



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΚΙΤΡΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΕΡΙΟΥ»**



ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΣΦΑΚΙΑΝΑΚΗ ΜΑΡΙΑ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΔΟΚΙΑΝΑΚΗΣ ΣΠΥΡΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2012

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΙΤΡΟΥ	4
1.1 Παραγωγή κίτρου.....	4
1.2 Επεξεργασία υπολειμμάτων βιομηχανιών χυμών εσπεριδοειδών.	7
2. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ	10
2.1 Εισαγωγή	10
2.2 Μικροβιολογία της αναερόβιας επεξεργασίας.....	11
2.2.1 Μικροβιολογία της μεθανογόνου φάσης	13
2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια χώνευση.	16
2.3.1 Θερμοκρασία	16
2.3.2. pH.....	16
2.3.3. Αλκαλικότητα	17
2.3.4. Θρεπτικά	18
2.3.5 Τοξικές ουσίες	18
2.4 Αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων-Σύγχρονη τεχνολογία	20
2.4.1 Εισαγωγή	20
2.4.2 Αναερόβια επεξεργασία ιλύος	21
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	24
3.1 Μελέτη του βιοχημικά μεθανογόνου δυναμικού.....	24
3.1.1 Πειραματική διαδικασία	24
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	30

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το κίτρο ανήκει στα εσπεριδοειδή και χρησιμοποιείται στη φαρμακευτική, ποτοποιία, ζαχαροπλαστική και στη μαγειρική. Η κιτροπαραγωγή έχοντας ως έδρα την Κρήτη αποτελεί μια καλλιέργεια αρκετά κερδοφόρα. Σήμερα η ένωση κιτροπαραγωγών παράγει πιστοποιημένα προϊόντα κυρίως για εγχώρια κατανάλωση. Έπειτα, από επεξεργασία εσπεριδοειδών το 75 - 80 % είναι στερεά απόβλητα ενώ το 20-25 % υγρά απόβλητα. Τα στερεά (φλοιός, πούλπα) παρόλο που αποτελούν παραγωγή ρύπανσης, αξιοποιούνται για παρασκευή αιθέριων ελαίων, για ζωοτροφή, για παραγωγή πηκτίνης και εσπερίνης, αλλά και για κομποστοποίηση. Όσον αφορά τα υγρά απόβλητα αυτά αντιμετωπίζονται με βιολογικούς τρόπους.

Για την επεξεργασία των στερεών βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων χρησιμοποιείται η μέθοδος της αναερόβιας χώνευσης, κατά την οποία παράγεται μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, με τη βοήθεια μεθογόνων βακτηρίων. Τα συγκεκριμένα βακτήρια διαφέρουν με τα κοινά σε ορισμένα χαρακτηριστικά κι χρησιμοποιούν την NH_4 ως πηγή N. Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια χώνευση είναι η θερμοκρασία, το pH, η αλκαλικότητα, τα θρεπτικά στοιχεία και οι τοξικές ουσίες. Το κόστος της βιολογικής αυτής μεθόδου είναι αρκετά χαμηλό λόγω της ταυτόχρονης παραγωγής βιοαερίου και μάλιστα τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί συστήματα υψηλής τεχνολογίας . Ένα ακόμα προϊόν είναι η σταθεροποιημένη ιλύς.

Από τα πειραματικά αποτελέσματα συμπεραίνετε ότι τα υπολείμματα κίτρου περιέχουν σημαντικές ποσότητες βιοαποδομήσιμου οργανικού υλικού που το καθιστούν ιδανικό υπόστρωμα για παραγωγή βιοαερίου. Ωστόσο η παρουσία λιμονένιου και άλλων αρωματικών ενώσεων στα απόβλητα έχει σαν αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της αναερόβιας διεργασίας. Για να είναι εφικτή η παραγωγή βιοαερίου από τα απόβλητα κίτρου πρέπει να γίνει προ-επεξεργασία του υλικού έτσι ώστε να απομακρυνθούν οι τοξικές ενώσεις ή να συν-επεξεργασία με άλλα οργανικά απόβλητα έτσι ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση των τοξικών ενώσεων.

1. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΙΤΡΟΥ

1.1 Παραγωγή κίτρου

1.1.1 Τρόποι εκμετάλλευσης κίτρου.

Η κιτριά (*Citrus medica*) ανήκει στην οικογένεια των ρουτιδών (*Rutaceae*). Είναι ένα εσπεριδοειδές που το συναντάμε με τη μορφή θάμνου ή μικρού δέντρου. Οι ποικιλίες της ταξινομούνται ανάλογα με τη γεύση του χυμού τους, έτσι διακρίνονται σε γλυκόχυμες και οξύχυμες. Τα φύλλα και οι καρποί της χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ηδύποτου και γλυκισμάτων αντίστοιχα. Είναι όμως φυτό εξαιρετικά ευάλωτο σε ασθένειες, με κυριότερη την κορυφοξήρα. Στη Νάξο η ποικιλία που καλλιεργείται είναι η οξύχυμη (*Diamante*). Οι καρποί της δεν καταναλώνονται νωποί, αλλά, μετά από επεξεργασία, ως γλυκό του κουταλιού, ενώ από την απόσταξη των φύλλων παράγεται το λικέρ 'Κίτρο Νάξου'. Η καλλιέργεια της κιτριάς στη Νάξο έχει αποφέρει στο νησί τουριστική και κατά συνέπεια οικονομική ανάπτυξη.

Στην Κρήτη η εκμετάλλευση του καρπού της κιτριάς γίνεται κυρίως με τη μορφή ζαχαρόπηκτων. Σύμφωνα με έρευνα του Ινστιτούτου Υποτροπικών Φυτών και Ελιάς Χανίων υπάρχουν δυνατότητες περαιτέρω εκμετάλλευσης της καλλιέργειας της κιτριάς με την παραγωγή νέων προϊόντων.

Τα «μηδικά μήλα», όπως αποκαλούσαν οι πρόγονοί μας τα κίτρα στην αρχαιότητα, χρησιμοποιούνταν για φαρμακευτικούς σκοπούς (μια ουσία τους αποδείχτηκε επιστημονικά ότι κάνει καλό στο συκώτι και στο στομάχι) και θεωρούνταν σύμβολο της γονιμότητας και της αφθονίας. Σήμερα χρησιμοποιούνται κατά κόρον στην αραβική και περσική κουζίνα για να αρωματίσουν τις φρουτοσαλάτες και να μαρινάρουν το κρέας. Σε πολλά σημεία της Ελλάδας-και στη Νάξο παλαιότερα-τα μαγειρεύουν με κρέας. Η σάρκα τους χρησιμοποιείται για την παρασκευή 19 γλυκών, σακχαρόπηκτων κ.α., ο φλοιός για την παρασκευή ποτού (*Cedratine* και *liqueur de Cedrat*) στην Κορσική και τα αρωματικότατα φύλλα τους στην Γαλλία (*Grasse*), είναι βασικό συστατικό για την παρασκευή αρωμάτων. Τέλος στη Νάξο η αποκλειστική πρώτη ύλη για την παρασκευή του ομώνυμου τοπικού παραδοσιακού ποτού «*ΚΙΤΡΟΝ ΝΑΞΟΥ*».

1.1.2 Η Κιτροπαραγωγή της Κρήτης.

Απασχολεί 1.850 αγρότες, οι οποίοι αποκομίζουν σοβαρό εισόδημα από αυτό το προϊόν. Παρέχονται παρακάτω, τα απαραίτητα στατιστικά στοιχεία αριθμού των κίτρων και παραγωγής αυτών, τα οποία παρήχθησαν στο Ηράκλειο. Προπολεμικά ήταν περισσότερες οι κιτριές σε μερικές κοινότητες, όπου αντικαταστάθηκαν από πορτοκαλιές. Η ποσότητα και η ποιότητα του προϊόντος αυτού επηρεάζεται τόσο από τις φυσικές και ανθρώπινες επιδράσεις, όσο και από την επάρκεια ή μη της άρδευσης. Οπωσδήποτε οι κυριότεροι συντελεστές, οι οποίοι μειώνουν σοβαρά την Κιτροπαραγωγή της Κρήτης, είναι οι εξής: Η ανομβρία και η ανεπαρκής άρδευση και οι ασθένειες: ανθοτρήτης (μικρό λεπιδόπτερο έντομο *Prays citri*), η κορυφοξήρα, η οποία προκαλεί την άμεση αποξήρανση των δέντρων και η κομμίωση. Η συγκομιδή των κίτρων συντελείται σταδιακά από το Σεπτέμβριο μέχρι τέλος Μαρτίου, κυρίως όμως μέσα στο Φθινόπωρο. Τα δε δίφορα κίτρα, συγκομίζονται από τον Απρίλη μέχρι τέλος Ιουνίου. (Νικόλαος Χρ. Σέττας 1963)

Πίνακας 1: Κατάσταση παραγωγής κίτρων της Κρήτης και όλης της χώρας

Νομοί και Περιοχές	Παραγωγή έτους 1959 σε τόνους	Παραγωγή έτους 1960 σε τόνους
Ηρακλείου	106,8	163,8
Ρεθύμνου	152,2	311,4
Κυδωνίας	53,3	74,7
Αποκορώνου	181,6	160,9
Λασιθίου	12,4	24,6
Κρήτης	506,3	735,4
Αιγιαλείας	95,9	230,3
Νήσου Νάξου	11,5	24,9
Σύνολο	613,7	990,6

Η κιτροπαραγωγή της Κρήτης κατά την περίοδο 1961 – 1962 ήταν πολύ καλή, η οποία προβλεπόταν τον Σεπτέμβριο του 1961 στους 1.000 τόνους περίπου, εκ των οποίων είχαν συγκεντρωθεί τότε 400 τόνοι κίτρα. Για την οργάνωση της διάθεσης της κιτροπαραγωγής και της προστασίας των τιμών της, λειτουργεί στο Ηράκλειο, ως γνωστόν, η Ένωση Κιτροπαραγωγών Κρήτης, εν δυνάμει του Νόμου 4878 του 1931. Κατά τόπους δε, δηλαδή κατά Κοινότητες ή ομάδες Κοινοτήτων λειτουργούν Συνεταιρισμοί κιτροπαραγωγών, ονομαζόμενοι Σύνδεσμοι Κιτροπαραγωγών Κρήτης, όπου ανέρχονται στους 50. Όλοι δε οι συνεταιρισμοί στην Κρήτη (κιτροπαραγωγοί)

είναι 1850, όπου λόγω της αυξομείωσης και μεταβολής αυτών σε στρογγυλό αριθμό είναι 2000.

Η εξαγορά των κίτρων από τους παραγωγούς γίνεται ανάλογα με το μέγεθος, διότι η πώληση και η εξαγωγή στο εξωτερικό συντελείται αυστηρά κατά ποιότητα και μεγέθη ως εξής :

Large = 1η κατηγορία

Medium = 2η κατηγορία

Small = 3η κατηγορία

Κατά την εξαγωγή του προϊόντος ενίοτε γίνεται και εξαιρετική κατηγορία (extra large) σύμφωνα με τις απαιτήσεις των αγοραστών.

Η κιτροπαραγωγή διατίθεται σχεδόν ολόκληρη στο εξωτερικό, αφού τοποθετηθούν τα κίτρα τεμαχισμένα μέσα σε ξύλινα βαρέλια με άλμη (όμοιου βάρους) καθαρού βάρους 250 χιλιογρμ. Κίτρων. Εννοείτε ότι καθεμιά ποιότητα και κατηγορία, όπως αναφέρεται παραπάνω, τοποθετείται σε ξεχωριστά βαρέλια. Παρέχεται παρακάτω η συνολική παραγωγή κίτρων που επετεύχθη σ' όλη τη χώρα κατά τα έτη 1954, 1955, 1956 και 1957, για να αποδειχθεί η διακύμανση της παραγωγής αυτής, όπου είναι υπολογισμένη σε τόνους.

