκροή των θειοαναγωγικών βακτηρίων για ταχύτητα > 1 m/h (Shayegan *et al.*, 2005). Ωστόσο, το συμπέρασμα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε χαμηλότερες ταχύτητες (0,65 m/h) καθώς δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην προσκολλησιμότητα των βακτηρίων (Alphenaar *et al.*, 1993).

### 3.3.5. Συγκέντρωση θειούχων ιόντων

Η συγκέντρωση θειούχων ιόντων εξετάζεται ως δείκτης της ανάπτυξης και της δραστηριότητας των θειοαναγωγικών βακτηρίων αλλά και ως εργαλείο ρύθμισης της κοκκομετρικής κατανομής των παραγόμενων θειούχων κατακρημνισμάτων παρουσία διαλυτών μετάλλων (ενότητα 2.3.1, *Κοκκομετρική κατανομή θειούχων κατακρημνισμάτων*), ως εργαλείο διαχείρισης του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων (ενότητα 2.2.5, *Παρουσία ανταγωνιστικών βακτηριακών πληθυσμών*) αλλά και ως ανασταλτικός παράγοντας της μικροβιακής δράσης (ενότητα 2.2.5, *Παρουσία θειούχων ιόντων*).

Η συγκέντρωση θειούχων ιόντων στο υγρό του αντιδραστήρα εξαρτάται άμεσα από το ρυθμό αναγωγής των θειικών ιόντων και καθορίζει το βαθμό απομάκρυνσης των διαλυτών μετάλλων από το υγρό απόβλητο προς επεξεργασία. Οπότε, με γνώμονα τη βελτιστοποίηση του ρυθμού αναγωγής για την ποσοτική απομάκρυνση των διαλυτών μετάλλων, αναζητούνται τρόποι ενίσχυσης της μικροβιακής δράσης (και, κατ' επέκταση, του ρυθμού παραγωγής θειούχων ιόντων) με κατάλληλη διαχείριση της συνεργιστικής δράσης των άλλων παραγόντων που επηρεάζουν τη διεργασία (Alvarez *et al.*, 2006; El Bayoumy *et al.*, 1999b; Kolmert *et al.*, 1997; Nevatalo *et al.*, 2010c; Velasco *et al.*, 2008). Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι, σε συνθήκες περίσσειας θειούχων ιόντων και ανάλογα με τις συνθήκες ισορροπίας, ενδεχομένως να σχηματίζονται και διαλυτά θειούχα σύμπλοκα (Veeken *et al.*, 2003a), μειώνοντας έτσι την απόδοση της μεθόδου ως προς την απομάκρυνση των διαλυτών μετάλλων από την υγρή φάση.

Επίσης, σε συνθήκες περίσσειας θειούχων ιόντων, οι στερεές φάσεις των μετάλλων που κατακρημνίζονται αποτελούνται από μικρότερα σωματίδια με χειρότερες ιδιότητες καθίζησης (Bijmans *et al.*, 2009b; Mokone *et al.*, 2010). Έτσι, για τον περιορισμό του υπερκορεσμού στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες, έχει προταθεί η εφαρμογή ρεύματος αέριου υδρόθειου για την καταβύθιση των μετάλλων που επιφέρει μείωση του ρυθμού μεταφοράς μάζας (Lewis *et al.*, 2006a) αλλά και η μείωση της συγκέντρωσης των διαλυτών θειούχων ιόντων στην είσοδο σε συνδυασμό με μείωση του χρόνου παραμονής (Lewis *et al.*, 2006b). Επίσης, από πειράματα καταβύθισης ψευδαργύρου σε συνθήκες ελεγχόμενης συγκέντρωσης θειούχων ιόντων, προσδιορίστηκε η βέλτιστη τιμή  $pS$  μεταξύ 15 και 20 για το σχηματισμό σωματιδίων  $ZnS$  μέσου μεγέθους 7,5-12,5  $\mu m$  που επιτρέπει το διαχωρισμό υγρής-στερεής φάσης (Esposito *et al.*, 2006; König *et al.*, 2006; Veeken *et al.*, 2003a).

Παράλληλα, όμως, τα θειούχα ιόντα δρουν ανασταλτικά στη μικροβιακή ανάπτυξη και δραστηριότητα. Γι' αυτό, διερευνάται η επίδραση της απομάκρυνσής τους από το υγρό του αντιδραστήρα στο ρυθμό αναγωγής των θειικών ιόντων (Bijmans *et al.*, 2008a) καθώς και τρόποι περιορισμού της συγκέντρωσής τους με οξειδωση προς στοιχειακό θείο μέσω της

διοχέτευσης οξυγόνου (Cirne *et al.*, 2008; Khanal *et al.*, 2003), με εμπλουτισμό του μικροβιακού πληθυσμού με ανταγωνιστικά βακτήρια που ανάγουν τα νιτρικά ιόντα χρησιμοποιώντας τους ίδιους δότες ηλεκτρονίων ή με βακτήρια που χρησιμοποιούν τα θειούχα ως δότες ηλεκτρονίων για την αναγωγή των νιτρικών ιόντων (Hubert *et al.*, 2003; Montgomery *et al.*, 1990) ή με ελεγχόμενη προσθήκη συστατικών, όπως τα νιτρώδη ιόντα ή τα ιόντα μολυβδαινίου, που δρουν ανασταλτικά στη μεταβολική διαδικασία των θειοαναγωγικών βακτηρίων (Nemati *et al.*, 2001).

Η επίδραση της υψηλής συγκέντρωσης θειούχων ιόντων ελέγχεται ξεχωριστά για την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων καθώς, όπως προκύπτει από μελέτη του *Desulfovibrio desulfuricans* με γαλακτικό ιόν ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, έχει έντονο ανασταλτικό αποτέλεσμα στην κυτταρική απόδοση αλλά δεν επηρεάζει αρνητικά το ρυθμό αξιοποίησης του θρεπτικού υποστρώματος (Okabe *et al.*, 1995). Επίσης, το επίπεδο της ανασταλτικής δράσης (Πίνακας 3.4) εξαρτάται από άλλες παραμέτρους της διεργασίας, όπως το pH και ο τύπος του αντιδραστήρα (Maillacherunu *et al.*, 1993), και τα συμμετέχοντα βακτηριακά είδη. Για παράδειγμα, αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι τα οξικότροφα θειοαναγωγικά βακτήρια επηρεάζονται περισσότερο από την υψηλή συγκέντρωση των θειούχων ιόντων από ό,τι τα υδρογονότροφα (Maillacherunu *et al.*, 1996; Yamaguchi *et al.*, 1999). Λόγω του διαφορετικού βαθμού επίδρασης στα διάφορα είδη βακτηρίων, η υψηλή συγκέντρωση θειούχων ιόντων μπορεί να ευνοήσει την επικράτηση των θειοαναγωγικών έναντι των μεθανογόνων βακτηρίων σε μικτές καλλιέργειες (Omil *et al.*, 1996).

### 3.3.6. Άλλοι παράγοντες

Εκτός των παραπάνω, στο πλαίσιο βελτιστοποίησης της δραστηριότητας των θειοαναγωγικών βακτηρίων και της απόδοσης των αντίστοιχων αντιδραστήρων, αναφέρονται στη βιβλιογραφία και οι εξής παράγοντες:

- Προσθήκη θρεπτικών συστατικών (αζώτου με τη μορφή αμμωνιακών αλάτων και φωσφόρου με τη μορφή φωσφορικών αλάτων) ώστε να διαμορφωθεί η βέλτιστη αναλογία C:N:P για τη σύνθεση κυτταρικού υλικού (El Bayoumy *et al.*, 1999b; Okabe *et al.*, 1992a; Okabe *et al.*, 1992b)
- Προσθήκη ιχνοστοιχείων (Fe, Ni, Co, Cu, Se, Mo) που λειτουργούν ως συμπαραγόντες των ενζύμων που συμμετέχουν στην οξείδωση της πηγής άνθρακα και τη μεταφορά ηλεκτρονίων στις μικροβιακά υποβοηθούμενες διεργασίες (Madigan *et al.*, 2003; Osuna *et al.*, 2003; Zandvoort *et al.*, 2006)
- Παροχή αερίου αζώτου ώστε να απομακρύνεται τυχόν αέριο υδρόθειο από την υγρή φάση του αντιδραστήρα (O'Flaherty *et al.*, 1999a; Paulo *et al.*, 2005), αποτρέποντας έτσι τις τοξικές επιπτώσεις στον πληθυσμό των θειοαναγωγικών βακτηρίων και επιτρέποντας τη διατήρηση και την εξέλιξη της διεργασίας, αλλά και να ελαχιστοποιούνται τυχόν προβλήματα από εμφράξεις λόγω του σχηματισμού στερεών φάσεων, ειδικά στους αντιδραστήρες σταθερής κλίνης

- Σύντομη έκθεση σε ατμοσφαιρικό αέρα ως εργαλείο διαχείρισης του ανταγωνισμού μεταξύ θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων καθώς, μετά την αρχική κατακόρυφη μείωση της δραστηριότητας μετά την επαναφορά του συστήματος σε ανοξικές συνθήκες, τα θειοαναγωγικά είναι αυτά που τελικά επικρατούν (Omil *et al.*, 1997)

Πίνακας 3.4. Ανασταλτική δράση των διαλελυμένων θειούχων ιόντων και του αδιάστατου υδρόθειου στην ανάπτυξη, την αναγωγή θειικών ιόντων και την οξειδωση του οργανικού υποστρώματος σε θειοαναγωγικά βακτήρια που μεταβολίζουν την αιθανόλη και το οξικό ιόν (Kaksonen *et al.*, 2007)

Πηγή άνθρακα/ ηλεκτρονίων	Μικροβιακή καλλιέργεια	T (°C)	pH	DS (mg/L)	H <sub>2</sub> S (mg/L)	Επίπεδο αναστολής	Βιβλιογραφική αναφορά
Αιθανόλη	Αναερόβια ιλύς (αεροστεγής φιάλη)	37	6,8 7,2 7,6 8,0 8,5	500-561 788-880 878-990 1019-1130 1004-1164	262-294 241-269 131-147 66-74 22-25	50% <sup>(1)</sup>	(O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998)
Αιθανόλη	<i>Desulfococcus multivorans</i> (αεροστεγής φιάλη)	37	6,8 7,2 7,6 8,0 8,5	498 851 1383 1488 1570	261 250 206 97 34	50% <sup>(1)</sup>	(O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998)
Αιθανόλη	Ιλύς UASB (αντ/ρας UASB)	35	7,1-8	1700-9951	570-610	100% <sup>(2)</sup>	(Kalyuzhnyi <i>et al.</i> , 1997a)
Αιθανόλη	Μικτή καλλιέργεια (αντ/ρας FBR)	35	6,9-7,3	225-248	76-84	K <sub>i</sub> <sup>(3)</sup>	(Kaksonen <i>et al.</i> , 2004a)
Οξικό	Ιλύς UASB (αντ/ρας διαλείποντος έργου)	30	7,0 7,5 8,0 9,0	521 569 921 943	217 107 64 7	50% <sup>(1)</sup>	(Visser <i>et al.</i> , 1996)
Οξικό	<i>Desulfonema magnum</i> , <i>Desulfotomaculum acetoxidans</i> , <i>Desulfobacter postgatei</i> (σε αεροστεγή φιάλη)	30/ 37	6,8 7,2 7,6 8,0 8,5	443-583 671-926 660-1360 659-1500 708-1450	233-306 205-283 98-203 43-98 15-31	50% <sup>(1)</sup>	(O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998)
Οξικό	Αναερόβια ιλύς (αεροστεγής φιάλη)	37	6,8 7,2 7,6 8,0 8,5	374 550 867 990 1011	196 168 129 65 22	50% <sup>(1)</sup>	(O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998)
Οξικό	Ιλύς UASB (αεροστεγής φιάλη)	35	7,0	699	270	5% <sup>(2)</sup>	(Yamaguchi <i>et al.</i> , 1999)
Οξικό	Ιλύς UASB (αεροστεγής φιάλη)	-	7,2-7,4 8,1-8,3	615 1125	161 54	50% <sup>(3)</sup>	(Visser <i>et al.</i> , 1996)
Οξικό	Μικτή καλλιέργεια (αεροστεγής φιάλη)	-	-	35	8	K <sub>i</sub> <sup>(3)</sup>	(Maillacheruvu <i>et al.</i> , 1996)
Οξικό	Μικτή καλλιέργεια (αντ/ρας FBR)	35	6,9-7,3	338-356	118-124	K <sub>i</sub> <sup>(3)</sup>	(Kaksonen <i>et al.</i> , 2004a)

(1) Αναστολή ανάπτυξης, (2) Αναστολή θειοαναγωγικής δραστηριότητας, (3) Σταθερά αναστολής οξειδωσης υποστρώματος μοντέλου Monod με παράγοντα αναστολής χωρίς ανταγωνιστική δράση

Πίνακας 3.5. Ενδεικτικά βιβλιογραφικά παραδείγματα μελετών της θειοαναγωγικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης

Τύπος αντιδραστήρα	Παράμετροι σχεδιασμού διεργασίας			Ιδιότητες ρεύματος τροφοδοσίας				Ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων (g/Ld)	Βιβλιογραφική αναφορά
	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (h)	Πηγή άνθρακα/ ηλεκτρονίων	Αναλογία $\frac{\text{ThOD}}{\text{SO}_4^{2-}}$	Αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων (g/L)	Αρχική συγκέντρωση μετάλλων (mg/L)	pH	Θερμοκρασία (°C)		
GLR	4,5	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> (80%/20%)		3,4	---	7,0	30	14,0	(van Houten <i>et al.</i> , 1996)
GLR	4,5	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> (80%/20%)		3,4	---	7,0	55	7,5	(van Houten <i>et al.</i> , 1997)
GLR	3,0	CO	1,3	1,3	---	6,9	50-55	1,2	(Sipma <i>et al.</i> , 2007)
GLR	24,0	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> (95%/5%)		4,5	---	5,0	30	4,9	(Bijmans <i>et al.</i> , 2008a)
GLR	24,0	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> (90%/10%)		3,0	---	7,5	9	0,6	(Nevatalo <i>et al.</i> , 2010a)
MBR	9,7	Αιθανόλη	0,5	12,0	---	7,2	33	6,6	(Vallero <i>et al.</i> , 2005)
MBR	192,0	Μυρμηκικό	0,9	48,0	---	6,0	30	29,0	(Bijmans <i>et al.</i> , 2008b)
MBR	480,0	Μυρμηκικό	1,1		---	5,0	30	18,0	(Bijmans <i>et al.</i> , 2009a)
MBR	144,0	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> (90%/10%)		6,0	---	7,5	9	0,7	(Nevatalo <i>et al.</i> , 2010b)



Πίνακας 3.6. Ενδεικτικά βιβλιογραφικά παραδείγματα μελετών της θειοαναγωγικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες κλίνης ιλύος

Τύπος αντιδραστήρα	Παράμετροι σχεδιασμού διεργασίας			Ιδιότητες ρεύματος τροφοδοσίας				Ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων (g/Ld)	Βιβλιογραφική αναφορά
	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (h)	Πηγή άνθρακα/ ηλεκτρονίων	Αναλογία $\frac{\text{ThOD}}{\text{SO}_4^{2-}}$	Αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων (g/L)	Αρχική συγκέντρωση μετάλλων (mg/L)	pH	Θερμοκρασία (°C)		
UASB		Αιθανόλη					35	6,0	(Kalyuzhnyi <i>et al.</i> , 1997b)
UASB	5,8	Σακχαρόζη, προπιονικό, οξικό, πεπτόνη (45:22,5:22,5:10)	2,0	1,0	---	(7,0)	35	3,9	(Yamaguchi <i>et al.</i> , 1999)
EGSB	2,5-3,0	Αιθανόλη	0,67	4,5	ίχνη*	8,0	30-35	33,0	(de Smul <i>et al.</i> , 1997)
EGSB	2,0	Οξικό	2,20	2,4	ίχνη*	8,0	33-37	27,9	(Dries <i>et al.</i> , 1998)
EGSB	3,5-4,0	Αιθανόλη	2,00	5,0	ίχνη*	8,0	33	12,0	(de Smul <i>et al.</i> , 1999a)
EGSB	5,5	Οξικό	0,80	8,3	ίχνη*	8,0-8,5	33-35	28,5	(de Smul <i>et al.</i> , 1999b)
EGSB		Μεθανόλη	0,67		ίχνη*	7,5	65	15,0	(Weijma <i>et al.</i> , 2000b)

\* Fe, Zn, Ni, Cu, Mo, Co, Se, B, Al, Mn < 1 mg/L

Πίνακας 3.7. Ενδεικτικά βιβλιογραφικά παραδείγματα μελετών της θειοαναγωγικής επεξεργασίας υδατικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων σε αντιδραστήρες κλίνης

Τύπος αντιδραστήρα	Παράμετροι σχεδιασμού διεργασίας			Ιδιότητες ρεύματος τροφοδοσίας				Ρυθμός αναγωγής θειικών ιόντων (g/Ld)	Βιβλιογραφική αναφορά
	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (h)	Πηγή άνθρακα/ ηλεκτρονίων	Αναλογία $\frac{\text{ThOD}}{\text{SO}_4^{2-}}$	Αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων (g/L)	Αρχική συγκέντρωση μετάλλων (mg/L)	pH	Θερμοκρασία (°C)		
FBR	5,1	Αιθανόλη	4,16	1,2	Fe < 1 mg/L	6,9	30	6,3	(Nagpal <i>et al.</i> , 2000b)
FBR	16,0	Αιθανόλη	0,67	2,2	Fe:57 Zn:340	2,5	35	1,0	(Kaksonen <i>et al.</i> , 2003a)
FBR	16,0	Γαλακτικό	0,68	2,2	Fe:58 Zn:340	3,0	35	2,0	(Kaksonen <i>et al.</i> , 2003b)
FBR	6,5	Αιθανόλη	0,69	2,0	Fe:100 Zn:240	3,0	35	5,0	(Kaksonen <i>et al.</i> , 2004a)
FBR	24,0	Αιθανόλη	0,67	1,0	Fe:56	7,0	8	0,2	(Sahinkaya <i>et al.</i> , 2007b)
FBR	24,0	Οξικό	0,48	1,5	Fe:85	7,0	65	0,6	(Sahinkaya <i>et al.</i> , 2007b)
FBR καθ. ροής	16,8	Γαλακτικό, προπιονικό, βουτυρικό (12:1:1)	0,67	5,1	---	6,5	30	6,0	(Celis-Garcia <i>et al.</i> , 2007)
FBR καθ. ροής	24,0	Αιθανόλη	0,80	3,0	Fe:320 Zn:220 Cu:20	6,0	18-26	1,0	(Gallegos-Garcia <i>et al.</i> , 2009)
FBR	4,0	Γαλακτικό, αιθανόλη (1:4)		6,4	Fe:11,2 Zn:6,5	4,0	35	9,6	(Nevatalo <i>et al.</i> , 2010c)
FBR	24,0	Γαλακτικό	0,85	2,0	Zn:100 Cu:100	4,0	35	1,7	(Sahinkaya <i>et al.</i> , 2010a)
PBR	11,0	Ζάχαρη	1,44	1,9	ίχνη**	7,4	31	3,8	(Maree <i>et al.</i> , 1985)
PBR	14,0	Οξικό	0,67	46,0	---	8,0	35	60,0	(Stucki <i>et al.</i> , 1993)
PBR (τέφρα)		CO		2,0	---		35	2,4	(du Preez <i>et al.</i> , 1994)
PBR (τέφρα)		H <sub>2</sub> /CO (90%/10%)		2,0	---		35	1,2	(du Preez <i>et al.</i> , 1994)

PBR (ιλύς)	6,6	Μεθανόλη	0,24	0,9	Fe: 100	4,2	23-26	1,6	(Tsukamoto <i>et al.</i> , 1999)
PBR	21,6	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>		5,8	Fe: 1470 Zn: 320 Cu: 160 Al: 210 Mn: 5,5 Co: 0,06 Ni: 0,4 Pb: 0,5	2,6	30	4,8	(Foucher <i>et al.</i> , 2001)
PBR (κεραμικό υλικό)	12,0	Μεθανόλη	1,80	2,0	Fe:90 Al:40 Zn:1 Ni:0,3	2,9-3,2	δωμ.	3,2	(Glombitza, 2001)
PBR (γυαλί 4-8 mm)	49,3	Αιθανόλη, γαλακτικό, γλυκερόλη (1:1:1)	1,06	1,4	ίχνη***	4,0		0,3	(Kolmert <i>et al.</i> , 2001)
PBR (άμμος >2 mm)	16,2	Γαλακτικό	2,00	2,5	Fe:10 Zn:10 Cu:10 Ni:10 As:10 Al:10	4,5	25	0,5	(Jong <i>et al.</i> , 2003)
PBR (άμμος 0,23 mm)	2,7	Γαλακτικό	1,12	2,5	ίχνη****	7,0	22	19,2	(Baskaran <i>et al.</i> , 2006)
PBR (ξυλάνθρακας 4-6 mm)	12,0	Αιθανόλη, οξικό, προπιονικό, βουτυρικό (10:5:3:2)	1,67	3,0	ίχνη*****	8,0	30	1,6	(Damianovic <i>et al.</i> , 2007)

\*\* Fe, Ni, Cd, Pb, Mn < 1 mg/L

\*\*\* Zn, Ni, Cu, Mo, Co, Se, V, W, B, Mn, Cr(III) < 1 mg/L

\*\*\*\* Zn, Cu, Mo, Co, B, Mn, Fe(III) < 1 mg/L

\*\*\*\*\* Fe, Zn, Ni, Cu, Mo, Co, B, Al, Mn < 1 mg/L

### 3.4. Διαγράμματα ροής και περιπτώσεις εφαρμογής της διεργασίας

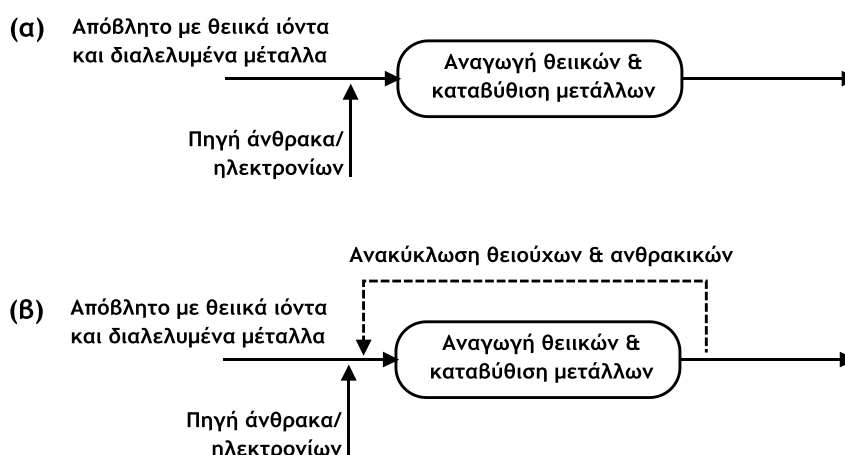
#### 3.4.1. Διαγράμματα ροής διεργασίας

Η μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων που περιέχονται σε υγρά απόβλητα και η επακόλουθη καταβύθιση των διαλελυμένων μετάλλων με τα βιολογικά παραγόμενα θειούχα μπορεί να εφαρμοστεί σε μία βαθμίδα (Σχήμα 3.8) ή σε δύο διακριτές βαθμίδες, όπου ο θειοαναγωγικός αντιδραστήρας αποτελεί μέρος του κυκλώματος επεξεργασίας του αποβλήτου (Σχήμα 3.9) ή όχι (Σχήμα 3.10).

#### Εγκαταστάσεις μίας βαθμίδας

Η εγκατάσταση μίας βαθμίδας (Σχήμα 3.8α) αποτελεί λύση χαμηλού κόστους για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων, αλλά ενδεχομένως να μη λειτουργήσει με ικανοποιητικά αποτελέσματα στην περίπτωση που το ρεύμα τροφοδοσίας έχει υψηλή οξύτητα ή υψηλή συγκέντρωση βαρέων μετάλλων.

Για να αποφευχθούν τυχόν τοξικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη και τη δράση των θειοαναγωγικών βακτηρίων, έχει επιχειρηθεί η εφαρμογή σταδίου προκαταρκτικής επεξεργασίας ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση των μετάλλων και να αυξηθεί το pH του αποβλήτου (Hao, 2000) αλλά και η χρήση αλκαλικών υλικών για την παραγωγή πρόσθετης αλκαλικότητας (Hammack *et al.*, 1992; Hammack *et al.*, 1994). Σε άλλη περίπτωση, χρησιμοποιήθηκαν πολλοί βιοαντιδραστήρες σε σειρά για να βελτιωθεί η απόδοση της διεργασίας (Dvorak *et al.*, 1992). Άλλη μέθοδο αντιμετώπισης τυχόν προβλημάτων αποτελεί η αραίωση του ρεύματος τροφοδοσίας με ανακύκλωση μέρους του επεξεργασμένου αποβλήτου (Σχήμα 3.8β) (Ma *et al.*, 1997; Maree *et al.*, 1987; Steed *et al.*, 2000). Σ' αυτήν, όμως, την περίπτωση, απαιτούνται πρόσθετες αντλίες, αυξάνοντας έτσι το κόστος επένδυσης και λειτουργίας (Hao, 2000).

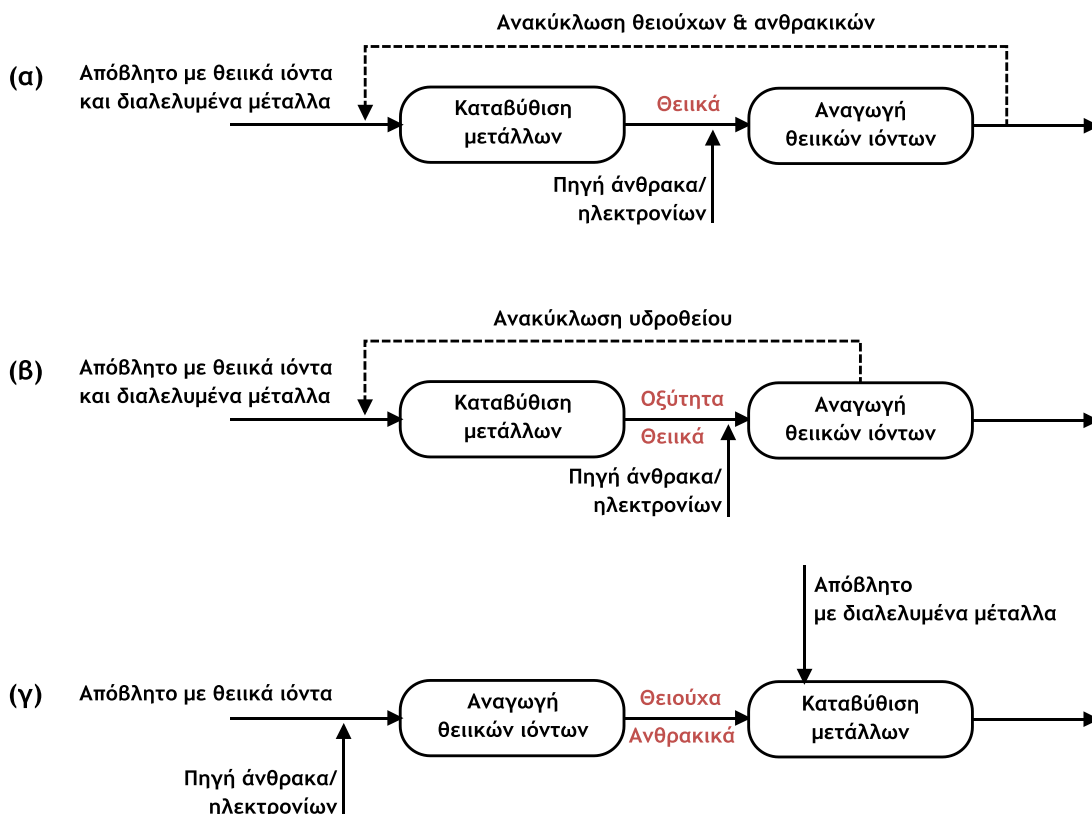


Σχήμα 3.8. Διαγράμματα ροής μίας βαθμίδας

Στις εγκαταστάσεις μίας βαθμίδας, η συγκέντρωση των διαλελυμένων θειούχων πρέπει να διατηρείται σχετικά υψηλή ώστε να προστατεύεται ο πληθυσμός των θειοαναγωγικών βακτηρίων από τυχόν απότομη αύξηση της συγκέντρωσης των διαλελυμένων μετάλλων στο ρεύμα τροφοδοσίας του αντιδραστήρα. Έτσι, όμως, υπάρχει κίνδυνος αναστολής της δράσης των θειοαναγωγικών βακτηρίων λόγω της τοξικής επίδρασης των θειούχων.

### Εγκαταστάσεις δύο βαθμίδων

Στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων που περιέχουν θειικά ιόντα και διαλελυμένα μέταλλα, η βαθμίδα καταβύθισης των διαλελυμένων μετάλλων μπορεί να προηγηθεί της βιολογικής αναγωγής των θειικών ιόντων με ανακύκλωση είτε μέρους των θειούχων (Σχήμα 3.9α) είτε του αερίου υδροθείου (Σχήμα 3.9β) που παράγονται στη βαθμίδα του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα. Αν η εγκατάσταση διαχειρίζεται απόβλητα που προκύπτουν από διαφορετικές διεργασίες, με αποτέλεσμα τα θειικά ιόντα και τα κατίοντα των μετάλλων να μην βρίσκονται στο ίδιο ρεύμα, μπορεί να εφαρμοστεί το διάγραμμα ροής που απεικονίζεται στο Σχήμα 3.9γ.



Σχήμα 3.9. Διαγράμματα ροής δύο βαθμίδων όπου ο θειοαναγωγικός αντιδραστήρας αποτελεί μέρος του κυκλώματος επεξεργασίας του αποβλήτου

Με το διαχωρισμό των διεργασιών της μικροβιακά υποβοηθούμενης αναγωγής των θειικών ιόντων ή του στοιχειακού θείου και της καταβύθισης θειούχων ενώσεων των μετάλλων με τα βιολογικά παραγόμενα θειούχα (Kaksonen *et al.*, 2007),

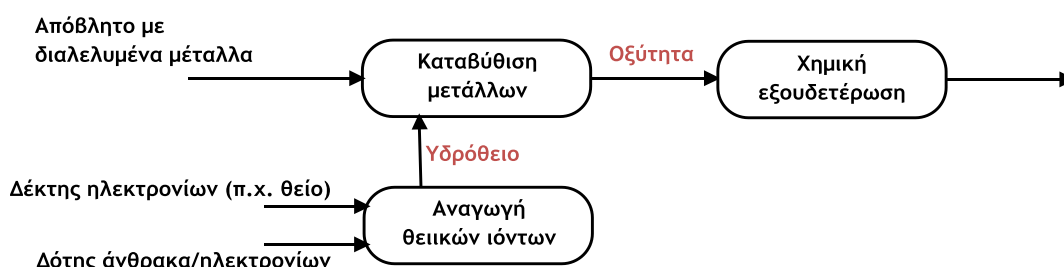
- προστατεύονται τα θειοαναγωγικά βακτήρια από τυχόν τοξικές επιδράσεις

- επιτρέπεται η εκλεκτική καταβύθιση των μετάλλων<sup>31</sup> με έλεγχο του pH και της συγκέντρωσης των θειούχων ή της παροχής υδρόθειου
- ελαχιστοποιείται η ποσότητα βιομάζας και οργανικών υποστρωμάτων στη θειούχο ιλύ των μετάλλων
- αλλά, αυξάνεται το κόστος επένδυσης και λειτουργίας λόγω της πολυπλοκότητας του εξοπλισμού

Η ανακύκλωση υδρόθειου (Σχήμα 3.9B) μπορεί να διευκολύνει την εκλεκτική καταβύθιση χρησιμων μετάλλων (καθώς δεν εισάγεται αλκαλικότητα στη βαθμίδα της καταβύθισης), όπως συμβαίνει στην περίπτωση του χαλκού που καταβυθίζεται ως θειούχος σε χαμηλές τιμές pH. Ωστόσο, κατά την καταβύθιση των θειούχων ενώσεων, παράγεται πρόσθετη οξύτητα που διοχετεύεται, στη συνέχεια, στο βιολογικό αντιδραστήρα. Γι' αυτό, η μέθοδος αυτή έχει εφαρμοστεί σε συνδυασμό με χημική εξουδετέρωση (Hammack *et al.*, 1994) ή ανακύκλωση απορροής (Boonstra *et al.*, 1999).

Συγκρίνοντας την καταβύθιση των μετάλλων με βιολογικά παραγόμενο υδρόθειο ή με το υπερκείμενο υγρό από θειοαναγωγικό αντιδραστήρα, βρέθηκε ότι στη δεύτερη περίπτωση επιτεύχθηκαν υψηλότερα ποσοστά δέσμευσης των μετάλλων. Τα κατακρημνίσματα αποτελούνταν κυρίως από θειούχες ενώσεις αλλά, στη δεύτερη περίπτωση, περιείχαν και διάφορα συμπλέγματα που δεν προσδιορίστηκαν και τα οποία ενδεχομένως να ήταν νιτρικά, χλωριούχα ή ανθρακικά άλατα (Bhagat *et al.*, 2004).

Στην περίπτωση επεξεργασίας αποβλήτων με διαλελυμένα μέταλλα χωρίς θειικά ιόντα, υπάρχει δυνατότητα να σχεδιαστεί διάγραμμα ροής όπου ο βιολογικός αντιδραστήρας που είναι απαραίτητος για την παραγωγή υδρόθειου να λειτουργεί εκτός του κυκλώματος επεξεργασίας του αποβλήτου της εγκατάστασης (Σχήμα 3.10). Σε αυτή την περίπτωση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στοιχειακό θείο ως δέκτης ηλεκτρονίων. Ανάλογα με τη χημεία του διαλύματος και τα μεταλλοκατιόντα προς καταβύθιση, μπορεί να χρειαστεί ρύθμιση του pH του επεξεργασμένου αποβλήτου μετά την ανάκτηση των μετάλλων καθώς δεν εισάγεται αλκαλικότητα στον αντιδραστήρα καταβύθισης μαζί με το υδρόθειο.



Σχήμα 3.10. Διάγραμμα ροής δύο βαθμίδων όπου ο θειοαναγωγικός αντιδραστήρας δεν αποτελεί μέρος του κυκλώματος επεξεργασίας του αποβλήτου

<sup>31</sup> Για την εκλεκτική καταβύθιση των μετάλλων σε εγκαταστάσεις συνεχούς λειτουργίας, απαιτείται ξεχωριστό συγκρότημα αντιδραστήρα καταβύθισης και παχυντή για κάθε μέταλλο. Έτσι, αυξάνεται το κόστος επένδυσης αλλά παράγονται καθαρές θειούχες ενώσεις που ευνοούν την ανάκτηση καθαρών μεταλλικών αξιών.

### 3.4.2. Εφαρμογή σε πιλοτική και βιομηχανική κλίμακα

Για την επεξεργασία υγρών βιομηχανικών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και μετάλλων, έχουν αναπτυχθεί και διατίθενται εμπορικά δύο πατενταρισμένες τεχνολογικές εφαρμογές που βασίζονται στη μικροβιακά υποβοηθούμενη αναγωγή των θειικών ιόντων: Thiopraq® (Paques, Ολλανδία) και BioSulphide® (BioteQ, Καναδάς).

Κύριος στόχος και των δύο αυτών τεχνολογιών, όπου κεντρική διεργασία είναι η παραγωγή θειούχων από ουδετερόφιλα θειοαναγωγικά βακτήρια, είναι η μείωση των συγκεντρώσεων των διαλυτών μετάλλων σε περιβαλλοντικά αποδεκτά επίπεδα. Επίσης, τα συστήματα των βιολογικών αντιδραστήρων προσφέρουν δυνατότητα μείωσης της συγκέντρωσης των διαλελυμένων θειικών ιόντων στα 25-500 mg/L, εκλεκτικής καταβύθισης των μετάλλων προς ανάκτηση και παραγωγής ιλύος που, παρ' όλο που οξειδώνεται ευκολότερα, έχει μικρότερο όγκο και μεγαλύτερη πυκνότητα από την αντίστοιχη ιλύ υδροξειδίων (Johnson, 2000).

Στην τεχνολογία BioSulphide® (Rowley *et al.*, 1997) αξιοποιείται η βιολογική παραγωγή υδρόθειου από θειοαναγωγικά βακτήρια για την απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από όξινες απορροές μεταλλείων. Το διάγραμμα ροής περιλαμβάνει δύο ξεχωριστές βαθμίδες: (1) βιολογικό αντιδραστήρα όπου πραγματοποιείται η αναγωγή των θειικών ιόντων και (2) δεξαμενές καταβύθισης όπου, με προσεκτικό έλεγχο του pH και της συγκέντρωσης των διαθέσιμων θειούχων, καταβυθίζονται εκλεκτικά τα μέταλλα που περιέχονται στο απόβλητο προς επεξεργασία. Η τεχνολογία αυτή εφαρμόστηκε σε πιλοτική κλίμακα στο εγκαταλελειμμένο μεταλλείο χαλκού Britannia (Καναδάς) όπου η όξινη απορροή περιείχε σίδηρο, ψευδάργυρο, χαλκό και κάδμιο (Πίνακας 3.8). Το απόβλητο διοχετευόταν σε διαδοχικές δεξαμενές καταβύθισης όπου καταβυθίζονταν πρώτα θειούχος χαλκός κι έπειτα θειούχος ψευδάργυρος, μετά από επαφή με το βιολογικά παραγόμενο υδρόθειο. Μέρος του επεξεργασμένου αποβλήτου ανακυκλωνόταν στο βιολογικό αντιδραστήρα (ως πηγή θειικών ιόντων) για τη διεργασία της αναγωγής με μονοξειδίο του άνθρακα ως πηγή άνθρακα και υδρογόνο ως πηγή ηλεκτρονίων.

Η τεχνολογία Thiopraq® (Boonstra *et al.*, 1999) περιλαμβάνει δύο βιολογικές διεργασίες: (1) αναγωγή θειικών ιόντων προς θειούχα παρουσία θειοαναγωγικών βακτηρίων με συνακόλουθη εξουδετέρωση τυχόν οξύτητας του αποβλήτου και καταβύθιση των διαλελυμένων μετάλλων με τη μορφή θειούχων ενώσεων και (2) οξείδωση της περίσσειας θειούχων σε ξεχωριστό αντιδραστήρα, με αποτέλεσμα την παραγωγή στοιχειακού θείου. Η τεχνολογία έχει δοκιμαστεί σε αρκετές πιλοτικές εγκαταστάσεις (Πίνακας 3.8) ενώ, μετά την πιλοτική εφαρμογή (Barnes *et al.*, 1991), το 1992 ξεκίνησε να εφαρμόζεται και σε βιομηχανική κλίμακα σε εργοστάσιο παραγωγής ψευδαργύρου (Budelco, Ολλανδία) για την επεξεργασία όξινου αποβλήτου με υψηλή περιεκτικότητα ψευδαργύρου. Το εγκατεστημένο σύστημα περιλαμβάνει αντιδραστήρα UASB για την αναγωγή των θειικών και αντιδραστήρα σταθερής κλίνης για την αερόβια μετατροπή των θειούχων σε στοιχειακό θείο.

Με γνώμονα τη βελτιστοποίηση της απόδοσης, η Paques τροποποιεί το σχεδιασμό του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα προκειμένου να επιτύχει καλύτερη συγκράτηση της βιομάζας

(Picavet *et al.*, 2003) και προσαρμόζει την τεχνολογία στις απαιτήσεις της βιομηχανίας με τη νέα διεργασία Thioteq™ (Buisman *et al.*, 2005; Huisman *et al.*, 2006). Σήμερα, η Raques υποστηρίζει εμπορικά τρεις πατενταρισμένες διεργασίες (Πίνακας 3.9) που προσαρμόζονται στις ιδιαιτερότητες κάθε αποβλήτου.

Από το 1992, η τεχνολογία αυτή εφαρμόζεται σε διάφορες βιομηχανικές περιοχές του πλανήτη, με ποικίλους δότες άνθρακα/ηλεκτρονίων και προσαρμοσμένα διαγράμματα ροής, με σκοπό την απομάκρυνση των διαλελυμένων θειικών ιόντων και μετάλλων από υγρά απόβλητα ή του διοξειδίου του θείου (SO<sub>2</sub>) από καπναέρια. Η δυναμικότητα των εγκαταστάσεων αυτών αυξήθηκε από 1,2 t/d S το 1992 σε 15 t/d S το 2005, δείχνοντας έτσι την ωριμότητα της διεργασίας (Buisman *et al.*, 2007). Σήμερα, για παράδειγμα, η BioteQ (Καναδάς) λειτουργεί εγκατάσταση ανάκτησης χαλκού από την απορροή χώρου απόθεσης μεταλλευτικών απορριμμάτων δυναμικότητας 12.000 m<sup>3</sup>/d με θειοαναγωγικό αντιδραστήρα που έχει δυνατότητα παραγωγής 3,8 t/d υδρόθειου. Το παραγόμενο θειούχο συμπύκνωμα έχει μέση συγκέντρωση χαλκού 40% (BioteQ, 2013).

Παράλληλα, υπογραμμίζοντας τη δυναμική της συγκεκριμένης τεχνολογίας, το 2009 η Kemetco Research (Καναδάς) ξεκίνησε να διερευνά εργαστηριακά τη δυνατότητα εμπορικής εφαρμογής μιας μεθόδου ανάκτησης μετάλλων από υγρά απόβλητα, με βάση την καταβύθιση θειούχων ενώσεων μετάλλων με βιολογικά παραγόμενο υδρόθειο. Η τεχνολογία Biometals Process® περιλαμβάνει αρκετές διακριτές βαθμίδες, με στόχο τη μείωση του συνολικού καθαρού κόστους της εγκατάστασης και την αυξημένη οικονομική ανάκτηση μεταλλικών αξιών (Warkentin *et al.*, 2010).



Πίνακας 3.8. Πιλοτική εφαρμογή τεχνολογίας Thiopaq® και BioSulphide® (Johnson, 2000)

Τεχνολογία	Thiopaq®						BioSulphide®			
	Μονάδα παραγωγής ψευδαργύρου Budelco (Ολλανδία)		Ορυχείο χαλκού Kennecott (Η.Π.Α.)		Ορυχείο κασσίτερου Wheal Jane (Ην. Βασίλειο)		Ορυχείο χαλκού Britannia (Καναδάς)		Ορυχείο χαλκού Queen (Η.Π.Α.)	
Παράμετρος	Είσοδος	Έξοδος	Είσοδος	Έξοδος	Είσοδος	Έξοδος	Είσοδος	Έξοδος	Είσοδος	Έξοδος
Παροχή (m <sup>3</sup> /h)	300		0,2		1-1,5		3		454	
pH			2,5		8,5				2,2-2,4	
Θειικά (mg/L)	1.000	< 200	30.000		< 500		200			
Κάδμιο (mg/L)	1	< 0,001			0,08	< 0,0005	0,09		< 0,01	
Σίδηρος (mg/L)			675	< 0,3	345	< 0,1			1.100-1.800	
Χαλκός (mg/L)			60	0,1	2	0,01	11-12	< 0,01	340	< 6
Ψευδάργυρος (mg/L)	100	< 0,05	65	< 0,1	132	< 0,05	16-17	0,01-0,4	930	
Βιβλιογραφική αναφορά	(Boonstra <i>et al.</i> , 1999)		(Boonstra <i>et al.</i> , 1999)		(Boonstra <i>et al.</i> , 1999)		(Rowley <i>et al.</i> , 1997)		(Ashe <i>et al.</i> , 2008)	

Πίνακας 3.9. Πατενταρισμένες διεργασίες που υποστηρίζει εμπορικά η Raques σήμερα (Raques, 2013)

Τεχνολογία	Σύντομη περιγραφή	Διάγραμμα ροής
SULFATEQ™	<p>Διεργασία δύο βαθμίδων. Στην πρώτη βαθμίδα, τα θειικά ιόντα ανάγονται με βιολογικό τρόπο και μετατρέπονται σε διαλελυμένα θειούχα σε αντιδραστήρες υψηλής απόδοσης. Στη δεύτερη βαθμίδα, τα θειούχα οξειδώνονται σε στοιχειακό θείο με καθαρό αέρα και διαχωρίζονται από το υγρό. Στις βασικές διεργασίες μπορεί να προστεθεί μία ακόμα βαθμίδα για την ανάκτηση πολύτιμων μετάλλων.</p>	<p>(1) Αναερόβιος βιοαντιδραστήρας (2) Αερόβιος βιοαντιδραστήρας (3) Δεξαμενή καθίζησης</p> <p>Ρεύμα ανακύκλωσης</p> <p>Ρεύμα τροφοδοσίας με διαλελυμένα μέταλλα και θειικά ιόντα</p> <p>Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων</p> <p>Θειούχες ενώσεις μετάλλων</p> <p>Αέρας</p> <p>Θείο</p> <p>Επεξεργασμένο ρεύμα απορροής</p>
THIOTEQ™	<p>Διεργασία δύο βαθμίδων. Στην πρώτη βαθμίδα (βαθμίδα βιολογικής αναγωγής) η μικροβιακή καλλιέργεια αναπτύσσεται σε βιοαντιδραστήρα με πολύ μεγάλο υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτουργεί σε συνθήκες περιβάλλοντος. Τα παραγόμενα θειούχα μεταφέρονται στη δεύτερη βαθμίδα (βαθμίδα χημικής καταβύθισης) μέσω ενός βρόχου ανακυκλοφορίας αερίου. Οι σχηματιζόμενες θειούχες ενώσεις των μετάλλων διαχωρίζονται με καθίζηση και αφύγρανση. Το καθαρό αέριο ανακυκλώνεται προς την πρώτη βαθμίδα.</p>	<p>(1) Βιοαντιδραστήρας (2) Αντιδραστήρας καταβύθισης (3) Δεξαμενή καθίζησης</p> <p>Ρεύμα τροφοδοσίας με διαλελυμένα μέταλλα</p> <p>Πηγή θειικών ιόντων</p> <p>Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων</p> <p>Υδροθείο</p> <p>Καθαρό αέριο</p> <p>Επεξεργασμένο ρεύμα απορροής</p> <p>Θειούχες ενώσεις μετάλλων</p>
BIOMETEQ™	<p>Η διεργασία βασίζεται στην ανάπτυξη βακτηρίων πάνω στο πληρωτικό υλικό ενός βιολογικού αντιδραστήρα κινούμενης κλίνης. Τα διαλελυμένα μέταλλα καταβυθίζονται πάνω στο πληρωτικό υλικό. Για να αποφευχθούν προβλήματα λόγω έμφραξης της κλίνης, το πληρωτικό υλικό κυκλοφορεί συνεχώς και αργά μέσω ενός συστήματος έκπλυσης. Έτσι, απαλλάσσεται από τα κατακρημνίσματα, τα οποία αφού απομακρυνθούν, συμπυκνώνονται ή αφυγραίνονται για περαιτέρω επεξεργασία.</p>	<p>Ρεύμα τροφοδοσίας με διαλελυμένα μέταλλα</p> <p>Υπερκείμενο</p> <p>Νερό έκπλυσης</p> <p>Διήθημα</p> <p>Επεξεργασμένο ρεύμα απορροής</p> <p>Αέρας</p> <p>Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων</p> <p>(1) Βιοαντιδραστήρας κινούμενης κλίνης (2) Δεξαμενή καθίζησης (3) Δεξαμενή αερισμού</p> <p>Ιλύς</p>

# 4

## Βιοκαταβύθιση ιόντων μετάλλων σε θειοαναγωγικό αντιδραστήρα. Πειραματική προσέγγιση

---

*Το αντικείμενο της παρούσας διατριβής εστιάστηκε στην πειραματική μελέτη της βιοκαταβύθισης ιόντων μετάλλων σε αντιδραστήρα κλίνης, με σκοπό την ανάπτυξη θειοαναγωγικού συστήματος υψηλής απόδοσης για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων θειικών ιόντων, δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου. Στο πλαίσιο αυτό, σχεδιάστηκαν και υλοποιήθηκαν τέσσερις κύκλοι δοκιμών σε κατάλληλες διατάξεις αντιδραστήρων σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής, με σκοπό τη μελέτη επιλεγμένων παραμέτρων. Το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στην επιλογή κατάλληλης πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων σε βέλτιστη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων, παράλληλα με την ταυτοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης και τη μελέτη των κύριων μορφολογικών χαρακτηριστικών των στερεών κατακρημνισμάτων.*

### 4.1. Αντικείμενο και σκοπός της διατριβής

Δεδομένης της έκτασης του προβλήματος της όξινης απορροής μεταλλείων που άπτεται άμεσα της μεταλλευτικής και μεταλλουργικής δραστηριότητας καθώς και της εν γένει διαχείρισης των υγρών βιομηχανικών αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση θειικών ιόντων και μετάλλων, το αντικείμενο της παρούσας διατριβής εστιάστηκε στη μελέτη και στη διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης της αναγωγής των θειικών ιόντων από συγκεκριμένα βακτήρια του κύκλου του θείου για την επεξεργασία τέτοιων αποβλήτων και την απομάκρυνση των ιόντων των μετάλλων από την υδατική φάση μέσω καταβύθισης στο εσωτερικό κατάλληλου βιολογικού αντιδραστήρα.

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η ανάπτυξη συστήματος θειοαναγωγικού

αντιδραστήρα υψηλής απόδοσης για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων θειικών ιόντων, δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου και την καταβύθιση των μεταλλικών αξιών με τη μορφή θειούχων ενώσεων, με κατάλληλη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε βέλτιστη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων.

Τα βασικά ερωτήματα, τα οποία προέκυψαν από την ανάλυση του κύριου στόχου της παρούσας διατριβής και αποτελούν ταυτόχρονα επιμέρους ζητούμενα για τον προσδιορισμό των αντίστοιχων παραμέτρων που εξασφαλίζουν την επιτυχή λειτουργία του προτεινόμενου συστήματος, σχετίζονται με

- τη διαμόρφωση του συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα - πληρωτικού υλικού - εμβολίου για την ανάπτυξη και ακινητοποίηση ικανού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε λεπτό βιολογικό στρώμα καθώς και τη διερεύνηση των ανοχών του συστήματος
- την επιλογή της διαδικασίας ανάπτυξης και προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού ώστε (1) να επιτευχθεί ανάπτυξη βακτηρίων κατάλληλων για την αναγωγή των θειικών ιόντων και (2) τα επικρατώντα είδη θειοαναγωγικών βακτηρίων να εξασφαλίζουν ταυτόχρονη απομάκρυνση των θειικών ιόντων αλλά και του οργανικού άνθρακα
- την επιλογή κατάλληλης πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων σε βέλτιστη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η ζητούμενη απόδοση του συστήματος με ελάχιστο οργανικό φορτίο στο επεξεργασμένο διάλυμα
- τη σύσταση και τα χαρακτηριστικά της παραγόμενης ιλύος

Για την πειραματική διερεύνηση των ερωτημάτων που απορρέουν από τον κύριο στόχο της παρούσας διατριβής καθώς και για την ποσοτική περιγραφή του προτεινόμενου συστήματος σε εργαστηριακή κλίμακα, αναπτύχθηκε συγκεκριμένη μεθοδολογία και εφαρμόστηκαν δόκιμες αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού των επιλεγμένων παραμέτρων, όπως περιγράφονται στις ενότητες που ακολουθούν. Στο πλαίσιο αυτό, και προκειμένου να αποσαφηνιστεί η λειτουργία του προτεινόμενου συστήματος, κρίθηκε απαραίτητη η ταυτοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης του αντιδραστήρα καθώς και η μελέτη των κύριων μορφολογικών χαρακτηριστικών της παραγόμενης ιλύος.

## **4.2. Μεθοδολογία**

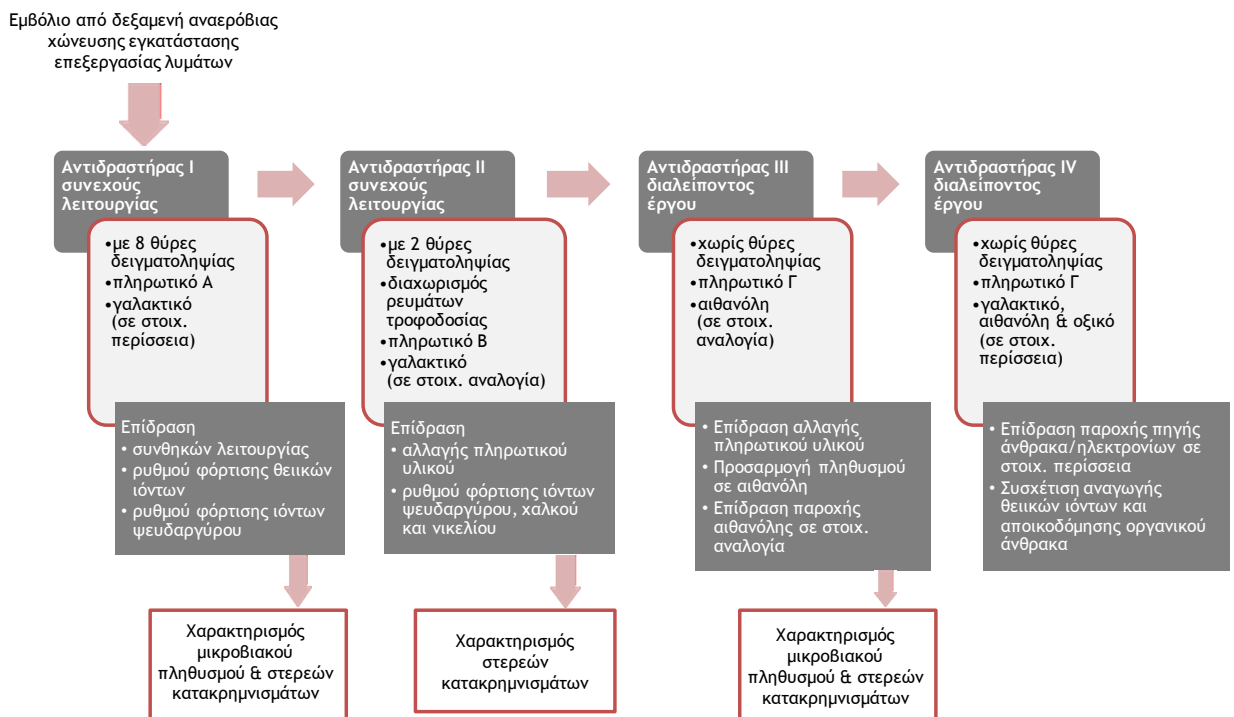
### **4.2.1. Κύκλοι πειραματικών δοκιμών**

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής και για την πειραματική μελέτη της βιοκαταβύθισης ιόντων μετάλλων σε θειοαναγωγικό αντιδραστήρα, σχεδιάστηκαν και υλοποιήθηκαν τέσσερις κύκλοι δοκιμών (Σχήμα 4.1) σε κατάλληλες διατάξεις αντιδραστήρων σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής, οι οποίοι πληρώθηκαν με κατάλληλο αδρανές υλικό για την ανάπτυξη και ακινητοποίηση του απαραίτητου λεπτού βιολογικού στρώματος και τροφοδοτούνταν με επιλεγμένα συνθετικά

διαλύματα, με σκοπό την παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος για την ποσοτική περιγραφή του προτεινόμενου συστήματος.

Σε κάθε κύκλο δοκιμών δοκιμάστηκαν συγκεκριμένες διαφοροποιήσεις αναφορικά με το διάγραμμα ροής αλλά και τους επιμέρους παράγοντες της διεργασίας, με στόχο τη βελτιστοποίηση της υδραυλικής συμπεριφοράς του συστήματος αλλά και της συνολικής απόδοσης της διεργασίας. Έτσι,

- στους κύκλους I και II διερευνήθηκε η καταλληλότητα και η αποδοτική λειτουργία του επιλεγμένου συστήματος αντιδραστήρα-πληρωτικού υλικού-μικροβιακού πληθυσμού για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων θειικών ιόντων με υψηλή συγκέντρωση μετάλλων
- στους κύκλους III και IV μελετήθηκε η επίδραση της αλλαγής πηγής άνθρακα/ ηλεκτρονίων στην απόδοση του συστήματος ενώ, παράλληλα, έγινε προσπάθεια βελτιστοποίησης της προστιθέμενης ποσότητας θρεπτικού υποστρώματος στο πλαίσιο της ταυτόχρονης απομάκρυνσης των θειικών ιόντων και του οργανικού φορτίου από το διάλυμα προς επεξεργασία



Σχήμα 4.1. Διαγραμματική παρουσίαση κύκλων πειραματικών δοκιμών που υλοποιήθηκαν στο πλαίσιο της διατριβής

Με βάση αυτή τη διάρθρωση των κύκλων δοκιμών, παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα στα Κεφάλαια 5-8.

#### 4.2.2. Πειραματική διάταξη

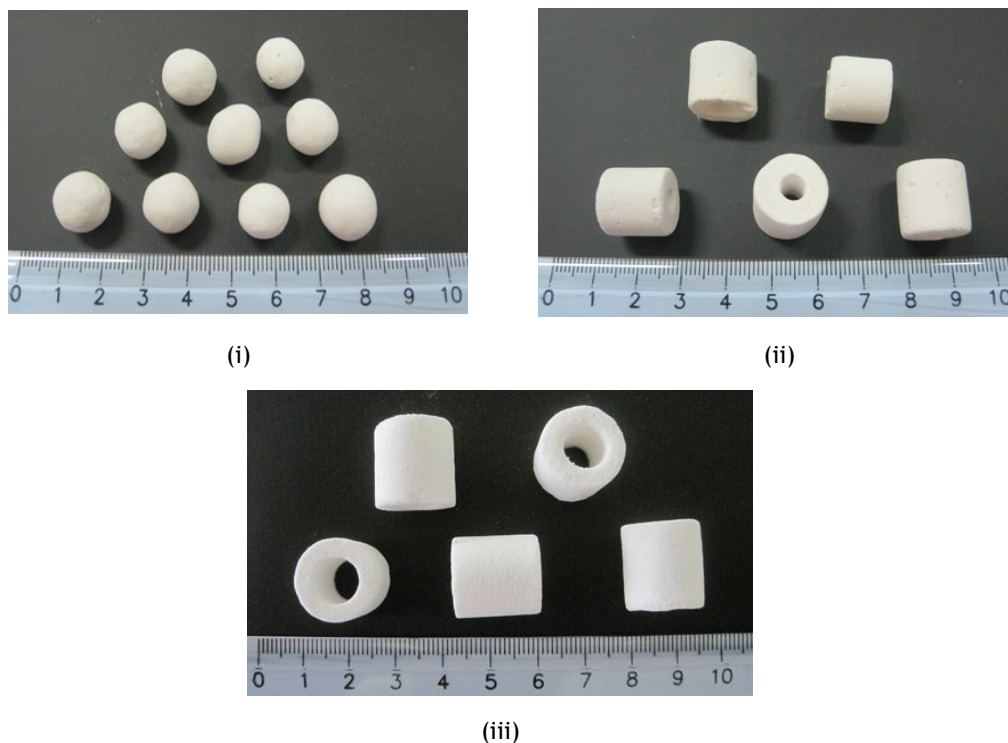
Στο πειραματικό μέρος της παρούσας διατριβής επιλέχθηκε να εφαρμοσθεί σύστημα μιας βαθμίδας (Σχήμα 3.8(α)), ώστε να απλουστευθεί ο σχεδιασμός του διαγράμματος ροής και να μειωθεί το κόστος του απαιτούμενου εξοπλισμού. Επίσης, όταν η αναγωγή των θειικών ιόντων και η καταβύθιση των μετάλλων εξελίσσονται ταυτόχρονα σε κοινό αντιδραστήρα, επιτυγχάνεται ομοιογενής κατανομή των θειούχων ιόντων για την κατακρήμνιση των θειούχων ενώσεων στο εσωτερικό του αντιδραστήρα (Bijmans *et al.*, 2009c). Για την επιτυχή λειτουργία του συστήματος, έπρεπε:

- να επιλεγεί κατάλληλος τύπος αντιδραστήρα, πληρωτικού υλικού και εμβολίου για την ανάπτυξη και ακινητοποίηση ικανού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε λεπτό βιολογικό στρώμα
- να εξασφαλιστεί η παρουσία θειικών ιόντων (δέκτη ηλεκτρονίων) στο διάλυμα
- να επιλεγεί κατάλληλη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για την ανάπτυξη των βακτηρίων και την αναγωγή των θειικών ιόντων

#### Πληρωτικό υλικό

Το πληρωτικό υλικό που επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί στους αντιδραστήρες της παρούσας διατριβής για την ανάπτυξη και την εγκατάσταση του λεπτού βιολογικού στρώματος είναι πορώδη σωματίδια από αδρανή υλικά που διατίθενται στο εμπόριο από την εταιρεία JBL (Γερμανία, <http://www.jbl.de/en>) και προορίζονται για χρήση στα φίλτρα ενυδρείων (Εικόνα 4.1, Πίνακας 4.1). Επιλέγοντας εμπορικά, και επομένως τυποποιημένα προϊόντα, εξασφαλίζεται με απλό τρόπο η χρήση υλικού καθορισμένων και σταθερών προδιαγραφών. Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, δοκιμάστηκαν υλικά διαφορετικής ειδικής επιφάνειας και γεωμετρίας προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός που θα επέτυχανε ικανοποιητική ακινητοποίηση των βακτηρίων αλλά και υδραυλική σταθερότητα του αντιδραστήρα.

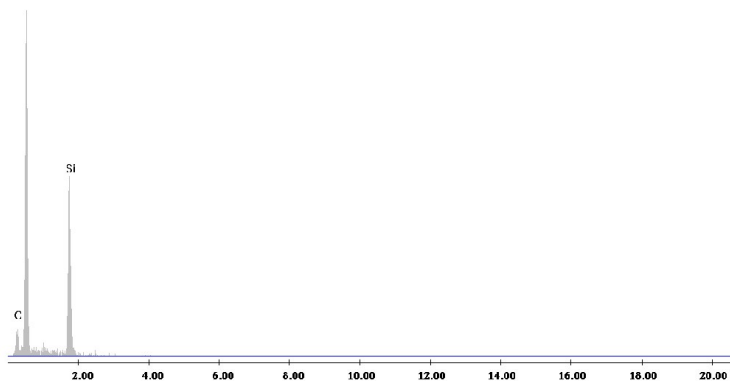
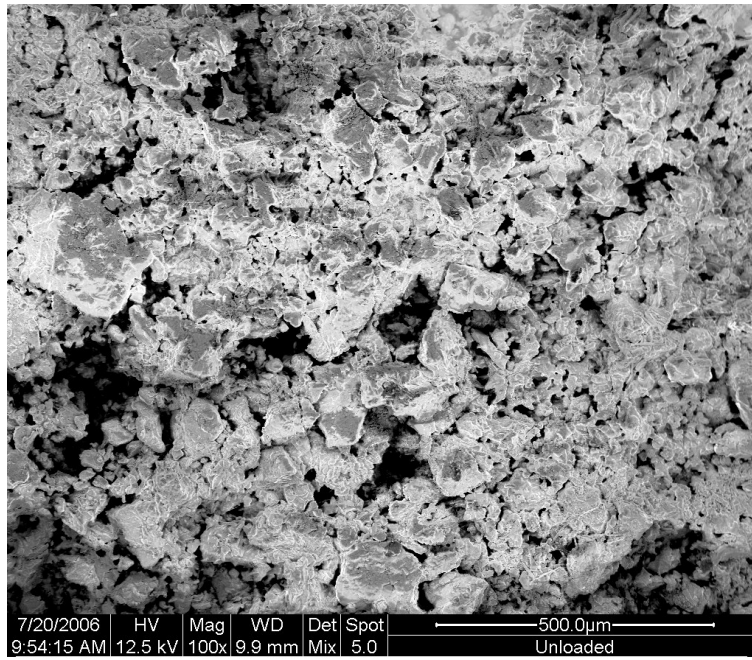
Η μορφολογία σφαιριδίου του πληρωτικού υλικού A, όπως απεικονίζεται στη φωτογραφία του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (Εικόνα 4.2), είναι χαρακτηριστική πορώδους υλικού με μέγεθος πόρου < 100 μm. Στο αντίστοιχο φασματογράφημα EDS, εμφανίστηκε μόνο οξυγόνο και πυρίτιο, όπως άλλωστε αναμένεται για σωματίδιο από πυροσυσσωματωμένη ύαλο.



Εικόνα 4.1. Φωτογραφία πληρωτικού υλικού (i) Α, (ii) Β και (iii) Γ

Πίνακας 4.1. Πληρωτικά υλικά που εφαρμόστηκαν στους αντιδραστήρες σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής

Πληρωτικό υλικό	Εμπορική ονομασία	Υλικό κατασκευής	Γεωμετρία	Ειδική επιφάνεια (m <sup>2</sup> /L)
A	JBL MicroMec®	Πυροσυσσωματωμένη ύαλος	Σφαιρίδια μέσης διαμέτρου 0,6 cm	1.500
B	JBL Cermec®	Κεραμικό υλικό	Κύλινδροι μήκους 1,5 cm με διαμήκη οπή διαμέτρου 5 mm πάχος τοιχώματος: 5 mm	240
Γ	JBL SintoMec®	Πυροσυσσωματωμένη ύαλος	Κύλινδροι μήκους 1,7 cm με διαμήκη οπή διαμέτρου 8 mm πάχος τοιχώματος: 4 mm	1.200



**Εικόνα 4.2. Παρατήρηση θραύσματος σφαιριδίου πληρωτικού υλικού Α στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης**  
 (οι εικόνες προέκυψαν μετά από ψηφιακή μίξη των εικόνων του ανιχνευτή οπισθοσκεδαζόμενων ηλεκτρονίων και του ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων ευρέως πεδίου)



### Αντιδραστήρας

Στο πειραματικό μέρος της παρούσας διατριβής επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί αντιδραστήρας σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής, του οποίου η λειτουργία βασίζεται στην ακινητοποίηση λεπτού βιολογικού στρώματος πάνω στα σωματίδια πληρωτικού υλικού. Έτσι, εξασφαλίζεται η απαιτούμενη συγκράτηση της παραγόμενης βιομάζας για την αποδοτική λειτουργία της διεργασίας, χωρίς να απαιτείται ο σχεδιασμός πολύπλοκων διατάξεων, όπως στην περίπτωση των αντιδραστήρων GLR και MBR, αλλά και ικανοποιητική ανοχή του μικροβιακού πληθυσμού σε τυχόν μεταβολές των συνθηκών λειτουργίας σε αντιδιαστολή με τους αντιδραστήρες πλανκτονικής βιομάζας. Επίσης, με τη χρήση αδρανούς πληρωτικού υλικού αντί κοκκοποιημένης ιλύος για την ακινητοποίηση της παραγόμενης βιομάζας, αποφεύγεται ο εγγενής ανταγωνισμός θειοαναγωγικών και μεθανογόνων βακτηρίων που παρατηρείται στους αντιδραστήρες UASB και EGSB. Τέλος, δεν θα πρέπει να παραγνωριστεί ο σχετικά απλός τρόπος σχεδιασμού και διαχείρισης αυτού του τύπου αντιδραστήρα, σε σχέση με τους αντιδραστήρες FBR για παράδειγμα.

Τα χαρακτηριστικά σχεδιασμού (Πίνακας 4.2) των αντιδραστήρων<sup>32</sup> τροποποιούνταν σε κάθε κύκλο δοκιμών προκειμένου να εξυπηρετηθεί καλύτερα η οικονομία των πειραματικών δοκιμών σε εργαστηριακή κλίμακα αλλά και οι επιμέρους στόχοι κάθε κύκλου. Έτσι, όσο αφορά τον τρόπο λειτουργίας των αντιδραστήρων,

- οι αντιδραστήρες μελετήθηκαν σε κατάσταση συνεχούς λειτουργίας κατά τη διάρκεια των κύκλων I και II όπου επιμέρους στόχος ήταν η διερεύνηση της απόδοσης του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σε συνθήκες ημιπλοτικής λειτουργίας αλλά και της ανοχής της διεργασίας σε επιλεγμένους ανασταλτικούς παράγοντες (χαμηλό pH, υψηλή συγκέντρωση μετάλλων στο ρεύμα εισόδου)
- οι αντιδραστήρες μελετήθηκαν σε κατάσταση διαλείποντος έργου κατά τη διάρκεια των κύκλων III και IV όπου οι επιμέρους στόχοι (διερεύνηση της δυνατότητας προσαρμογής του πληθυσμού σε διαφορετική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων αλλά και της επίδρασης της αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων) άπτονταν της μελέτης θεμελιωδών παραγόντων της διεργασίας

Σε κάθε περίπτωση, οι αντιδραστήρες λειτουργούσαν σε ελεγχόμενη θερμοκρασία δωματίου (-25 °C) και σε οξειδοαναγωγικό δυναμικό  $E_h = -250 - (-300)$  mV.

---

<sup>32</sup> Φωτογραφίες των αντιδραστήρων που λειτούργησαν στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής παρατίθενται στο Παράρτημα Α (σελ. 235).

Πίνακας 4.2. Χαρακτηριστικά σχεδιασμού αντιδραστήρων σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής που λειτούργησαν στο πλαίσιο της πειραματικής μελέτης

Αντ/ρας	Πληρωτικό υλικό	Διαστάσεις (HxI.D., cm) *	Λόγος H/I.D.	Λόγος I.D./d <sub>σωμ.</sub> **	Ωφέλιμος όγκος αντ/ρα (L) ***	Όγκος κλίνης (L)	Ωφέλιμος όγκος κλίνης (L) ****	Ωφέλιμη διατομή κλίνης (cm <sup>2</sup> )	Πορώδες κλίνης (%) *****	Θύρες δειγματοληψίας	Τρόπος λειτουργίας	Διάγραμμα ροής
I	A	100 (82) x 9,5	10,5	15,83	3,15	5,81	2,58	31,46	44,4	8	Συνεχής (10 μήνες, -25 °C)	Σχήμα 4.2(i)
II	B	45 (30) x 10	4,5	6,67	2,53	2,36	1,33	44,33	56,4	2	Συνεχής (5 μήνες, -25 °C)	Σχήμα 4.2(ii)
III	Γ	30 (26) x 5	6,0	3,33		0,51				--	Διαλείποντος έργου (-25 °C)	Σχήμα 4.2(iii)
IV-E/L	Γ	51 (43) x 6,7	7,6	4,47	1,59	1,52	1,30	30,23	85,5	--	Διαλείποντος έργου (-25 °C)	Σχήμα 4.2(iii)
IV-A	Γ	46 (38) x 6,7	6,9	4,47	1,44	1,34	1,15	30,26	85,8	--	Διαλείποντος έργου (-25 °C)	Σχήμα 4.2(iii)

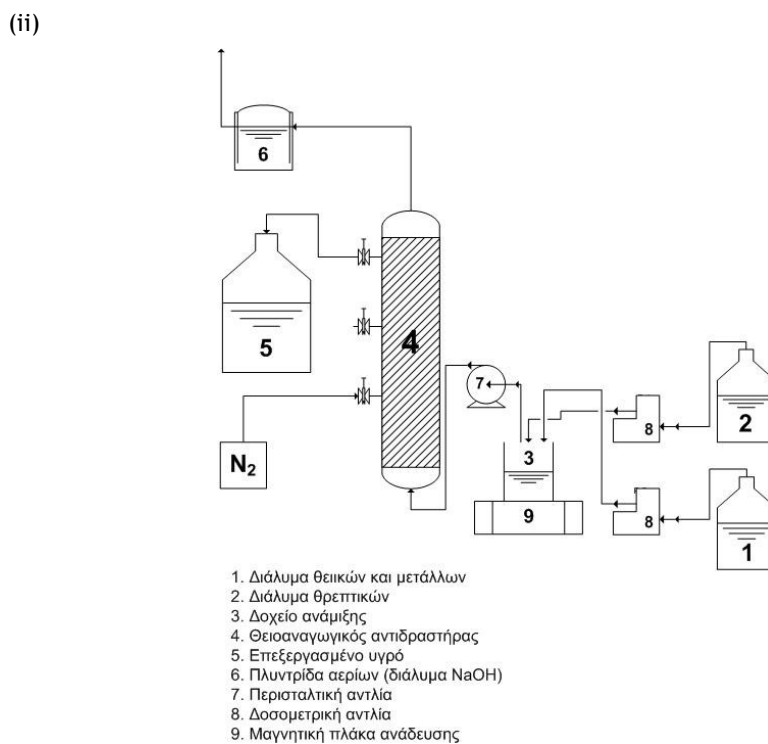
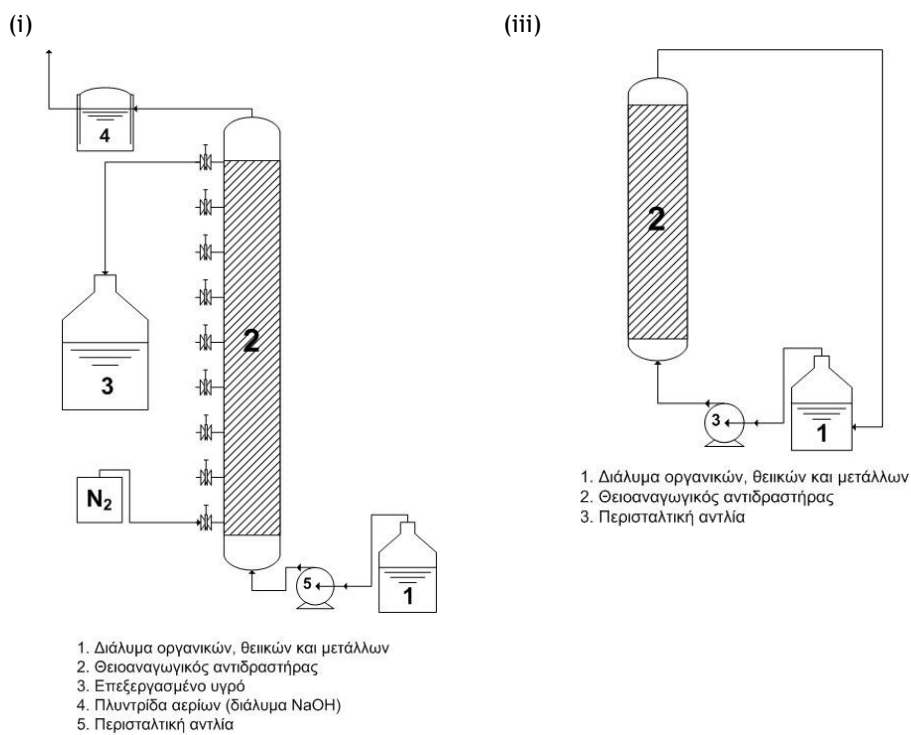
\* Σε παρένθεση σημειώνεται το ύψος της κλίνης του πληρωτικού υλικού στον αντιδραστήρα.

\*\* Για τα κυλινδρικά σωματίδια, λαμβάνεται υπόψη η μεγαλύτερη διάστασή τους αντί της διαμέτρου.

\*\*\* Ωφέλιμος όγκος αντιδραστήρα = Όγκος υγρού στην κλίνη του πληρωτικού υλικού + Όγκος υγρού σε τμήμα του αντιδραστήρα χωρίς πληρωτικό υλικό

\*\*\*\* Ωφέλιμος όγκος κλίνης = Όγκος κενών και πόρων στην κλίνη του πληρωτικού υλικού = Όγκος υγρού στην κλίνη του πληρωτικού υλικού

\*\*\*\*\* Πορώδες κλίνης = Ωφέλιμος όγκος κλίνης / Όγκος κλίνης πληρωτικού υλικού



Σχήμα 4.2. Διαγράμματα ροής θειοαναγωγικών αντιδραστήρων σταθερής κλίσης και ανοδικής ροής που λειτούργησαν στο πλαίσιο της πειραματικής μελέτης

### Υδροδυναμικά χαρακτηριστικά αντιδραστήρα

Στο πλαίσιο προκαταρκτικής διερεύνησης του τρόπου ροής του ρευστού μέσα στους αντιδραστήρες και της μελέτης της κατανομής του χρόνου παραμονής (RTD), πραγματοποιήθηκε δοκιμή εφαρμογής ικνηθέτη, με βηματικό και παλμικό τρόπο, σε αντιπροσωπευτικό αντιδραστήρα (Αντιδραστήρας IV) πριν εμβολιαστεί και αφού είχε πληρωθεί με το πληρωτικό υλικό Γ και απιονισμένο νερό.

