



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

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ ΑΠΟ ΧΑΡΟΥΠΙΑ ΜΕ
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΥΟ ΦΑΣΕΩΝ»**



**ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: ΙΕΡΩΝΥΜΑΚΗΣ ΓΙΩΡΓΟΣ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΦΟΥΝΤΟΥΛΑΚΗΣ ΜΙΧΑΛΗΣ**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2009

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
2. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ (ΑΧ).....	7
2.1. Ιστορική αναδρομή	7
2.2. Βιολογική διαδικασία	8
3. ΜΕΘΑΝΟΓΕΝΕΣΗ.....	10
3.1. Μικροβιολογία της αναερόβιας επεξεργασίας.....	10
3.1.1. Μικροβιολογία της μη μεθανογόνου φάσης.....	13
3.1.2. Μεταβολισμός των μη μεθανογόνων βακτηρίων	14
3.1.3. Μικροβιολογία της μεθανογόνου φάσης	16
3.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια χώνευση.....	18
3.2.1. Θερμοκρασία.....	18
3.2.2. pH	19
3.2.3. Αλκαλικότητα.....	20
3.2.4. Θρεπτικά στοιχεία.....	21
3.2.5. Τοξικές ουσίες.....	21
4. ΥΔΡΟΓΟΝΟ	24
4.1. Εισαγωγή	24
4.1.1. Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας	24
4.2. Τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης	28
4.3. Ανάσχεση της μεθανογένεσης με στόχο την παραγωγή υδρογόνου.....	31
4.4. Αναερόβιος μεταβολισμός οργανικής ύλης για παραγωγή υδρογόνου..	33
4.5. Υδρόλυση στη αναερόβια χώνευση	35
4.5.1. Γενικά.....	35
4.5.2. Υδρόλυση υδατανθράκων	36
4.6. Οξεογένεση στην αναερόβια χώνευση	38
4.7. Ζύμωση σακχάρων και προιόντα	38
4.8. Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.....	39
4.8.1. Θρεπτικά συστατικά και παρεμποδιστές	39
4.8.2. Λειτουργικές παράμετροι.....	40
5. ΧΑΡΟΥΠΙΑ <i>CERATONIA SILIQUA</i>	42
5.1. Γενικά – Χρήσεις.....	42

5.2. Φυσιολογία	44
6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	46
6.1. Εισαγωγή	46
6.2. Παραγωγή διαλύματος	46
6.3. Μέτρηση pH	46
6.4. Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (ΧΑΟ)	47
6.5. Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών.....	47
6.6. Περιγραφή της μεθόδου μέτρησης πτητικών λιπαρών οξέων και σύστασης βιοαερίου	48
6.7. Προσδιορισμός αμμωνίας και ολικού αζώτου κατά Kjeldahl	48
6.8. Προσδιορισμός ολικών και διαλυτών υδατανθράκων.....	49
7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	50
7.1. Πειραματική διάταξη	50
7.1.1. Αντιδραστήρας παραγωγής μεθανίου.....	50
7.1.2. Αντιδραστήρας παραγωγής βιο-υδρογόνου.....	51
7.2. Τροφοδοσία.....	52
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΑΝΑΛΥΣΗ.....	54
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	58

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαρκώς αυξανόμενη τιμή του πετρελαίου, αλλά και η με βεβαιότητα εξάντληση του στις αμέσως επόμενες δεκαετίες, περιβαλλοντικές επιπτώσεις από την καύση στερεών και υγρών καυσίμων και η συνεχώς αυξανόμενη κατανάλωση ενέργειας, είναι οι παράγοντες που σκιαγραφούν το ενεργειακό πρόβλημα του πλανήτη.

Μετά τις ενεργειακές κρίσεις της δεκαετίας του '70 η Ελληνική ενεργειακή πολιτική με γνώμονα την ενεργειακή ανεξάρτηση στηρίχθηκε στην εκμετάλλευση του λιγνίτη. Αργότερα προστέθηκαν και τα μεγάλα υδροηλεκτρικά. Η ανάγκη διαφοροποίησης των πηγών και οι παγκόσμιες εξελίξεις στη δεκαετία του '80 οδήγησαν στην επιλογή του φυσικού αερίου ως συμπληρωματικής ενεργειακής πηγής. Είναι γεγονός ότι τόσο το πετρέλαιο και ο λιγνίτης όσο και το φυσικό αέριο έχουν περιορισμένα κοιτάσματα. Σε μερικές δεκαετίες θα εξαντληθούν. Δεν απομένουν μακροπρόθεσμα παρά μόνο δύο επιλογές: η πυρηνική ενέργεια και οι Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας (ΑΠΕ).