Πίνακας 2: Συνολική εγχώρια παραγωγή κίτρου

Περιοχές	1954	1955	1956	1957
Κρήτης	196,3	484,4	473,5	470,2
Αιγίου	66,6	126,0	86,5	92,0
Νάξου	11,8	20,9	2,7	19,9
Σύνολο	274,7	631,3	562,7	582,1

Ο συνολικός αριθμός των κιτροπαραγωγών είναι 2.200, εκ των οποίων 1.850 είναι της Κρήτης, 240 είναι της Αιγιαλείας και 110 της Νάξου. Προκειμένου για εξαγωγή προϊόν του οποίου η ποσότητα έχει διακυμάνσεις, από χρόνο σε χρόνο και επειδή ανταγωνίζεται με το αντίστοιχο προϊόν της Ιταλίας (Σικελία) και του Πόρτο – Ρίκο, η τιμή του δεν είναι σταθερή αλλά έχει μεγάλες αυξομειώσεις.

1.1.3. Ένωση κιτροπαραγωγών Κρήτης.

Η Ένωση Κιτροπαραγωγών Κρήτης ιδρύθηκε το 1931, με σκοπό τη διαχείριση του κίτρου στην Ελλάδα. Η αρχική δραστηριότητα περιοριζόταν στην παραλαβή των φρούτων από τους παραγωγούς της χώρας, τη συντήρησή τους σε διάλυμα αλατιού και την εξαγωγή τους, σε ημιεπεξεργασμένη μορφή σε βαρέλια. Η μεταποίηση του κίτρου και παράλληλα και άλλων φρούτων άρχισε στις αρχές της δεκαετίας του 60. Οι πρώτες βιομηχανικές εγκαταστάσεις είχαν έδρα στο Ηράκλειο Κρήτης, με προϊόντα ζαχαρόπηκτα αρχικά για την ελληνική αγορά. Οι συνεχείς αναζήτηση νέων προϊόντων και η τεχνολογική εξέλιξη της επιχείρησης στην παράγωγη και την συσκευασία, οδήγησαν στην ανάπτυξη της αγοράς του εξωτερικού με ζαχαρόπηκτα συσκευασμένα σε συσκευασίες 100gr για το Σ/Μ και επαγγελματικές των 5, 10 και 15 Kgr. Σήμερα η Ένωση Κιτροπαραγωγών Κρήτης, παράγει ζαχαρόπηκτα σε συσκευασίες των 100, 150 και 200gr που απευθύνονται στο Σ/Μ, επίσης παράγει παραδοσιακά γλυκά κουταλιού για την ελληνική κυρίως αγορά και τέλος προσφέρει ζαχαρόπηκτα φρούτα για την βιομηχανία τροφίμων σε συσκευασίες 1 Kgr πλαστικό κουτί και 5, 10,15 Kgr χάρτινο κιβώτιο. Το εργοστάσιο της Ένωσης είναι πιστοποιημένο με ISO 9001, HACCP, τα προϊόντα που παράγει είναι υψηλών προδιαγραφών με διαλεγμένα φρούτα από την κρητική γη

1.2 Επεξεργασία υπολειμμάτων βιομηχανιών χυμών εσπεριδοειδών.

Σύμφωνα με στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας το σύνολο της παραγωγής εσπεριδοειδών στην Ελλάδα κάθε χρόνο, είναι περί τους 1.000.000 τόνους, από τους οποίους περίπου μόνο το 1/3 επεξεργάζονται προς χυμοποίηση από 18 συνολικά μονάδες από τις οποίες οι 11 βρίσκονται στην Πελοπόννησο. Από αυτές τις ποσότητες το 80% αφορούν πορτοκάλια, το 12.4% λεμόνια, το 6.2% μανταρίνια και περίπου 1% grape fruit (στοιχεία 1999). Οι ποσότητες επεξεργασίας εσπεριδοειδών σε μέσες τιμές της τριετίας 1998-2000 δίδονται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3. Ποσότητες επεξεργασίας παραπροϊόντων και αποβλήτων εσπεριδοειδών στην Ελλάδα (τόνοι) μέσες τιμές (1998 – 2000)

ΕΙΔΟΣ	ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ ΠΡΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	ΧΥΜΟΣ	ΑΙΘ. ΕΛ.	ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΣΤΕΡΕΑ	ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΥΓΡΑ	ΣΥΝΟΛΟ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ
Πορτοκάλια	300.000	90.000	300	160.000	50.000	210.000
Λεμόνια	23.000	5.000	21	14.000	4.000	18.000
Μανταρίνια	3.500	1.320	8			
Grape-Fruit	800	176				

Από τον πίνακα 3, συνάγεται ότι από τις 327.300 τόνους εσπεριδοειδών που επεξεργάζονται, γύρω στο 70% είναι απόβλητα από τα οποία το 75-80% είναι στερεά και το 20-25% υγρά. Τα στερεά απόβλητα αποτελούνται από τους φλοιούς και την πούλπα μέρος της οποίας πηγαίνει στους χυμούς, για την παρασκευή προϊόντων κατά το δυνατόν πλησιέστερα προς τα φυσικά. Ένα μέρος των φλοιών μετά την παραλαβή των αιθέριων ελαίων αξιοποιείται για παραγωγή ζωοτροφών μετά από ξήρανση, ενώ ένα άλλο μέρος αποξηραίνεται και πωλείται στο εξωτερικό για παραγωγή πηκτίνης και εσπεριδίνης, λόγω του ότι κρίνεται ασύμφορος η παραγωγή πηκτίνης στην Ελλάδα. Το κόστος ξήρανσης των φλοιών είναι πολύ υψηλό και στην Ελλάδα μόνο μία μονάδα, η Λακωνία, ξηραίνει τους φλοιούς και συνήθως πουλάει την μία χρονιά και την άλλη όχι. Ως εκ τούτου τα εργοστάσια θέλουν να δίνουν αυτούσια τα στερεά απόβλητα στους κτηνοτρόφους για ζωοτροφή σχεδόν δωρεάν, διότι τους δημιουργούν προβλήματα διάθεσης και ρύπανσης του περιβάλλοντος.

Ενώ τα υγρά απόβλητα των εργοστασίων χυμών εσπεριδοειδών αντιμετωπίζονται με τους υπάρχοντες βιολογικούς καθαρισμούς, το πρόβλημα που εξακολουθεί να υπάρχει έντονο είναι με τα στερεά απόβλητα. Το πρόβλημα αυτό γίνεται εντονότερο με το πρόσθετο φορτίο πορτοκαλιών από απόσυρση που πηγαίνουν σε Χώρους Υγειονομικής Ταφής (ΧΥΤΑ). Μετά την απόσυρση σε ΧΥΤΑ των εσπεριδοειδών που δεν μπορούν να διατεθούν στην αγορά (κυρίως πορτοκάλια) η

ρύπανση είναι τόσο έντονη ώστε πολλές φορές να βρίσκεται χυμός στον υδροφόρο ορίζοντα. Η επιδότηση για απόσυρση εσπεριδοειδών σε ΧΥΤΑ μειώνεται συνεχώς και θα εκλείψει σύντομα. Ήδη οι υπάρχουσες συμφωνίες με την Ευρωπαϊκή Ένωση υπαγορεύουν ότι οι ποσότητες αυτές δεν πρέπει να ξεπερνούν το 5% του συνόλου της παραγωγής, δηλαδή 50000 τόνοι περίπου. Μια προτεινόμενη μεθοδολογία διαχείρισης των στερεών αποβλήτων εσπεριδοειδών είναι η αναερόβιος ζύμωση για την οποία υπάρχουν 2 πατέντες. Για την εφαρμογή αναερόβιου ζυμώσεως πρέπει πρώτα να απομακρυνθεί το έλαιο (De-oiling) και κατόπιν να γίνει ανάμιξη με άλλα οργανικά απόβλητα όπως αυτά των χοιροστασιών.

Στην Ελληνική πραγματικότητα όμως αν και έχουν χρηματοδοτηθεί μέσω της ΑΤΕ 2-3 μονάδες αναερόβιου ζυμώσεως από το 1985, δεν έχει λειτουργήσει καμία και τούτο διότι οι μονάδες αυτές είναι υψηλής τεχνολογίας και θέλουν συνεχή παρακολούθηση.

Η κομποστοποίηση των φλοιών εσπεριδοειδών για παραγωγή ζωοτροφών φαίνεται σαν μια ρεαλιστική προσέγγιση με εφαρμογή πλέον απλής τεχνολογίας και με χαμηλό κόστος. Η περιεκτικότητα των φλοιών εσπεριδοειδών ως έχει, σε πρωτεΐνες είναι περί τα 3-6% επί ξηρού βάρους, δηλαδή φτωχή για ζωοτροφή ακόμα και για μηρυκαστικά. Η ποσότητα της πρωτεΐνης μπορεί να ανέλθει πάνω του 15% με την διαδικασία κομποστοποίησης με ημιστερεά ζύμωση με επιλεγμένες καλλιέργειες, πράγμα που καθιστά δυνατή την αναβάθμιση των στερεών αποβλήτων σε υψηλής ποιότητας ζωοτροφή. Η ζυμωμένη πορτοκαλόφλουδα μπορεί να υποκαταστήσει τα δημητριακά στο σιτηρέσιο μηρυκαστικών έως 30% (Iconomou et. al, 2001).

2. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ

2.1 Εισαγωγή

Η διεργασία της αναερόβια χώνευσης η οποία λαμβάνει χώρα και στη φύση μπορεί να προσδιοριστεί ως η βιολογική διεργασία κατά την οποία οργανικό υλικό, απουσία οξυγόνου, μετατρέπεται σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα (Toerien and Hattingh, 1969).

Ιστορικά η ύπαρξη αυτών των αερίων ήταν γνωστή από την αρχαιότητα, ωστόσο η παρατήρηση του Alessandro Volta (1776) ότι σε ιζήματα από βαλτώδεις περιοχές παράγεται ένα εύφλεκτο αέριο οδήγησε την επιστημονική κοινότητα στην μελέτη της βιολογικής παραγωγής του μεθανίου.

Ένα αιώνα νωρίτερα ο Leeuwenhoek (1680) ήταν ο πρώτος επιστήμονας που παρατήρησε αναερόβιους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, την εποχή εκείνη δεν ήταν ακόμη κατανοητή η ανακάλυψη του αυτή. Έτσι έπρεπε να περάσουν περίπου 200 χρόνια για να πιστοποιηθεί η ύπαρξη αναερόβιων βακτηρίων από τον Louis Pasteur (1862). Το 1913 ο Beijerinck επανέλαβε με ακρίβεια τα πειράματα του Leeuwenhoek και ταυτοποίησε τον αναερόβιο μικροοργανισμό *Clostridium butyricum*.

Σήμερα, η αναερόβια επεξεργασία με ταυτόχρονη παραγωγή μεθανίου είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την σταθεροποίηση της παραγόμενης λάσπης στις μονάδες βιολογικής επεξεργασίας αστικών και βιομηχανικών λυμάτων, ενώ χρησιμοποιείται ακόμη για την επεξεργασία στερεών απορριμμάτων και αστικών λυμάτων (Gunaseelan, 1997).

Από τις αρχές του προηγούμενου αιώνα μέχρι τώρα έχουν δημοσιευθεί πολλές εργασίες για την λειτουργία αναερόβιων αντιδραστήρων. Ωστόσο, υπήρχαν δυσκολίες στη σύγκριση των αποτελεσμάτων, λόγω του μεγάλου πλήθους υποστρωμάτων και μικροοργανισμών που λαμβάνουν μέρος στη συνολική διεργασία. Γι' αυτό το λόγο τα τελευταία χρόνια καταβλήθηκαν σημαντικές προσπάθειες για να

συνδεθούν η μικροβιολογία και η βιοχημεία της αναερόβιας χώνευσης και οι θεωρητικές και πρακτικές παρατηρήσεις των αναερόβιων βιοαντιδραστήρων.