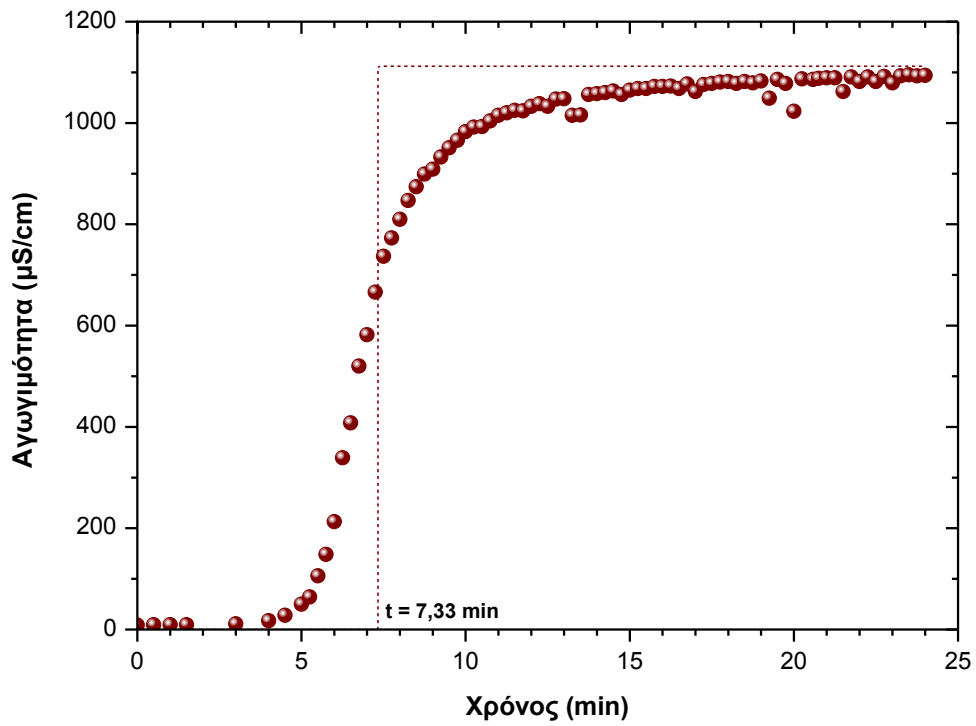
Ο ικνηθέτης που επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί ήταν διάλυμα χλωριούχου νατρίου, συγκέντρωσης 0,5 g/L και αγωγιμότητας 1.112  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , που δεν αντιδρά με το πληρωτικό υλικό της κλίνης. Σε αυτή την περίπτωση, δεν ελέγχεται η διάχυση του ικνηθέτη μέσα στους πόρους του πληρωτικού υλικού όπως συμβαίνει στην περίπτωση χρήσης διαφόρων χρωστικών ουσιών, όπου το μοριακό βάρος της ένωσης επηρεάζει σημαντικά τη μεταφορά μάζας από το εσωτερικό των πόρων προς τον όγκο του ρευστού του αντιδραστήρα και, κατά συνέπεια, τη μορφή των καμπυλών απόκρισης (de Nardi *et al.*, 1999; Jimenez *et al.*, 1988). Επίσης, το χλωριούχο νάτριο είναι χημική ένωση με υψηλή διαλυτότητα στο νερό, της οποίας η συγκέντρωση προσδιορίζεται έμμεσα εύκολα μέσω της μέτρησης της αγωγιμότητας του διαλύματος καθώς, στην περίπτωση αραιών διαλυμάτων ισχυρών ηλεκτρολυτών, η σχέση συγκέντρωσης-αγωγιμότητας είναι γραμμική (Levine, 2009).

Και στις δύο περιπτώσεις εφαρμογής, ο ικνηθέτης τροφοδοτήθηκε με παροχή 217 mL/min (θεωρητικός χρόνος παραμονής<sup>33</sup>: 7,33 min) από το στόμιο εισόδου (πυθμένα) του αντιδραστήρα ενώ η αγωγιμότητα του διαλύματος εξόδου μετρήθηκε<sup>34</sup> σε κελί εξισορρόπησης που εγκαταστάθηκε μετά την έξοδο (κορυφή) του αντιδραστήρα. Στην παλμική εφαρμογή, τροφοδοτήθηκε διάλυμα όγκου 415 mL για χρονικό διάστημα 2 min και οι μετρήσεις αγωγιμότητας λαμβάνονταν ανά 15 s. Η δοκιμή διήρκεσε 20 min και στο διάστημα αυτό ανακτήθηκε το 96,5% της ποσότητας του ικνηθέτη που χρησιμοποιήθηκε για τη δοκιμή.

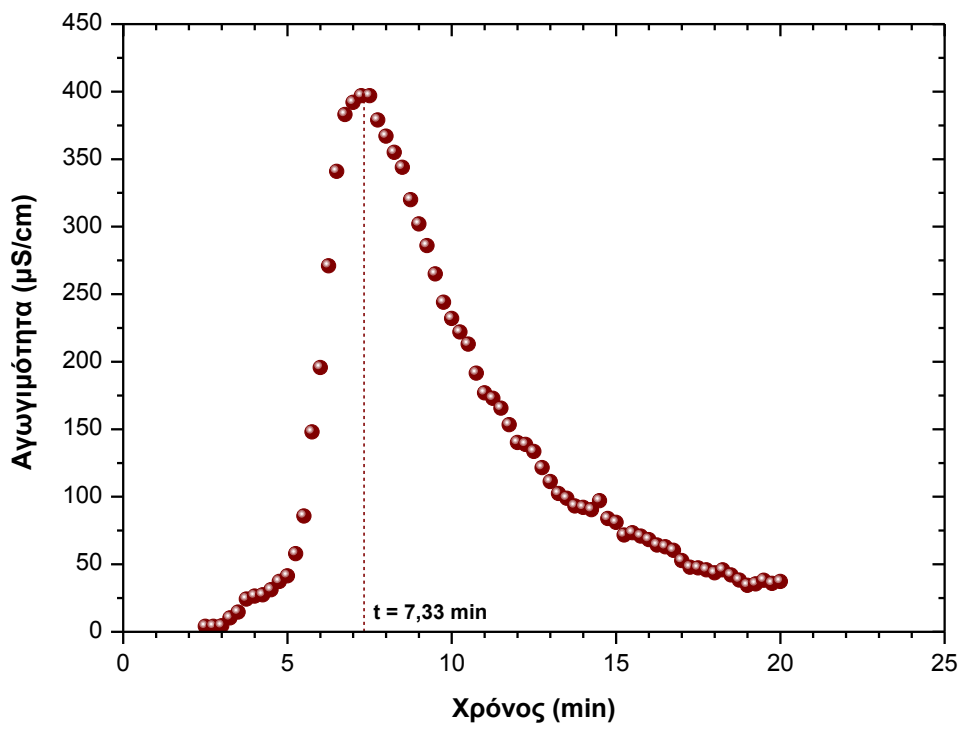
Από τα διαγράμματα απόκρισης του αντιδραστήρα στην επιβολή του ικνηθέτη (Σχήμα 4.3 και Σχήμα 4.4), συμπεραίνεται η απόκλιση του τρόπου ροής του ρευστού από την ιδανική εμβολική ροή. Ειδικότερα, η κορυφή της καμπύλης παλμικής επιβολής (Σχήμα 4.4) συμπίπτει με το θεωρητικό χρόνο παραμονής ( $\bar{t}$  μέσος χρόνος παραμονής  $\bar{t}$ ) και παρατηρείται μεγάλη «ουρά», χαρακτηριστικά που υποδεικνύουν επιλεκτική ροή του ρευστού μέσω συγκεκριμένων διαδρομών (*channelling*) και ύπαρξη νεκρών όγκων (*dead volume - stagnant zones*) στο εσωτερικό του αντιδραστήρα (Levenspiel, 1998). Γενικά, το φαινόμενο αυτό αναμένεται ακόμα εντονότερο με την ακινητοποίηση βιομάζας στο εσωτερικό των πόρων του πληρωτικού υλικού (Backer *et al.*, 1994). Επίσης, στους «στενούς» ( $D_{\text{αντιδρ.}}/D_{\text{σωμ.}} < 20$ ) αντιδραστήρες σταθερής κλίνης, όπως αυτοί που λειτούργησαν το πλαίσιο της παρούσας διατριβής, παρατηρείται έντονη επίδραση του τοιχώματος στη ροή του ρευστού (Atmakidis *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2004).

<sup>33</sup> Υπολογίζεται από τη σχέση  $HRT = V/Q$ , όπου  $V$  ο ωφέλιμος όγκος του αντιδραστήρα και  $Q$  η ογκομετρική παροχή τροφοδοσίας του ικνηθέτη.

<sup>34</sup> Η μέτρηση της αγωγιμότητας του διαλύματος εξόδου πραγματοποιήθηκε με βαθμονομημένο φορητό αγωγιμόμετρο (Hach, sensION5™) σε σταθερή θερμοκρασία.



Σχήμα 4.3. Καμπύλη απόκρισης αντιδραστήρα κατά τη βηματική εφαρμογή ικνηθέτη



Σχήμα 4.4. Καμπύλη απόκρισης αντιδραστήρα κατά την παλμική εφαρμογή ικνηθέτη

Για την κανονικοποίηση της καμπύλης αγωγιμότητας (C) - χρόνου (t) που προέκυψε από τα πειραματικά αποτελέσματα της παλμικής εφαρμογής του ικνηθέτη (Σχήμα 4.4) και τη σχεδίαση της καμπύλης κατανομής του χρόνου παραμονής  $E_{\theta}$  ως προς τον αδιάστατο χρόνο  $\theta$ , προσδιορίστηκαν οι μεταβλητές (Πίνακας 4.3) και, στη συνέχεια, εφαρμόστηκαν τρία τυπικά μονοπαραμετρικά μοντέλα (Πίνακας 4.4)<sup>35</sup> για τη σχεδίαση των αντίστοιχων καμπυλών κατανομής χρόνου παραμονής (Σχήμα 4.5) αφού υπολογίστηκε ο συντελεστής D και ο αριθμός N από το γνωστό  $\sigma_{\theta}$ .

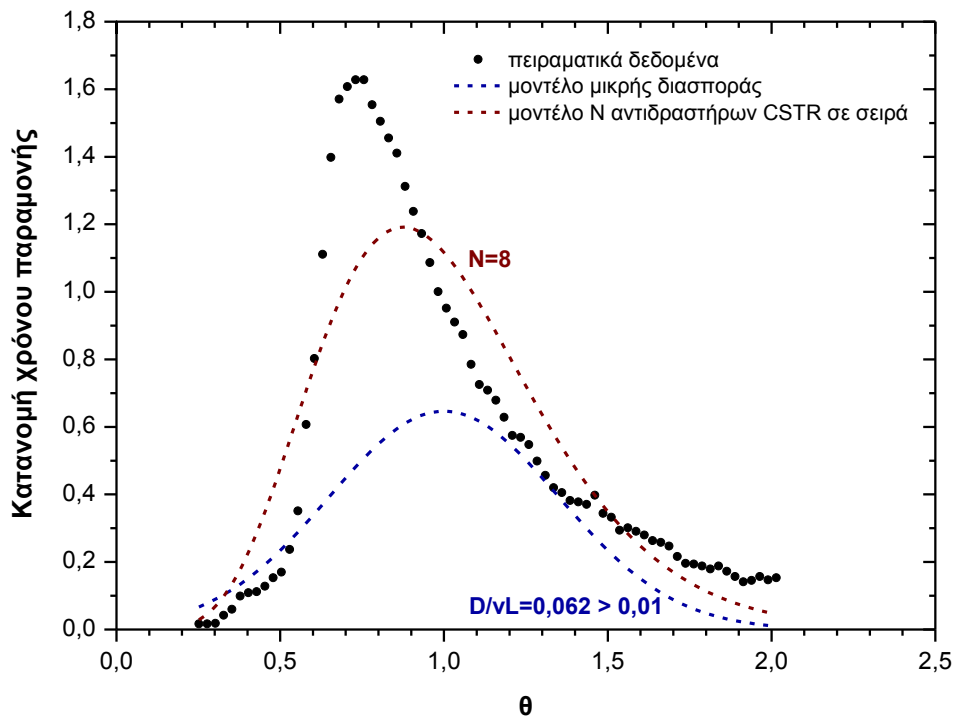
Πίνακας 4.3. Υπολογισμός μεταβλητών για τον προσδιορισμό της εξίσωσης της καμπύλης  $E_{\theta}$  (Levenspiel, 1998)

Μεταβλητή	Ορισμός	Τιμή
$\bar{t}$	$\frac{\sum t_i C_i \Delta t_i}{\sum C_i \Delta t_i}$	9,93 min
$\sigma^2$	$\frac{\sum t_i^2 C_i \Delta t_i}{\sum C_i \Delta t_i} - (\bar{t})^2$	12,13 min <sup>2</sup>
$\sigma_{\theta}^2$	$\frac{\sigma^2}{(\bar{t})^2}$	0,12
$\theta_i$	$\frac{t}{\bar{t}}$	
$E_{\theta_i}$	$\bar{t} \frac{C_i}{\sum C_i \Delta t_i}$	

Πίνακας 4.4. Μονοπαραμετρικά μοντέλα κατανομής χρόνου παραμονής σε αντιδραστήρες μη ιδανικής εμβολικής ροής (Levenspiel, 1998)

Μοντέλο	Παράμετρος	Εξίσωση καμπύλης $E_{\theta}$
Μικρής αξονικής διασποράς	$\sigma_{\theta}^2 = 2 \frac{D}{vL} \Leftrightarrow \frac{D}{vL} = 0,062$	$E_{\theta} = \frac{1}{\sqrt{4\pi \left(\frac{D}{vL}\right)}} e^{-\frac{(1-\theta)^2}{4\left(\frac{D}{vL}\right)}}$
Μεγάλης αξονικής διασποράς (οριακές συνθήκες κλειστού συστήματος)	$\sigma_{\theta}^2 = 2 \left(\frac{D}{vL}\right) - 2 \left(\frac{D}{vL}\right)^2 \left(1 - e^{-\frac{1}{2\left(\frac{D}{vL}\right)}}\right) \Leftrightarrow \frac{D}{vL} = 0,065$ $\Leftrightarrow D = 23,12 \text{ cm}^2 / \text{min}$	---
N αντιδραστήρων CSTR σε σειρά	$\sigma_{\theta}^2 = \frac{1}{N} \Leftrightarrow N = 8,1233$	$E_{\theta} = \frac{N(N\theta)^{N-1}}{(N-1)!} e^{-N\theta}$

<sup>35</sup> Για το χαρακτηρισμό της ροής σε πραγματικούς αντιδραστήρες σταθερής κλίνης που αποκλίνουν από την ιδανική εμβολική ροή, εφαρμόζεται το μοντέλο διασποράς και το μοντέλο N αντιδραστήρων σε σειρά. Στο μοντέλο διασποράς, προσδιορίζεται ο συντελεστής αξονικής διασποράς D (m<sup>2</sup>/s) και ο αδιάστατος αριθμός (D/vL), όπου v η ταχύτητα του ρευστού που ορίζεται ως  $v=Q/A=Q/(V/L)$ , όπου Q η ογκομετρική παροχή, V ο ωφέλιμος όγκος της κλίνης και L το μήκος της. Έτσι,  $\frac{D}{vL} \rightarrow 0$  αντιστοιχεί σε εμβολική ροή,  $\frac{D}{vL} \rightarrow \infty$  αντιστοιχεί σε ροή με ανάμιξη ενώ  $\frac{D}{vL} < 0,01$  αντιστοιχεί σε ροή με μικρή διασπορά. Στο δεύτερο μοντέλο, ο πραγματικός αντιδραστήρας προσομοιώνεται με N ιδανικούς αντιδραστήρες πλήρους ανάμιξης (CSTR) σε σειρά και προσδιορίζεται ο αριθμός N έτσι ώστε  $N \rightarrow \infty$  να αντιστοιχεί σε ιδανικό αντιδραστήρα εμβολικής ροής (Levenspiel, 1998).



Σχήμα 4.5. Καμπύλη κατανομής χρόνου παραμονής με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα της παλμικής εφαρμογής του ικνηθέτη καθώς και με εφαρμογή των μοντέλων μικρής διασποράς και  $N$  αντιδραστήρων σε σειρά

Προκειμένου να ελεγχθεί η καταλληλότητα του μοντέλου  $N$  αντιδραστήρων σε σειρά για την προσομοίωση του αντιδραστήρα υπό μελέτη (Swaine *et al.*, 1988), επιχειρήθηκε ο προσδιορισμός της βέλτιστης τιμής  $N^{36}$  ώστε να ελαχιστοποιείται το άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών των τιμών  $E_{\theta}$  που προκύπτουν από τα πειραματικά δεδομένα και αυτών που προβλέπονται από το μοντέλο. Η τιμή  $N$  για την οποία προέκυψε η ελάχιστη διαφορά των τετραγώνων των υπολοίπων (3,15449) ήταν 8. Επίσης, υπολογίστηκε ο συντελεστής προσδιορισμού ως εξής:

$$r^2 = 1 - \frac{\sum (E_{\theta,(\text{exp})} - E_{\theta,(\text{model})})^2}{\sum (E_{\theta,(\text{exp})} - \overline{E_{\theta,(\text{exp})}})^2} = 0,8114$$

<sup>36</sup> Η βέλτιστη τιμή της παραμέτρου  $N$  προσδιορίστηκε με το πρόσθετο Solver της εφαρμογής MS Excel 2003.

### Εμβόλιο και εγκατάσταση πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, επιδιώχθηκε η ανάπτυξη μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων προκειμένου να εξασφαλιστούν όλα εκείνα τα πλεονεκτήματα που προσφέρουν οι μικτές καλλιέργειες έναντι των καθαρών: ευρύτερο φάσμα επιλογών ως προς τις δυνατές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων αλλά και υψηλότερο επίπεδο ανοχής σε δυσμενείς συνθήκες ανάπτυξης.

Για την ανάπτυξη του αρχικού μικτού πληθυσμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων, χρησιμοποιήθηκε ιλύς από τη δεξαμενή αναερόβιας χώνευσης εγκατάστασης βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων (Μεταμόρφωση Αττικής) ως εμβόλιο ενώ, για την ανάπτυξη μικροβιακού πληθυσμού σε κάθε επόμενο κύκλο, χρησιμοποιήθηκε πληρωτικό υλικό με ήδη αναπτυγμένο λεπτό βιολογικό στρώμα από τον αντιδραστήρα του προηγούμενου σταδίου που επρόκειτο να καταργηθεί.

Γενικά, για τη διαδικασία αυτή, απαιτήθηκε κάθε φορά 1 μήνας και η επιτυχής ανάπτυξη και σταθεροποίηση της κατάστασης του μικροβιακού πληθυσμού διαπιστωνόταν (α) οπτικά, με την εμφάνιση μαύρου χρώματος στην κλίνη του αντιδραστήρα και (β) αναλυτικά, με μέτρηση του pH και της συγκέντρωσης των θειικών ιόντων όπως περιγράφεται στην ενότητα 4.4.

### Διαλύματα τροφοδοσίας

Στο στάδιο ανάπτυξης του λεπτού βιολογικού στρώματος, οι αντιδραστήρες λειτουργούσαν σε κλειστό κύκλωμα και τροφοδοτούνταν με παραλλαγή του βασικού θρεπτικού μέσου του Postgate (DSMZ, 2005a), το οποίο περιέχει γαλακτικό ανιόν ως κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, υδατοδιαλυτό παράγωγο κυττάρων ζύμης ως θρεπτικό υπόστρωμα γενικής χρήσης κι ενισχυτικό της βακτηριακής ανάπτυξης (Merck, 2012), θειογλυκολικό νάτριο ( $\text{HS-CH}_2\text{COONa}$ ) ως αναγωγικό παράγοντα για τη μείωση του οξειδοαναγωγικού δυναμικού του θρεπτικού μέσου<sup>37</sup>, βιταμίνες (ασκορβικό οξύ), μακροθρεπτικά στοιχεία (N, P, K, Mg, Ca), θειικά ιόντα και ιόντα δισθενούς σιδήρου (Πίνακας 4.5).

Στα επόμενα στάδια της πειραματικής μελέτης, το βασικό θρεπτικό μέσο τροποποιήθηκε ως εξής:

- Στο πλαίσιο της ελαχιστοποίησης των προστιθέμενων οργανικών υποστρωμάτων και αφού διαπιστωνόταν η επιτυχής ανάπτυξη και ακινητοποίηση του μικροβιακού πληθυσμού, διακοπτόταν η τροφοδοσία του αντιδραστήρα με παράγωγο ζύμης, θειογλυκολικό νάτριο και ασκορβικό οξύ.
- Στα πειράματα όπου μελετήθηκε η απόδοση του αντιδραστήρα όσο αφορά την

---

<sup>37</sup> Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η ύπαρξη αναγωγικού περιβάλλοντος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα, χρησιμοποιήθηκε ειδικός δείκτης του οξειδοαναγωγικού δυναμικού: ρεσαζουρίνη (*resazurin*, χρώματος μοβ σε  $\text{pH} > 6,5$ ) η οποία ανάγεται σε δύο στάδια: αναντίστρεπτα προς ρεσορουφίνη (*resorufin*) και, στη συνέχεια, αντιστρεπτά προς δι-υδρορεσορουφίνη (*dihydroresorufin*) με αντίστοιχη μεταβολή του χρώματος σε ροζ και άχρωμο (Tratnyek *et al.*, 2001). Σε  $\text{pH} = 7$ , η ρεσαζουρίνη γίνεται εντελώς άχρωμη όταν  $E_{\text{SHE}} < -110 \text{ mV}$  ενώ ανακτά το ροζ χρώμα όταν  $E_{\text{SHE}} > -51 \text{ mV}$  (DSMZ, 2005b).



απομάκρυνση ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου, τα μέταλλα αυτά προσθέτονταν στο αρχικό διάλυμα τροφοδοσίας ως  $ZnCl_2$ ,  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$  και  $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ , αντίστοιχα.

- Στα πειράματα όπου εφαρμόστηκε ρύθμιση του αρχικού pH του διαλύματος τροφοδοσίας στην περιοχή του 3, χρησιμοποιήθηκε πυκνό διάλυμα HCl (ατμίζον διάλυμα 37%, Merck). Έτσι, με την προσθήκη μικρής ποσότητας χλωριόντων, αποφύγαμε την έστω και αμελητέα μεταβολή της αρχικής συγκέντρωσης των θειικών ιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας (όπως θα συνέβαινε στην περίπτωση του  $H_2SO_4$ ) ή την εισαγωγή νιτρικών ιόντων στο σύστημα του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα (όπως θα συνέβαινε στην περίπτωση του  $HNO_3$ ).
- Στα πειράματα όπου χρησιμοποιήθηκε το οξικό ιόν ή η αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, αντικαταστάθηκε το γαλακτικό νάτριο του βασικού θρεπτικού μέσου με ισοδύναμες, ως προς τον περιεχόμενο οργανικό άνθρακα (ενότητα 4.3.1), ποσότητες οξικού νατρίου ή αιθανόλης, αντίστοιχα.

Για την παρασκευή όλων των διαλυμάτων τροφοδοσίας των αντιδραστήρων, χρησιμοποιήθηκαν χημικά αντιδραστήρια αναλυτικής καθαρότητας και απιονισμένο νερό.

Πίνακας 4.5. Σύσταση θρεπτικού μέσου κατά τον εμπλουτισμό της αρχικής καλλιέργειας και τη φάση ανάπτυξης του βιολογικού στρώματος (DSMZ, 2005a)

Συστατικό	Συγκέντρωση (g/L)
Γαλακτικό νάτριο	2,0
Παράγωγο κυττάρων ζύμης	1,0
Θειογλυκολικό νάτριο	0,1
Ασκορβικό οξύ	0,1
$NH_4Cl$	1,0
$K_2HPO_4$	0,5
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,1
$Na_2SO_4$	1,0
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2,0
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5

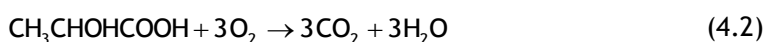
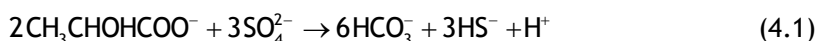
### 4.3. Θεωρητική διερεύνηση και απλοί υπολογισμοί

#### 4.3.1. Πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων στο διάλυμα τροφοδοσίας

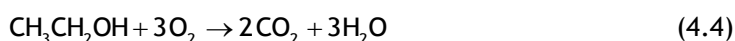
Για την πειραματική μελέτη της μικροβιακής αναγωγής θειικών ιόντων σε αντιδραστήρα σταθερής κλίνης με σκοπό την καταβύθιση ιόντων μετάλλων, ήταν αναγκαία η προσθήκη κατάλληλης πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων στο διάλυμα τροφοδοσίας. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκαν τρία υποστρώματα που χρησιμοποιούνται ευρέως σε παρόμοιες εφαρμογές θειοαναγωγικών αντιδραστήρων (Πίνακας 3.7) και διατίθενται στο εμπόριο ως χημικά αντιδραστήρια. Έτσι, εξασφαλίστηκε η παραγωγή συγκρίσιμων πειραματικών αποτελεσμάτων

με τα βιβλιογραφικά δεδομένα αλλά και η χρήση υλικών σταθερών προδιαγραφών. Αναλυτικότερα, επιλέχθηκε

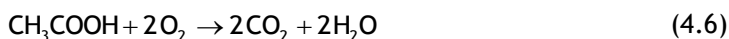
- γαλακτικό ιόν (ως γαλακτικό νάτριο) που αποτελεί ένα σχετικά κοινό υπόστρωμα για την ανάπτυξη θειοαναγωγικών βακτηρίων και ήταν η κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων στο θρεπτικό μέσο του Postgate που χρησιμοποιήθηκε για τον εμπλουτισμό της αρχικής καλλιέργειας (Πίνακας 4.5).



- αιθανόλη που προτείνεται ως εναλλακτική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για την ανάπτυξη θειοαναγωγικών βακτηρίων λόγω της εύκολης διαθεσιμότητας και του χαμηλότερου κόστους της σε σχέση με το γαλακτικό.



- οξικό ιόν (ως οξικό νάτριο) που αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν της οξειδωσης του γαλακτικού αλλά και της αιθανόλης. Έχει αποδειχθεί ότι η οξειδωσή του είναι το κρίσιμο βήμα της διεργασίας καθώς ελέγχει την παραγωγή αλκαλικότητας (και, κατά συνέπεια, το βαθμό εξουδετέρωσης του όξινου αποβλήτου) αλλά και το οργανικό φορτίο του επεξεργασμένου αποβλήτου. Επίσης, το οξικό, σε υψηλή συγκέντρωση και συνθήκες χαμηλού pH, μπορεί να αναστείλει τη θειοαναγωγική δραστηριότητα.



Από τη στοιχειομετρία<sup>38</sup> των παραπάνω αντιδράσεων, προκύπτουν σημαντικές διαφορές ως προς τη συμπεριφορά των επιλεγμένων πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων (Πίνακας 4.6). Για παράδειγμα, τα θειικά ιόντα που ανάγονται ανά mole υποστρώματος είναι κατά 33% μειωμένα στην περίπτωση του οξικού ενώ γαλακτικό και αιθανόλη έχουν την ίδια απόδοση. Επίσης, κατά 33% λιγότερη είναι η αλκαλικότητα που παράγεται κατά την οξειδωση της αιθανόλης και του οξικού σε σχέση με την οξειδωση του γαλακτικού ενώ, στην περίπτωση του οξικού, παράγονται κατά 66% λιγότερα θειούχα (που είναι διαθέσιμα για τη συγκράτηση ιόντων μετάλλων) από ό,τι κατά την οξειδωση του γαλακτικού και της αιθανόλης. Έτσι, με βάση τους θεωρητικούς υπολογισμούς, προκύπτει ότι το γαλακτικό υπερτερεί της αιθανόλης ως προς την παραγόμενη αλκαλικότητα (και, κατά συνέπεια, τη δυνατότητα εξουδετέρωσης όξινων διαλυμάτων) ενώ το οξικό έχει τη χαμηλότερη απόδοση ανά mole ουσίας σε σχέση με το γαλακτικό και την αιθανόλη.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, κύριος στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η βέλτιστη αξιοποίηση των προστιθέμενων πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων για τη διατήρηση του βακτηριακού πληθυσμού και την αναγωγή των διαθέσιμων θειικών ιόντων με ελαχιστοποίηση

<sup>38</sup> Όλοι οι στοιχειομετρικοί υπολογισμοί έγιναν με βάση τις αντιδράσεις τέλει οξειδωσης του γαλακτικού και της αιθανόλης.

του υπολειμματικού οργανικού φορτίου στο επεξεργασμένο διάλυμα. Στο πλαίσιο αυτό, οι πειραματικές δοκιμές σχεδιάστηκαν με γνώμονα τον προσδιορισμό μιας βέλτιστης αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων μεταξύ της στοιχειομετρικά απαιτούμενης (δηλαδή, της θεωρητικά ελάχιστης τιμής) και της αναλογίας που υπολογίζεται με βάση τη σύσταση του βασικού θρεπτικού μέσου του Postgate (Πίνακας 4.5, μετά την αφαίρεση όλων των οργανικών συστατικών εκτός της κύριας πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων), όπου το γαλακτικό ιόν προστίθεται σε περίσσεια 58% σε σχέση με τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη γραμμομοριακή αναλογία (Πίνακας 4.7).

*Πίνακας 4.6. Αναγόμενα θειικά ιόντα, παραγόμενη αλκαλικότητα, παραγόμενα θειούχα και θεωρητικά απαιτούμενο οξυγόνο ανά mole πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων*

Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων	Αντίδραση	mole $SO_4^{2-}$	mole $HCO_3^-$	mole $HS^-$	mole $ThOD^*$
Γαλακτικό	(4.1)-(4.2)	1,5	3	3	3
Αιθανόλη	(4.3)-(4.4)	1,5	2	3	3
Οξικό	(4.5)-(4.6)	1,0	2	1	2

\* Θεωρητικά απαιτούμενο οξυγόνο που προκύπτει από τις αντιδράσεις (4.2), (4.4) και (4.6)

*Πίνακας 4.7. Υπολογισμός περίσσειας πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων στο βασικό θρεπτικό μέσο του Postgate*

	Γαλακτικό ιόν		Θειικά ιόντα		Γραμ/κή αναλογία γαλακτικού:θειικών
	mg/L	mM	mg/L	mM	
Βασικό θρεπτικό μέσο Postgate	1.589	18	1.629	17	1,06
Αντίδραση (4.1)	178	2	288	3	0,67
Περίσσεια πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων σε σχέση με τη στοιχειομ. απαιτούμενη					<b>58%</b>

Έτσι, τα επιλεγμένα υποστρώματα εφαρμόστηκαν σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων (Πίνακας 4.8) που υπολογίστηκαν σε σχέση με τη στοιχειομετρική αναλογία των αντίστοιχων αντιδράσεων τέλει οξείδωσης ((4.1), (4.3) και (4.5)).

**Πίνακας 4.8. Περιπτώσεις αναλογιών οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων που μελετήθηκαν**

Περίπτωση μελέτης	Συγκέντρωση		ThOD mg/L	TOC mg/L	Αναλογία άνθρακα:θειικών γραμ/κή	Αναλογία		Γραμ/κή αναλογία C:N:P
	mg/L	mM				$\frac{\text{ThOD}}{\text{SO}_4^{2-}}$	$\frac{\text{TOC}}{\text{SO}_4^{2-}}$	
<b>Γαλακτικό</b>								
Στοιχ. + περίσσεια 58% (κεφ. 5 & κεφ. 8)	1.589 <sup>1</sup>	18	1.714	643	1,06	1,05	0,39	5,25:5,50:1
	1.748 <sup>2</sup>	20	1.886	707				5,83:5,50:1
Στοιχ. (κεφ. 6)	942 <sup>3</sup>	11	1.005	382	0,68	0,66	0,25	3,50:5,50:1
<b>Αιθανόλη</b>								
Στοιχ. (κεφ. 7)	572 <sup>2</sup>	12	1.194	298	0,63	0,67	0,16	3,50:5,50:1
Στοιχ. + περίσσεια 58% (κεφ. 8)	904 <sup>2</sup>	20	1.885	471	1,05	1,05	0,26	5,83:5,50:1
<b>Οξικό</b>								
Στοιχ. + περίσσεια 58% (κεφ. 8)	1.740 <sup>2</sup>	29	1.887	708	1,58	1,05	0,40	8,45:5,50:1
Στοιχ. + περίσσεια 20% (κεφ. 8)	1.321 <sup>2</sup>	22	1.433	537	1,20	0,80	0,30	6,41:5,50:1

<sup>1</sup> Αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων: 1.629 mg/L (17 mM)

<sup>2</sup> Αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων: 1.792 mg/L (19 mM)

<sup>3</sup> Αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων: 1.524 mg/L (16 mM)

#### 4.3.2. Μελέτη χημικής ισορροπίας διαλύματος τροφοδοσίας

Για την προσομοίωση της χημικής ισορροπίας του διαλύματος τροφοδοσίας, εφαρμόστηκε η έκδοση 3.0 του λογισμικού Visual Minteq (Gustafsson, 2011) με τις εξής συνθήκες:

- Λαμβάνεται υπόψη η ενδεικτική περίπτωση διαλύματος αλάτων με αρχική συγκέντρωση ιόντων σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 100 mg/L (Πίνακας 4.9), σε pH 4.
- Στην περίπτωση προσθήκης γαλακτικών και οξικών ιόντων ως πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων, διαφοροποιείται η αρχική συγκέντρωση των ιόντων νατρίου καθώς οι δύο αυτές ουσίες προστίθενται ως άλατα νατρίου. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης νατρίου σε αυτές τις περιπτώσεις, λαμβάνεται υπόψη η περίπτωση προσθήκης της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων σε συγκέντρωση κατά 58% υψηλότερη σε σχέση με τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη.
- Στην περίπτωση προσθήκης αιθανόλης ως πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων, επειδή η αιθανόλη δεν σχηματίζει σύμπλοκα είδη με τα υπόλοιπα συστατικά του διαλύματος, δεν

περιλαμβάνεται η αιθανόλη στον κατάλογο των συστατικών του διαλύματος που μελετάται με το λογισμικό.

- Θεωρείται ότι το διάλυμα βρίσκεται σε θερμοκρασία 25 °C.

Πίνακας 4.9. Ιοντική σύσταση διαλύματος τροφοδοσίας (χωρίς την κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων)

Συστατικό	Συγκέντρωση	
	mg/L	mM
Na <sup>+</sup>	323,94*	14,08
K <sup>+</sup>	224,03	5,74
Ca <sup>2+</sup>	27,34	0,68
Mg <sup>2+</sup>	194,24	8,09
Cl <sup>-</sup>	925,43	26,44
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	264,15	14,68
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	89,04	2,87
Fe <sup>2+</sup>	100,00	1,79
Ni <sup>2+</sup>	100,00	1,70
Zn <sup>2+</sup>	100,00	1,54
Cu <sup>2+</sup>	100,00	1,56
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.788,00	18,62

\* 775,73 mg/L (33,73 mM) για την περίπτωση όπου προστίθενται 1.748 mg/L (20 mM) γαλακτικού ιόντος με τη μορφή γαλακτικού νατρίου και 1.003 mg/L (43,61 mM) για την περίπτωση όπου προστίθενται 1.740 mg/L (29 mM) οξικού ιόντος με τη μορφή οξικού νατρίου

Από τα αποτελέσματα της προσομοίωσης σε pH 4 προκύπτουν τα εξής:

- Και στις τρεις περιπτώσεις που εξετάστηκαν, μία για κάθε πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, όλα τα συστατικά του διαλύματος είναι 100% διαλυτά.
- Τα ιόντα χαλκού, ψευδαργύρου και νικελίου σχηματίζουν σύμπλοκα με το οξικό και το γαλακτικό ιόν ενώ τα ιόντα σιδήρου φαίνεται να σχηματίζουν σύμπλοκο μόνο με το οξικό ιόν<sup>39</sup>.
- Από την ποσοστιαία κατανομή των ειδών των συστατικών (Παράρτημα Α), προκύπτει ότι:
  - το προστιθέμενο οξικό βρίσκεται κατά 82% σε αδιάστατη μορφή ενώ η αδιάστατη μορφή του γαλακτικού αντιστοιχεί μόλις στο 33% της συνολικής συγκέντρωσης
  - η συγκέντρωση των μη συμπλοκοποιημένων μορφών του γαλακτικού και του οξικού αντιστοιχεί στο 79% και στο 97%, αντίστοιχα, της συνολικής συγκέντρωσης ιόντων γαλακτικού και οξικού στο διάλυμα
  - τα ιόντα χαλκού συμπλοκοποιούνται σε σημαντικό ποσοστό με την προστιθέμενη οργανική ουσία, αφού η συγκέντρωση των συμπλόκων γαλακτικού-χαλκού αντιστοιχεί στο 84,3% ενώ η συγκέντρωση των συμπλόκων οξικού-χαλκού αντιστοιχεί στο 21,3%

<sup>39</sup> Στη βάση θερμοδυναμικών δεδομένων του λογισμικού δεν περιλαμβάνονται οι αντιδράσεις σχηματισμού συμπλόκων του δισθενούς σιδήρου με το γαλακτικό ιόν.

της συνολικής συγκέντρωσης χαλκού στο διάλυμα

- τα ιόντα ψευδαργύρου συμπλοκοποιούνται σε μικρότερο ποσοστό με την προστιθέμενη ουσία, με τα σύμπλοκα γαλακτικού-ψευδαργύρου να αντιστοιχούν στο 40,4% ενώ τα σύμπλοκα οξικού-ψευδαργύρου αντιστοιχούν στο 5,5% της συνολικής συγκέντρωσης ψευδαργύρου στο διάλυμα
- τα ιόντα νικελίου συμπεριφέρονται αντίστοιχα με τα ιόντα ψευδαργύρου, καθώς τα σύμπλοκα γαλακτικού-νικελίου αντιστοιχούν στο 39,4% και τα ιόντα οξικού-νικελίου στο 4,7% της συνολικής συγκέντρωσης νικελίου στο διάλυμα

#### 4.3.3. Καταβύθιση θειούχων ενώσεων σιδήρου, ψευδαργύρου, νικελίου και χαλκού

Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η καταβύθιση θειούχων ενώσεων των υπό εξέταση μετάλλων στις συνθήκες λειτουργίας ( $\text{pH} = 6,5-7,5$  και  $E_h = -250(-300) \text{ mV}$ ) των θειοαναγωγικών αντιδραστήρων της παρούσας διατριβής, εφαρμόστηκε το λογισμικό Hydra-Medusa (Puigdomenech, 2009) με τις εξής παραδοχές:

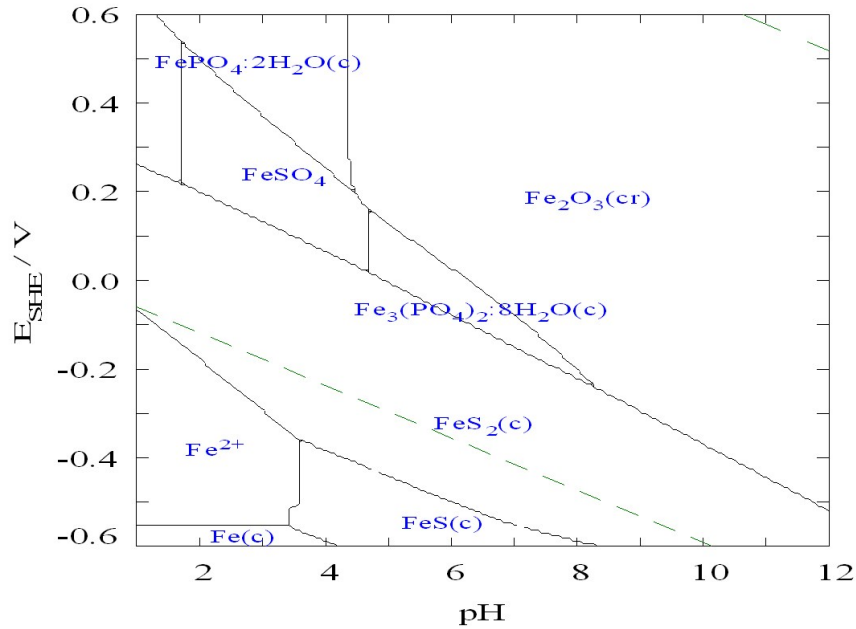
- Τέλεια οξείδωση της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων όταν αυτή προστίθεται σε περίσσεια 58% σε σχέση με τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη (Πίνακας 4.8)
- Αρχική συγκέντρωση δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου: 100 mg/L
- Αλληλεπίδραση καθενός μεταλλοκατιόντος χωριστά με
  - θειικά ιόντα αρχικής συγκέντρωσης 18,62 mM,
  - ανθρακικά ιόντα συγκέντρωσης 60 mM (που αντιστοιχούν στην τέλεια οξείδωση 20 mM γαλακτικού ιόντος),
  - φωσφορικά ιόντα συγκέντρωσης 2,87 mM και
  - αμμωνιακά ιόντα συγκέντρωσης 18,87 mM
- Θερμοκρασία: 25 °C

Από τα παραγόμενα διαγράμματα  $E_h$ - $\text{pH}$ , προκύπτει ότι, στην περιοχική ενδιαφέροντος ( $\text{pH} = 6,5-7,5$  και  $E_h = -250(-300) \text{ mV}$ ),

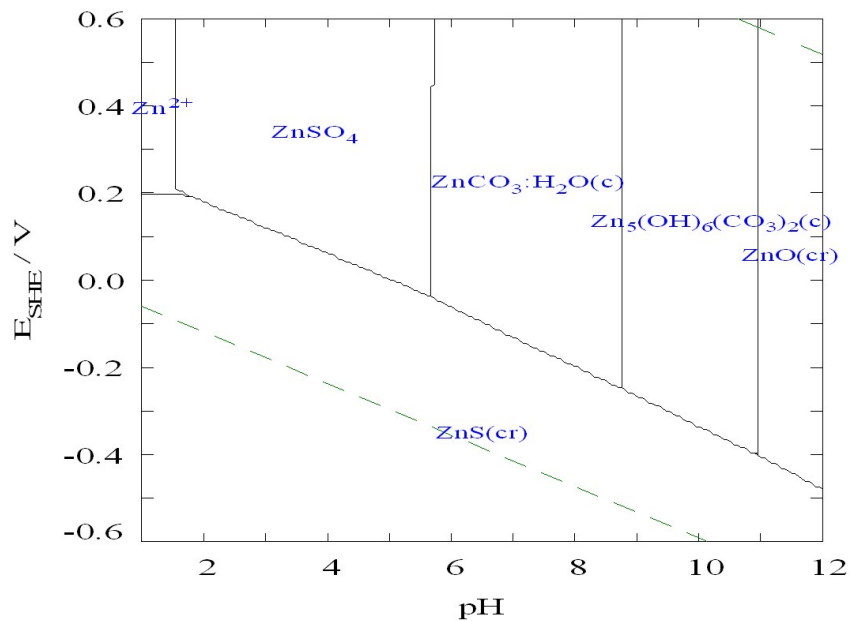
- ο δισθενής σίδηρος (Σχήμα 4.6) σχηματίζει κυρίως  $\text{FeS}_2$ . Σε λιγότερο αναγωγικές συνθήκες (όταν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό αυξηθεί και υπερβεί την τιμή -120 mV σε  $\text{pH} = 6,5$  ή την τιμή -180 mV σε  $\text{pH} = 7,5$ ), αρχίζουν να επικρατούν τα φωσφορικά άλατα του σιδήρου.
- ο ψευδάργυρος (Σχήμα 4.7) είναι κυρίως σε μορφή  $\text{ZnS}$ . Σε λιγότερο αναγωγικές συνθήκες (όταν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό αυξηθεί και υπερβεί την τιμή -100 mV σε  $\text{pH} = 6,5$  ή την τιμή -170 mV σε  $\text{pH} = 7,5$ ), αρχίζουν να επικρατούν τα ανθρακικά άλατα του ψευδαργύρου.
- το νικέλιο (Σχήμα 4.8) απαντάται κυρίως ως  $\text{NiS}$ . Σε λιγότερο αναγωγικές συνθήκες (όταν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό αυξηθεί και υπερβεί την τιμή -120 mV σε  $\text{pH} = 6,5$  ή την

τιμή  $-180 \text{ mV}$  σε  $\text{pH} = 7,5$ ), αρχίζουν να επικρατούν τα ανθρακικά άλατα του νικελίου.

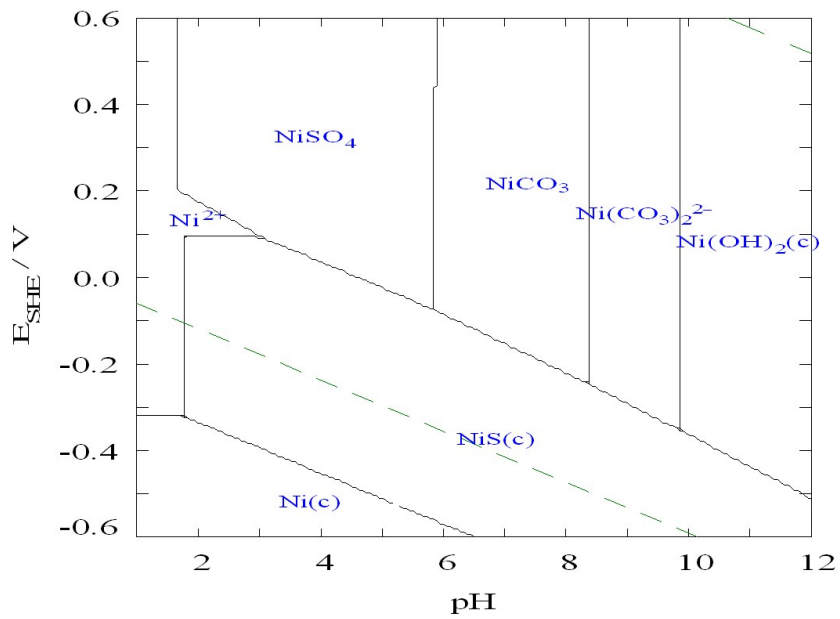
- ο χαλκός (Σχήμα 4.9) απαντάται κυρίως ως  $\text{CuS}$ . Σε λιγότερο αναγωγικές συνθήκες, αλλάζει η αναλογία ατόμων  $\text{Cu}:\text{S}$  στο μόριο της θειούχου ένωσης ενώ, όταν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό αυξηθεί και υπερβεί την τιμή  $-30 \text{ mV}$  σε  $\text{pH} = 6,5$  ή την τιμή  $-110 \text{ mV}$  σε  $\text{pH} = 7,5$ , αρχίζει να επικρατεί ο στοιχειακός χαλκός.



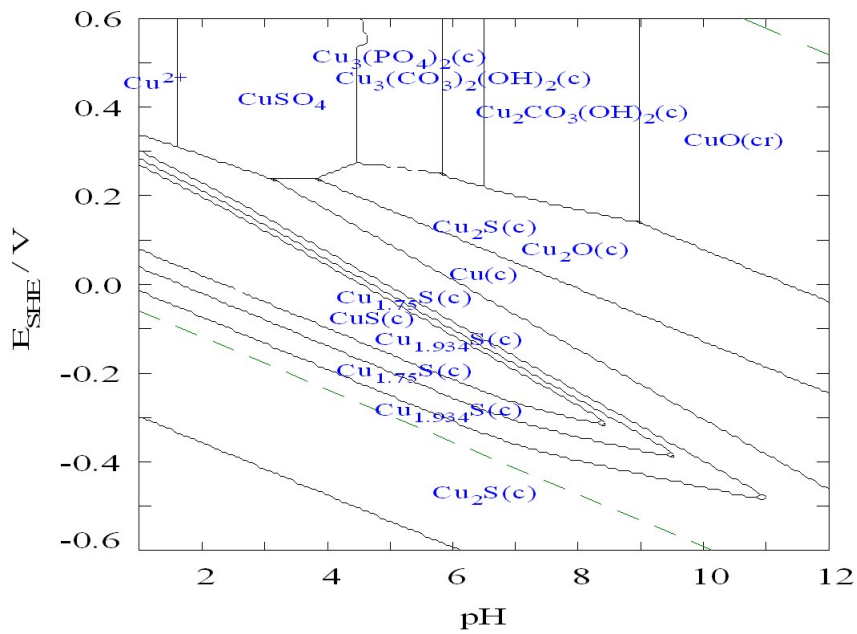
Σχήμα 4.6. Διάγραμμα  $E_h$ - $\text{pH}$  για τις επικρατούσες φάσεις σιδήρου στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα



Σχήμα 4.7. Διάγραμμα  $E_h$ - $\text{pH}$  για τις επικρατούσες φάσεις ψευδαργύρου στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα



Σχήμα 4.8. Διάγραμμα  $E_h$ -pH για τις επικρατούσες φάσεις νικελίου στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα



Σχήμα 4.9. Διάγραμμα  $E_h$ -pH για τις επικρατούσες φάσεις χαλκού στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα



#### 4.3.4. Ισοζύγια μάζας μετάλλων, θείου και άνθρακα - σχετικές παραδοχές

##### Μέταλλα

Προκειμένου να διερευνηθεί η απόδοση της διεργασίας ως προς την απομάκρυνση των μετάλλων από υδατικό διάλυμα, προσδιορίστηκε αναλυτικά η συγκέντρωση των μετάλλων στην υγρή φάση στα σημεία εισόδου και εξόδου του αντιδραστήρα, καθώς και στις διαθέσιμες ενδιάμεσες θέσεις δειγματοληψίας, μετά από διήθηση<sup>40</sup> (ενότητα 4.4.1).

Με την παραδοχή ότι, στις συνθήκες λειτουργίας του αντιδραστήρα, το μέταλλο που απομακρύνεται από το διάλυμα καταβυθίζεται με τη μορφή καθαρής θειούχου ένωσης τυπικής στοιχειομετρίας (αντίδραση (2.35)), υπολογίζεται η ελάχιστη απαιτούμενη συγκέντρωση θειούχων ιόντων για την ποσοτική καταβύθιση δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου ως  $\text{FeS}_2$ ,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{CuS}$  και  $\text{NiS}$  (ενότητα 4.3.3).

##### Θείο

Με τον αναλυτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης των θειικών ιόντων στην είσοδο και την έξοδο του αντιδραστήρα (ενότητα 4.4.2), υπολογίζεται η απόδοση της διεργασίας ως προς την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας.

Η συγκέντρωση των παραγόμενων θειούχων ιόντων μπορεί να υπολογιστεί θεωρητικά καθώς ισούται με το 1/3 της διαφοράς αρχικής-τελικής συγκέντρωσης των θειικών ιόντων (El Bayoumy *et al.*, 1999a), ενώ η κατανομή τους μεταξύ υδρόθειου και όξινων θειούχων προσδιορίζεται από το Σχήμα 2.5 για το pH λειτουργίας του αντιδραστήρα. Τα θειούχα που σχηματίζονται κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων

- απομακρύνονται από την υδατική φάση κατά την καταβύθιση των διαλυτών μετάλλων σε ποσοστό που υπολογίζεται θεωρητικά από τη στοιχειομετρική αντίδραση (2.35) για την προσδιοριζόμενη μείωση της συγκέντρωσης των ιόντων των μετάλλων (όπως παραπάνω)
- παραμένουν διαλυτά και απομακρύνονται με το ρεύμα εξόδου του αντιδραστήρα ή εκλύονται στην ατμόσφαιρα ως υδρόθειο, εφόσον παράγονται σε περίσσεια
- οξειδώνονται προς στοιχειακό θείο, στην περίπτωση που το σύστημα δεν είναι εντελώς ανοξικό και υπάρχουν ίχνη ατμοσφαιρικού αέρα (Greben *et al.*, 2000)

##### Άνθρακας

Με τον αναλυτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ολικού οργανικού άνθρακα στην είσοδο και την έξοδο του αντιδραστήρα (ενότητα 4.4.3), υπολογίζεται η απόδοση της διεργασίας ως προς την αποικοδόμηση της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων που προστίθεται στο διάλυμα τροφοδοσίας του αντιδραστήρα ως γαλακτικό ιόν, αιθανόλη ή οξικό ιόν.

Με την παραδοχή ότι ο παρεχόμενος οργανικός άνθρακας αποικοδομείται αποκλειστικά

---

<sup>40</sup> Με την πρακτική αυτή (διήθηση), υπάρχει πιθανότητα υπερεκτίμησης της συγκέντρωσης των υδατοδιαλυτών ειδών των μετάλλων εφόσον, λόγω των συνθηκών λειτουργίας του αντιδραστήρα, σχηματίζονται λεπτομερή σωματίδια με μέγεθος μικρότερο από τη διάμετρο του πόρου του χρησιμοποιούμενου φίλτρου (Lewis, 2010).

μέσω των αντιδράσεων αναγωγής των θειικών ιόντων του διαλύματος και θεωρώντας γνωστές τις μεταβολικές οδούς που ακολουθεί ο θειοαναγωγικός πληθυσμός της κλίνης, με τον αναλυτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης του αρχικού θρεπτικού υποστρώματος και των μεταβολιτών (ενότητα 4.4.4), επιχειρείται ο πειραματικός υπολογισμός της γραμμομοριακής αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων.

Όπου απαιτείται ο υπολογισμός του ποσοστού οργανικού άνθρακα που καταναλώνεται σε διαδικασίες ανάπτυξης και συντήρησης του κυτταρικού υλικού, λαμβάνονται σχετικά δεδομένα από τη βιβλιογραφία. Έτσι, για τη σύνθεση κυτταρικού υλικού, θεωρείται ότι

- το γαλακτικό αφομοιώνεται κατά 11% και το οξικό κατά 9% (Rabus *et al.*, 2007)
- στην περίπτωση του είδους *Desulfobacter postgatei*, καταναλώνεται το 12,5% του προστιθέμενου οργανικού άνθρακα με τη μορφή αιθανόλης (Laanbroek *et al.*, 1984)

#### 4.4. Μέθοδοι προσδιορισμού παραμέτρων στην υγρή φάση

Για την παρακολούθηση των παραμέτρων στην υγρή φάση των αντιδραστών που μελετήθηκαν, εφαρμόστηκε πρωτόκολλο συστηματικής δειγματοληψίας αφού διαπιστώθηκε η ανάπτυξη και η σταθεροποίηση της μικροβιακής καλλιέργειας.

Το pH του διαλύματος προσδιοριζόταν στα υγρά δείγματα ως είχαν σε βαθμονομημένο pH-μετρο (sensION™ με ηλεκτρόδιο 51910, Hach) με ρυθμιστικά διαλύματα (Hach) σε pH=4 και pH=7. Στη συνέχεια, και πριν από κάθε άλλη χημική ανάλυση, γινόταν διήθηση των δειγμάτων υπό κενό μέσω στειρών μεμβρανών μεγέθους πόρου 0,45 μm (Whatman) προς απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών.

Οι χημικές αναλύσεις, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται αναλυτικά στις επόμενες ενότητες, είχαν ως σκοπό τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ιόντων μετάλλων, των θειικών ιόντων, του ολικού οργανικού άνθρακα (TOC), των οξικών ιόντων και της αιθανόλης.

##### 4.4.1. Συγκέντρωση ιόντων μετάλλων

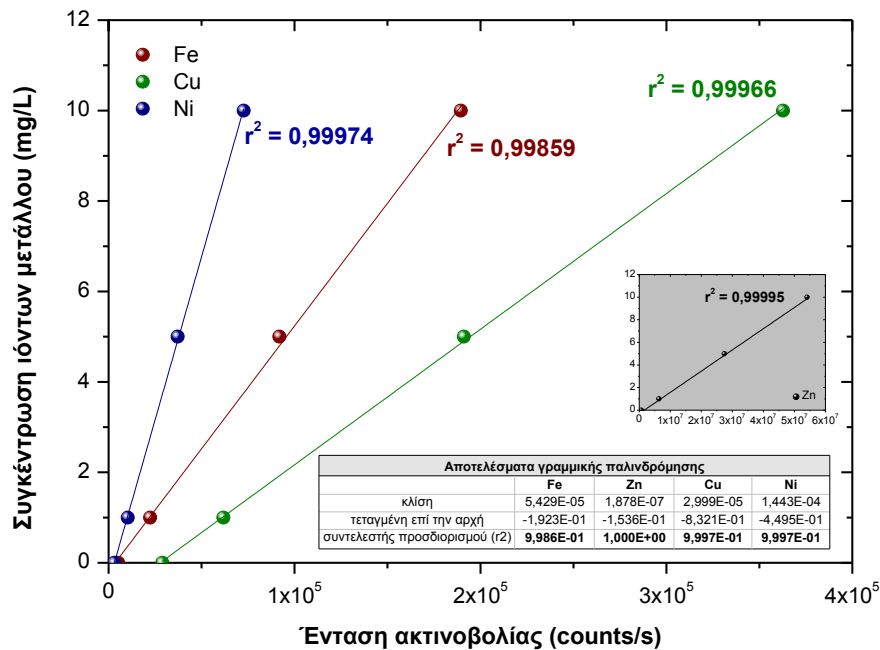
Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ιόντων των μετάλλων, εφαρμόστηκε φασματομετρική τεχνική ατομικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP, Πίνακας 4.10), που βασίζεται στην εισαγωγή του δείγματος, σε εκνεφωμένη μορφή, σε πλάσμα αργού θερμοκρασίας 7.000-9.000 K, με αποτέλεσμα τη διέγερση και τον ιονισμό των ατόμων με ταυτόχρονη έκλυση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μήκους κύματος χαρακτηριστικού του κάθε είδους (Hill *et al.*, 2007).

Για τη χημική ανάλυση με ICP, τα δείγματα, αμέσως μετά τη διήθηση, οξινίζονταν με HNO<sub>3</sub> αναλυτικής καθαρότητας και φυλάσσονταν σε θερμοκρασία 4 °C και, πριν τον τελικό προσδιορισμό, αφήνονταν να προσαρμοστούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (APHA *et al.*, 1998).

Το όργανο βαθμονομήθηκε με σειρά πρότυπων διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν από ειδικό πολυστοιχειακό πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 1.000 mg/L σε κάθε μέταλλο (CertiPUR®, Merck) μετά από κατάλληλες αραιώσεις με υπερκάθαρο νερό 18 ΜΩ (Purelab UHQ, Elga). Οι καμπύλες αναφοράς (Σχήμα 4.10) ενημερώνονταν πριν από κάθε σειρά αναλύσεων για τα ιόντα ενδιαφέροντος.

Πίνακας 4.10. Παράμετροι μεθόδου προσδιορισμού της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων με ICP

Φασματόμετρο ICP	Direct Reading Echelle, Leeman Labs
Ισχύς γεννήτριας	1 kW
Παροχή αερίου αργού πλάσματος	15 L/min
Πίεση αερίου εκνεφωτή	20 psi
Παροχή δείγματος	1,3 mL/min
Διάρκεια εισαγωγής δείγματος	40 s
Διάρκεια έκπλυσης	20 s
Αριθμός ολοκληρώσεων	5
Διάρκεια ολοκλήρωσης	0,5 s
Φασματικές γραμμές στοιχείων	Fe: 259,940 nm Zn: 213,856 nm Cu: 324,754 nm Ni: 231,604 nm
Όριο ανίχνευσης οργάνου/μεθόδου	Fe,Zn,Cu,Ni < 0,2 mg/L



Σχήμα 4.10. Τυπικές καμπύλες βαθμονόμησης μεθόδου ICP

#### 4.4.2. Συγκέντρωση θειικών ιόντων

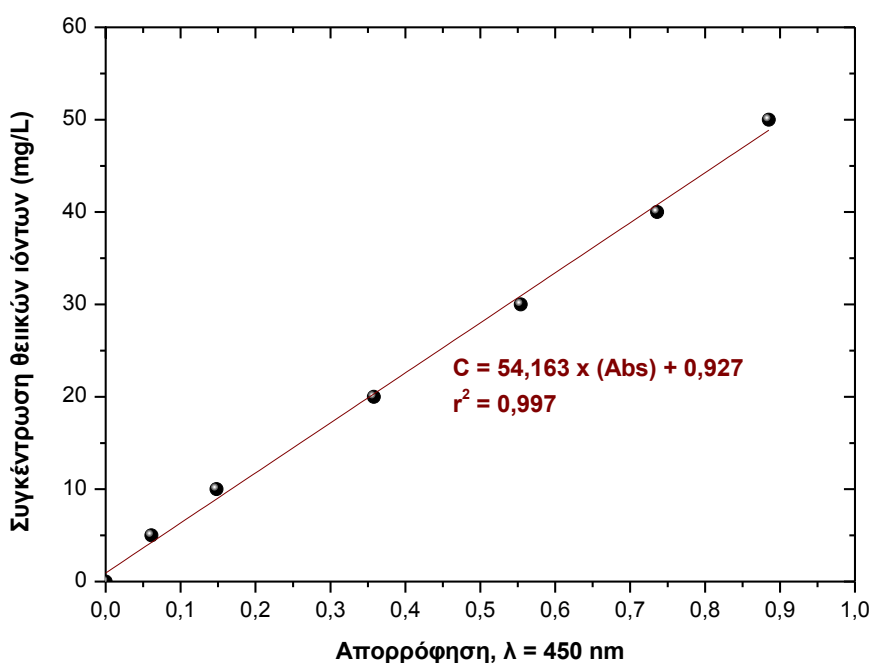
Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των θειικών ιόντων, εφαρμόστηκε θολοσιμετρική μέθοδος σε φασματοφωτόμετρο ορατού (Πίνακας 4.11), η οποία βασίζεται στη μείωση της έντασης της διερχόμενης ακτινοβολίας μέσω θολερού διαλύματος και στο σχηματισμό θολερότητας λόγω της κατακρήμνισης  $\text{BaSO}_4$  μετά την προσθήκη  $\text{BaCl}_2$  στο διάλυμα προς μέτρηση. Εφόσον η σχηματιζόμενη θολερότητα είναι ανάλογη της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στο διάλυμα, η μέθοδος περιλαμβάνει τη μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας μήκους κύματος 450 nm και την αντιστοίχιση της ένδειξης σε τιμές συγκέντρωσης με βάση την καμπύλη αναφοράς (APHA *et al.*, 1998; HachCompany, 1992b). Η ακρίβεια της μεθόδου στη μέτρηση 50 mg/L  $\text{SO}_4^{2-}$  είναι  $\pm 0,9$  mg/L  $\text{SO}_4^{2-}$  (HachCompany, 1992b).

Το φασματοφωτόμετρο βαθμονομήθηκε στην περιοχή 0-50 mg/L με σειρά διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν από πρότυπο διάλυμα  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης 100 mg/L μετά από κατάλληλες αραιώσεις με υπερκάθαρο νερό 18 ΜΩ (Purelab UHQ, Elga). Η καμπύλη αναφοράς (Σχήμα 4.11) ενημερωνόταν κάθε 1 μήνα.

Τα δείγματα αναλύονταν αμέσως μετά τη διήθηση και αφού αραιώνονταν στην περιοχή βαθμονόμησης της μεθόδου (0-50 mg/L) με υπερκάθαρο νερό 18 ΜΩ (Purelab UHQ, Elga).

Πίνακας 4.11. Παράμετροι θολοσιμετρικής μεθόδου μέτρησης της συγκέντρωσης θειικών ιόντων

Φασματοφωτόμετρο	DR/2000, Hach
Μήκος κύματος ακτινοβολίας	450 nm
Οπτική διαδρομή	2,5 cm
Όγκος κυψελίδας	25 mL

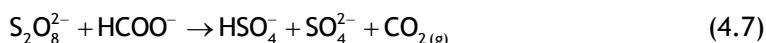


Σχήμα 4.11. Τυπική καμπύλη βαθμονόμησης μεθόδου προσδιορισμού της συγκέντρωσης θειικών ιόντων

#### 4.4.3. Συγκέντρωση ολικού οργανικού άνθρακα

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ολικού οργανικού άνθρακα (TOC), εφαρμόστηκε χρωματομετρική μέθοδος σε φασματοφωτόμετρο ορατού (DR/2500, Hach), η οποία βασίζεται στη μεταβολή του χρώματος ενός δείκτη pH μετά την οξειδωση του περιεχόμενου οξειδώσιμου άνθρακα προς διοξείδιο του άνθρακα (HachCompany, 2003).

Μετά την απομάκρυνση των διαλελυμένων ανθρακικών σε pH=2, η οξειδωση του οργανικού άνθρακα λαμβάνει χώρα στους 103-105 °C για 2 ώρες, σύμφωνα με την αντίδραση (4.7). Το παραγόμενο διοξείδιο του άνθρακα διαχέεται και εγκλωβίζεται σε υδατικό διάλυμα που περιέχει δείκτη pH, σχηματίζοντας ανθρακικό οξύ (αντίδραση (4.8)). Λόγω της μεταβολής του pH, αλλάζει το χρώμα του δείκτη. Η συγκέντρωση του άνθρακα είναι ανάλογη της μεταβολής του χρώματος του δείκτη που μετράται σε μήκος κύματος 598 nm και 430 nm. Η ακρίβεια της μεθόδου στη μέτρηση 10 mg/L C είναι ±0,7 mg/L C (HachCompany, 2003).



Τα δείγματα αναλύονταν αμέσως μετά τη διήθηση και αφού αραιώνονταν στην περιοχή βαθμονόμησης της μεθόδου (0,3-20 mg/L C) με υπερκάρθαρο νερό 18 MΩ (Purelab UHQ, Elga).

#### 4.4.4. Συγκέντρωση οξικών ιόντων, αιθανόλης και γαλακτικών ιόντων

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των οξικών ιόντων και της αιθανόλης, εφαρμόστηκε χρωματογραφική τεχνική με αέρια κινητή φάση (GC), η οποία βασίζεται στο διαχωρισμό των διαλελυμένων ουσιών, ανάλογα με την τάση ατμών και τη συγγενείά τους με τη στατική φάση, και την καύση τους σε φλόγα αέρα-H<sub>2</sub>. Στη συνέχεια, στην περίπτωση ανιχνευτή FID, τα προϊόντα της καύσης ιονίζονται και, υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, δημιουργούν ηλεκτρικό ρεύμα μικρής έντασης το οποίο καταγράφεται. Το παραγόμενο ρεύμα είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της διαλελυμένης ουσίας (McNair *et al.*, 2009).

Για την ανάλυση υδατικών διαλυμάτων οξικού και αιθανόλης, διαμορφώθηκε σύστημα GC (Πίνακας 4.12) και αναπτύχθηκε μέθοδος προσδιορισμού κατάλληλη για υδατικά διαλύματα πτητικών λιπαρών οξέων. Η παροχή του φέροντος αερίου (αζώτου) ρυθμίστηκε στα 2,5 mL/min στους 70 °C και επιλέχθηκε να παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του θερμοκρασιακού προγράμματος της ανάλυσης (θερμοκρασία φούρνου: 70 °C για 2 min, αύξηση της θερμοκρασίας έως 170 °C με ρυθμό 20 °C/min και διατήρηση της θερμοκρασίας στους 170 °C για 1 min). Η θερμοκρασία εισόδου του δείγματος ρυθμίστηκε στους 250 °C ενώ η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν 300 °C. Ο όγκος του εισαγόμενου δείγματος ήταν 1 μL με λόγο διαχωρισμού 30:1 (Kaksonen *et al.*, 2003a; Sahinkaya *et al.*, 2007a; Zhang *et al.*, 2009).

Πίνακας 4.12. Διαμόρφωση συστήματος GC για την ανάλυση υδατικών διαλυμάτων οξικών ιόντων και αιθανόλης

Χρωματογραφικό σύστημα GC	HP5890 II	
Ανιχνευτής	τύπου ιοντισμού φλόγας (FID)	
Χρωματογραφική στήλη	πολική τριχοειδής στήλη πολυαιθυλενογλυκόλης (DB-FFAP, Agilent)	
	μήκος	30 m
	εσωτ. διάμετρος	0,32 mm
	πάχος επίστρωσης	0,25 μm

Για τη βαθμονόμηση της μεθόδου, εφαρμόστηκε η μέθοδος του εσωτερικού προτύπου που χρησιμοποιείται ευρέως στις χρωματογραφικές μεθόδους λόγω του εξαιρετικά μικρού όγκου του εισαγόμενου δείγματος. Για το σκοπό αυτό, προσδιορίζεται η σχετική απόκριση του ανιχνευτή σε διάλυμα γνωστών συγκεντρώσεων αναλύτη και εσωτερικού προτύπου ως εξής (Harris, 2007):

$$\frac{A_{\text{αναλύτη}}}{C_{\text{αναλύτη}}} = F \left( \frac{A_{\text{εσωτ. προτύπου}}}{C_{\text{εσωτ. προτύπου}}} \right) \quad (4.9)$$

όπου F ο παράγοντας απόκρισης, C η συγκέντρωση του είδους που εισάγεται στη στήλη και A το εμβαδόν της επιφάνειας κάτω από την αντίστοιχη κορυφή του χρωματογραφήματος, η οποία είναι ανάλογη της συγκέντρωσης C.

Συγκεκριμένα, για τη βαθμονόμηση της μεθόδου προσδιορισμού της συγκέντρωσης οξικών ιόντων και αιθανόλης, χρησιμοποιήθηκε προπιονικό οξύ και προπανόλη, αντίστοιχα, ως εσωτερικό πρότυπο. Το πρότυπο διάλυμα που παρασκευάστηκε για τον προσδιορισμό του παράγοντα απόκρισης περιείχε 100 mg/L οξικό και προπιονικό οξύ καθώς και 60 mg/L αιθανόλη και προπανόλη. Στην περίπτωση αυτή, η σχέση (4.9) γίνεται

$$F = \frac{A_{\text{αναλύτη}}}{A_{\text{εσωτ. προτύπου}}} \quad (4.10)$$

όπου [αναλύτης] το οξικό οξύ και η αιθανόλη και [εσωτ. πρότυπο] το προπιονικό οξύ και η προπανόλη, αντίστοιχα. Ο παράγοντας απόκρισης προσδιοριζόταν πριν από κάθε σειρά αναλύσεων δειγμάτων ως μέσος όρος από 10 επαναληπτικές αναλύσεις του πρότυπου διαλύματος.

Τα δείγματα αναλύονταν αμέσως μετά τη διήθηση και αφού αραιώνονταν στην περιοχική βαθμονόμησης της μεθόδου με υπερκάθαρο νερό 18 MΩ (Purelab UHQ, Elga) με την προσθήκη του εσωτερικού προτύπου σε συγκέντρωση 100 mg/L για το προπιονικό οξύ και 60 mg/L για την προπανόλη. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των οξικών ιόντων και της αιθανόλης στα δείγματα, εφαρμόστηκε η σχέση (4.9) μετά την εμβαδομέτρηση των κορυφών των αντίστοιχων χρωματογραφήματων.

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των γαλακτικών ιόντων, εφαρμόστηκε αφαίρεση του ισοδύναμου TOC της συγκέντρωσης οξικού από τη συγκέντρωση TOC του κάθε δείγματος και αναγωγή του αποτελέσματος σε mg/L ισοδύναμης συγκέντρωσης γαλακτικών ιόντων.

## 4.5. Μέθοδοι χαρακτηρισμού στερεών κατακρημνισμάτων

Για το χημικό, ορυκτολογικό και μορφολογικό χαρακτηρισμό των στερεών κατακρημνισμάτων, λαμβάνονταν δείγματα ιλύος σε επιλεγμένα στάδια των πειραματικών κύκλων, τα οποία ξηραίνονταν σε συνθήκες περιβάλλοντος και λειοτριβούνταν.

### 4.5.1. Χημική ανάλυση δειγμάτων ιλύος

Πριν κάθε χημικό προσδιορισμό, τα δείγματα ιλύος ξηραίνονταν στους 105 °C για 24 ώρες. Για τον προσδιορισμό των πτητικών αιωρούμενων στερεών στα κατακρημνίσματα, γινόταν πύρωση των δειγμάτων στους 550 °C για 2 ώρες και τα δείγματα αφήνονταν έπειτα να κρυώσουν σε ξηραντήρα. Η διαδικασία επαναλαμβανόταν μέχρι σταθερού βάρους. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης μετάλλων στην ιλύ, εφαρμόστηκε όξινη χώνευση με 10 mL υπερκάθαρο HNO<sub>3</sub> 65% (Merck) και, στη συνέχεια, ανάλυση με φασματομετρική μέθοδο ICP (ενότητα 4.4.1) (ARHA *et al.*, 1998).

Οι προσδιορισμοί εκτελούνταν εις τριπλούν. Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων πτητικών αιωρούμενων στερεών και συγκέντρωσης μετάλλων προέκυψε ικανοποιητική επαναληψιμότητα με απόκλιση μικρότερη από 5%.

### 4.5.2. Ορυκτολογική ανάλυση δειγμάτων ιλύος

Για τον ορυκτολογικό χαρακτηρισμό των κονιορτοποιημένων και ομογενοποιημένων δειγμάτων ιλύος, εφαρμόστηκε μέθοδος περίθλασης ακτινών Χ (XRD, Πίνακας 4.13), η οποία βασίζεται στο φαινόμενο της περίθλασης μονοχρωματικής ακτινοβολίας ακτινών Χ, γνωστού μήκους κύματος λ, πάνω στα επίπεδα του κρυσταλλικού πλέγματος του εξεταζόμενου υλικού και στον προσδιορισμό των διαστημάτων d των κρυσταλλικών επιπέδων, μέσω του προσδιορισμού της γωνίας πρόσπτωσης θ της ακτινοβολίας Χ, σύμφωνα με το νόμο του Bragg (εξίσωση (4.11), Σχήμα 4.12).

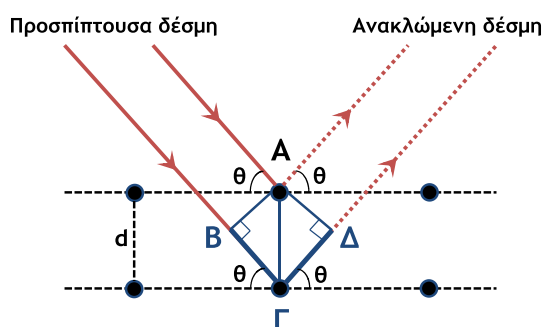
$$n \times \lambda = 2 \times d \times \sin \theta \quad (4.11)$$

όπου n η τάξη της περίθλασης (n=1,2,3...), λ το μήκος κύματος των ακτινών Χ, d η πλεγματική απόσταση και θ η γωνία πρόσπτωσης.

Οι κύριες κορυφές των ακτινοδιαγραμμάτων (διαγράμματα σχετικής έντασης συναρτήσει της γωνίας 2θ) αναγνωρίστηκαν από βάση δεδομένων κρυσταλλικής δομής με ακτινοδιαγράμματα αναφοράς (Crystallography Open Database, COD (Grazulis *et al.*, 2009)).

Πίνακας 4.13. Διαμόρφωση συστήματος XRD και παράμετροι μεθόδου ορυκτολογικής ανάλυσης δειγμάτων ιλύος

Περιθλασίμετρο ακτινών Χ	D8 Focus, Bruker
Πηγή ακτινών Χ	Καθοδικός σωλήνας Cu (ακτινοβολία $K\alpha$ , $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ )
Φίλτρο	Ni
Ταχύτητα γωνιόμετρου	0,02°/s
Γωνία 2θ	5° - 70°



Σχήμα 4.12. Γεωμετρική απεικόνιση του Νόμου του Bragg

Οι ακτίνες της προσπίπτουσας δέσμης είναι συνεχώς σε φάση και παράλληλες μέχρι του σημείου όπου η πρώτη χτυπά στο πάνω επίπεδο (άτομο Α) και η δεύτερη ακτίνα συνεχίζει στο επόμενο στρώμα όπου ανακλάται από το άτομο Γ. Δεδομένου ότι η γωνία πρόσπτωσης ισούται με τη γωνία ανάκλασης, η δεύτερη ακτίνα πρέπει να διανύσει την επιπλέον απόσταση (ΒΓ+ΓΔ) προκειμένου να παραμείνουν σε φάση και παράλληλες οι ακτίνες της δέσμης. Η απόσταση αυτή είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος  $\lambda$ . Από την τριγωνομετρία του σχήματος, προκύπτει ότι  $B\hat{A}G = \Gamma\hat{A}D = \theta$  και  $B\Gamma = \Gamma\Delta = d \sin \theta$ . Επομένως,  $n\lambda = 2d \sin \theta$  όπου  $n$  ακέραιος αριθμός<sup>41</sup>.

#### 4.5.3. Μορφολογικός χαρακτηρισμός δειγμάτων ιλύος

Για τη μελέτη της μορφολογίας των στερεών κατακρημισμάτων χρησιμοποιήθηκε σύστημα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM), του οποίου η λειτουργία βασίζεται στην αλληλεπίδραση του δείγματος με μια καλά εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων (Σχήμα 4.13) που σαρώνει την επιφάνειά του. Η ένταση των ηλεκτρονίων<sup>42</sup> που εκπέμπονται από τα άτομα των

<sup>41</sup> Πηγή: Schields, P.J. (2010). Bragg's Law and Diffraction: How waves reveal the atomic structure of crystals. Center for High Pressure Research, Department of Earth & Space Sciences, State University of New York at Stony Brook. <http://www.eserc.stonybrook.edu/ProjectJava/Bragg/>

<sup>42</sup> Όταν τα ηλεκτρόνια της δέσμης φθάσουν στην επιφάνεια του δείγματος, διεισδύουν σε βάθος που εξαρτάται από τον ατομικό αριθμό και ταξιδεύουν προς τυχαίες κατευθύνσεις μέσα στο δείγμα. Κατά την ελαστική σύγκρουσή τους με τον πυρήνα του ατόμου, σκεδάζονται προς οποιαδήποτε κατεύθυνση χωρίς σημαντική απώλεια της ενέργειάς τους (διατηρούν το 50-80% της αρχικής ενέργειας). Τα ηλεκτρόνια που σκεδάζονται προς τα πίσω με γωνία 180° λέγονται οπισθοσκεδαζόμενα (backscattered electrons, BSE), έχουν μεγαλύτερη ενέργεια και εκπέμπονται από μεγαλύτερο βάθος από το δείγμα. Το ποσοστό των ηλεκτρονίων που εκπέμπονται οπισθοσκεδαζόμενα, εξαρτάται από τον ατομικό αριθμό των ατόμων του δείγματος. Επομένως, η αλλαγή του ποσοστού των BSE δίνει διαφοροποίηση στην εικόνα ανάλογα με τον ατομικό αριθμό, με αποτέλεσμα οι βαρύτερες φάσεις να φαίνονται λαμπρότερες από τις ελαφρύτερες.