Οι περισσότερες από τις αναπτυγμένες κοινωνίες έχουν διαμορφώσει επιφυλακτική ή απορριπτική στάση απέναντι στην προοπτική της πυρηνικής ενέργειας. Οι κύριοι λόγοι είναι αφενός η απειλή των τεράστιων και μακροχρόνιων συνεπειών από τα ενδεχόμενα ατυχήματα, αφετέρου η μη ασφαλής διάθεση των αποβλήτων. Στην Ελλάδα η πυρηνική επιλογή έχει από καιρό αποκλειστεί. Οι ΑΠΕ είναι οι μόνες πηγές ενέργειας που δεν επιβαρύνουν το περιβάλλον και μπορούν να στηρίξουν μια συνολική συγκροτημένη και αξιόπιστη πρόταση ικανή να αποτελέσει μακροπρόθεσμα τα επόμενα ενεργειακό δόγμα της χώρας.

Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας (ΑΠΕ) χαρακτηρίζονται οι πηγές ενέργειας που έχουν τα εξής χαρακτηριστικά:

- α) είναι ανεξάντλητες και
- β) δεν προκαλούν ρύπανση στο περιβάλλον.

Οι τεχνολογίες των ΑΠΕ διαφέρουν μεταξύ τους σε σχέση με την αποδοτικότητα, την εφαρμοσιμότητα και την εξέλιξη τους. Χαρακτηρίζονται ως ώριμες, εκείνες για τις οποίες έχει διαμορφωθεί κάποια αγορά έστω και εξειδικευμένη και έχουν ξεφύγει από το ερευνητικό-πυλοτικό στάδιο. Είναι ήδη ή πλησιάζουν να γίνουν οικονομικά εκμεταλλεύσιμες ιδιαίτερα όταν συνυπολογιστεί και το εσωτερικό

κόστος της παραγόμενης ενέργειας (περιβαλλοντολογικό-κοινωνικό). Σαν τέτοιες μπορούν να χαρακτηριστούν τα συστήματα ενεργειακής αξιοποίησης της βιομάζας, τα συστήματα εκμετάλλευσης της αιολικής, της υδροδυναμικής και της γεωθερμικής ενέργειας, τα φωτοβολταϊκά και τα θερμικά ηλιακά συστήματα ενώ στην κατεύθυνση της εξοικονόμησης ενέργειας, τα παθητικά ηλιακά συστήματα.

Εκτός από τις λεγόμενες ώριμες υπάρχουν και άλλες όχι τόσο εξελιγμένες τεχνολογίες ΑΠΕ όπως η τεχνολογία των κυψελίδων καυσίμων, οι τεχνολογίες για την εκμετάλλευση της ενέργειας των θαλασσίων κυμάτων ή της θερμικής ενέργειας των ωκεανών και τα θερμικά ηλιακά συστήματα ισχύος. Σε αυτή την μελέτη θα ασχοληθούμε με ένα από τα συστήματα ενεργειακής αξιοποίησης της βιομάζας που ονομάζεται Αναερόβια Χώνευση (ΑΧ), ή Αναερόβια Διαδικασία (ΑΔ), ή Αναερόβια ζύμωση.

Τα τελευταία χρόνια η διεθνής κοινότητα δείχνει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον στις εναλλακτικές και ανανεώσιμες μορφές ενέργειας. Η νέα Ευρωπαϊκή οδηγία έχει ήδη επιβάλει από το Μάρτιο του 2003 την εκτεταμένη χρήση των βιοκαυσίμων στον τομέα των μεταφορών για τα επόμενα χρόνια. Το βιοντίζελ είναι ένα υγρό καθαρό βιοκαύσιμο που παράγεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας.

Η μέθοδος παραγωγής βιοντίζελ που εφαρμόζεται παγκοσμίως είναι η μετεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων, που αποτελούν το κύριο συστατικό των φυτικών ελαίων και ζωικών λιπών.

Έτσι παρατηρείται μια αλματώδη αύξηση στην σύνθεση βιοντίζελ. Στην Ευρώπη για παράδειγμα, η ετήσια παραγωγή του συγκεκριμένου βιοκαυσίμου, από 1.065.000 τόνους το 2002 ανήλθε στους 3.184.000 τόνους το 2005 και στους 6.069.000 τόνους το 2006 (*European Biodiesel Board, 2006*).