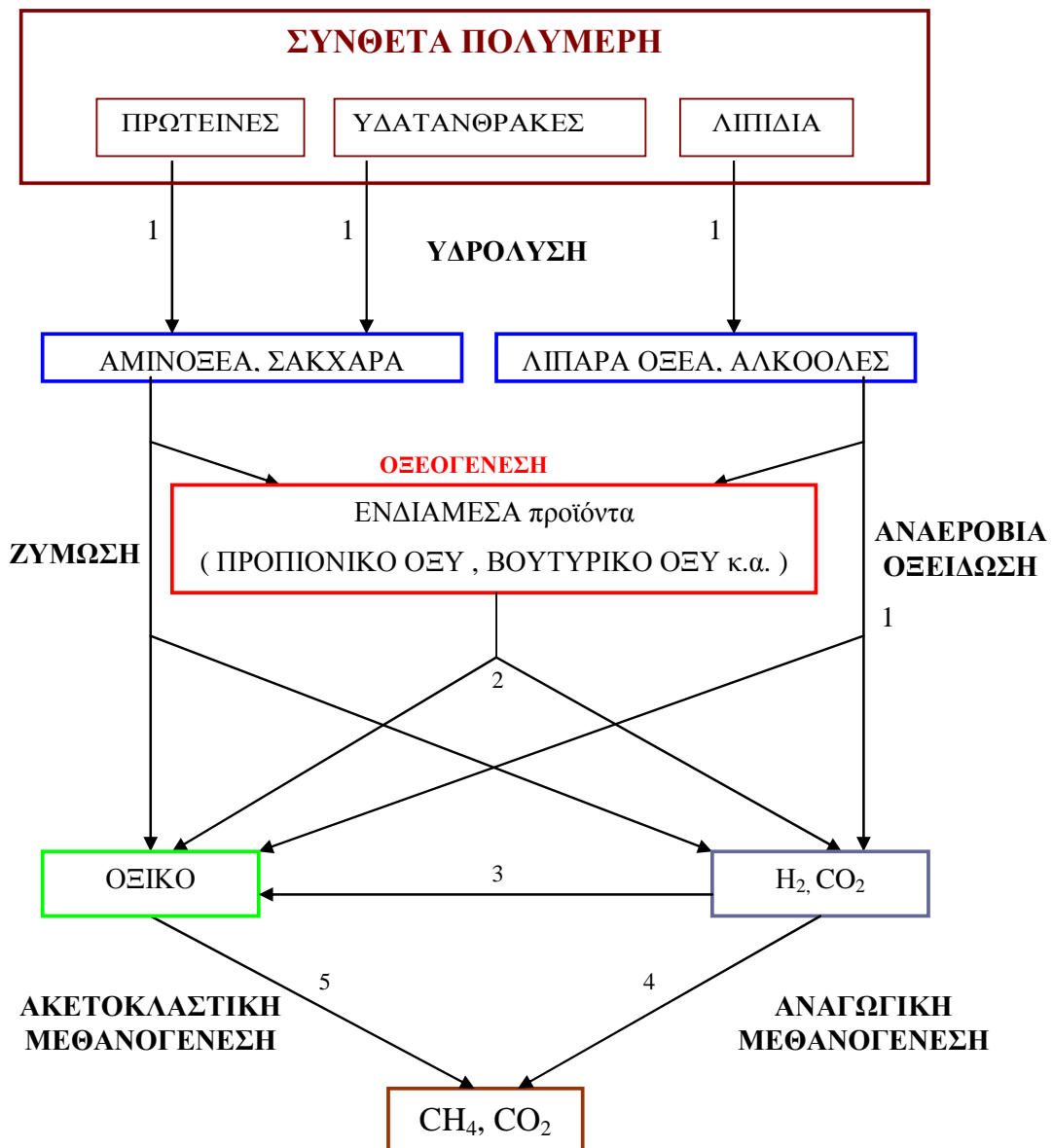
Στο κεφάλαιο αυτό σημειώνονται οι κύριες αναφορές για την μικροβιολογία και την βιοχημεία της αναερόβιας επεξεργασίας καθώς και η σημερινή τεχνολογία για την λειτουργία αναερόβιων αντιδραστήρων.

2.2 Μικροβιολογία της αναερόβιας επεξεργασίας

Η αναερόβια βιοαποδόμηση του σύνθετου οργανικού υλικού περιγράφεται ως μια διαδικασία πολλαπλών σταδίων με οριζόντιες και παράλληλες αντιδράσεις (Σχήμα 1) (Pavlostathis and Giraldo-Gomez,1991). Αρχικά, σύνθετες πολυμερικές ενώσεις όπως είναι οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες και τα λίπη υδρολύονται από εξωκυτταρικά ένζυμα σε διαλυτά προϊόντα μικρότερου μεγέθους έτσι ώστε να μπορούν να εισχωρήσουν διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης στο εσωτερικό του κυττάρου. Αυτές οι σχετικά απλές διαλυτές ενώσεις ζυμώνονται ή οξειδώνονται αναερόβια σε πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες, διοξείδιο του άνθρακα, υδρογόνο και αμμωνία. Τα πτητικά λιπαρά οξέα μετατρέπονται σε οξικό οξύ, υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα. Τέλος, παράγεται μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, είτε από την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα από το υδρογόνο είτε από το οξικό.

Η συνολική διαδικασία της μετατροπής του σύνθετου οργανικού υλικού σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα μπορεί να υποδιαιρεθεί σε 7 στάδια ανάλογα με το σχήμα 1 (Pavlostathis and Giraldo-Gomez,1991).

1. Υδρόλυση του σύνθετου οργανικού υλικού
2. Ζύμωση των αμινοξέων και των σακχάρων
3. Αναερόβια οξείδωση των μεγάλου μήκους λιπαρών οξέων και αλκοολών
4. Αναερόβια οξείδωση των ενδιάμεσων προϊόντων
5. Παραγωγή οξικού από διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο
6. Μετατροπή του οξικού σε μεθάνιο
7. Παραγωγή μεθανίου με αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα από υδρογόνο



Σχήμα 1. Μετατροπή του οργανικού υλικού προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα κατά τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης (Pavlostathis and Giraldo-Gomez, 1991).

Οι κύριες ομάδες βακτηρίων που παίρνουν μέρος σε αυτές τις αντιδράσεις χωρίζονται στις ακόλουθες κατηγορίες: (1) βακτήρια ζύμωσης, (2) οξικογόνα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο, (3) οξικογόνα βακτήρια που καταναλώνουν υδρογόνο, (4) μεθανογόνα βακτήρια που ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα, (5) ακετοκλαστικά μεθανογόνα βακτήρια. Ένα γενικό κριτήριο κατάταξης των μικροοργανισμών είναι η σχέση της κυτταρικής τους λειτουργίας με το οξυγόνο. Στον πίνακα 4 παρουσιάζεται η κατάταξη των μικροοργανισμών ανάλογα με την ικανότητα τους να χρησιμοποιούν - και με ποιο τρόπο - το οξυγόνο.

Πίνακας 4. Κατάταξη των μικροοργανισμών με κριτήριο τη σχέση της κυτταρικής τους λειτουργίας με το οξυγόνο (Αγγελής, 2000).

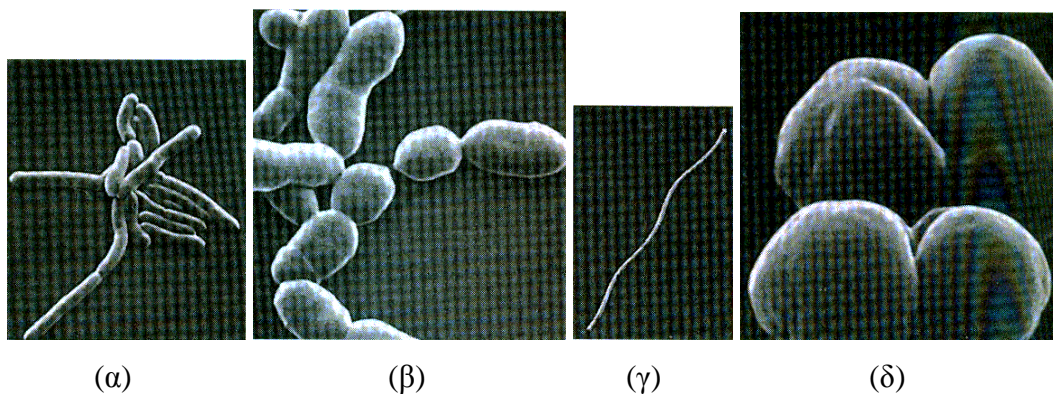
Μικροοργανισμοί	Ιδιότητα
1. Αερόβιοι (aerobes)	Χρησιμοποιούν το μοριακό οξυγόνο
2. Προαιρετικά αναερόβιοι (facultative anaerobes)	Χρησιμοποιούν το μοριακό οξυγόνο αλλά μπορούν να ζήσουν με ζυμωτικό μεταβολισμό και σε αναερόβιες συνθήκες
3. Υποχρεωτικά αναερόβιοι (obligate anaerobes)	Δεν διαθέτουν την ικανότητα χρήσης το μοριακού οξυγόνου
3α. Αδιάφοροι αναερόβιοι (indifferent anaerobes)	Μπορούν να επιβιώσουν και σε αερόβιες συνθήκες
3β. Ανθεκτική στον αέρα αναερόβιοι (aerotolerant anaerobes)	Έχουν κάποιο όριο ανοχής στη συγκέντρωση οξυγόνου στο περιβάλλον τους
3γ. Αυστηρά αναερόβιοι (strict anaerobes)	Πεθαίνουν ακόμα και με ίχνη ελεύθερου οξυγόνου στο περιβάλλον τους

Γενικά στην αναερόβια χώνευση μπορούμε να πούμε ότι σε πρώτο στάδιο ένα ετερογενές σύμπλεγμα μικροοργανισμών μετατρέπει τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λίπη, κυρίως σε λιπαρά οξέα και, σε ένα δεύτερο στάδιο, τα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού των μικροοργανισμών του πρώτου σταδίου μετατρέπονται σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα από μια ξεχωριστή φυσιολογικά ομάδα αυστηρώς αναερόβιων βακτηρίων που ονομάζονται μεθανογόνα βακτήρια (Toerien and Hattingh, 1969). Στη συνέχεια μελετώνται ξεχωριστά οι δύο αυτές κύριες ομάδες μικροοργανισμών που συμβάλλουν στην αναερόβια επεξεργασία.

2.2.1 Μικροβιολογία της μεθανογόνου φάσης

Η παραγωγή μεθανίου είναι το βασικό χαρακτηριστικό των μεθανογόνων μικροοργανισμών και αποτελεί το κύριο καταβολικό προϊόν τους. Φυλογενετικά οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί ανήκουν στα αρχαιοβακτήρια που διαφέρουν από τα κοινά βακτήρια σε ορισμένα χαρακτηριστικά, όπως είναι η θέση των λιπιδίων στην κυτταρική μεμβράνη, η έλλειψη πεπτιδογλυκάνης, διαφορές στην αλληλουχία του RNA κα (Ferry, 1993).

Έχει βρεθεί μια μεγάλη ποικιλία μεθανογόνων μικροοργανισμών που διαφέρουν σε μέγεθος και σχήμα (Εικόνα 1). Επίσης υπάρχουν τόσο θετικοί όσο και αρνητικοί κατά Gram μεθανογόνοι. Γι' αυτό το λόγο, η κατάταξη τους δεν γίνεται με βάση το στίγμα τους κατά Gram αλλά με βάση την αλληλουχία της αλυσίδας του RNA. Στον πίνακα 5 παρουσιάζονται τα κύρια χαρακτηριστικά των μεθανογόνων αρχαιοβακτηρίων.