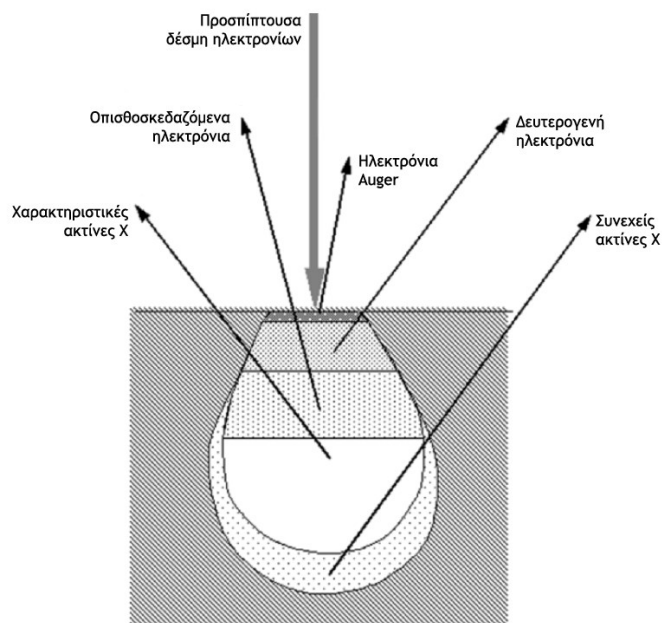
Κατά τη σύγκρουση των ηλεκτρονίων της δέσμης με τα ηλεκτρόνια του ατόμου, τα χαλαρά συγκρατούμενα ηλεκτρόνια που εγκαταλείπουν το άτομο ονομάζονται δευτερογενή ηλεκτρόνια (secondary electrons, SEI). Πρόκειται για ηλεκτρόνια χαμηλής ενέργειας που εκπέμπονται κοντά στην επιφάνεια του δείγματος αφού όσα εκπέμπονται από μεγαλύτερο βάθος απορροφούνται εύκολα από τη μάζα του δείγματος. Τα δευτερογενή ηλεκτρόνια παράγονται κυρίως καθώς η δέσμη εισέρχεται στην επιφάνεια και καθώς η οπισθοσκεδαζόμενη δέσμη εξέρχεται από την επιφάνεια. Έτσι, τα δευτερογενή ηλεκτρόνια είναι χρήσιμα για την απεικόνιση της επιφάνειας του δείγματος.



στοιχείων του ακτινοβολούμενου υλικού εξαρτάται από τις ιδιότητες της επιφάνειας ενώ με τη μέτρηση της ενέργειας των παραγόμενων χαρακτηριστικών ακτινών Χ (φασματομετρική μέθοδος ακτινών Χ διασπαρμένης ενέργειας, EDS) είναι δυνατή η χημική ανάλυση της εξεταζόμενης επιφάνειας (Goldstein *et al.*, 1992).

Η μορφολογία των στερεών κατακρημνισμάτων μελετήθηκε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης FEI Quanta 200 με ανιχνευτή LFD & ETD (κύκλος δοκιμών I) και JEOL JSM 6380-LV (κύκλοι δοκιμών II-IV) υπό κενό (15-30 kV) και λήφθηκαν εικόνες δευτερογενών ηλεκτρονίων υψηλής ευκρίνειας. Για την ημιποσοτική στοιχειακή μικροανάλυση των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκε σύστημα EDS (INCA Energy 250 της Oxford Instruments με ανιχνευτή υγρού αζώτου).

Τα κονιορτοποιημένα δείγματα εξετάστηκαν χωρίς επίστρωση αφού τοποθετήθηκαν στο δειγματοφόρο με ταινία διπλής επίστρωσης.



Σχήμα 4.13. Αλληλεπιδράσεις δέσμης-ηλεκτρονίων - δείγματος στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Zhou *et al.*, 2007)

#### 4.6. Μέθοδος χαρακτηρισμού βακτηριακού πληθυσμού

Ο χαρακτηρισμός του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης των αντιδραστών πραγματοποιήθηκε σε συνεργασία με εξειδικευμένο εργαστήριο βιοτεχνολογίας του Ινστιτούτου Γεωλογικών και Μεταλλευτικών Ερευνών της Γαλλίας (Bureau de Recherches Géologiques et Minières, BRGM)<sup>43</sup>, όπως περιγράφεται στις σχετικές δημοσιεύσεις (Kousi *et al.*, 2011a; Remoundaki *et al.*, 2008).

Για το σκοπό αυτό, εφαρμόστηκε τεχνική πρωτεϊνικού αποτυπώματος με ανάλυση του πολυμορφισμού διαμόρφωσης μονής αλυσίδας με ηλεκτροφόρηση τριχοειδούς (CE-SSCP, Capillary Electrophoresis Single Strand Conformational Polymorphism), μετά από εκκύλιση του DNA του δείγματος, ενίσχυση συγκεκριμένων γονιδίων 16S rRNA με χρήση κατάλληλων εκκινητών (*primers*, τεχνική αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης - PCR) και προετοιμασία μονόκλωνου DNA. Για την ανάλυση των προϊόντων ενίσχυσης (*amplicons*) της PCR, εφαρμόστηκε η τεχνική CE-SSCP που βασίζεται στην ηλεκτροφορητική κινητικότητα των προϊόντων ενίσχυσης σε μορφή μονής αλυσίδας (Hong *et al.*, 2007; Kourkine *et al.*, 2002).

Για την ταυτοποίηση των θειοαναγωγικών βακτηρίων, εφαρμόστηκε τεχνική PCR με κατάλληλους εκκινητές που στοχεύουν σε γονίδια με αναγωγή των θειωδών (*dsr*), χαρακτηριστικό ένζυμο των διαδικασιών μικροβιακής αναγωγής των θειικών ιόντων (ενότητα 2.1.2). Μετά από κατάλληλη επεξεργασία των προϊόντων ενίσχυσης της PCR και συσχέτιση των παραγόμενων ακολουθιών αμινοξέων με ακολουθίες αναφοράς του GenBank<sup>44</sup>, οι ακολουθίες των γονιδίων *dsr* εισάγονταν στο GenBank ώστε να λάβουν αριθμούς καταχώρισης.

Τα δείγματα που στάλθηκαν για μικροβιολογική ανάλυση συλλέγονταν από τις θύρες δειγματοληψίας και την έξοδο του αντιδραστήρα και διηθούνταν υπό κενό μέχρι όγκου διηθήματος 10 mL, υπό στείρες συνθήκες και μέσω στειρών μεμβρανών 0,22 μm. Οι ηθμοί φυλάσσονταν σε ασηπτικές συνθήκες μέχρι την ανάλυση.

---

<sup>43</sup> Οι εργασίες χαρακτηρισμού του βακτηριακού πληθυσμού εντάχθηκαν στο πλαίσιο συνεργασίας που αναπτύχθηκε μεταξύ του Εργαστηρίου και του BRGM κατά τη διάρκεια του έργου BioMinE (έργο χρηματοδοτούμενο από την ΕΕ με αρ. συμβολαίου NMP1-CT-500329-1 στο πλαίσιο του 6<sup>ου</sup> Προγράμματος-Πλαισίου για την Έρευνα και την Ανάπτυξη).

<sup>44</sup> Το GenBank® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) είναι βάση δεδομένων γονιδιακών ακολουθιών που παρέχεται από το Εθνικό Κέντρο Βιοτεχνολογίας των Η.Π.Α. (National Center for Biotechnology Information (NCBI), U.S. National Library of Medicine, USA - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

# 5

## Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών I

---

Στον πρώτο κύκλο δοκιμών<sup>45</sup> μελετήθηκε η απόδοση θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σταθερής κλίνης ανοδικής ροής, σε συνεχή λειτουργία, με γαλακτικό ιόν ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε συγκέντρωση υψηλότερη της στοιχειομετρικά απαιτούμενης κατά 58%. Τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών έδειξαν υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης σιδήρου και ψευδαργύρου (μέσω του εξωκυτταρικού σχηματισμού άμορφων θειούχων ενώσεων των μετάλλων), θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα, από τα πρώτα ακόμα εκατοστά της κλίνης του αντιδραστήρα, επιβεβαιώνοντας έτσι την καταλληλότητα του επιλεγμένου συστήματος αντιδραστήρα-πληρωτικού υλικού-μικροβιακού πληθυσμού για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων θειικών ιόντων με υψηλή συγκέντρωση μετάλλων.<sup>46</sup>

### 5.1. Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών

Στον πρώτο κύκλο δοκιμών (Σχήμα 4.1) μελετήθηκε η απόδοση θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, με ακινητοποιημένη βιομάζα σε συνεχή λειτουργία. Για το σκοπό αυτό, κατασκευάστηκε αντιδραστήρας (I, Πίνακας 4.2 και Σχήμα 4.2(i)) που πληρώθηκε με σωματίδια αδρανούς υλικού (A, Πίνακας 4.1 και Εικόνα 4.1(i)) για την ακινητοποίηση της βιομάζας.

Ο αντιδραστήρας εμβολιάστηκε με ιλύ από τη δεξαμενή αναερόβιας χώνευσης

---

<sup>45</sup> Στην πραγματοποίηση μέρους των πειραμάτων του πρώτου κύκλου δοκιμών της παρούσας διατριβής συμμετείχε ο κ. Άγγελος Φίλιππας, φοιτητής της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων - Μεταλλουργών, στο πλαίσιο της διπλωματικής του εργασίας που εκπονήθηκε στο Εργαστήριο κατά το ακαδημαϊκό έτος 2006-2007 (Φίλιππας, 2007).

<sup>46</sup> Τα αποτελέσματα αυτού του κύκλου δοκιμών συμπεριλήφθηκαν σε δύο εργασίες. Η μια από αυτές παρουσιάστηκε στο διεθνές συνέδριο International Biohydrometallurgy Symposium 2007 και συμπεριλήφθηκε στα πρακτικά του συνεδρίου που δημοσιεύθηκαν σε σχετικό τόμο του Advanced Materials Research (Kousi *et al.*, 2007). Η δεύτερη έγινε δεκτή για δημοσίευση, μετά από κρίση, στο επιστημονικό περιοδικό Journal of Hazardous Materials (Remoundaki *et al.*, 2008).

εγκατάστασης βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων (Μεταμόρφωση Αττικής, ενότητα 4.2.2, *Εμβόλιο και εγκατάσταση πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων*). Για τον εμπλουτισμό του εμβολίου και την εκλεκτική ανάπτυξη θειοαναγωγικού βακτηριακού πληθυσμού, χρησιμοποιήθηκε το βασικό θρεπτικό διάλυμα όπου κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων είναι το γαλακτικό ιόν (Πίνακας 4.5). Μετά την επιτυχή εγκατάσταση του ζητούμενου πληθυσμού, καταργήθηκε η τροφοδοσία παραγώγου κυττάρων ζύμης προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα προστιθέμενα οργανικά υποστρώματα.

Κατά τη λειτουργία του συστήματος, γινόταν συστηματική λήψη δειγμάτων από την είσοδο, την έξοδο και τις θύρες δειγματοληψίας του αντιδραστήρα. Στις ενότητες που ακολουθούν, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη συνεχή λειτουργία του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα για περίοδο 10 μηνών σε ελεγχόμενη θερμοκρασία δωματίου (-25 °C) και την παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος:

- στην είσοδο και έξοδο του αντιδραστήρα (ενότητα 5.2)
- καθ' ύψος του αντιδραστήρα κατά τη μεταβολή του ρυθμού φόρτισης των θειικών ιόντων (ενότητα 5.3)
- καθ' ύψος του αντιδραστήρα κατά τη μεταβολή του ρυθμού φόρτισης των ιόντων ψευδαργύρου (ενότητα 5.4)

Στο πλαίσιο αυτού του κύκλου δοκιμών και προκειμένου να επιβεβαιωθεί η διαδικασία, πραγματοποιήθηκε μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση των στερεών κατακρημνισμάτων (ενότητα 5.5) καθώς και χαρακτηρισμός του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης (ενότητα 5.6).

## **5.2. Διερεύνηση της επίδρασης των συνθηκών λειτουργίας στην απόδοση του συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα**

Από τη συστηματική παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος κατά τη 10-μηνη συνεχή λειτουργία του Αντιδραστήρα Ι, προέκυψαν αντίστοιχες χρονοσειρές δεδομένων pH, συγκέντρωσης θειικών ιόντων και συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα για το αρχικό διάλυμα τροφοδοσίας και το τελικό επεξεργασμένο διάλυμα.

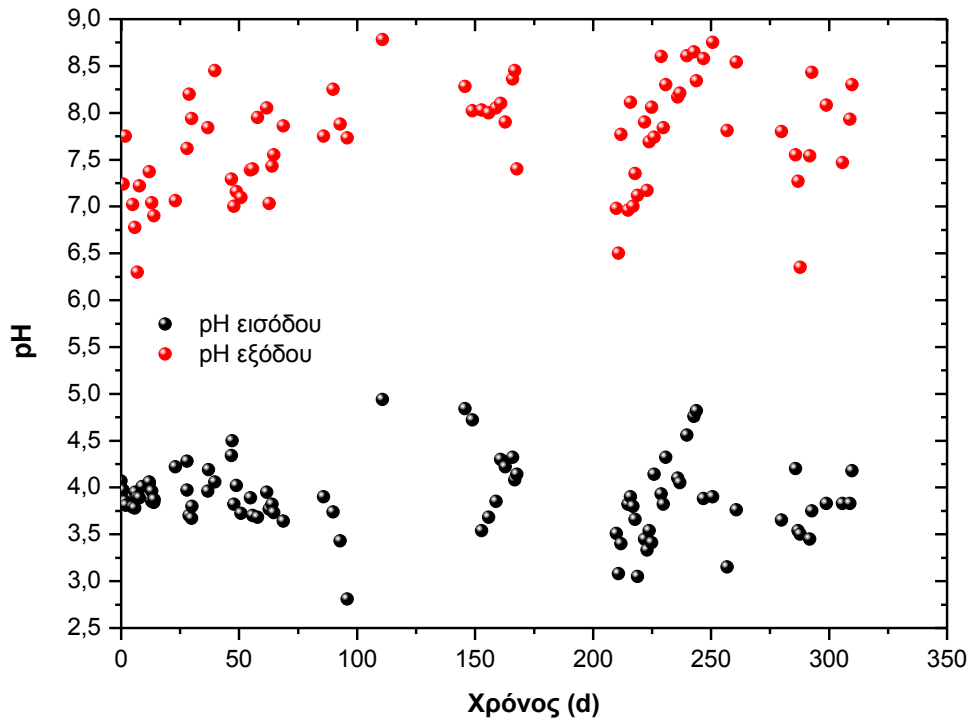
Το pH, που ρυθμιζόταν αρχικά στην περιοχή 3-5 στο διάλυμα τροφοδοσίας, προσέγγιζε πάντα τιμές μεταξύ 6,3 και 8,8 (Σχήμα 5.1) ως αποτέλεσμα της αλκαλικότητας που παράγεται κατά την οξείδωση των γαλακτικών ιόντων (αντίδραση (4.1) και Πίνακας 4.6), στο πλαίσιο της μεταβολικής διαδικασίας των θειοαναγωγικών βακτηρίων, επιβεβαιώνοντας έτσι τη δυνατότητα του συστήματος για εξουδετέρωση όξινων διαλυμάτων.

Η αρχική συγκέντρωση των θειικών ιόντων κυμάνθηκε μεταξύ 1.365 mg/L και 7.265 mg/L. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αναγωγή των θειικών ιόντων ήταν πλήρης (Σχήμα 5.2) ενώ ο ρυθμός αναγωγής των θειικών ιόντων βρέθηκε να κυμαίνεται μεταξύ 4 g/L·d και 19 g/L·d (Σχήμα 5.3).

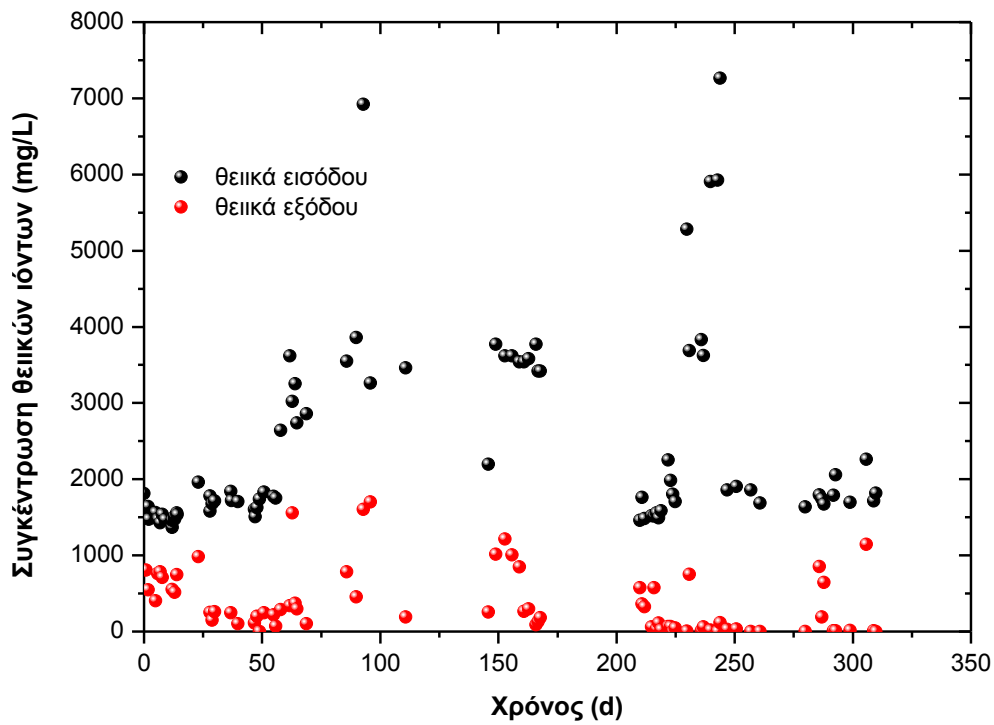
Με τη μεταβολή της αρχικής συγκέντρωσης των θειικών ιόντων (που σχετιζόταν πάντα με

αντίστοιχη μεταβολή του προστιθέμενου οργανικού άνθρακα ώστε να διατηρείται η σχετική αναλογία), ελέγχθηκε η ανοχή και η δυνατότητα προσαρμογής του συστήματος σε ρεύμα τροφοδοσίας με αρχική συγκέντρωση θειικών ιόντων έως και 7,2 g/L ενώ το παρατηρούμενο εύρος τιμών για το ρυθμό αναγωγής συμφωνεί με αντίστοιχα αποτελέσματα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Πίνακας 3.7).

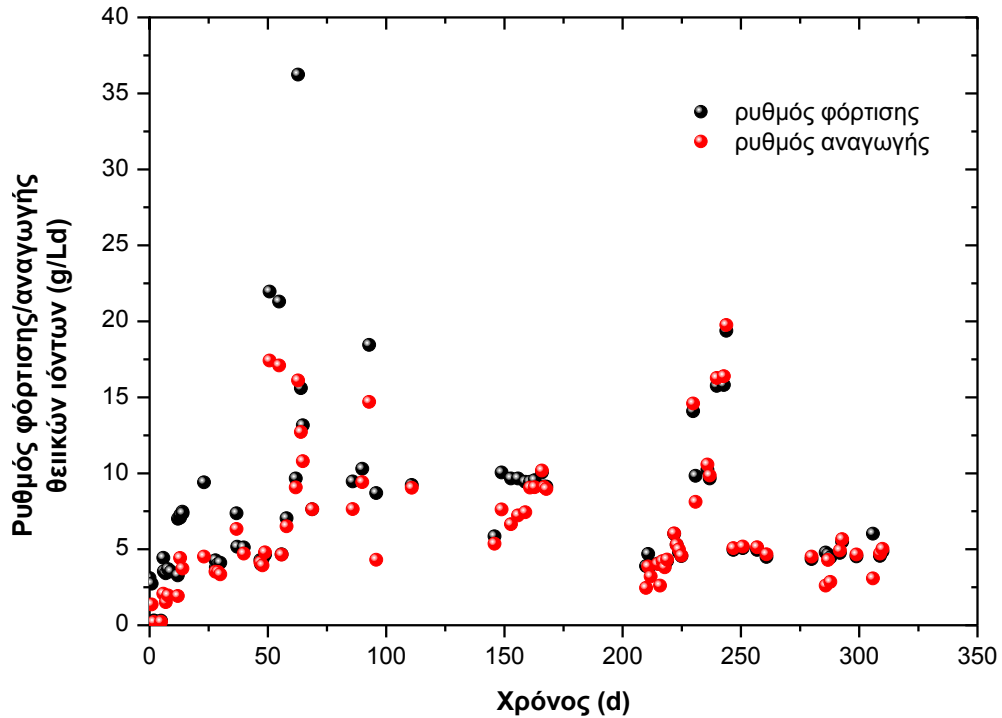
Η αρχική συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα κυμάνθηκε μεταξύ 450 mg/L και 3.120 mg/L, ακολουθώντας τις αντίστοιχες μεταβολές της αρχικής συγκέντρωσης θειικών ιόντων ώστε να διατηρείται κάθε φορά η ζητούμενη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στο διάλυμα εισόδου (Πίνακας 4.8). Μετά τους πρώτους 5 μήνες λειτουργίας του αντιδραστήρα, η οξειδωση του οργανικού άνθρακα προσέγγισε το 100% για να σταθεροποιηθεί στην περιοχή 78-100% μετά την πάροδο 7 μηνών (Σχήμα 5.4). Κατά το ίδιο χρονικό διάστημα, ο ρυθμός οξειδωσης ήταν 1,7-6,8 g/L·d (Σχήμα 5.5).



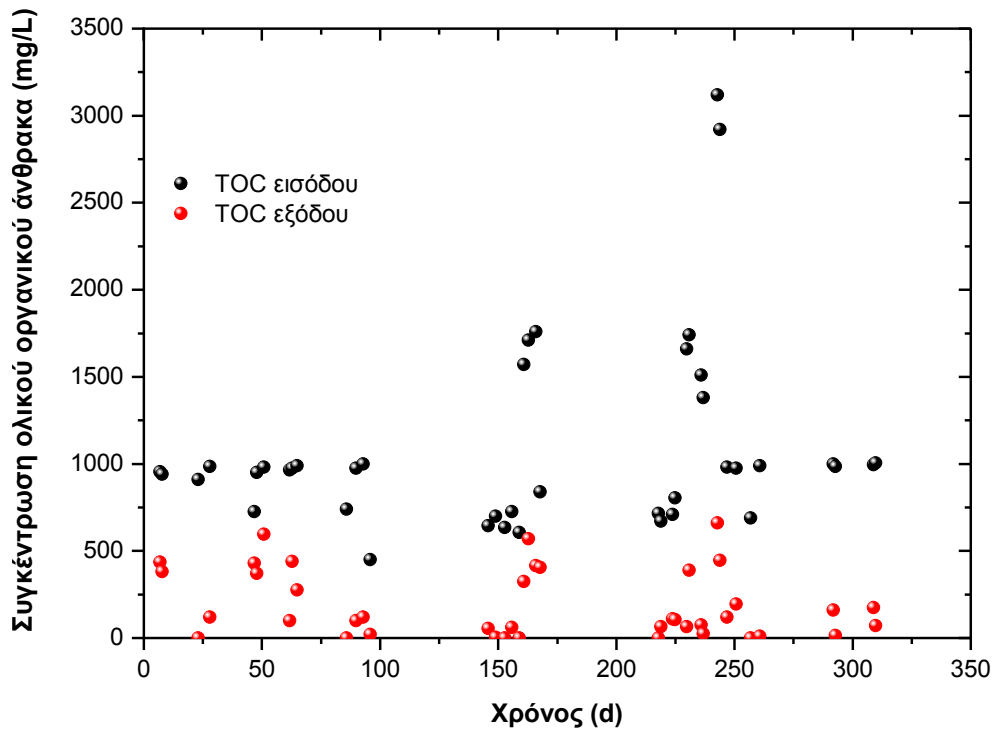
Σχήμα 5.1. Χρονική μεταβολή του pH στην είσοδο και στην έξοδο του Αντιδραστήρα I



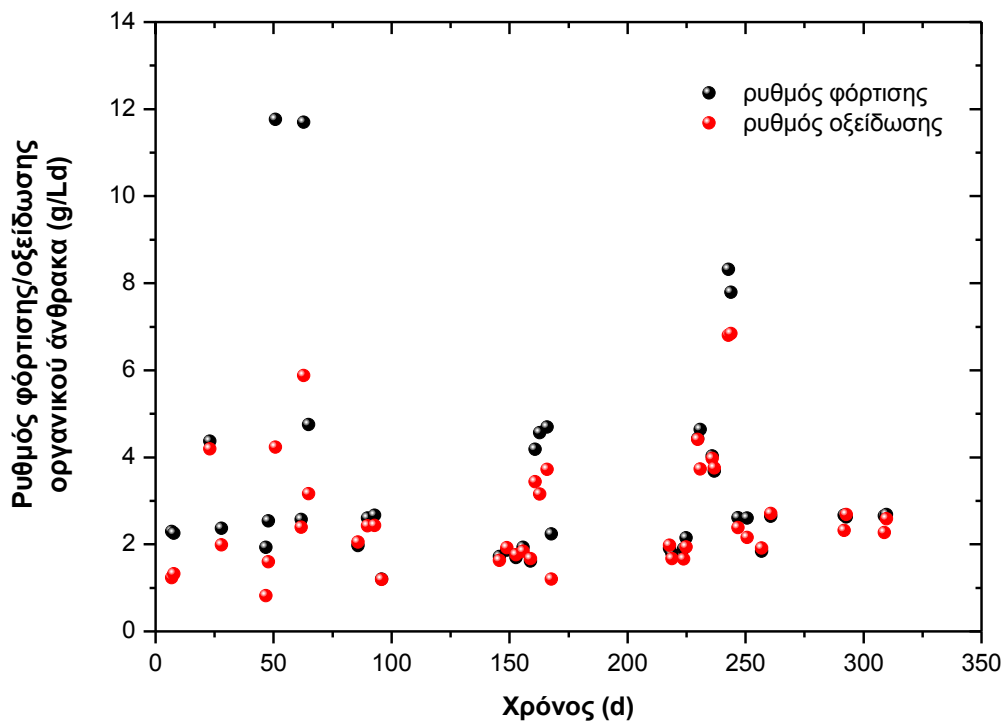
Σχήμα 5.2. Χρονική μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στην είσοδο και στην έξοδο του Αντιδραστήρα I



Σχήμα 5.3. Χρονική μεταβολή του ρυθμού φόρτισης και αναγωγής θειικών ιόντων στον Αντιδραστήρα I



Σχήμα 5.4. Χρονική μεταβολή της συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα στην είσοδο και στην έξοδο του Αντιδραστήρα I



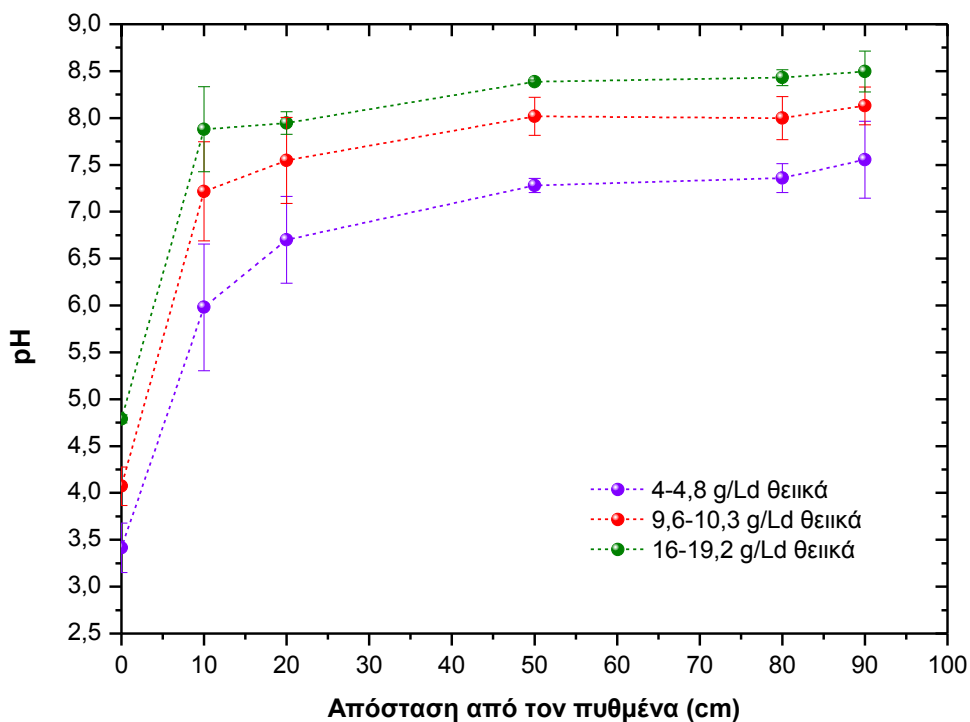
Σχήμα 5.5. Χρονική μεταβολή του ρυθμού φόρτισης και οξείδωσης οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα I

### 5.3. Επίδραση του ρυθμού φόρτισης θειικών ιόντων

Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, μελετήθηκε η επίδραση του ρυθμού φόρτισης θειικών ιόντων στην καθ' ύψος συμπεριφορά του αντιδραστήρα σε συνθήκες σταθερής περίσσειας οργανικού άνθρακα (58%, Πίνακας 4.8) και με αρχική συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου και ψευδαργύρου στο διάλυμα τροφοδοσίας 100 mg/L περίπου. Τα πειράματα αυτά εκτελέστηκαν με σταθερό χρόνο παραμονής 9 ωρών.

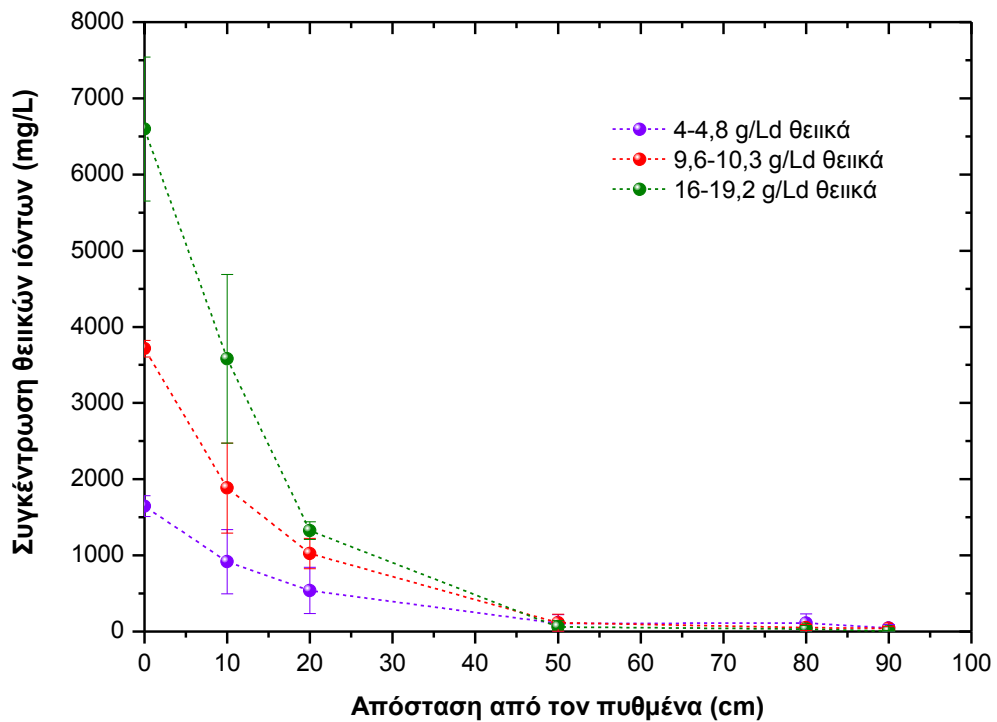
Όσο αφορά την καθ' ύψος μεταβολή του pH (Σχήμα 5.6), προκύπτει ότι, σε κάθε περίπτωση, το ρεύμα εισόδου εξουδετερώνεται στα πρώτα 10 cm του μήκους της κλίνης, υποδεικνύοντας έτσι έντονη μικροβιακή δράση στον πυθμένα του αντιδραστήρα. Αντίστοιχο συμπέρασμα προκύπτει από το Σχήμα 5.7 όπου φαίνεται ότι η αναγωγή των θειικών ιόντων είναι δυνατή σε ποσοστό άνω του 90%, για συγκεντρώσεις έως και 7.200 mg/L, στα πρώτα 50 cm του μήκους της κλίνης, επιβεβαιώνοντας έτσι την υψηλή θειοαναγωγική ικανότητα του μικροβιακού πληθυσμού του αντιδραστήρα.

Από τα αντίστοιχα προφίλ για την καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης του οργανικού άνθρακα (Σχήμα 5.8) προκύπτει ότι, για αρχικές συγκεντρώσεις TOC έως και 3.000 mg/L, ο οργανικός άνθρακας οξειδώνεται σε ποσοστό 85% στα πρώτα 50 cm της κλίνης. Για αρχική συγκέντρωση 3.000 mg/L, η διαδικασία βιοαποικοδόμησης του οργανικού φορτίου σταματά εκεί ενώ, για χαμηλότερες αρχικές συγκεντρώσεις, η οξείδωση εξελίσσεται μέχρι ποσοστού 90% έως την έξοδο του αντιδραστήρα.

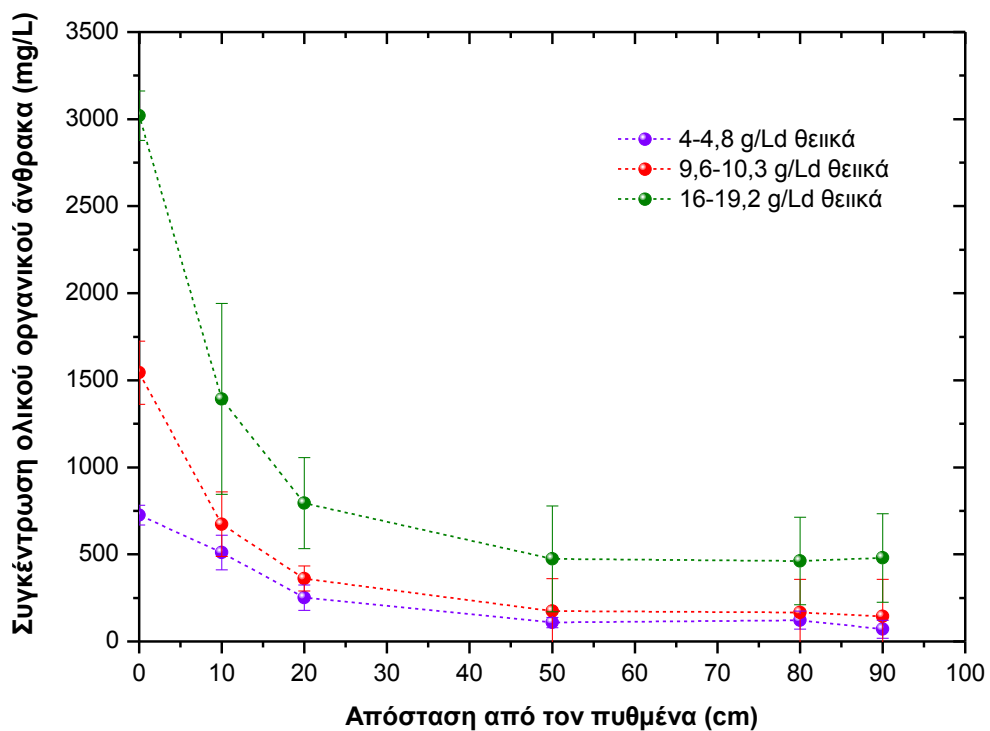


Σχήμα 5.6. Καθ' ύψος μεταβολή του pH στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων





Σχήμα 5.7. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων



Σχήμα 5.8. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων

Συσχετίζοντας την αποικοδόμηση του οργανικού άνθρακα με την αναγωγή των θειικών ιόντων έως τα πρώτα 50 cm της κλίνης και θεωρώντας ότι, παρουσία θειικών ιόντων, το γαλακτικό αποικοδομείται αποκλειστικά οξειδούμενο προς οξικό (ενότητα 2.2.3, *Γαλακτικό ιόν*), αποδίδουμε το υπολειπόμενο TOC σε οξικό που δεν οξειδώθηκε (Πίνακας 5.1).

Η διαφορά μεταξύ του θεωρητικά υπολογιζόμενου (42-47% επί του αρχικού ή 30-31% αν ληφθεί υπόψη η αφομοίωση οργανικού άνθρακα για κυτταρική ανάπτυξη) και του πειραματικά προσδιοριζόμενου (11-15% επί του αρχικού) υπολειπόμενου TOC μπορεί να υποδεικνύει την παρουσία συμβιωτικών ή ανταγωνιστικών πληθυσμών που ευνοούνται από τη χρήση του γαλακτικού ιόντος ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων.

Πίνακας 5.1. Θεωρητικός ποιοτικός χαρακτηρισμός του υπολειπόμενου οργανικού άνθρακα

Περίπτωση φόρτισης	Συγκέντρωση TOC (mg/L)		Συγκέντρωση θειικών (mg/L)		Συγκέντρωση θειικών που ανάχθηκαν (mM)		Υπόλοιπο οξικό mM	Ισοδύναμο TOC	
	0 cm	50 cm	0 cm	50 cm	γαλακτικό	οξικό		mg/L	%
4-4,8 g/Ld	725 (20,1)* (17,9)**	109	1.646	109 (16,0) ***	10,05 (8,95)	5,95 (7,05)	14,15 (9,24)	339,6 (221,8)	47 (31)
9,6-10,3 g/Ld	1.543 (42,9)* (38,2)**	175	3.713	115 (37,5) ***	21,45 (19,10)	16,05 (18,4)	26,85 (16,36)	644,4 (464,6)	42 (30)
16-19,2 g/Ld	3.020 (83,9)* (74,7)**	475	6.596	59 (68,1) ***	41,95 (37,35)	26,15 (30,75)	57,75 (37,23)	1.386 (893,5)	46 (30)

\* Σε παρένθεση δίνεται η αρχική ισοδύναμη συγκέντρωση γαλακτικών ιόντων σε mM.

\*\* Σε παρένθεση και με πλάγια γραμματοσειρά σημειώνονται οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις γαλακτικού, οξικού και θειικών αφού ληφθεί υπόψη η κατανάλωση οργανικού άνθρακα για τη σύνθεση κυτταρικού υλικού.

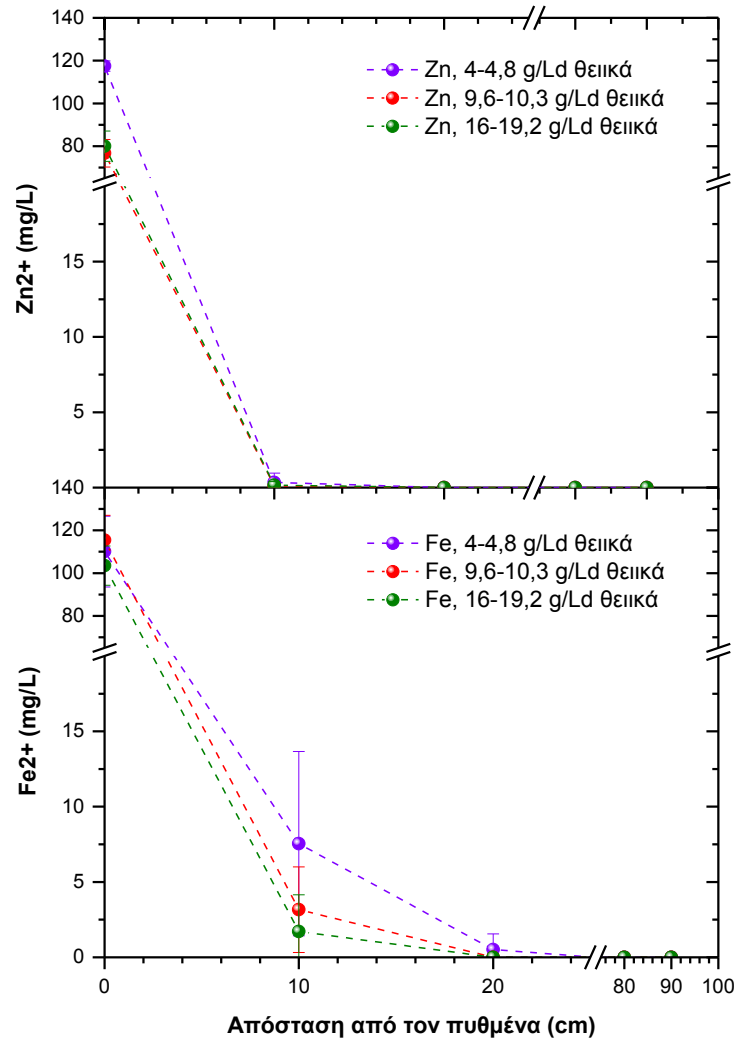
\*\*\* Σε παρένθεση δίνεται η συγκέντρωση των θειικών που ανάχθηκαν έως τα 50 cm από τον πυθμένα σε mM.

\*\*\*\* Για κάθε 1 mole γαλακτικού που οξειδώνεται, ανάγεται ½ mole θειικών και σχηματίζεται 1 mole οξικού (αντίδραση (2.25)) ενώ, για κάθε 1 mole οξικού που οξειδώνεται, ανάγεται 1 mole θειικών (αντίδραση (2.21)).

Από το Σχήμα 5.7 προκύπτει ότι, και στις τρεις περιπτώσεις φόρτισης, τα θειούχα που παράγονται λόγω της αναγωγής των θειικών ιόντων έως την πρώτη θύρα δειγματοληψίας (>240 mg/L S) επαρκούν για την καταβύθιση των ιόντων δισθενούς σιδήρου (ως FeS<sub>2</sub>) και ψευδαργύρου (ως ZnS) από διάλυμα αρχικής συγκέντρωσης 100 mg/L. Ωστόσο, από το Σχήμα 5.9 προκύπτει ότι μόνο ο ψευδάργυρος απομακρύνεται σε ποσοστό άνω του 99% στα πρώτα 10 cm της κλίνης ενώ ο σίδηρος απομακρύνεται ποσοτικά από το διάλυμα μέχρι τη δεύτερη θύρα δειγματοληψίας.

Γενικά, οι θειούχες ενώσεις του ψευδαργύρου είναι πιο δυσδιάλυτες από τις αντίστοιχες του δισθενούς σιδήρου (Πίνακας 2.15) ενώ, παράλληλα, σε συνθήκες περίσσειας θειούχων ιόντων, η καταβύθιση του ψευδαργύρου ξεκινά από τις όξινες ακόμα τιμές pH ενώ ο σίδηρος αρχίζει να καταβυθίζεται με τη μορφή θειούχου ένωσης μόνο όταν pH>5 (Σχήμα 2.8). Έτσι, και με βάση το Σχήμα 5.6, προκύπτει ότι το ποσοστό απομάκρυνσης των ιόντων δισθενούς σιδήρου από τα δείγματα της πρώτης θύρας αυξάνεται όσο ελαττώνεται η απόσταση από τον πυθμένα του αντιδραστήρα οπότε το pH του ρευστού υπερβαίνει την τιμή 5.

Η προφανής αυτή διαφοροποίηση στη σειρά καταβύθισης των μετάλλων καθ' ύψος του αντιδραστήρα ανάλογα με το προφίλ του pH αποτελεί επιβεβαιωτική ένδειξη της δυνατότητας εκλεκτικής καταβύθισης εφόσον εφαρμοστεί προσεκτικός έλεγχος του pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα.

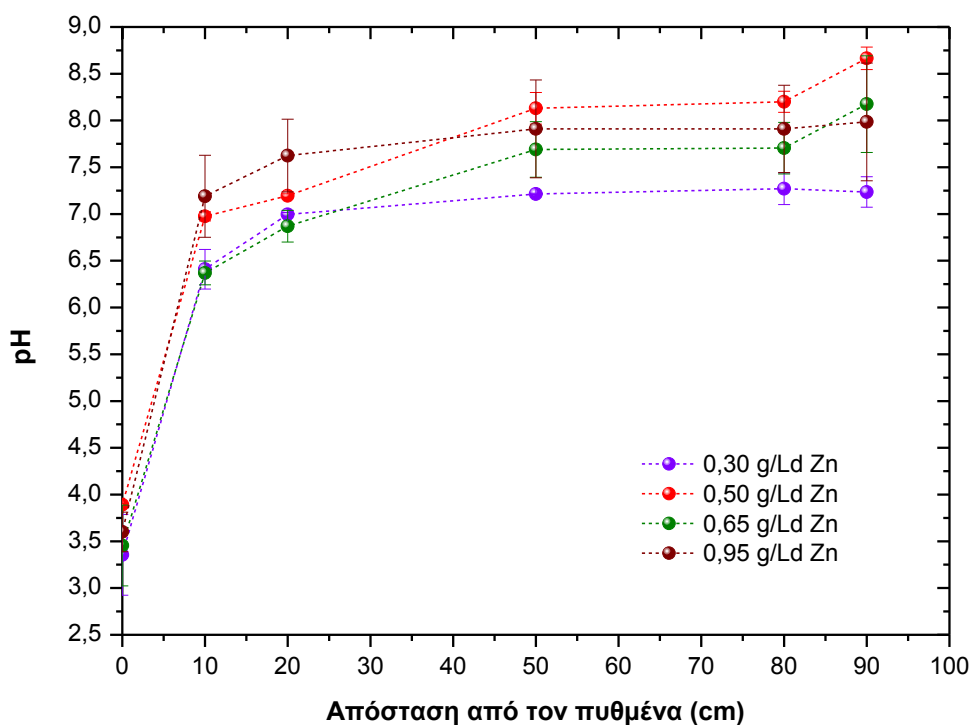


Σχήμα 5.9. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου & ψευδαργύρου στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης θειικών ιόντων

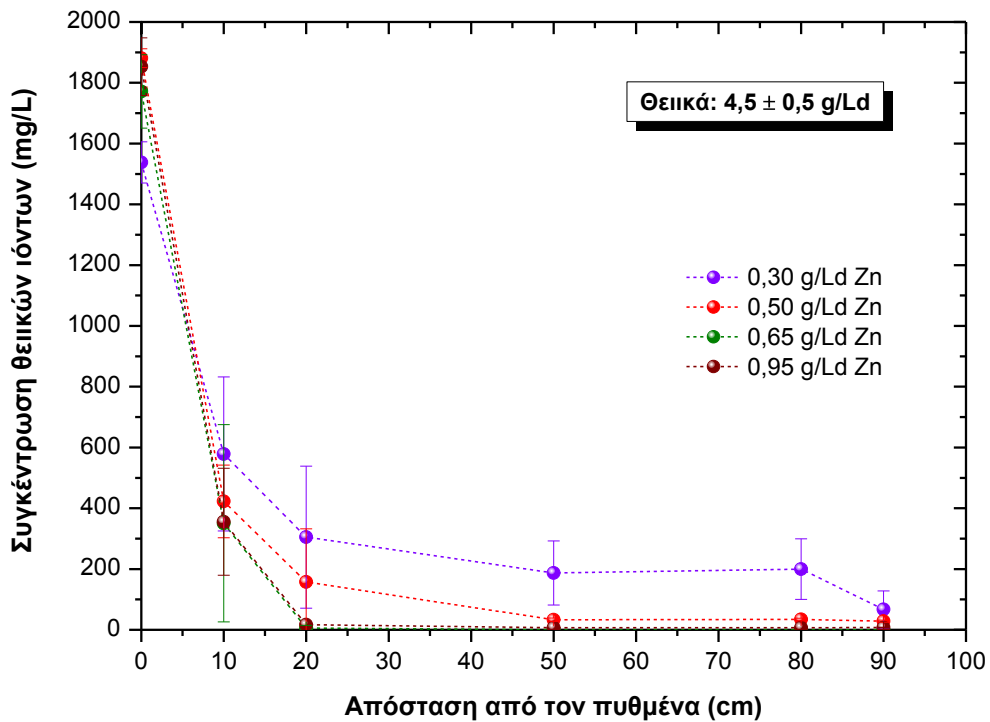
#### 5.4. Επίδραση του ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου

Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, μελετήθηκε η επίδραση του ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου στην καθ' ύψος συμπεριφορά του αντιδραστήρα σε συνθήκες σταθερού ρυθμού φόρτισης θειικών ιόντων ( $4,5 \pm 0,5$  g/L·d) και περίσσειας οργανικού άνθρακα (58%, Πίνακας 4.8). Η αρχική συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου στο διάλυμα τροφοδοσίας ήταν 100 mg/L ενώ η συγκέντρωση ιόντων ψευδαργύρου κυμάνθηκε μεταξύ 100 mg/L και 350 mg/L. Τα πειράματα αυτά εκτελέστηκαν με σταθερό χρόνο παραμονής 9 ωρών.

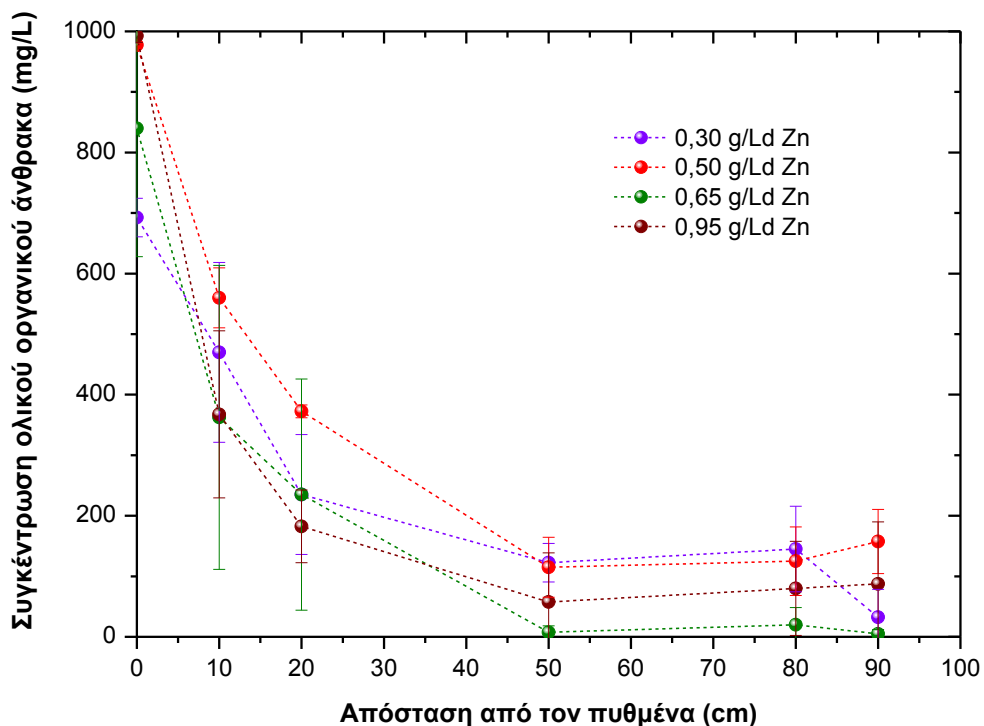
Τα προφίλ μεταβολής του pH (Σχήμα 5.10), της συγκέντρωσης θειικών ιόντων (Σχήμα 5.11) και της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα (Σχήμα 5.12) συναρτήσει της απόστασης από τον πυθμένα του αντιδραστήρα υποδεικνύουν ότι η μικροβιακή δράση, όχι μόνο δεν επηρεάζεται αρνητικά από την παρουσία ψευδαργύρου σε συγκεντρώσεις έως και 350 mg/L, αλλά επιταχύνεται στα πρώτα 10 cm της κλίνης καθώς δεσμεύονται τα θειούχα ιόντα που παράγονται κατά την αναγωγή των θειικών. Χαρακτηριστικά, σε ύψος 10 cm πάνω από το σημείο εισόδου του διαλύματος, η αναγωγή των θειικών ιόντων έχει προχωρήσει κατά 62% στην περίπτωση φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου με ρυθμό 0,30 g/L·d και κατά 80% στην περίπτωση φόρτισης με ρυθμό 0,65 g/L·d ή 0,90 g/L·d (Σχήμα 5.11).



Σχήμα 5.10. Καθ' ύψος μεταβολή του pH στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου



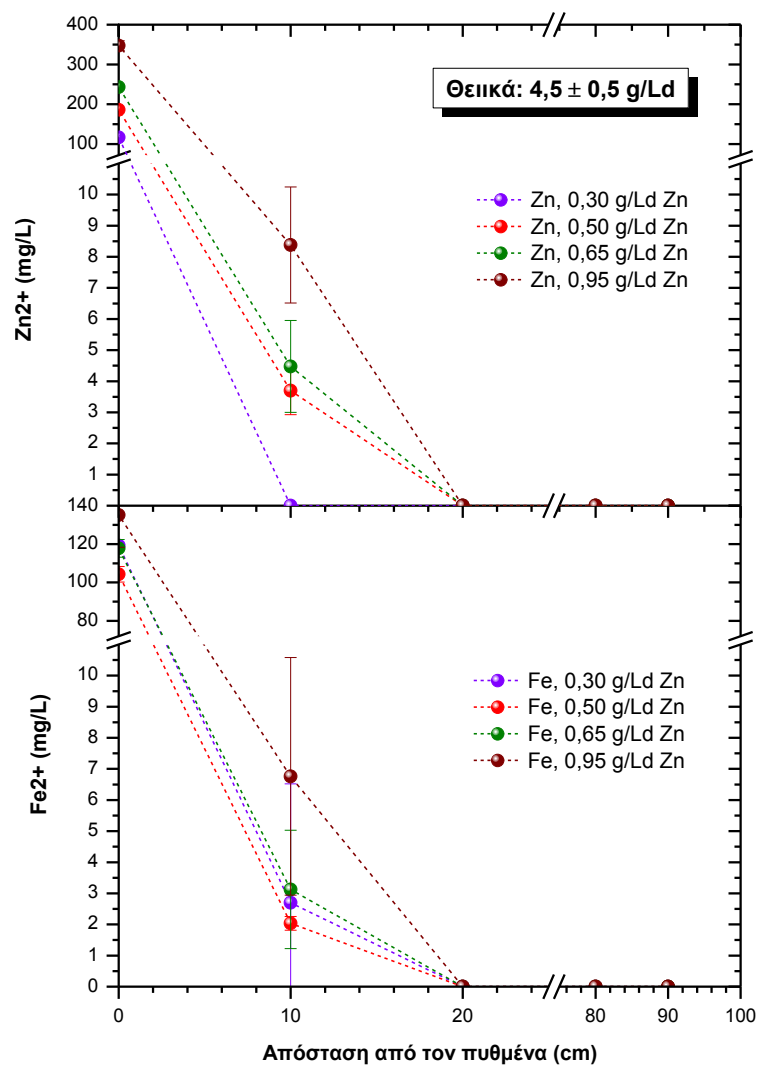
Σχήμα 5.11. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου



Σχήμα 5.12. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου

Από το Σχήμα 5.13 προκύπτει ότι, σε κάθε περίπτωση ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, τα μέταλλα απομακρύνονται από το διάλυμα ποσοτικά μέχρι το ύψος της δεύτερης θύρας δειγματοληψίας του αντιδραστήρα, δηλαδή στο 20% της κλίνης.

Επίσης, όταν ο αντιδραστήρας φορτίζεται με ιόντα δισθενούς σιδήρου και ψευδαργύρου με ίδιο ρυθμό (0,30 g/L·d), στο δείγμα της πρώτης θύρας δειγματοληψίας εντοπίζεται διαλελυμένος δισθενής σίδηρος ενώ ο ψευδάργυρος έχει ήδη καταβυθιστεί ποσοτικά και η συγκέντρωση των θειούχων ιόντων από την έως εκείνο το σημείο αναγωγή των θειικών (320 mg/L) επαρκεί για την ποσοτική καταβύθιση και των δύο. Έτσι, και με βάση το Σχήμα 5.10 όπου φαίνεται ότι το pH μόλις έχει υπερβεί την τιμή 6, επιβεβαιώνεται το συμπέρασμα της προηγούμενης ενότητας σχετικά με τη δυνατότητα διαχωρισμού των θειούχων ενώσεων με έλεγχο του pH (ενότητα 5.3, Σχήμα 5.9).



Σχήμα 5.13. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου & ψευδαργύρου στον Αντιδραστήρα I για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου

## 5.5. Χαρακτηρισμός στερεών κατακρημνισμάτων

### 5.5.1. Χημική σύσταση

Από την ανάλυση των δειγμάτων ιλύος ως προς τη χημική τους σύσταση (Πίνακας 5.2), προκύπτει ότι το 35% του βάρους των στερεών κατακρημνισμάτων αντιστοιχεί σε πτητικά αιωρούμενα στερεά και αποδίδεται στην παρουσία βιολογικού υλικού. Το μεγαλύτερο μέρος του περιεχόμενου άνθρακα θεωρείται ότι βρίσκεται στο πτητικό μέρος των στερεών ενώ το μη πτητικό μέρος αποδίδεται στην κατακρήμνιση ανθρακικών ενώσεων. Ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος απαντώνται αποκλειστικά στο μη πτητικό μέρος της ιλύος ενώ το θείο κατανέμεται μεταξύ θειούχων ενώσεων και στοιχειακού θείου.

Πίνακας 5.2. Σύσταση στερεών κατακρημνισμάτων Αντιδραστήρα I

Είδος	Περιεκτικότητα (% κ.β.)
Πτητικά αιωρούμενα στερεά	35
Άνθρακας*	7
Θείο*	21
Σίδηρος (δισθενής)	5
Ψευδάργυρος	29

\* Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης άνθρακα και θείου στα δείγματα ιλύος πραγματοποιήθηκε σε συσκευή LECO (Εργαστήριο Μεταλλουργίας, Σχολή Μηχ. Μεταλλείων-Μεταλλουργών, Ε.Μ.Π.)

### 5.5.2. Μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση

Τα σφαιρίδια του πληρωτικού υλικού καλύπτονται από γυαλιστερά στερεά κατακρημνίσματα μαύρου χρώματος, τα οποία αποτελούν χαρακτηριστική μακροσκοπική ένδειξη των σχηματιζόμενων θειούχων ενώσεων του σιδήρου, όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.1(i), όπου απεικονίζονται τα σφαιρίδια του πληρωτικού υλικού Α πριν και μετά τη χρήση τους στον Αντιδραστήρα I. Τα στερεά αυτά κατακρημνίσματα φαίνεται ότι εισχωρούν σε σημαντικό βαθμό στο εσωτερικό και μέσα στους πόρους του σφαιριδίου (Εικόνα 5.1(ii)), υποδεικνύοντας έτσι το σχηματισμό μικρομερών σωματιδίων.

Κατά την παρατήρηση θραύσματος σφαιριδίου πληρωτικού υλικού που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα I, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, διαπιστώθηκε η κατακρήμνιση λεπτομερών σωματιδίων στοιχειακού θείου και θειούχων ενώσεων ψευδαργύρου-σιδήρου (Εικόνα 5.2).

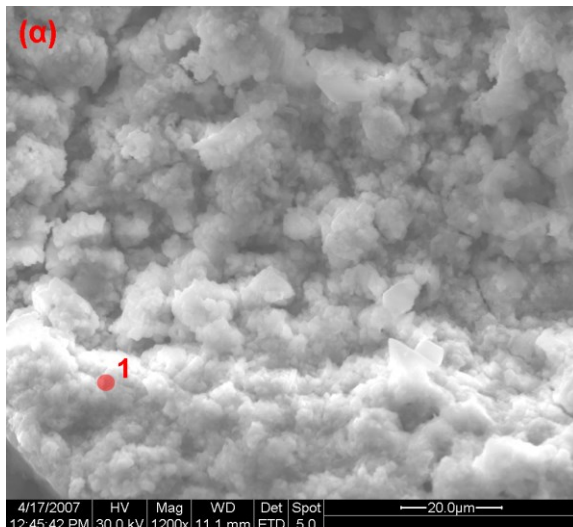


(i)

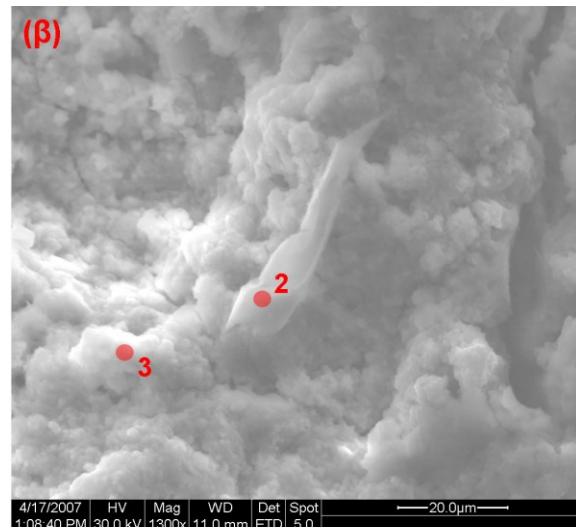
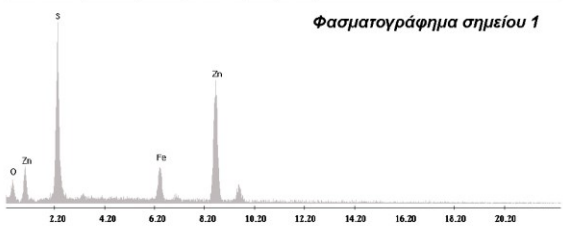


(ii)

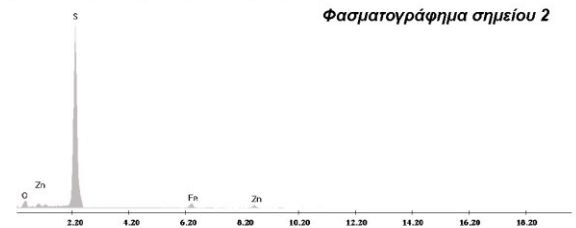
Εικόνα 5.1. (i) Φωτογραφία σφαιριδίων πληρωτικού υλικού πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη χρήση στον Αντιδραστήρα Ι και (ii) φωτογραφία θραυσμένου σφαιριδίου μετά τη χρήση στον αντιδραστήρα όπου φαίνεται η διεξόδυση μικρομερών σωματιδίων στους πόρους του υλικού



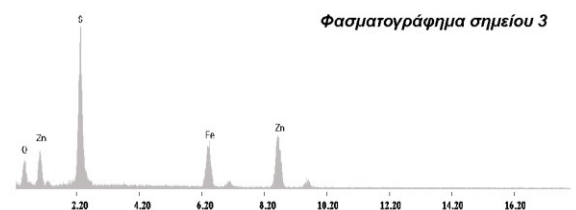
Φασματογράφημα σημείου 1



Φασματογράφημα σημείου 2



Φασματογράφημα σημείου 3

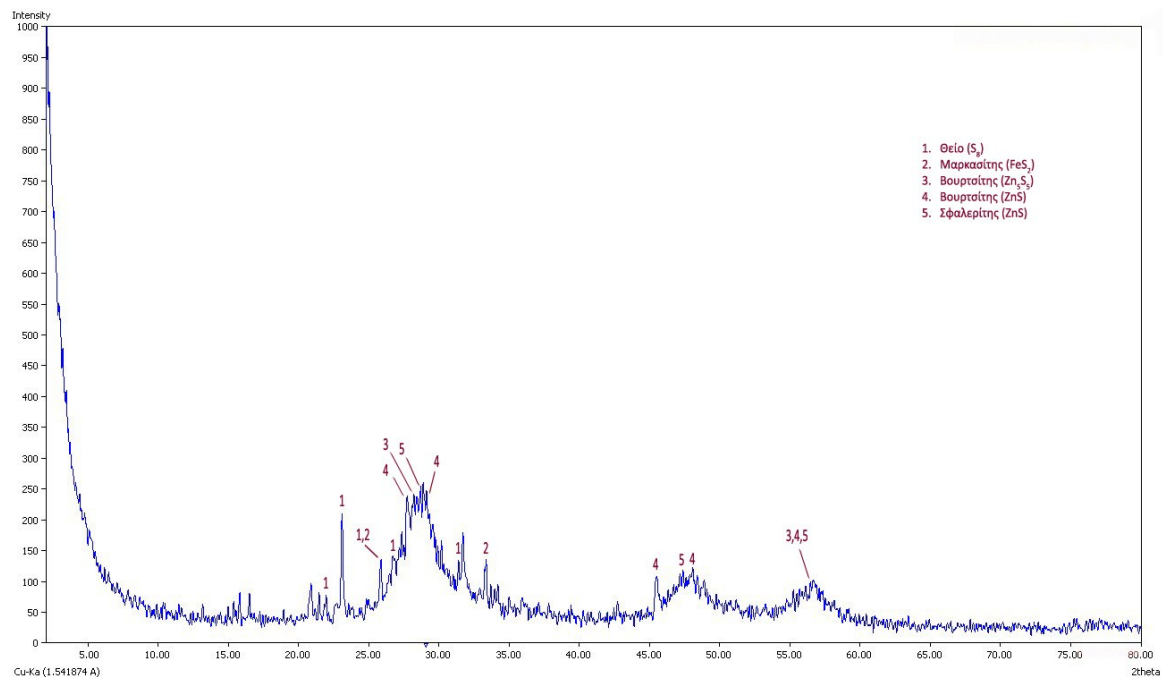


Εικόνα 5.2. Παρατήρηση θραύσματος σφαιριδίου πληρωτικού υλικού που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα Ι, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων Everhart-Thornley (ETD)



Στο ακτινοδιάγραμμα ομογενοποιημένου δείγματος από ιλύ που συλλεγόταν καθ' όλη τη διάρκεια της λειτουργίας του Αντιδραστήρα Ι (Σχήμα 5.14), φαίνεται ότι κυριαρχούν οι άμορφες φάσεις ενώ αναγνωρίζονται και κορυφές που αντιστοιχούν σε κρυσταλλικές θειούχες ενώσεις του σιδήρου και του ψευδαργύρου καθώς και σε στοιχειακό θείο (Πίνακας 5.3).

Η επικράτηση άμορφων φάσεων παρατηρήθηκε και σε άλλες σχετικές εργασίες (Herbert *et al.*, 1998), όπου διαπιστώθηκε ότι τα στερεά που σχηματίζονται σε μέσα που περιέχουν θειοαναγωγικά βακτήρια είναι θειούχες ενώσεις του σιδήρου, με αρχόμενη κρυσταλλοποίηση προς μακιναβίτη.

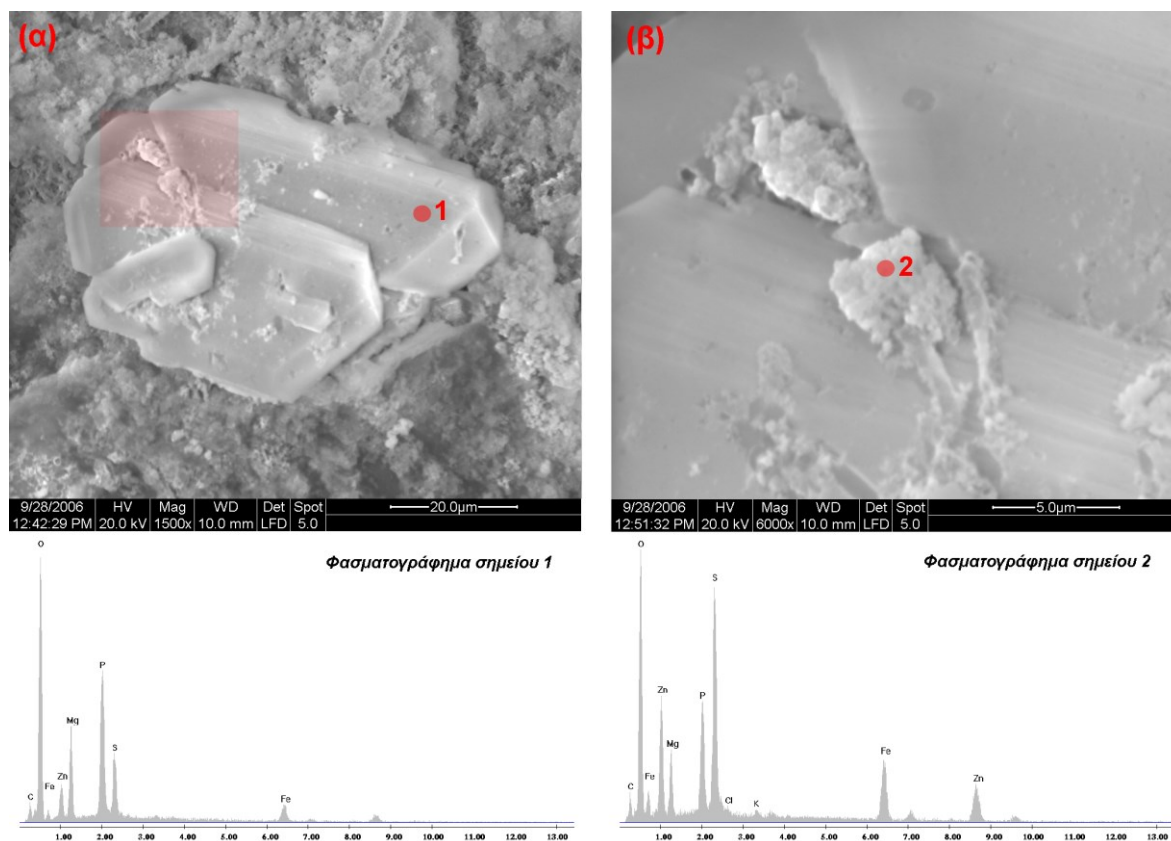


Σχήμα 5.14. Ακτινοδιάγραμμα ιλύος που συλλέχθηκε καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας του Αντιδραστήρα Ι

Πίνακας 5.3. Κύριες φάσεις στην ιλύ του Αντιδραστήρα Ι

Στοιχείο	Κύρια κρυσταλλική φάση	Χημικός τύπος	Κρυσταλλικό σύστημα	Κύρια κορυφή ακτινοδιαγράμματος
S	Στοιχειακό θείο	S <sub>8</sub>	ρομβικό	1: 23,09° (3,8515 Å)
Fe(II)	Μαρκασίτης	FeS <sub>2</sub>	ρομβικό	2: 33,37° (2,6855 Å)
Zn	Βουρτσιίτης	Zn <sub>5</sub> S <sub>5</sub>	εξαγωνικό	3: 28,22° (3,1626 Å)
	Βουρτσιίτης	ZnS	εξαγωνικό	4: 29,12° (3,0662 Å)
	Σφαλερίτης	ZnS	κυβικό	5: 28,70° (3,1105 Å)

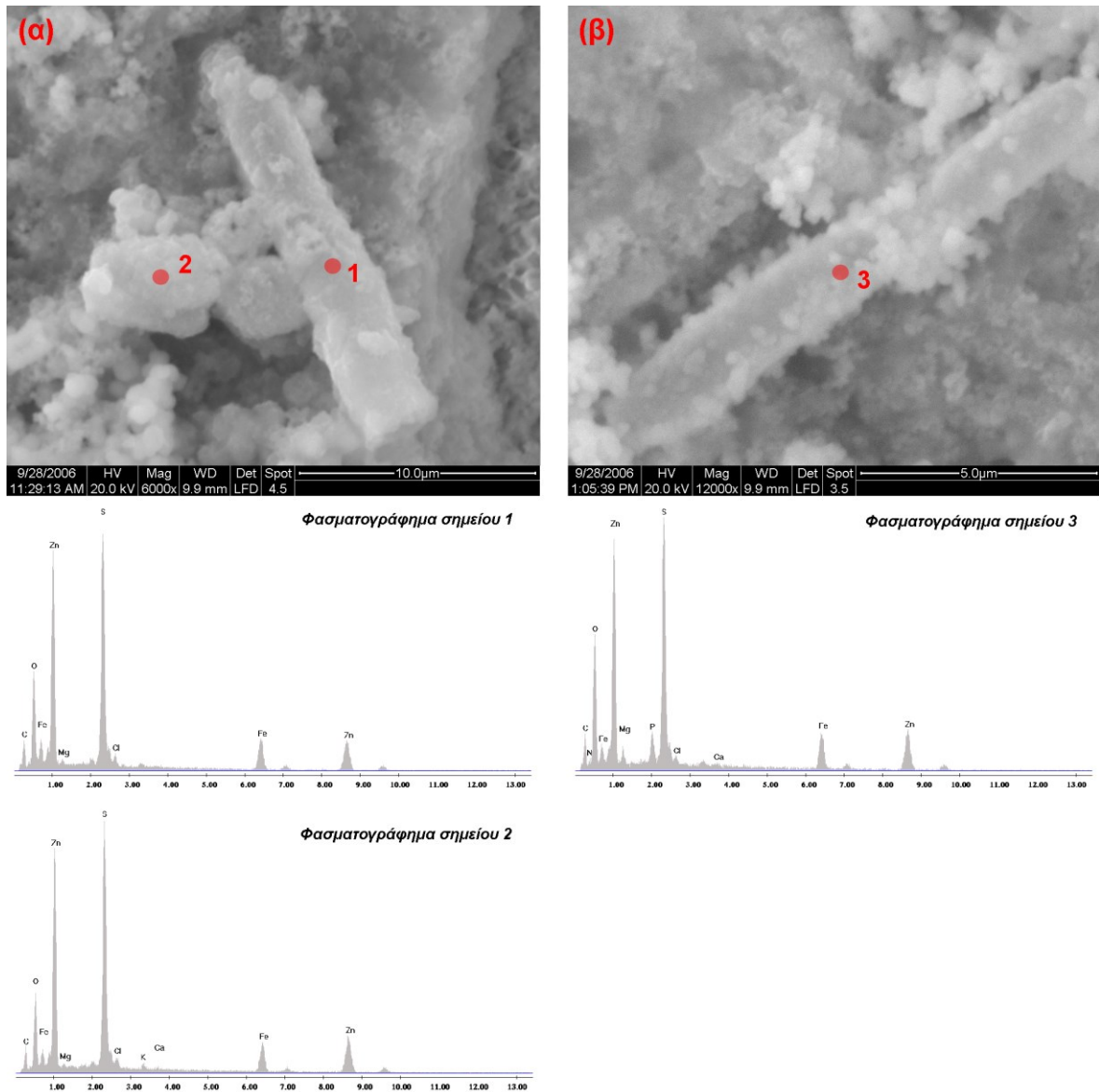
Κατά την παρατήρηση των στερεών κατακρημνισμάτων που συγκρατήθηκαν πάνω σε μεμβράνη 0,22 μm κατά τη διήθηση δείγματος που συλλέχθηκε από την έξοδο του Αντιδραστήρα Ι, διαπιστώθηκε ο σχηματισμός κρυστάλλων τύπου  $Mg_3(PO_4)_2$  πάνω στους οποίους κατακρημνίζονται άμορφα στερεά (Εικόνα 5.3). Στο φασματογράφημα του σημείου 2 επιβεβαιώνεται ποιοτικά η χημική σύσταση των στερεών αυτών.



*Εικόνα 5.3. Παρατήρηση στερεών κατακρημνισμάτων που συγκρατήθηκαν πάνω σε μεμβράνη 0,22 μm κατά τη διήθηση δείγματος που συλλέχθηκε από την έξοδο του Αντιδραστήρα Ι σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων ευρέως πεδίου (LFD) Η εικόνα (β) είναι μεγέθυνση της σκιασμένης περιοχής της εικόνας (α).*

Επίσης, διαπιστώθηκε η παρουσία ραβδόμορφων σωματιδίων μήκους 10 μm περίπου (Εικόνα 5.4), με νεφελώδη επιφάνεια. Κατά τη χημική ανάλυση σημείων της επιφάνειάς τους (φασματογραφήματα σημείων 1 και 3, Εικόνα 5.4), προέκυψε ότι και εκεί επικρατεί η παρουσία ψευδαργύρου, σιδήρου και θείου.

Η απόθεση θειούχων ενώσεων των μετάλλων πάνω στο κυτταρικό τοίχωμα και/ή κοντά στα κύτταρα των θειοαναγωγικών βακτηρίων αναφέρεται ως μηχανισμός αναστολής του μικροβιακού μεταβολισμού (ενότητα 2.2.5, *Παρουσία θειούχων ιόντων*). Ωστόσο, αυτή η ανασταλτική δράση των στερεών κατακρημνισμάτων δεν παρατηρήθηκε στα αποτελέσματα της συνεχούς λειτουργίας του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα που παρουσιάζονται στις προηγούμενες ενότητες.

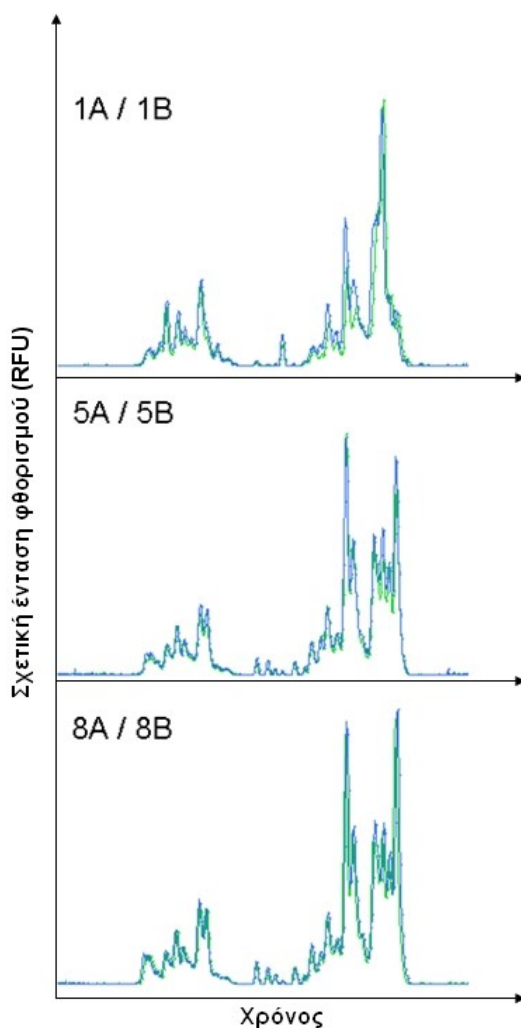


*Εικόνα 5.4. Παρατήρηση στερεών κατακρημνισμάτων που συγκρατήθηκαν πάνω σε μεμβράνη 0,22 μm κατά τη διήθηση δείγματος που συλλέχθηκε από την πρώτη θύρα (α) και την έξοδο (β) του Αντιδραστήρα Ι σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων ευρέως πεδίου (LFD)*

## 5.6. Χαρακτηρισμός βακτηριακού πληθυσμού κλίνης αντιδραστήρα

Για τον έλεγχο της σταθερότητας του βακτηριακού πληθυσμού κατά μήκος της κλίνης του αντιδραστήρα, συλλέχθηκαν εις διπλούν δείγματα πέντε μήνες μετά την έναρξη της λειτουργίας του αντιδραστήρα. Το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε μεταξύ των δυο δειγματοληψιών ήταν μια εβδομάδα. Και τα δυο σετ δειγμάτων, σετ A και σετ B, συλλέχθηκαν από τρεις θύρες δειγματοληψίας: την πρώτη θύρα από τον πυθμένα του αντιδραστήρα (1), τη θύρα που βρίσκεται σε ύψος 50 cm από τον πυθμένα του αντιδραστήρα (5) και την τελευταία θύρα που συμπίπτει με την έξοδο του αντιδραστήρα (8).

Τα μοριακά αποτυπώματα των γονιδίων 16S rRNA (Εικόνα 5.5) ήταν εξαιρετικά αναπαραγωγίσιμα ως προς τις χρονικές στιγμές της δειγματοληψίας καθώς και στις διάφορες θέσεις κατά μήκος της κλίνης, υποδεικνύοντας ότι ο πληθυσμός, αν και πολύπλοκος, είχε προσεγγίσει μια σταθερή κατάσταση κατά το συγκεκριμένο σημείο της διεργασίας.



Εικόνα 5.5. Μοριακά αποτυπώματα των γονιδίων 16S rRNA του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης του Αντιδραστήρα Ι μετά από ανάλυση CE-SSCP

Από την ταυτοποίηση των ειδών, με ανάλυση των δειγμάτων από τον πυθμένα και το μέσο της στήλης, προέκυψε ότι η καλλιέργεια αποτελείτο από ποικιλόμορφο πληθυσμό θειοαναγωγικών βακτηρίων, τα οποία ανήκαν σε τέσσερα διαφορετικά γένη του φύλου δ-Πρωτεοβακτήρια: *Desulfobacter*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobulbus* και *Desulfovibrio* (Πίνακας 5.4). Οι γονιδιακές ακολουθίες που προέκυψαν κατατέθηκαν στο GenBank με αριθμούς καταχώρισης EF645664 - EF645676.

Η ποικιλομορφία του βακτηριακού πληθυσμού αποδίδεται στη διαθεσιμότητα του γαλακτικού ιόντος στο θρεπτικό μέσο, το οποίο υποστηρίζει την ανάπτυξη και διατήρηση πολλών θειοαναγωγικών ειδών.

Θειοαναγωγικά βακτήρια των γενών *Desulfovibrio* και *Desulfobulbus* αναγνωρίστηκαν σε βιολογικό αντιδραστήρα επεξεργασίας όξινων μεταλλοφόρων αποβλήτων που λειτουργούσε με γαλακτικό ιόν ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (Kaksonen *et al.*, 2004b; Kaksonen *et al.*, 2004c) καθώς και σε θειοαναγωγικό αντιδραστήρα με τροφοδοσία αιθανόλης και ισοπροπανόλης (Dar *et al.*, 2007).

Είδη του γένους *Desulfomicrobium* εντοπίστηκαν σε θειοαναγωγικό αντιδραστήρα που λειτουργούσε με παροχή υδρογόνου για την απομάκρυνση εξασθενούς χρωμίου από υγρά απόβλητα σε μη στείρες συνθήκες (Battaglia-Brunet *et al.*, 2007) καθώς και σε αντιδραστήρα με παροχή συνθετικού αερίου για την επεξεργασία αποβλήτων με υψηλή περιεκτικότητα σε θειικά ιόντα και μέταλλα (van Houten *et al.*, 2006).

Το είδος *Desulfobacter postgatei*, το οποίο εντοπίστηκε στα δείγματα που ελήφθησαν από τον πυθμένα και το μέσο της κλίνης του αντιδραστήρα, είναι το μόνο από τα είδη που αναγνωρίστηκαν που μπορεί να χρησιμοποιήσει τα οξικά ιόντα που παράγονται από την ατελή οξειδωση των γαλακτικών ιόντων ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (Ingvorsen *et al.*, 1984; Widdel *et al.*, 1981), όπως και όλα τα υπόλοιπα είδη που ανήκουν στο γένος *Desulfobacter* (Πίνακας 2.7). Έτσι, η παρουσία του στο σύστημά μας είναι εξαιρετικά σημαντική για την πλήρη αποικοδόμηση του οργανικού άνθρακα και την ελαχιστοποίηση του υπολειπόμενου οργανικού φορτίου στο επεξεργασμένο διάλυμα (Σχήμα 5.8 και Πίνακας 5.1).

Πίνακας 5.4. Ταυτοποίηση πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων Αντιδραστήρα I

Θέση	Είδη
10 cm από τον πυθμένα του αντιδραστήρα	- <i>Desulfobacter postgatei</i> - 1 είδος του γένους <i>Desulfomicrobium</i> - 2 είδη του γένους <i>Desulfovibrio</i>
50 cm από τον πυθμένα του αντιδραστήρα	- <i>Desulfobacter postgatei</i> - 2 είδη* του γένους <i>Desulfomicrobium</i> - 2 είδη του γένους <i>Desulfobulbus</i>

\* Το ένα από τα δύο είδη *Desulfomicrobium* ήταν ίδιο με αυτό που εντοπίστηκε στον πυθμένα του αντιδραστήρα.

## 5.7. Συμπεράσματα

Μετά την ολοκλήρωση του πρώτου κύκλου δοκιμών και τη μελέτη της λειτουργίας του αντιδραστήρα ακινητοποιημένης βιομάζας προέκυψαν τα παρακάτω αρχικά συμπεράσματα αναφορικά με τα όρια ανοχής του μικροβιακού πληθυσμού και απόδοσης του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα:

- Διατήρηση του πληθυσμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων για pH=3 στο ρεύμα εισόδου
- Διατήρηση του πληθυσμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων για αρχικές συγκεντρώσεις ιόντων ψευδαργύρου έως και 350 mg/L
- Πλήρης αναγωγή θειικών ιόντων για αρχικές συγκεντρώσεις έως και 7,2 g/L
- Πλήρης απομάκρυνση ιόντων ψευδαργύρου για αρχικές συγκεντρώσεις έως και 350 mg/L μέσω του μηχανισμού καταβύθισης θειούχων ενώσεων

Όπως προέκυψε από τις αναλύσεις XRD και SEM-EDS, ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης των ιόντων ψευδαργύρου και δισθενούς σιδήρου από την υδατική φάση είναι ο εξωκυτταρικός σχηματισμός άμορφων θειούχων ενώσεων των μετάλλων. Προφανώς, ο σχηματισμός εξαιρετικά λεπτομερών σωματιδίων και η επικράτηση άμορφων κατακρημνισμάτων οφείλεται στις συνθήκες λειτουργίας του συστήματος αφού στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες που λειτουργούν σε αναερόβιες συνθήκες, θερμοκρασία 25 °C περίπου και σχεδόν ουδέτερες τιμές pH, χωρίς έλεγχο της συγκέντρωσης των παραγόμενων θειούχων ιόντων, ευνοείται η επικράτηση άμορφων ή μικροκρυσταλλικών φάσεων των θειούχων ενώσεων των μετάλλων (ενότητα 2.3.1).

Τα υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης διαλελυμένων μετάλλων, θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα, που επιτεύχθηκαν ακόμα και από τα πρώτα εκατοστά της κλίνης του αντιδραστήρα, αποδίδονται στην ακινητοποίηση μικροβιακού πληθυσμού υψηλής πυκνότητας που διευκολύνθηκε από το υψηλό πορώδες της κλίνης, επιβεβαιώνοντας έτσι την επιλογή του πληρωτικού υλικού του αντιδραστήρα. Πιθανό μειονέκτημα αποδείχθηκε η σφαιρική γεωμετρία των αδρανών σωματιδίων καθώς, λόγω των μικρών δημιουργούμενων διακένων, προκαλούν συχνές εμφράξεις της κλίνης. Το θέμα αυτό θα διερευνηθεί περαιτέρω στους επόμενους κύκλους δοκιμών.

Ο μικροβιακός πληθυσμός της κλίνης του αντιδραστήρα βρέθηκε να περιλαμβάνει θειοαναγωγικά βακτήρια που ανήκαν σε τέσσερα διαφορετικά γένη του φύλου δ-Πρωτεοβακτήρια: *Desulfobacter*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobulbus* και *Desulfovibrio*. Η δε παρουσία του είδους *Desulfobacter postgatei* στον πληθυσμό της κλίνης είναι εξαιρετικά σημαντική αφού, όντας το μόνο από τα είδη που αναγνωρίστηκαν που μπορεί να χρησιμοποιήσει τα οξικά ιόντα που παράγονται κατά την ατελή οξειδωση των γαλακτικών ιόντων ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, μπορεί να συμβάλει στην πλήρη αποικοδόμηση του οργανικού άνθρακα και την ελαχιστοποίηση του υπολειπόμενου οργανικού φορτίου στο επεξεργασμένο διάλυμα, που αποτελεί και ζητούμενο για την επιτυχή λειτουργία του συστήματος.

# 6

## Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών II

---

Στο δεύτερο κύκλο δοκιμών μελετήθηκε η απόδοση θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, σε συνεχή λειτουργία, με γαλακτικό ιόν ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, προσεγγίζοντας τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων, με στόχο να διερευνηθεί η δυνατότητα απομάκρυνσης των μετάλλων και αναγωγής των θειικών ιόντων με ελαχιστοποίηση του προστιθέμενου οργανικού υποστρώματος και, συνακόλουθα, του υπολειμματικού οργανικού άνθρακα στο επεξεργασμένο διάλυμα.<sup>47</sup>

### 6.1. Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών

Στο δεύτερο κύκλο δοκιμών (Σχήμα 4.1) μελετήθηκε η λειτουργία θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, με ακινητοποιημένη βιομάζα σε συνεχή λειτουργία και με γαλακτικό ιόν ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων, προσεγγίζοντας τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων, προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα απομάκρυνσης των μετάλλων και αναγωγής των θειικών ιόντων με ελαχιστοποίηση του προστιθέμενου οργανικού υποστρώματος και, συνακόλουθα, του υπολειμματικού ολικού οργανικού άνθρακα στο ρεύμα εξόδου. Για το σκοπό αυτό, κατασκευάστηκε αντιδραστήρας (II, Πίνακας 4.2 και Σχήμα 4.2(ii)) που πληρώθηκε με σωματίδια αδρανούς υλικού (B, Πίνακας 4.1 και Εικόνα 4.1(ii)) για την ακινητοποίηση της βιομάζας.

Λόγω των ιδιαίτερων γεωμετρικών ιδιοτήτων του, το υλικό αυτό αναμένεται να

---

<sup>47</sup> Μέρος των αποτελεσμάτων αυτού του κύκλου δοκιμών συμπεριλήφθηκε σε μία εργασία που παρουσιάστηκε στο διεθνές συνέδριο AMIREG 2009 και συμπεριλήφθηκε στα πρακτικά του συνεδρίου (Kousi *et al.*, 2009).

διευκολύνει τη ροή του διαλύματος μέσω της κλίνης του αντιδραστήρα, συμβάλλοντας έτσι στην αποφυγή των συχνών εμφράξεων που παρατηρήθηκαν κατά τον πρώτο κύκλο δοκιμών (κεφάλαιο 5). Επίσης, το υλικό αυτό έχει το πλεονέκτημα του σχετικά χαμηλότερου κόστους έναντι του υλικού Α. Για τους παραπάνω λόγους, επιλέχθηκε να δοκιμαστεί στο πλαίσιο του παρόντος κύκλου δοκιμών παρόλο που υστερεί σημαντικά ως προς την ειδική επιφάνεια.

Ως εμβόλιο, χρησιμοποιήθηκε ικανή ποσότητα πληρωτικού υλικού με ήδη αναπτυγμένο λεπτό βιολογικό στρώμα γνωστού μικροβιακού πληθυσμού (ενότητα 5.6), που λήφθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα Ι (κεφάλαιο 5). Για την ανάπτυξη και εγκατάσταση ικανού θειοαναγωγικού πληθυσμού, χρησιμοποιήθηκε το βασικό θρεπτικό διάλυμα όπου κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων είναι το γαλακτικό ιόν (Πίνακας 4.5). Μετά την επιτυχή εγκατάσταση του ζητούμενου πληθυσμού και προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα προστιθέμενα οργανικά υποστρώματα, το θρεπτικό μέσο του αντιδραστήρα περιείχε μόνο γαλακτικό νάτριο.

Στο διάγραμμα ροής του Αντιδραστήρα ΙΙ (Σχήμα 4.2(ii)), επιχειρήθηκε ο διαχωρισμός των δυο ρευμάτων εισόδου (θρεπτικού μέσου και μεταλλοφόρου διαλύματος) ώστε να υπάρχει μεγαλύτερη ευελιξία στο χειρισμό του συστήματος, όσο αφορά την προσθήκη δότη ηλεκτρονίων και την ογκομετρική παροχή του διαλύματος προς επεξεργασία. Έτσι, αφού διαπιστώθηκε θειοαναγωγική δραστηριότητα στην κλίνη και τέθηκε ο αντιδραστήρας σε λειτουργία συνεχούς ροής, το διάλυμα γαλακτικού νατρίου παρέχόταν χωριστά έτσι ώστε η γραμμομοριακή αναλογία γαλακτικών/θειικών ιόντων στο ρεύμα μετά την ανάμιξη να είναι αυτή που υποδεικνύεται από τη στοιχειομετρία της αντίδρασης τέλει οξείδωσης του γαλακτικού (Πίνακας 4.8).

Σε αυτόν τον κύκλο δοκιμών, διερευνήθηκαν περαιτέρω τα όρια ανοχής του πληθυσμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων κατά την επεξεργασία συνθετικών διαλυμάτων που περιείχαν ιόντα δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου σε συγκέντρωση έως και 100 mg/L. Πρόκειται για τέσσερα βαρέα μέταλλα που απαντώνται συχνά σε απορροές μεταλλείων (Πίνακας 1.5) και άλλα μεταλλουργικά απόβλητα.

Κατά τη λειτουργία του συστήματος, γίνονταν συστηματική λήψη δειγμάτων από την είσοδο, την έξοδο και τις θύρες δειγματοληψίας του αντιδραστήρα. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη συνεχή λειτουργία του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα για περίοδο 5 μηνών σε ελεγχόμενη θερμοκρασία δωματίου (-25 °C) και την παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος καθ' ύψος του αντιδραστήρα για μεταβολή του ρυθμού φόρτισης των ιόντων μετάλλων (ενότητα 6.2).

Επίσης, στο πλαίσιο αυτού του κύκλου δοκιμών, πραγματοποιήθηκε μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση των στερεών κατακρημνισμάτων (ενότητα 6.3).



## 6.2. Επίδραση του ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου

Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, μελετήθηκε η επίδραση του ρυθμού φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου στην καθ' ύψος συμπεριφορά του αντιδραστήρα σε συνθήκες σταθερού ρυθμού φόρτισης θειικών ιόντων ( $4,0 \pm 0,5$  g/L·d) και προσθήκης της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων (γαλακτικό νάτριο) σε συγκέντρωση που προσέγγιζε τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη. Η συγκέντρωση των ιόντων δισθενούς σιδήρου παρέμεινε αμετάβλητη και ίση με 100 mg/L ενώ ο ψευδάργυρος προστέθηκε στο διάλυμα τροφοδοσίας σε συγκέντρωση 100 mg/L. Η συγκέντρωση των ιόντων χαλκού και νικελίου ρυθμίστηκε σε 50 mg/L και 100 mg/L. Τα πειράματα αυτά εκτελέστηκαν με σταθερό χρόνο παραμονής 9 ωρών.

Προκειμένου να επιτευχθεί αυτός ο χρόνος παραμονής, η παροχή του διαλύματος προς επεξεργασία στον αντιδραστήρα πρέπει να είναι  $\sim 7$  L/d. Έτσι, αν η παροχή του πυκνού διαλύματος της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων οριστεί σταθερή και ίση με 1 L/d και η γραμμομοριακή αναλογία γαλακτικών:θειικών ιόντων ίση με 0,67, με βάση τα ισοζύγια μάζας, υπολογίζονται οι επιμέρους συγκεντρώσεις και παροχές σχεδιασμού για τις δύο περιπτώσεις φόρτισης των τεσσάρων μετάλλων (Πίνακας 6.1).

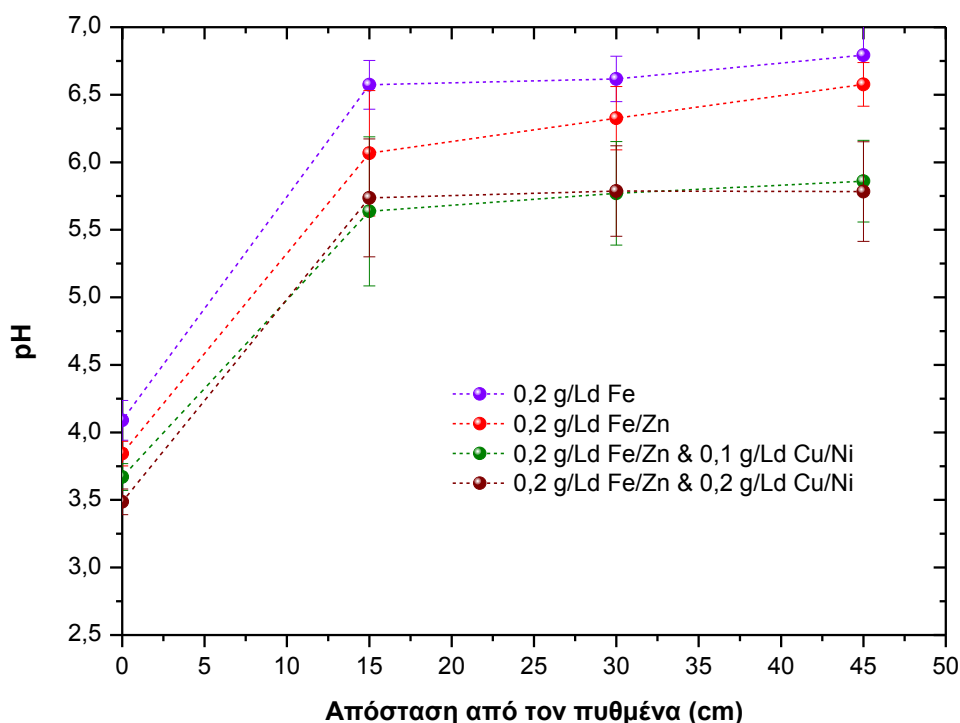
Πίνακας 6.1. Συγκεντρώσεις και παροχές σχεδιασμού

Παράμετρος σχεδιασμού	Περίπτωση φόρτισης 0,2 g/Ld Fe-Zn 0,1 g/Ld Cu-Ni	0,2 g/Ld Fe-Zn 0,2 g/Ld Cu-Ni
<i>Πριν την ανάμιξη</i>		
Παροχή διαλύματος πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων (L/d)	1	1
Συγκέντρωση γαλακτικών ιόντων (g/L)	6,0	6,3
Συγκέντρωση ολικού οργανικού άνθρακα (g/L)	2,4	2,5
Παροχή διαλύματος θειικών και μετάλλων (L/d)	5,67	5,67
Συγκέντρωση θειικών ιόντων (mg/L)	1.711 (17,8)	1.793 (18,7)
Τιμή pH διαλύματος θειικών και μετάλλων	2,5-3	2,5-3
<i>Μετά την ανάμιξη</i>		
Παροχή διαλύματος εισόδου (L/d)	6,67	6,67
Συγκέντρωση γαλακτικών ιόντων (mg/L)	903 (10)	947 (11)
Συγκέντρωση ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L)	365,40	382,86
Συγκέντρωση θειικών ιόντων (mg/L)	1.454 (15)	1.524 (16)
Τιμή pH διαλύματος θειικών και μετάλλων	3,5-4	3,5-4

\* Με έντονη γραμματοσειρά σημειώνονται οι παράμετροι που θεωρήθηκαν σταθερές κατά την επίλυση των ισοζυγίων μάζας.

\*\*Σε παρένθεση δίνονται οι συγκεντρώσεις σε mM.

Τα προφίλ μεταβολής του pH (Σχήμα 6.1) και της συγκέντρωσης θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα (Σχήμα 6.2) συναρτήσει της απόστασης από τον πυθμένα του αντιδραστήρα υποδεικνύουν ότι η αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης χαλκού και νικελίου, από τα 50 mg/L στα 100 mg/L, δεν επηρεάζει σημαντικά τη διεργασία. Ωστόσο, η προσθήκη των δύο αυτών μετάλλων στο διάλυμα τροφοδοσίας που περιέχει ήδη δισθενή σίδηρο και ψευδάργυρο σε συγκέντρωση 100 mg/L φαίνεται να έχει επιβραδυντική επίδραση στο μεταβολισμό των βακτηρίων και, κατά συνέπεια, στη θειοαναγωγική διαδικασία.



Σχήμα 6.1. Καθ' ύψος μεταβολή του pH στον Αντιδραστήρα II για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου

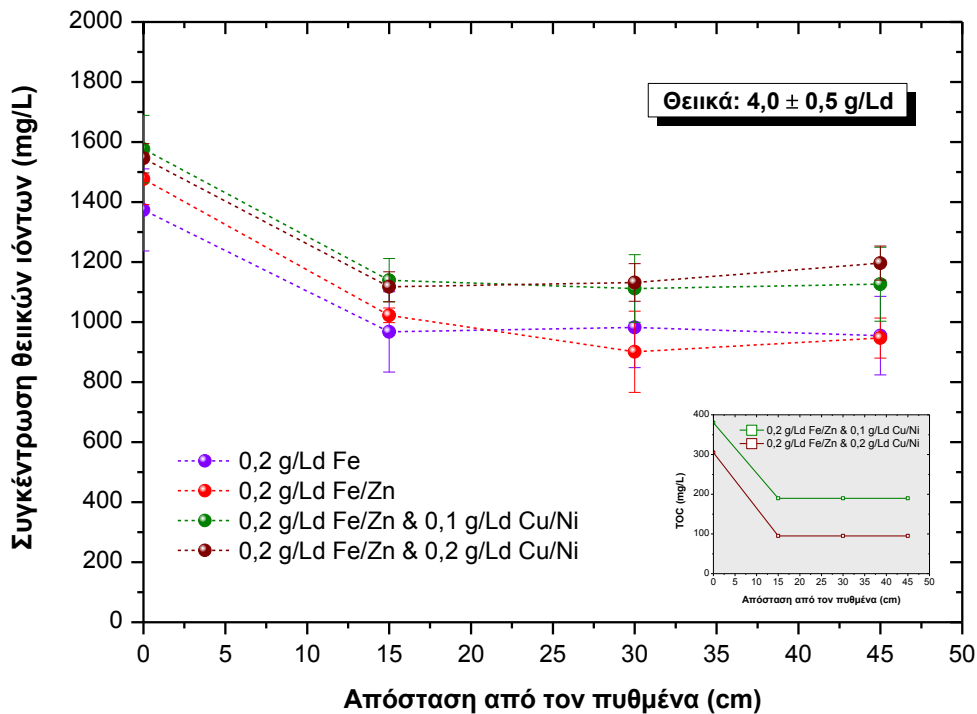
Από το Σχήμα 6.2 προκύπτει ότι, σε κάθε περίπτωση φόρτισης μετάλλων, η αναγωγή των θειικών ιόντων, καθώς και η συνακόλουθη οξείδωση του γαλακτικού προς οξικό<sup>48</sup>, ολοκληρώνεται στα πρώτα 15 cm της κλίνης του αντιδραστήρα. Από τα πειραματικά αποτελέσματα (Σχήμα 6.2) και τους θεωρητικούς υπολογισμούς (Πίνακας 6.2<sup>49</sup>), προκύπτει ότι η αναγωγή των θειικών ιόντων διακόπτεται σε ποσοστό 28% ανεξάρτητα από τη διαθεσιμότητα γαλακτικών ή οξικών ιόντων στο διάλυμα.

Εφόσον το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρήθηκε στον πρώτο κύκλο πειραμάτων (κεφάλαιο 5), από όπου συλλέχθηκε το εμβόλιο του παρόντος Αντιδραστήρα II, μπορούμε ενδεχομένως να

<sup>48</sup> Η πραγματική αρχική συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα απέχει από τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη (Πίνακας 4.8), καθώς είναι κατά 5% υψηλότερη στην πρώτη περίπτωση φόρτισης μετάλλων και κατά 20% χαμηλότερη στη δεύτερη.

<sup>49</sup> Η διαφορά μεταξύ του πειραματικά προσδιοριζόμενου και του θεωρητικά υπολογιζόμενου υπολειπόμενου οργανικού άνθρακα παραμένει συγκρίσιμη με αυτή που παρατηρήθηκε κατά τον πρώτο κύκλο δοκιμών (Πίνακας 5.1).

συμπεράνουμε ότι οφείλεται στην περιορισμένη ανάπτυξη λεπτού βιολογικού στρώματος θειοαναγωγικών βακτηρίων στα σωματίδια του πληρωτικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε σε αυτόν τον κύκλο. Έτσι, καταλήγουμε ότι το κεραμικό υλικό με τη σχετικά χαμηλή ειδική επιφάνεια (Πίνακας 4.1) δεν μπορεί να υποστηρίξει με επιτυχία τη θειοαναγωγική λειτουργία του μελετώμενου συστήματος, παρόλο που το κυλινδρικό σχήμα των σωματιδίων βοήθησε στην αποφυγή εμφράξεων της κλίνης.



Σχήμα 6.2. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα στον Αντιδραστήρα II για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου

Πίνακας 6.2. Θεωρητικός ποιοτικός χαρακτηρισμός του υπολειπόμενου οργανικού άνθρακα

Περίπτωση φόρτισης	Συγκέντρωση TOC (mg/L)		Συγκέντρωση θειικών (mg/L)		Συγκέντρωση θειικών που ανάχθηκαν (mM)		Υπόλοιπο οξικό (mM)	Ισοδύναμο TOC	
	0 cm	15 cm	0 cm	15 cm	γαλακτικό	οξικό		mg/L	%
0,2 g/Ld Fe-Zn 0,1 g/Ld Cu-Ni	382 (10,6)* (9,4)**	189	1.576 (4,5) ***	1.140	4,5 (4,5) *****	0 (0)	10,6 (8,4)	312 (216)	82 (57)
0,2 g/Ld Fe-Zn 0,2 g/Ld Cu-Ni	304 (8,4)* (7,5)**	92	1.546 (4,5) ***	1.118	4,2 (3,75)	0,3 (0,75)	8,1 (6,1)	194,4 (145,8)	64 (48)

\* Σε παρένθεση δίνεται η αρχική ισοδύναμη συγκέντρωση γαλακτικών ιόντων σε mM.

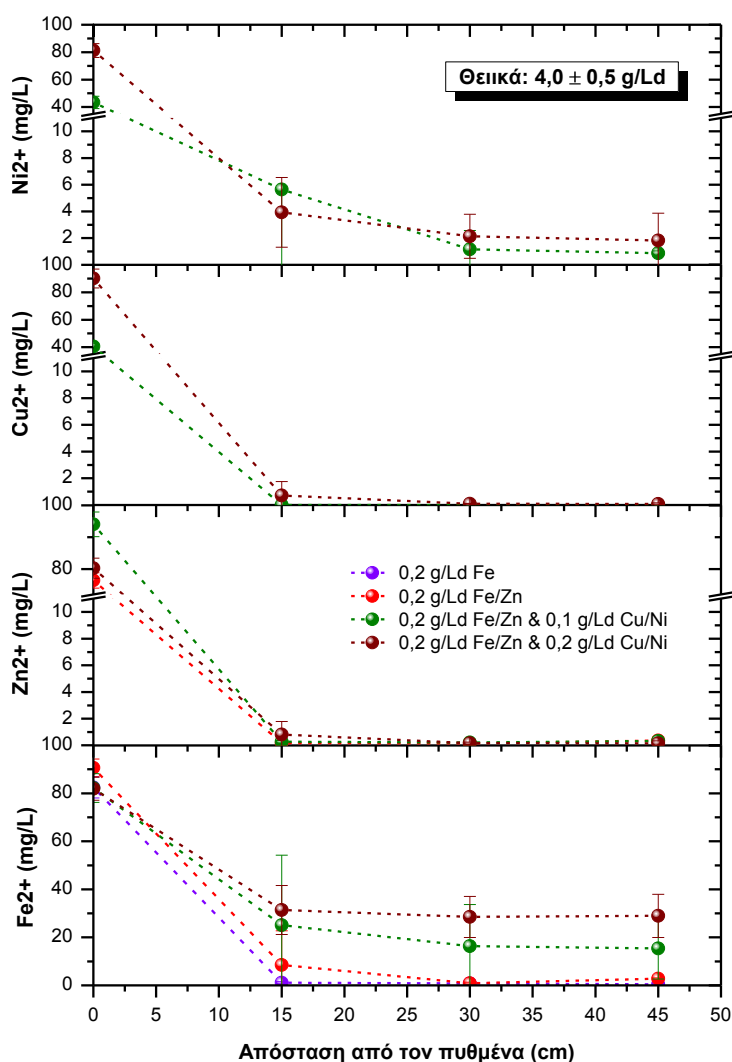
\*\* Σε παρένθεση και με πλάγια γραμματοσειρά σημειώνονται οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις γαλακτικού, οξικού και θειικών αφού ληφθεί υπόψη η κατανάλωση οργανικού άνθρακα για τη σύνθεση κυτταρικού υλικού.

\*\*\* Σε παρένθεση δίνεται η συγκέντρωση των θειικών που ανάχθηκαν έως τα 15 cm από τον πυθμένα σε mM.

\*\*\*\* Για κάθε 1 mole γαλακτικού που οξειδώνεται, ανάγεται ½ mole θειικών και σχηματίζεται 1 mole οξικού (αντίδραση (2.25)) ενώ, για κάθε 1 mole οξικού που οξειδώνεται, ανάγεται 1 mole θειικών (αντίδραση (2.21)).

\*\*\*\*\* Σε αυτή την περίπτωση, δεν οξειδώνεται όλη η αρχική συγκέντρωση γαλακτικού, με αποτέλεσμα να προστίθενται στην τελική συγκέντρωση οργανικού άνθρακα 1,6 (0,4) mM γαλακτικών ιόντων που ισοδυναμούν με 57,6 (14,4) mg/L TOC.

Η περιορισμένη θειοαναγωγική δραστηριότητα έχει, προφανώς, ως αποτέλεσμα την περιορισμένη παραγωγή θειούχων ιόντων (~145 mg/L) έτσι ώστε τα θειούχα που παράγονται κατά την αναγωγή 4,5 mM θειικών να μην επαρκούν για την ποσοτική καταβύθιση των τεσσάρων εξεταζόμενων μετάλλων ως FeS<sub>2</sub>, ZnS, CuS και NiS. Ωστόσο, από το Σχήμα 6.3 προκύπτει ότι, για ίσο ρυθμό φόρτισης των τεσσάρων μετάλλων (0,2 g/L·d), χαλκός και ψευδάργυρος καταβυθίζονται ποσοτικά, το νικέλιο καταβυθίζεται σε ποσοστό >97% ενώ το 35% της αρχικής συγκέντρωσης δισθενούς σιδήρου παραμένει στο ρεύμα εξόδου (pH 5,6-5,7) του αντιδραστήρα.



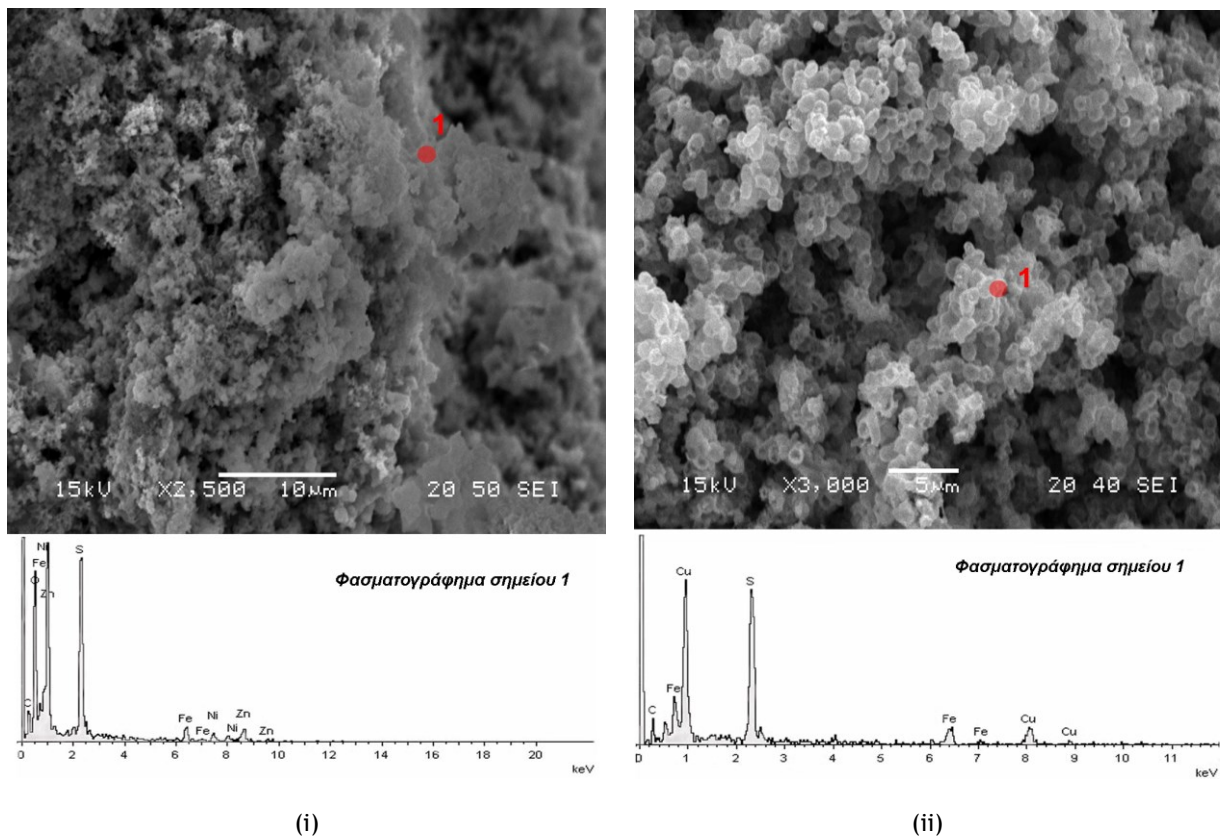
Σχήμα 6.3. Καθ' ύψος μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων στον Αντιδραστήρα II για διαφορετικούς ρυθμούς φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου

Επίσης, από το Σχήμα 6.3, προκύπτει με σαφήνεια η σειρά καταβύθισης των τεσσάρων μετάλλων ως εξής: Cu > Zn > Ni > Fe, σε πλήρη συμφωνία με τη σειρά διαλυτότητας των αντίστοιχων θειούχων ενώσεων (Πίνακας 2.15) και τα ευρήματα ερευνητικών εργασιών με θειοαναγωγικά βακτήρια (Jong *et al.*, 2003; Samaranyake *et al.*, 2002). Εκτός από την

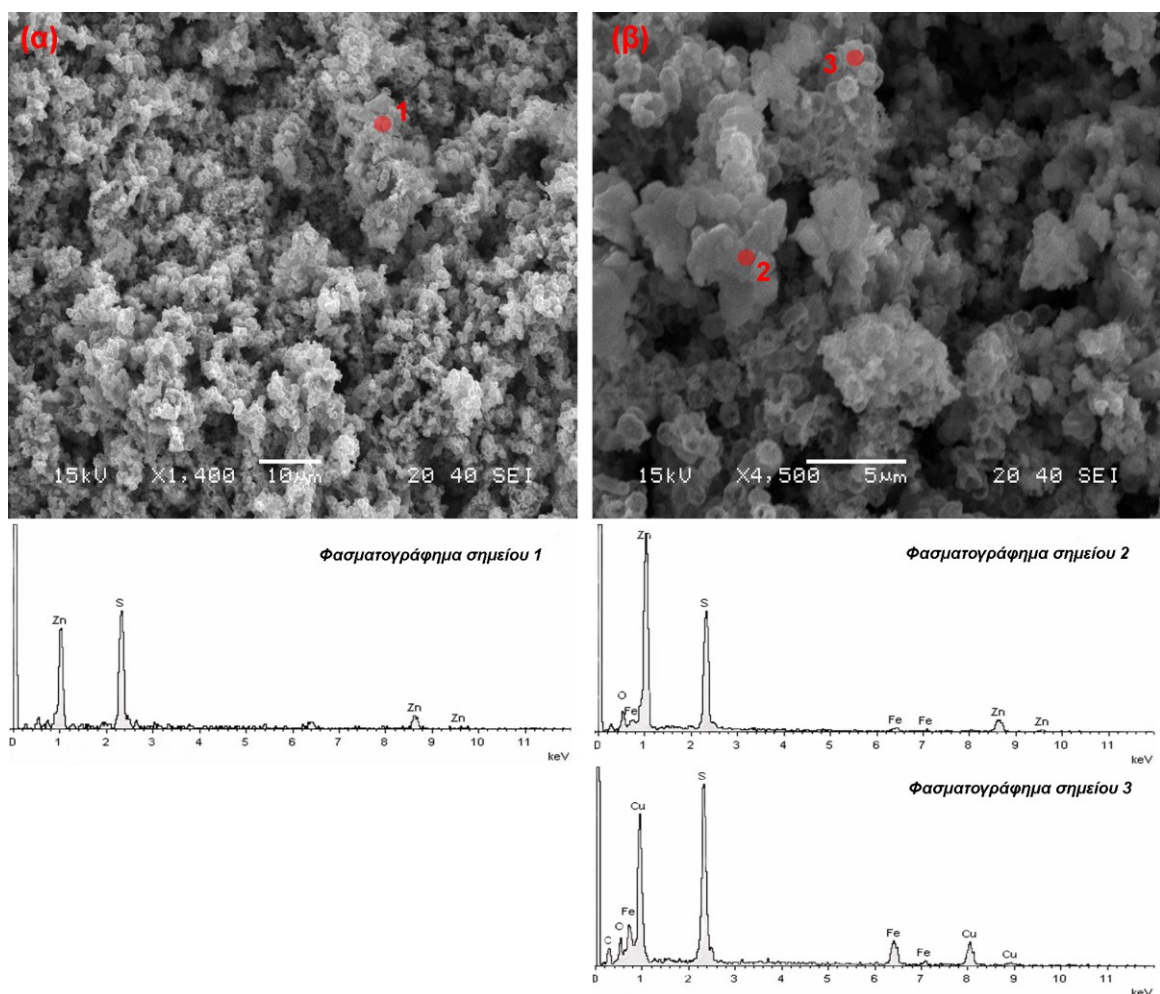
υψηλότερη διαλυτότητα του FeS που αναγκάζει το σίδηρο να καταβυθίζεται τελευταίος, δεσμεύοντας το υπόλοιπο των διαθέσιμων διαλελυμένων θειούχων, η κατακρήμνιση των θειούχων ενώσεων του δισθενούς σιδήρου περιορίζεται και από το σχετικά χαμηλό pH του διαλύματος, όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 5.3.

### 6.3. Μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση στερεών κατακρημνισμάτων

Κατά την παρατήρηση και την ποιοτική χημική ανάλυση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, διαπιστώθηκε η κατακρήμνιση λεπτομερών στερεών σωματιδίων μικτών θειούχων ενώσεων σιδήρου-ψευδαργύρου-νικελίου (Εικόνα 6.1(i)) αλλά και ο σχηματισμός σχεδόν καθαρών θειούχων ενώσεων χαλκού (Εικόνα 6.1(ii)) και ψευδαργύρου (Εικόνα 6.2).



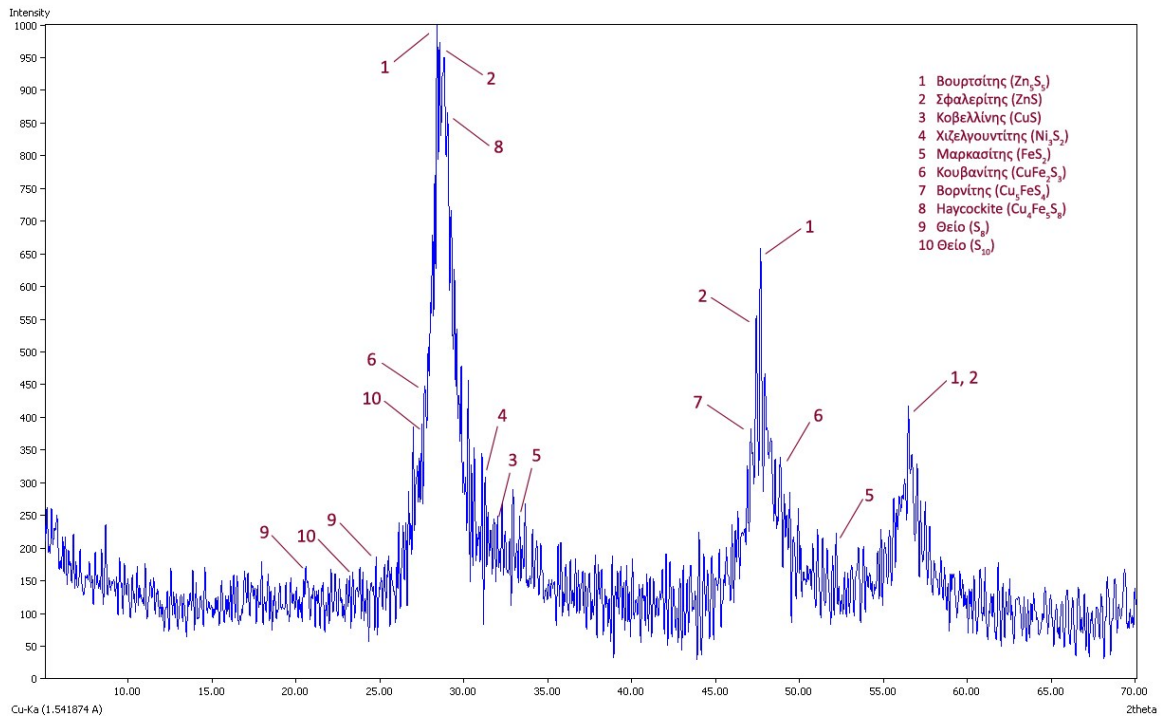
Εικόνα 6.1. Παρατήρηση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων. Εντοπισμός (i) μικτών θειούχων ενώσεων σιδήρου-ψευδαργύρου-νικελίου και (ii) σχεδόν καθαρών, θειούχων ενώσεων χαλκού



Εικόνα 6.2. Παρατήρηση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων. Εντοπισμός, σχεδόν καθαρών, θειούχων ενώσεων ψευδαργύρου

Στο ακτινοδιάγραμμα του δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του Αντιδραστήρα II (Σχήμα 6.4), παρόλο που κυριαρχούν οι άμορφες φάσεις, αναγνωρίζονται και κορυφές (Πίνακας 6.3) που αντιστοιχούν σε κρυσταλλικό μαρκασίτη ( $\text{FeS}_2$ ), βουρσίτη και σφαλερίτη ( $\text{ZnS}$ ), όπως και στην ιλύ του Αντιδραστήρα I (ενότητα 5.5.2), αλλά και κοβελλίνη ( $\text{CuS}$ ) και χιζελγουντίτη ( $\text{Ni}_3\text{S}_2$ ). Ημικρυσταλλικός κοβελλίνης αναγνωρίστηκε στα στερεά κατακρημνίσματα που προέκυψαν με βιολογικά υποβοηθούμενο τρόπο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, στο πλαίσιο θειοαναγωγικής διεργασίας (Gramp *et al.*, 2006; Karnachuk *et al.*, 2008). Ο σχηματισμός χιζελγουντίτη συμφωνεί με τα ευρήματα εργασίας χαρακτηρισμού των θειούχων κατακρημνισμάτων νικελίου με χημικό (Okuwaki *et al.*, 1984) αλλά και βιολογικό (Gramp *et al.*, 2007) τρόπο.

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των στερεών κατακρημνισμάτων με XRD και SEM-EDS επιβεβαιώνουν την επικράτηση άμορφων φάσεων των θειούχων ενώσεων των μετάλλων, φαινόμενο που παρατηρήθηκε και στον προηγούμενο κύκλο δοκιμών (ενότητα 5.5.2).



Σχήμα 6.4. Ακτινοδιάγραμμα δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα II, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του

Πίνακας 6.3. Κύριες κρυσταλλικές φάσεις στην ιλύ του Αντιδραστήρα II

Στοιχείο	Κύρια κρυσταλλική φάση	Χημικός τύπος	Κρυσταλλικό σύστημα	Κύρια κορυφή ακτινοδιαγράμματος
Zn	Βουρτσίτης	Zn <sub>5</sub> S <sub>5</sub>	εξαγωνικό	1: 28,42° (3,1556 Å)
	Σφαλερίτης	ZnS	κυβικό	2: 28,56° (3,1261 Å)
Cu	Κοβελλίνης	CuS	ορθορομβικό	3: 32,00° (2,7952 Å)
Ni	Χιζεργουντίτης	Ni <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	ρομβοεδρικό	4: 31,28° (2,8656 Å)
Fe(II)	Μαρκασίτης	FeS <sub>2</sub>	ορθορομβικό	5: 33,32° (2,6936 Å)

#### 6.4. Συμπεράσματα

Μετά την ολοκλήρωση του δεύτερου κύκλου δοκιμών και τη μελέτη της λειτουργίας του αντιδραστήρα ακινητοποιημένης βιομάζας, έγινε σαφές ότι ο υπάρχων πληθυσμός των θειοαναγωγικών βακτηρίων μπορεί να επιδείξει ανοχή σε αρχικές συγκεντρώσεις δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου έως και 100 mg/L.

Από τη μελέτη της απομάκρυνσης των μετάλλων από την υδατική φάση, προκύπτει με σαφήνεια η σειρά καταβύθισης των τεσσάρων μετάλλων ως εξής:  $Cu > Zn > Ni > Fe$ , σε πλήρη συμφωνία με τη σειρά διαλυτότητας των αντίστοιχων θειούχων ενώσεων. Στη δε παραγόμενη ιλύ βρέθηκε ότι κυριαρχούν οι άμορφες φάσεις αλλά, κατά την ανάλυση XRD, αναγνωρίστηκαν και κορυφές που αντιστοιχούν σε κρυσταλλικό μαρκασίτη ( $FeS_2$ ), βουρτσιτή και σφαλερίτη ( $ZnS$ ), κοβελλίνη ( $CuS$ ) και κιζελγουντίτη ( $Ni_3S_2$ ).

Το χαμηλό ποσοστό αναγωγής (28%) των θειικών ιόντων του διαλύματος προς επεξεργασία αποδίδεται στην έλλειψη μικροβιακού πληθυσμού ικανοποιητικής πυκνότητας και, κατ' επέκταση, στην αδυναμία της επιφάνειας των σωματιδίων του νέου πληρωτικού υλικού να υποστηρίξει την ανάπτυξη ικανού στρώματος θειοαναγωγικών βακτηρίων. Έτσι, παρόλο που το κυλινδρικό σχήμα των σωματιδίων βελτίωσε την υδραυλική σταθερότητα του αντιδραστήρα, το υλικό κατασκευής τους δεν ευνόησε την ακινητοποίηση των βακτηρίων στην κλίνη. Επομένως, το θέμα της εύρεσης πληρωτικού υλικού παραμένει προς διερεύνηση στους επόμενους κύκλους δοκιμών.

Όσο δε αφορά το διάγραμμα ροής που εξετάστηκε στον παρόντα κύκλο δοκιμών και παρόλο που θεωρητικά εξασφαλίζει μεγαλύτερη ευελιξία ως προς το χειρισμό των αρχικών συγκεντρώσεων των αντιδρώντων συστατικών, απαιτείται εξοπλισμός ειδικών προδιαγραφών (π.χ. αντλίες με δυνατότητα μικρορύθμισης, εξασφάλιση αναερόβιων συνθηκών στο σχεδιασμό της διαδρομής εισαγωγής) και προσεκτικός έλεγχος των βιολογικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα (π.χ. ενδεχόμενη ζύμωση στο δοχείο του πυκνού διαλύματος θρεπτικού υποστρώματος). Επειδή έτσι αποκλίνουμε από τον αρχικό στόχο του σχεδιασμού ενός απλού συστήματος με όσο το δυνατό χαμηλότερο κόστος εξοπλισμού, στους επόμενους κύκλους δοκιμών επιλέγεται η απλουστευμένη μορφή εισαγωγής κοινού διαλύματος μετάλλων, θειικών και πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων.



# 7

## Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών III

---

Στον τρίτο κύκλο δοκιμών<sup>50</sup> διερευνήθηκε η δυνατότητα προσαρμογής του ήδη αναπτυγμένου μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διαφορετική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (αιθανόλη) και μελετήθηκε η απόδοση του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, με ακινητοποιημένη βιομάζα, σε συνθήκες διαλείποντος έργου και στοιχειομετρικής αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων. Τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών έδειξαν την εκλεκτική προσαρμογή ειδών του μικροβιακού πληθυσμού στην αιθανόλη, με αποτέλεσμα να επικρατήσει το είδος *Desulfobacter postgatei* στο θειοαναγωγικό πληθυσμό της κλίνης του αντιδραστήρα. Με βάση αυτό το πειραματικό αποτέλεσμα, δόθηκε ποσοτική απάντηση στο ερώτημα του πραγματικά απαιτούμενου οργανικού άνθρακα για την αποδοτική εφαρμογή της διεργασίας.<sup>51</sup>

### 7.1. Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών

Στον τρίτο κύκλο δοκιμών (Σχήμα 4.1) διερευνήθηκε η δυνατότητα προσαρμογής ενός μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διαφορετική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκε η αιθανόλη για τους λόγους που αναφέρθηκαν προηγούμενα (ενότητα 4.3.1). Στη συνέχεια, μελετήθηκε η απόδοση θειοαναγωγικού αντιδραστήρα σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, με ακινητοποιημένη βιομάζα, σε συνθήκες διαλείποντος έργου (ενότητα 4.2.2, *Αντιδραστήρας*) και στοιχειομετρικής αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων.

---

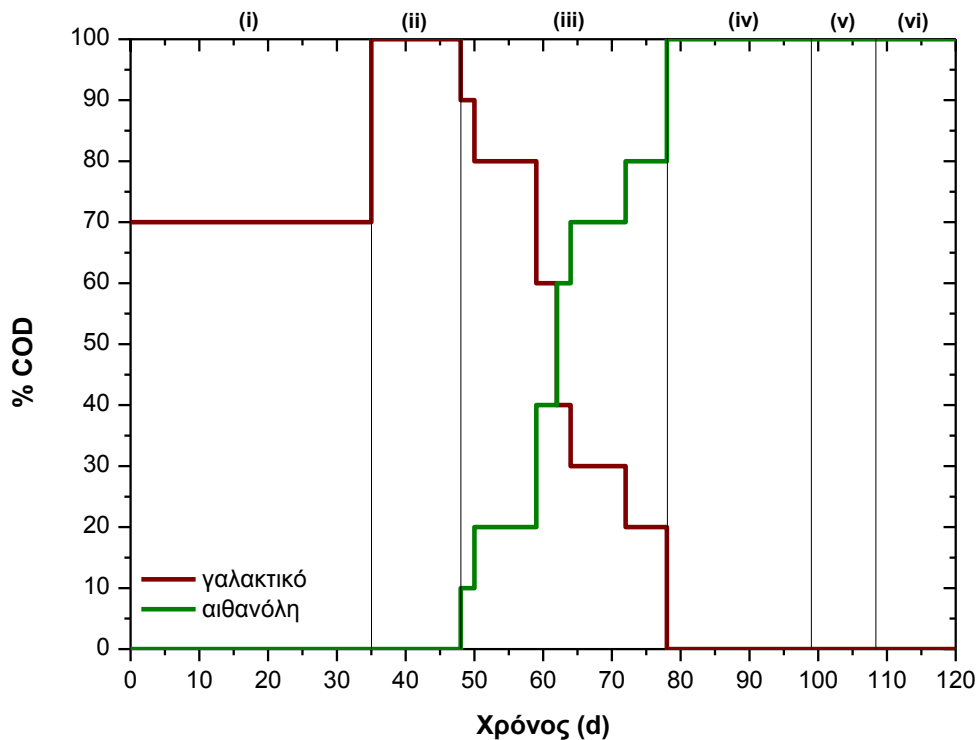
<sup>50</sup> Μέρος των πειραμάτων του τρίτου κύκλου δοκιμών της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκαν από την κ. Βασιλική Κουστένη, διπλωματούχο Βιολόγο, στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής της εργασίας για το ΔΠΜΣ «Περιβάλλον και Ανάπτυξη», η οποία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο κατά το ακαδημαϊκό έτος 2008-2009 (Κουστένη, 2009).

<sup>51</sup> Τα αποτελέσματα αυτού του κύκλου δοκιμών συμπεριλήφθηκαν σε μία εργασία που έγινε δεκτή για δημοσίευση, μετά από κρίση, στο επιστημονικό περιοδικό *Journal of Hazardous Materials* (Kousi *et al.*, 2011a).

Για το σκοπό αυτό, κατασκευάστηκε αντιδραστήρας (III, Πίνακας 4.2 και Σχήμα 4.2(iii)) που πληρώθηκε με σωματίδια αδρανούς υλικού (Γ, Πίνακας 4.1 και Εικόνα 4.1(iii)) για την ακινητοποίηση της βιομάζας.

Το υλικό αυτό συνδυάζει τις ιδιαίτερες γεωμετρικές ιδιότητες του υλικού Β με την υψηλή ειδική επιφάνεια του υλικού Α. Επομένως, αναμένεται να διευκολύνει την ανάπτυξη του επιθυμητού βιολογικού στρώματος, εξασφαλίζοντας παράλληλα την υδραυλική σταθερότητα του αντιδραστήρα. Για τους παραπάνω λόγους, επιλέχθηκε να δοκιμαστεί στο πλαίσιο του παρόντος κύκλου δοκιμών παρά το υψηλότερο κόστος του συγκριτικά με το υλικό Β.

Ως εμβόλιο, χρησιμοποιήθηκε ικανή ποσότητα πληρωτικού υλικού με ήδη αναπτυγμένο λεπτό βιολογικό στρώμα γνωστού μικροβιακού πληθυσμού (ενότητα 5.6), που λήφθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα Ι (κεφάλαιο 5). Για την ανάπτυξη και εγκατάσταση ικανού θειοαναγωγικού πληθυσμού, χρησιμοποιήθηκε το βασικό θρεπτικό διάλυμα όπου κύρια πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων είναι το γαλακτικό ιόν (Πίνακας 4.5). Μετά την επιτυχή εγκατάσταση του ζητούμενου πληθυσμού, αρχικά, καταργήθηκε η τροφοδοσία παραγώγου κυττάρων ζύμης και, στη συνέχεια, έγινε σταδιακή αντικατάσταση του γαλακτικού με αιθανόλη ως ποσοστό του συνολικού COD που τροφοδοτούνταν στο σύστημα (Σχήμα 7.1). Η διαδικασία αυτή ολοκληρώθηκε σε 30 ημέρες ενώ οι φάσεις ανάπτυξης και προσαρμογής του πληθυσμού στις τελικές συνθήκες λειτουργίας του αντιδραστήρα διήρκεσαν συνολικά 115 ημέρες (Πίνακας 7.1).



Σχήμα 7.1. Σταδιακή αλλαγή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων στην τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III

Πίνακας 7.1. Φάσεις ανάπτυξης και προσαρμογής πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων Αντιδραστήρα III

Φάση	Διάρκεια (d)	Πηγή άνθρακα/ ηλεκτρονίων	Ρύθμιση αρχικού pH	Λόγος $\frac{\text{ThOD}}{\text{SO}_4^{2-}}$	Μέταλλα σε αρχική συγκέντρωση 100 mg/L
(i)	35	γαλακτικό & παράγωγο ζύμης	OXI	--	Fe
(ii)	13	γαλακτικό	OXI	1,11	Fe
(iii)	30	γαλακτικό → αιθανόλη	OXI	1,11	Fe
(iv)	21	αιθανόλη	OXI	1,11	Fe
(v)	9	αιθανόλη	NAI (3,0-3,5)	1,11	Fe, Zn, Cu, Ni
(vi)	7	αιθανόλη	NAI (3,0-3,5)	0,67	Fe, Zn, Cu, Ni

Στο διάγραμμα ροής του Αντιδραστήρα III (Σχήμα 4.2(iii)), επιλέχθηκε η λειτουργία του αντιδραστήρα σε συνθήκες διαλείποντος έργου με ανακυκλοφορία 300 mL/h από φιάλη 2 L και ανανέωση του εξαντλημένου διαλύματος τροφοδοσίας χωρίς εκκένωση της στήλης, προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν φαινόμενα οξειδωσης λόγω της διείσδυσης αέρα. Ο κύκλος αυτός διήρκεσε 12 μήνες και όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ελεγχόμενη θερμοκρασία δωματίου (-25 °C).

Κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα, γινόταν συστηματική λήψη δειγμάτων από το νέο διάλυμα τροφοδοσίας και την έξοδο της κλίνης. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη λειτουργία του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα και την παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος

- κατά τη διαδικασία προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη καθώς και στο πλαίσιο κινητικής μελέτης σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής (ενότητα 7.2)
- κατά την τροφοδοσία του αντιδραστήρα με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στο πλαίσιο κινητικής μελέτης (ενότητα 7.3)

Επίσης, στο πλαίσιο αυτού του κύκλου δοκιμών επαναλήφθηκε ο χαρακτηρισμός του βακτηριακού πληθυσμού του αντιδραστήρα (ενότητα 7.4) και πραγματοποιήθηκε μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση των στερεών κατακρημνισμάτων (ενότητα 7.5).

## 7.2. Προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη

Από τη συστηματική παρακολούθηση του αντιδραστήρα κατά τη διαδικασία προσαρμογής του πληθυσμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων σε αιθανόλη, όξινο διάλυμα τροφοδοσίας, παρουσία τεσσάρων μετάλλων (Fe, Zn, Cu, Ni) σε αρχική συγκέντρωση 100 mg/L και περιορισμένη διαθεσιμότητα οργανικού υποστρώματος, διαπιστώθηκε ότι η σταδιακή αλλαγή της σύστασης του διαλύματος τροφοδοσίας δεν παρεμποδίζει τη δράση των θειοαναγωγικών βακτηρίων καθώς παρατηρήθηκε εξουδετέρωση της οξύτητας (Σχήμα 7.2 και Σχήμα 7.3), αναγωγή των θειικών ιόντων (Σχήμα 7.4 και Σχήμα 7.5), αποικοδόμηση της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων<sup>52</sup> (Σχήμα 7.6 και Σχήμα 7.7) και απομάκρυνση των ιόντων μετάλλων (Σχήμα 7.8 και Σχήμα 7.9) του τροφοδοτούμενου διαλύματος.

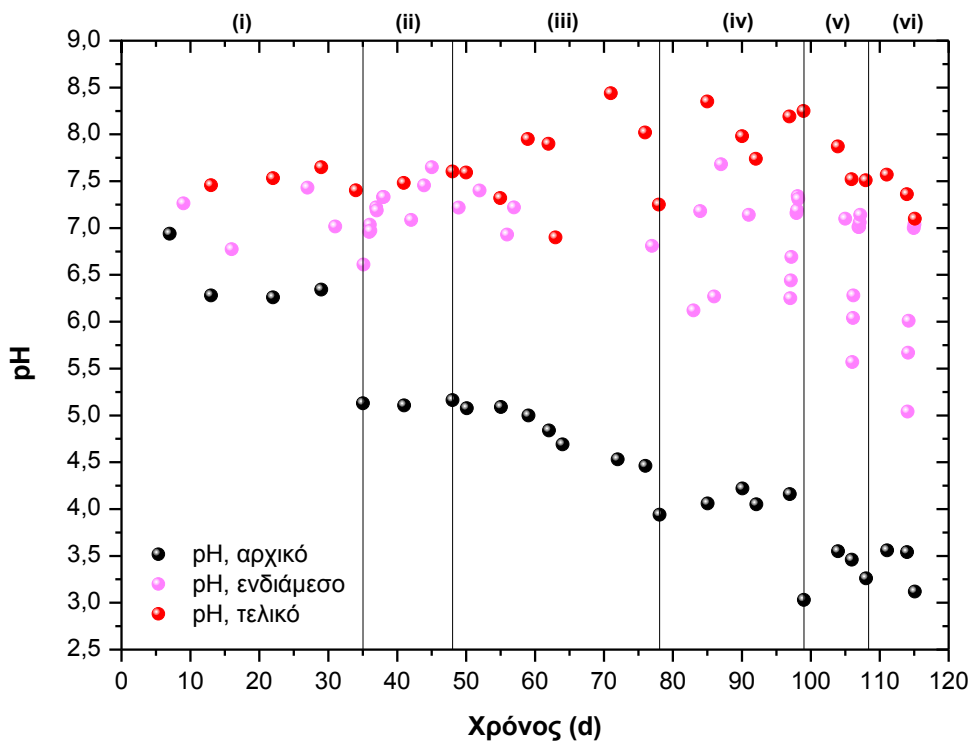
Το γεγονός ότι η απόδοση του αντιδραστήρα δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη σταδιακή μεταβολή της σύστασης του διαλύματος τροφοδοσίας επιβεβαιώνεται και από τα αντίστοιχα αποτελέσματα των πειραμάτων κινητικής μελέτης που πραγματοποιήθηκαν στο τέλος των φάσεων (ii), (iv), (v) και (vi) (Σχήμα 7.1 και Πίνακας 7.1) της διαδικασίας προσαρμογής του πληθυσμού των θειοαναγωγικών βακτηρίων σε νέες συνθήκες λειτουργίας. Ωστόσο, επειδή μεταξύ των πειραμάτων (ii) και (iv) μεσολάβησαν 51 ημέρες περίπου, με ενδεχόμενη διαφοροποίηση του βακτηριακού πληθυσμού, η κινητική στο τέλος της φάσης (ii) δεν λαμβάνεται υπόψη για την εξαγωγή συμπερασμάτων.

Από το Σχήμα 7.2 προκύπτει ότι, από όταν άρχισε η σταδιακή αντικατάσταση του γαλακτικού με αιθανόλη, μειώνεται το αρχικό (προ ρύθμισης) pH του νέου διαλύματος τροφοδοσίας του αντιδραστήρα. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο βασικό χαρακτήρα του γαλακτικού ιόντος καθώς και στη δυνατότητά του να συμπλοκοποιεί τα ιόντα των μετάλλων σε μεγάλο ποσοστό (ενότητα 4.3.2), με αποτέλεσμα την αντιστάθμιση του φαινομένου της υδρόλυσης των μεταλλοκατιόντων και της συνακόλουθης απελευθέρωσης υδρογονοκατιόντων.

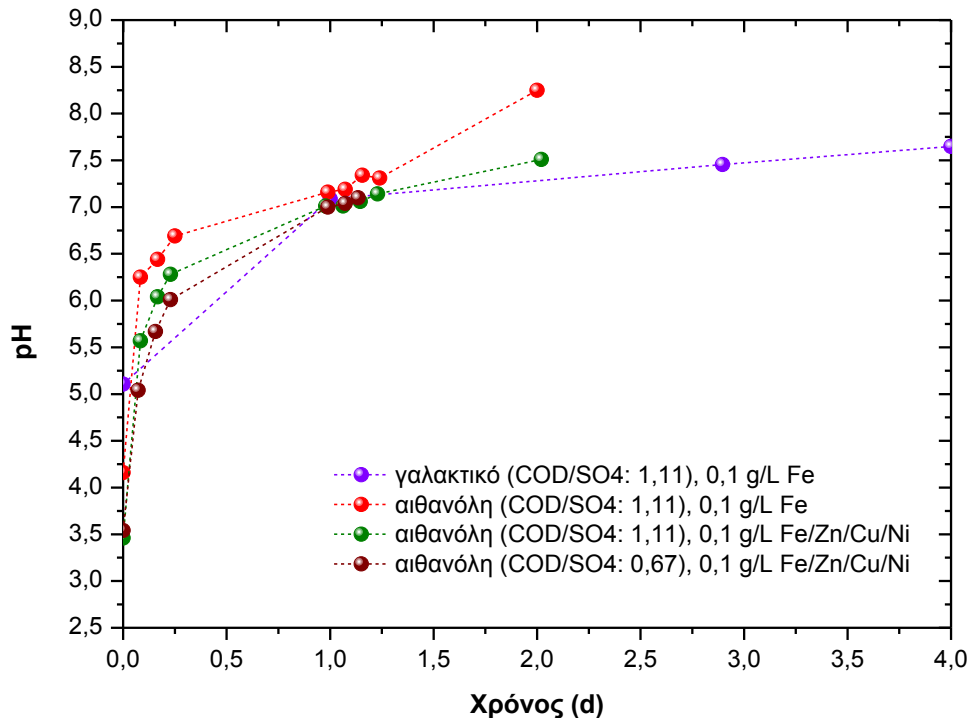
Από το Σχήμα 7.4 προκύπτει ότι η αναγωγή των θειικών ιόντων παύει να είναι ποσοτική από τη στιγμή που περιορίζεται η διαθεσιμότητα του οργανικού υποστρώματος στο διάλυμα τροφοδοσίας του αντιδραστήρα (φάση (vi)). Έτσι, από τη στιγμή που εφαρμόζεται στοιχειομετρική αναλογία αιθανόλης:θειικών ιόντων, το 25% της αρχικής συγκέντρωσης θειικών ιόντων παραμένει στο διάλυμα στο τέλος κάθε πειράματος. Ωστόσο, τα παραγόμενα θειούχα (480 mg/L) επαρκούν για την ποσοτική καταβύθιση των διαλελυμένων μετάλλων (Σχήμα 7.8).

---

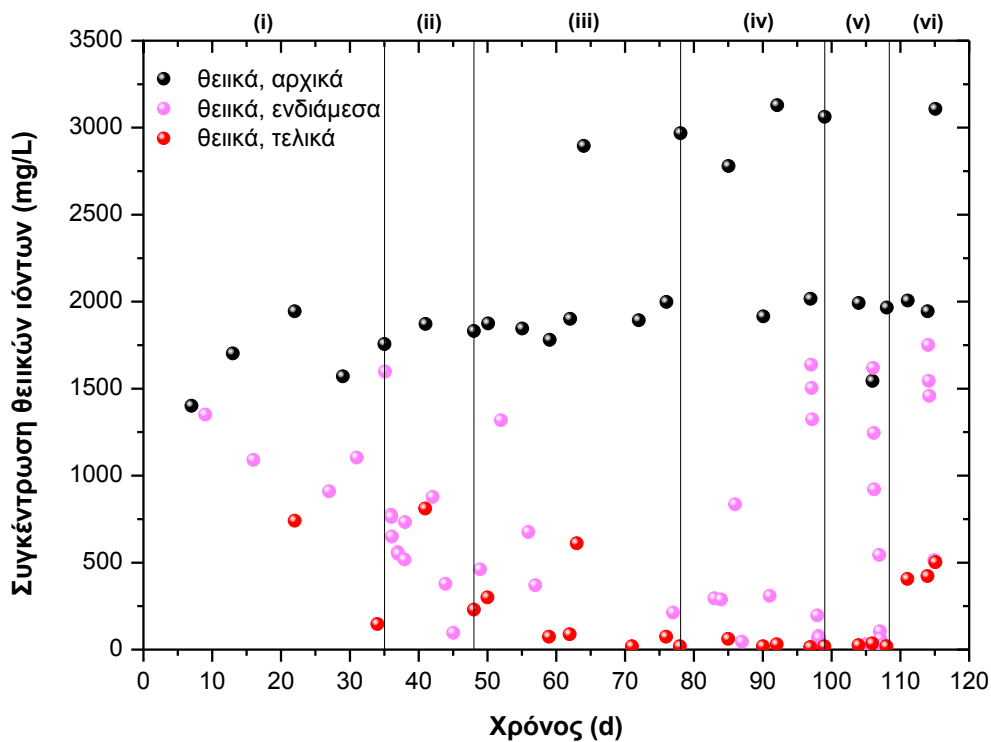
<sup>52</sup> Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, ο προσδιορισμός του οργανικού άνθρακα στο διάλυμα τροφοδοσίας του αντιδραστήρα πραγματοποιήθηκε μέσω μετρήσεων ολικού οργανικού άνθρακα (TOC, ενότητα 4.4.3) και χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD, (HachCompany, 1992a)) ανάλογα με τη διαθεσιμότητα των κατάλληλων αντιδραστηρίων στο Εργαστήριο.



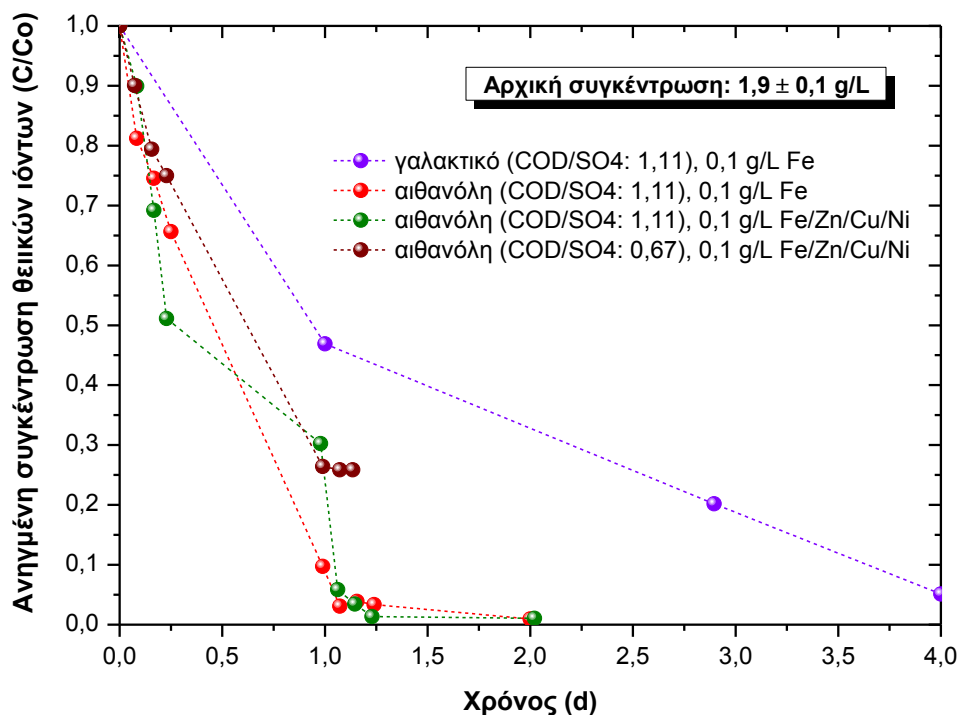
Σχήμα 7.2. Μεταβολή του pH κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη



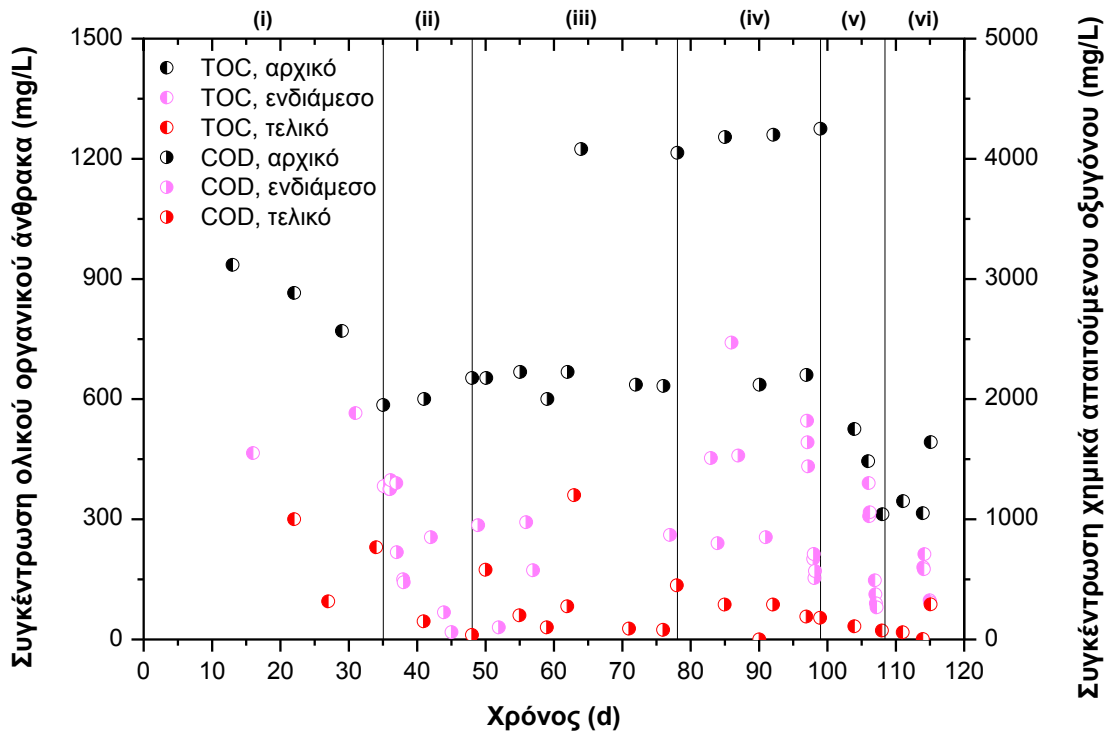
Σχήμα 7.3. Κινητική μελέτη pH σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη



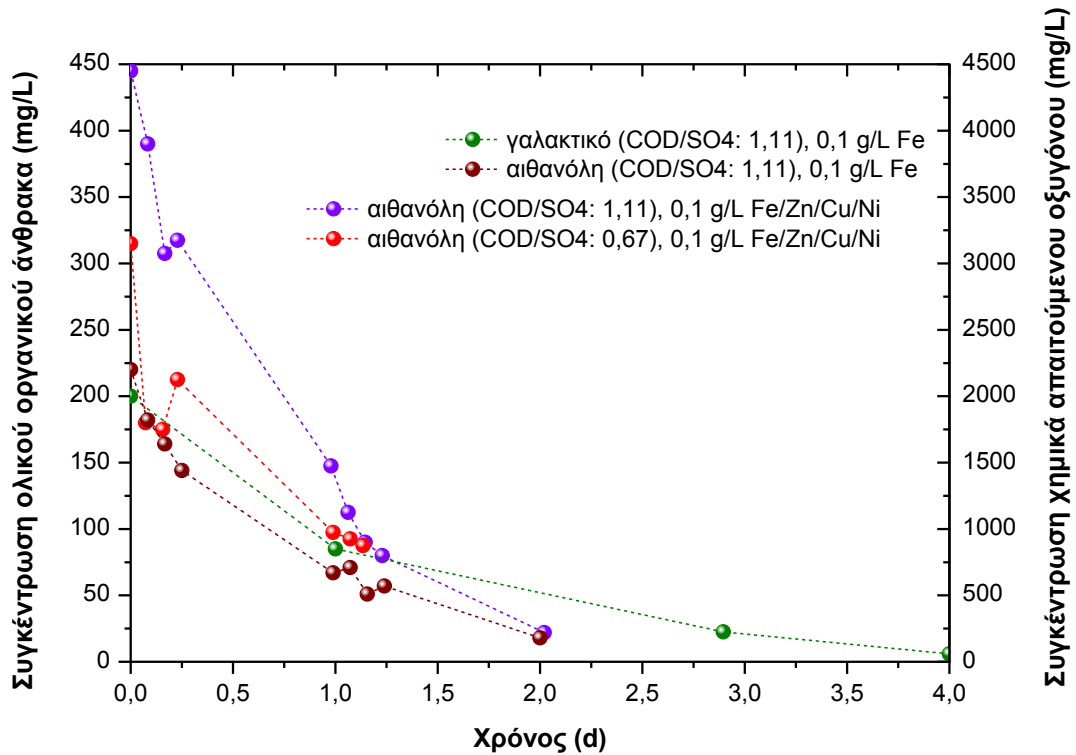
Σχήμα 7.4. Μεταβολή της συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη



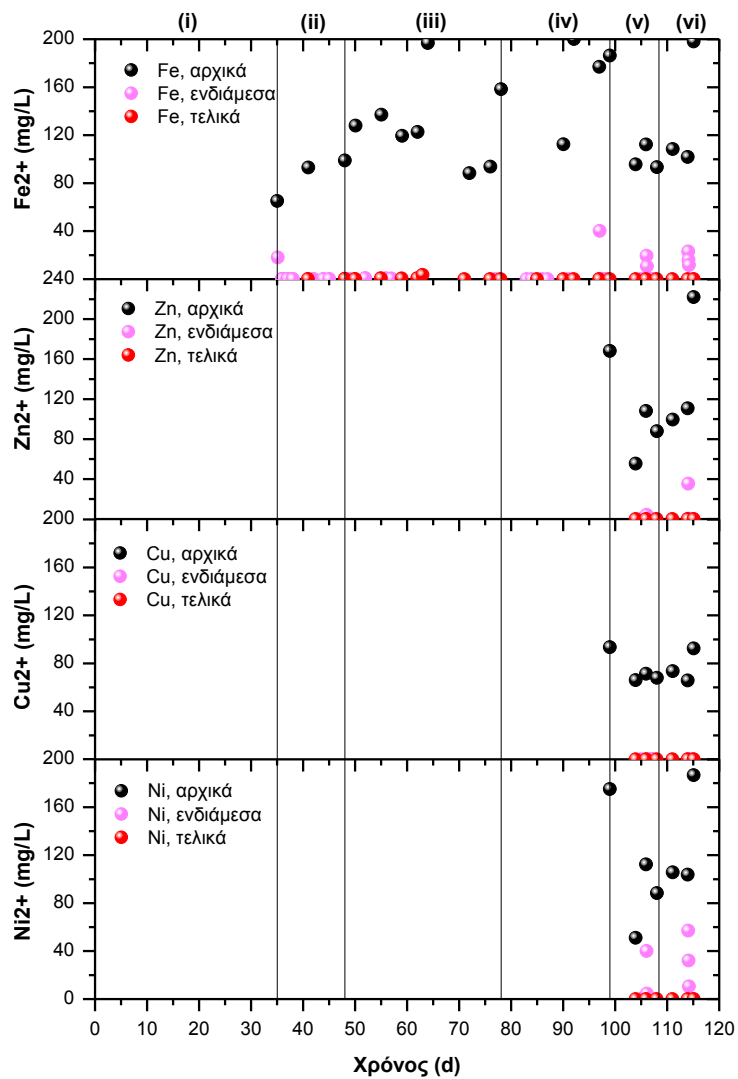
Σχήμα 7.5. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη



Σχήμα 7.6. Μεταβολή της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη

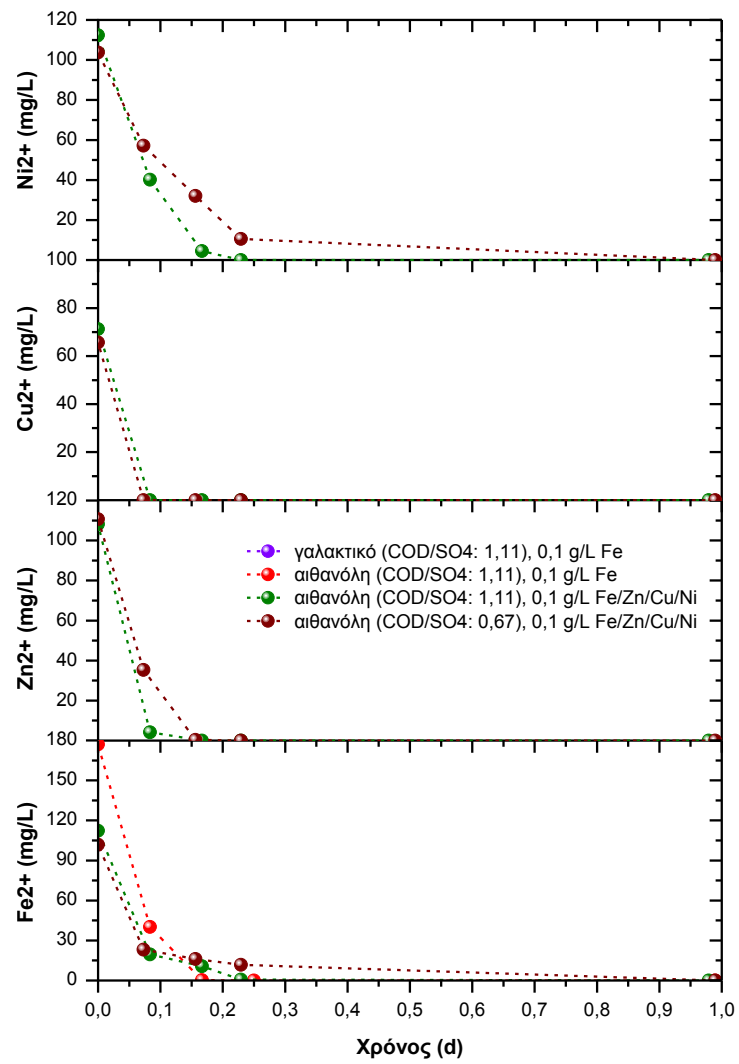


Σχήμα 7.7. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη



Σχήμα 7.8. Μεταβολή της συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την προσαρμογή του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη





Σχήμα 7.9. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη

### 7.3. Επίδραση της παροχής αιθανόλης σε στοιχειομετρική αναλογία και της συγκέντρωσης των ιόντων μετάλλων

Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων μελετήθηκε η μεταβολή των παραμέτρων ενδιαφέροντος συναρτήσει του χρόνου, από τη στιγμή της ανανέωσης του διαλύματος τροφοδοσίας, σε συνθήκες τροφοδοσίας του αντιδραστήρα με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και Fe(II), Zn, Cu και Ni σε συγκέντρωση 100 mg/L και 200 mg/L.