Εικόνα 1 Κύτταρα μεθανογόνων αρχαιοβακτηρίων που δείχνουν την μορφολογική ποικιλία των μικροοργανισμών αυτών. α) *Methanobrevibacter ruminantium* (διάμετρος κυττάρου 0.7 μm) β) *Methanobacterium AZ* (διάμετρος κυττάρου 1 μm) γ) *Methanospirillum hungatii* (διάμετρος κυττάρου 0.4 μm) δ) *Methanosarcina barkeri* (διάμετρος κυττάρου 1.7 μm) (Madigan et al, 1997).

Πίνακας 5 Χαρακτηριστικά μεθανογόνων μικροοργανισμών (Madigan et al, 1997).

Γένος	Μορφολογία	Gram αντίδραση	Υπόστρωμα για μεθανογένεση
<i>Methanobacterium</i>	Ράβδοι	+ ή -	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό
<i>Methanobrevibacter</i>	Ράβδοι	+	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό
<i>Methanosphaera</i>	Κόκκοι	+	Μεθανόλη + H ₂
<i>Methanothermus</i>	Ράβδοι	+	H ₂ +CO ₂ , S
<i>Methanococcus</i>	Κόκκοι	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό προσταφυλικό+CO ₂ ,
<i>Methanomicrobium</i>	Ράβδοι	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό
<i>Methanogenium</i>	Κόκκοι	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό
<i>methanospirillum</i>	Σπιρίλια	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό
<i>Methanoplanus</i>	Δίσκοι	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό
<i>Methanosarcina</i>	Κόκκοι	+	H ₂ +CO ₂ , μεθανόλη, μεθυλαμίνες, οξικό
<i>Methanolobus</i>	Κόκκοι	-	Μεθανόλη, μεθυλαμίνες
<i>Methanoculleus</i>	Κόκκοι	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό, αλκοολές
<i>Methanohallobium</i>	Κόκκοι	-	Μεθανόλη, μεθυλαμίνες
<i>Methanococcoides</i>	Κόκκοι	-	Μεθανόλη, μεθυλαμίνες
<i>Methanohalophilus</i>	Κόκκοι	-	Μεθανόλη, μεθυλαμίνες, μεθυλοσουλφίδια
<i>Methanotherix</i>	Ράβδοι	-	οξικό
<i>Methanopyrus</i>	Ράβδοι	+	H ₂ +CO ₂
<i>methanocorpusculum</i>	κόκκοι	-	H ₂ +CO ₂ , μυρμηγκικό, αλκοολές

Υπάρχουν τρεις διαφορετικές ομάδες υποστρωμάτων που μπορούν να καταναλώσουν οι οργανισμοί αυτοί παράγοντας ενέργεια για τις λειτουργίες του κυττάρου. α) τύπου διοξειδίου του άνθρακα, β) μεθυλομάδες, γ) οξικό.

Όλοι οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν NH₄⁺ ως πηγή αζώτου ενώ σε όλα τα είδη είναι απολύτως απαραίτητα το νικέλιο, ο σίδηρος και το κοβάλτιο ως ιχνοστοιχεία (Madigan et al, 1997). επίσης, έχει βρεθεί ένας σημαντικός αριθμός

συνενζύμων που είναι μοναδικά και τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των οργανισμών αυτών(Ferry, 1993).

2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια χώνευση.

Εκτός από τα απαραίτητα υποστρώματα και τους κατάλληλους μικροβιακούς πληθυσμούς υπάρχουν και ορισμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, η αλκαλικότητα, τα θρεπτικά στοιχεία και οι τοξικές ουσίες που επιδρούν στη διαδικασία παραγωγής μεθανίου κατά την αναερόβια επεξεργασία.

2.3.1 Θερμοκρασία

Η μεθανογένεση είναι από τις διεργασίες που εξαρτώνται ισχυρά από τη θερμοκρασία. Μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν βρεθεί σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιακών περιοχών από 2 °C σε θαλάσσια ιζήματα μέχρι πάνω από 100°C σε γεωθερμικές περιοχές (Ferry, 1993). Γενικά οι ρυθμοί των αντιδράσεων αυξάνονται με την θερμοκρασία μέχρι τους 60°C. Για παράδειγμα, ο χρόνος διπλασιασμού της παραγόμενης ποσότητας H₂-CO₂ στους 37°C για τον *Methanococcus voltae* είναι περίπου 2 ώρες ενώ ο αντίστοιχος χρόνος για τον *Methanococcus thermolithotrophicus* στους 65°C είναι 1 ώρα.

Έχουν βρεθεί δυο βέλτιστες θερμοκρασιακές περιοχές για την λειτουργία αναερόβιων αντιδραστήρων, η μεσόφιλη (~35 °C) και η θερμόφιλη (55 °C με 60 °C), ανάμεσα στις οποίες οι ρυθμοί μειώνονται (Malina et al, 1992). Η μείωση αυτή θεωρείται ότι οφείλεται στην έλλειψη προσαρμογής των μικροοργανισμών (Macki and Bryant, 1981). Ωστόσο, έχει αναφερθεί αναερόβια επεξεργασία λυμάτων σε χωνευτήρες που λειτουργούσαν ακόμη και στους 15 °C (Zeeman et al,1988).

2.3.2. pH

Οι περισσότερες διεργασίες αναερόβιας επεξεργασίας λειτουργούν σε περίπου ουδέτερο pH. Διαφοροποιήσεις από αυτή την περιοχή παρατηρούνται εξαιτίας της συσσώρευσης όξινων ή βασικών μεταβολικών προϊόντων όπως είναι τα λιπαρά οξέα ή η αμμωνία, αντίστοιχα. Η αύξηση της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων είναι από

τα πιο κοινά προβλήματα των αναερόβιων αντιδραστήρων και συμβαίνει συνήθως όταν οι οξυκογόνι ή οι μεθανογόνι μικροοργανισμοί έχουν παρεμποδιστεί με αποτέλεσμα τα οξέα να μην καταναλώνονται από αυτούς και να συσσωρεύονται στον χωνευτήρα. Η ευαισθησία στη μείωση του pH είναι μεγαλύτερη για τα μεθανογόνα βακτήρια απ' ότi στα ζυμωτικά βακτήρια. Κατά συνέπεια, ενώ η παραγωγή των οξέων από τους ζυμωτικούς μικροοργανισμούς συνεχίζεται, η μεθανογένεση έχει παρεμποδιστεί αυξάνοντας συνεχώς το πρόβλημα της οξύτητας στον αντιδραστήρα και οδηγώντας τελικά σε αποτυχία τη διεργασία.

2.3.3. Αλκαλικότητα

Μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν βρεθεί σε διαφορετικής αλκαλικότητας περιβάλλοντα, από γλυκά μέχρι υπεραλατούχα νερά. Ωστόσο έχει αναφερθεί ότi αλκαλικότητες πάνω από 0.2 M Na⁺ παρεμποδίζουν την παραγωγή μεθανίου (Boone, 1991).

Η επαρκής ποσότητα αλκαλικότητας είναι σημαντική για τη ρύθμιση του pH. Σε ένα αναερόβιο αντιδραστήρα παράγεται αλκαλικότητα (κατά τη διάσπαση των οργανικών υποστρωμάτων) κυρίως σε μορφή διττανθρακικών που βρίσκονται σε ισορροπία με το διοξείδιο του άνθρακα στην αέρια φάση (στο συγκεκριμένο pH). Οι εξισώσεις που αναπαριστούν την ισορροπία αυτή είναι οι εξής:



Η συγκέντρωση των ιόντων [H⁺] και του pH του συστήματος μπορεί να υπολογιστεί από την παρακάτω εξίσωση ισορροπίας :

$$[\text{H}^+] = k_1 \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{HCO}_3^-]}$$

Σε τιμές pH από 6.6 μέχρι 7.4 και σε τυπική σύσταση διοξειδίου του άνθρακα στην αέρια φάση 30 με 40%, η διττανθρακική αλκαλικότητα κυμαίνεται από 1000mg/l μέχρι 5000mg/l CaCO₃. Όταν η συγκέντρωση των πτητικών οξέων είναι μικρή σε ένα αναερόβιο αντιδραστήρα, η ολική αλκαλικότητα είναι σχεδόν ίση με την διττανθρακική αλκαλικότητα (Malina et al, 1991).

2.3.4. Θρεπτικά

Για να πραγματοποιηθεί η διάσπαση των οργανικών μορίων και να παραχθεί μεθάνιο χρειάζεται να υπάρχουν στον αναερόβιο αντιδραστήρα κάποια απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη και των μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Γενικά, τα επίπεδα στην τροφοδοσία των βασικών θρεπτικών C και N συνήθως εκφράζονται με το λόγο COD:N που πρέπει να κυμαίνεται από 400:7 έως 1000:7 (Henze and Harremoos, 1983). Παρόμοια ο βέλτιστος λόγος N:P είναι 7:1 (Stronach et al, 1986).

Επίσης διάφορα ιχνοστοιχεία είναι απαραίτητα για τη μεθανογένεση όπως είναι ο σίδηρος, το νικέλιο, το μαγνήσιο, το ασβέστιο, το βάριο, το βολφράμιο, ο μόλυβδος, το σελήνιο και το κοβάλτιο. Τα στοιχεία αυτά συνήθως εμπλέκονται στο ενζυμικό σύστημα των μεθανογόνων και οξικογόνων βακτηρίων (Stronach et al, 1986). Στις περισσότερες περιπτώσεις αναερόβιας επεξεργασίας αποβλήτων τα ιχνοστοιχεία που είναι απαραίτητα βρίσκονται σε περίσσεια στην τροφοδοσία.

2.3.5 Τοξικές ουσίες

Η διαδικασία της παραγωγής μεθανίου μπορεί να παρεμποδιστεί από διάφορες ουσίες που είναι τοξικές για την μεθανογένεση όπως είναι το οξυγόνο, η αμμωνία, τα λιπαρά οξέα, τα βαρέα μέταλλα, τα θειούχα και θειικά ιόντα και διάφορες άλλες ξενοβιοτικές ενώσεις.

Το οξυγόνο είναι τοξικό ακόμα και σε ίχνη για τα αυστηρώς αναερόβια μεθανογόνα βακτήρια. Μελέτες, ωστόσο, έδειξαν ότι ενώ οι μεθανογόνοι δεν αναπτύσσονται και δεν παράγουν μεθάνιο, ορισμένοι από αυτούς είναι αρκετά ανθεκτικοί στο οξυγόνο. Για παράδειγμα ο *Methanobrevibacter arboriphilus* και ο *Methanobacterium thermoautotrophicum* μπορούν να συντηρηθούν για μερικές ώρες μετά την έκθεση τους στο οξυγόνο, ενώ ο *Methanosarcina barkeri* αντέχει για πάνω από 24 ώρες (Kiener and Leisinger, 1983).

Η αμμωνία επίσης μπορεί να δράσει παρεμποδιστικά στην διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης. Η τιμή της συγκέντρωσης που είναι τοξική στους μικροοργανισμούς εξαρτάται και από άλλους παράγοντες, όπως είναι το pH και η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων, καθώς και από τον τρόπο που εκτίθεται στα μεθανοβακτήρια, με την ελεύθερη μορφή να θεωρείται γενικά πιο τοξική από την ιονισμένη μορφή (Malina et al, 1991). Η συγκέντρωση αμμωνίας που παρεμποδίζει την παραγωγή μεθανίου είναι μεταξύ 1500 και 3000 mg/l ενώ από 4000 mg/l και πάνω επέρχεται πλήρης αναστολή της διεργασίας (Stronach et al, 1986). Από την άλλη μεριά, ο μη μεθανογόνος πληθυσμός επηρεάζεται σε συγκεντρώσεις αμμωνίας μεγαλύτερες από 6000 mg/l (Cross et al, 1983).