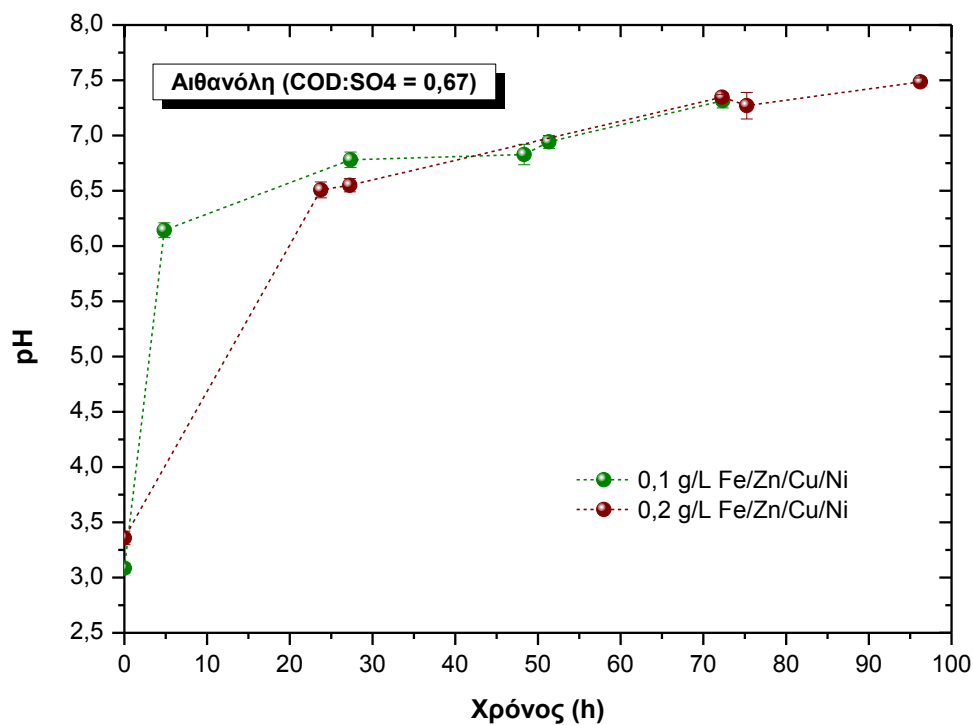
Από τη μεταβολή του pH συναρτήσει του χρόνου (Σχήμα 7.10), προκύπτει ότι, ενώ το pH του ρεύματος εισόδου είναι 3-3,5, το pH στην έξοδο του αντιδραστήρα προσεγγίζει τιμές περίπου 7,5 ως αποτέλεσμα της αλκαλικότητας που παράγεται κατά το μεταβολισμό των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Έτσι, επιβεβαιώνεται ότι

- το όξινο pH του ρεύματος εισόδου ούτε αναστέλλει ούτε επηρεάζει αρνητικά τη μεταβολική διαδικασία του θειοαναγωγικού πληθυσμού του αντιδραστήρα. Επομένως, επιβεβαιώνεται η δυνατότητα της βιολογικής παραγωγής θειούχων ιόντων για χαμηλές τιμές αρχικού pH και, ταυτόχρονα, η βιωσιμότητα και η αποδοτικότητα της διεργασίας κατά την απευθείας επαφή μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων με όξινο διάλυμα (Elliott *et al.*, 1998; Johnson *et al.*, 2006; Kimura *et al.*, 2006).
- ο βακτηριακός πληθυσμός προσαρμόστηκε με επιτυχία στην αλλαγή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων καθώς και σε αρχικές συγκεντρώσεις των τεσσάρων μετάλλων έως και 200 mg/L.

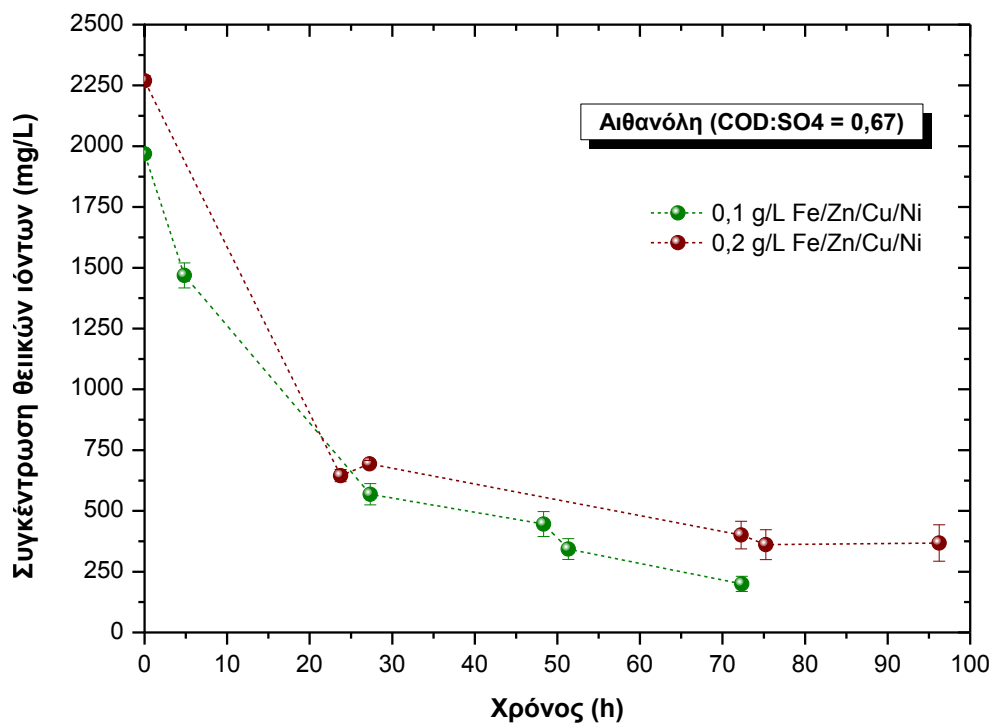
Η οξειδωση του αρχικά τροφοδοτούμενου οργανικού άνθρακα κατά 95% περίπου, και στις δύο περιπτώσεις (Σχήμα 7.12), υποδεικνύει ότι υπάρχει δυνατότητα βιοαποικοδόμησης των ενδιάμεσων προϊόντων που παράγονται κατά το μεταβολισμό της αιθανόλης από τον ακινητοποιημένο βακτηριακό πληθυσμό που έχει εγκατασταθεί στην κλίνη του αντιδραστήρα. Επίσης, από το Σχήμα 7.13 προκύπτει, κατ' αρχήν, ότι η βιολογικά υποβοηθούμενη οξειδωση της αιθανόλης εξελίσσεται μέσω της παραγωγής οξικών ιόντων, τα οποία επίσης μεταβολίζονται.

Παράλληλα, η αναγωγή των θειικών ιόντων προχωρά έως 85-90% (Σχήμα 7.11). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δημοσιευθεί αναφορικά με αντιδραστήρα EGSB με τροφοδοσία αιθανόλης σε περίπου στοιχειομετρική αναλογία και χρόνο υδραυλικής παραμονής 3 h (de Smul *et al.*, 1997) ενώ, σε άλλη εργασία, διαπιστώθηκε ότι η στοιχειομετρική αναλογία επαρκούσε για να επιτευχθεί αναγωγή θειικών ιόντων κατά 80%, όταν η αρχική συγκέντρωσή τους ήταν 2 g/L, σε αντιδραστήρα ρευστοστερεής κλίνης με χρόνο υδραυλικής παραμονής 20 h (Kaksonen *et al.*, 2004a).

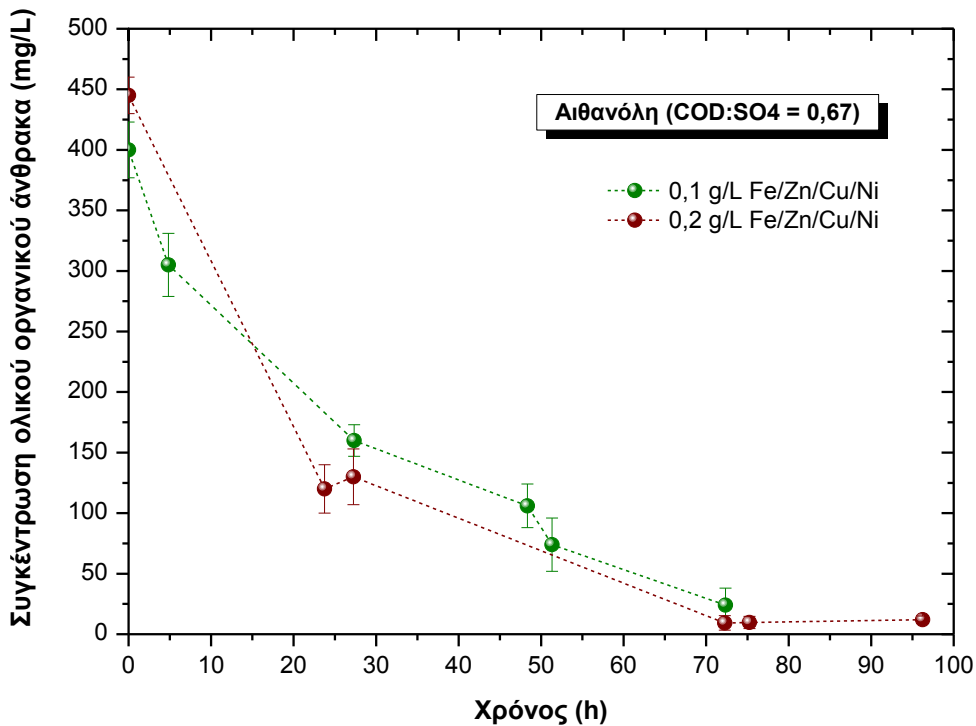
Ωστόσο, τα παραγόμενα θειούχα αρκούν για την ποσοτική καταβύθιση των μεταλλοκατιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας. Έτσι, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.14, τα ιόντα σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου απομακρύνονται ποσοτικά εντός των πρώτων 24 ωρών κάθε πειράματος για αρχική συγκέντρωση έως και 200 mg/L.



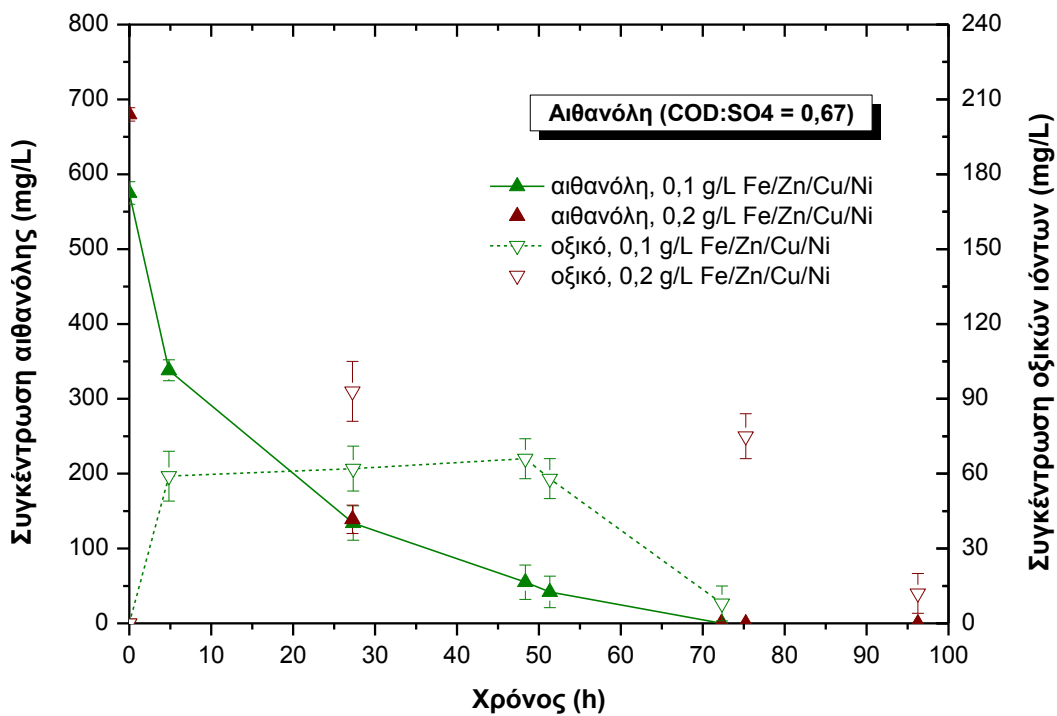
Σχήμα 7.10. Κινητική μελέτη pH κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις



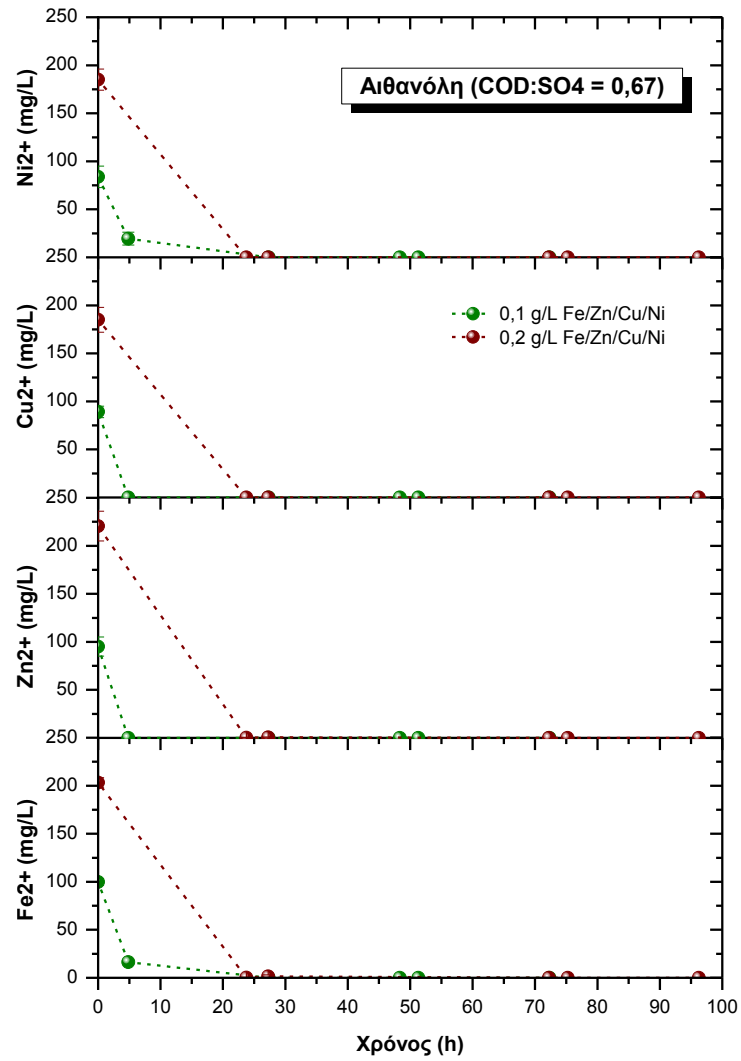
Σχήμα 7.11. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις



Σχήμα 7.12. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις



Σχήμα 7.13. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης αιθανόλης και οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις



Σχήμα 7.14. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Προκειμένου να προσδιοριστεί η ελάχιστη απαιτούμενη ποσότητα οργανικού άνθρακα για την αναγωγή συγκεκριμένης συγκέντρωσης θειικών ιόντων, απαιτείται υπέρβαση της στοιχειομετρικής αναλογίας, καθώς μέρος της ενέργειας που παράγεται κατά την αποικοδόμηση του οργανικού υλικού αξιοποιείται σε διαδικασίες ανάπτυξης και διατήρησης του βακτηριακού πληθυσμού (Rabus *et al.*, 2007). Το ποσοστό αυτό ποικίλει ανάλογα με τη σύνθεση του πληθυσμού, δηλαδή από τα διάφορα είδη που τον αποτελούν και τις συγκεκριμένες μεταβολικές τους ιδιότητες, καθώς και από τη μελετώμενη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων.

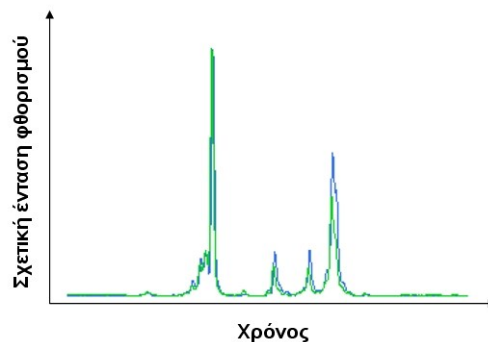
Για παράδειγμα, στη βιβλιογραφία έχει προσδιοριστεί ότι η παραγόμενη βιομάζα κατά την ανάπτυξη μικτής καλλιέργειας θειοαναγωγικών βακτηρίων που περιείχε το είδος *Desulfovibrio desulfuricans* σε αιθανόλη, είναι 0,75-0,93 gDW/mole αιθανόλης (Nagpal *et al.*, 2000a). Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι ο συντελεστής απόδοσης για καθαρή καλλιέργεια *Desulfo bacter postgatei* που αναπτύσσεται σε θρεπτικό που περιέχει αιθανόλη και θειικά ιόντα σε αναλογία 0,5, σε pH 7 και θερμοκρασία 30 °C, είναι 3 g κυτταρικού άνθρακα/mole αιθανόλης (Laanbroek *et al.*, 1984). Η πειραματική αυτή τιμή συμπίπτει με το θεωρητικά υπολογιζόμενο συντελεστή απόδοσης για την πλήρη οξειδωση της αιθανόλης από θειοαναγωγικά βακτήρια, με βάση τη θερμοδυναμική ανάλυση των ημιαντιδράσεων (Rittmann *et al.*, 2001; Χατζηκιοσεγιάν, 2008).

#### 7.4. Χαρακτηρισμός βακτηριακού πληθυσμού κλίνης αντιδραστήρα

Για το χαρακτηρισμό του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης του αντιδραστήρα, συλλέχθηκαν εις διπλούν δείγματα πέντε μήνες μετά την έναρξη της λειτουργίας του αντιδραστήρα. Το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε μεταξύ των δυο δειγματοληψιών ήταν μια εβδομάδα. Και τα δυο δείγματα συλλέχθηκαν από την έξοδο της κλίνης.

Τα μοριακά αποτυπώματα των γονιδίων 16S rRNA (Εικόνα 7.1) ήταν εξαιρετικά αναπαραγωγίσιμα. Συγκρίνοντας το αποτέλεσμα της ανάλυσης με το μοριακό αποτύπωμα του πληθυσμού που βρέθηκε σε δείγμα που λήφθηκε από θέση κοντά στον πυθμένα του Αντιδραστήρα I (ενότητα 5.6, Εικόνα 5.5(1A/B)), από όπου προήλθε το εμβόλιο που χρησιμοποιήθηκε στον Αντιδραστήρα III, προκύπτει ότι αυτός ο βακτηριακός πληθυσμός είναι λιγότερο ποικιλόμορφος από τον αρχικό. Επομένως, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η χρήση αιθανόλης ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων περιόρισε την ανάπτυξη ορισμένων ειδών που υπήρχαν στο εμβόλιο, δημιουργώντας έτσι μια λιγότερο σύνθετη κοινότητα θειοαναγωγικών βακτηρίων σε σχέση με τον Αντιδραστήρα I, όπου πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων ήταν το γαλακτικό ιόν.

Από την ταυτοποίηση των ειδών του δείγματος προέκυψε ότι η καλλιέργεια αποτελείτο από ποικιλόμορφο πληθυσμό θειοαναγωγικών βακτηρίων, τα οποία ανήκαν σε τρία διαφορετικά γένη του φύλου δ-Πρωτεοβακτήρια: *Desulfo bacter*, *Desulfomicrobium* και *Desulfovibrio* (Πίνακας 7.2). Τα γένη αυτά είχαν εντοπιστεί και στο βακτηριακό πληθυσμό του Αντιδραστήρα I. Οι γονιδιακές ακολουθίες που προέκυψαν κατατέθηκαν στο GenBank με αριθμούς καταχώρισης HQ640652 - HQ640659.



Εικόνα 7.1. Μοριακό αποτύπωμα των γονιδίων 16S rRNA του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης του Αντιδραστήρα III μετά από ανάλυση CE-SSCP

Πίνακας 7.2. Ταυτοποίηση πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων Αντιδραστήρα III

Είδος	% των κλώνων
1 είδος <i>Desulfobacter</i> 92-94% ομοιότητα με <i>Desulfobacter postgatei</i>	83
2 είδη <i>Desulfovibrio</i> 87-91% ομοιότητα με <i>Desulfovibrio fructosovorans</i> 84-88% ομοιότητα με <i>Desulfovibrio carbinolicus</i> & <i>Desulfovibrio burkinensis</i>	13
1 είδος του γένους <i>Desulfomicrobium</i>	4

Αναφορικά με την ικανότητά τους να μεταβολίζουν πλήρως την αιθανόλη, όλα τα είδη που ανήκουν στα γένη *Desulfovibrio* και *Desulfomicrobium* δεν μπορούν να οξειδώσουν το οξικό ιόν (Castro *et al.*, 2000; Rabus *et al.*, 2007), όπως έχει αποδειχθεί ειδικά για τα είδη *Dvb. fructosovorans* (Ollivier *et al.*, 1988) καθώς και για τα *Dvb. carbinolicus* και *Dvb. burkinensis* (Ouattara *et al.*, 1999).

Επίσης, το είδος *Desulfobacter postgatei*, το οποίο είναι το μόνο από τα είδη που αναγνωρίστηκαν που μπορεί να χρησιμοποιήσει τα οξικά ιόντα που παράγονται από την ατελή οξείδωση της αιθανόλης ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (Ingvorsen *et al.*, 1984; Widdel *et al.*, 1981), όπως και όλα τα υπόλοιπα είδη που ανήκουν στο γένος *Desulfobacter* (Πίνακας 2.7), αναφέρεται ότι έχει υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης (σε σχέση με τα είδη *Desulfovibrio baculatus* και *Desulfobulbus propionicus*) σε συνθήκες περίσσειας αιθανόλης και θειικών ιόντων (Laanbroek *et al.*, 1984). Επομένως, η αλλαγή του θρεπτικού υποστρώματος, από γαλακτικό ιόν σε αιθανόλη, ενδεχομένως ευνόησε την ανάπτυξη αυτού του συγκεκριμένου είδους, το οποίο, λόγω της ικανότητάς του να αποικοδομεί πλήρως την αιθανόλη, επικράτησε τελικά στον πληθυσμό των θειοαναγωγικών βακτηρίων της κλίνης. Αποτέλεσμα της εκλεκτικής αυτής εξέλιξης είναι ο ελάχιστος υπολειπόμενος οργανικός άνθρακας που μετρήθηκε στο τέλος κάθε σειράς πειραμάτων αυτού του κύκλου (Σχήμα 7.12).

Εφόσον στη μικτή καλλιέργεια του Αντιδραστήρα III επικράτησε το είδος *Desulfobacter postgatei*, από τη βιβλιογραφία (Laanbroek *et al.*, 1984), συνάγεται ότι το 12,5% περίπου του προστιθέμενου οργανικού άνθρακα αξιοποιείται σε διαδικασίες βακτηριακής ανάπτυξης, με αποτέλεσμα να προκύπτει έλλειμμα TOC για την αναγωγή των θειικών, το οποίο ανακλάται στο ποσοστό των θειικών ιόντων που παραμένουν στο διάλυμα στο τέλος κάθε πειράματος (Σχήμα 7.11). Έτσι, υπολογίζεται η διορθωμένη γραμμομοριακή αναλογία αιθανόλης:θειικών ιόντων που απαιτείται για την πλήρη οξειδωση της αιθανόλης και την αναγωγή των θειικών ιόντων που περιέχονται στο μελετώμενο διάλυμα τροφοδοσίας. Η αναλογία αυτή υπολογίζεται σε 0,75 και επιβεβαιώνεται, μέσω του προκύπτοντος ελλείμματος οργανικού άνθρακα, από τα πειραματικά αποτελέσματα όπου τα θειικά ιόντα ανάγονται κατά 85-90% ενώ δεν υπάρχει υπολειπόμενο TOC στο τέλος κάθε πειράματος (Σχήμα 7.11 και Σχήμα 7.12).

## 7.5. Χαρακτηρισμός στερεών κατακρημνισμάτων

### 7.5.1. Χημική σύσταση

Από την ανάλυση των δειγμάτων ιλύος ως προς τη χημική τους σύσταση (Πίνακας 7.3), προκύπτει ότι το 26,31% του βάρους της ξηρής ιλύος αντιστοιχεί σε μεταλλικές αξίες ενώ το 20% του βάρους των στερεών κατακρημνισμάτων αντιστοιχεί σε πτητικά αιωρούμενα στερεά. Το υπόλοιπο θεωρείται ότι αντιστοιχεί σε περιεκτικότητα θείου, στοιχειακού ή σε μορφή θειούχων ενώσεων των μετάλλων.

Η περιεκτικότητα της ξηρής ιλύος σε μεταλλικές αξίες παραμένει συγκρίσιμη με την αντίστοιχη τιμή της ιλύος του Αντιδραστήρα I (34%, Πίνακας 5.2).

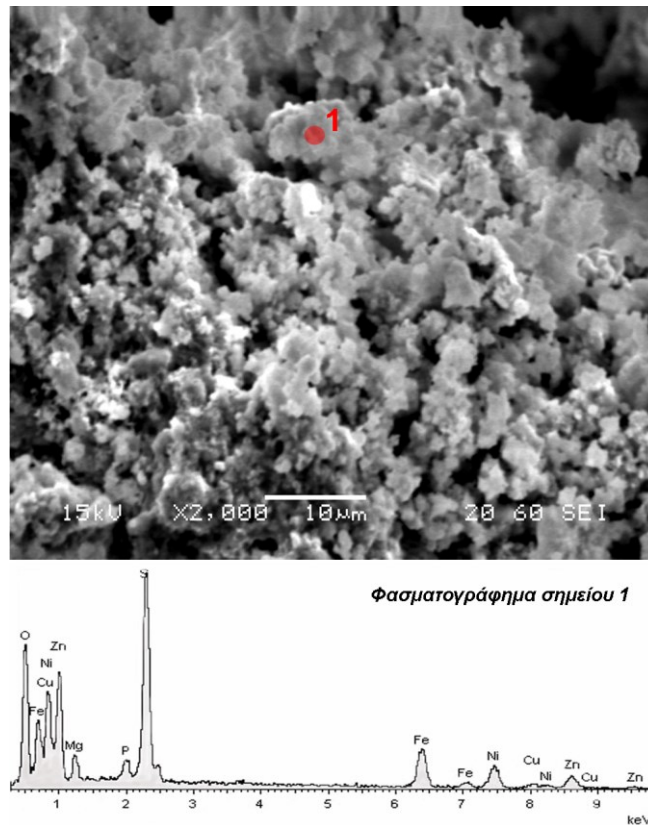
Πίνακας 7.3. Σύσταση στερεών κατακρημνισμάτων Αντιδραστήρα III

Είδος	Περιεκτικότητα (% κ.β.)
Πτητικά αιωρούμενα στερεά	20
Σίδηρος (δισθενής)	5,55
Ψευδάργυρος	8,51
Χαλκός	1,89
Νικέλιο	10,36

### 7.5.2. Μορφολογική και ορυκτολογική εξέταση

Κατά την παρατήρηση και την ποιοτική χημική ανάλυση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα III, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, διαπιστώθηκε ξανά η κατακρήμνιση λεπτομερών στερεών σωματιδίων μικτών θειούχων ενώσεων σιδήρου-ψευδαργύρου-χαλκού-νικελίου (Εικόνα 7.2), επιβεβαιώνοντας έτσι τα ευρήματα των προηγούμενων κύκλων δοκιμών (ενότητες 5.5.2 και 6.3).

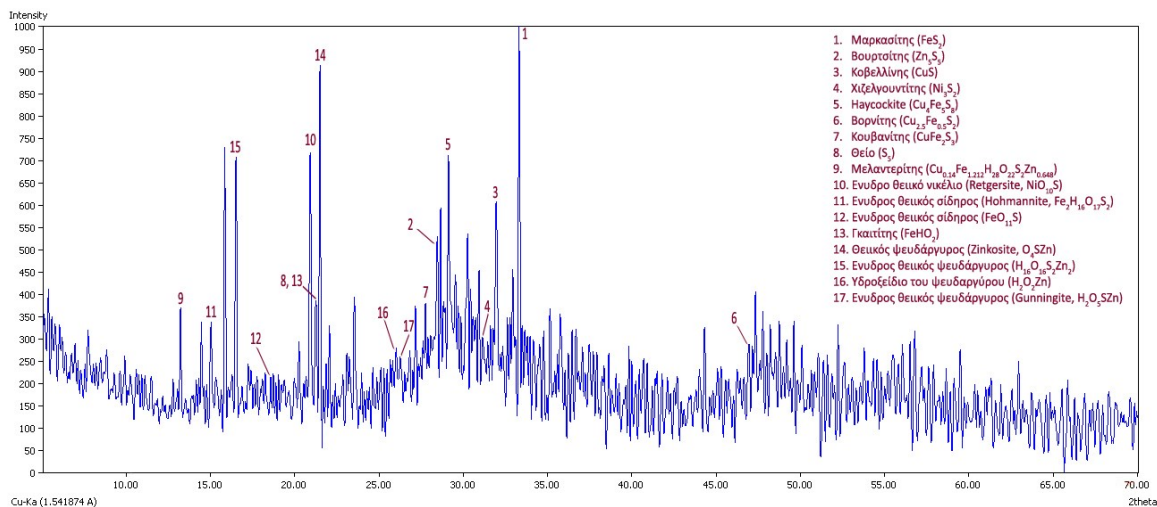




*Εικόνα 7.2. Παρατήρηση δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα III, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του, σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης με ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων. Εντοπισμός μικτών θειούχων ενώσεων σιδήρου-ψευδαργύρου-χαλκού-νικελίου*

Στο ακτινοδιάγραμμα του δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του Αντιδραστήρα III (Σχήμα 7.15), παρόλο που κυριαρχούν οι άμορφες φάσεις, αναγνωρίζονται και κορυφές που αντιστοιχούν σε κρυσταλλικές θειούχες μορφές σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου (Πίνακας 7.4).

Ο μαρκασίτης και ο βουρτσιίτης ήταν οι επικρατούσες θειούχες ενώσεις του σιδήρου και του ψευδαργύρου, αντίστοιχα, που αναγνωρίστηκαν στην ιλύ του Αντιδραστήρα I (ενότητα 5.5.2) καθώς και του Αντιδραστήρα II (ενότητα 6.3), όπου εντοπίστηκε και κοβελλίνης και κιζελγουντίτης. Οι τέσσερις κρυσταλλικές φάσεις, καθώς και ορισμένα μικτά θειούχα ( $\text{Cu}_4\text{Fe}_5\text{S}_8$ , Βορνίτης -  $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$  και Κουβανίτης -  $\text{CuFe}_2\text{S}_3$ ) αναγνωρίστηκαν στην περιοχή  $25^\circ\text{-}35^\circ$ , όπου το ακτινοδιάγραμμα αποκαλύπτει μια πλατύκυρτη ζώνη, υποδεικνύοντας έτσι την παρουσία άμορφων φάσεων.



Σχήμα 7.15. Ακτινοδιάγραμμα<sup>53</sup> δείγματος ιλύος που συλλέχθηκε από τον πυθμένα του Αντιδραστήρα III, μετά τον τερματισμό της λειτουργίας του

Πίνακας 7.4. Κύριες κρυσταλλικές φάσεις στην ιλύ του Αντιδραστήρα III

Στοιχείο	Κύρια κρυσταλλική φάση	Χημικός τύπος	Κρυσταλλικό σύστημα	Κύρια κορυφή ακτινοδιαγράμματος
Fe(II)	Μαρκασίτης	FeS <sub>2</sub>	ρομβικό	1: 33,32° (2,6894 Å)
Zn	Βουρσίτης	Zn <sub>5</sub> S <sub>5</sub>	εξαγωνικό	2: 28,26° (3,1579 Å)
Cu	Κοβελλίνης	CuS	εξαγωνικό	3: 31,95° (2,8009 Å)
Ni	Χιζελγουντίτης	Ni <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	κυβικό	4: 31,15° (2,8715 Å)

## 7.6. Συμπεράσματα

Μετά την ολοκλήρωση του τρίτου κύκλου δοκιμών και την παρακολούθηση της λειτουργίας του αντιδραστήρα ακινητοποιημένης βιομάζας, διαφάνηκε η καταλληλότητα του επιλεγμένου πληρωτικού υλικού για τη μελετώμενη εφαρμογή καθώς έτσι αντιμετωπίστηκαν τα προβλήματα που προέκυψαν λόγω του χρησιμοποιούμενου πληρωτικού υλικού τόσο κατά τον πρώτο όσο και κατά το δεύτερο κύκλο δοκιμών. Έτσι, χάρη στο ιδιαίτερο γεωμετρικό σχήμα των σωματιδίων αλλά και την υψηλή ειδική επιφάνεια του υλικού, εξασφαλίστηκε η απαραίτητη υδραυλική σταθερότητα του αντιδραστήρα αλλά και ικανή επιφάνεια για την ακινητοποίηση του ζητούμενου βιολογικού στρώματος.

Αναφορικά με την προσαρμοστικότητα και την εκλεκτική προσαρμογή ειδών του

<sup>53</sup> Στο ακτινοδιάγραμμα του δείγματος ιλύος αναγνωρίστηκαν και κορυφές (9-17) που αντιστοιχούν σε ένυδρες θειικές ενώσεις και υδροξείδια του σιδήρου και του ψευδαργύρου. Ο σχηματισμός αυτών των ενώσεων θεωρείται ότι οφείλεται στην εσφαλμένη διατήρηση της ιλύος σε επαφή με το διάλυμα του αντιδραστήρα για μεγάλο χρονικό διάστημα πριν την ξήρασή της.

μικροβιακού πληθυσμού, αποδείχθηκε ότι

- ο πληθυσμός των θειοαναγωγικών βακτηρίων που αναπτύχθηκε με γαλακτικό ιόν μπορεί να προσαρμοστεί σε διαφορετική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε εύλογο χρονικό διάστημα. Η προσαρμοστικότητα του πληθυσμού υποδεικνύει ένα ενδεχόμενο πλεονέκτημα των μικτών καλλιεργειών έναντι των καθαρών.
- η αλλαγή του θρεπτικού μέσου σε αιθανόλη ευνόησε την ανάπτυξη μικροβιακών ειδών με δυνατότητα οξειδωσης του οξικού, με αποτέλεσμα να επικρατήσει το είδος *Desulfobacter postgatei* στο θειοαναγωγικό πληθυσμό της κλίνης του αντιδραστήρα. Έτσι, επιτεύχθηκε τέλεια οξείδωση των ενδιαμέσως παραγόμενων οξικών ιόντων και, επομένως, ελάχιστη συγκέντρωση υπολειπόμενου οργανικού άνθρακα στο τέλος κάθε πειράματος, υλοποιώντας έτσι έναν από τους πρωταρχικούς στόχους της παρούσας διατριβής.

Το γεγονός ότι η αναγωγή των θειικών προχώρησε έως το 85-90% της αρχικής συγκέντρωσης στη στοιχειομετρική αναλογία αιθανόλης:θειικών ιόντων, επιβεβαιώνει ότι η ελάχιστη απαιτούμενη ποσότητα οργανικού άνθρακα για την αναγωγή δεδομένης συγκέντρωσης θειικών ιόντων θα πρέπει να είναι υψηλότερη της στοιχειομετρικά απαιτούμενης, καθώς μέρος της ενέργειας που παράγεται κατά την αποικοδόμηση του οργανικού υλικού αξιοποιείται σε διαδικασίες ανάπτυξης και διατήρησης του βακτηριακού πληθυσμού.

Θεωρώντας, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ότι για την ανάπτυξη του είδους *Desulfobacter postgatei* απαιτείται το 12,5% του προστιθέμενου οργανικού άνθρακα με τη μορφή αιθανόλης, δικαιολογείται επαρκώς το πειραματικά παρατηρούμενο έλλειμμα TOC για την αναγωγή των θειικών ιόντων. Έτσι, υπολογίστηκε η απαιτούμενη γραμμομοριακή αναλογία αιθανόλης:θειικών ιόντων για την πλήρη οξείδωση της αιθανόλης και την αναγωγή των θειικών του διαλύματος σε 0,75, απαντώντας έτσι ποσοτικά στο ερώτημα του πραγματικά απαιτούμενου οργανικού άνθρακα για την αποδοτική εφαρμογή της διεργασίας.

Επίσης, προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα αναφορικά με την καταβύθιση ιόντων μετάλλων στο θειοαναγωγικό αντιδραστήρα στις μελετώμενες συνθήκες λειτουργίας:

- Όλα τα μέταλλα καταβυθίστηκαν ποσοτικά εντός των πρώτων 24 ωρών κάθε πειράματος για αρχική συγκέντρωση έως και 200 mg/L. Η δυνατότητα καταβύθισης ιόντων μετάλλων στο θειοαναγωγικό αντιδραστήρα διατηρήθηκε υψηλή παρά την απλούστερη σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας.
- Οι θειούχες ενώσεις των μετάλλων που εντοπίστηκαν στα στερεά κατακρημνίσματα ήταν κυρίως μικροκρυσταλλικές και περιελάμβαναν μαρκασίτη, βουρτσιτή, κοβελλίνη και χιζελγουντίτη.



# 8

## Παρουσίαση και σχολιασμός αποτελεσμάτων κύκλου δοκιμών IV

---

Στον τέταρτο κύκλο δοκιμών επιβεβαιώθηκε η δυνατότητα προσαρμογής του μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων και μελετήθηκε συγκριτικά η απόδοση των αντίστοιχων θειοαναγωγικών αντιδραστήρων σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, με ακινητοποιημένη βιομάζα, σε συνθήκες διαλείποντος έργου και με το οργανικό υπόστρωμα σε συγκέντρωση υψηλότερη της στοιχειομετρικά απαιτούμενης ώστε να μην περιορίζεται η δραστηριότητα των μικροοργανισμών από τη διαθεσιμότητα της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων. Τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών έδειξαν τη δυνατότητα επιτυχούς ταυτόχρονης απομάκρυνσης οξύτητας, θειικών ιόντων, οργανικού άνθρακα και ιόντων μετάλλων από το διάλυμα προς επεξεργασία, με την αιθανόλη να προκύπτει ως η καταλληλότερη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων για την αποδοτική εφαρμογή της διεργασίας.<sup>54</sup>

### 8.1. Συνοπτική παρουσίαση κύκλου δοκιμών

Στον τέταρτο κύκλο δοκιμών (Σχήμα 4.1) διερευνήθηκε η δυνατότητα προσαρμογής ενός μικτού πληθυσμού θειοαναγωγικών βακτηρίων σε διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκαν το γαλακτικό νάτριο, η αιθανόλη και το οξικό νάτριο για τους λόγους που αναφέρθηκαν προηγουμένα (ενότητα 4.3.1). Στη συνέχεια, μελετήθηκε η απόδοση των αντίστοιχων θειοαναγωγικών αντιδραστήρων σταθερής κλίνης, ανοδικής ροής, με ακινητοποιημένη βιομάζα, σε συνθήκες διαλείποντος έργου (ενότητα 4.2.2, *Αντιδραστήρας*) και στοιχειομετρικής περίσσειας οργανικού άνθρακα.

---

<sup>54</sup> Μέρος των αποτελεσμάτων αυτού του κύκλου δοκιμών ανακοινώθηκε στο διεθνές συνέδριο International Biohydrometallurgy Symposium 2011. Η σχετική εργασία συμπεριλήφθηκε στα πρακτικά του συνεδρίου (Kousi *et al.*, 2011b).

Για το σκοπό αυτό, κατασκευάστηκαν τρεις αντιδραστήρες (IV, Πίνακας 4.2 και Σχήμα 4.2(iii)) που πληρώθηκαν με σωματίδια του αδρανούς υλικού που δοκιμάστηκε με επιτυχία κατά τον τρίτο κύκλο δοκιμών (Γ, Πίνακας 4.1 και Εικόνα 4.1(iii)).

Ως εμβόλιο, χρησιμοποιήθηκε ικανή ποσότητα πληρωτικού υλικού με ήδη αναπτυγμένο λεπτό βιολογικό στρώμα από αντιδραστήρα που λειτουργούσε με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων (κεφάλαιο 7). Στο μικτό αυτό πληθυσμό θειοαναγωγικών βακτηρίων βρέθηκε ότι επικρατούσαν σε σημαντικό βαθμό (83% των κλώνων) ακολουθίες *dsrAB* με υψηλή ομοιότητα (92-94%) ως προς αυτές του βακτηρίου *Desulfobacter postgatei* (ενότητα 7.4).

Για την ανάπτυξη και εγκατάσταση ικανού θειοαναγωγικού πληθυσμού, χρησιμοποιήθηκαν παραλλαγές του βασικού θρεπτικού μέσου του Postgate (Πίνακας 4.5) με γαλακτικά ιόντα (αντιδραστήρας [L]), αιθανόλη (αντιδραστήρας [E]) και οξικά ιόντα (αντιδραστήρας [A]) ως αποκλειστική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Η αντικατάσταση του γαλακτικού με αιθανόλη και οξικό στους αντιδραστήρες [E] και [A], αντίστοιχα, πραγματοποιήθηκε έτσι ώστε να διατηρηθεί η περίσσεια πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων (ως ThOD) που ισχύει στο αρχικό μέσο του Postgate (58% πάνω από τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη) και να εξασφαλιστούν, έτσι, συνθήκες ανάπτυξης χωρίς περιορισμούς από τη διαθεσιμότητα του θρεπτικού υποστρώματος (Πίνακας 4.8).

Στο διάγραμμα ροής των Αντιδραστήρων IV (Σχήμα 4.2(iii)), επιλέχθηκε η λειτουργία του αντιδραστήρα σε συνθήκες διαλείποντος έργου με ανακυκλοφορία 720 mL/h από φιάλη 2 L και ανανέωση του εξαντλημένου διαλύματος τροφοδοσίας χωρίς εκκένωση της στήλης, προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν φαινόμενα οξειδωσης λόγω της διείσδυσης αέρα. Ο κύκλος αυτός διήρκεσε 24 μήνες και όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ελεγχόμενη θερμοκρασία δωματίου (~25 °C).

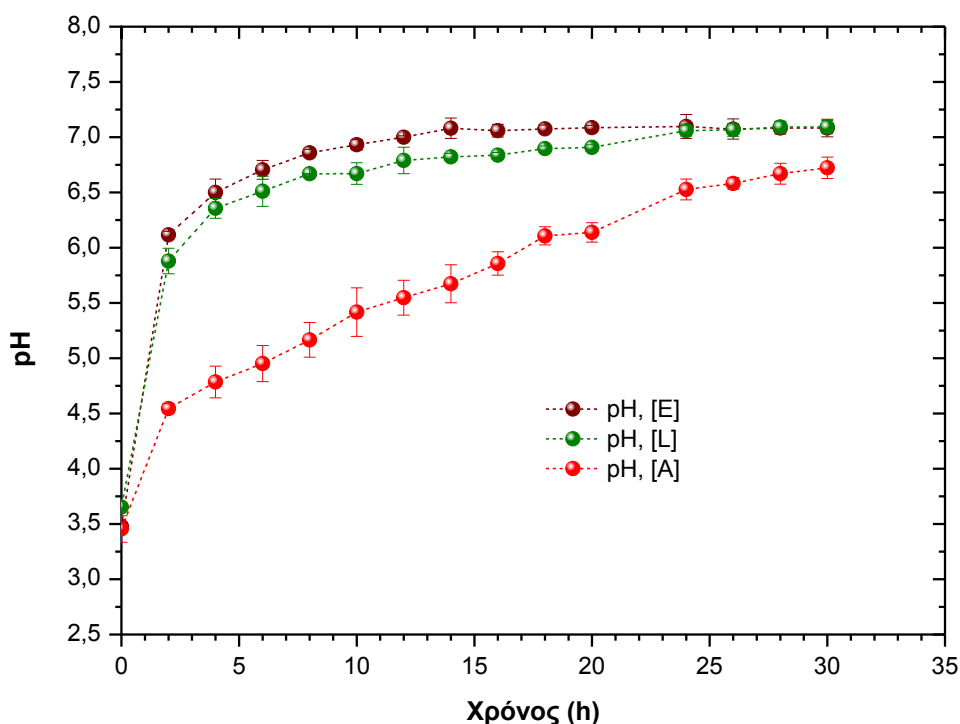
Αυτές οι σειρές των πειραμάτων εκτελέστηκαν ταυτόχρονα για τους τρεις αντιδραστήρες που λειτουργούσαν παράλληλα. Κάθε σειρά πειραμάτων επαναλήφθηκε τρεις φορές και η διάρκεια κάθε πειράματος ήταν 30 ώρες. Κατά τη διάρκεια κάθε πειραματικής σειράς, η δειγματοληψία γινόταν στη φιάλη κάθε φορά που ανανεωνόταν το διάλυμα τροφοδοσίας καθώς και στην έξοδο του αντιδραστήρα κάθε 2 ώρες. Το βήμα δειγματοληψίας επιλέχθηκε λαμβάνοντας υπόψη ότι για την πλήρη ανακύκλωση του υγρού του αντιδραστήρα χρειάζονταν 2,2 ώρες. Τα αποτελέσματα αυτών των δοκιμών παρουσιάζονται στις ενότητες 8.2 και 8.3.

Μετά την ολοκλήρωση αυτών των πειραματικών σειρών και προκειμένου να προσδιοριστεί πειραματικά η οριακή περίσσεια οξικού νατρίου για την επιτυχή ταυτόχρονη απομάκρυνση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα, μελετήθηκε περαιτέρω η αποικοδόμηση των οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του αντιδραστήρα [A] με οξικό νάτριο σε συγκέντρωση υψηλότερη της στοιχειομετρικά απαιτούμενης κατά 20% (ενότητα 8.4).

## 8.2. Επίδραση της παροχής των πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια

Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων στην απόδοση θειοαναγωγικών αντιδραστήρων όπου ο καθένας λειτουργούσε με αιθανόλη [E], γαλακτικό νάτριο [L] και οξικό νάτριο [A] ως αποκλειστική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Και οι τρεις αντιδραστήρες τροφοδοτούνταν με διάλυμα θειικών ιόντων (1,8 g/L) και ιόντων Fe(II), Zn, Cu, Ni (100 mg/L) σε συνθήκες περιόδου του οργανικού υποστρώματος όμοιες με το βασικό θρεπτικό μέσο του Postgate (Πίνακας 4.8). Το αρχικό pH του διαλύματος τροφοδοσίας ήταν 3,5.

Από το Σχήμα 8.1, προκύπτει ότι το pH στο τέλος κάθε κύκλου προσέγγιζε την τιμή 6,8 στον αντιδραστήρα [A] και 7,1 στους αντιδραστήρες [E] και [L] ως αποτέλεσμα της αλκαλικότητας που παράγεται κατά το μεταβολισμό των θειοαναγωγικών βακτηρίων. Αυτή η αύξηση του pH αποδεικνύει ότι η καλλιέργεια προσαρμόστηκε με επιτυχία στην αλλαγή του δότη ηλεκτρονίων στους αντιδραστήρες [L] και [A]. Επίσης, δείχνει, επιβεβαιώνοντας ξανά τα ευρήματα των προηγούμενων κύκλων δοκιμών, ότι η μεταβολική διεργασία των θειοαναγωγικών βακτηρίων δεν επηρεάστηκε αρνητικά ούτε αναστάληκε από την αρχική χαμηλή τιμή pH των διαλυμάτων τροφοδοσίας και των τριών αντιδραστήρων.

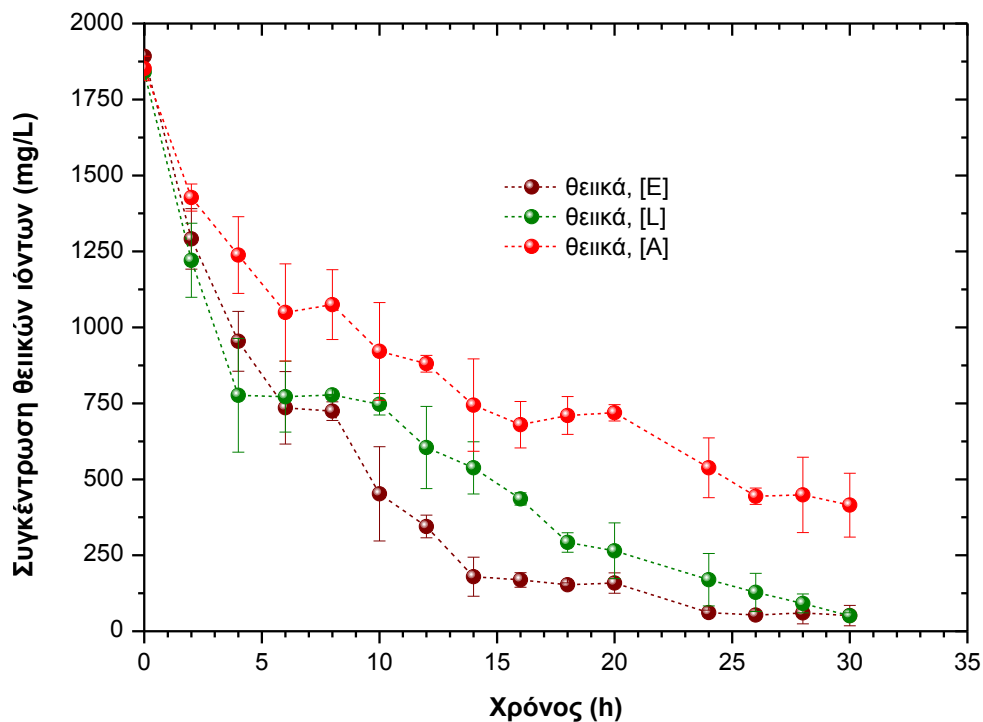


Σχήμα 8.1. Συγκριτική κινητική μελέτη pH κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%

Με βάση την παραγόμενη αλκαλικότητα ανά mole οξειδούμενης οργανικής ένωσης (Πίνακας 4.6), θα αναμενόταν υψηλότερη παραγωγή αλκαλικότητας στον αντιδραστήρα [L].

Ωστόσο, τα πειραματικά αποτελέσματα δείχνουν ότι το pH του διαλύματος εξουδετερώνεται ταχύτερα στον αντιδραστήρα [E] προσεγγίζοντας τη μέγιστη τιμή του μετά από 12 ώρες λόγω του ταχύτερου ρυθμού οξειδωσης της αιθανόλης (Σχήμα 8.5), γεγονός που αποδίδεται στην εκλεκτική προτίμηση του *D. postgatei* για την αιθανόλη (Laanbroek *et al.*, 1984). Επίσης, το έλλειμμα αλκαλικότητας (σε σχέση με τη θεωρητικά αναμενόμενη) στον αντιδραστήρα [L] μπορεί να οφείλεται και στη συμμετοχή του γαλακτικού σε άλλες διεργασίες εκτός της αναγωγής των θειικών ιόντων του διαλύματος (ενότητα 8.3).

Από το Σχήμα 8.2 φαίνεται ότι τα θειικά ανάγονταν κατά ποσοστό 97% στους αντιδραστήρες [E] και [L] και κατά 80% στον αντιδραστήρα [A]. Η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με τα αποτελέσματα που αφορούν την κατανάλωση του οργανικού άνθρακα του διαλύματος τροφοδοσίας (Σχήμα 8.4), από όπου φαίνεται ότι ο οργανικός άνθρακας οξειδωνόταν κατά 95% στους αντιδραστήρες [E] και [L] και κατά 85% στον αντιδραστήρα [A]. Τα παραγόμενα θειούχα (613,7 mg/L στον [E], 596,3 mg/L στον [L] και 501,3 mg/L στον [A]) αρκούν για την ποσοτική καταβύθιση των Fe, Zn, Cu, Ni από αρχική συγκέντρωση 100 mg/L (Σχήμα 8.3).



Σχήμα 8.2. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%

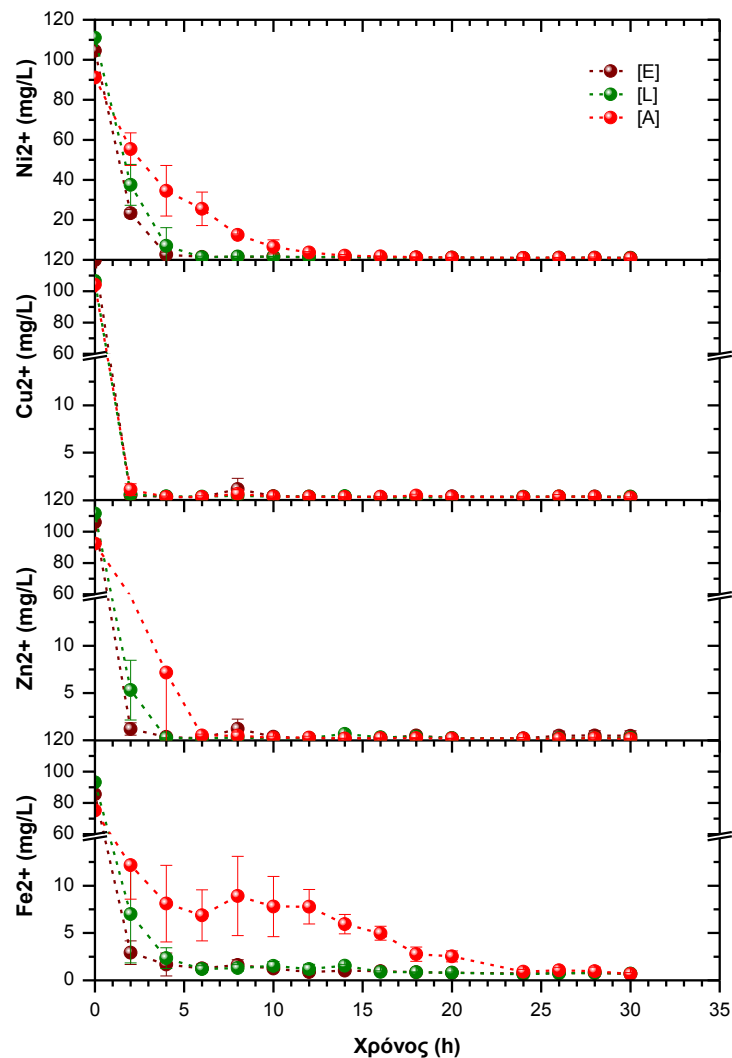
Με βάση τη μείωση της συγκέντρωσης των θειικών ιόντων 2 ώρες μετά την έναρξη των πειραμάτων (Σχήμα 8.2), υπολογίζονται οι αρχικοί ρυθμοί αναγωγής των θειικών ιόντων των διαλυμάτων τροφοδοσίας (Πίνακας 8.1). Η τιμή που προκύπτει για τον Αντιδραστήρα [L] τοποθετείται στο εύρος τιμών (4-19 g/Ld) που προσδιορίστηκε για τον Αντιδραστήρα I που λειτουργούσε με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αντίστοιχη περίσσεια, συνεχώς και με υδραυλικό χρόνο παραμονής 9 ωρών, όπου η μικροβιακή κοινότητα ήταν πιο



πολυποίκιλη (κεφάλαιο 5). Στον Αντιδραστήρα [E], ο αρχικός ρυθμός αναγωγής των θειικών ιόντων υπολογίζεται κατά 20% αυξημένος σε σχέση με τον Αντιδραστήρα III που λειτουργούσε σε παρόμοιες συνθήκες αλλά με παροχή αιθανόλης στη στοιχειομετρικά απαιτούμενη αναλογία ως προς την αρχική συγκέντρωση των θειικών ιόντων του διαλύματος (κεφάλαιο 7).

Πίνακας 8.1. Αποτελέσματα απόδοσης Αντιδραστήρων IV ως προς την ταυτόχρονη απομάκρυνση θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα

ΑΝΤ/ΠΑΣ	Μετά από λειτουργία 30 h		Μετά από λειτουργία 2 h
	Αναγωγή θειικών ιόντων (%)	Αποικοδόμηση οργανικού άνθρακα (%)	Αρχικός ρυθμός αναγωγής θειικών (g/Ld)
A	80	85	5,3
E	97	95	7,2
L	97	95	7,4



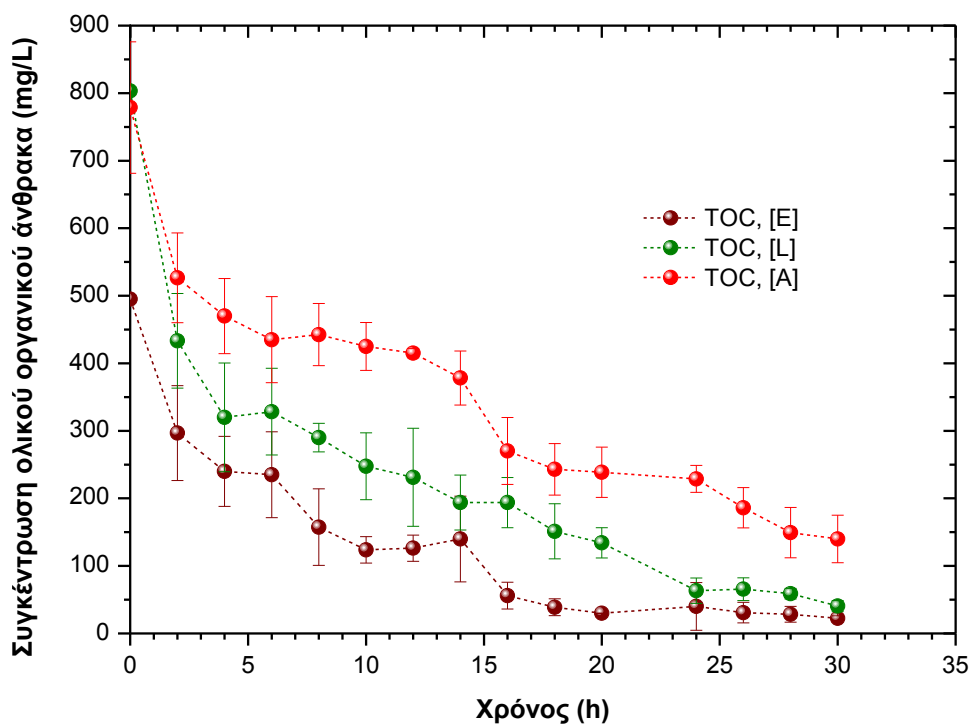
Σχήμα 8.3. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%

### 8.3. Συσχέτιση αναγωγής θειικών ιόντων και αποικοδόμησης οργανικού άνθρακα

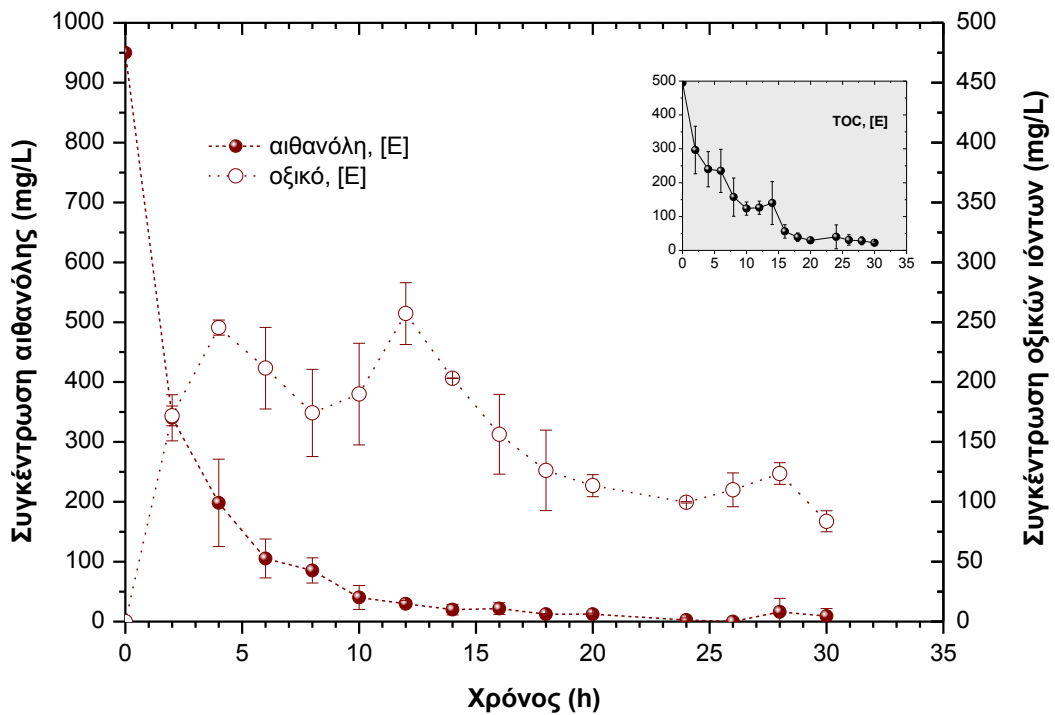
Αναφορικά με την αποικοδόμηση του οργανικού άνθρακα του διαλύματος τροφοδοσίας (Σχήμα 8.4), προκύπτει ότι, παράλληλα με την αναγωγή των θειικών ιόντων, η πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων οξειδώνεται κατά 95% στους αντιδραστήρες [E] και [L] και κατά 85% στον αντιδραστήρα [A] (Πίνακας 8.1).

Στο Σχήμα 8.5 και στο Σχήμα 8.6, όπου παρουσιάζεται η οξείδωση της αιθανόλης και των γαλακτικών ιόντων αντίστοιχα, φαίνεται ότι το ενδιαμέσως παραγόμενο οξικό οξειδώνεται μέχρι συγκέντρωσης χαμηλότερης των 100 mg/L (ισοδύναμο TOC < 40 mg/L) και στους δυο αντιδραστήρες [E] και [L] μετά από 30 ώρες.

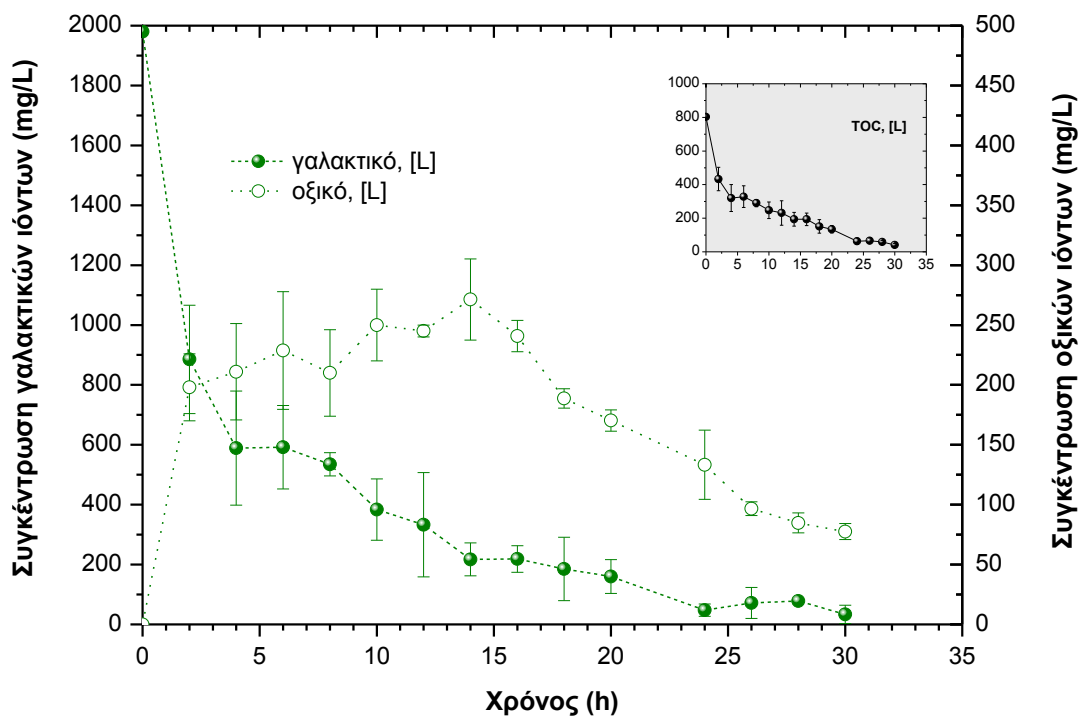
Έτσι, επιβεβαιώνεται ότι ο ακινητοποιημένος μικροβιακός πληθυσμός διατήρησε την ικανότητά του να οξειδώνει τα παραγόμενα οξικά ιόντα. Επομένως, η αρχική κοινότητα των θειοαναγωγικών βακτηρίων δεν τροποποιήθηκε ως προς αυτή την ιδιότητά της λόγω της αλλαγής του θρεπτικού υποστρώματος.



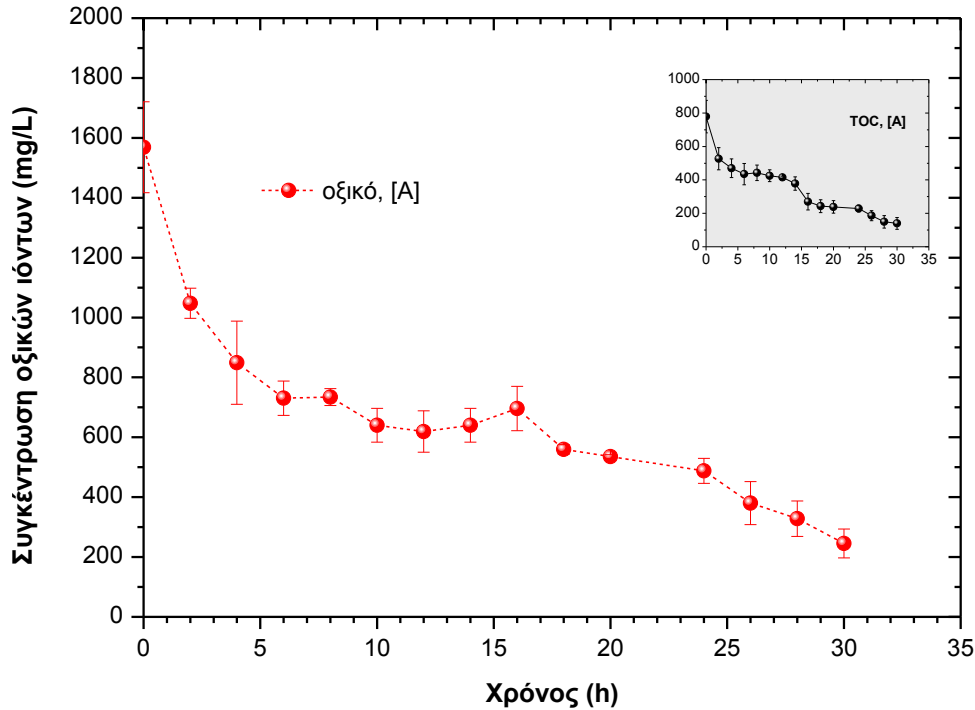
Σχήμα 8.4. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά την τροφοδοσία των Αντιδραστήρων IV με διαφορετικές πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%



Σχήμα 8.5. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης αιθανόλης και οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[E] με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%



Σχήμα 8.6. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης γαλακτικών και οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[L] με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%



Σχήμα 8.7. Κινητική μελέτη συγκέντρωσης οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[A] με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%

Η γραμμομοριακή αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων που προσδιορίστηκε πειραματικά (Πίνακας 8.2) είναι υψηλότερη από τη θεωρητική τιμή κατά 78% στην περίπτωση του γαλακτικού, 44% στην περίπτωση του οξικού και 31% στην περίπτωση της αιθανόλης. Αυτό δείχνει ότι, σε αυτές τις συνθήκες υψηλής περίσσειας οργανικού άνθρακα, ευνοείται η ανάπτυξη άλλων αναερόβιων μικροοργανισμών έτσι ώστε, και με δεδομένο τον αργό ρυθμό ανάπτυξης των οξικότροφων βακτηρίων, μέρος της αρχικής συγκέντρωσης γαλακτικού, αιθανόλης και οξικού να αποικοδομείται μέσω άλλων μηχανισμών.

Πίνακας 8.2. Αξιοποίηση του οργανικού υποστρώματος για την αναγωγή των θειικών ιόντων στους Αντιδραστήρες IV

ANT/ΡΑΣ	Υπόστρωμα που αποικοδομήθηκε (mM)	Θειικά που ανάχθηκαν (mM)	Πειραματική γραμμομοριακή αναλογία υποστρώματος:θειικών	Θεωρητική γραμμομοριακή αναλογία υποστρώματος:θειικών
E	16,9	19,2	0,88	0,67 (αντίδραση (4.3)) 0,75 (ενότητα 7.4)
L	22,2	18,6	1,19	0,67 (αντίδραση (4.1))
A	21,6	15,0	1,44	1,00 (αντίδραση (4.5))

Ωστόσο, στην περίπτωση της αιθανόλης, αν ληφθεί υπόψη η διορθωμένη γραμμομοριακή αναλογία (0,75) που υπολογίστηκε στην ενότητα 7.4, η απόκλιση από τη θεωρητική τιμή περιορίζεται στο 17% έτσι ώστε η αναλογία που αντιστοιχεί στη χρήση αιθανόλης να προσεγγίζει

περισσότερο τη θεωρητικά υπολογιζόμενη τιμή. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι ο βακτηριακός πληθυσμός της κλίνης του αντιδραστήρα που λειτούργησε με περίσσεια αιθανόλης στην τροφοδοσία παρέμεινε σε σημαντικό βαθμό αναλλοίωτος και με κυρίαρχο είδος το *D. postgatei*, υποδεικνύοντας έτσι την ισχυρότερη συγγένεια της αιθανόλης με το βακτηριακό πληθυσμό της κλίνης και, κατά συνέπεια, το συγκριτικό πλεονέκτημα της αιθανόλης ως πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων για το συγκεκριμένο σύστημα.

Αν θεωρήσουμε

- ότι η περίσσεια οξικού νατρίου δεν μετέβαλε το βακτηριακό πληθυσμό της κλίνης του αντιδραστήρα που λειτούργησε με οξικά ιόντα ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων,
- ότι ο οξικότροφος πληθυσμός έχει κοινή συμπεριφορά και στους τρεις αντιδραστήρες ανεξαρτήτως της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων (δηλαδή, αποικοδόμηση παραγόμενου οξικού κατά 85% με γραμμομοριακή αναλογία ως προς τα θειικά 1,44) και
- γνωστά τα ποσοστά αφομοίωσης του οργανικού άνθρακα για τη σύνθεση κυτταρικού υλικού (ενότητα 4.3.4, Άνθρακας),

μπορούμε να υπολογίσουμε θεωρητικά τις πραγματικές γραμμομοριακές αναλογίες των αντιδράσεων οξειδοαναγωγής γαλακτικού και αιθανόλης για την αναγωγή θειικών ιόντων κατά το πρώτο στάδιο της οξείδωσης του γαλακτικού (αντίδραση (2.25)) και της αιθανόλης (αντίδραση (2.27)) προς οξικό.

Με βάση τις παραπάνω παραδοχές, υπολογίζουμε κατ' αρχήν την πραγματική γραμμομοριακή αναλογία παραγόμενου οξικού προς οξειδούμενο γαλακτικό ( $x_{A(L)}$ , Σχήμα 8.8) και οξειδούμενη αιθανόλη ( $x_{A(E)}$ , Σχήμα 8.9). Από τα αποτελέσματα (Πίνακας 8.3) προκύπτει σημαντική απόκλιση (56% στην περίπτωση του γαλακτικού και 36% στην περίπτωση της αιθανόλης) από τη θεωρητική γραμμομοριακή αναλογία γαλακτικού:οξικού και αιθανόλης:οξικού των αντίστοιχων αντιδράσεων οξείδωσης (αντίδραση (2.25) και (2.27), αντίστοιχα) της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων προς οξικό.

**Πίνακας 8.3.** Υπολογισμός πραγματικών γραμμομοριακών αναλογιών κατά το στάδιο της οξείδωσης του γαλακτικού και της αιθανόλης προς οξικό με αναγωγή θειικών ιόντων. Παραγωγή οξικών ιόντων

Παράμετρος	Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων	
	Γαλακτικό	Αιθανόλη
$A_{gen} = \frac{A_{res}}{0,15}$	8,80 mM	9,50 mM
$x_{A(L)} = \frac{A_{gen(L)}}{L_{ox}}$ ή $x_{A(E)} = \frac{A_{gen(E)}}{E_{ox}}$	0,44	0,64
Θεωρητική αναλογία		
$\frac{A}{L}$ ή $\frac{A}{E}$	1,00	1,00
	(αντίδραση (2.25))	(αντίδραση (2.27))

Για τις επεξηγήσεις των υπόλοιπων συμβόλων του πίνακα, δείτε το Σχήμα 8.8 και το Σχήμα 8.9.

Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το 50% περίπου του γαλακτικού που καταναλώθηκε σε διεργασίες εκτός της αφομοίωσής του για την παραγωγή και συντήρηση κυτταρικού υλικού, διοχετεύθηκε προς άλλες διαδικασίες εκτός της αναγωγής των θειικών ιόντων, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των παραγόμενων οξικών ιόντων να είναι αρκετά χαμηλότερη από τη θεωρητικά αναμενόμενη. Ομοίως συμβαίνει και στην περίπτωση της αιθανόλης, όπου όμως η σημαντικά μικρότερη (σε σχέση με την περίπτωση του γαλακτικού) απόκλιση από τη θεωρητική τιμή υπογραμμίζει την ισχυρότερη συγγένεια της αιθανόλης με το βακτηριακό πληθυσμό της κλίνης.

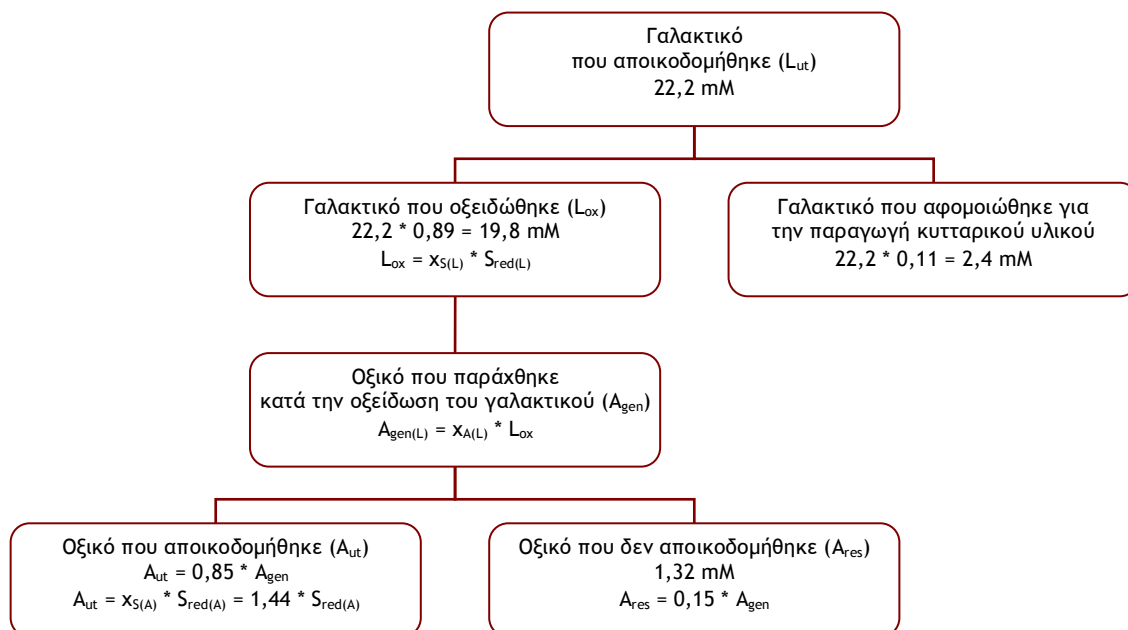
Στη συνέχεια, όμως, υπολογίζοντας την πραγματική γραμμομοριακή αναλογία του οξειδούμενου γαλακτικού ( $x_{S(L)}$ , Σχήμα 8.8) και της οξειδούμενης αιθανόλης ( $x_{S(E)}$ , Σχήμα 8.9) προς τα αναγόμενα θειικά, καταλήγουμε σε άτοπα αποτελέσματα (Πίνακας 8.4) που δείχνουν σημαντική προς τα κάτω απόκλιση (26% στην περίπτωση του γαλακτικού και 46% στην περίπτωση της αιθανόλης) από τις θεωρητικές τιμές που προκύπτουν από τις αντίστοιχες αντιδράσεις οξειδοαναγωγής (αντιδράσεις (2.25) και (2.27), αντίστοιχα).

Οπότε, δεν μπορούμε να υπολογίσουμε με ασφάλεια τα θειικά που ανάχθηκαν σε κάθε στάδιο της αποικοδόμησης του γαλακτικού ή της αιθανόλης στους αντίστοιχους αντιδραστήρες, βασιζόμενοι στη γραμμομοριακή αναλογία  $x_{S(A)} = 1,44$  που υπολογίστηκε από τα πειραματικά αποτελέσματα του αντιδραστήρα που λειτούργησε με περίσσεια οξικού νατρίου ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Εφόσον, λοιπόν, δεχθούμε ότι δεν ισχύει αυτή η παραδοχή, δεν μπορούμε να καταλήξουμε σε ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με την κατανομή των ανταλλασσόμενων ηλεκτρονίων, χωρίς σαφή αποτύπωση των φυσιολογικών και κινητικών χαρακτηριστικών του βακτηριακού πληθυσμού της κάθε κλίνης.

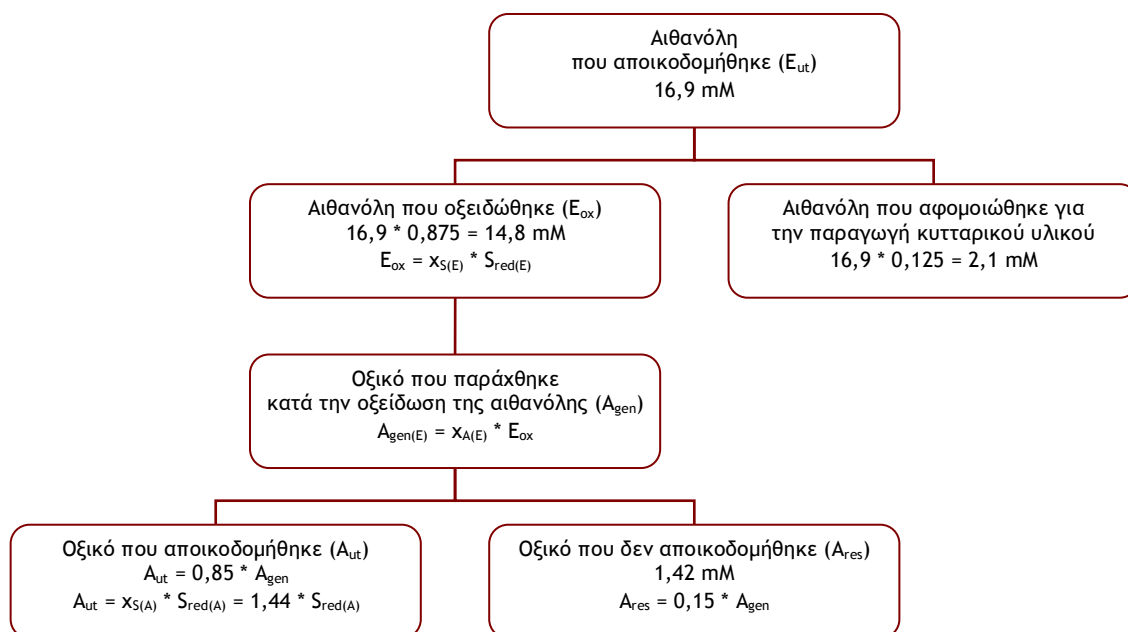
*Πίνακας 8.4. Υπολογισμός πραγματικών γραμμομοριακών αναλογιών κατά το στάδιο της οξείδωσης του γαλακτικού και της αιθανόλης προς οξικό με αναγωγή θειικών ιόντων. Αναγωγή θειικών ιόντων*

Παράμετρος	Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων	
	Γαλακτικό	Αιθανόλη
$S_{red(A)} = \frac{A_{ut}}{x_{S(A)}} = \frac{0,85 * A_{gen}}{1,44}$	5,19 mM	5,61 mM
$S_{red(L/E)} = S_{red(tot)} - S_{red(A)}$	13,41 mM	13,59 mM
$x_{S(L)} = \frac{L_{ox}}{S_{red(L)}} \quad \text{ή} \quad x_{S(E)} = \frac{E_{ox}}{S_{red(E)}}$	1,48	1,09
<b>Θεωρητική αναλογία</b>		
$\frac{L}{S} \quad \text{ή} \quad \frac{E}{S}$	2,00	2,00
	(αντίδραση (2.25))	(αντίδραση (2.27))

όπου  $S_{red(tot)}$  η συνολική συγκέντρωση θειικών ιόντων που ανάχθηκαν κατά τη διαδικασία (Πίνακας 8.2). Για τις επεξηγήσεις των υπόλοιπων συμβόλων του πίνακα, δείτε το Σχήμα 8.8 και το Σχήμα 8.9.



Σχήμα 8.8. Στάδια αποικοδόμησης οργανικού υποστρώματος κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων



Σχήμα 8.9. Στάδια αποικοδόμησης οργανικού υποστρώματος κατά την αναγωγή των θειικών ιόντων με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων

#### 8.4. Επίδραση της αναλογίας οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στην αποικοδόμηση των οξικών ιόντων

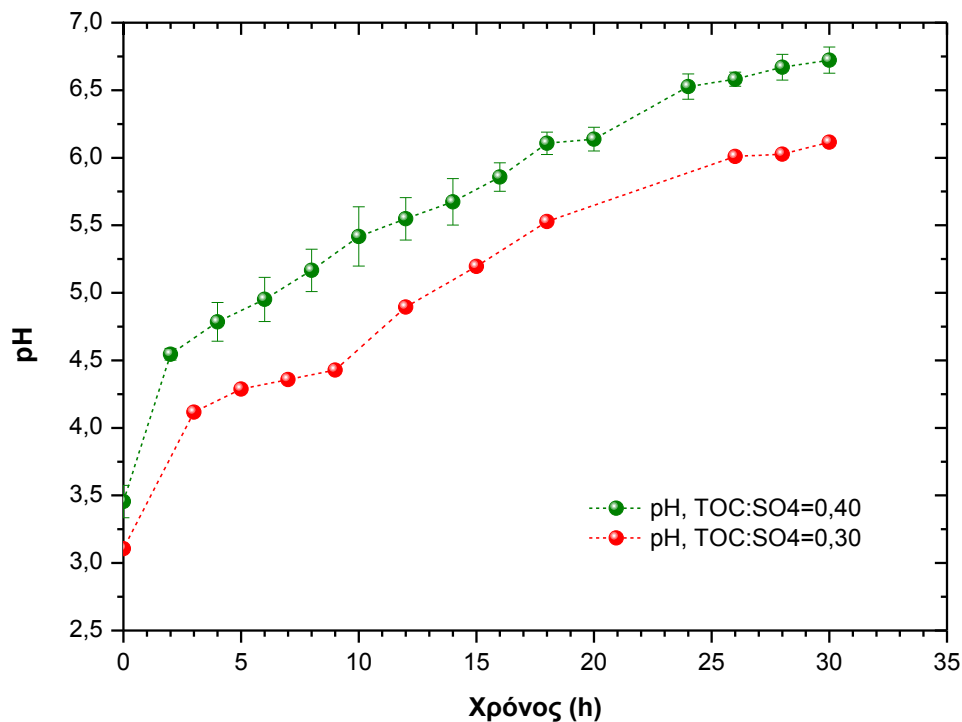
Σε αυτή τη σειρά πειραμάτων, μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών αναλογιών οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στην απόδοση του θειοαναγωγικού αντιδραστήρα [A] που λειτουργούσε με οξικό νάτριο ως αποκλειστική πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και επεξεργαζόταν διάλυμα θειικών ιόντων (1,8 g/L) και ιόντων Fe(II), Zn, Cu, Ni (100 mg/L) όταν το αρχικό pH του διαλύματος ήταν 3-3,5. Και στις δύο περιπτώσεις που ελέγχθηκαν, ο οργανικός άνθρακας παρέχόταν σε περίσσεια σε σχέση με το στοιχειομετρικά απαιτούμενο (Πίνακας 4.8):

1.  $\frac{TOC}{SO_4^{2-}} = 0,40$  που αντιστοιχεί σε περίσσεια 58% ως προς τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη συγκέντρωση οξικών ιόντων για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος (ενότητες 8.2 και 8.3)

2.  $\frac{TOC}{SO_4^{2-}} = 0,30$  που αντιστοιχεί σε περίσσεια 20% ως προς τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη συγκέντρωση οξικών ιόντων για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος. Η αναλογία αυτή επιλέχθηκε στο πλαίσιο της ελαχιστοποίησης του προστιθέμενου οργανικού άνθρακα και λαμβάνοντας υπόψη (i) τη βέλτιστη αναλογία που προσδιορίστηκε στην περίπτωση της αιθανόλης και (ii) τις ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει η αποικοδόμηση του οξικού ιόντος από τα θειοαναγωγικά βακτήρια.

Από τη συγκριτική μελέτη των αποτελεσμάτων, προκύπτει σημαντική διαφορά στην τελική συγκέντρωση των θειικών ιόντων και, συνακόλουθα, στο ποσοστό αναγωγής των θειικών ιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας (Σχήμα 8.11), παρά την επιτυχή εξουδετέρωση του διαλύματος (Σχήμα 8.10) και την ποσοτική απομάκρυνση των μετάλλων (Σχήμα 8.13) και παρόλο που η αποικοδόμηση των οξικών ιόντων, και κατ' επέκταση του οργανικού άνθρακα, προχωρά σε συγκρίσιμα επίπεδα (Σχήμα 8.12). Έτσι, η πειραματική γραμμομοριακή αναλογία οξικού:θειικών προσδιορίζεται σε 1,85 στην περίπτωση (2), δηλαδή 28% υψηλότερη από την τιμή που υπολογίστηκε για την περίπτωση (1) (Πίνακας 8.2).

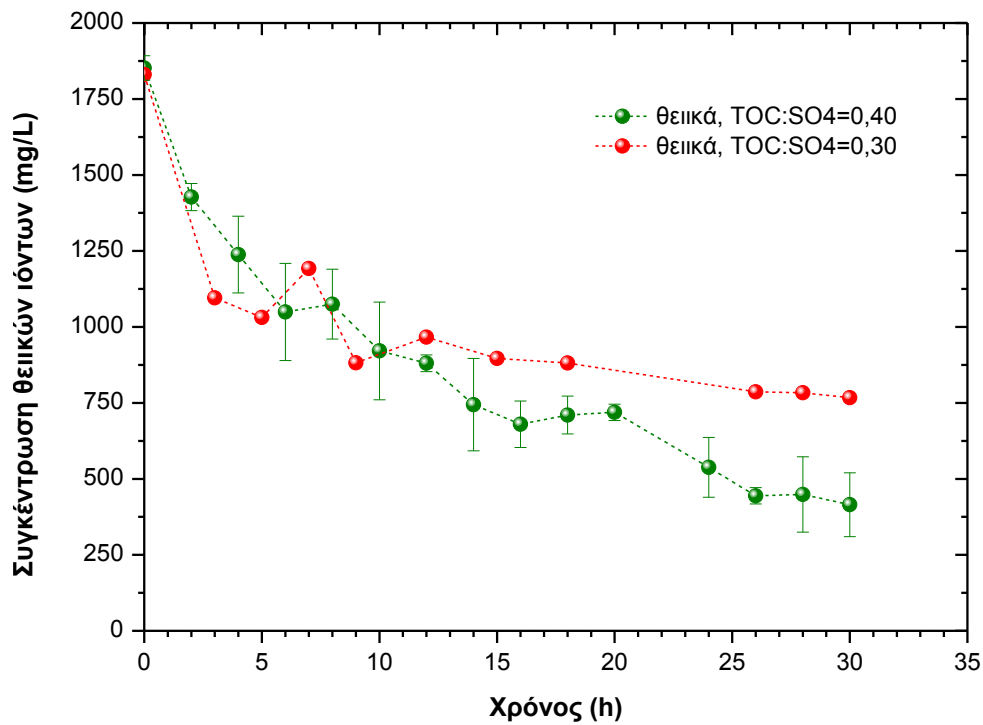




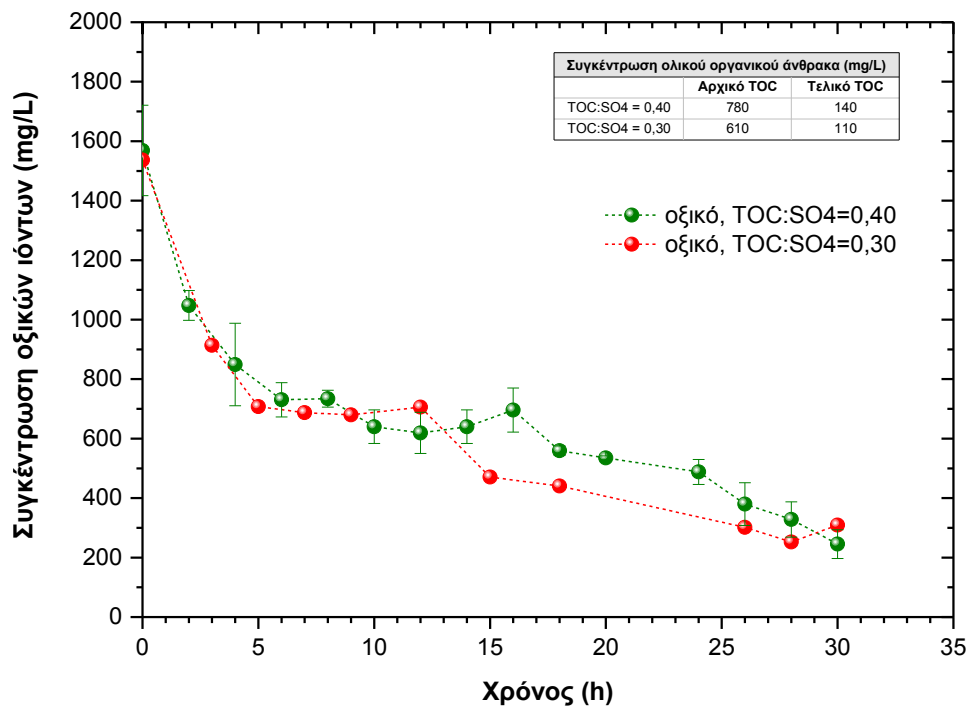
Σχήμα 8.10. Συγκριτική κινητική μελέτη pH κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων

Με βάση τα παραπάνω και το γεγονός ότι τα οξικότροφα θειοαναγωγικά βακτήρια αποικοδομούν το οξικό με πιο αργό ρυθμό από άλλους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι, όσο περιορίζεται η περίσσεια οξικών ιόντων τόσο περισσότερο περιορίζεται το ποσοστό αξιοποίησης του οξικού για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος.

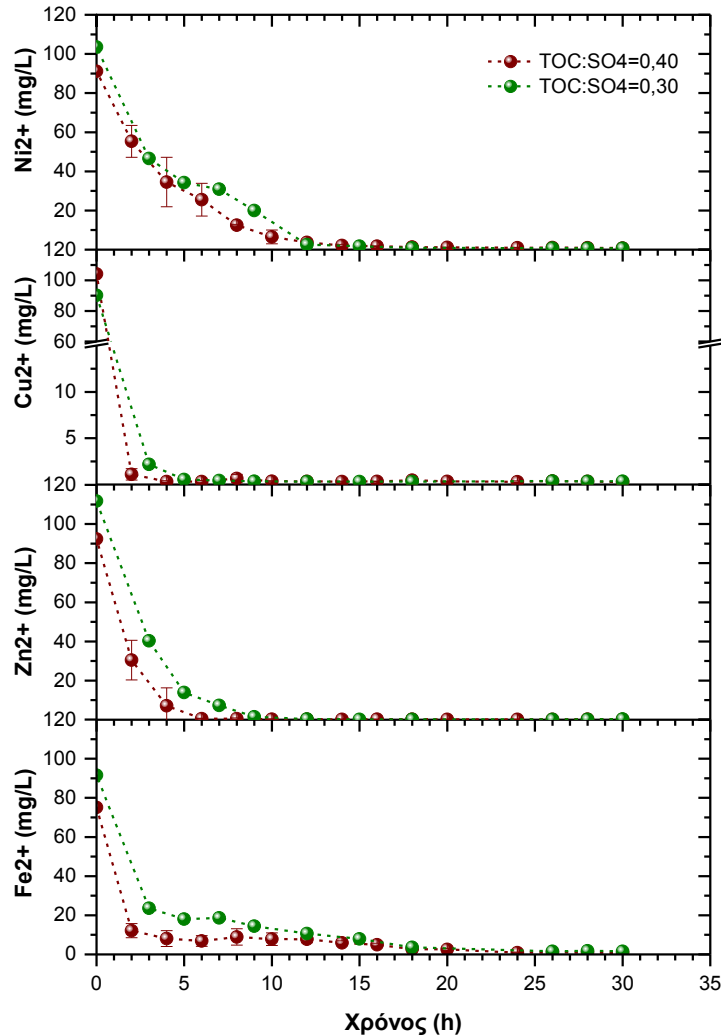
Επομένως, παρά την αποδεδειγμένη ικανότητα του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης να αποικοδομεί τα οξικά ιόντα και θεωρώντας αμελητέα την πιθανή ανασταλτική δράση του οξικού για τη θειοαναγωγική δραστηριότητα σε όξινο pH, η χρήση του οξικού ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων φαίνεται να απαιτεί υψηλή περίσσεια έναντι της στοιχειομετρικά απαιτούμενης συγκέντρωσης προκειμένου να επιτευχθεί ταυτόχρονη μείωση της συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα και θειικών ιόντων έως τα επιθυμητά επίπεδα στην έξοδο του αντιδραστήρα.



Σχήμα 8.11. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων



Σχήμα 8.12. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης οξικών ιόντων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων



Σχήμα 8.13. Συγκριτική κινητική μελέτη συγκέντρωσης ιόντων μετάλλων κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV με οξικό νάτριο σε διαφορετικές αναλογίες οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων

## 8.5. Συμπεράσματα

Μετά την ολοκλήρωση του τέταρτου κύκλου δοκιμών και τη συστηματική παρακολούθηση των τριών θειοαναγωγικών αντιδραστήρων, επιβεβαιώθηκε

- η δυνατότητα προσαρμογής του βακτηριακού πληθυσμού στην αλλαγή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων, όπως αποδεικνύεται από την παρακολούθηση του pH στους αντιδραστήρες [L] και [A].
- η δυνατότητα παραγωγής θειούχων ιόντων ακόμα κι όταν ο μικτός πληθυσμός των θειοαναγωγικών βακτηρίων έρχεται σε απευθείας επαφή με όξινο διάλυμα αφού, όπως αποδεικνύεται από τα πειραματικά αποτελέσματα, η μεταβολική διαδικασία των θειοαναγωγικών βακτηρίων δεν επηρεάστηκε αρνητικά ούτε αναστάληκε από τη χαμηλή αρχική τιμή pH για τα τρία οργανικά υποστρώματα που ελέγχθηκαν.

- η δυνατότητα του ακινητοποιημένου μικροβιακού πληθυσμού να οξειδώνει τα οξικά ιόντα. Από τη συγκριτική μελέτη αποικοδόμησης των τριών θρεπτικών υποστρωμάτων συμπεραίνεται ότι η αιθανόλη και το γαλακτικό αποικοδομούνται πλήρως αφού το ενδιαμέσως παραγόμενο οξικό οξειδώνεται μέχρι συγκεντρώσεων μικρότερων των 100 mg/L (ισοδύναμο TOC < 40 mg/L) και στους δυο αντιδραστήρες [E] και [L]. Το γεγονός αυτό αποτελεί κρίσιμο αποτέλεσμα για τη συνολική αξιολόγηση της διεργασίας.

Παράλληλα, προέκυψαν ορισμένα χρήσιμα αποτελέσματα που μπορούν να αξιοποιηθούν για την αξιολόγηση της απόδοσης των τριών οργανικών υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για το μελετώμενο σύστημα θειοαναγωγικού αντιδραστήρα. Συγκεκριμένα, και λαμβάνοντας υπόψη ότι η παροχή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων σε περίσσεια επέφερε την (σε κάποιο βαθμό) τροποποίηση της σύνθεσης του αρχικού, αμιγώς θειοαναγωγικού, πληθυσμού,

- παρά το γεγονός ότι η γραμμομοριακή αναλογία οργανικού υποστρώματος:θειικών ιόντων που προσδιορίστηκε πειραματικά βρέθηκε υψηλότερη από τη θεωρητικά αναμενόμενη τιμή και στις τρεις περιπτώσεις, η μικρότερη απόκλιση από τη θεωρητική τιμή σημειώθηκε στον αντιδραστήρα που λειτούργησε με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων. Το αποτέλεσμα αυτό υπογραμμίζει την ισχυρότερη συγγένεια του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης με την αιθανόλη, σε σύγκριση με το γαλακτικό ή το οξικό ιόν.
- η παροχή της αιθανόλης σε περίσσεια 58% έναντι της στοιχειομετρικά απαιτούμενης συγκέντρωσης προκάλεσε την κατά 20% αύξηση του αρχικού ρυθμού αναγωγής των θειικών ιόντων σε σύγκριση με προηγούμενο κύκλο δοκιμών όπου η αιθανόλη παρεχόταν στη στοιχειομετρικά απαιτούμενη συγκέντρωση. Επομένως, γίνεται σαφές ότι πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω η βέλτιστη αναλογία αιθανόλης:θειικών ιόντων ώστε να μην περιορίζεται ο ρυθμός της θειοαναγωγικής δραστηριότητας από την οριακά επαρκή παροχή πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων, αλλά και να αξιοποιείται ο παρεχόμενος οργανικός άνθρακας κατά το δυνατό αποκλειστικά για την αναγωγή των θειικών ιόντων, επιτυγχάνοντας -σε κάθε περίπτωση- ελάχιστο οργανικό φορτίο στο ρεύμα εξόδου του αντιδραστήρα.
- η μείωση της περίσσειας οξικών ιόντων στο 20% ως προς τη στοιχειομετρικά απαιτούμενη συγκέντρωση για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος έδειξε ότι όσο περιορίζεται η περίσσεια οξικών ιόντων τόσο περισσότερο περιορίζεται το ποσοστό αξιοποίησης του οξικού για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος. Το εύρημα αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η χρήση οξικού νατρίου ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων δεν μπορεί να θεωρηθεί βιώσιμη επιλογή για την αποδοτική λειτουργία του συστήματος.

# 9

## Συμπεράσματα και Προοπτικές

---

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η ανάπτυξη συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα υψηλής απόδοσης για την επεξεργασία όξινων διαλυμάτων θειικών ιόντων, δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου και την καταβύθιση των μεταλλικών αξιών με τη μορφή θειούχων ενώσεων, με κατάλληλη πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε βέλτιστη αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων. Από τον κύριο αυτό στόχο προέκυψαν επιμέρους βασικά ερωτήματα τα οποία διερευνήθηκαν κατά την πειραματική μελέτη του συστήματος. Οι σχετικές απαντήσεις που τεκμηριώθηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια παρουσίασης και σχολιασμού των πειραματικών αποτελεσμάτων στοιχειοθετούν τα κύρια συμπεράσματα της παρούσας διατριβής και υποδεικνύουν τις προοπτικές εφαρμογής αλλά και περαιτέρω διερεύνησης του προτεινόμενου συστήματος.

### 9.1. Συμπεράσματα

Στην ενότητα αυτή συνοψίζονται τα κύρια συμπεράσματα της παρούσας διατριβής που προέκυψαν μετά την πειραματική διερεύνηση των βασικών ερωτημάτων όπως αυτά διατυπώνονται στην ενότητα 4.1 και αφορούν:

- τη διαμόρφωση του προτεινόμενου συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα
- την ανάπτυξη και προσαρμογή του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης
- την πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και την αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στο διάλυμα τροφοδοσίας
- τα χαρακτηριστικά της παραγόμενης ιλύος

### **9.1.1. Διαμόρφωση συστήματος θειοαναγωγικού αντιδραστήρα**

Με βάση τα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης που υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, προτείνεται κατ' αρχήν ένα απλό σύστημα μιας βαθμίδας με αντιδραστήρα σταθερής κλίνης και ανοδικής ροής, με αδρανές πληρωτικό υλικό. Έτσι, με το σύστημα απλού σχεδιασμού που επιλέχθηκε, εξασφαλίστηκε η απαιτούμενη συγκράτηση της παραγόμενης βιομάζας για την αποδοτική λειτουργία της διεργασίας αλλά και ικανοποιητική ανοχή του μικροβιακού πληθυσμού στις μεταβολές των συνθηκών λειτουργίας.

Χάρη στο ιδιαίτερο γεωμετρικό σχήμα των σωματιδίων του πληρωτικού υλικού που τελικά επιλέχθηκε αλλά και την υψηλή ειδική επιφάνεια του υλικού, εξασφαλίστηκε η απαραίτητη υδραυλική σταθερότητα του αντιδραστήρα αλλά και ικανή επιφάνεια για την ακινητοποίηση του ζητούμενου βιολογικού στρώματος. Ως αποτέλεσμα, το υψηλό πορώδες της κλίνης διευκόλυνε την ακινητοποίηση μικροβιακού πληθυσμού υψηλής πυκνότητας που διαφάνηκε από τα υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης διαλελυμένων μετάλλων, θειικών ιόντων και οργανικού άνθρακα που επιτεύχθηκαν από τα πρώτα ακόμα εκατοστά της κλίνης του αντιδραστήρα.

Επίσης, η σταθερότητα του συστήματος αποδείχθηκε με δοκιμή της λειτουργίας του σε αντίξοες για τη θειοαναγωγική δραστηριότητα συνθήκες, αποδεικνύοντας υψηλή ανοχή σε όξινα pH καθώς και σε υψηλές συγκεντρώσεις αλλά και συνδυασμό ιόντων μετάλλων. Συγκεκριμένα,

- Η μεταβολική διαδικασία του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης δεν επηρεάστηκε αρνητικά ούτε αναστάθηκε κατά την τροφοδοσία του αντιδραστήρα με διαλύματα σε pH = 3-3,5.
- Η θειοαναγωγική δραστηριότητα διατηρήθηκε για αρχικές συγκεντρώσεις ιόντων ψευδαργύρου έως και 350 mg/L καθώς και για αρχικές συγκεντρώσεις ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου έως και 200 mg/L. Σε κάθε περίπτωση, τα ιόντα των μετάλλων απομακρύνονταν ποσοτικά από το διάλυμα.

### **9.1.2. Ανάπτυξη και προσαρμογή βακτηριακού πληθυσμού**

Μετά τον αρχικό εμβολιασμό της κλίνης με ιλύ από τη δεξαμενή αναερόβιας χώνευσης εγκατάστασης βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων και την παροχή πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων με τη μορφή γαλακτικού νατρίου, ο βακτηριακός πληθυσμός που εγκαταστάθηκε στην κλίνη του αντιδραστήρα βρέθηκε να περιλαμβάνει θειοαναγωγικά βακτήρια που ανήκαν σε τέσσερα διαφορετικά γένη του φύλου δ-Πρωτεοβακτήρια. Ο μικροβιακός πληθυσμός που αναπτύχθηκε ήταν εξαιρετικά ποικιλόμορφος λόγω της διαθεσιμότητας του γαλακτικού ιόντος στο θρεπτικό μέσο, το οποίο υποστηρίζει την ανάπτυξη και διατήρηση πολλών θειοαναγωγικών ειδών.

Στη συνέχεια, η αλλαγή της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αιθανόλη περιόρισε την ανάπτυξη ορισμένων ειδών του αρχικού πληθυσμού, με αποτέλεσμα τη διαμόρφωση μιας λιγότερο ποικιλόμορφης κοινότητας θειοαναγωγικών βακτηρίων. Παράλληλα, η χρήση της αιθανόλης ευνόησε την ανάπτυξη μικροβιακών ειδών με δυνατότητα οξειδωσης του οξικού, με

αποτέλεσμα να επικρατήσει το είδος *Desulfobacter postgatei* στο θειοαναγωγικό πληθυσμό της κλίνης του αντιδραστήρα.

Το αποτέλεσμα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς το συγκεκριμένο βακτηριακό είδος έχει τη χαρακτηριστική ιδιότητα να αποικοδομεί το οξικό ιόν που σχηματίζεται ενδιάμεσα κατά την οξείδωση του γαλακτικού ιόντος και της αιθανόλης. Έτσι, στην περίπτωση που επιλεχθούν αυτές οι πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων, αξιοποιείται το υψηλότερο δυνατό ποσοστό του οργανικού άνθρακα που τροφοδοτείται στο σύστημα και ελαχιστοποιείται το οργανικό φορτίο του ρεύματος εξόδου.

### **9.1.3. Πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων και αναλογία οργανικού άνθρακα:θειικών ιόντων στο διάλυμα τροφοδοσίας**

Η συγκριτική μελέτη τριών απλών πηγών άνθρακα/ηλεκτρονίων που προτείνονται στη βιβλιογραφία για τη διατήρηση θειοαναγωγικών συστημάτων κατέδειξε την ισχυρότερη συγγένεια του βακτηριακού πληθυσμού της κλίνης με την αιθανόλη, σε σύγκριση με το γαλακτικό ή το οξικό ιόν. Έτσι, είναι δυνατό να διατηρηθεί σχετικά αναλλοίωτη η σύνθεση της μικτής κοινότητας θειοαναγωγικών βακτηρίων, εξασφαλίζοντας ότι η οξείδωση της αιθανόλης θα αξιοποιείται, κατά το δυνατό αποκλειστικά, για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας.

Επίσης, η χρήση της αιθανόλης ως αποκλειστικής πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων για το προτεινόμενο σύστημα θειοαναγωγικού αντιδραστήρα οδήγησε στις εξής διαπιστώσεις:

- Επιλεκτική και μακροχρόνια διατήρηση ενεργού λεπτού βιολογικού στρώματος θειοαναγωγικών βακτηρίων καθώς ο αντιδραστήρας λειτούργησε με παροχή αιθανόλης, επιτυγχάνοντας υψηλή απόδοση, για περισσότερα από 2 χρόνια.
- Ποσοτική απομάκρυνση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου (αρχικής συγκέντρωσης 0,1 g/L) από όξινα (pH 3-3,5) συνθετικά διαλύματα θειικών ιόντων (αρχικής συγκέντρωσης 1,8 g/L) με ταυτόχρονη αναγωγή των θειικών ιόντων και ελαχιστοποίηση του οργανικού φορτίου στο ρεύμα εξόδου. Ο ρυθμός αναγωγής των θειικών ιόντων προσέγγισε τα 7 g/Ld ενώ ο υπολειπόμενος ολικός οργανικός άνθρακας στο επεξεργασμένο διάλυμα προσδιορίστηκε σε τιμή χαμηλότερη από 40 mg/L.
- Απαίτηση για μικρή υπέρβαση της στοιχειομετρικά απαιτούμενης συγκέντρωσης αιθανόλης για την αναγωγή των θειικών ιόντων του διαλύματος καθώς η ελάχιστη γραμμομοριακή αναλογία αιθανόλης:θειικών ιόντων για την πλήρη απομάκρυνση της αιθανόλης και των θειικών από το διάλυμα υπολογίστηκε σε 0,75.

Εκτός των παραπάνω και στο πλαίσιο της συνεκτίμησης των οικονομικών παραμέτρων για τη βιώσιμη λειτουργία του συστήματος, είναι σημαντικό να σημειωθεί το χαμηλότερο κόστος της αιθανόλης σε σχέση με το γαλακτικό νάτριο αλλά και η δυνατότητα αξιοποίησης αιθανόλης βιομηχανικού τύπου (χαμηλότερης καθαρότητας) ως πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων. Ωστόσο, η τελευταία αυτή εναλλακτική χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

#### 9.1.4. Παραγόμενη ιλύς

Από την επεξεργασία των πειραματικών αποτελεσμάτων, διαφάνηκε ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης των ιόντων μετάλλων από την υδατική φάση που συνίσταται στον εξωκυτταρικό σχηματισμό άμορφων θειούχων ενώσεων των μετάλλων. Προφανώς, ο σχηματισμός εξαιρετικά λεπτομερών σωματιδίων και η επικράτηση άμορφων κατακρημνισμάτων οφείλεται στις συνθήκες λειτουργίας του συστήματος αφού, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, στους θειοαναγωγικούς αντιδραστήρες που λειτουργούν σε αναερόβιες συνθήκες, θερμοκρασία 25 °C περίπου και σχεδόν ουδέτερες τιμές pH, χωρίς έλεγχο της συγκέντρωσης των παραγόμενων θειούχων ιόντων, ευνοείται η επικράτηση άμορφων ή μικροκρυσταλλικών φάσεων των θειούχων ενώσεων των μετάλλων

Έτσι, στην παραγόμενη ιλύ, που αποτελείται κυρίως από άμορφες φάσεις θειούχων ενώσεων των μετάλλων και συγκρατείται κατά μεγάλο μέρος στο εσωτερικό του βιολογικού αντιδραστήρα, αναγνωρίστηκαν συμπλέγματα μικροκρυσταλλικών δομών μαρκασίτη, βουρσίτη, σφαλερίτη, κοβελλίτη και ιιζελογουνίτη.

## 9.2. Προοπτικές

Με βάση τα συμπεράσματα της παρούσας διατριβής αλλά και τις πληροφορίες της διεθνούς βιβλιογραφίας, διαφαίνονται τρεις άξονες περαιτέρω μελέτης του προτεινόμενου συστήματος με στόχο τη βελτιστοποίηση της λειτουργίας του για την τελική, αποδοτική και βιώσιμη, βιομηχανική εφαρμογή του. Συγκεκριμένα,

- Πειραματική διερεύνηση της βέλτιστης αναλογίας αιθανόλης:θειικών ιόντων ώστε να εξασφαλίζεται πλήρης αναγωγή των διαθέσιμων θειικών ιόντων του διαλύματος τροφοδοσίας με ταυτόχρονη απομάκρυνση του οργανικού άνθρακα, χωρίς όμως να περιορίζεται ο ρυθμός αναγωγής λόγω της οριακά επαρκούς διαθεσιμότητας της πηγής άνθρακα/ηλεκτρονίων. Προφανώς, το δεδομένο αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τη διαστασιολόγηση του αντιδραστήρα αλλά και για την τεχνικοοικονομική ανάλυση του συστήματος.
- Μαθηματική προσομοίωση του προτεινόμενου συστήματος ώστε να διασαφηνιστεί και να ποσοτικοποιηθεί η επίδραση των διαφόρων παραμέτρων στη λειτουργία του και να επιτραπεί, έτσι, η πρόβλεψη της συμπεριφοράς του σε μεταβαλλόμενες συνθήκες λειτουργίας. Επίσης, δεδομένης της ποικιλομορφίας ως προς τη σύσταση, τις φυσικές ιδιότητες αλλά και τον όγκο των διαθέσιμων προς επεξεργασία αποβλήτων, το μοντέλο αυτό θα αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για την προσαρμογή του συστήματος στις ανάγκες της βιομηχανίας και, κατ' επέκταση, για την αποδοτική κάθε φορά εφαρμογή του.
- Εμπειρισιακή μελέτη των φυσικών, χημικών και ορυκτολογικών χαρακτηριστικών της παραγόμενης ιλύος ώστε να τεκμηριωθεί η βέλτιστη μέθοδος διάθεσής της αλλά και να αξιολογηθεί η δυνατότητα ανάκτησης των μεταλλικών αξιών, η οποία θα συνεισφέρει σημαντικά στη βιωσιμότητα του συστήματος. Στο πλαίσιο αυτό, θα πρέπει να συνεκτιμηθεί



και η δυνατότητα εκλεκτικής καταβύθισης των ιόντων μετάλλων του διαλύματος τροφοδοσίας.



- Al-Tarazi, M., Heesink, A.B.M., Azzam, M.O.J., Yahya, S.A. & Versteeg, G.F. (2004). Crystallization kinetics of ZnS precipitation; an experimental study using the mixed-suspension-mixed-product-removal (MSMPR) method. *Crystal Research and Technology* 39(8): 675-685.
- Alexandrino, M., Macias, F., Costa, R., Gomes, N.C.M., Canário, A.V.M. & Costa, M.C. (2011). A bacterial consortium isolated from an Icelandic fumarole displays exceptionally high levels of sulfate reduction and metals resistance. *Journal of Hazardous Materials* 187(1-3): 362-370.
- Alphenaar, P.A., Visser, A. & Lettinga, G. (1993). The effect of liquid upward velocity and hydraulic retention time on granulation in UASB reactors treating wastewater with a high sulphate content. *Bioresource Technology* 43(3): 249-258.
- Alvarez, M., Pozzo, T. & Mattiasson, B. (2006). Enhancement of sulphide production in anaerobic packed bed bench-scale biofilm reactors by sulphate reducing bacteria. *Biotechnology Letters* 28(3): 175-181.
- Annachatre, A.P. & Suktrakoolvait, S. (2001). Biological sulfate reduction using molasses as a carbon source. *Water Environment Research* 73(1): 118-126.
- APHA, AWWA & WEF (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed.
- Arakaki, T. & Morse, J.W. (1993). Coprecipitation and adsorption of Mn(II) with mackinawite (FeS) under conditions similar to those found in anoxic sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57(1): 9-14.
- Ashe, N.L., McLean, I. & Nodwell, M. (2008). Review of operations of the Biosulphide process plant at the copper Queen mine, Bisbee, Arizona. in: Young, C.A., Taylor, P.R., Anderson, C.G. & Choi, Y. (Eds.), *Hydrometallurgy 2008, Proceedings of the Sixth International Symposium on Hydrometallurgy*, Phoenix, Arizona. Society for Mining, Metallurgy and Exploration, Inc.: pp. 98-107.
- Atmakidis, T. & Kenig, E.Y. (2009). A numerical study on the residence time distribution in low and moderate tube/particle diameter ratio fixed bed reactors. *Chemical Engineering Transactions* 18: 581-586.
- Backer, L.D. & Baron, G. (1994). Residence time distribution in a packed bed bioreactor containing porous glass particles: Influence of the presence of immobilized cells. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 59(3): 297-302.
- Baker-Austin, C. & Dopson, M. (2007). Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. *Trends in Microbiology* 15(4): 165-171.
- Baker, B.J. & Banfield, J.F. (2003). Microbial communities in acid mine drainage. *FEMS Microbiology Ecology* 44(2): 139-152.
- Barber, W.P. & Stuckey, D.C. (1999). The use of the anaerobic baffled reactor (ABR) for wastewater treatment: a review. *Water Research* 33(7): 1559-1578.
- Barber, W.P. & Stuckey, D.C. (2000). Effect of sulfate reduction on chemical oxygen demand removal in an anaerobic baffled reactor. *Water Environment Research* 72(5): 593-601.
- Barbosa, L.P., Bertolino, S.M., Freitas, P.C., Oliveira, V.A., Pina, P.D., Leão, V.A. & Teixeira, M.C. (2009). Effects of different COD/sulfate ratios on the growth of metal tolerant sulfate reducing bacteria (SRB). *Advanced Materials Research* 71-73: 569-572.
- Barnes, L.J., Janssen, F.J., Sherren, J., Versteegh, J.H., Koch, R.O. & Scheeren, P.J.H. (1991). A new process for the microbial removal of sulphate and heavy metals from contaminated waters extracted by a geohydrological control system. *Chemical Engineering Research and Design* 69(3): 184-186.
- Baronofsky, J.J., Schreurs, W.J.A. & Kashket, E.R. (1984). Uncoupling by acetic acid limits growth of and acetogenesis by *Clostridium thermoaceticum*. *Applied and Environmental Microbiology* 48(6): 1134-1139.
- Barton, L.L., Choudhury, K., Thomson, B.M., Steenhoudt, K. & Groffman, A.R. (1996). Bacterial reduction of soluble uranium: the first step of in situ immobilization of uranium. *Radioactive Waste Management and Environmental Restoration* 20: 141-151.

- Barton, L.L. & Plunkett, R.M. (2002). Sulfate-reducing bacteria: Environmental and technological aspects. in: Bitton, G. (Ed.) *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. New York: John Wiley & Sons, Inc., pp. 3087-3096.
- Barton, L.L. & Fauque, G.D. (2009). Biochemistry, physiology and biotechnology of sulfate-reducing bacteria. in: Laskin, A.I., Sariaslani, S. & Gadd, G.M. (Eds.), *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, pp. 41-98.
- Baskaran, V. & Nemati, M. (2006). Anaerobic reduction of sulfate in immobilized cell bioreactors, using a microbial culture originated from an oil reservoir. *Biochemical Engineering Journal* 31(2): 148-159.
- Battaglia-Brunet, F., Foucher, S., Denamur, A., Ignatiadis, I., Michel, C. & Morin, D. (2002). Reduction of chromate by fixed films of sulfate-reducing bacteria using hydrogen as an electron source. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 28(3): 154-159.
- Battaglia-Brunet, F., Foucher, S., Morin, D. & Ignatiadis, I. (2004). Chromate ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) reduction in groundwaters by using reductive bacteria in fixed-bed bioreactors. *Water, Air & Soil Pollution: Focus* 4(4): 127-135.
- Battaglia-Brunet, F., Touze, S., Michel, C. & Ignatiadis, I. (2006). Treatment of chromate-polluted groundwater in a 200 dm<sup>3</sup> pilot bioreactor fed with hydrogen. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 81(9): 1506-1513.
- Battaglia-Brunet, F., Michel, C., Jouliau, C., Ollivier, B. & Ignatiadis, I. (2007). Relationship between sulphate starvation and chromate reduction in a H<sub>2</sub>-fed fixed-film bioreactor. *Water, Air & Soil Pollution* 183(1-4): 341-353.
- Battaglia-Brunet, F., Morin, D., Coulon, S. & Jouliau, C. (2009). Bioprecipitation of arsenic sulphide at low pH. *Advanced Materials Research* 71-73: 581-584.
- Battaglia-Brunet, F., Crouzet, C., Burnol, A., Coulon, S., Morin, D. & Jouliau, C. (2012). Precipitation of arsenic sulphide from acidic water in a fixed-film bioreactor. *Water Research* 46(12): 3923-3933.
- Bayrakdar, A., Sahinkaya, E., Gungor, M., Uyanik, S. & Atasoy, A.D. (2009). Performance of sulfidogenic anaerobic baffled reactor (ABR) treating acidic and zinc-containing wastewater. *Bioresource Technology* 100(19): 4354-4360.
- Beech, I.B. & Cheung, C.W.S. (1995). Interactions of exopolymers produced by sulphate-reducing bacteria with metal ions. *International Biodeterioration & Biodegradation* 35(1-3): 59-72.
- Bekmezci, O.K., Ucar, D., Kaksonen, A.H. & Sahinkaya, E. (2011). Sulfidogenic biotreatment of synthetic acid mine drainage and sulfide oxidation in anaerobic baffled reactor. *Journal of Hazardous Materials* 189(3): 670-676.
- Benning, L.G., Wilkin, R.T. & Barnes, H.L. (2000). Reaction pathways in the Fe-S system below 100°C. *Chemical Geology* 167(1-2): 25-51.
- Bertolino, S.M., Melgaço, L.A., Quites, N.C. & Leao, V.A. (2013). Performance evaluation of two anaerobic reactors for removing sulphate from industrial effluents. *Advanced Materials Research* 825: 491-495.
- Beyenal, H., Sani, R.K., Peyton, B.M., Dohnalkova, A.C., Amonette, J.E. & Lewandowski, Z. (2004). Uranium immobilization by sulfate-reducing biofilms. *Environmental Science & Technology* 38(7): 2067-2074.
- Bhagat, M., Burgess, J.E., Antunes, A.P.M., Whiteley, C.G. & Duncan, J.R. (2004). Precipitation of mixed metal residues from wastewater utilising biogenic sulphide. *Minerals Engineering* 17(7-8): 925-932.
- Bhattacharyya, D., Jumawan, A.B. & Grieves, R.B. (1979). Separation of toxic heavy metals by sulfide precipitation. *Separation Science and Technology* 14(5): 441-452.
- Bijmans, M.F.M., Dopson, M., Ennin, F., Lens, P.N.L. & Buisman, C.J.N. (2008a). Effect of sulfide removal on sulfate reduction at pH 5 in a hydrogen fed gas-lift bioreactor. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 18(11): 1809-1818.
- Bijmans, M.F.M., Peeters, T.W.T., Lens, P.N.L. & Buisman, C.J.N. (2008b). High rate sulfate reduction at pH 6 in a pH-auxostat submerged membrane bioreactor fed with formate. *Water Research* 42(10-11): 2439-2448.
- Bijmans, M.F.M., Dopson, M., Peeters, T.W.T., Lens, P.N.L. & Buisman, C.J.N. (2009a). Sulfate reduction at pH 5 in a high-rate membrane bioreactor: reactor performance and microbial community analyses. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 19(7): 698-708.
- Bijmans, M.F.M., van Helvoort, P.-J., Buisman, C.J.N. & Lens, P.N.L. (2009b). Effect of the sulfide concentration on zinc bio-precipitation in a single stage sulfidogenic bioreactor at pH 5.5. *Separation and Purification Technology* 69(3): 243-248.
- Bijmans, M.F.M., van Helvoort, P.-J., Dar, S.A., Dopson, M., Lens, P.N.L. & Buisman, C.J.N. (2009c). Selective recovery of nickel over iron from a nickel-iron solution using microbial sulfate reduction in a gas-lift bioreactor. *Water Research* 43(3): 853-861.
- Bijmans, M.F.M., de Vries, E., Yang, C.-H., N. Buisman, C.J., Lens, P.N.L. & Dopson, M. (2010). Sulfate reduction at pH 4.0 for treatment of process and wastewaters. *Biotechnology Progress* 26(4): 1029-1037.
- Bijmans, M.F.M., Buisman, C.J.N., Meulepas, R.J.W. & Lens, P.N.L. (2011). Sulfate reduction for inorganic waste and process water treatment. in: Murray, M.-Y. (Ed.) *Comprehensive Biotechnology*, 2nd ed. Burlington: Academic Press, pp. 435-446.
- BioteQ Environmental Technologies Inc., Vancouver, Canada: [www.bioteq.ca](http://www.bioteq.ca), Mar. 2013.
- Biswas, K., Woodards, N., Xu, H. & Barton, L. (2009). Reduction of molybdate by sulfate-reducing bacteria. *BioMetals* 22(1): 131-139.

- Blowes, D.W., Ptacek, C.J., Jambor, J.L. & Weisener, C.G. (2003). The geochemistry of acid mine drainage. in: Holland, H.D. & Turekian, K.K. (Eds.), *Treatise on Geochemistry: Environmental Geochemistry*. Oxford: Pergamon, pp. 149-204.
- Boonstra, J., van Lier, R., Janssen, G., Dijkman, H. & Buisman, C.J.N. (1999). Biological treatment of acid mine drainage. in: Amils, R. & Ballester, A. (Eds.), *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century, Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium IBS'99*, Madrid, Spain. Elsevier: pp. 559-567.
- Boshoff, G., Duncan, J. & Rose, P.D. (2004). Tannery effluent as a carbon source for biological sulphate reduction. *Water Research* 38(11): 2651-2658.
- Brandis-Heep, A., Gebhardt, N.A., Thauer, R.K., Widdel, F. & Pfennig, N. (1983). Anaerobic acetate oxidation to CO<sub>2</sub> by *Desulfobacter postgatei*. *Archives of Microbiology* 136(3): 222-229.
- BRENDA, The Comprehensive Enzyme Information System: EC 2.7.7.4 - sulfate adenylyltransferase. [http://www.brenda-enzymes.info/php/result\\_flat.php4?ecno=2.7.7.4](http://www.brenda-enzymes.info/php/result_flat.php4?ecno=2.7.7.4), May 2012.
- Bridge, T.A.M., White, C. & Gadd, G.M. (1999). Extracellular metal-binding activity of the sulphate-reducing bacterium *Desulfococcus multivorans*. *Microbiology* 145(10): 2987-2995.
- Brown, M., Barley, B. & Wood, H. (2002). *Minewater treatment: technology, application and policy*. London: IWA Publishing.
- Bryant, M.P., Campbell, L.L., Reddy, C.A. & Crabill, M.R. (1977). Growth of *Desulfovibrio* in lactate or ethanol media low in sulfate in association with H<sub>2</sub>-utilizing methanogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 33(5): 1162-1169.
- Buisman, C.J.N. & Lettinga, G. (1990). Sulphide removal from anaerobic waste treatment effluent of a papermill. *Water Research* 24(3): 313-319.
- Buisman, C.J.N. & Dijkman, H. (2005). Process for the production of hydrogen sulphide from elemental sulphur and use thereof in heavy metal recovery, United States Patent 6852305. Feb. 8, 2005, pp. 7.
- Buisman, C.J.N., Huisman, J., Dijkman, H. & Bijmans, M.F.M. (2007). Trends in application of industrial sulfate reduction for sulfur and metal recycling. in: *Horizons of sustainable growth of the non-ferrous metals production, Proceedings of the European Metallurgical Conference EMC 2007*, Düsseldorf, Germany. GDMB Medienverlag: pp. 383-387.
- Canfield, D.E., Kristensen, E. & Thamdrup, B. (2005). The sulfur cycle. in: Canfield, D.E., Kristensen, E. & Thamdrup, B. (Eds.), *Advances in Marine Biology: Aquatic Geomicrobiology*. Academic Press, pp. 313-381.
- Cao, J., Zhang, G., Mao, Z., Fang, Z. & Yang, C. (2009). Precipitation of valuable metals from bioleaching solution by biogenic sulfides. *Minerals Engineering* 22(3): 289-295.
- Castro, H.F., Williams, N.H. & Ogram, A. (2000). Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 31(1): 1-9.
- Celis-Garcia, L.B., Razo-Flores, E. & Monroy, O. (2007). Performance of a down-flow fluidized bed reactor under sulfate reduction conditions using volatile fatty acids as electron donors. *Biotechnology and Bioengineering* 97(4): 771-779.
- Chang, I.S., Shin, P.K. & Kim, B.H. (2000). Biological treatment of acid mine drainage under sulphate-reducing conditions with solid waste materials as substrate. *Water Research* 34(4): 1269-1277.
- Chang, Y.-J., Peacock, A.D., Long, P.E., Stephen, J.R., McKinley, J.P., Macnaughton, S.J., Hussain, A.K.M.A., Saxton, A.M. & White, D.C. (2001). Diversity and characterization of sulfate-reducing bacteria in groundwater at a uranium mill tailings site. *Applied and Environmental Microbiology* 67(7): 3149-3160.
- Characklis, W.G. & Marshall, K.C. (1990a). Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. in: Characklis, W.G. & Marshall, K.C. (Eds.), *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons, Inc., pp. 3-15.
- Characklis, W.G., Turakhia, M.H. & Zilver, N. (1990b). Transport and interfacial transfer phenomena. in: Characklis, W.G. & Marshall, K.C. (Eds.), *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons, Inc., pp. 265-340.
- Chardin, B., Giudici-Ortoni, M.T., Luca, G., Guigliarelli, B. & Bruschi, M. (2003). Hydrogenases in sulfate-reducing bacteria function as chromium reductase. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63(3): 315-321.
- Chen, B.Y., Utgikar, V.P., Harmon, S.M., Tabak, H.H., Bishop, D.F. & Govind, R. (2000). Studies on biosorption of zinc(II) and copper(II) on *Desulfovibrio desulfuricans*. *International Biodeterioration and Biodegradation* 46(1): 11-18.
- Chen, G., Ford, T.E. & Clayton, C.R. (1998). Interaction of sulfate-reducing bacteria with molybdenum dissolved from sputter-deposited molybdenum thin films and pure molybdenum powder. *Journal of Colloid and Interface Science* 204(2): 237-246.
- Cheong, Y.-W., Min, J.-S. & Kwon, K.-S. (1998). Metal removal efficiencies of substrates for treating acid mine drainage of the Dalsung mine, South Korea. *Journal of Geochemical Exploration* 64(1-3): 147-152.
- Chockalingam, E., Sivapriya, K., Subramanian, S. & Chandrasekaran, S. (2005). Rice husk filtrate as a nutrient medium for the growth of *Desulfotomaculum nigrificans*: characterisation and sulfate reduction studies. *Bioresource Technology* 96(17): 1880-1888.
- Chockalingam, E. & Subramanian, S. (2006). Studies on removal of metal ions and sulphate reduction using rice husk and *Desulfotomaculum nigrificans* with reference to remediation of acid mine drainage. *Chemosphere* 62(5): 699-708.
- Christensen, B., Laake, M. & Lien, T. (1996). Treatment of acid mine water by sulfate-reducing bacteria; results from a bench scale experiment. *Water Research* 30(7): 1617-1624.

- Chuichulcherm, S., Nagpal, S., Peeva, L. & Livingston, A. (2001). Treatment of metal-containing wastewaters with a novel extractive membrane reactor using sulfate-reducing bacteria. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 76(1): 61-68.
- Ciglenccki, I., Krznarić, D. & Helz, G.R. (2005). Voltammetry of copper sulfide particles and nanoparticles: Investigation of the cluster hypothesis. *Environmental Science & Technology* 39(19): 7492-7498.
- Cirne, D., van der Zee, F., Fernandez-Polanco, M. & Fernandez-Polanco, F. (2008). Control of sulphide during anaerobic treatment of S-containing wastewaters by adding limited amounts of oxygen or nitrate. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 7(2): 93-105.
- Clancy, P.B., Venkataraman, N. & Lynd, L.R. (1992). Biochemical inhibition of sulfate reduction in batch and continuous anaerobic digesters. *Water Science & Technology* 25(7): 51-60.
- Coetser, S.E. & Cloete, T.E. (2005). Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. *Critical Reviews in Microbiology* 31(4): 213-232.
- Colleran, E., Finnegan, S. & O'Keefe, R.B. (1994). Anaerobic digestion of high-sulphate-content wastewater from the industrial production of citric acid. *Water Science & Technology* 30(12): 263-273.
- Colleran, E., Finnegan, S. & Lens, P. (1995). Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. *Antonie van Leeuwenhoek* 67(1): 29-46.
- Colleran, E., Pender, S., Philpott, U., O'Flaherty, V. & Leahy, B. (1998). Full-scale and laboratory-scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater. *Biodegradation* 9(3): 233-245.
- Colleran, S. & Pender, S. (2002). Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of sulphate-containing wastewaters. *Water Science & Technology* 45(10): 231-235.
- Costa, M., Martins, M., Jesus, C. & Duarte, J. (2008). Treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria using low cost matrices. *Water, Air & Soil Pollution* 189(1): 149-162.
- Creamer, N., Baxter-Plant, V., Henderson, J., Potter, M. & Macaskie, L. (2006). Palladium and gold removal and recovery from precious metal solutions and electronic scrap leachates by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biotechnology Letters* 28(18): 1475-1484.
- Cruz Viggli, C., Pagnanelli, F., Cibati, A., Uccelletti, D., Palleschi, C. & Toro, L. (2010). Biotreatment and bioassessment of heavy metal removal by sulphate reducing bacteria in fixed bed reactors. *Water Research* 44(1): 151-158.
- Cunningham, A.B. (1989). Hydrodynamics and solute transport at the fluid-biofilm interface. in: Characklis, W.G. & Wilderer, P.A. (Eds.), *Structure and function of biofilms, Report of the Dahlem workshop on structure and function of biofilms*, Berlin. John Wiley & Sons: pp. 19-31.
- Cunningham, A.B., Bouwer, E.J. & Characklis, W.G. (1990). Biofilms in porous media. in: Characklis, W.G. & Marshall, K.C. (Eds.), *Biofilms*. New York: Jogn Wiley & Sons, Inc., pp. 697-732.
- Cypionka, H., Widdel, F. & Pfennig, N. (1985). Survival of sulfate-reducing bacteria after oxygen stress, and growth in sulfate-free oxygen-sulfide gradients. *FEMS Microbiology Ecology* 31(1): 39-45.
- Cypionka, H. (2000). Oxygen respiration by *Desulfovibrio species*. *Annual Review of Microbiology* 54(1): 827-848.
- Damianovic, M.H.R.Z. & Foresti, E. (2007). Anaerobic degradation of synthetic wastewaters at different levels of sulfate and COD/sulfate ratios in horizontal-flow anaerobic reactors (HAIB). *Environmental Engineering Science* 24(3): 383-393.
- Dannenber, S., Kroder, M., Dilling, W. & Cypionka, H. (1992). Oxidation of H<sub>2</sub>, organic compounds and inorganic sulfur compounds coupled to reduction of O<sub>2</sub> or nitrate by sulfate-reducing bacteria. *Archives of Microbiology* 158(2): 93-99.
- Dar, S.A., Yao, L., van Dongen, U., Kuenen, J.G. & Muyzer, G. (2007). Analysis of diversity and activity of sulfate-reducing bacterial communities in sulfidogenic bioreactors using 16S rRNA and dsrB genes as molecular markers. *Applied and Environmental Microbiology* 73(2): 594-604.
- Dar, S.A., Kleerebezem, R., Stams, A.J., Kuenen, J.G. & Muyzer, G. (2008). Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio. *Applied Microbiology and Biotechnology* 78(6): 1045-1055.
- de Lima, A.C.F., Goncalves, M.M.M., Granato, M. & Leite, S.G.F. (2001). Anaerobic sulphate-reducing microbial process using UASB reactor for heavy metals decontamination. *Environmental Technology* 22(3): 261-270.
- de Luca, G., de Philip, P., Dermoun, Z., Rousset, M. & Verméglio, A. (2001). Reduction of technetium(VII) by *Desulfovibrio fructosovorans* is mediated by the nickel-iron hydrogenase. *Applied and Environmental Microbiology* 67(10): 4583-4587.
- de Nardi, I.R., Zaiat, M. & Foresti, E. (1999). Influence of the tracer characteristics on hydrodynamic models of packed-bed bioreactors. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 21(5): 469-476.
- de Smul, A., Dries, J., Goethals, L., Grootaerd, H. & Verstraete, W. (1997). High rates of microbial sulphate reduction in a mesophilic ethanol-fed expanded-granular-sludge-blanket reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48(3): 297-303.
- de Smul, A., Goethals, L. & Verstraete, W. (1999a). Effect of COD to sulphate ratio and temperature in expanded-granular-sludge-blanket reactors for sulphate reduction. *Process Biochemistry* 34(4): 407-416.
- de Smul, A. & Verstraete, W. (1999b). Retention of sulfate-reducing bacteria in expanded granular-sludge-blanket reactors. *Water Environment Research* 71(4): 427-431.

- de Vargas, I., Macaskie, L.E. & Guibal, E. (2004). Biosorption of palladium and platinum by sulfate-reducing bacteria. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79(1): 49-56.
- Dean, J.A. (1999). Lange's Handbook of Chemistry, 15th ed. McGraw-Hill Inc.
- Dilling, W. & Cypionka, H. (1990). Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 71(1-2): 123-127.
- Dinkel, V.G., Frechen, F.B., Dinkel, A.V., Smirnov, Y.Y. & Kalyuzhnyi, S.V. (2010). Kinetics of anaerobic biodegradation of glycerol by sulfate-reducing bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology* 46(7): 712-718.
- Directive 2006/21/EC of the European Parliament and of the Council of 15 March 2006 on the management of waste from extractive industries and amending Directive 2004/35/EC (2006), Official Journal of the European Union, pp. L 102/15 - L 102/33.
- Dolla, A., Fournier, M. & Dermoun, Z. (2006). Oxygen defense in sulfate-reducing bacteria. *Journal of Biotechnology* 126(1): 87-100.
- Doshi, S.M. (2006). Bioremediation of acid mine drainage using sulfate-reducing bacteria. Washington D.C.: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Office of Superfund Remediation and Technology Innovation, 72 pp.
- Dries, J., Smul, A.D., Goethals, L., Grootaerd, H. & Verstraete, W. (1998). High rate biological treatment of sulfate-rich wastewater in an acetate-fed EGSB reactor. *Biodegradation* 9(2): 103-111.
- Drury, W.J. (1999). Treatment of acid mine drainage with anaerobic solid-substrate reactors. *Water Environment Research* 71(6): 1244-1250.
- Druschel, G.K., Labrenz, M., Thomsen-Ebert, T., Fowle, D.A. & Banfield, J.F. (2002). Geochemical modeling of ZnS in biofilms: an example of ore depositional processes. *Economic Geology* 97(6): 1319-1329.
- DSMZ, Germany: Medium 63 - *Desulfovibrio* medium. [www.dsmz.de](http://www.dsmz.de), Feb. 2005.
- DSMZ, Germany: Cultivation of anaerobes: special instructions. [www.dsmz.de](http://www.dsmz.de), Feb. 2005.
- du Preez, L.A. & Maree, J.P. (1994). Pilot-scale biological sulphate and nitrate removal utilizing producer gas as energy source. *Water Science & Technology* 30(12): 275-285.
- Dvorak, D.H., Hedin, R.S., Edenborn, H.M. & McIntire, P.E. (1992). Treatment of metal-contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot-scale reactors. *Biotechnology and Bioengineering* 40(5): 609-616.
- EC (2009). Reference document on Best Available Techniques for management of tailings and waste-rock in mining activities. European Integrated Pollution Prevention and Control Bureau, Institute for Prospective Technological Studies, Joint Research Centre, European Commission, 557 pp.
- Ehrlich, H.L. (2002). Geomicrobiology of sulfur. in: *Geomicrobiology*, 4th ed. New York: Marcel Dekker, pp. 549-620.
- El Bayoumy, M., Bewtra, J.K., Ali, H.I. & Biswas, N. (1999a). Removal of heavy metals and COD by SRB in UAFF reactor. *Journal of Environmental Engineering* 125(6): 532-539.
- El Bayoumy, M.A., Bewtra, J.K., Ali, H.I. & Biswas, N. (1999b). Sulfide production by sulfate reducing bacteria with lactate as feed in an upflow anaerobic fixed film reactor. *Water, Air & Soil Pollution* 112(1): 67-84.
- Elliott, P., Ragusa, S. & Catcheside, D. (1998). Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage. *Water Research* 32(12): 3724-3730.
- EPA (1983). Neutralization of acid mine drainage. Cincinnati OH 45268: US Environmental Protection Agency, Industrial Environmental Research Laboratory, 247 pp.
- Esposito, G., Weijma, J., Pirozzi, F. & Lens, P.N.L. (2003). Effect of the sludge retention time on H<sub>2</sub> utilization in a sulphate reducing gas-lift reactor. *Process Biochemistry* 39(4): 491-498.
- Esposito, G., Veeken, A., Weijma, J. & Lens, P.N.L. (2006). Use of biogenic sulfide for ZnS precipitation. *Separation and Purification Technology* 51(1): 31-39.
- Feller, G. & Gerday, C. (2003). Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nature Reviews Microbiology* 1(3): 200-208.
- Fernandez-Polanco, M. & Garcia-Encina, P.A. (2006). Application of biological treatment systems for sulfate-rich wastewaters. in: Cervantes, F.J., Pavlostathis, S.G. & van Haandel, A.C. (Eds.), *Advanced biological treatment processes for industrial wastewaters*. London, UK: IWA Publishing, pp. 213-236.
- Figueroa, L., Seyler, J. & Wildeman, T. (2004). Characterization of organic substrates used for anaerobic bioremediation of mining impacted waters. in: Jarvis, A.P., Dudgeon, B.A. & Younger, P.L. (Eds.), *mine water 2004 - International Mine Water Association Symposium*, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK. pp. 43-52.
- Flemming, H.-C. (1995). Sorption sites in biofilms. *Water Science & Technology* 32(8): 27-33.
- Flemming, H.-C. & Wingender, J. (2001). Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs) - Part I: Structural and ecological aspects. *Water Science & Technology* 43(6): 1-8.
- Fortin, D., Southam, G. & Beveridge, T.J. (1994). Nickel sulfide, iron-nickel sulfide and iron sulfide precipitation by a newly isolated *Desulfotomaculum* species and its relation to nickel resistance. *FEMS Microbiology Ecology* 14(2): 121-132.
- Fortin, D. & Beveridge, T.J. (1997). Microbial sulfate reduction within sulfidic mine tailings: Formation of diagenetic Fe sulfides. *Geomicrobiology Journal* 14(1): 1-21.
- Foti, M., Sorokin, D.Y., Lomans, B., Mussman, M., Zacharova, E.E., Pimenov, N.V., Kuenen, J.G. &

- Muyzer, G. (2007). Diversity, activity and abundance of sulfate-reducing bacteria in saline and hypersaline soda lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 73(7): 2093-2100.
- Foucher, S., Battaglia-Brunet, F., Ignatiadis, I. & Morin, D. (2001). Treatment by sulfate-reducing bacteria of Chetty acid-mine drainage and metals recovery. *Chemical Engineering Science* 56(4): 1639-1645.
- Fude, L., Harris, B., Urrutia, M.M. & Beveridge, T.J. (1994). Reduction of Cr(VI) by a consortium of sulfate-reducing bacteria (SRB III). *Applied and Environmental Microbiology* 60(5): 1525-1531.
- Gadd, G.M. & Griffiths, A.J. (1977). Microorganisms and heavy metal toxicity. *Microbial Ecology* 4(4): 303-317.
- Gadd, G.M. (2001). Microbial metal transformations. *Journal of Microbiology* 39(2): 83-88.
- Gadd, G.M. (2002). Microbial interactions with metals/radionuclides: the basis of bioremediation. in: Keith-Roach, M.J. & Livens, F.R. (Eds.), *Interactions of microorganisms with radionuclides*. Amsterdam: Elsevier, pp. 179-203.
- Gadd, G.M. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 156(3): 609-643.
- Gallegos-Garcia, M., Celis, L.B., Rangel-Mendez, R. & Razo-Flores, E. (2009). Precipitation and recovery of metal sulfides from metal containing acidic wastewater in a sulfidogenic down-flow fluidized bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 102(1): 91-99.
- Gantzer, C. (1989). Inhibitory substrate utilization by steady-state biofilms. *Journal of Environmental Engineering* 115(2): 302-319.
- Gazea, B., Adam, K. & Kontopoulos, A. (1996). A review of passive systems for the treatment of acid mine drainage. *Minerals Engineering* 9(1): 23-42.
- Geesey, G.G., Jang, L., Jolley, J.G., Hankins, M.R., Iwaoka, T. & Griffiths, P.R. (1988). Binding of metal ions by extracellular polymers of biofilm bacteria. *Water Science & Technology* 20(11-12): 161-165.
- Geets, J., Vanbroekhoven, K., Borremans, B., Vangronsveld, J., Diels, L. & van der Lelie, D. (2006). Column experiments to assess the effects of electron donors on the efficiency of in situ precipitation of Zn, Cd, Co and Ni in contaminated groundwater applying the biological sulfate removal technology. *Environmental Science and Pollution Research* 13(6): 362-378.
- Ghigliazza, R., Lodi, A. & Rovatti, M. (2000). Kinetic and process considerations on biological reduction of soluble and scarcely soluble sulfates. *Resources, Conservation and Recycling* 29(3): 181-194.
- Gibert, O., de Pablo, J., Luis Cortina, J. & Ayora, C. (2004). Chemical characterisation of natural organic substrates for biological mitigation of acid mine drainage. *Water Research* 38(19): 4186-4196.
- Gibson, G.R. (1990). Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* 69(6): 769-797.
- Glombitza, F. (2001). Treatment of acid lignite mine flooding water by means of microbial sulfate reduction. *Waste Management* 21(2): 197-203.
- Goldstein, J.I., Newbury, D.E., Echlin, P., Joy, D.C., Romig, A.D., Lyman, C.E., Fiori, C. & Lifshin, E. (1992). Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis, 2nd ed. New York: Plenum Press.
- Gonçalves, M.M.M., da Costa, A.C.A., Leite, S.G.F. & Sant'Anna Jr, G.L. (2007). Heavy metal removal from synthetic wastewaters in an anaerobic bioreactor using stillage from ethanol distilleries as a carbon source. *Chemosphere* 69(11): 1815-1820.
- Gonzalez-Gil, G., Meulepas, R.J.W. & Lens, P.N.L. (2011). Biotechnological aspects of the use of methane as electron donor for sulfate reduction. in: Murray, M.-Y. (Ed.) *Comprehensive Biotechnology*, 2nd ed. Burlington: Academic Press, pp. 419-434.
- Goulhen, F., Gloter, A., Guyot, F. & Bruschi, M. (2006). Cr(VI) detoxification by *Desulfovibrio vulgaris* strain Hildenborough: microbe-metal interactions studies. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71(6): 892-897.
- Gramp, J.P., Sasaki, K., Bigham, J.M., Karnachuk, O.V. & Tuovinen, O.H. (2006). Formation of covellite (CuS) under biological sulfate-reducing conditions. *Geomicrobiology Journal* 23(8): 613-619.
- Gramp, J.P., Bigham, J.M., Sasaki, K. & Tuovinen, O.H. (2007). Formation of Ni- and Zn-sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *Geomicrobiology Journal* 24(7): 609-614.
- Grazulis, S., Chateigner, D., Downs, R.T., Yokochi, A.F.T., Quiros, M., Lutterotti, L., Manakova, E., Butkus, J., Moeck, P. & Le Bail, A. (2009). Crystallography Open Database - an open-access collection of crystal structures. *Journal of Applied Crystallography* 42(4): 726-729.
- Greben, H.A., Maree, J.P. & Mnqanqeni, S. (2000). Comparison between sucrose, ethanol and methanol as carbon and energy sources for biological sulphate reduction. *Water Science & Technology* 41(12): 247-253.
- Greben, H.A., Tjatji, M. & Maree, J.P. (2004). COD/SO<sub>4</sub> ratios using propionate and acetate as the energy source for the biological sulphate removal in acid mine drainage. in: Jarvis, A.P., Dudgeon, B.A. & Younger, P.L. (Eds.), *mine water 2004 - International Mine Water Association Symposium*, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK. pp. 93-99.
- Greben, H.A., Baloyi, L.J. & Venter, S.N. (2007). Grass cellulose as cost-effective energy source for biological sulphate removal. *Water SA* 33(5): 729-734.
- Greben, H.A., Baloyi, J., Sigama, J. & Venter, S.N. (2009). Bioremediation of sulphate rich mine effluents using grass cuttings and rumen fluid microorganisms. *Journal of Geochemical Exploration* 100(2-3): 163-168.
- Greenwood, N.N. & Earnshaw, A.C. (1997). Chemistry of the elements, 2nd ed. Butterworth-Heinemann.
- Grobicki, A. & Stuckey, D.C. (1992). Hydrodynamic characteristics of the anaerobic baffled reactor. *Water*



- Research* 26(3): 371-378.
- Gupta, A., Flora, J.R.V., Gupta, M., Sayles, G.D. & Suidan, M.T. (1994). Methanogenesis and sulfate reduction in chemostats--I. Kinetic studies and experiments. *Water Research* 28(4): 781-793.
- Gustafsson, J.P. (2011). Visual MINTEQ, version 3.0. KTH, Department of Land and Water Resources Engineering: <http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>
- Gyure, R.A., Konopka, A., Brooks, A. & Doemel, W. (1990). Microbial sulfate reduction in acidic (pH 3) strip-mine lakes. *FEMS Microbiology Letters* 73(3): 193-201.
- Habicht, K.S., Salling, L., Thamdrup, B. & Canfield, D.E. (2005). Effect of low sulfate concentrations on lactate oxidation and isotope fractionation during sulfate reduction by *Archaeoglobus fulgidus* strain Z. *Applied and Environmental Microbiology* 71(7): 3770-3777.
- HachCompany (1992a). Method 8000: Oxygen Demand, Chemical (Reactor Digestion Method). in: *DR/2000 Spectrophotometer Procedures Manual*. pp. 377-386.
- HachCompany (1992b). Method 8051: Sulfate (0 to 70 mg/L). in: *DR/2000 Spectrophotometer Procedures Manual*. pp. 599-603.
- HachCompany (2003). Method 10129: Total Organic Carbon (0.3 to 20.0 mg/L C), Direct method. in: *DR/2500 Procedure Manual*.
- Hammack, R., de Vegt, A. & Schoeneman, A. (1998). The removal of sulfate and metals from mine waters using bacterial sulfate reduction: Pilot plant results. *Mine Water and the Environment* 17(1): 8-27.
- Hammack, R.W. & Edenborn, H.M. (1992). The removal of nickel from mine waters using bacterial sulfate reduction. *Applied Microbiology and Biotechnology* 37(5): 674-678.
- Hammack, R.W., Edenborn, H.M. & Dvorak, D.H. (1994). Treatment of water from an open-pit copper mine using biogenic sulfide and limestone: A feasibility study. *Water Research* 28(11): 2321-2329.
- Hansen, T.A. (1994). Metabolism of sulfate-reducing prokaryotes. *Antonie van Leeuwenhoek* 66(1): 165-185.
- Hao, O.J. (2000). Metal effects on sulfur cycle bacteria and metal removal by sulfate reducing bacteria. in: Lens, P.N.L. & Hulshoff Pol, L.W. (Eds.), *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*. London: IWA Publishing, pp. 393-414.
- Hao, O.J. (2003). Sulphate-reducing bacteria. in: Mara, D. & Horan, N. (Eds.), *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. London: Academic Press, pp. 459-469.
- Harada, H., Uemura, S. & Momono, K. (1994). Interaction between sulfate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate. *Water Research* 28(2): 355-367.
- Hard, B.C., Walther, C. & Babel, W. (1999). Sorption of aluminum by sulfate-reducing bacteria isolated from uranium mine tailings. *Geomicrobiology Journal* 16(4): 267-275.
- Harris, D.C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis*, 7th ed. New York: W.H. Freeman and Co.
- Harris, M. & Ragusa, S. (2001). Bioremediation of acid mine drainage using decomposable plant material in a constant flow bioreactor. *Environmental Geology* 40(10): 1192-1204.
- Heijnen, S.J., Mulder, A., Weltevrede, R., Hols, P.H. & van Leeuwen, H.L.J.M. (1990). Large-scale anaerobic/aerobic treatment of complex industrial wastewater using immobilized biomass in fluidized bed and air-lift suspension reactors. *Chemical Engineering & Technology* 13(1): 202-208.
- Henry, M.P., Donlon, B.A., Lens, P.N. & Collieran, E.M. (1996). Use of anaerobic hybrid reactors for treatment of synthetic pharmaceutical wastewaters containing organic solvents. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 66(3): 251-264.
- Herbert, R.B., Benner, S.G., Pratt, A.R. & Blowes, D.W. (1998). Surface chemistry and morphology of poorly crystalline iron sulfides precipitated in media containing sulfate-reducing bacteria. *Chemical Geology* 144(1-2): 87-97.
- Herrera, L., Duarte, S. & Hernandez, J. (1993). Sulfate elimination to improve water quality of mine process effluents. I. Sequencing batch bioreactor growth kinetics of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Environmental Toxicology and Water Quality* 8(3): 279-289.
- Hiibel, S.R., Pereyra, L.P., Breazeal, M.V.R., Reisman, D.J., Reardon, K.F. & Pruden, A. (2011). Effect of organic substrate on the microbial community structure in pilot-scale sulfate-reducing biochemical reactors treating mine drainage. *Environmental Engineering Science* 28(8): 563-572.
- Hill, S.J., Fisher, A. & Foulkes, M. (2007). Basic concepts and instrumentation for Plasma Spectrometry. in: Hill, S.J. (Ed.) *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, 2nd ed. Blackwell Publishing, pp. 61-97.
- Hockin, S.L. & Gadd, G.M. (2003). Linked redox precipitation of sulfur and selenium under anaerobic conditions by sulfate-reducing bacterial biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* 69(12): 7063-7072.
- Hockin, S.L. & Gadd, G.M. (2006). Removal of selenate from sulfate-containing media by sulfate-reducing bacterial biofilms. *Environmental Microbiology* 8(5): 816-826.
- Hockin, S.L. & Gadd, G.M. (2007). Bioremediation of metals and metalloids by precipitation and cellular binding. in: Barton, L.L. & Hamilton, W.A. (Eds.), *Sulphate-reducing bacteria: Environmental and engineered systems*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 405-434.
- Hong, H., Pruden, A. & Reardon, K.F. (2007). Comparison of CE-SSCP and DGGE for monitoring a complex microbial community remediating mine drainage. *Journal of Microbiological Methods* 69(1): 52-64.
- Hsu, H.F., Kumar, M., Ma, Y.S. & Lin, J.G. (2009). Extent of precipitation and sorption during copper removal from synthetic wastewater in the presence of sulfate-reducing bacteria. *Environmental*