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων παρεμποδίζει την μεθανογένεση. Οι επιπτώσεις που έχουν οι ουσίες αυτές εξαρτώνται συχνά και από άλλες περιβαλλοντικές συνθήκες (pH, αλκαλικότητα) που επικρατούν στον αναερόβιο αντιδραστήρα. Πτητικά οξέα, όπως το οξικό και το βουτυρικό, εμφανίζουν μικρή τοξικότητα όταν το pH είναι ουδέτερο. Αντίθετα, το προπιονικό οξύ, είναι τοξικό και για τα μεθανογόνα και για τα οξεογόνα βακτήρια. Επίσης τα ανώτερα λιπαρά οξέα (π.χ. στεατικό, παλμιτικό, λαουρικό κ.ά.) παρεμποδίζουν τη δραστηριότητα των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων. Γενικά τα πτητικά λιπαρά οξέα αναγνωρίζονται ως τα πιο σημαντικά ενδιάμεσα προϊόντα της αναερόβιας διεργασίας και προτείνονται ως οι παράμετροι ελέγχου όλης της διαδικασίας (Pind et al, 1999).

Η παρουσία βαρέων μετάλλων σε συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων όπως είδαμε είναι απαραίτητη για την λειτουργία πολλών βακτηρίων. Ωστόσο, όταν οι ουσίες αυτές βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις, επιδρούν αρνητικά στην αναερόβια χώνευση. Είναι δύσκολο να προσδιοριστούν με ακρίβεια τα επίπεδα των συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων που αρχίζουν να είναι τοξικά, αφού εξαρτώνται από τις συνθήκες λειτουργίας του αναερόβιου αντιδραστήρα, ενώ είναι πιθανό, τα βακτήρια να προσαρμόζονται στην παρουσία μετάλλων και να αυξάνει σταδιακά η ανθεκτικότητά τους σε αυτά. Γενικά η σειρά που μειώνεται η τοξικότητα των μετάλλων είναι Ni > Ca > Pb > Cr > Zn (Hayes et al, 1978).

Το υδρόθειο (H_2S) και γενικότερα τα θειούχα ανιόντα (HS^- , S^{2-}) είναι από τους πιο ισχυρούς παρεμποδιστές της αναερόβιας χώνευσης. Μελέτες έδειξαν ότι είναι τοξικό για τα μεθανογόνα βακτήρια σε συγκεντρώσεις μεταξύ 200-1500 mg/l. Η τοξικότητα του υδρόθειου όπως και των βαρέων μετάλλων εξαρτάται από το pH.

Τέλος η παρουσία διαφόρων ανθρωπογενών ενώσεων στην αναερόβια διεργασία έχει αρνητικές επιπτώσεις στο σύστημα. Γενικά διάφορες οργανικές ενώσεις που περιλαμβάνουν αλκύλομάδες, αλογονοομάδες, νιτροομάδες και θειοομάδες, παρεμποδίζουν την παραγωγή μεθανίου.

2.4 Αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων-Σύγχρονη τεχνολογία .

2.4.1 Εισαγωγή

Η αναερόβια χώνευση είναι τις περισσότερες φορές η πιο συμφέρουσα οικονομικά βιολογική μέθοδος επεξεργασίας αποβλήτων, λόγω της υψηλής ανάκτησης ενέργειας (παραγωγή βιοαερίου) και των περιορισμένων περιβαλλοντικών επιπτώσεων του συστήματος κατά την λειτουργία του. Η διεργασία βρίσκει εφαρμογή εδώ και πολλές δεκαετίες, κυρίως στην επεξεργασία ιλύος, με στόχο την μείωση των στερεών και της υγρασίας (σταθεροποίηση της ιλύος). Ο σχεδιασμός αναερόβιων αντιδραστήρων που επιτυγχάνουν σημαντική μείωση των διαλυτών οργανικών σε μικρούς χρόνους παραμονής είχε ως αποτέλεσμα, η αναερόβια χώνευση να μπορεί να συναγωνισθεί τα αερόβια συστήματα και στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Επίσης, τα τελευταία χρόνια, λόγω της εκτεταμένης χρήσεως των Χ.Υ.Τ.Α που πλέον τείνουν να καταργηθούν, έχουν αναπτυχθεί βιολογικά συστήματα για την αναερόβια χώνευση του οργανικού κλάσματος των στερεών απορριμμάτων.

Γενικά, τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της αναερόβιας επεξεργασίας είναι (Malina et al, 1992): α) Η μικρή παραγωγή βιολογικής ιλύος, β) Η υψηλή απόδοση της επεξεργασίας, γ) το χαμηλό αρχικό κεφάλαιο, δ) η μη απαίτηση οξυγόνου, ε) η παραγωγή μεθανίου (καύσιμο), στ) οι μικρές απαιτήσεις σε θρεπτικά, και ζ) το χαμηλό λειτουργικό κόστος. Από την άλλη μεριά, η σχετικά μεγάλη ευαισθησία της διεργασίας και η λειτουργία της σε υψηλές θερμοκρασίες ($30-35^{\circ}C$ ή $50-55^{\circ}C$) μπορούν να αποτελέσουν μειονεκτήματα για την αποδοτική εφαρμογή της. Σε γενικές γραμμές, η μέχρι τώρα εμπειρία από την λειτουργία των μονάδων έδειξε ότι

η αναερόβια χώνευση είναι περισσότερο συμφέρουσα για επεξεργασία λυμάτων με οργανικό φορτίο πάνω από 2.000 mg COD/L. Ωστόσο δεν αποκλείεται η επιτυχία συστημάτων που λειτουργούν και κάτω από αυτό το όριο (Scheliinkhout and Collazos, 1991, Draaijer et al, 1991).

Στη συνέχεια, θα μελετηθούν οι τεχνολογικές εφαρμογές της αναερόβιας χώνευσης στην επεξεργασία υλός, υγρών και στερεών αποβλήτων και οι συνθήκες που πρέπει να υπάρχουν για την σωστή λειτουργία των συστημάτων αυτών.

2.4.2 Αναερόβια επεξεργασία υλός

Η αναερόβια επεξεργασία της υλός έχει ως στόχο την μετατροπή της σε ένα αβλαβές και αφυδατωμένο υλικό. Κατά τη διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης, ένα κλάσμα των οργανικών στερεών μετατρέπεται βιολογικά σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, ενώ πολλοί παθογόνοι μικροοργανισμοί καταστρέφονται. Το τελικό προϊόν είναι μια σταθεροποιημένη υλός που μπορεί να εναποτεθεί με ασφάλεια στο έδαφος.

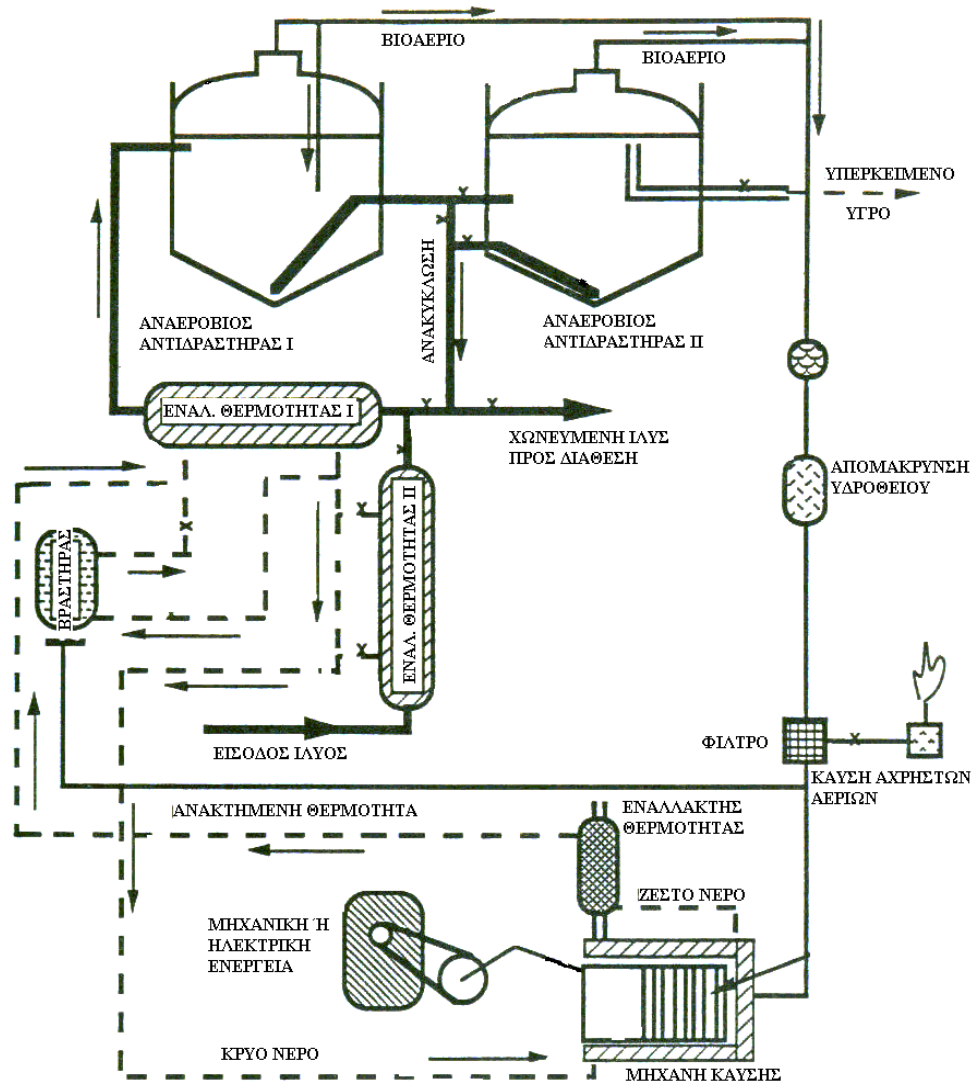
Η μείωση της μάζας και του όγκου της υλός από τη μετατροπή των πτητικών στερεών του οργανικού υλικού σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, συνήθως φθάνει το 30-40% της αρχικής προστιθέμενης ποσότητας (Malina et al, 1992). Η σταθεροποιημένη υλός μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό σε αγροτικές καλλιέργειες καθώς περιέχει άζωτο, φώσφορο και άλλα θρεπτικά.

Για την αποδοτική λειτουργία ενός αναερόβιου αντιδραστήρα, απαιτείται να ρυθμιστούν διάφοροι παράμετροι του συστήματος όπως είναι το pH, η αλκαλικότητα, η θερμοκρασία, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής κ.α. Στον πίνακα 6 αναφέρονται οι βέλτιστες και οι μέγιστες συνθήκες λειτουργίας αναερόβιας επεξεργασίας υλός.

Πίνακας 6 Περιβαλλοντικές και λειτουργικές συνθήκες για μέγιστη παραγωγή μεθανίου κατά την αναερόβια χώνευση υλός (Malina et al, 1992).

Μεταβλητή	Βέλτιστη τιμή	Ακραίες τιμές
pH	6.8-7.4	6.4-7.8
Οξειδοαναγωγικό δυναμικό (ORP) (mV)	-520 με -530	-490 με -550
Πτητικά οξέα (mg/l οξικού οξέος)	50-500	>2000
Αλκαλικότητα (mg/l CaCO ₃)	1500-3000	1000-5000
Θερμοκρασία		
Μεσόφιλη	30-35 °C	20-40 °C
Θερμόφιλη	50-56 °C	45-60 °C
Υδραυλικός χρόνος παραμονής (d)	10-15	7-30
Σύσταση βιοαερίου		
CH ₄ (%κ.ο)	65-70	60-75
CO ₂ (%κ.ο)	30-35	25-40

Το μεθάνιο που παράγεται από τη διεργασία μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί από το σύστημα (ως πηγή ενέργειας) για τη διατήρηση της θερμοκρασίας που λειτουργεί ο αντιδραστήρας καθώς και για την θέρμανση των κτιρίων, και την παραγωγή μηχανικής ή ηλεκτρικής ενέργειας. Στο σχήμα 2, παρουσιάζεται ένα τέτοιο ολοκληρωμένο σύστημα αναερόβιας επεξεργασίας ιλύος που χρησιμοποιεί το παραγόμενο μεθάνιο.