- Engineering Science* 26(6): 1087-1096.
- Hubert, C., Nemati, M., Jenneman, G. & Voordouw, G. (2003). Containment of biogenic sulfide production in continuous up-flow packed-bed bioreactors with nitrate or nitrite. *Biotechnology Progress* 19(2): 338-345.
- Huisman, J.L., Schouten, G. & Schultz, C. (2006). Biologically produced sulphide for purification of process streams, effluent treatment and recovery of metals in the metal and mining industry. *Hydrometallurgy* 83(1-4): 106-113.
- Hulshoff Pol, L.W., Lens, P.N.L., Stams, A.J.M. & Lettinga, G. (1998). Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation* 9(3): 213-224.
- Hulshoff Pol, L.W., Lens, P.N.L., Weijma, J. & Stams, A.J.M. (2001). New developments in reactor and process technology for sulfate reduction. *Water Science & Technology* 44(8): 67-76.
- Humphries, A.C. & Macaskie, L.E. (2002). Reduction of Cr(VI) by *Desulfovibrio vulgaris* and *Microbacterium* sp. *Biotechnology Letters* 24(15): 1261-1267.
- Hwu, C.S., Molenaar, G., Garthoff, J., van Lier, J.B. & Lettinga, G. (1997a). Thermophilic high-rate anaerobic treatment of wastewater containing long-chain fatty acids: impact of reactor hydrodynamics. *Biotechnology Letters* 19(5): 447-451.
- Hwu, C.S., van Beek, B., van Lier, J.B. & Lettinga, G. (1997b). Thermophilic high-rate anaerobic treatment of wastewater containing long-chain fatty acids: effect of washed out biomass recirculation. *Biotechnology Letters* 19(5): 453-456.
- Ingvorsen, K., Zehnder, A.J.B. & Jorgensen, B.B. (1984). Kinetics of sulfate and acetate uptake by *Desulfobacter postgatei*. *Applied and Environmental Microbiology* 47(2): 403-408.
- Isa, Z., Grusenmeyer, S. & Verstraete, W. (1986). Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: microbiological aspects. *Applied and Environmental Microbiology* 51(3): 580-587.
- Isaksen, M.F. & Jorgensen, B.B. (1996). Adaptation of psychrophilic and psychrotrophic sulfate-reducing bacteria to permanently cold marine environments. *Applied and Environmental Microbiology* 62(2): 408-414.
- IUBMB Enzyme Nomenclature: EC 2.7.7.4 - sulfate adenylyltransferase. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC2/7/7/4.html>, May 2012.
- Janssen, A.J.H., Lettinga, G. & de Keizer, A. (1999). Removal of hydrogen sulphide from wastewater and waste gases by biological conversion to elemental sulphur: Colloidal and interfacial aspects of biologically produced sulphur particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 151(1-2): 389-397.
- Jimenez, B., Noyola, A. & Capdeville, B. (1988). Selected dyes for residence time distribution evaluation in bioreactors. *Biotechnology Techniques* 2(2): 77-82.
- Johnson, D.B. (2000). Biological removal of sulfurous compounds from inorganic wastewaters. in: Lens, P.N.L. & Hulshoff Pol, L.W. (Eds.), *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*. London: IWA Publishing, pp. 175-205.
- Johnson, D.B. (2003). Chemical and microbiological characteristics of mineral spoils and drainage waters at abandoned coal and metal mines. *Water, Air, & Soil Pollution: Focus* 3(1): 47-66.
- Johnson, D.B. & Hallberg, K.B. (2003). The microbiology of acidic mine waters. *Research in Microbiology* 154(7): 466-473.
- Johnson, D.B. & Hallberg, K.B. (2005). Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of the Total Environment* 338(1-2): 3-14.
- Johnson, D.B., Sen, A.M., Kimura, S., Rowe, O.F. & Hallberg, K.B. (2006). Novel biosulfidogenic system for selective recovery of metals from acidic leach liquors and waste streams. *Transactions of the Institution of Mining and Metallurgy, Section C - Mineral Processing and Extractive Metallurgy* 115(1): 19-24.
- Jong, T. & Parry, D.L. (2003). Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. *Water Research* 37(14): 3379-3389.
- Jong, T. & Parry, D.L. (2004). Adsorption of Pb(II), Cu(II), Cd(II), Zn(II), Ni(II), Fe(II), and As(V) on bacterially produced metal sulfides. *Journal of Colloid and Interface Science* 275(1): 61-71.
- Jong, T. & Parry, D.L. (2006). Microbial sulfate reduction under sequentially acidic conditions in an upflow anaerobic packed bed bioreactor. *Water Research* 40(13): 2561-2571.
- Kaksonen, A.H., Franzmann, P.D. & Puhakka, J.A. (2003a). Performance and ethanol oxidation kinetics of a sulfate-reducing fluidized-bed reactor treating acidic metal-containing wastewater. *Biodegradation* 14(3): 207-217.
- Kaksonen, A.H., Riekkola-Vanhanen, M.L. & Puhakka, J.A. (2003b). Optimization of metal sulphide precipitation in fluidized-bed treatment of acidic wastewater. *Water Research* 37(2): 255-266.
- Kaksonen, A.H., Franzmann, P.D. & Puhakka, J.A. (2004a). Effects of hydraulic retention time and sulfide toxicity on ethanol and acetate oxidation in sulfate-reducing metal-precipitating fluidized-bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 86(3): 332-343.
- Kaksonen, A.H., Plumb, J., Robertson, W., Franzmann, P., Gibson, J. & Puhakka, J. (2004b). Culturable diversity and community fatty acid profiling of sulfate-reducing fluidized-bed reactors treating acidic, metal-containing wastewater. *Geomicrobiology Journal* 21(7): 469-480.
- Kaksonen, A.H., Plumb, J.J., Franzmann, P.D. & Puhakka, J.A. (2004c). Simple organic electron donors support diverse sulfate-reducing communities in fluidized-bed reactors treating acidic metal- and

- sulfate-containing wastewater. *FEMS Microbiology Ecology* 47(3): 279-289.
- Kaksonen, A.H., Plumb, J.J., Robertson, W.J., Riekkola-Vanhanen, M., Franzmann, P.D. & Puhakka, J.A. (2006). The performance, kinetics and microbiology of sulfidogenic fluidized-bed treatment of acidic metal- and sulfate-containing wastewater. *Hydrometallurgy* 83(1-4): 204-213.
- Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2007). Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. *Engineering in Life Sciences* 7(6): 541-564.
- Kaksonen, A.H., Dopson, M., Karnachuk, O., Tuovinen, O.H. & Puhakka, J.A. (2008). Biological iron oxidation and sulfate reduction in the treatment of acid mine drainage at low temperatures. in: Margesin, R., Schinner, F., Marx, J.-C. & Gerday, C. (Eds.), *Psychrophiles: from Biodiversity to Biotechnology*. Berlin: Springer Verlag, pp. 429-454.
- Kalyuzhnyi, S. & Fedorovich, V. (1997a). Integrated mathematical model of UASB reactor for competition between sulphate reduction and methanogenesis. *Water Science & Technology* 36(6-7): 201-208.
- Kalyuzhnyi, S.V., Fragoso, C.d.L. & Martinez, J.R. (1997b). Biological sulfate reduction in a UASB reactor fed with ethanol as the electron donor. *Microbiology* 66(5): 562-567.
- Karnachuk, O.V., Pimenov, N.V., Yusupov, S.K., Frank, Y.A., Kaksonen, A.H., Puhakka, J.A., Ivanov, M.V., Lindstrom, E.B. & Tuovinen, O.H. (2005). Sulfate reduction potential in sediments in the Norilsk mining area, Northern Siberia. *Geomicrobiology Journal* 22(1): 11-25.
- Karnachuk, O.V., Sasaki, K., Gerasimchuk, A.L., Sukhanova, O., Ivasenko, D.A., Kaksonen, A.H., Puhakka, J.A. & Tuovinen, O.H. (2008). Precipitation of Cu-sulfides by copper-tolerant *Desulfovibrio* isolates. *Geomicrobiology Journal* 25(5): 219-227.
- Keweloh, H., Heipieper, H.-J. & Rehm, H.-J. (1989). Protection of bacteria against toxicity of phenol by immobilization in calcium alginate. *Applied Microbiology and Biotechnology* 31(4): 383-389.
- Khanal, S.K. & Huang, J.-C. (2003). Anaerobic treatment of high sulfate wastewater with oxygenation to control sulfide toxicity. *Journal of Environmental Engineering* 129(12): 1104-1111.
- Khanal, S.K. & Huang, J.-C. (2005). Effect of high influent sulfate on anaerobic wastewater treatment. *Water Environment Research* 77(7): 3037-3046.
- Kieu, H.T.Q., Müller, E. & Horn, H. (2011). Heavy metal removal in anaerobic semi-continuous stirred tank reactors by a consortium of sulfate-reducing bacteria. *Water Research* 45(13): 3863-3870.
- Kimura, S., Hallberg, K. & Johnson, D. (2006). Sulfidogenesis in low pH (3.8-4.2) media by a mixed population of acidophilic bacteria. *Biodegradation* 17(2): 57-65.
- Knoblauch, C. & Jørgensen, B.B. (1999a). Effect of temperature on sulphate reduction, growth rate and growth yield in five psychrophilic sulphate-reducing bacteria from Arctic sediments. *Environmental Microbiology* 1(5): 457-467.
- Knoblauch, C., Jørgensen, B.B. & Harder, J. (1999b). Community size and metabolic rates of psychrophilic sulfate-reducing bacteria in arctic marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 65(9): 4230-4233.
- Kolmert, Å., Henrysson, T., Hallberg, R. & Mattiasson, B. (1997). Optimization of sulphide production in an anaerobic continuous biofilm process with sulphate reducing bacteria. *Biotechnology Letters* 19(10): 971-975.
- Kolmert, E. & Johnson, D.B. (2001). Remediation of acidic waste waters using immobilised, acidophilic sulfate-reducing bacteria. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 76(8): 836-843.
- König, J., Keesman, K.J., Veeken, A. & Lens, P.N.L. (2006). Dynamic modelling and process control of ZnS precipitation. *Separation Science and Technology* 41(6): 1025-1042.
- Koschorreck, M., Wendt-Potthoff, K. & Geller, W. (2003). Microbial sulfate reduction at low pH in sediments of an acidic lake in Argentina. *Environmental Science & Technology* 37(6): 1159-1162.
- Koschorreck, M. (2008). Microbial sulphate reduction at a low pH. *FEMS Microbiology Ecology* 64(3): 329-342.
- Kourkine, I.V., Hestekin, C.N. & Barron, A.E. (2002). Technical challenges in applying capillary electrophoresis-single strand conformation polymorphism for routine genetic analysis. *Electrophoresis* 23(10): 1375-1385.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2007). A study of the operating parameters of a sulphate-reducing fixed-bed reactor for the treatment of metal-bearing wastewater. *Advanced Materials Research* 20-21: 230-234.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2009). Precipitation of metals in a fixed-bed sulphate-reducing reactor under theoretical stoichiometric lactate/sulphate ratio. in: Agioutantis, Z. & Komnitsas, K. (Eds.), *Towards sustainable development: Assessing the footprint of resource utilization and hazardous waste management, Proceedings of the 3rd AMIREG International Conference*, Athens, Greece. pp. 237-242.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A., Battaglia-Brunet, F., Joulain, C., Kousteni, V. & Tsezos, M. (2011a). Metal precipitation in an ethanol-fed, fixed-bed sulphate-reducing bioreactor. *Journal of Hazardous Materials* 189: 677-684.
- Kousi, P., Remoundaki, E., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2011b). Sulphate-reducing fixed-bed bioreactors fed with different organic substrates for metal precipitation. in: Qiu, G., Jiang, T., Qin, W., Liu, X., Yang, Y. & Wang, H. (Eds.), *Biohydrometallurgy: Biotech key to unlock mineral resources value, Proceedings of the 19th International Biohydrometallurgy Symposium (IBS 2011)*, Changsha, China. Central South University Press: pp. 1078-1084.
- Laanbroek, H.J. & Pfennig, N. (1981). Oxidation of short-chain fatty acids by sulfate-reducing bacteria in

- freshwater and in marine sediments. *Archives of Microbiology* 128(3): 330-335.
- Laanbroek, H.J., Geerligs, H.J., Sijtsma, L. & Veldkamp, H. (1984). Competition for sulfate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 47(2): 329-334.
- Lakanemi, A.-M., Nevatalo, L.M., Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2010). Mine wastewater treatment using *Phalaris arundinacea* plant material hydrolyzate as substrate for sulfate-reducing bioreactor. *Bioresource Technology* 101(11): 3931-3939.
- Lens, P. (2009). Sulfur cycle. in: Schaechter, M. (Ed.) *Encyclopedia of Microbiology*, 3rd ed. Oxford: Academic Press, pp. 361-369.
- Lens, P.N.L., Visser, A., Janssen, A.J.H., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1998). Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 28(1): 41-88.
- Lens, P.N.L., Omil, F., Lema, J.M. & Hulshoff Pol, L.W. (2000a). Biological treatment of organic sulfate-rich wastewaters. in: Lens, P.N.L. & Hulshoff Pol, L.W. (Eds.), *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*. London: IWA Publishing, pp. 153-173.
- Lens, P.N.L., Sipma, J., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (2000b). Effect of nitrate on acetate degradation in a sulfidogenic staged reactor. *Water Research* 34(1): 31-42.
- Lens, P.N.L., Gastesi, R. & Lettinga, G. (2003a). Use of sulfate reducing cell suspension bioreactors for the treatment of SO<sub>2</sub> rich flue gases. *Biodegradation* 14(3): 229-240.
- Lens, P.N.L., Klijn, R., van Lier, J.B. & Lettinga, G. (2003b). Effect of specific gas loading rate on thermophilic (55°C) acidifying (pH 6) and sulfate reducing granular sludge reactors. *Water Research* 37(5): 1033-1047.
- Lettinga, G., Rebac, S. & Zeeman, G. (2001). Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in Biotechnology* 19(9): 363-370.
- Levenspiel, O. (1998). *Chemical Reaction Engineering*, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons.
- Levine, I.N. (2009). *Physical chemistry*, 6th ed. Boston: McGraw-Hill.
- Lewandowski, Z. & Boltz, J.P. (2011). Biofilms in water and wastewater treatment. in: Wilderer, P. (Ed.) *Treatise on Water Science*. Oxford: Elsevier, pp. 529-570.
- Lewis, A. & Swartbooi, A. (2006a). Factors affecting metal removal in mixed sulfide precipitation. *Chemical Engineering & Technology* 29(2): 277-280.
- Lewis, A. & van Hille, R. (2006b). An exploration into the sulphide precipitation method and its effect on metal sulphide removal. *Hydrometallurgy* 81(3-4): 197-204.
- Lewis, A.E. (2010). Review of metal sulphide precipitation. *Hydrometallurgy* 104(2): 222-234.
- Liamleam, W. & Annachhatre, A.P. (2007). Electron donors for biological sulfate reduction. *Biotechnology Advances* 25(5): 452-463.
- Lindsay, M.B.J., Ptacek, C.J., Blowes, D.W. & Gould, W.D. (2008). Zero-valent iron and organic carbon mixtures for remediation of acid mine drainage: Batch experiments. *Applied Geochemistry* 23(8): 2214-2225.
- Lloyd, J.R., Nolting, H.-F., Solé, V.A., Bosecker, K. & Macaskie, L.E. (1998a). Technetium reduction and precipitation by sulfate-reducing bacteria. *Geomicrobiology Journal* 15(1): 45-58.
- Lloyd, J.R., Yong, P. & Macaskie, L.E. (1998b). Enzymatic recovery of elemental palladium by using sulfate-reducing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 64(11): 4607-4609.
- Lloyd, J.R., Mabbett, A.N., Williams, D.R. & Macaskie, L.E. (2001). Metal reduction by sulphate-reducing bacteria: physiological diversity and metal specificity. *Hydrometallurgy* 59(2-3): 327-337.
- Lloyd, J.R., Lovley, D.R. & Macaskie, L.E. (2003). Biotechnological application of metal-reducing microorganisms. *Advances in Applied Microbiology* Volume 53: 85-128.
- Loka Bharathi, P.A. (2010). Sulfur cycle. in: Jørgensen, S.E. & Fath, B.D. (Eds.), *Global ecology: a derivative of encyclopedia of ecology*. New York: Elsevier, pp. 227-234.
- Lopes, S.I.C. (2007). Sulfate reduction at low pH in organic wastewaters, Ph.D. thesis. Wageningen, Wageningen University.
- Lopes, S.I.C., Capela, M.I. & Lens, P.N.L. (2010). Sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 5 under thermophilic (55°C) conditions. II: Effect of sulfide and COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratio. *Bioresource Technology* 101(12): 4278-4284.
- Lovley, D.R., Dwyer, D.F. & Klug, M.J. (1982). Kinetic analysis of competition between sulfate reducers and methanogens for hydrogen in sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 43(6): 1373-1379.
- Lovley, D.R. (1985). Minimum threshold for hydrogen metabolism in methanogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 49(6): 1530-1531.
- Lovley, D.R. & Phillips, E.J. (1992). Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Applied and Environmental Microbiology* 58(3): 850-856.
- Lovley, D.R. (1993). Dissimilatory metal reduction. *Annual Review of Microbiology* 47(1): 263-290.
- Lovley, D.R., Roden, E.E., Phillips, E.J.P. & Woodward, J.C. (1993). Enzymatic iron and uranium reduction by sulfate-reducing bacteria. *Marine Geology* 113(1-2): 41-53.
- Lovley, D.R. & Phillips, E.J.P. (1994a). Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c3 cytochrome. *Applied and Environmental Microbiology* 60(2): 726-728.
- Lovley, D.R. & Phillips, E.J.P. (1994b). Novel processes for anaerobic sulfate production from elemental sulfur by sulfate-reducing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 60(7): 2394-2399.

- Luther, G.W., Rickard, D.T., Theberge, S. & Olroyd, A. (1996). Determination of metal (bi)sulfide stability constants of  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  by voltammetric methods. *Environmental Science & Technology* 30(2): 671-679.
- Luther, G.W., Theberge, S.M. & Rickard, D.T. (1999). Evidence for aqueous clusters as intermediates during zinc sulfide formation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63(19-20): 3159-3169.
- Luther, G.W., Theberge, S.M., Rozan, T.F., Rickard, D., Rowlands, C.C. & Oldroyd, A. (2002). Aqueous copper sulfide clusters as intermediates during copper sulfide formation. *Environmental Science & Technology* 36(3): 394-402.
- Luther, G.W. & Rickard, D.T. (2005). Metal sulfide cluster complexes and their biogeochemical importance in the environment. *Journal of Nanoparticle Research* 7(4): 389-407.
- Lyberatos, G. & Skiadas, I.V. (1999). Modelling of anaerobic digestion - A review. *Global NEST Journal* 1(2): 63-76.
- Ma, X., Hua, Y., Jiang, F., Liu, J. & Ye, X. (1997).  $Cd^{2+}$  removal from wastewater by sulfate reducing bacteria with an anaerobic fluidized bed reactor. *Journal of Environmental Sciences* 9(3): 366-371.
- Mack, C., Burgess, J.E. & Duncan, J.R. (2004). Membrane bioreactors for metal recovery from wastewater: A review. *Water SA* 30(4): 521-532.
- MacLean, L.C.W., Pray, T.J., Onstott, T.C., Brodie, E.L., Hazen, T.C. & Southam, G. (2007). Mineralogical, chemical and biological characterization of an anaerobic biofilm collected from a borehole in a deep gold mine in South Africa. *Geomicrobiology Journal* 24(6): 491-504.
- Macy, J.M., Santini, J.M., Pauling, B.V., O'Neill, A.H. & Sly, L.I. (2000). Two new arsenate/sulfate-reducing bacteria: mechanisms of arsenate reduction. *Archives of Microbiology* 173(1): 49-57.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. & Parker, J. (2003). Brock Biology of Microorganisms, 10th ed. Pearson Education Inc.
- Maillacheruvu, K.Y., Parkin, G.F., Peng, C.Y., Kuo, W.C., Oonge, Z.I. & Lebduschka, V. (1993). Sulfide toxicity in anaerobic systems fed sulfate and various organics. *Water Environment Research* 65(2): 100-109.
- Maillacheruvu, K.Y. & Parkin, G.F. (1996). Kinetics of growth, substrate utilization and sulfide toxicity for propionate, acetate, and hydrogen utilizers in anaerobic systems. *Water Environment Research* 68(7): 1099-1106.
- Maree, J.P. & Strydom, W.F. (1985). Biological sulphate removal in an upflow packed bed reactor. *Water Research* 19(9): 1101-1106.
- Maree, J.P. & Strydom, W.F. (1987). Biological sulphate removal from industrial effluent in an upflow packed bed reactor. *Water Research* 21(2): 141-146.
- McCartney, D.M. & Oleszkiewicz, J.A. (1991). Sulfide inhibition of anaerobic degradation of lactate and acetate. *Water Research* 25(2): 203-209.
- McCartney, D.M. & Oleszkiewicz, J.A. (1993). Competition between methanogens and sulfate reducers: effect of COD:sulfate ratio and acclimation. *Water Environment Research* 65(5): 655-664.
- McCarty, P.L. (1971). Energetics and kinetics of anaerobic treatment. in: Pohland, F.G. (Ed.) *Anaerobic Biological Treatment Processes*. Washington D.C.: American Chemical Society, pp. 91-107.
- McDonald, H.B. & Parkin, G.F. (2009). Effect of sulfide inhibition and organic shock loading on anaerobic biofilm reactors treating a low-temperature, high-sulfate wastewater. *Water Environment Research* 81(3): 265-288.
- McNair, H.M. & Miller, J.M. (2009). Basic Gas Chromatography, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc.
- Merck (2012). Yeast extract, granulated. in: *Merck Microbiology Manual*, 12th ed. Germany.
- Mersmann, A. (1999). Crystallization and precipitation. *Chemical Engineering and Processing* 38(4-6): 345-353.
- Meulepas, R., Stams, A. & Lens, P. (2010). Biotechnological aspects of sulfate reduction with methane as electron donor. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 9(1): 59-78.
- Michel, C., Brugna, M., Aubert, C., Bernadac, A. & Bruschi, M. (2001). Enzymatic reduction of chromate: comparative studies using sulfate-reducing bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 55(1): 95-100.
- Michel, C., Giudici-Orticoni, M.-T., Baymann, F. & Bruschi, M. (2003). Bioremediation of chromate by sulfate-reducing bacteria, cytochromes c3 and hydrogenases. *Water, Air & Soil Pollution: Focus* 3(3): 161-169.
- Migdisov, A.A., Williams-Jones, A.E., Lakshtanov, L.Z. & Alekhin, Y.V. (2002). Estimates of the second dissociation constant of  $H_2S$  from the surface sulfidation of crystalline sulfur. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66(10): 1713-1725.
- Mokone, T.P., van Hille, R.P. & Lewis, A.E. (2010). Effect of solution chemistry on particle characteristics during metal sulfide precipitation. *Journal of Colloid and Interface Science* 351(1): 10-18.
- Montgomery, A.D., McInerney, M.J. & Sublette, K.L. (1990). Microbial control of the production of hydrogen sulfide by sulfate-reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering* 35(5): 533-539.
- Moosa, S., Nemati, M. & Harrison, S.T.L. (2002). A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, part I: effect of sulphate concentration. *Chemical Engineering Science* 57(14): 2773-2780.
- Moosa, S. & Harrison, S.T.L. (2006). Product inhibition by sulphide species on biological sulphate reduction for the treatment of acid mine drainage. *Hydrometallurgy* 83(1-4): 214-222.
- Morse, J.W. & Arakaki, T. (1993). Adsorption and coprecipitation of divalent metals with mackinawite (FeS). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57(15): 3635-3640.

- Moura, I., Bursakov, S., Costa, C. & Moura, J.J.G. (1997). Nitrate and nitrite utilization in sulfate-reducing bacteria. *Anaerobe* 3(5): 279-290.
- Murphy, M.J., Siegel, L.M., Tove, S.R. & Kamin, H. (1974). Siroheme: a new prosthetic group participating in six-electron reduction reactions catalyzed by both sulfite and nitrite reductases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 71(3): 612-616.
- Muyzer, G. & Stams, A.J.M. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 6(6): 441-454.
- Myers, R.J. (1986). The new low value for the second dissociation constant for H<sub>2</sub>S: Its history, its best value, and its impact on the teaching of sulfide equilibria. *Journal of Chemical Education* 63(8): 687-690.
- Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Livingston, A. & Peeva, L. (2000a). Ethanol utilization by sulfate-reducing bacteria: An experimental and modeling study. *Biotechnology and Bioengineering* 70(5): 533-543.
- Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Peeva, L. & Livingston, A. (2000b). Microbial sulfate reduction in a liquid-solid fluidized bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 70(4): 370-380.
- Nakagawa, T., Hanada, S., Maruyama, A., Marumo, K., Urabe, T. & Fukui, M. (2002). Distribution and diversity of thermophilic sulfate-reducing bacteria within a Cu-Pb-Zn mine (Toyoha, Japan). *FEMS Microbiology Ecology* 41(3): 199-209.
- Ñancuqueo, I. & Johnson, D.B. (2012). Selective removal of transition metals from acidic mine waters by novel consortia of acidophilic sulfidogenic bacteria. *Microbial Biotechnology* 5(1): 34-44.
- Ñancuqueo, I. & Johnson, D.B. (2013). Sulfate removal from extremely acidic wastewaters using consortia of acidophilic sulfate-reducing bacteria. *Advanced Materials Research* 825: 487-490.
- Naveau, A., Monteil-Rivera, F., Guillon, E. & Dumonceau, J. (2007). Interactions of aqueous selenium (-II) and (IV) with metallic sulfide surfaces. *Environmental Science & Technology* 41(15): 5376-5382.
- Neculita, C.-M., Zagury, G.J. & Bussiere, B. (2007). Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria: Critical review and research needs. *Journal of Environmental Quality* 36(1): 1-16.
- Neculita, C.M. & Zagury, G.J. (2008). Biological treatment of highly contaminated acid mine drainage in batch reactors: Long-term treatment and reactive mixture characterization. *Journal of Hazardous Materials* 157(2-3): 358-366.
- Nedwell, D.B. (1999). Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. *FEMS Microbiology Ecology* 30(2): 101-111.
- Nemati, M., Mazutinec, T.J., Jenneman, G.E. & Voordouw, G. (2001). Control of biogenic H<sub>2</sub>S production with nitrite and molybdate. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 26(6): 350-355.
- Nevatalo, L.M., Bijmans, M.F., Lens, P.N., Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2010a). Hydrogenotrophic sulfate reduction in a gas-lift bioreactor operated at 9°C. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20(3): 615-621.
- Nevatalo, L.M., Bijmans, M.F.M., Lens, P.N.L., Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2010b). The effect of sub-optimal temperature on specific sulfidogenic activity of mesophilic SRB in an H<sub>2</sub>-fed membrane bioreactor. *Process Biochemistry* 45(3): 363-368.
- Nevatalo, L.M., Makinen, A.E., Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2010c). Biological hydrogen sulfide production in an ethanol-lactate fed fluidized-bed bioreactor. *Bioresource Technology* 101(1): 276-284.
- Nordstrom, D.K. (2000). Advances in the hydrogeochemistry and microbiology of acid mine waters. *International Geology Review* 42(6): 499-515.
- O'Flaherty, V., Mahony, T., O'Kennedy, R. & Colleran, E. (1998). Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. *Process Biochemistry* 33(5): 555-569.
- O'Flaherty, V. & Colleran, E. (1999a). Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. I: Process disturbance and remediation. *Bioresource Technology* 68(2): 101-107.
- O'Flaherty, V., Colohan, S., Mulkerrins, D. & Colleran, E. (1999b). Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. II: Microbial interactions and toxic effects. *Bioresource Technology* 68(2): 109-120.
- Okabe, S. & Characklis, W.G. (1992a). Effects of temperature and phosphorous concentration on microbial sulfate reduction by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biotechnology and Bioengineering* 39(10): 1031-1042.
- Okabe, S., Nielsen, P.H. & Characklis, W.G. (1992b). Factors affecting microbial sulfate reduction by *Desulfovibrio desulfuricans* in continuous culture: Limiting nutrients and sulfide concentration. *Biotechnology and Bioengineering* 40(6): 725-734.
- Okabe, S., Nielsen, P.H., Jones, W.L. & Characklis, W.G. (1995). Sulfide product inhibition of *Desulfovibrio desulfuricans* in batch and continuous cultures. *Water Research* 29(2): 571-578.
- Okuwaki, A., Kanome, O. & Okabe, T. (1984). The precipitation of Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub> from sulfate solutions. *Metallurgical Transactions B* 15(4): 609-615.
- Oleszkiewicz, J.A., Marstaller, T. & McCartney, D.M. (1989). Effects of pH on sulfide toxicity to anaerobic processes. *Environmental Technology* 10(9): 815-822.
- Oliveira, R., Azeredo, J. & Teixeira, P. (2003). The importance of physicochemical properties in biofilm formation and activity. in: Wuertz, S., Bishop, P. & Wilderer, P. (Eds.), *Biofilms in wastewater treatment: an interdisciplinary approach*. London, UK: IWA Publishing, pp. 211-231.
- Ollivier, B., Cord-Ruwisch, R., Hatchikian, E.C. & Garcia, J.L. (1988). Characterization of *Desulfovibrio*

- fructosovorans* sp. nov. *Archives of Microbiology* 149(5): 447-450.
- Omil, F., Lens, P., Hulshoff Pol, L. & Lettinga, G. (1996). Effect of upward velocity and sulphide concentration on volatile fatty acid degradation in a sulphidogenic granular sludge reactor. *Process Biochemistry* 31(7): 699-710.
- Omil, F., Oude Elferink, S.J.W.H., Lens, P., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1997). Effect of the inoculation with *Desulforhabdus amnigenus* and pH or O<sub>2</sub> shocks on the competition between sulphate reducing and methanogenic bacteria in an acetate fed UASB reactor. *Bioresource Technology* 60(2): 113-122.
- Omil, F., Lens, P., Visser, A., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1998). Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering* 57(6): 676-685.
- Osuna, M.B., Zandvoort, M.H., Iza, J.M., Lettinga, G. & Lens, P.N.L. (2003). Effects of trace element addition on volatile fatty acid conversions in anaerobic granular sludge reactors. *Environmental Technology* 24(5): 573-587.
- Quattara, A.S., Patel, B.K.C., Cayol, J.L., Cuzin, N., Traore, A.S. & Garcia, J.L. (1999). Isolation and characterization of *Desulfovibrio burkinensis* sp. nov. from an African ricefield and phylogeny of *Desulfovibrio alcoholivorans*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49(2): 639-643.
- Oude Elferink, S.J.W.H., Visser, A., Hulshoff Pol, L.W. & Stams, A.J.M. (1994). Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews* 15(2-3): 119-136.
- Oude Elferink, S.J.W.H., Luppens, S.B.I., Marcelis, C.L.M. & Stams, A.J.M. (1998). Kinetics of acetate oxidation by two sulfate reducers isolated from anaerobic granular sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 64(6): 2301-2303.
- Overmeire, A., Lens, P. & Verstraete, W. (1994). Mass transfer limitation of sulfate in methanogenic aggregates. *Biotechnology and Bioengineering* 44(3): 387-391.
- Oyekola, O.O., van Hille, R.P. & Harrison, S.T.L. (2009). Study of anaerobic lactate metabolism under biosulfidogenic conditions. *Water Research* 43(14): 3345-3354.
- Ozdemir, S., Cirik, K., Akman, D., Sahinkaya, E. & Cinar, O. (2013). Treatment of azo dye-containing synthetic textile dye effluent using sulfidogenic anaerobic baffled reactor. *Bioresource Technology* 146: 135-143.
- Pagnanelli, F., Cruz Viggli, C. & Toro, L. (2010). Isolation and quantification of cadmium removal mechanisms in batch reactors inoculated by sulphate reducing bacteria: Biosorption versus bioprecipitation. *Bioresource Technology* 101(9): 2981-2987.
- Pal, A. & Paul, A. (2008). Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation. *Indian Journal of Microbiology* 48(1): 49-64.
- Pankhania, I.P., Spormann, A.M., Hamilton, W.A. & Thauer, R.K. (1988). Lactate conversion to acetate, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> in cell suspensions of *Desulfovibrio vulgaris* (Marburg): indications for the involvement of an energy driven reaction. *Archives of Microbiology* 150(1): 26-31.
- Paques bv, The Netherlands: [www.paques.nl](http://www.paques.nl), Apr. 2013.
- Parkin, G.F., Lynch, N.A., Kuo, W.-C., van Keuren, E.L. & Bhattacharya, S.K. (1990). Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation* 62(6): 780-788.
- Parshina, S.N., Sipma, J., Nakashimada, Y., Henstra, A.M., Smidt, H., Lysenko, A.M., Lens, P.N.L., Lettinga, G. & Stams, A.J.M. (2005). *Desulfotomaculum carboxydivorans* sp. nov., a novel sulfate-reducing bacterium capable of growth at 100% CO. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55(5): 2159-2165.
- Patrick, R.A.D., Mosselmans, J.F.W., Charnock, J.M., England, K.E.R., Helz, G.R., Garner, C.D. & Vaughan, D.J. (1997). The structure of amorphous copper sulfide precipitates: An X-ray absorption study. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61(10): 2023-2036.
- Paulo, P.L., Vallero, M.V.G., Trevino, R.H.M., Lettinga, G. & Lens, P.N.L. (2004). Thermophilic (55 °C) conversion of methanol in methanogenic-UASB reactors: influence of sulphate on methanol degradation and competition. *Journal of Biotechnology* 111(1): 79-88.
- Paulo, P.L., Kleerebezem, R., Lettinga, G. & Lens, P.N.L. (2005). Cultivation of high-rate sulfate reducing sludge by pH-based electron donor dosage. *Journal of Biotechnology* 118(1): 107-116.
- Pavlostathis, S.G. & Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control* 21(5): 411-490.
- Peck, H.D. (1959). The ATP-dependent reduction of sulfate with hydrogen in extracts of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 45(5): 701-708.
- Peck, H.D. (1962). The role of adenosine-5'-phosphosulfate in the reduction of sulfate to sulfite by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Biological Chemistry* 237(1): 198-203.
- Peck, H.D. (1975). Biological oxidation and reduction of inorganic compounds of sulfur. *ACS Fuels (Spring, Philadelphia)* 20(2): 76-84.
- Picavet, M., Dijkman, H. & Buisman, C. (2003). Development of a novel efficient bioreactor for sulphate reduction. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2(2): 297-302.
- Pikuta, E.V., Hoover, R.B., Bej, A.K., Marsic, D., Whitman, W.B., Cleland, D. & Krader, P. (2003). *Desulfonatronum thiodismutans* sp. nov., a novel alkaliphilic, sulfate-reducing bacterium capable of lithoautotrophic growth. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53(5): 1327-1332.

- Plante, A.F. (2007). Soil biogeochemical cycling of inorganic nutrients and metals. in: Paul, E.A. (Ed.) *Soil microbiology and biochemistry*, 3rd ed. Elsevier, pp. 389-432.
- Pohland, F.G. (1992). Anaerobic treatment: fundamental concepts, applications and new horizons. in: Malina, J.F. & Pohland, F.G. (Eds.), *Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Lancaster, Pennsylvania, USA: Technomic Publishing AG, pp. 1-40.
- Poinapen, J., Ekama, G.A. & Wentzel, M.C. (2009a). Biological sulphate reduction with primary sewage sludge in an upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor - Part 2: Modification of simple wet chemistry analytical procedures to achieve COD and S mass balances. *Water SA* 35(5): 535-542.
- Poinapen, J., Ekama, G.A. & Wentzel, M.C. (2009b). Biological sulphate reduction with primary sewage sludge in an upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor - Part 3: Performance at 20°C and 35°C. *Water SA* 35(5): 543-552.
- Poinapen, J., Ekama, G.A. & Wentzel, M.C. (2009c). Biological sulphate reduction with primary sewage sludge in an upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor - Part 4: Bed settling characteristics. *Water SA* 35(5): 553-560.
- Poinapen, J., Wentzel, M.C. & Ekama, G.A. (2009d). Biological sulphate reduction with primary sewage sludge in an upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor - Part 1: Feasibility study. *Water SA* 35(5): 525-534.
- Poinapen, J. & Ekama, G.A. (2010a). Biological sulphate reduction with primary sewage sludge in an upflow anaerobic sludge bed reactor - Part 5: Steady-state model. *Water SA* 36(3): 193-202.
- Poinapen, J. & Ekama, G.A. (2010b). Biological sulphate reduction with primary sewage sludge in an upflow anaerobic sludge bed reactor - Part 6: Development of a kinetic model for BSR. *Water SA* 36(3): 203-213.
- Polprasert, C. & Haas, C.N. (1995). Effect of sulfate on anaerobic processes fed with dual substrates. *Water Science and Technology* 31(9): 101-107.
- Postgate, J.R. (1952). Competitive and non-competitive inhibitors of bacterial sulphate reduction. *Journal of General Microbiology* 6(1-2): 128-142.
- Postgate, J.R. (1979). *The sulphate-reducing bacteria*. Cambridge Eng., New York: Cambridge University Press.
- Poulson, S.R., Colberg, P.J.S. & Drever, J.I. (1997). Toxicity of heavy metals (Ni, Zn) to *Desulfovibrio desulfuricans*. *Geomicrobiology Journal* 14(1): 41-49.
- Prasad, D., Wai, M., Berube, P. & Henry, J.G. (1999). Evaluating substrates in the biological treatment of acid mine drainage. *Environmental Technology* 20(5): 449-458.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. & Klein, D.A. (2002). *Microbiology*, 5th ed. Boston: McGraw-Hill.
- Puigdomenech, I. (2009). Chemical Equilibrium Diagrams HYDRA-MEDUSA, version 17 Feb. 2009. KTH, School of Chemical Science and Engineering, Department of Chemistry: <http://www.kemi.kth.se/medusa/>
- Qatibi, A.I., Bories, A. & Garcia, J.L. (1990). Effects of sulfate on lactate and C2-, C3- volatile fatty acid anaerobic degradation by a mixed microbial culture. *Antonie van Leeuwenhoek* 58(4): 241-248.
- Rabus, R., Hansen, T.A. & Widdel, F. (2007). Dissimilatory sulfate- and sulfur-reducing prokaryotes. in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H. & Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes: Ecophysiology and Biochemistry*, 3rd ed. New York: Springer, pp. 659-768.
- Rampinelli, L.R., Azevedo, R.D., Teixeira, M.C., Guerra-Sá, R. & Leão, V.A. (2008). A sulfate-reducing bacterium with unusual growing capacity in moderately acidic conditions. *Biodegradation* 19(5): 613-619.
- Reis, M.A.M., Lemos, P.C., Almeida, J.S. & Carrondo, M.J.T. (1990). Influence of produced acetic acid on growth of sulfate reducing bacteria. *Biotechnology Letters* 12(2): 145-148.
- Reis, M.A.M., Almeida, J.S., Lemos, P.C. & Carrondo, M.J.T. (1992). Effect of hydrogen sulfide on growth of sulfate reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering* 40(5): 593-600.
- Remoundaki, E., Kousi, P., Joulain, C., Battaglia-Brunet, F., Hatzikioseyan, A. & Tsezos, M. (2008). Characterization, morphology and composition of biofilm and precipitates from a sulphate-reducing fixed-bed reactor. *Journal of Hazardous Materials* 153(1-2): 514-524.
- Rickard, D. & Luther, G.W. (1997). Kinetics of pyrite formation by the H<sub>2</sub>S oxidation of iron (II) monosulfide in aqueous solutions between 25 and 125°C: The mechanism. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61(1): 135-147.
- Rinzema, A. & Lettinga, G. (1988). Anaerobic treatment of sulfate-containing waste water. in: Wise, D.L. (Ed.) *Biotreatment Systems, Vol. III*. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc., pp. 65-109.
- Rittmann, B.E. (1982). Comparative performance of biofilm reactor types. *Biotechnology and Bioengineering* 24(6): 1341-1370.
- Rittmann, B.E. & McCarty, P.L. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. McGraw Hill.
- Robinson, J.A. & Tiedje, J.M. (1984). Competition between sulfate-reducing and methanogenic bacteria for H<sub>2</sub> under resting and growing conditions. *Archives of Microbiology* 137(1): 26-32.
- Rose, P., Corbett, C., Neba, A. & Whittington-Jones, K. (2004). Sewage sludge as an electron donor in biological mine wastewater treatment: Development of the Rhodes BioSURE Process®. in: Jarvis, A.P., Dudgeon, B.A. & Younger, P.L. (Eds.), *mine water 2004 - International Mine Water Association Symposium*, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK. pp. 111-118.
- Roth, S. & Goodwin, V. (1999). Health effects of hydrogen sulphide: Knowledge gaps. Edmonton, Alberta:



- Science and Standards Branch, Alberta Environment, 250 pp.
- Rowley, M.V., Warkentin, D.D. & Sicotte, V. (1997). Site demonstration of the Biosulphide process at the former Britannia mine. in: *Proceedings of the Fourth International Conference on Acid Rock Drainage*, Vancouver, Canada. pp. 1533-1547.
- Sahinkaya, E., Ozkaya, B., Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2007a). Sulfidogenic fluidized-bed treatment of metal-containing wastewater at low and high temperatures. *Biotechnology and Bioengineering* 96(6): 1064-1072.
- Sahinkaya, E., Ozkaya, B., Kaksonen, A.H. & Puhakka, J.A. (2007b). Sulfidogenic fluidized-bed treatment of metal-containing wastewater at 8 and 65°C temperatures is limited by acetate oxidation. *Water Research* 41(12): 2706-2714.
- Sahinkaya, E. (2009a). Biotreatment of zinc-containing wastewater in a sulfidogenic CSTR: Performance and artificial neural network (ANN) modelling studies. *Journal of Hazardous Materials* 164(1): 105-113.
- Sahinkaya, E. (2009b). Microbial sulfate reduction at low (8°C) temperature using waste sludge as a carbon and seed source. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63(3): 245-251.
- Sahinkaya, E., Gungor, M., Bayrakdar, A., Yucesoy, Z. & Uyanik, S. (2009). Separate recovery of copper and zinc from acid mine drainage using biogenic sulfide. *Journal of Hazardous Materials* 171(1-3): 901-906.
- Sahinkaya, E. & Gungor, M. (2010a). Comparison of sulfidogenic up-flow and down-flow fluidized-bed reactors for the biotreatment of acidic metal-containing wastewater. *Bioresource Technology* 101(24): 9508-9514.
- Sahinkaya, E. & Yucesoy, Z. (2010b). Biotreatment of acidic zinc- and copper-containing wastewater using ethanol-fed sulfidogenic anaerobic baffled reactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 33(8): 989-997.
- Sahinkaya, E., Kilic, A., Altun, M., Komnitsas, K. & Lens, P.N.L. (2012). Hexavalent chromium reduction in a sulfur reducing packed-bed bioreactor. *Journal of Hazardous materials* 219-220(0): 253-259.
- Samaranayake, R., Singhal, N., Lewis, G. & Hyland, M. (2002). Kinetics of biochemically driven metal precipitation in synthetic landfill leachate. *Remediation Journal* 13(1): 137-150.
- Sampaio, R.M.M., Timmers, R.A., Xu, Y., Keesman, K.J. & Lens, P.N.L. (2009). Selective precipitation of Cu from Zn in a pS controlled continuously stirred tank reactor. *Journal of Hazardous Materials* 165(1-3): 256-265.
- Sani, R.K., Geesey, G. & Peyton, B.M. (2001a). Assessment of lead toxicity to *Desulfovibrio desulfuricans* G20: influence of components of lactate C medium. *Advances in Environmental Research* 5(3): 269-276.
- Sani, R.K., Peyton, B.M. & Brown, L.T. (2001b). Copper-induced inhibition of growth of *Desulfovibrio desulfuricans* G20: assessment of its toxicity and correlation with those of zinc and lead. *Applied and Environmental Microbiology* 67(10): 4765-4772.
- Sani, R.K., Peyton, B.M. & Jandhyala, M. (2003). Toxicity of lead in aqueous medium to *Desulfovibrio desulfuricans* G20. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22(2): 252-260.
- Saravanane, R. & Murthy, D.V.S. (2000). Application of anaerobic fluidised-bed reactors in wastewater treatment: a review. *Environmental Management and Health* 11(2): 97-117.
- Schoonen, M.A.A. & Barnes, H.L. (1991a). Reactions forming pyrite and marcasite from solution: I. Nucleation of FeS<sub>2</sub> below 100°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 55(6): 1495-1504.
- Schoonen, M.A.A. & Barnes, H.L. (1991b). Reactions forming pyrite and marcasite from solution: II. Via FeS precursors below 100°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 55(6): 1505-1514.
- Schreyer, H.B. & Coughlin, R.W. (1999). Effects of stratification in a fluidized bed bioreactor during treatment of metalworking wastewater. *Biotechnology and Bioengineering* 63(2): 129-140.
- Sen, A. (2001). Acidophilic sulphate reducing bacteria: candidates for bioremediation of acid mine drainage pollution, Ph.D. thesis. Bangor, Wales, UK: School of Biological Sciences, Bangor University.
- Sen, A.M. & Johnson, B. (1999). Acidophilic sulphate-reducing bacteria: candidates for bioremediation of acid mine drainage. in: Amils, R. & Ballester, A. (Eds.), *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century, Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium IBS'99*, Madrid, Spain. Elsevier Science B.V.: pp. 709-718.
- Sen, A.M., Kimura, S., Hallberg, K.B. & Johnson, D.B. (2004). Sulfate reduction at low pH by mixed cultures of acidophilic bacteria. in: Tsezos, M., Hatzikioseyan, A. & Remoundaki, E. (Eds.), *Biohydrometallurgy: a sustainable technology in evolution, Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium*, Athens, Greece. National Technical University of Athens: pp. 1179-1186.
- Shayegan, J., Ghavipankeh, F. & Mirjafari, P. (2005). The effect of influent COD and upward flow velocity on the behaviour of sulphate-reducing bacteria. *Process Biochemistry* 40(7): 2305-2310.
- Sheoran, A.S., Sheoran, V. & Choudhary, R.P. (2010). Bioremediation of acid-rock drainage by sulphate-reducing prokaryotes: A review. *Minerals Engineering* 23(14): 1073-1100.
- Sierra-Alvarez, R., Hollingsworth, J. & Zhou, M.S. (2007). Removal of copper in an integrated sulfate reducing bioreactor - Crystallization reactor system. *Environmental Science & Technology* 41(4): 1426-1431.
- Silva, A.J., Varesche, M.B., Foresti, E. & Zaiat, M. (2002). Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor. *Process Biochemistry* 37(9): 927-935.
- Sipma, J., Lens, P., Vieira, A., Miron, Y., van Lier, J.B., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1999).

- Thermophilic sulphate reduction in upflow anaerobic sludge bed reactors under acidifying conditions. *Process Biochemistry* 35(5): 509-522.
- Sipma, J., Begopa Osuna, M., Lettinga, G., Stams, A.J.M. & Lens, P.N.L. (2007). Effect of hydraulic retention time on sulfate reduction in a carbon monoxide fed thermophilic gas lift reactor. *Water Research* 41(9): 1995-2003.
- Smith, W.L. & Gadd, G.M. (2000). Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms *Journal of Applied Microbiology* 88(6): 983-991.
- Speece, R.E. (1983). Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Science & Technology* 17(9): 416A-427A.
- Stams, A.J.M., Oude Elferink, S.J.W.H. & Westermann, P. (2003). Metabolic interactions between methanogenic consortia and anaerobic respiring bacteria. in: Ahring, B., Angelidaki, I., Macario, E.C., Gavala, H.N., Hofman-Bang, J., Macario, A.J.L., Oude Elferink, S.J.W.H., Raskin, L., Stams, A.J.M., Westermann, P. & Zheng, D. (Eds.), *Biomethanation I*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 31-56.
- Steed, V.S., Suidan, M.T., Gupta, M., Miyahara, T., Acheson, C.M. & Sayles, G.D. (2000). Development of a sulfate-reducing biological process to remove heavy metals from acid mine drainage. *Water Environment Research* 72(5): 530-535.
- Stoker, C. (2002), NASA Ames Research Center. Close up, orange colored area, Rio Tinto region, Spain, July 2002 (ACD03-0051-13).
- Stucki, G., Hanselmann, K.W. & Hurzeler, R.A. (1993). Biological sulfuric acid transformation: Reactor design and process optimization. *Biotechnology and Bioengineering* 41(3): 303-315.
- Stumm, W. & Morgan, J.J. (1996). Aquatic Chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Swaine, D.E. & Daugulis, A.J. (1988). Review of liquid mixing in packed bed biological reactors. *Biotechnology Progress* 4(3): 134-148.
- Syed, M., Soreanu, G., Falletta, P. & Beland, M. (2006). Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - a review. *Canadian Biosystems Engineering* 48: 2.1-2.14.
- Tabak, H.H. & Govind, R. (2003a). Advances in biotreatment of acid mine drainage and biorecovery of metals: 2. Membrane bioreactor system for sulfate reduction. *Biodegradation* 14(6): 437-452.
- Tabak, H.H., Scharp, R., Burckle, J., Kawahara, F.K. & Govind, R. (2003b). Advances in biotreatment of acid mine drainage and biorecovery of metals: 1. Metal precipitation for recovery and recycle. *Biodegradation* 14(6): 423-436.
- Tang, D., Jess, A., Ren, X., Bluemich, B. & Stapf, S. (2004). Axial dispersion and wall effects in narrow fixed bed reactors: a comparative study based on RTD and NMR measurements. *Chemical Engineering & Technology* 27(8): 866-873.
- Tang, I.C., Okos, M.R. & Yang, S.-T. (1989). Effects of pH and acetic acid on homoacetic fermentation of lactate by *Clostridium formicoaceticum*. *Biotechnology and Bioengineering* 34(8): 1063-1074.
- Tang, K., Baskaran, V. & Nemati, M. (2009). Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal* 44(1): 73-94.
- Tebo, B.M. & Obraztsova, A.Y. (1998). Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as electron acceptors. *FEMS Microbiology Letters* 162(1): 193-198.
- Teclu, D., Tivchev, G., Laing, M. & Wallis, M. (2009). Determination of the elemental composition of molasses and its suitability as carbon source for growth of sulphate-reducing bacteria. *Journal of Hazardous Materials* 161(2-3): 1157-1165.
- Teitzel, G.M. & Parsek, M.R. (2003). Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology* 69(4): 2313-2320.
- Thabet, O.B.D., Bouallagui, H., Cayol, J.-L., Ollivier, B., Fardeau, M.-L. & Hamdi, M. (2009). Anaerobic degradation of landfill leachate using an upflow anaerobic fixed-bed reactor with microbial sulfate reduction. *Journal of Hazardous Materials* 167(1-3): 1133-1140.
- Thauer, R.K., Jungermann, K. & Decker, K. (1977). Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews* 41(1): 100-180.
- Tomei, F.A., Barton, L.L., Lemanski, C.L., Zocco, T.G., Fink, N.H. & Sillerud, L.O. (1995). Transformation of selenate and selenite to elemental selenium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 14(3): 329-336.
- Tratnyek, P., Reilkoff, T., Lemon, A., Scherer, M., Balko, B., Feik, L. & Henegar, B. (2001). Visualizing Redox Chemistry: Probing Environmental Oxidation-Reduction Reactions with Indicator Dyes. *The Chemical Educator* 6(3): 172-179.
- Tsukamoto, T.K. & Miller, G.C. (1999). Methanol as a carbon source for microbiological treatment of acid mine drainage. *Water Research* 33(6): 1365-1370.
- Tsukamoto, T.K., Killion, H.A. & Miller, G.C. (2004). Column experiments for microbiological treatment of acid mine drainage: low-temperature, low-pH and matrix investigations. *Water Research* 38(6): 1405-1418.
- Tucker, M.D., Barton, L.L. & Thomson, B.M. (1997). Reduction and immobilization of molybdenum by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Environmental Quality* 26(4): 1146-1152.
- Tucker, M.D., Barton, L.L. & Thomson, B.M. (1998a). Reduction of Cr, Mo, Se and U by *Desulfovibrio desulfuricans* immobilized in polyacrylamide gels. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 20(1): 13-19.

- Tucker, M.D., Barton, L.L. & Thomson, B.M. (1998b). Removal of U and Mo from water by immobilized *Desulfovibrio desulfuricans* in column reactors. *Biotechnology and Bioengineering* 60(1): 88-96.
- Tuppurainen, K.O., Vaisanen, A.O. & Rintala, J.A. (2002). Zinc removal in anaerobic sulphate-reducing liquid substrate process. *Minerals Engineering* 15(11): 847-852.
- Tuttle, J.H., Dugan, P.R. & Randles, C.I. (1969). Microbial sulfate reduction and its potential utility as an acid mine water pollution abatement procedure. *Applied Microbiology* 17(2): 297-302.
- Uberoi, V. & Bhattacharya, S.K. (1995). Interactions among sulfate reducers, acetogens, and methanogens in anaerobic propionate systems. *Water Environment Research* 67(3): 330-339.
- Uberoi, V. & Bhattacharya, S.K. (1997). Sulfate-reducing bacteria in anaerobic propionate systems. *Journal of Environmental Engineering* 123(7): 675-682.
- Utgikar, V.P., Harmon, S.M., Chaudhary, N., Tabak, H.H., Govind, R. & Haines, J.R. (2002). Inhibition of sulfate-reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage. *Environmental Toxicology* 17(1): 40-48.
- Utgikar, V.P., Tabak, H.H., Haines, J.R. & Govind, R. (2003). Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc on mixed cultures of sulfate-reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering* 82(3): 306-312.
- Utgikar, V.P., Chaudhary, N., Koeniger, A., Tabak, H.H., Haines, J.R. & Govind, R. (2004). Toxicity of metals and metal mixtures: analysis of concentration and time dependence for zinc and copper. *Water Research* 38(17): 3651-3658.
- Uyanik, S., Bayrakdar, A., Sahinkaya, E. & Gungor, M. (2009). Metal recovery from acid mine drainage by sulfidogenic anaerobic baffled reactor. in: Agioutantis, Z. & Komnitsas, K. (Eds.), *Towards sustainable development: Assessing the footprint of resource utilization and hazardous waste management, Proceedings of the 3rd AMIREG International Conference*, Athens, Greece. pp. 420-425.
- Valdes, F., Munoz, E., Chamy, R., Ruiz, G., Vergara, C. & Jeison, D. (2006). Effect of sulphate concentration and sulphide desorption on the combined removal of organic matter and sulphate from wastewaters using expanded granular sludge bed (EGSB) reactors. *Electronic Journal of Biotechnology* (doi: 10.2225/vol9-issue4-fulltext-11).
- Vallero, M.V.G., Camarero, E., Lettinga, G. & Lens, P.N.L. (2004). Thermophilic (55-65°C) and extreme thermophilic (70-80°C) sulfate reduction in methanol and formate-fed UASB reactors. *Biotechnology Progress* 20(5): 1382-1392.
- Vallero, M.V.G., Lettinga, G. & Lens, P.N.L. (2005). High rate sulfate reduction in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBaR) at high salinity. *Journal of Membrane Science* 253(1-2): 217-232.
- van den Bosch, P.L.F., van Beusekom, O.C., Buisman, C.J.N. & Janssen, A.J.H. (2007). Sulfide oxidation at halo-alkaline conditions in a fed-batch bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 97(5): 1053-1063.
- van Houten, B., van Doesburg, W., Dijkman, H., Copini, C., Smidt, H. & Stams, A. (2009). Long-term performance and microbial community analysis of a full-scale synthesis gas fed reactor treating sulfate- and zinc-rich wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84(3): 555-563.
- van Houten, B.H.G.W. (2006). Microbial aspects of synthesis gas fed bioreactors treating sulfate and metal rich wastewaters, Ph.D. thesis. Wageningen, Wageningen University.
- van Houten, B.H.G.W., Roest, K., Tzeneva, V.A., Dijkman, H., Smidt, H. & Stams, A.J.M. (2006). Occurrence of methanogenesis during start-up of a full-scale synthesis gas-fed reactor treating sulfate and metal-rich wastewater. *Water Research* 40(3): 553-560.
- van Houten, R.T., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1994). Biological sulphate reduction using gas-lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon source. *Biotechnology and Bioengineering* 44(5): 586-594.
- van Houten, R.T., Oude Elferink, S.J.W.H., van Hamel, S.E., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1995). Sulphate reduction by aggregates of sulphate-reducing bacteria and homo-acetogenic bacteria in a lab-scale gas-lift reactor. *Bioresource Technology* 54(1): 73-79.
- van Houten, R.T., van der Spoel, H., van Aelst, A.C., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1996). Biological sulfate reduction using synthesis gas as energy and carbon source. *Biotechnology and Bioengineering* 50(2): 136-144.
- van Houten, R.T., Yun, S.Y. & Lettinga, G. (1997). Thermophilic sulphate and sulphite reduction in lab-scale gas-lift reactors using H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> as energy and carbon source. *Biotechnology and Bioengineering* 55(5): 807-814.
- van Hullebusch, E., Zandvoort, M. & Lens, P. (2003). Metal immobilisation by biofilms: Mechanisms and analytical tools. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 2(1): 9-33.
- Veeken, A.H.M., Akoto, L., Hulshoff Pol, L.W. & Weijma, J. (2003a). Control of the sulfide (S<sup>2-</sup>) concentration for optimal zinc removal by sulfide precipitation in a continuously stirred tank reactor. *Water Research* 37(15): 3709-3717.
- Veeken, A.H.M., de Vries, S., van der Mark, A. & Rulkens, W.H. (2003b). Selective precipitation of heavy metals as controlled by a sulfide-selective electrode. *Separation Science and Technology* 38(1): 1-19.
- Velasco, A., Ramirez, M., Volke-Sepulveda, T., Gonzalez-Sanchez, A. & Revah, S. (2008). Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criterion for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. *Journal of Hazardous Materials* 151(2-3): 407-413.
- Viana, M.B., Freitas, A.V., Leitão, R.C., Pinto, G.A.S. & Santaella, S.T. (2012). Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. *Environmental Technology Reviews* 1(1): 81-92.
- Villa-Gomez, D., Ababneh, H., Papirio, S., Rousseau, D.P.L. & Lens, P.N.L. (2011). Effect of sulfide

- concentration on the location of the metal precipitates in inversed fluidized bed reactors. *Journal of Hazardous Materials* 192(1): 200-207.
- Visser, A., Gao, Y. & Lettinga, G. (1992). Anaerobic treatment of synthetic sulfate-containing wastewater under thermophilic conditions. *Water Science & Technology* 25(7): 193-202.
- Visser, A., Beekma, I., Zee, F., Stams, A.J.M. & Lettinga, G. (1993a). Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 40(4): 549-556.
- Visser, A., Gao, Y. & Lettinga, G. (1993b). Effects of short-term temperature increases on the mesophilic anaerobic breakdown of sulfate containing synthetic wastewater. *Water Research* 27(4): 541-550.
- Visser, A. (1995). The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater, Ph.D. thesis. Wageningen, Wageningen Agricultural University.
- Visser, A., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (1996). Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria. *Water Science & Technology* 33(3): 99-110.
- Vossoughi, M., Shakeri, M. & Alemzadeh, I. (2003). Performance of anaerobic baffled reactor treating synthetic wastewater influenced by decreasing COD/SO<sub>4</sub> ratios. *Chemical Engineering and Processing* 42(10): 811-816.
- Wakeman, K.D., Erving, L., Riekkola-Vanhanen, M.L. & Puhakka, J.A. (2010). Silage supports sulfate reduction in the treatment of metals- and sulfate-containing waste waters. *Water Research* 44(17): 4932-4939.
- Wang, G. & Wang, D.I.C. (1984). Elucidation of growth inhibition and acetic acid production by *Clostridium thermoaceticum*. *Applied and Environmental Microbiology* 47(2): 294-298.
- Wang, S.-D. & Wang, D.I.C. (1989). Pore dimension effects in the cell loading of a porous carrier. *Biotechnology and Bioengineering* 33(7): 915-917.
- Warkentin, D., Chow, N. & Nacu, A. (2010). Expanding sulphide use for metal recovery from mine water. in: Wolkersdorfer, C. & Freund, A. (Eds.), *Mine Water & Innovative Thinking, Proceedings of International Mine Water Association Symposium 2010*, Sydney, Canada. CBU Press: pp. 195-199.
- Watson, J.H.P., Ellwood, D.C., Deng, Q., Mikhailovsky, S., Hayter, C.E. & Evans, J. (1995). Heavy metal adsorption on bacterially produced FeS. *Minerals Engineering* 8(10): 1097-1108.
- Watson, J.H.P., Croudace, I.W., Warwick, P.E., James, P.A.B., Charnock, J.M. & Ellwood, D.C. (2001). Adsorption of radioactive metals by strongly magnetic iron sulfide nanoparticles produced by sulfate-reducing bacteria. *Separation Science and Technology* 36(12): 2571-2607.
- Waybrant, K.R., Ptacek, C.J. & Blowes, D.W. (2002). Treatment of mine drainage using permeable reactive barriers: column experiments. *Environmental Science & Technology* 36(6): 1349-1356.
- Webb, J.S., McGinness, S. & Lappin-Scott, H.M. (1998). Metal removal by sulphate-reducing bacteria from natural and constructed wetlands. *Journal of Applied Microbiology* 84(2): 240-248.
- Weijma, J., Hulshoff Pol, L.W., Stams, A.J.M. & Lettinga, G. (2000a). Performance of a thermophilic sulfate and sulfite reducing high rate anaerobic reactor fed with methanol. *Biodegradation* 11(6): 429-439.
- Weijma, J., Stams, A.J.M., Hulshoff Pol, L.W. & Lettinga, G. (2000b). Thermophilic sulfate reduction and methanogenesis with methanol in a high rate anaerobic reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 67(3): 354-363.
- Weijma, J. & Stams, A.J.M. (2001). Methanol conversion in high-rate anaerobic reactors. *Water Science & Technology* 44(8): 7-14.
- Weijma, J., Gubbels, F., Pol, L.W.H., Stams, A.J.M., Lens, P. & Lettinga, G. (2002). Competition for H<sub>2</sub> between sulfate reducers, methanogens and homoacetogens in a gas-lift reactor. *Water Science & Technology* 45(10): 75-80.
- Weijma, J., Chi, T.M., Hulshoff Pol, L.W., Stams, A.J.M. & Lettinga, G. (2003). The effect of sulphate on methanol conversion in mesophilic upflow anaerobic sludge bed reactors. *Process Biochemistry* 38(9): 1259-1266.
- Wells, A.F. (1975). *Structural Inorganic Chemistry*, 4th ed. London: Oxford University Press.
- White, C. & Gadd, G.M. (1996a). A comparison of carbon/energy and complex nitrogen sources for bacterial sulphate-reduction: potential applications to bioprecipitation of toxic metals as sulphides. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 17(2): 116-123.
- White, C. & Gadd, G.M. (1996b). Mixed sulphate-reducing bacterial cultures for bioprecipitation of toxic metals: Factorial and response-surface analysis of the effects of dilution rate, sulphate and substrate concentration. *Microbiology* 142(8): 2197-2205.
- White, C. & Gadd, G.M. (1998). Accumulation and effects of cadmium on sulphate-reducing bacterial biofilms. *Microbiology* 144(5): 1407-1415.
- White, C. & Gadd, G.M. (2000). Copper accumulation by sulfate-reducing bacterial biofilms. *FEMS Microbiology Letters* 183(2): 313-318.
- White, C., Dennis, J.S. & Gadd, G.M. (2003). A mathematical process model for cadmium precipitation by sulfate-reducing bacterial biofilms *Biodegradation* 14(2): 139-151.
- WHO (2000). *Air quality guidelines for Europe*, 2nd ed. Copenhagen: World Health Organization, Regional Office for Europe.
- Widdel, F. & Pfennig, N. (1981). Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. *Archives of Microbiology* 129(5): 395-400.
- Williamson, M.A. & Rimstidt, J.D. (1992). Correlation between structure and thermodynamic properties of

- aqueous sulfur species. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56(11): 3867-3880.
- Yamaguchi, T., Harada, H., Hisano, T., Yamazaki, S. & Tseng, I.C. (1999). Process behavior of UASB reactor treating a wastewater containing high strength sulfate. *Water Research* 33(14): 3182-3190.
- Yoda, M., Kitagawa, M. & Miyaji, Y. (1987). Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm. *Water Research* 21(12): 1547-1556.
- Yong, P., Rowson, N.A., Farr, J.P.G., Harris, I.R. & Macaskie, L.E. (2002). Bioaccumulation of palladium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 77(5): 593-601.
- Zagury, G.J., Kulnieks, V.I. & Neculita, C.M. (2006). Characterization and reactivity assessment of organic substrates for sulphate-reducing bacteria in acid mine drainage treatment. *Chemosphere* 64(6): 944-954.
- Zamzow, K., Tsukamoto, T. & Miller, G. (2006). Waste from biodiesel manufacturing as an inexpensive carbon source for bioreactors treating acid mine drainage. *Mine Water and the Environment* 25(3): 163-170.
- Zandvoort, M.H., van Hullebusch, E.D., Feroso, F.G. & Lens, P.N.L. (2006). Trace metals in anaerobic granular sludge reactors: Bioavailability and dosing strategies. *Engineering in Life Sciences* 6(3): 293-301.
- Zellner, G., Neudorfer, F. & Diekmann, H. (1994). Degradation of lactate by an anaerobic mixed culture in a fluidized-bed reactor. *Water Research* 28(6): 1337-1340.
- Zellner, G. & Neudorfer, F. (1995). Stability and metabolic versatility of a propionate-degrading biofilm operating in an anaerobic fluidised bed reactor. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 80(4): 389-393.
- Zhang, M.-L., Sheng, G.-P., Mu, Y., Li, W.-H., Yu, H.-Q., Harada, H. & Li, Y.-Y. (2009). Rapid and accurate determination of VFAs and ethanol in the effluent of an anaerobic H<sub>2</sub>-producing bioreactor using near-infrared spectroscopy. *Water Research* 43(7): 1823-1830.
- Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z.L. & Joy, D. (2007). Fundamentals of Scanning Electron Microscopy (SEM). in: Zhou, W. & Wang, Z.L. (Eds.), *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*. New York: Springer, pp. 1-40.
- Καθορισμός ποιοτικών περιβαλλοντικών προτύπων στον ποταμό Ασωπό και οριακών τιμών εκπομπών υγρών βιομηχανικών αποβλήτων στη λεκάνη απορροής του Ασωπού (2010), Υ.Α. 20488/2010, Ελλάδα: Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας, Τεύχος Β, Αρ. φύλλου 749, pp. 9409-9419.
- Καθορισμός Προτύπων Ποιότητας Περιβάλλοντος (ΠΠΠ) για τις συγκεντρώσεις ορισμένων ρύπων και ουσιών προτεραιότητας στα επιφανειακά ύδατα, σε συμμόρφωση προς τις διατάξεις της οδηγίας 2008/105/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 16ης Δεκεμβρίου 2008 «σχετικά με Πρότυπα Ποιότητας Περιβάλλοντος (ΠΠΠ) στον τομέα της πολιτικής των υδάτων και σχετικά με την τροποποίηση και μετέπειτα κατάργηση των οδηγιών του Συμβουλίου 82/176/ΕΟΚ, 83/513/ΕΟΚ, 84/156/ΕΟΚ, 84/491/ΕΟΚ και 86/280/ΕΟΚ και την τροποποίηση της οδηγίας 2000/60/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου», καθώς και για τις συγκεντρώσεις ειδικών ρύπων στα εσωτερικά επιφανειακά ύδατα και άλλες διατάξεις (2010), Υ.Α. Η.Π. 51354/2641/Ε103/2010, Ελλάδα: Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας, Τεύχος Β, Αρ. φύλλου 1909, pp. 29265-29279.
- Καθορισμός χρήσεων επιφανειακών υδάτων και ειδικών όρων για τη διάθεση λυμάτων και βιομηχανικών αποβλήτων σε κάθε αποδέκτη του Ν. Θεσσαλονίκης (2010), Αποφ. 30/οικ. 2885/2010, Ελλάδα: Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας, Τεύχος Β, Αρ. φύλλου 1079, pp. 14989-15012.
- Κανονισμός Μεταλλευτικών και Λατομικών Εργασιών (2011), Υ.Α. Δ7/Α/οικ.12050/2223/2011, Ελλάδα: Σύνδεσμος Μεταλλευτικών Επιχειρήσεων - Εφημερίς της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας, Τεύχος Β, Αρ. φύλλου 1227, pp. 17463-17541.
- Κορνίτσας, Κ. & Ξενίδης, Α. (2001). Όξινη απορροή μεταλλείων: δημιουργία, επιπτώσεις και τεχνικές αντιμετώπισης σε μεταλλεία μικτών θειούχων. *Τεχνικά Χρονικά, Επιστημονικές Εκδόσεις ΤΕΕ, Σειρά V* 21(1-2): 19-36.
- Κοντόπουλος, Α. (1998). Όξινη απορροή μεταλλείων. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Τμήμα Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών.
- Κούρτης, Α. (2007). Κατεργασία υγρών αποβλήτων από μεταλλεία μικτών θειούχων, Διδακτορική διατριβή. Αθήνα: Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Κουστίνη, Β. (2009). Αντιδραστήρας θειοαναγωγικών βακτηρίων για την επεξεργασία υγρών βιομηχανικών αποβλήτων που περιέχουν μέταλλα, Μεταπτυχιακή εργασία. Αθήνα: Διεπιστημονικό-Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών "Περιβάλλον και Ανάπτυξη", Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Μπάρτζας, Γ. (2007). Απομάκρυνση ρυπαντών από εκχυλίσματα μεταλλευτικών στερεών αποβλήτων με ενεργούς διαπερατούς φραγμούς από ερυθρά ιλύ και ιπταμένη τέφρα, Διδακτορική διατριβή. Αθήνα: Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Σαρρής, Π. (2012). Η φυσιολογία των χημικών στοιχείων στο φυτό, ΑΓΡόΠΟΛΙΣ: <http://www.agrool.gr/files/physiol.pdf>. 130 pp.
- Φίλιππας, Α. (2007). Καταβύθιση μετάλλων σε αντιδραστήρα θειοαναγωγικών βακτηρίων, Διπλωματική εργασία. Αθήνα: Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Χατζηκοσεγιάν, Α. (2008). Μαθηματική προσομοίωση αλληλεπίδρασης μετάλλων-μικροοργανισμών σε βιολογικούς αντιδραστήρες πλανκτονικής και ακινητοποιημένης βιομάζας, Διδακτορική διατριβή. Αθήνα: Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.



# Παράρτημα

## A

Φωτογραφίες αντιδραστήρων και χημική  
ισορροπία διαλυμάτων τροφοδοσίας

---





## Φωτογραφίες αντιδραστήρων



Εικόνα Α.1. Διάταξη αντιδραστήρα Ι κατά την έναρξη της λειτουργίας του: (α) λεπτομέρεια της κλίνης με πληρωτικό υλικό Α και (β) τμήμα αντιδραστήρα χωρίς πληρωτικό υλικό. (γ) Εικόνα αντιδραστήρα πέντε μήνες μετά την έναρξη της λειτουργίας του





*Εικόνα Α.2. Αντιδραστήρας II με πληρωτικό υλικό Β σε κατάσταση λειτουργίας διαλείποντος έργου, δέκα ημέρες μετά τον εμβολιασμό του*





*Εικόνα Α.3. Αντιδραστήρας III με πληρωτικό υλικό Γ κατά την έναρξη της λειτουργίας του σε κατάσταση διαλείποντος έργου*





Εικόνα Α.4. Αντιδραστήρες IV με πληρωτικό υλικό Γ και αιθανόλη (E), γαλακτικό νάτριο (L) και οξικό νάτριο (A) ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε κατάσταση λειτουργίας διαλείποντος έργου





## Χημική ισορροπία διαλυμάτων τροφοδοσίας

Πίνακας Α.1. Ποσοστιαία κατανομή των υδατοδιαλυτών ειδών των συστατικών των διαλυμάτων τροφοδοσίας για τις τρεις πηγές άνθρακα/ηλεκτρονίων σε pH 4

Συστατικό	Αιθανόλη		Οξικό ιόν		Γαλακτικό ιόν	
	%	Είδος	%	Είδος	%	Είδος
Na <sup>+</sup>	94,569	Na <sup>+</sup>	94,278	Na <sup>+</sup>	94,030	Na <sup>+</sup>
	3,863	NaSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	3,807	NaSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	4,351	NaSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	1,166	NaCl <sub>(aq)</sub>	1,210	NaCl <sub>(aq)</sub>	1,209	NaCl <sub>(aq)</sub>
	0,400	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,401	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,409	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
			0,302	CH <sub>3</sub> COONa <sub>(aq)</sub>		
K <sup>+</sup>	93,528	K <sup>+</sup>	93,337	K <sup>+</sup>	92,865	K <sup>+</sup>
	4,922	KSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	4,855	KSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	5,536	KSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	1,154	KCl <sub>(aq)</sub>	1,198	KCl <sub>(aq)</sub>	1,194	KCl <sub>(aq)</sub>
	0,395	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,397	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,404	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
			0,212	CH <sub>3</sub> COOK <sub>(aq)</sub>		
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	92,618	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	92,699	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	91,723	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	7,378	NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	7,298	NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	8,276	NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
Ca <sup>2+</sup>	58,698	CaSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	59,492	CaSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	57,838	CaSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
	37,279	Ca <sup>2+</sup>	34,206	Ca <sup>2+</sup>	29,403	Ca <sup>2+</sup>
	2,264	CaCl <sup>+</sup>	2,296	CaCl <sup>+</sup>	1,962	CaCl <sup>+</sup>
	1,737	CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,704	CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,486	CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	0,022	CaHPO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,022	CaHPO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,019	CaHPO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
			2,281	CH <sub>3</sub> COOCa <sup>+</sup>	8,505	CH <sub>3</sub> CHOHCOOCa <sup>+</sup>
					0,787	(CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Ca <sub>(aq)</sub>
Mg <sup>2+</sup>	53,272	MgSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	53,778	MgSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	53,828	MgSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
	42,594	Mg <sup>2+</sup>	38,926	Mg <sup>2+</sup>	34,450	Mg <sup>2+</sup>
	4,099	MgCl <sup>+</sup>	4,141	MgCl <sup>+</sup>	3,644	MgCl <sup>+</sup>
	0,034	MgHPO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,034	MgHPO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	0,031	MgHPO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
			3,120	CH <sub>3</sub> COOMg <sup>+</sup>	7,736	CH <sub>3</sub> CHOHCOOMg <sup>+</sup>
					0,312	(CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Mg <sub>(aq)</sub>
Fe <sup>2+</sup>	44,984	FeSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	45,325	FeSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>	49,461	FeSO <sub>4</sub> <sub>(aq)</sub>
	27,810	FeH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	27,116	FeH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	26,547	FeH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	26,663	Fe <sup>2+</sup>	24,321	Fe <sup>2+</sup>	23,466	Fe <sup>2+</sup>
	0,407	FeCl <sup>+</sup>	0,410	FeCl <sup>+</sup>	0,393	FeCl <sup>+</sup>

Συστατικό	Αιθανόλη % Είδος	Οξικό ιόν % Είδος	Γαλακτικό ιόν % Είδος
	0,136 FeHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,136 FeHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,133 FeHPO <sub>4 (aq)</sub>
		2,691 CH <sub>3</sub> COOFe <sup>+</sup>	
Ni <sup>2+</sup>	57,152 NiSO <sub>4 (aq)</sub>	56,709 NiSO <sub>4 (aq)</sub>	37,838 NiSO <sub>4 (aq)</sub>
	41,675 Ni <sup>2+</sup>	37,436 Ni <sup>2+</sup>	22,086 Ni <sup>2+</sup>
	0,733 NiH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,704 NiH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,421 NiH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	0,374 NiCl <sup>+</sup>	0,372 NiCl <sup>+</sup>	0,218 NiCl <sup>+</sup>
	0,048 NiHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,047 NiHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,028 NiHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,015 Ni(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	0,013 Ni(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	0,010 Ni(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>
		4,542 CH <sub>3</sub> COONi <sup>+</sup>	33,529 CH <sub>3</sub> CHOHCOONi <sup>+</sup>
		0,175 (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Ni <sub>(aq)</sub>	5,773 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Ni <sub>(aq)</sub>
			0,094 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>3</sub> Ni <sup>-</sup>
Cu <sup>2+</sup>	59,604 CuSO <sub>4 (aq)</sub>	48,650 CuSO <sub>4 (aq)</sub>	10,156 CuSO <sub>4 (aq)</sub>
	37,855 Cu <sup>2+</sup>	27,972 Cu <sup>2+</sup>	5,163 Cu <sup>2+</sup>
	1,826 CuCl <sup>+</sup>	1,491 CuCl <sup>+</sup>	0,274 CuCl <sup>+</sup>
	0,646 CuHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,523 CuHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,098 CuHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,039 CuNH <sub>3</sub> <sup>2+</sup>	0,030 CuNH <sub>3</sub> <sup>2+</sup>	
	0,012 CuCl <sub>2 (aq)</sub>	0,011 CuCl <sub>2 (aq)</sub>	
	0,011 CuOH <sup>+</sup>		
		19,983 CH <sub>3</sub> COOCu <sup>+</sup>	51,785 CH <sub>3</sub> CHOHCOOCu <sup>+</sup>
		1,307 (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Cu <sub>(aq)</sub>	31,638 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Cu <sub>(aq)</sub>
		0,019 (CH <sub>3</sub> COO) <sub>3</sub> Cu <sup>-</sup>	0,877 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>3</sub> Cu <sup>-</sup>
Zn <sup>2+</sup>	56,043 ZnSO <sub>4 (aq)</sub>	55,164 ZnSO <sub>4 (aq)</sub>	36,185 ZnSO <sub>4 (aq)</sub>
	37,270 Zn <sup>2+</sup>	33,212 Zn <sup>2+</sup>	19,262 Zn <sup>2+</sup>
	3,925 Zn(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	3,417 Zn(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	2,603 Zn(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>
	2,598 ZnCl <sup>+</sup>	2,559 ZnCl <sup>+</sup>	1,476 ZnCl <sup>+</sup>
	0,099 ZnHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,096 ZnHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,056 ZnHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,062 ZnCl <sub>2 (aq)</sub>	0,064 ZnCl <sub>2 (aq)</sub>	0,037 ZnCl <sub>2 (aq)</sub>
		5,435 CH <sub>3</sub> COOZn <sup>+</sup>	30,621 CH <sub>3</sub> CHOHCOOZn <sup>+</sup>
		0,050 (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Zn <sub>(aq)</sub>	9,594 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Zn <sub>(aq)</sub>
			0,164 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>3</sub> Zn <sup>-</sup>
Cl <sup>-</sup>	97,496 Cl <sup>-</sup>	96,120 Cl <sup>-</sup>	96,886 Cl <sup>-</sup>
	1,254 MgCl <sup>+</sup>	1,267 MgCl <sup>+</sup>	1,115 MgCl <sup>+</sup>
	0,621 NaCl <sub>(aq)</sub>	1,996 NaCl <sub>(aq)</sub>	1,542 NaCl <sub>(aq)</sub>

Συστατικό	Αιθανόλη % Είδος	Οξικό ιόν % Είδος	Γαλακτικό ιόν % Είδος
	0,250 KCl <sub>(aq)</sub>	0,260 KCl <sub>(aq)</sub>	0,259 KCl <sub>(aq)</sub>
	0,151 ZnCl <sup>+</sup>	0,149 ZnCl <sup>+</sup>	0,086 ZnCl <sup>+</sup>
	0,108 CuCl <sup>+</sup>	0,088 CuCl <sup>+</sup>	0,016 CuCl <sup>+</sup>
	0,058 CaCl <sup>+</sup>	0,059 CaCl <sup>+</sup>	0,050 CaCl <sup>+</sup>
	0,028 FeCl <sup>+</sup>	0,028 FeCl <sup>+</sup>	0,027 FeCl <sup>+</sup>
	0,024 NiCl <sup>+</sup>	0,024 NiCl <sup>+</sup>	0,014 NiCl <sup>+</sup>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	42,574 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	37,532 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	43,602 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
	23,146 MgSO <sub>4 (aq)</sub>	23,365 MgSO <sub>4 (aq)</sub>	23,387 MgSO <sub>4 (aq)</sub>
	7,477 NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	7,396 NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	8,387 NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	5,218 NiSO <sub>4 (aq)</sub>	5,177 NiSO <sub>4 (aq)</sub>	3,455 NiSO <sub>4 (aq)</sub>
	4,994 CuSO <sub>4 (aq)</sub>	4,076 CuSO <sub>4 (aq)</sub>	0,851 CuSO <sub>4 (aq)</sub>
	4,635 ZnSO <sub>4 (aq)</sub>	4,562 ZnSO <sub>4 (aq)</sub>	2,993 ZnSO <sub>4 (aq)</sub>
	4,325 FeSO <sub>4 (aq)</sub>	4,357 FeSO <sub>4 (aq)</sub>	4,755 FeSO <sub>4 (aq)</sub>
	2,921 NaSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	8,916 NaSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	7,882 NaSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	2,144 CaSO <sub>4 (aq)</sub>	2,173 CaSO <sub>4 (aq)</sub>	2,112 CaSO <sub>4 (aq)</sub>
	1,517 KSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1,497 KSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1,707 KSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	0,649 Zn(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	0,565 Zn(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	0,431 Zn(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>
	0,396 HSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,381 HSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,438 HSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	77,323 H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	73,724 H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	75,829 H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
	17,345 FeH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	16,913 FeH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	16,557 FeH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	1,961 NaH <sub>2</sub> PO <sub>4 (aq)</sub>	6,095 NaH <sub>2</sub> PO <sub>4 (aq)</sub>	4,805 NaH <sub>2</sub> PO <sub>4 (aq)</sub>
	1,055 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1,032 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1,058 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
	0,791 KH <sub>2</sub> PO <sub>4 (aq)</sub>	0,794 KH <sub>2</sub> PO <sub>4 (aq)</sub>	0,808 KH <sub>2</sub> PO <sub>4 (aq)</sub>
	0,434 NiH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,417 NiH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,250 NiH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	0,412 CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,404 CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,352 CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>
	0,351 CuHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,285 CuHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,053 CuHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,097 MgHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,097 MgHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,087 MgHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,085 FeHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,085 FeHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,083 FeHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,053 ZnHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,052 ZnHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,030 ZnHPO <sub>4 (aq)</sub>
	0,051 HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,045 HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,047 HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
	0,028 NiHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,028 NiHPO <sub>4 (aq)</sub>	0,017 NiHPO <sub>4 (aq)</sub>
		0,023 NaHPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,018 NaHPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>

Συστατικό	Αιθανόλη % Είδος	Οξικό ιόν % Είδος	Γαλακτικό ιόν % Είδος
CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>		82,167 CH <sub>3</sub> COOH <sub>(aq)</sub>	
		14,448 CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	
		1,075 CH <sub>3</sub> COOCu <sup>+</sup>	
		0,870 CH <sub>3</sub> COOMg <sup>+</sup>	
		0,454 CH <sub>3</sub> COONa <sub>(aq)</sub>	
		0,289 CH <sub>3</sub> COOZn <sup>+</sup>	
		0,266 CH <sub>3</sub> COONi <sup>+</sup>	
		0,166 CH <sub>3</sub> COOFe <sup>+</sup>	
		0,141 (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Cu <sub>(aq)</sub>	
		0,053 CH <sub>3</sub> COOCa <sup>+</sup>	
		0,042 CH <sub>3</sub> COOK <sub>(aq)</sub>	
		0,021 (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Ni <sub>(aq)</sub>	
CH <sub>3</sub> CHOHCOO <sup>-</sup>			46,177 CH <sub>3</sub> CHOHCOO <sup>-</sup>
			33,190 CH <sub>3</sub> CHOHCOOH <sub>(aq)</sub>
			4,936 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Cu <sub>(aq)</sub>
			4,039 CH <sub>3</sub> CHOHCOOCu <sup>+</sup>
			3,129 CH <sub>3</sub> CHOHCOOMg <sup>+</sup>
			2,850 CH <sub>3</sub> CHOHCOONi <sup>+</sup>
			2,358 CH <sub>3</sub> CHOHCOOZn <sup>+</sup>
			1,478 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Zn <sub>(aq)</sub>
			0,981 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Ni <sub>(aq)</sub>
			0,289 CH <sub>3</sub> CHOHCOOCa <sup>+</sup>
			0,253 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Mg <sub>(aq)</sub>
			0,205 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>3</sub> Cu <sup>-</sup>
			0,053 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>2</sub> Ca <sub>(aq)</sub>
		0,038 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>3</sub> Zn <sup>-</sup>	
		0,024 (CH <sub>3</sub> CHOHCOO) <sub>3</sub> Ni <sup>-</sup>	

(aq): υποδεικνύει τη διαλυτή μορφή του αδιάστατου μορίου σε ισορροπία με τις ιοντικές μορφές

# Παράρτημα B

Πρωτογενή πειραματικά αποτελέσματα  
κύκλων δοκιμών I-IV

---



## Πρωτογενή πειραματικά αποτελέσματα κύκλου δοκιμών I

### Παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος στην είσοδο και έξοδο του Αντιδραστήρα I

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 5.2 (Σχήμα 5.1 - Σχήμα 5.5).

Πίνακας Β.1. Παρακολούθηση παραμέτρων ενδιαφέροντος στην είσοδο του Αντιδραστήρα I

Χρόνος d	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		mg/L	g/Ld	mg/L	g/Ld
0,00	4,07	1810	3,10		
0,93	3,97	1595	2,73		
1,85	3,85	1640	0,31		
2,08	3,81	1475	0,28		
4,88	3,79	1560	0,30		
5,83	3,78	1480	4,44		
6,04	3,95	1475	3,54		
6,88	3,89	1425	3,42	955	2,29
7,83	3,89	1540	3,70	940	2,26
9,04	4,01	1470	3,53		
11,94	4,04	1365	3,28		
12,04	4,06	1460	7,01		
12,94	3,85	1475	7,08		
13,04	3,96	1510	7,25		
13,94	3,84	1555	7,46		
13,98	3,87	1535	7,37		
23,00	4,22	1960	9,41	910	4,37
27,92	4,28	1780	4,27	985	2,36
28,00	3,97	1580	3,79		
28,92	3,70	1675	4,02		
29,88	3,67	1715	4,12		
30,04	3,80				
36,79	3,96	1840	7,36		
37,04	4,19	1720	5,16		
39,81	4,06	1705	5,12		
46,85	4,34	1605	4,28	725	1,93
47,06	4,50	1505	4,01		
47,79	3,82	1625	4,33	950	2,53
48,83	4,02	1735	4,63		
50,77	3,73	1830	21,96	980	11,76
54,81	3,89	1775	21,30		
55,83	3,70	1750	4,67		
57,92	3,68	2640	7,04		
61,81	3,95	3620	9,65	965	2,57
62,79	3,77	3020	36,24	975	11,70

Χρόνος d	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		mg/L	g/Ld	mg/L	g/Ld
63,98	3,82	3250	15,60		
64,81	3,73	2740	13,15	990	4,75
68,80	3,64	2860	7,63		
85,88	3,90	3550	9,47	740	1,97
89,92	3,74	3860	10,29	975	2,60
92,86	3,43	6920	18,45	1000	2,67
95,81	2,81	3260	8,69	450	1,20
110,83	4,94	3460	9,23		
145,83	4,84	2195	5,85	645	1,72
148,84	4,72	3770	10,05	700	1,87
152,82	3,54	3620	9,65	635	1,69
155,81	3,68	3620	9,65	725	1,93
158,88	3,85	3540	9,44	605	1,61
160,88	4,30	3540	9,44	1570	4,19
162,83	4,22	3580	9,55	1710	4,56
165,91	4,32	3770	10,05	1760	4,69
166,89	4,08	3420	9,12		
167,77	4,14	3420	9,12	840	2,24
209,88	3,51	1460	3,89		
210,83	3,08	1760	4,69		
211,83	3,40	1481	3,95		
214,82	3,82	1518	4,05		
215,83	3,90	1513	4,04		
216,88	3,80	1558	4,16		
217,83	3,66	1490	3,97	715	1,91
218,83	3,05	1586	4,23	670	1,79
221,83	3,45	2252	6,01		
222,85	3,33	1983	5,29		
223,83	3,54	1802	4,81	710	1,89
224,83	3,41	1705	4,55	805	2,15
225,92	4,14				
228,88	3,93				
229,81	3,82	5283	14,09	1660	4,43
230,85	4,32	3686	9,83	1740	4,64
235,88	4,10	3833	10,22	1510	4,03
236,81	4,05	3621	9,66	1380	3,68
239,83	4,56	5905	15,75		
242,81	4,76	5927	15,81	3120	8,32
243,81	4,82	7264	19,37	2920	7,79
246,81	3,88	1859	4,96	980	2,61
250,79	3,90	1903	5,08	975	2,60
256,83	3,15	1857	4,95	690	1,84
260,79	3,76	1686	4,50	990	2,64
279,88	3,65	1635	4,36		
285,83	4,20	1794	4,78		



Χρόνος d	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		mg/L	g/Ld	mg/L	g/Ld
286,83	3,54	1744	4,65		
287,83	3,50	1672	4,46		
291,83	3,45	1786	4,76	1000	2,67
292,79	3,75	2058	5,49	985	2,63
298,88	3,83	1696	4,52		
305,81	3,83	2259	6,02		
308,83	3,83	1712	4,57	995	2,65
309,83	4,18	1818	4,85	1005	2,68

*Πίνακας Β.2. Παρακολούθηση παραμέτρων ενδιαφέροντος στην έξοδο του Αντιδραστήρα Ι*

Χρόνος d	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		mg/L	g/Ld	mg/L	g/Ld
0,93	7,24	805	1,37		
1,85	7,75	545	0,21		
4,88	7,02	405	0,22		
5,83	6,78	760	2,07		
6,88	6,30	785	1,51	435	1,23
7,83	7,22	710	1,96	380	1,32
11,94	7,37	550	1,93		
12,94	7,04	515	4,42		
13,94	6,90	745	3,73		
23,00	7,06	980	4,52	0	4,19
27,92	7,62	250	3,53	120	1,99
28,92	8,20	150	3,51		
29,88	7,94	260	3,35		
36,79	7,84	245	6,34		
39,81	8,45	100	4,72		
46,85	7,29	110	4,13	430	0,82
47,79	7,00	200	3,94	370	1,60
48,83	7,16	0	4,80		
50,77	7,10	245	17,42	595	4,23
54,81	7,39	220	17,09		
55,83	7,40	70	4,65		
57,92	7,95	285	6,51		
61,81	8,05	340	9,07	100	2,39
62,79	7,03	1555	16,10	440	5,88
63,98	7,43	370	12,72		
64,81	7,55	295	10,80	275	3,16
68,80	7,86	100	7,63		
85,88	7,75	785	7,65	0	2,05
89,92	8,25	455	9,41	100	2,42
92,86	7,88	1605	14,70	120	2,43

Χρόνος d	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		mg/L	g/Ld	mg/L	g/Ld
95,81	7,73	1700	4,31	20	1,19
110,83	8,78	190	9,04		
145,83	8,28	255	5,36	55	1,63
148,84	8,02	1015	7,62	5	1,92
152,82	8,03	1215	6,65	0	1,76
155,81	8,00	1005	7,23	60	1,84
158,88	8,05	850	7,44	0	1,67
160,88	8,10	265	9,06	325	3,44
162,83	7,90	295	9,08	570	3,15
165,91	8,36	90	10,17	415	3,72
166,89	8,45	130	9,10		
167,77	7,40	180	8,96	405	1,20
209,88	6,98	573	2,45		
210,83	6,50	361	3,87		
211,83	7,77	322	3,20		
214,82	6,96	59	4,03		
215,83	8,11	572	2,60		
216,88	7,00	32	4,22		
217,83	7,35	110	3,82	0	1,98
218,83	7,12	24	4,32	65	1,67
221,83	7,90	67	6,04		
222,85	7,17	63	5,31		
223,83	7,69	0	4,98	110	1,66
224,83	8,06	45	4,59	105	1,94
225,92	7,74				
228,88	8,60				
229,81	7,84	4	14,60	65	4,41
230,85	8,30	751	8,12	390	3,73
235,88	8,17	10	10,57	75	3,97
236,81	8,21	58	9,85	25	3,75
239,83	8,61	20	16,27		
242,81	8,65	0	16,39	660	6,80
243,81	8,34	118	19,76	445	6,84
246,81	8,58	26	5,07	120	2,38
250,79	8,75	31	5,18	195	2,16
256,83	7,81	0	5,13	0	1,91
260,79	8,54	0	4,66	10	2,71
279,88	7,80	0	4,52		
285,83	7,55	853	2,60		
286,83	7,27	192	4,29		
287,83	6,35	642	2,85		
291,83	7,54	7	4,92	160	2,32
292,79	8,43	8	5,67	15	2,68
298,88	8,08	12	4,66		
305,81	7,47	1144	3,08		

Χρόνος d	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		mg/L	g/Ld	mg/L	g/Ld
308,83	7,93	7	4,71	175	2,27
309,83	8,30	0	5,03	70	2,59

**Παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος καθ' ύψος του Αντιδραστήρα Ι κατά τη μεταβολή του ρυθμού φόρτισης των θειικών ιόντων**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 5.3 (Σχήμα 5.6 - Σχήμα 5.8).

**Πίνακας Β.3. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 4-4,8 g/Ld**

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,66	3,05	3,54	3,41	3,42	0,264
10	6,26	6,56	6,09	5,01	5,98	0,675
20	6,98	7,01	6,79	6,02	6,70	0,464
50	7,22	7,21	7,34	7,35	7,28	0,075
80	7,39	7,15	7,38	7,52	7,36	0,154
90	7,35	7,12	7,69	8,06	7,56	0,410

**Πίνακας Β.4. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 4-4,8 g/Ld**

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1490,00	1586,00	1802,00	1705,00	1645,75	136,324
10	757,80	399,60	1175,00	1332,00	916,10	421,044
20	470,00	139,80	727,00	816,00	538,20	303,421
50	261,30	112,40	0,00	61,00	108,68	111,641
80	270,00	129,40	0,00	45,00	111,10	118,739
90	110,00	24,10	0,00	45,00	44,78	47,211

Πίνακας Β.5. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 4-4,8 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	715,00	670,00	710,00	805,00	725,00	57,009
10	575,00	365,00	525,00	575,00	510,00	99,499
20	305,00	165,00	215,00	320,00	251,25	73,866
50	145,00	100,00	115,00	75,00	108,75	29,262
80	195,00	95,00	75,00	125,00	122,50	52,520
90	0,00	65,00	110,00	105,00	70,00	50,827

Πίνακας Β.6. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 4-4,8 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	119,70	118,70	116,60	85,30	110,08	16,567
10	5,40	0,00	13,78	11,00	7,55	6,119
20	0,00	0,00	0,00	2,08	0,52	1,040
50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

Πίνακας Β.7. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 4-4,8 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	119,70	114,30	116,80	119,00	117,45	2,437
10	0,00	0,00	0,12	1,26	0,35	0,613
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

Πίνακας Β.8. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 9,6-10,3 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,82	4,32	4,10	4,05	4,07	0,205
10	7,42	7,87	6,85	6,73	7,22	0,529
20	7,58	8,18	7,16	7,27	7,55	0,458
50	8,05	8,29	7,84	7,89	8,02	0,203
80	7,80	8,33	7,92	7,94	8,00	0,230
90	7,84	8,30	8,17	8,21	8,13	0,201

Πίνακας Β.9. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 9,6-10,3 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3710,00	3686,00	3833,00	3621,00	3712,50	108,611
10	1647,00	1285,00	2361,00	2241,00	1883,50	589,648
20	924,00	843,00	1232,00	1099,00	1024,50	197,714
50	98,00	250,00	67,00	45,00	115,00	112,545
80	88,00	80,00	0,00	39,00	51,75	40,004
90	47,00	50,00	10,00	58,00	41,25	25,716

Πίνακας Β.10. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 9,6-10,3 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1660,00	1740,00	1510,00	1380,00	1543,33	182,300
10	200,00	460,00	760,00	800,00	673,33	185,831
20	140,00	430,00	285,00	370,00	361,67	72,858
50	80,00	390,00	65,00	70,00	175,00	186,212
80	60,00	385,00	35,00	80,00	166,67	190,416
90	65,00	390,00	15,00	25,00	143,33	213,678

Πίνακας Β.11. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων διοξειδίου σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 9,6-10,3 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	82,71	123,00	121,20	102,00	115,40	11,640
10	0,00	0,00	5,49	4,00	3,16	2,839
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

Πίνακας Β.12. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 9,6-10,3 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Πείραμα 4	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	100,10	84,00	71,96	74,00	76,65	6,444
10	0,00	0,00	0,30	0,00	0,10	0,173
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

Πίνακας Β.13. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 16-19,2 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	4,76	4,82	4,79	0,042
10	8,20	7,56	7,88	0,453
20	7,86	8,03	7,95	0,120
50	8,37	8,40	8,39	0,021
80	8,37	8,49	8,43	0,085
90	8,65	8,34	8,50	0,219

Πίνακας Β.14. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 16-19,2 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	5927,00	7264,00	6595,50	945,402
10	2800,00	4365,00	3582,50	1106,622
20	1408,00	1245,00	1326,50	115,258
50	0,00	118,00	59,00	83,439
80	0,00	64,00	32,00	45,255
90	0,00	12,00	6,00	8,485

Πίνακας Β.15. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 16-19,2 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3120,00	2920,00	3020,00	141,421
10	1005,00	1780,00	1392,50	548,008
20	980,00	610,00	795,00	261,630
50	690,00	260,00	475,00	304,056
80	640,00	285,00	462,50	251,023
90	660,00	300,00	480,00	254,558

Πίνακας Β.16. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 16-19,2 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	110,00	97,00	103,50	9,192
10	0,00	3,44	1,72	2,432
20	0,00	0,00	0,00	0,000
50	0,00	0,00	0,00	0,000
80	0,00	0,00	0,00	0,000
90	0,00	0,00	0,00	0,000

*Πίνακας Β.17. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης θειικών ιόντων 16-19,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	85,00	75,00	80,00	7,071
10	0,00	0,33	0,17	0,233
20	0,00	0,00	0,00	0,000
50	0,00	0,00	0,00	0,000
80	0,00	0,00	0,00	0,000
90	0,00	0,00	0,00	0,000

**Παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος καθ' ύψος του Αντιδραστήρα Ι κατά τη μεταβολή του ρυθμού φόρτισης των ιόντων ψευδαργύρου**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 5.4 (Σχήμα 5.10 - Σχήμα 5.13).

*Πίνακας Β.18. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,30 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,66	3,05	3,36	0,431
10	6,26	6,56	6,41	0,212
20	6,98	7,01	7,00	0,021
50	7,22	7,21	7,22	0,007
80	7,39	7,15	7,27	0,170
90	7,35	7,12	7,24	0,163

*Πίνακας Β.19. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,30 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1490,0	1586,0	1538,00	67,882
10	757,8	399,6	578,70	253,286
20	470,0	139,8	304,90	233,487
50	261,3	112,4	186,85	105,288
80	270,0	129,4	199,70	99,419
90	110,0	24,1	67,05	60,740



*Πίνακας Β.20. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,30 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	715	670	692,50	31,820
10	575	365	470,00	148,492
20	305	165	235,00	98,995
50	145	100	122,50	31,820
80	195	95	145,00	70,711
90	0	65	32,50	45,962

*Πίνακας Β.21. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,30 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	119,7	118,7	119,20	0,707
10	5,4	0,0	2,70	3,818
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.22. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,30 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	119,7	114,3	117,00	3,818
10	0,0	0,0	0,00	0,000
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

Πίνακας Β.23. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,50 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,88	3,90	3,89	0,014
10	6,94	7,01	6,98	0,049
20	7,18	7,21	7,20	0,021
50	8,01	8,25	8,13	0,170
80	8,12	8,28	8,20	0,113
90	8,58	8,75	8,67	0,120

Πίνακας Β.24. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,50 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1859	1903	1881,00	31,113
10	507	338	422,50	119,501
20	281	34	157,50	174,655
50	37	29	33,00	5,657
80	37	31	34,00	4,243
90	26	31	28,50	3,536

Πίνακας Β.25. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,50 g/Ld

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	980	975	977,50	3,536
10	525	595	560,00	49,497
20	365	380	372,50	10,607
50	80	150	115,00	49,497
80	85	165	125,00	56,569
90	120	195	157,50	53,033

*Πίνακας Β.26. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,50 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	107,1	101,4	104,25	4,031
10	2,2	1,9	2,04	0,219
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.27. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,50 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	187,1	184,7	185,90	1,697
10	4,2	3,2	3,70	0,771
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.28. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,65 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,15	3,76	3,46	0,431
10	6,46	6,28	6,37	0,127
20	6,75	6,99	6,87	0,170
50	7,48	7,90	7,69	0,297
80	7,51	7,90	7,71	0,276
90	7,81	8,54	8,18	0,516

*Πίνακας Β.29. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,65 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1857	1686	1771,50	120,915
10	121	580	350,50	324,562
20	0	12	6,00	8,485
50	0	0	0,00	0,000
80	0	0	0,00	0,000
90	0	0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.30. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,65 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	690	990	840,00	212,132
10	185	540	362,50	251,023
20	100	370	235,00	190,919
50	0	15	7,50	10,607
80	0	40	20,00	28,284
90	0	10	5,00	7,071

*Πίνακας Β.31. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,65 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	114,5	121,0	117,75	4,596
10	1,8	4,5	3,13	1,902
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.32. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,65 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	245,0	241,0	243,00	2,828
10	3,4	5,5	4,48	1,478
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.33. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,95 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,45	3,75	3,60	0,212
10	6,88	7,50	7,19	0,438
20	7,35	7,90	7,63	0,389
50	7,54	8,28	7,91	0,523
80	7,58	8,24	7,91	0,467
90	7,54	8,43	7,99	0,629

*Πίνακας Β.34. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,95 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1786	1920	1853,00	94,752
10	231	480	355,50	176,070
20	17	17	17,00	0,000
50	7	7	7,00	0,000
80	7	7	7,00	0,000
90	7	8	7,50	0,707

*Πίνακας Β.35. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,95 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1000	985	992,50	10,607
10	465	270	367,50	137,886
20	225	140	182,50	60,104
50	115	0	57,50	81,317
80	135	25	80,00	77,782
90	160	15	87,50	102,530

*Πίνακας Β.36. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,95 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	123,2	147,0	135,10	16,829
10	9,5	4,1	6,76	3,818
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

*Πίνακας Β.37. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων ψευδαργύρου 0,95 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	338,4	356,0	347,20	12,445
10	9,7	7,1	8,38	1,867
20	0,0	0,0	0,00	0,000
50	0,0	0,0	0,00	0,000
80	0,0	0,0	0,00	0,000
90	0,0	0,0	0,00	0,000

## Πρωτογενή πειραματικά αποτελέσματα κύκλου δοκιμών II

### *Παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος καθ' ύψος του Αντιδραστήρα II κατά τη μεταβολή του ρυθμού φόρτισης των ιόντων ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου*

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 6.2 (Σχήμα 6.1 - Σχήμα 6.3).

*Πίνακας Β.38. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων δισθενούς σιδήρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	4,00	4,01	4,26	4,09	0,147
15	6,45	6,49	6,78	6,57	0,180
30	6,51	6,53	6,81	6,62	0,168
45	6,67	6,67	7,04	6,79	0,214

*Πίνακας Β.39. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1530,73	1279,50	1310,91	1373,71	136,884
15	1113,92	936,92	851,27	967,37	133,946
30	1119,63	976,88	851,27	982,59	134,271
45	1099,64	919,79	845,56	955,00	130,648

*Πίνακας Β.40. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	81,2	79,36	85,59	82,05	3,201
15	1,0	0,74	1,42	1,04	0,348
30	0,8	0,64	0,91	0,78	0,136
45	0,4	0,37	0,57	0,45	0,106

*Πίνακας Β.41. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,91	3,74	3,88	3,84	0,091
15	6,42	6,24	5,54	6,07	0,465
30	6,50	6,42	6,06	6,33	0,234
45	6,66	6,68	6,39	6,58	0,162

*Πίνακας Β.42. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1385,13	1536,44	1416,54	1476,49	84,782
15	819,86	1039,69	1005,43	1022,56	24,225
30	751,35	996,87	805,59	901,23	135,255
45	885,53	994,01	899,80	946,91	66,617

*Πίνακας Β.43. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	87,24	94,89	89,63	90,59	3,719
15	0,51	2,46	22,59	8,52	14,234
30	0,42	0,77	1,39	0,86	0,438
45	1,35	3,24	3,72	2,77	0,339

*Πίνακας Β.44. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	77,89	73,99	77,37	76,42	2,390
15	0,11	0,25	0,15	0,17	0,071
30	0,14	0,20	0,15	0,16	0,035
45	0,55	0,09	0,45	0,36	0,255



*Πίνακας Β.45. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,70	3,56	3,75	3,67	0,098
15	5,01	6,05	5,85	5,64	0,552
30	5,35	6,10	5,86	5,77	0,383
45	5,52	6,10	5,96	5,86	0,303

*Πίνακας Β.46. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1456,51	1679,19	1593,54	1576,41	112,324
15	1119,63	1219,55	1079,66	1139,61	72,054
30	996,87	1222,41	1116,77	1112,02	112,845
45	1045,40	1268,08	1065,39	1126,29	123,200

*Πίνακας Β.47. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	375	390	380	381,67	7,638
15	185	193	190	189,33	4,041
30	182	191	190	187,67	4,933
45	180	190	190	186,67	5,774

*Πίνακας Β.48. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	77,58	80,10	88,95	82,21	5,971
15	58,54	5,49	11,34	25,12	29,087
30	36,13	3,97	9,00	16,37	17,299
45	30,02	6,72	9,40	15,38	12,749

*Πίνακας Β.49. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	89,63	95,40	97,04	94,02	3,892
15	0,36	0,16	0,30	0,27	0,103
30	0,22	0,20	0,25	0,22	0,025
45	0,38	0,32	0,29	0,33	0,046

*Πίνακας Β.50. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	38,10	41,00	42,48	40,53	2,228
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000

*Πίνακας Β.51. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων νικελίου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,1 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	40,19	41,45	48,46	43,37	4,456
15	15,73	0,32	0,89	5,65	8,737
30	2,78	0,18	0,51	1,16	1,415
45	0,94	0,67	0,99	0,87	0,172

*Πίνακας Β.52. Αποτελέσματα pH, ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,49	3,39	3,58	3,49	0,095
15	5,35	5,65	6,21	5,74	0,437
30	5,49	5,72	6,15	5,79	0,335
45	5,50	5,65	6,20	5,78	0,369

*Πίνακας Β.53. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1493,62	1553,57	1590,69	1545,96	48,980
15	1065,39	1122,48	1165,31	1117,73	50,129
30	1059,68	1171,02	1165,31	1132,00	62,699
45	1162,45	1262,37	1165,31	1196,71	56,881

*Πίνακας Β.54. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	295	311	305	303,67	8,083
15	80	100	95	91,67	10,408
30	78	97	95	90,00	10,440
45	78	97	95	90,00	10,440

*Πίνακας Β.55. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	79,97	78,38	87,35	81,90	4,786
15	38,69	35,81	19,78	31,43	10,189
30	32,90	33,95	18,66	28,50	8,541
45	34,23	34,09	18,60	28,97	8,984

*Πίνακας Β.56. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	78,12	83,86	78,72	80,23	3,155
15	0,32	0,18	1,95	0,82	0,984
30	0,17	0,25	0,08	0,17	0,085
45	0,35	0,14	0,00	0,16	0,176

*Πίνακας Β.57. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	87,61	84,81	97,82	90,08	6,848
15	0,16	0,06	1,92	0,71	1,046
30	0,10	0,09	0,07	0,09	0,015
45	0,14	0,10	0,00	0,08	0,072

*Πίνακας Β.58. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων νικελίου (mg/L), ρυθμός φόρτισης ιόντων σιδήρου και ψευδαργύρου 0,2 g/Ld και ρυθμός φόρτισης ιόντων χαλκού και νικελίου 0,2 g/Ld*

Απόσταση από τον πυθμένα (cm)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	76,50	86,56	80,54	81,20	5,062
15	6,95	2,32	2,54	3,94	2,612
30	4,00	1,56	0,86	2,14	1,648
45	4,02	1,46	0,00	1,83	2,035

### Πρωτογενή πειραματικά αποτελέσματα κύκλου δοκιμών III

#### Παρακολούθηση των παραμέτρων ενδιαφέροντος κατά τη διαδικασία προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 7.2 (Σχήμα 7.2, Σχήμα 7.4, Σχήμα 7.6 και Σχήμα 7.8).

Πίνακας Β.59. Αποτελέσματα pH και συγκέντρωσης θειικών ιόντων κατά τους κύκλους διαλείποντος έργου της διαδικασίας προσαρμογής σε αιθανόλη

Χρόνος (d)	pH			Θειικά ιόντα (mg/L)		
	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό	αρχικά	ενδιάμεσα	τελικά
7	6,94			1402		
9		7,26			1350	
13			7,46			
13	6,28			1702		
16		6,77			1090	
22			7,53			741
22	6,26			1944		
27		7,43			910	
29			7,65			
29	6,34			1571		
31		7,02			1103	
34			7,40			147
35	5,13			1756		
35		6,61			1598	
36		6,96			776	
36		7,04			762	
36		6,97			649	
37		7,22			561	
37		7,19			550	
38		7,33			518	
38		7,33			733	
41			7,48			810
41	5,11			1872		
42		7,09			878	
44		7,46			378	
45		7,65			96	
48			7,60			230
48	5,16			1831		
49		7,22			461	
50			7,59			300
50	5,08			1874		
52		7,40			1318	
55			7,32			1544
55	5,09			1845		
56		6,93			676	

Χρόνος (d)	pH			Θειικά ιόντα (mg/L)		
	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό	αρχικά	ενδιάμεσα	τελικά
57		7,22			370	
59			7,95			74
59	5,00			1780		
62			7,90			88
62	4,84			1901		
63			6,90			611
64	4,69			2895		
71			8,44			19
72	4,53			1893		
76			8,02			74
76	4,46			1998		
77		6,81			213	
78			7,25			19
78	3,94			2968		
83		6,12			295	
84		7,18			288	
85			8,35			62
85	4,06			2780		
86		6,27			835	
87		7,68			46	
90			7,98			19
90	4,22			1915		
91		7,14			309	
92			7,74			30
92	4,05			3129		
97			8,19			14
97	4,16			2017		
97		6,25			1638	
97		6,44			1504	
97		6,69			1324	
98		7,16			196	
98		7,19			62	
98		7,34			78	
98		7,31			68	
99			8,25			19
99	3,03			3062		
104			7,87			26
104	3,55			1993		
105		7,10			30	
106			7,52			36
106	3,46			1544		
106		5,57			1619	
106		6,04			1246	
106		6,28			921	
107		7,01			544	

Χρόνος (d)	pH			Θειικά ιόντα (mg/L)		
	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό	αρχικά	ενδιάμεσα	τελικά
107		7,01			105	
107		7,06			62	
107		7,14			25	
108			7,51			19
108	3,26			1966		
111			7,57			406
111	3,56			2006		
114			7,36			422
114	3,54			1944		
114		5,04			1751	
114		5,67			1544	
114		6,01			1458	
115		7,00			514	
115		7,04			503	
115			7,10			503
115	3,12			3108		

*Πίνακας Β.60. Αποτελέσματα συγκέντρωσης οργανικού άνθρακα κατά τους κύκλους διαλείποντος έργου της διαδικασίας προσαρμογής σε αιθανόλη*

Χρόνος (d)	Ολικός οργανικός άνθρακας (mg/L)			Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (mg/L)		
	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό
13	935					
16		465				
22			300			
22	865					
27						
29			95			
29	770					
31		565				
34			230			
35				1950		
35					1275	
36					1250	
36					1250	
36					1325	
37					1300	
37					725	
38					500	
38					475	
41						150
41				2000		
42					850	

Χρόνος (d)	Ολικός οργανικός άνθρακας (mg/L)			Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (mg/L)		
	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό
44					225	
45					60	
48						37
48				2175		
49					950	
50						580
50				2175		
52					100	
55						200
55				2225		
56					975	
57					575	
59						100
59				2000		
62						275
62				2225		
63						1200
64				4080		
71						90
72				2120		
76						80
76				2110		
77					870	
78						450
78				4050		
83					1510	
84					800	
85						290
85				4180		
86					2470	
87					1530	
90						0
90				2120		
91					850	
92						290
92				4200		
97						190
97				2200		
97					1820	
97					1640	
97					1440	
98					670	
98					710	
98					510	
98					570	



Χρόνος (d)	Ολικός οργανικός άνθρακας (mg/L)			Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (mg/L)		
	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό	αρχικό	ενδιάμεσο	τελικό
99						180
99				4250		
104			33			
104	525					
105						
106						
106	445					
106		390				
106		308				
106		318				
107		148				
107		113				
107		90				
107		80				
108			22			
108	313					
111			18			
111	345					
114			1			
114	315					
114		180				
114		175				
114		213				
115		98				
115		93				
115			88			
115	493					

Πίνακας Β.61. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου κατά τους κύκλους διαλείποντος έργου της διαδικασίας προσαρμογής σε αιθανόλη

Χρόνος (d)	Σίδηρος (mg/L)			Ψευδάργυρος (mg/L)			Χαλκός (mg/L)			Νικέλιο (mg/L)		
	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.
35	65,2											
35		18,1										
36		0,2										
36		0,2										
36		0,1										
37		0,2										
37		0,1										
38		0,1										
38		0,2										
41			0,2									
41	93,1											

Χρόνος (d)	Σίδηρος (mg/L)			Ψευδάργυρος (mg/L)			Χαλκός (mg/L)			Νικέλιο (mg/L)		
	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.
42		0,2										
44		0,2										
45		0,2										
48			0,2									
48	98,9											
49		0,2										
50			0,2									
50	127,9											
52		0,9										
55			0,7									
55	137,0											
56		0,8										
57		0,5										
59			0,6									
59	119,5											
62			0,7									
62	122,6											
63			3,6									
64	196,7											
71			0,0									
72	88,3											
76			0,0									
76	93,8											
77		0,0										
78			0,0									
78	158,4											
83		0,0										
84		0,0										
85			0,0									
85	21,0											
86		0,0										
87		0,0										
90			0,0									
90	112,4											
91		0,0										
92			0,0									
92	200,2											
97			0,0									
97	176,9											
97		40,2										
97		0,3										
97		0,0										
98		0,0										
98		0,0										
98		0,0										

Χρόνος (d)	Σίδηρος (mg/L)			Ψευδάργυρος (mg/L)			Χαλκός (mg/L)			Νικέλιο (mg/L)		
	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.	αρχ.	ενδ.	τελ.
98		0,0										
99			0,0									
99	186,4			168,1			93,4			175,0		
104			0,0			0,0			0,0			0,0
104	95,6			55,5			66,0			51,1		
105		0,0			0,0			0,0			0,0	
106			0,0			0,0			0,0			0,0
106	112,2			108,1			71,3			112,3		
106		19,5			4,1			0,0			40,1	
106		10,7			0,0			0,0			4,5	
106		0,7			0,0			0,0			0,0	
107		0,0			0,0			0,0			0,0	
107		0,0			0,0			0,0			0,0	
107		0,0			0,0			0,0			0,0	
107		0,0			0,0			0,0			0,0	
108			0,0			0,0			0,0			0,0
108	93,4			87,9			67,9			88,4		
111			0,0			0,0			0,0			0,0
111	108,5			99,5			73,5			105,7		
114			0,0			0,0			0,0			0,0
114	101,8			110,7			65,7			103,7		
114		23,1			35,3			0,0			57,1	
114		16,1			0,4			0,0			32,1	
114		11,8			0,0			0,0			10,6	
115		0,0			0,0			0,0			0,0	
115		0,0			0,0			0,0			0,0	
115			0,0			0,0			0,0			0,0
115	198,1			222,0			92,5			186,7		

**Κινητική μελέτη σε επιλεγμένες φάσεις της διαδικασίας προσαρμογής του μικροβιακού πληθυσμού σε αιθανόλη**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 7.2 (Σχήμα 7.3, Σχήμα 7.5, Σχήμα 7.7 και Σχήμα 7.9).

**Πίνακας Β.62. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με γαλακτικό ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:1,11$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου  $0,1 \text{ g/L}$**

Χρόνος (d)	pH	Θειικά ιόντα		Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο		Σίδηρος (II) (mg/L)
		(mg/L)	C/C <sub>0</sub>	(mg/L)	C/C <sub>0</sub>	
0,000	5,11	1872	1,000	2000	1,000	93,07
1,000	7,09	878	0,469	850	0,425	0,19
2,896	7,46	378	0,202	225	0,113	0,17
4,000	7,65	96	0,051	60	0,030	0,15
7,000	7,60	50	0,027	37	0,018	0,23

**Πίνακας Β.63. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:1,11$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου  $0,1 \text{ g/L}$**

Χρόνος (d)	pH	Θειικά ιόντα		Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο		Σίδηρος (II) (mg/L)
		(mg/L)	C/C <sub>0</sub>	(mg/L)	C/C <sub>0</sub>	
0,000	4,16	2017	1,000	2200	1,000	176,90
0,083	6,25	1638	0,812	1820	0,827	40,20
0,167	6,44	1504	0,746	1640	0,745	0,30
0,250	6,69	1324	0,656	1440	0,655	0,00
0,990	7,16	196	0,097	670	0,305	0,00
1,073	7,19	62	0,031	710	0,323	0,00
1,156	7,34	78	0,039	510	0,232	0,00
1,240	7,31	68	0,033	570	0,259	0,00
2,000	8,25	19	0,010	180	0,082	0,00

Πίνακας Β.64. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:1,11$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L

Χρόνος (d)	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		(mg/L)	C/C <sub>0</sub>	(mg/L)	C/C <sub>0</sub>
0,000	3,46	1800	1,000	445	1,000
0,083	5,57	1619	0,900	390	0,876
0,167	6,04	1246	0,692	308	0,691
0,229	6,28	921	0,511	318	0,713
0,979	7,01	544	0,302	148	0,331
1,063	7,01	105	0,058	113	0,253
1,146	7,06	62	0,035	90	0,202
1,229	7,14	25	0,014	80	0,180
2,021	7,51	19	0,011	22	0,049

Πίνακας Β.65. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:1,11$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L (συνέχεια)

Χρόνος (d)	Δισθενής σίδηρος (mg/L)	Ψευδάργυρος (mg/L)	Χαλκός (mg/L)	Νικέλιο (mg/L)
0,000	112,20	108,10	71,25	112,30
0,083	19,52	4,14	0,00	40,12
0,167	10,73	0,00	0,00	4,52
0,229	0,69	0,00	0,00	0,00
0,979	0,00	0,00	0,00	0,00
1,063	0,00	0,00	0,00	0,00
1,146	0,00	0,00	0,00	0,00
1,229	0,00	0,00	0,00	0,00
2,021	0,00	0,00	0,00	0,00

Πίνακας Β.66. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L

Χρόνος (d)	pH	Θειικά ιόντα		Ολικός οργανικός άνθρακας	
		(mg/L)	C/C <sub>0</sub>	(mg/L)	C/C <sub>0</sub>
0,000	3,54	1944	1,000	315	1,000
0,073	5,04	1751	0,901	180	0,571
0,156	5,67	1544	0,794	175	0,556
0,229	6,01	1458	0,750	213	0,675
0,990	7,00	514	0,264	98	0,310
1,073	7,04	503	0,259	93	0,294
1,135	7,10	503	0,259	88	0,278

Πίνακας Β.67. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L (συνέχεια)

Χρόνος (d)	Δισθενής σίδηρος (mg/L)	Ψευδάργυρος (mg/L)	Χαλκός (mg/L)	Νικέλιο (mg/L)
0,000	101,80	110,70	65,67	103,70
0,073	23,08	35,34	0,00	57,10
0,156	16,05	0,38	0,00	32,08
0,229	11,81	0,00	0,00	10,60
0,990	0,00	0,00	0,00	0,00
1,073	0,00	0,00	0,00	0,00
1,135	0,00	0,00	0,00	0,00

**Κινητική μελέτη κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα III με αιθανόλη σε στοιχειομετρική αναλογία και ιόντα μετάλλων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 7.3 (Σχήμα 7.10 - Σχήμα 7.14).

**Πίνακας Β.68. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα pH**

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,09	3,13	3,04	3,09	0,045
4,83	6,14	6,21	6,08	6,14	0,067
27,33	6,78	6,85	6,71	6,78	0,070
48,33	6,83	6,92	6,74	6,83	0,092
51,33	6,94	7,00	6,88	6,94	0,058
72,33	7,32	7,38	7,25	7,32	0,065

**Πίνακας Β.69. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων ( $\text{mg/L}$ )**

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1968	1985	1952	1968	16,120
4,83	1469	1520	1417	1469	51,310
27,33	568	612	525	568	43,686
48,33	446	497	395	446	51,198
51,33	343	386	300	343	42,828
72,33	200	231	169	200	31,000

**Πίνακας Β.70. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα ( $\text{mg/L}$ )**

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	400	423	377	400	23,000
4,83	305	331	279	305	26,000
27,33	160	173	147	160	13,000
48,33	106	124	88	106	18,000
51,33	74	96	52	74	22,000
72,33	24	10	38	24	14,000

Πίνακας Β.71. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης αιθανόλης ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	575	560	590	575	15,000
4,83	338	324	352	338	14,000
27,33	134	111	157	134	23,000
48,33	55	78	32	55	23,000
51,33	42	21	63	42	21,000
72,33	0	0	0	0	

Πίνακας Β.72. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης οξικών ιόντων ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	0	0	0	0	
4,83	59	69	49	59	10,000
27,33	62	71	53	62	9,000
48,33	66	74	58	66	8,000
51,33	58	66	50	58	8,000
72,33	8	15	1	8	7,000

Πίνακας Β.73. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	9,81	103,10	96,52	99,81	3,290
4,83	16,41	14,00	18,82	16,41	2,410
27,33	0,06	0,00	0,06	0,06	0,057
48,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
51,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
72,33	0,00	0,00	0,00	0,00	



Πίνακας Β.74. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	95,07	105,10	85,04	95,07	10,030
4,83	0,00	0,00	0,00	0,00	
27,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
48,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
51,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
72,33	0,00	0,00	0,00	0,00	

Πίνακας Β.75. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	89,07	95,00	83,14	89,07	5,930
4,83	0,00	0,00	0,00	0,00	
27,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
48,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
51,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
72,33	0,00	0,00	0,00	0,00	

Πίνακας Β.76. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,1 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων νικελίου ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	83,81	95,00	72,62	83,81	11,190
4,83	19,52	12,88	26,16	19,52	6,640
27,33	0,05	0,00	0,09	0,05	0,047
48,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
51,33	0,00	0,00	0,00	0,00	
72,33	0,00	0,00	0,00	0,00	

Πίνακας Β.77. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,2 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα pH

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,36	3,42	3,30	3,36	0,061
23,75	6,51	6,58	6,44	6,51	0,072
27,25	6,55	6,61	6,49	6,55	0,060
72,25	7,35	7,37	7,32	7,35	0,023
75,25	7,27	7,39	7,15	7,27	0,120
96,25	7,49	7,52	7,45	7,49	0,035

Πίνακας Β.78. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,2 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	2269	2248	2291	2269	21,311
23,75	645	620	670	645	25,152
27,25	694	680	707	694	13,511
72,25	401	344	457	401	56,667
75,25	361	300	423	361	61,442
96,25	368	293	443	368	74,889

Πίνακας Β.79. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,2 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	445,00	430,00	460,00	445,00	15,000
23,75	120,00	100,00	140,00	120,00	20,000
27,25	130,00	107,00	153,00	130,00	23,000
72,25	3,00	15,00	10,00	9,33	6,028
75,25	5,00	15,00	9,00	9,67	5,033
96,25	12,00	15,00	9,00	12,00	3,000

*Πίνακας Β.80. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>:0,67 και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,2 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης αιθανόλης (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	680	671	689	680	9,000
23,75					
27,25	139	120	158	139	19,000
72,25	0	0	0	0	
75,25	0	0	0	0	
96,25	0	0	0	0	

*Πίνακας Β.81. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>:0,67 και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,2 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης οξικών ιόντων (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	0	0	0	0	
23,75					
27,25	93	105	81	93	12,000
72,25					
75,25	75	84	66	75	9,000
96,25	12	20	4	12	8,000

*Πίνακας Β.82. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>:0,67 και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,2 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	203,20	198,00	208,40	203,20	5,200
23,75	0,24	0,00	0,49	0,24	0,244
27,25	1,54	0,00	3,09	1,54	1,543
72,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
75,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
96,25	0,00	0,00	0,00	0,00	

Πίνακας Β.83. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,2 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	220,50	205,00	236,00	220,50	15,500
23,75	0,24	0,00	0,49	0,24	0,244
27,25	0,46	0,00	0,92	0,46	0,461
72,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
75,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
96,25	0,00	0,00	0,00	0,00	

Πίνακας Β.84. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,2 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	185,00	197,90	172,10	185,00	12,900
23,75	0,00	0,00	0,00	0,00	
27,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
72,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
75,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
96,25	0,00	0,00	0,00	0,00	

Πίνακας Β.85. Κινητική μελέτη με αιθανόλη ως πηγή άνθρακα/ηλεκτρονίων σε αναλογία  $COD/SO_4^{2-}:0,67$  και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου  $0,2 \text{ g/L}$ . Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων νικελίου ( $\text{mg/L}$ )

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	185,00	196,00	174,00	185,00	11,000
23,75	0,00	0,00	0,00	0,00	
27,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
72,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
75,25	0,00	0,00	0,00	0,00	
96,25	0,00	0,00	0,00	0,00	

## Πρωτογενή πειραματικά δεδομένα κύκλου δοκιμών IV

### Κινητική μελέτη κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[E] με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων των ενοτήτων 8.2 και 8.3 (Σχήμα 8.1 - Σχήμα 8.5) για τον Αντιδραστήρα IV-[E].

Πίνακας Β.86. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα pH

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,34	3,59	3,51	3,48	0,131
2	6,12	6,15	6,08	6,12	0,031
4	6,50	6,62	6,38	6,50	0,122
6	6,69	6,80	6,63	6,70	0,085
8	6,84	6,88		6,86	0,032
10	6,97	6,90		6,93	0,047
12	6,99	7,01		7,00	0,013
14	7,02	7,15		7,08	0,092
16	7,02	7,10		7,06	0,058
18	7,05	7,10		7,08	0,035
20	7,07	7,10		7,09	0,021
24	7,20	7,10	6,99	7,10	0,108
26	7,17	7,06	6,99	7,07	0,091
28	7,09	7,13	7,03	7,08	0,055
30	7,10	7,15	7,00	7,08	0,080

*Πίνακας Β.87. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1904	1896	1877	1892	13,897
2	1406	1241	1227	1291	99,516
4	1067	910	886	954	98,529
6	826	780	600	735	119,487
8	703	746		725	30,639
10	343	562		452	155,111
12	371	318		345	37,342
14	225	134		180	64,151
16	186	152		169	23,795
18	157	148		153	6,483
20	182	135		159	33,548
24	56	71	57	61	8,091
26	43	67	49	53	12,289
28	100	30	52	60	35,900
30	90	31	33	51	33,432

*Πίνακας Β.88. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	435	505	545	495	55,678
2	230	290	370	297	70,238
4	210	210	300	240	51,962
6		190	280	235	63,640
8	118	198		158	56,569
10	110	138		124	19,445
12	140	113		126	19,445
14	185	95		140	63,379
16	42	70		56	19,799
18	48	30		39	12,535
20	30	30		30	0,168
24	15	65		40	35,355
26	20	42		31	15,321
28	20	37		28	11,785
30	25	20		23	3,536

Πίνακας Β.89. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης αιθανόλης (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	756	819		787	44,025
2	313	368		340	38,590
4	250	147		198	72,983
6	128	82		105	32,481
8	71	100		85	21,081
10	26	54		40	20,039
12	34	26		30	5,185
14	26	14		20	8,811
16	29	15		22	9,698
18	13	12		12	0,654
20	14	11		12	1,772
24	5	0		3	3,556
26	0	0		0	0,000
28	32	0		16	22,696
30	18	0		9	12,713

Πίνακας Β.90. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης οξικών ιόντων (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	0	0		0	0,000
2	166	178		172	8,202
4	241	250		246	6,364
6	185	250		218	34,104
8	148	200		174	36,416
10	160	220		190	42,426
12	239	276		257	25,825
14	203	203		203	0,246
16	133	180		156	33,340
18	102	150		126	33,616
20	107	120		114	9,192
24	99	100		100	0,616
26	100	120		110	14,142
28	117	130		124	9,013
30	78	90		84	8,813

*Πίνακας Β.91. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	99,05	76,98	80,46	85,50	11,866
2	2,13	2,29	4,35	2,92	1,240
4	1,10	0,87	3,07	1,68	1,210
6	1,58	0,78	1,46	1,27	0,433
8	1,21	2,01		1,61	0,564
10	1,14	1,35		1,24	0,144
12	0,73	1,02		0,88	0,203
14	0,81	1,22		1,02	0,289
16	0,82	1,11		0,96	0,205
18	0,76	0,93		0,85	0,117
20	0,78	0,82		0,80	0,030
24	0,76	0,71	0,71	0,73	0,031
26	0,72	0,69	0,86	0,76	0,091
28	0,93	0,72	0,70	0,78	0,126
30	0,74	0,66	0,65	0,69	0,046

*Πίνακας Β.92. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	95,30	122,90	99,67	105,96	14,835
2	0,55	1,85	1,22	1,21	0,650
4	0,37	0,48	0,26	0,37	0,109
6	0,26	0,29	0,13	0,23	0,087
8	0,52	1,95		1,24	1,013
10	0,25	0,51		0,38	0,188
12	0,24	0,20		0,22	0,023
14	0,21	0,19		0,20	0,010
16	0,23	0,24		0,23	0,010
18	0,72	0,34		0,53	0,267
20	0,18	0,28		0,23	0,071
24	0,31	0,30	0,09	0,23	0,126
26	0,19	0,24	1,06	0,50	0,488
28	1,07	0,41	0,09	0,52	0,499
30	0,18	1,11	0,18	0,49	0,535



Πίνακας Β.93. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	119,70	125,50	114,20	119,80	5,651
2	0,48	0,71	0,27	0,49	0,223
4	0,43	0,34	0,23	0,33	0,101
6	0,39	0,32	0,20	0,30	0,098
8	0,37	1,95		1,16	1,119
10	0,40	0,41		0,40	0,008
12	0,36	0,36		0,36	0,004
14	0,34	0,33		0,33	0,005
16	0,31	0,35		0,33	0,026
18	0,32	0,37		0,34	0,035
20	0,45	0,34		0,40	0,079
24	0,31	0,38		0,34	0,050
26	0,32	0,35		0,34	0,027
28	0,37	0,38		0,37	0,006
30	0,32	0,34		0,33	0,013

Πίνακας Β.94. Κινητική μελέτη με αιθανόλη σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων νικελίου (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	116,50	84,56	112,40	104,49	17,378
2	25,24	23,22	21,57	23,34	1,838
4	2,56	1,40	3,88	2,61	1,243
6	1,84	1,38	1,32	1,51	0,284
8	1,49	1,57		1,53	0,056
10	1,41	1,70		1,56	0,204
12	1,19	1,38		1,28	0,135
14	1,37	1,16		1,26	0,148
16	1,46	1,05		1,25	0,287
18	1,24	1,01		1,12	0,160
20	1,22	0,97		1,09	0,174
24	1,09	0,94	0,89	0,98	0,105
26	1,04	0,87	1,22	1,04	0,170
28	1,51	1,00	0,96	1,15	0,306
30	1,21	0,95	0,99	1,05	0,137

**Κινητική μελέτη κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[L] με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων των ενοτήτων 8.2 και 8.3 (Σχήμα 8.1 - Σχήμα 8.4 και Σχήμα 8.6) για τον Αντιδραστήρα IV-[L].

**Πίνακας Β.95. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα pH**

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,63	3,64	3,69	3,65	0,033
2	5,90	5,76	5,99	5,88	0,115
4	6,34	6,27	6,45	6,36	0,090
6	6,54	6,36	6,63	6,51	0,136
8	6,67	6,67		6,67	0,002
10	6,74	6,60		6,67	0,098
12	6,87	6,71		6,79	0,120
14	6,84	6,80		6,82	0,033
16	6,85	6,82		6,84	0,024
18	6,91	6,88		6,90	0,023
20	6,92	6,89		6,91	0,024
24	7,07	7,01	7,10	7,06	0,049
26	7,08	7,00	7,12	7,07	0,058
28	7,10	7,04	7,14	7,09	0,053
30	7,11	7,03	7,14	7,09	0,060

**Πίνακας Β.96. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L)**

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1934	1834	1752	1840	90,888
2	1344	1219	1100	1221	121,775
4	975	604	750	776	186,920
6	859	818	639	772	116,702
8	779	776		777	1,915
10	722	772		747	35,427
12	509	700		605	135,004
14	477	599		538	86,173
16	421	450		436	20,322
18	270	315		292	32,100
20	330	200		265	91,632
24	175	80	253	170	86,352
26	137	61	185	128	62,843
28	106	56	113	92	30,961
30	52	41	61	51	9,944

Πίνακας Β.97. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	880	865	665	803	120,035
2	490	455	355	433	70,059
4	395	330	235	320	80,467
6	388	338	260	328	64,242
8	275	305		290	21,213
10	213	283		248	49,497
12	180	283		231	72,478
14	165	223		194	40,659
16	168	200		184	22,981
18	123	180		151	40,659
20	118	150		134	22,392
24	53	85	52	63	18,782
26	50	83	63	66	16,777
28	63	63	50	59	7,698
30	37	50	35	41	8,221

Πίνακας Β.98. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης οξικών ιόντων (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	0	0	0	0	
2	218	166	210	198	27,981
4	250	170	213	211	40,274
6	282	186	218	229	49,126
8	180	200	250	210	36,056
10	220	250	280	250	30,000
12	240	250	245	245	5,000
14	234	300	280	271	33,843
16	231	250		241	13,090
18	196	190	180	189	8,101
20	176	175	160	170	8,919
24	100	150	150	133	28,868
26	90	100	100	97	5,774
28	80	80	94	85	8,270
30	80	70	83	78	6,698

*Πίνακας Β.99. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα υπολογισμού συγκέντρωσης γαλακτικών ιόντων (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	2200	2163	1663	2008	300,087
2	1007	972	678	885	180,896
4	738	655	374	589	190,621
6	686	658	432	592	139,287
8	508	563		535	38,891
10	311	456		384	102,530
12	210	456		333	174,125
14	179	256		217	54,978
16	187	250		219	44,362
18	110	260		185	105,917
20	120	200		160	56,588
24	33	63		48	20,624
26	35	108		72	51,854
28	78	78		78	0,000
30	12	55		33	30,641

*Πίνακας Β.100. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	111,40	78,54	89,55	93,16	16,725
2	12,29	2,02	6,66	6,99	5,142
4	3,61	1,59	1,84	2,35	1,102
6	1,59	0,98	0,97	1,18	0,355
8	1,55	1,06		1,31	0,342
10	1,85	1,20		1,53	0,457
12	0,83	1,55		1,19	0,506
14	1,45	1,65		1,55	0,146
16	0,81	0,97		0,89	0,112
18	0,82	0,88		0,85	0,046
20	0,85	0,76		0,80	0,062
24	0,76	0,70	0,50	0,65	0,135
26	0,88	0,67	0,70	0,75	0,117
28	0,74	0,67	0,91	0,77	0,120
30	0,76	0,65	0,70	0,70	0,054

*Πίνακας Β.101. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	118,40	113,50	102,90	111,60	7,923
2	2,75	4,37	8,84	5,32	3,154
4	0,26	0,28	0,24	0,26	0,023
6	0,18	0,18	0,25	0,20	0,040
8	0,27	0,36		0,32	0,066
10	0,20	0,22		0,21	0,016
12	0,27	0,24		0,26	0,020
14	0,73	0,65		0,69	0,050
16	0,17	0,51		0,34	0,243
18	0,38	0,41		0,40	0,019
20	0,17	0,35		0,26	0,125
24	0,18	0,19	0,15	0,18	0,022
26	0,17	0,27	0,20	0,22	0,047
28	0,42	0,21	0,18	0,27	0,131
30	0,30	0,26	0,23	0,26	0,035

*Πίνακας Β.102. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	110,50	100,80	108,20	106,50	5,069
2	0,47	0,58	0,75	0,60	0,144
4	0,34	0,39	0,42	0,38	0,038
6	0,35	0,36	0,35	0,35	0,003
8	0,29	0,61		0,45	0,220
10	0,34	0,39		0,36	0,036
12	0,38	0,34		0,36	0,030
14	0,56	0,27		0,42	0,208
16	0,30	0,23		0,26	0,048
18	0,30	0,21		0,25	0,061
20	0,38	0,21		0,30	0,121
24	0,33	0,38	0,31	0,34	0,036
26	0,35	0,37	0,42	0,38	0,035
28	0,36	0,33	0,34	0,34	0,016
30	0,34	0,32	0,40	0,35	0,040

Πίνακας Β.103. Κινητική μελέτη με γαλακτικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L.  
Αποτελέσματα συγκέντρωσης νικελίου (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	122,80	118,70	91,63	111,04	16,937
2	47,84	37,33	27,43	37,53	10,207
4	2,87	17,40	0,93	7,07	9,001
6	1,51	1,70	0,69	1,30	0,537
8	1,60	1,73		1,66	0,095
10	1,54	1,71		1,63	0,119
12	1,44	1,25		1,35	0,139
14	2,21	1,14		1,67	0,754
16	1,18	1,12		1,15	0,043
18	1,23	1,10		1,16	0,090
20	1,19	1,14		1,17	0,036
24	1,15	1,08	0,33	0,85	0,455
26	1,19	1,13	0,78	1,03	0,221
28	1,22	0,94	0,58	0,91	0,322
30	1,19	0,92	0,73	0,95	0,232

**Κινητική μελέτη κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[A] με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58%**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων των ενοτήτων 8.2 και 8.3 (Σχήμα 8.1 - Σχήμα 8.4 και Σχήμα 8.7) για τον Αντιδραστήρα IV-[A].

*Πίνακας Β. 104. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα pH*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	3,50	3,58	3,45	3,51	0,063
2	4,59	4,54	4,51	4,55	0,043
4	4,73	4,76	4,67	4,72	0,047
6	4,89	4,88	4,85	4,87	0,020
8	5,12	5,04		5,08	0,062
10	5,57	5,26		5,42	0,220
12	5,41	5,51		5,46	0,069
14	5,55	5,80		5,67	0,172
16	5,78	5,82		5,80	0,032
18	6,02	6,12		6,07	0,071
20	6,08	6,20		6,14	0,088
24	6,53	6,58	6,39	6,50	0,095
26	6,58	6,64	6,53	6,58	0,052
28	6,78	6,69	6,55	6,67	0,116
30	6,80	6,74	6,58	6,71	0,112

*Πίνακας Β. 105. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης θειικών ιόντων (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1877	1893	1831	1867	32,309
2	1403	1479	1400	1427	44,704
4	1319	1338	1062	1240	154,301
6	1054	1224	837	1038	194,088
8	1086	1184		1135	68,938
10	807	1035		921	160,856
12	911	859		885	37,240
14	852	637		744	152,137
16	687	600		643	61,277
18	775	650		712	88,158
20	738	700		719	26,951
24	489	509	470	489	19,860
26	449	469	415	444	26,915
28	413	370	379	387	22,350
30	391	358	340	363	25,618

*Πίνακας Β.106. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ολικού οργανικού άνθρακα (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	850	875	690	805	100,374
2	565	565	450	527	66,395
4	520	480	410	470	55,678
6		480	390	435	63,640
8	475	410		443	45,962
10	450	400		425	35,355
12	420	410		415	7,071
14	407	350		378	40,026
16	298	300		299	1,768
18	216	270		243	38,206
20	212	265		239	37,315
24	220	252	215	229	19,884
26	153	212	193	186	29,786
28	106	168	173	149	37,379
30	155	165	152	157	6,939

*Πίνακας Β.107. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης οξικών ιόντων (mg/L)*

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	1593	1359	1600	1517	137,049
2	1000	1100	1043	1048	50,167
4	790	770	780	780	10,188
6	692	700	715	702	12,004
8	764	750	700	738	33,649
10	680	600		640	56,569
12	640	550	580	590	45,858
14	680	600		640	56,569
16	733	731	735	733	2,000
18	540	560	580	560	20,039
20	531	540		535	6,666
24	466	470	551	496	47,791
26	384	306	450	380	71,905
28	266	300	403	323	71,600
30	200	250	220	223	25,166



Πίνακας Β.108. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων δισθενούς σιδήρου (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	75,00	72,35	78,00	75,12	2,827
2	14,73	8,07	13,73	12,18	3,593
4	7,20	4,59	12,52	8,10	4,041
6	5,61	5,02	9,96	6,86	2,699
8	4,80	13,17	8,75	8,91	4,187
10	4,65	11,00	7,74	7,80	3,175
12	6,49	9,06		7,77	1,821
14	5,21	6,66		5,93	1,024
16	4,45	5,49		4,97	0,735
18	2,24	3,29		2,76	0,745
20	2,12	2,94		2,53	0,578
24	0,79	0,74	1,18	0,91	0,241
26	0,75	1,11	1,30	1,05	0,279
28	0,72	0,69	1,47	0,96	0,442
30	0,52	0,66	0,85	0,68	0,167

Πίνακας Β.109. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων ψευδαργύρου (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	84,69	105,20	87,27	92,39	11,171
2	23,54	42,09	25,84	30,49	10,112
4	0,58	17,54	3,35	7,16	9,100
6	0,47	0,69	0,38	0,51	0,161
8	0,23	0,79		0,51	0,391
10	0,18	0,39		0,29	0,150
12	0,19	0,41		0,30	0,154
14	0,18	0,22		0,20	0,030
16	0,25	0,22		0,23	0,021
18	0,28	0,22		0,25	0,042
20	0,17	0,22		0,20	0,033
24	0,32	0,23	0,09	0,21	0,115
26	0,16	0,24	0,08	0,16	0,081
28	0,34	0,24	0,15	0,24	0,095
30	0,21	0,19	0,12	0,17	0,047

Πίνακας Β.110. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων χαλκού (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	108,80	116,80	86,73	104,11	15,574
2	0,52	1,04	1,73	1,10	0,607
4	0,37	0,37	0,21	0,31	0,093
6	0,35	0,43	0,18	0,32	0,127
8	0,32	0,97		0,64	0,458
10	0,31	0,38		0,35	0,054
12	0,30	0,37		0,33	0,047
14	0,28	0,34		0,31	0,042
16	0,32	0,34		0,33	0,016
18	0,57	0,34		0,46	0,160
20	0,31	0,34		0,33	0,022
24	0,30	0,38	0,22	0,30	0,084
26	0,28	0,62	0,21	0,37	0,218
28	0,28	0,35	0,35	0,33	0,040
30	0,22	0,35	0,20	0,26	0,081

Πίνακας Β.111. Κινητική μελέτη με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 58% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L. Αποτελέσματα συγκέντρωσης ιόντων νικελίου (mg/L)

Χρόνος (h)	Πείραμα 1	Πείραμα 2	Πείραμα 3	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
0	79,24	115,90	78,30	91,15	21,442
2	49,20	64,61	52,30	55,37	8,151
4	31,05	48,56	24,00	34,54	12,646
6	27,96	32,47	16,24	25,56	8,378
8	12,22	12,81		12,52	0,417
10	3,99	8,97		6,48	3,521
12	3,45	4,03		3,74	0,406
14	2,55	1,73		2,14	0,579
16	1,87	1,62		1,75	0,177
18	1,21	1,43		1,32	0,156
20	1,09	1,23		1,16	0,103
24	1,13	0,87	0,85	0,95	0,157
26	1,06	1,14	0,97	1,06	0,086
28	1,03	0,64	1,36	1,01	0,358
30	0,85	0,72	0,91	0,83	0,098

**Κινητική μελέτη κατά την τροφοδοσία του Αντιδραστήρα IV-[A] με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 20%**

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πρωτογενή δεδομένα των σχημάτων της ενότητας 8.4 (Σχήμα 8.10 - Σχήμα 8.13) για τον Αντιδραστήρα IV-[A].

**Πίνακας Β. 112. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 20% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L**

Χρόνος (h)	pH	Θειικά ιόντα (mg/L)	Ολικός οργανικός άνθρακας (mg/L)	Οξικά ιόντα (mg/L)
0	3,11	1830	610	1537
3	4,12	1095		914
5	4,29	1031		708
7	4,36	1192	230	687
9	4,43	882		680
12	4,89	966	235	706
15	5,20	896		471
18	5,53	881	185	441
26	6,01	786		302
28	6,03	783		253
30	6,16	767	110	309

**Πίνακας Β. 113. Αποτελέσματα κινητικής μελέτης με οξικό νάτριο σε στοιχειομετρική περίσσεια 20% και συγκέντρωση ιόντων δισθενούς σιδήρου, ψευδαργύρου, χαλκού και νικελίου 0,1 g/L (συνέχεια)**

Χρόνος (h)	Δισθενής σίδηρος (mg/L)	Ψευδάργυρος (mg/L)	Χαλκός (mg/L)	Νικέλιο (mg/L)
0	91,56	111,70	90,17	103,50
3	23,59	40,34	2,17	46,56
5	18,06	13,91	0,54	34,22
7	18,65	7,30	0,43	30,89
9	14,41	1,50	0,36	19,98
12	10,66	0,35	0,32	2,51
15	7,91	0,20	0,32	1,73
18	3,57	0,17	0,31	0,86
26	1,54	0,19	0,37	0,76
28	1,81	0,14	0,33	0,71
30	1,57	0,34	0,36	0,71



# Παράρτημα



Πρακτικό εξέτασης

---





**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΕΙΩΝ - ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Εργαστήριο Επιστήμης και Τεχνολογίας Προστασίας του Περιβάλλοντος στη  
Μεταλλουργία και Τεχνολογία Υλικών

Ηρώων Πολυτεχνείου 9, 157 80 ΖΩΓΡΑΦΟΥ, ΑΘΗΝΑ

Μ.ΤΣΕΖΟΣ, Καθηγητής

Τηλ.:210- 7722172, Fax:210-77222173, email:tsezos @metal.ntua.gr

Προς  
Τη Σχολή Μηχ.Μετ.Μεταλλουργών

Ζωγράφου 15.1.2014

ΘΕΜΑ: Διαβίβαση Πρακτικού Εξέτασης της Υ.Δ. Παυλίνας Κούση.

Σας υποβάλλουμε το πρακτικό της εξέτασης της Υποψήφιας Διδάκτορος Π. Κούση η οποία υποστήριξε την διδακτορική της διατριβή με θέμα: "Παράμετροι βιοκαταβύθισης ιόντων μετάλλων σε βιολογικούς αντιδραστήρες κλίνης".

Μετά την εξέταση στην οποία υποβλήθηκε η υποψήφια και σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 9 του Ν.3685/2008, η Εξεταστική Επιτροπή εισηγείται την απονομή στην κα. Π. Κούση του τίτλου της Διδάκτορος του Ε.Μ.Πολυτεχνείου.

Για την Εξεταστική Επιτροπή

Μ.Τσέζος, Καθηγητής Ε.Μ.Π.

## ΠΡΑΚΤΙΚΟ

εξέτασης της Υποψήφιας Διδάκτορος Παυλίνας Κούση  
σύμφωνα με το άρθρο 9, του Ν.3685/2008

Οι υπογράφωντες το παρόν, αποτελούν τα μέλη της επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής που ορίστηκε από τη Γενική Συνέλευση της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων-Μεταλλουργών (συνεδρίαση 16.12.2013) σύμφωνα με το άρθρο 9 του Ν.3685/2008, για την κρίση της διδακτορικής διατριβής της υποψήφιας διδάκτορος του Ε.Μ.Π. **Παυλίνας Κούση** με θέμα «Παράμετροι βιοκαταβύθισης ιόντων μετάλλων σε βιολογικούς αντιδραστήρες κλίνης». Η Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή απαρτίστηκε από τους κ. κ.: Μ.Τσέζο, Καθηγητή Σχ. Μ. Μ. Μεταλλουργών (επιβλέποντα), Σ. Λεονάρδου - Αγατζίνη, Καθηγήτρια, Σχ. Μ. Μ. Μεταλλουργών Ε. Μητσούλη, Καθηγητή, Σχ. Μ. Μ. Μεταλλουργών, Γ. Αναστασάκη, Καθηγητή, Σχ. Μ. Μ. Μεταλλουργών, Γ. Λιμπεράτο, Καθηγητή, Σχ. Χημ. Μηχανικών, Α. Ανδρεαδάκη, Καθηγητή, Σχ. Πολιτικών Μηχανικών, Ε. Ρεμουντάκη, Επικ. Καθηγήτρια, Σχ. Μ. Μ. Μεταλλουργών.

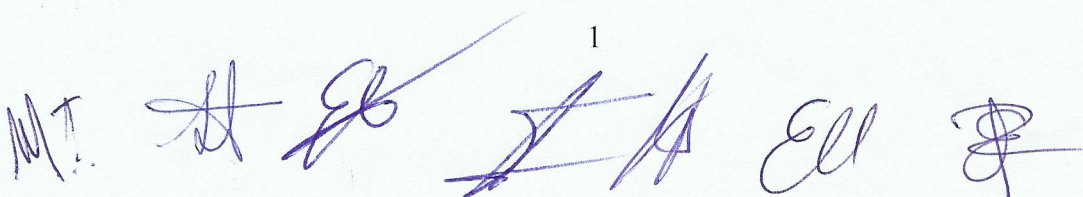
Τα ανωτέρω μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής, συνήλθαμε την Τετάρτη 15 Ιανουαρίου 2014 και ώρα 12.00, στην αίθουσα 205 της Σχολής Μ. Μ. Μεταλλουργών, του Ε.Μ.Π για να γίνει η προφορική εξέταση της υποψήφιας. Η υποψήφια κατά την εξέταση αυτή ανέπτυξε το θέμα της διδακτορικής της διατριβής. Στη συνέχεια της υποβλήθηκαν ερωτήσεις από τα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής, στις οποίες η υποψήφια έδωσε τις δέουσες απαντήσεις.

Από την παραπάνω διαδικασία και αφού προηγουμένως μελετήσαμε τη διδακτορική διατριβή, καταλήξαμε στα επόμενα συμπεράσματα για την υποψήφια:

- Κατέχει την επιστημονική περιοχή του θέματος της διδακτορικής διατριβής.
- Ανέπτυξε το θέμα αυτού με άνεση και απάντησε με σαφήνεια στις ερωτήσεις που της υπεβλήθησαν .
- Τα αποτελέσματα της διατριβής της παρουσιάζουν πρωτοτυπία και προάγουν την επιστήμη του Περιβάλλοντος.

Ύστερα από τα παραπάνω και έχοντας υπόψη τις διατάξεις του άρθρου 9 του

1





Ν.3685/2008 εισηγούμεθα την απονομή στην κα. Παυλίνα Κούση, Μηχ. Μετ. Μεταλλουργού, του τίτλου της Διδάκτορος του Ε. Μ. Πολυτεχνείου.

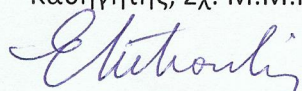
Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μ. Τσέζος

Καθηγητής, Σχ. Μ.Μ.Μεταλλουργών, ΕΜΠ

  
Ε.Μητσούλης

Καθηγητής, Σχ. Μ.Μ.Μεταλλουργών, ΕΜΠ

  
Σ. Λεονάρδου – Αγατζίνη

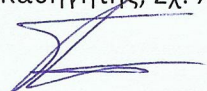
Καθηγήτρια, Σχ. Μ.Μ.Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.

  
Γ.Αναστασιάκης

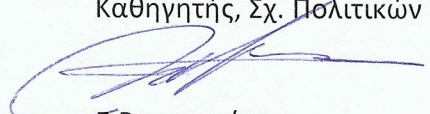
Καθηγητής, Σχ. Μ. Μ.Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.

  
Γ. Λιμπεράτος

Καθηγητής, Σχ. Χημ. Μηχανικών Ε.Μ.Π.

  
Α.Ανδρεαδάκης

Καθηγητής, Σχ. Πολιτικών Μηχανικών Ε.Μ.Π.

  
Ε.Ρεμουντάκη

Επικ. Καθηγήτρια, Σχ. Μ. Μ.Μεταλλουργών Ε.Μ.Π.