Σχήμα 2 Αναερόβια χώνευση συστήματος με ανάκτηση και επαναχρησιμοποίηση βιοαερίου (Βασισμένο στους Galwardi et al, 1974).

Μελέτες έδειξαν ότι παράγονται περίπου 0.75 με 1.0 m^3 βιοαερίου ανά kg πτητικών στερεών που απομακρύνονται.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Μελέτη του βιοχημικά μεθανογόνου δυναμικού

3.1.1 Πειραματική διαδικασία

Το βιοχημικά μεθανογόνο δυναμικό (Biochemical Methane Potential) είναι μια μέτρηση της βιοαποδομησιμότητας των προς εξέταση ουσιών (Owen et al, 1979) σε πειράματα διαλείποντος έργου. Στη συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιήθηκε η οδηγία του οργανισμού περιβαλλοντικής προστασίας των Ηνωμένων Πολιτειών (US Environmental Protection Agency) με τίτλο: ‘‘Fate, Transport and Transformation Test Guidelines -OPPTS 835.3400 Anaerobic Biodegradability of Organic Chemicals’’ που βασίζεται ακριβώς στη μέτρηση του βιοχημικά μεθανογόνου δυναμικού των οργανικών ενώσεων (Owen et al, 1979, Healy and Young, 1977, Miller and Wolin, 1974).

Περιληπτικά για το πείραμα: 100ml από ένα χημικά καθορισμένο αναερόβιο μέσο (Πίνακας 7), που περιέχει ριζαζουρίνη ως οξειδω-αναγωγικό δείκτη και 10 % (κ.ο) αναερόβια ιλύ προστίθενται σε ειδικά φιαλίδια (serum bottles) χωρητικότητας 160ml. Στα επιλεγμένα φιαλίδια, τοποθετήθηκαν και τα υπολείμματα κίτρου στις παρακάτω αναλογίες: εκχύλισμα κίτρου σε ποσότητες 0.5, 1.0 και 1.5 ml, στερεό υπόλειμμα κίτρου σε ποσότητες 0.5, 1.0 και 1.5 gr. Κατά τη διάρκεια του πειράματος, μετράται η παραγωγή βιοαερίου. Η βιοαποδομησιμότητα των υπολειμμάτων κίτρου υπολογίζεται συγκρίνοντας την παραγωγή βιοαερίου στα φιαλίδια που δεν περιέχουν (τυφλό) με αυτά που περιέχουν.

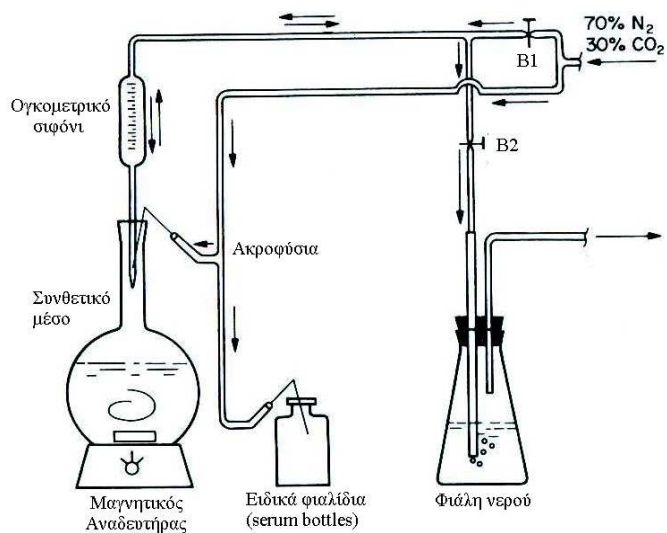
Πίνακας 7 Συστατικά του θρεπτικού μέσου

Συστατικά	Συγκέντρωση (g/l)
Διάλυμα A	
Ριζαζουρίνη	0.5
Διάλυμα B	
(NH ₄) ₂ HPO ₄	20
NH ₄ Cl	100

Διάλυμα	Γ	
	CaCl ₂	18
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	180
	KCl	130
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	2
	CoCl ₂ ·4H ₂ O	3
	H ₃ BO ₃	0.6
	CuCl ₂	0.23
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	1
	ZnCl ₂	0.2
Διάλυμα	Δ	
	FeCl ₂ ·4H ₂ O	368
Διάλυμα	Ε	
	Na ₂ S·9H ₂ O	50

Το εμβόλιο της αναερόβιας ιλύος που χρησιμοποιήθηκε προήλθε από αναερόβιο αντιδραστήρα που τροφοδοτούνταν με αστική ιλύ με υδραυλικό χρόνο παραμονής 30 ημέρες.

Κατά τη διαδικασία του πειράματος προστίθενται 8 ml διαλύματος Α, 8 ml διαλύματος Β και 40 ml διαλύματος Γ σε περίπου 3.5l απιονισμένου νερού σε κωνική φιάλη 4l. Το μέσο θερμαίνεται μέχρι βρασμού ενώ ταυτόχρονα εκχέεται στη φιάλη αέριο μίγμα N₂-CO₂ (70-30 κ.ο) για την απομάκρυνση του O₂. Όταν το μέσο έλθει σε θερμοκρασία 35°C προστίθενται 4 ml διαλύματος Δ, 40 ml δ/τος Ε, 10.56 g NaHCO₃ και 400ml αναερόβιας ιλύος. Η προσθήκη του συνθετικού υποστρώματος και της αναερόβιας μαγιάς στα δοχεία παρουσιάζεται στο σχήμα 3.



Σχήμα 3. Σχηματικό διάγραμμα της διαδικασίας για την αναερόβια μεταφορά του συνθετικού μέσου στα ειδικά φιαλίδια (serum bottles).

Με κατάλληλο άνοιγμα και κλείσιμο των βαλβίδων, επιτυγχάνεται η προθήκη του μέσου κάτω από αναερόβιες συνθήκες. Στη συνέχεια, τα φιαλίδια (serum bottles) τοποθετούνταν σε υδατόλουτρο στους 35°C για 8 περίπου εβδομάδες.

3.2 Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH γινόταν με τη χρήση φορητού πεχάμετρου HI 8224 της Hanna.



3.3 Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (ΧΑΟ)

Ως χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (ΧΑΟ) ορίζεται η ισοδύναμη ποσότητα οξυγόνου, που απαιτείται για την οξείδωση των συστατικών ενός δείγματος από ισχυρά οξειδωτικό μέσο. Ο προσδιορισμός του ΧΑΟ βασίζεται στο γεγονός ότι όλες οι οργανικές ενώσεις, με ελάχιστες εξαιρέσεις, μπορούν να οξειδωθούν από ισχυρά οξειδωτικά. Η οξείδωση του οργανικού υλικού ενός διαλύματος γίνεται από περίσσεια διχρωμικού καλίου ($K_2Cr_2O_7$) με θέρμανση και σε ισχυρά όξινες συνθήκες. Ως καταλύτης για την οξείδωση των αλειφατικών ενώσεων χρησιμοποιείται θειικός άργυρος ($AgSO_4$). Για την αποφυγή της δέσμευσης των ιόντων αργύρου από χλωριούχα, βρωμιούχα και ιωδιούχα ιόντα, τα οποία συνήθως υπάρχουν στα απόβλητα, γίνεται προσθήκη ιόντων υδραργύρου με τη μορφή θειικού υδραργύρου ($HgSO_4$), τα οποία συμπλοκοποιούνται με τα ιόντα αλογόνων, οδηγώντας τα σε ίζημα.

Ο προσδιορισμός του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου έγινε με τη μέθοδο της κλειστής επαναροής που περιγράφεται στο Standard Methods, με φωτομέτρηση στα 600 nm των ιόντων Cr^{3+} που προκύπτουν από την οξείδωση του οργανικού υλικού, ενώ του ολικού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου, με τη μέθοδο της ανοικτής επαναροής με τιτλοδότηση των ιόντων Cr^{3+} με αραιό δ/μα H_2SO_4 (0.02N) παρουσία δείκτη.

3.4 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών στερεών

Ο προσδιορισμός των ολικών και πτητικών στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την αντίστοιχη μέθοδο, που περιγράφεται στο βιβλίο “ Standard Methods for the examination of water and wastewater ”. Για τον προσδιορισμό τους, γνωστή ποσότητα καλώς αναμειγμένου δείγματος τοποθετείται σε προζυγισμένη κάψα. Το υλικό ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους σε φούρνο στους 103 –105°C. Η αύξηση του βάρους της κάψας αντιπροσωπεύει τα ολικά στερεά.

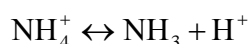
Τα πτητικά στερεά αποτελούν το κλάσμα των ολικών στερεών, το οποίο εξαερώνεται στους 550°C. Για τον προσδιορισμό τους, η κάψα στην οποία έχουν κατακρατηθεί τα ολικά στερεά πυρακτώνεται, μέχρι σταθερού βάρους σε πυραντήριο στους 550°C. Η μείωση του βάρους της κάψας αντιστοιχεί στα πτητικά αιωρούμενα στερεά.

3.5 Περιγραφή της μεθόδου μέτρησης πτητικών λιπαρών οξέων και σύστασης βιοαερίου

Για την ανάλυση των πτητικών λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε θερμοκρασιακό πρόγραμμα στη στήλη που είχε θερμοκρασία 105°C και στη συνέχεια αυξανόταν σταδιακά, αρχικά με ρυθμό 15 °C/min για 3.67 min, και μετά με ρυθμό 20 °C/min για 6.75 min. Η θερμοκρασία στον ανιχνευτή ήταν 225°C.

3.6 Προσδιορισμός αμμωνίας και ολικού αζώτου κατά Kjeldahl

Ο προσδιορισμός της αμμωνίας έγινε με τη μέθοδο της απόσταξης όπως περιγράφεται στο Standard Methods. Στο προς ανάλυση δείγμα προστίθεται ρυθμιστικό διάλυμα τετραβορικού νατρίου (Na₂B₄O₇) και υδροξειδίου του νατρίου και ρυθμίζεται το pH στο 9.5 με πυκνό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, με αποτέλεσμα να μεταφέρεται η χημική ισορροπία των ιόντων αμμωνίου προς τα δεξιά



Στη συνέχεια ακολουθεί απόσταξη, μέχρι να συλλεχθεί όγκος αποστάγματος ίσος με το 70-80% του αρχικού όγκου του δείγματος. Το απόσταγμα συλλέγεται μέσα σε μία κωνική φιάλη που περιέχει διάλυμα βορικού οξέος (H_3BO_3) και δείκτη. Ο δείκτης είναι διάλυμα προπανόλης με τις χρωστικές ουσίες methyl blue και methyl red. Το διάλυμα αυτό κατακρατεί την αμμωνία που περιέχεται στο απόσταγμα, μετατρέποντας τη σε ιόντα αμμωνίου. Στο τέλος της απόσταξης, προσδιορίζεται η ισοδύναμη ποσότητα αμμωνίας στο διάλυμα με τιτλοδότηση του αποστάγματος με πρότυπο διάλυμα θειικού οξέος.

Η μέθοδος Kjeldahl προσδιορίζει το άζωτο που βρίσκεται στην οξειδωτική βαθμίδα -3 και έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες του “Standard Methods”. Χρησιμοποιήθηκε συσκευή μικρό- Kjeldahl με φιάλες χωρητικότητας 50 ml δείγματος. Η βασική αρχή του προσδιορισμού είναι η εξής: παρουσία θειικού οξέος (H_2SO_4), θειικού καλίου (K_2SO_4) και θειικού υδραργύρου ($HgSO_4$) και κάτω από θερμοκρασία βρασμού του θειικού οξέος ($340^{\circ}C$), το οργανικό άζωτο και η ελεύθερη αμμωνία μετατρέπονται σε αμμωνιακό άλας (NH_4HSO_4), αφού προηγηθεί οξείδωση (χώνευση) του οργανικού υλικού.

Μετά το τέλος της χώνευσης, προστίθεται αντιδραστήριο υδροξειδίου του νατρίου για την ανύψωση της τιμής του pH και αντιδραστήριο θειοθειικού νατρίου ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) για τη διάσπαση των συμπλόκων του υδραργύρου με τα αμμωνιόντα, και ακολουθεί απόσταξη. Η αποσταχθείσα αμμωνία κατακρατείται από διάλυμα βορικού οξέος και δείκτη. Η ποσότητα της προσδιορίζεται εν συνεχεία με τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα θειικού οξέος 0.02 N .

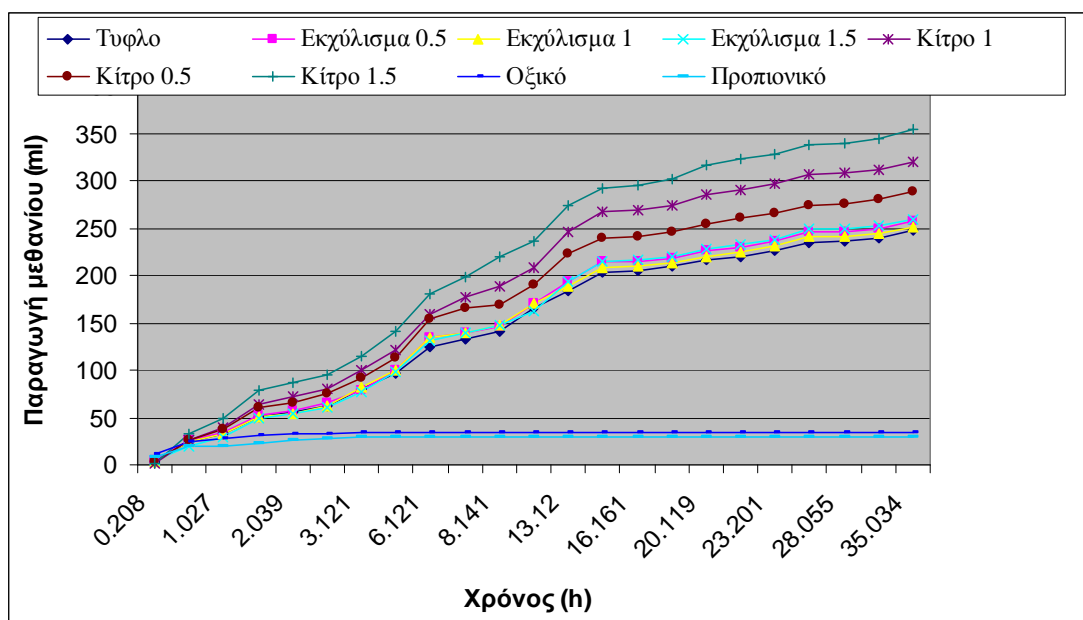
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα βασικά χαρακτηριστικά των υπολειμμάτων κίτρου. Τα υλικά αυτά είναι όξινα με σημαντική ποσότητα οργανικού υλικού. Λόγω του μειωμένου pH στο υλικό τροφοδοσίας προστέθηκε NaOH για την ρύθμιση του pH περίπου στο 7.5 καθώς και buffer $K_2HPO_4-KH_2PO_4$.

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων κίτρου που εξετάστηκαν.

Παράμετρος	Τιμή
pH	4.1 ± 0.5
Ολικά Στερεά (TS)	28.3 ± 2.5 g/l
Πτητικά Στερεά (VS)	10.4 ± 2.3 g/l
Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο	34.4 ± 3.7 g/l
Αζωτο (TKN)	1.2 ± 0.6 g/l

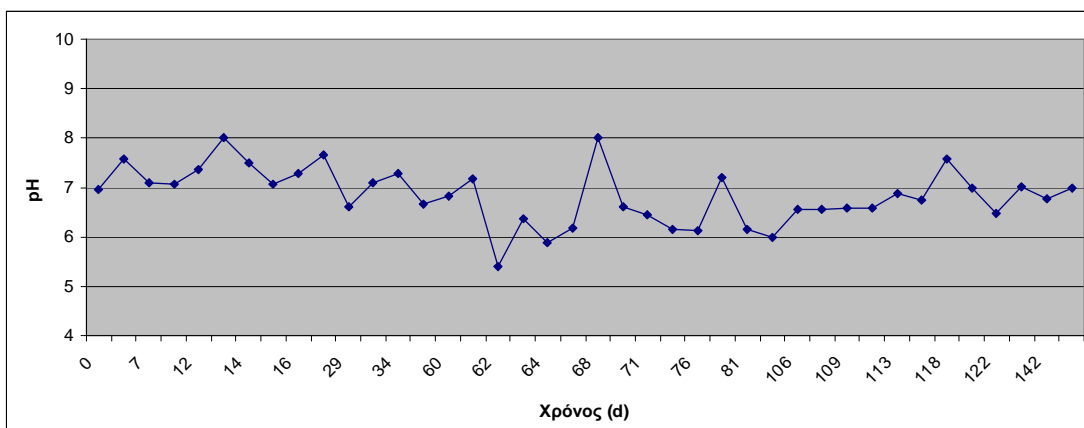
Στον διάγραμμα 1 παρουσιάζεται η παραγωγή βιοαερίου κατά την διάρκεια του πειράματος μέτρησης του βιοχημικά μεθανογόνου δυναμικού.



Διάγραμμα 1. Μέτρηση βιοχημικού μεθανογόνου δυναμικού

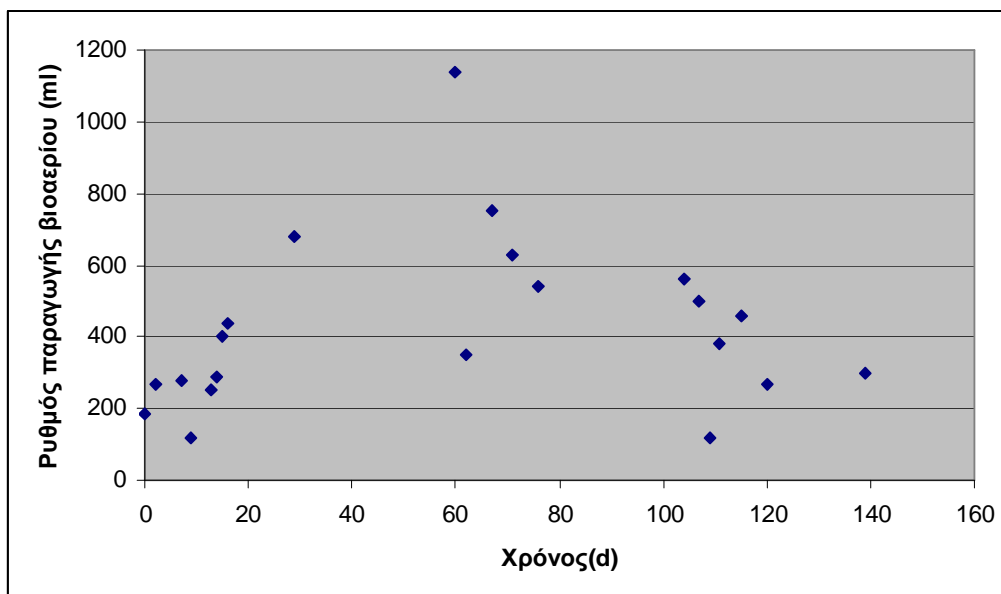
Όπως βλέπουμε τα στερεά υπολείμματα κίτρου έχουν μεγαλύτερη δυνατότητα παραγωγής βιοαερίου. Ενώ όσο αυξάνεται η ποσότητα αυξάνεται και η ποσότητα βιοαερίου που παράγεται. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι τα στερεά υπολείμματα κίτρου μπορούν να παράγουν 75.6 ± 6.9 ml βιοαερίου / gr νωπού βάρους.

Στο διάγραμμα 2 παρουσιάζεται η μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του αναερόβιου αντιδραστήρα. Η τιμή του pH διατηρείται κοντά στο 7 για διάστημα περίπου 28 ημερών. Στη συνέχεια παρατηρείται σημαντική μείωση. Επανεκκινήσεις του αντιδραστήρα με νέα προσθήκη αναερόβιας ύλης είχαν παρόμοιο αρνητικό αποτέλεσμα στον αντιδραστήρα.



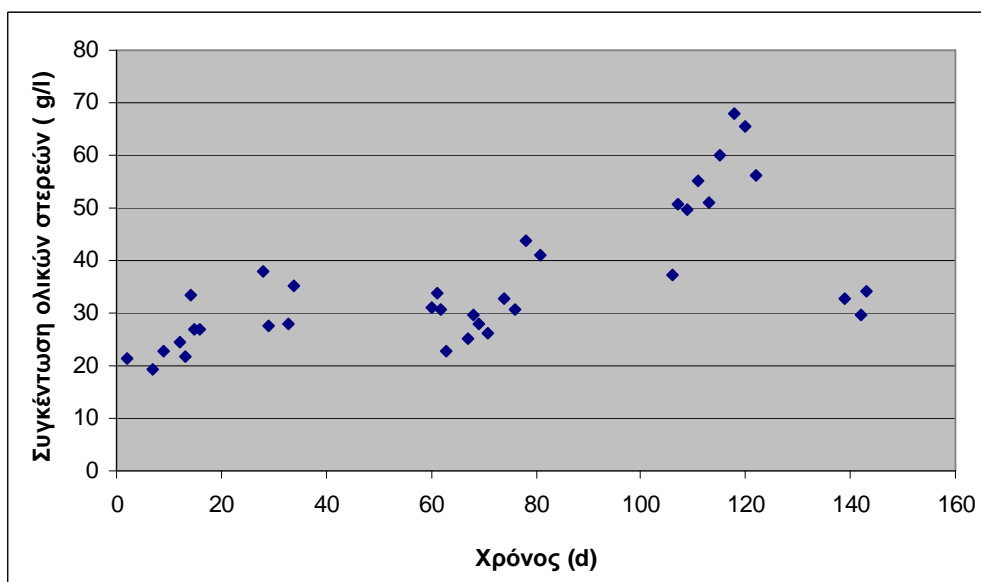
Διάγραμμα 2. Μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Αποτέλεσμα της μείωσης του pH στον αντιδραστήρα είναι να μειώνεται και ο ρυθμός παραγωγής του βιοαερίου. Όπως βλέπουμε στο διάγραμμα 3 στις πρώτες 28 ημέρες ο ρυθμός παραγωγής βιοαερίου αυξάνει μέχρι περίπου 700ml /ημέρα αλλά στη συνέχεια λόγω της απότομης πτώσης του pH διακόπτεται η παραγωγή του βιοαερίου. Οι επανεκκινήσεις του αντιδραστήρα είχαν το ίδιο αποτέλεσμα δηλαδή την σταδιακή μείωση του ρυθμού παραγωγής βιοαερίου. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τα απόβλητα του κίτρου περιέχουν ουσίες τοξικές για την αναερόβια διεργασία επομένως δεν ενδείκνυται για αυτού του είδους στα απόβλητα. Η παρουσία κυρίως λιμονένιου (limonene) αλλά και άλλων αρωματικών ενώσεων στα απόβλητα κίτρου παρεμποδίζει τους αναερόβιους μικροοργανισμούς (Mizuki et al., 1990).



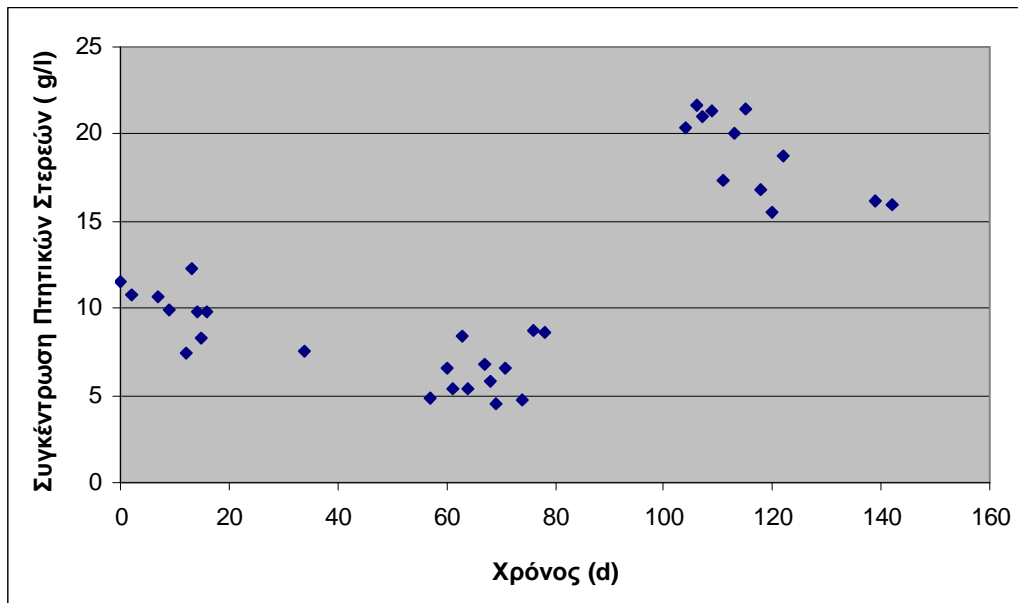
Διάγραμμα 3. Μεταβολή του ρυθμού παραγωγής βιοαερίου κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Στα διαγράμματα 4 και 5 παρουσιάζεται η μεταβολή των ολικών και των αιωρούμενων στερεών στους αντιδραστήρες. Η συγκέντρωση των ολικών στερεών στην αναερόβια ιλύ ήταν 20-30 g/l ενώ κατά την διάρκεια της τροφοδοσίας τους με απόβλητα κίτρου παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των στερεών.

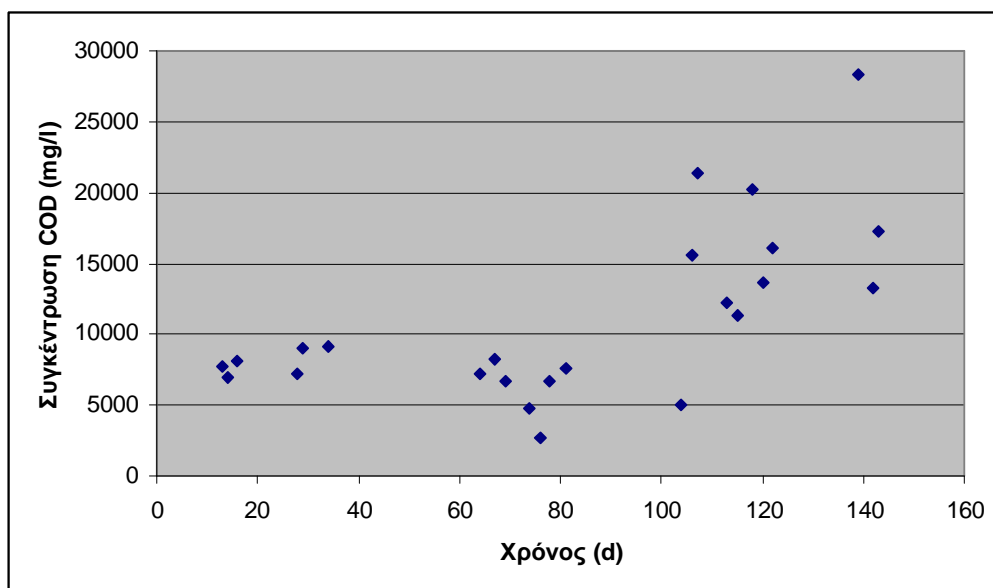


Διάγραμμα 4. Μεταβολή των ολικών στερεών (TS) κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Από την άλλη μεριά η συγκέντρωση των πτητικών στερεών παρέμενε σχεδόν σταθερή κατά την διάρκεια των τριών εκκινήσεων του αναερόβιου αντιδραστήρα. Τέλος το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο στον αντιδραστήρα ήταν 6.000-8.000 mg/l για τις δυο πρώτες εκκινήσεις ενώ σημαντικά μεγαλύτερο στην τρίτη περίπτωση (12.000-20.000).



Διάγραμμα 5. Μεταβολή των Πτητικών στερεών (VS) κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.



Διάγραμμα 6. Μεταβολή του Χημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD) κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι :

- Τα υπολείμματα κίτρου περιέχουν σημαντικές ποσότητες διαλυτών και μη διαλυτών υδατανθράκων καθιστώντας ιδανικά για την παραγωγή βιοκαυσίμων όπως το βιοαέριο
- Η παρουσία λιμονένιου και άλλων αρωματικών ενώσεων παρεμποδίζει την αναερόβια επεξεργασία
- Δεν είναι εφικτή η σταθερή παραγωγή βιοαερίου από ανεπεξέργαστα υπολείμματα κίτρου
- Απαιτείται προ-επεξεργασία των αποβλήτων κίτρου για την μείωση του λιμονένιου (πχ απόσταξη)
- Συνιστάται στο μέλλον να εξεταστεί η συν-επεξεργασία των αποβλήτων κίτρου με άλλα οργανικά απόβλητα (πχ κοπριές)

Βιβλιογραφία

1. Boone D.R. (1991) Strain GP6 is proposed as the neotype strain of *Methanotherix soehngeni* pro synonym. *Methanotherix cocillii* and *Methanosaeta concillii*. Request for an opinion. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**, 588-589.
2. Cross, W.H., Chian, S.K., Pohland, F.G., Harper, S., Kharkar, S., Cheng, S.S. and Lu, F. (1983) "Anaerobic Biological Treatment of Coal Gasifier Effluent", in Biotechnology and Bioengineering Symposium No 12, Scott, C.D. editor., John Wiley & Sons, 349-36.
3. Draaijer, H., Maas, J.A.W., Schaapman, J.E. and Khan, A. (1991) "Performance of the 5 mld UASB Reactor for Sewage Treatment at Kanpur, India" 6th Int. Symp. Anaerobic Digestion, May, Sao Paulo, Brazil, 115-124.
4. Ferry J.G. (1993) Methanogenesis- ecology, physiology, biochemistry & genetics. Chapman & Hall Microbiology Series.
5. Hayes, T.D. and Theis, T.L. (1978) " The distribution of heavy metals in anaerobic digestion". *J Water Poll Control Fed.* **50**, 61-72.
6. Healy J.B. and Young L.Y. (1977) Anaerobic biodegradation of eleven aromatic compounds to methane. *Appl Environ Microbiol.* **38**, 84-89.
7. Galwardi, E.F., Behn, V., Humenick, M.J., Malina, J.F., Gloyna, E.F. (1974) " Recovery of Useable Energy from Treatment of Municipal Wastewaters" Technical Report EHE-74-06, CRWR-116, Center for Research in Water Resources, The University of Texas at Austin
8. Gunaseelan V.N. (1997) Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review. *Biomass and Bioenergy.* **13**, 83-114.
9. Iconomou, D., Zervas, G., Melanitou, M., Fegeros, K. and Papayianopoulou, D. (2001). Fermentability of dried citrus pulp and their nutritive value in sheep (υπό δημοσίευση)
10. Kiener A. and Leisinger T. (1983) Oxygen sensitivity of methanogenic bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* **150**, 249-253.
11. Madigan T., Brock T.D. et al (1997) Biology of Microorganisms.
12. Malina J.F., Pohland F.G. Jr. (1992) Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. Water Quality Management Library. Vol 7.
13. Miller T.L. and Wolin M.J. (1974) A serum bottle modification of the hungate technique for cultivating obligate anaerobes. *Appl Microbiol.* **27**(5), 985-987.

14. Mizuki E, Akao T and Saruwatari T, Inhibitory effect of *Citrus unshu* peel on anaerobic digestion. *Biol Wastes* **33**:161–168 (1990).
15. Owen, W.F., Stuckey, D.C., Healy, J.B., Young, L.Y. and McCarty, P.L. (1979) Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Res.* **13**, 485-492.
16. Pavlostathis S.G. and Giraldo-Gomez E. (1991) Kinetics of anaerobic Treatment: a critical review. *Critical reviews in Environ Control.* **21**(5-6), 411-490.
17. Pind, F.P., Angelidaki, I., Ahring, B.K. (1999) The use of VFA measurements as process indicators in anaerobic reactors treating manure. II, 41-44. IAWQ. II International symposium on anaerobic digestion of solid waste. Barcelona 15-17 June.
18. Scheliinkhout A. and Collazos J. (1991) "Full scale Application of the UASB Technology for Sewage Treatment" 6th Int. Symp. Anaerobic Digestion, May, Sao Paolo, Brazil, 145-152.
19. Stronach, S.M., Rudd, T. and Lester, J.N. (1986) Anaerobic digestion processes in industrial wastewater treatment, Springer-Verlag. 21-38.
20. Toerien D.F. and Hattingh W.H.J. (1969) Anaerobic digestion I. The microbiology of anaerobic digestion. *Water Res.* **3**, 385-416.
21. Zeeman, G., Vens, T.J.M., Koster-Treffers, M.E. and Lettinga, G. (1988) Start-up of low temperature digestion of manure. In *Anaerobic Digestion 1988*, Hall E.R. and Hobson P.N. Ed., Pergamon Press, Oxford, 397-406.
22. Αγγελής Γ. (2000) Ολοκληρωμένη διαχείριση αποβλήτων ελαιουργείων με χρήση αυτόνομων και συνδυασμένων βιοτεχνολογικών μεθόδων επεξεργασίας. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών. Σχολή Πολυτεχνική. Τμήμα Χημικών Μηχανικών.
23. Γαλάνη Μ. (2011) «Η καλλιέργεια της κιτριάς και οι μετασυλλεκτικοί χειρισμοί του παραδοσιακού κίτρου Νάξου». Πτυχιακή Εργασία, ΤΕΙ Κρήτης, Ηράκλειο.
24. Φουντουλάκης Μ. (2005) Τύχη και επιπτώσεις ξενοβιοτικών ουσιών κατά την αναερόβια χώνευση στερεών και υγρών αποβλήτων. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών. Σχολή Πολυτεχνική. Τμήμα Χημικών Μηχανικών.
25. Στατιστικά, Υπουργείου Γεωργίας, 1999.
26. <http://www.cretancitron.gr>
27. http://books.google.gr/books?id=s_1CDA4t44jIC&pg=PA1&dq=%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CE%BB%CE%B1%CE%BF%CF%82+%CF%87%CF%81+%CF%83%CE%B5%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%82+1963&hl=el&sa=X&ei=EeMGT4O5BsiZOvvZxKkB&ved=0CDEQ6AEwAA#v=onepage&q=%CE%BD%C

[E%B9%CE%BA%CE%BF%CE%BB%CE%B1%CE%BF%CF%82%20%CF%87%CF%81.%20%CF%83%CE%B5%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%82%201963&f=false](#)