Η παραγωγή βιολογικών καυσίμων-βιοαιθανόλης και βιοντίζελ-από γεωργικές πρώτες ύλες έχει αρχίσει πρόσφατα να αναπτύσσεται έπειτα και από την ενθάρρυνση και τις Οικονομικές ενισχύσεις της Ευρωπαϊκής κοινότητας. Εργοστάσια επεξεργασίας των τεύτλων και των σιτηρών για παραγωγή βιοαιθανόλης έχουν δημιουργηθεί στην Γαλλία και την Ισπανία ενώ εργοστάσια αξιοποίησης του κραμβέλαιου για παραγωγή βιοντίζελ υπάρχουν στην Γερμανία και αλλού. Η στροφή από τη διατροφική γεωργία στην Ενεργειακή γεωργία αναμένεται να ενταθεί τα προσεχή χρόνια ιδιαίτερα μετά τον περιορισμό των επιδοτήσεων της Κ.Α.Π. στην Ευρωπαϊκή γεωργία. Στην Ελλάδα ο τομέας της παραγωγής βιοκαυσίμων παρά τη

γενικευμένη κρίση της Ελληνικής γεωργίας δεν έχει αναπτυχθεί ακόμη και το ενδιαφέρον περιορίζεται στην εκπόνηση μελετών και στη διενέργεια ερευνητικών προγραμμάτων. Στον πίνακα 1.1 φαίνεται η παραγωγή των βιολογικών καυσίμων σήμερα στην Ε.Ε.

Πίνακας 1.1: Παραγωγή Βιολογικών Καυσίμων στην Ε.Ε. – 2000 (TN)

Χώρα	Αιθανόλη	Βιοντίζελ
Γαλλία	91.000	328.600
Ισπανία	80.000	-
Σουηδία	20.000	-
Γερμανία	-	246.000
Ιταλία	-	78.000
Αυστρία	-	27.600
Βέλγιο	-	20.000
ΣΥΝΟΛΟ	191.000	700.200

2. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ (ΑΧ)

2.1. Ιστορική αναδρομή

Η παραγωγή βιοαερίου μέσω της Αναερόβιας Χώνευσης (ΑΧ) είναι μια μέθοδος γνωστή από την αρχαιότητα. Το 10 αιώνα Π.Χ οι Ασσύριοι χρησιμοποιούσαν το βιοαέριο για θέρμανση του νερού αλλά και ακόμη πρωτότερα, το 18 αιώνα Π.Χ οι Πέρσες. Ο Βενιαμίν Φραγκλίνος ήταν ο πρώτος που ανέφερε το 1764 ότι μπορούσε να βάλει φωτιά σε μια μεγάλη επιφάνεια ρηχής λασπώδους λίμνης στο New Jersey. Ο Alexander Volta στην Ιταλία ήταν ο πρώτος που περιέγραψε επιστημονικά το σχηματισμό του βιοαερίου σε έλη και σε ιζήματα λιμνών το έτος 1776. Έναν αιώνα αργότερα ο Bechamp, απέδειξε την προέλευση του μεθανίου από μικροβιακή δράση, χρησιμοποιώντας ένα θρεπτικό μέσο πλούσιο σε αιθανόλη το οποίο είχε εμβολιάσει με περιττώματα κουνελιού.

Κατά το τέλος του 19 αιώνα και τις αρχές του 20 αιώνα αρκετοί μικροβιολόγοι, μεταξύ των οποίων οι Popoff, Hoppe-Seyler, Omelianskii, ασχολήθηκαν με την μελέτη της μεθανογένεσης. Η πρώτη απομόνωση και καθαρή καλλιέργεια μεθανογόνου μικροοργανισμού έγινε από τον Barker το 1936 και ήταν ο *Methanobacillus omelianskii*.

Οι πρώτες αναερόβιες εγκαταστάσεις για επεξεργασία αποβλήτων, εμφανίζονται στην Ινδία το 1859 για την επεξεργασία ζωικών αποβλήτων. Η πρώτη μονάδα για την επεξεργασία των στερεών της λάσπης καθιζήσεως από αστικά λύματα, κατασκευάστηκε γύρω στα 1860 στη Γαλλία στην πόλη Vesoul από το Louis Mourais. Η διαπίστωση ότι κατά την χώνευση των στερεών αποβλήτων παράγεται καύσιμο αέριο που περιέχει μεθάνιο έγινε από τον Donald Cameron που κατασκεύασε την πρώτη σηπτική δεξαμενή στην πόλη Exter της Αγγλίας το 1895 και χρησιμοποίησε το αέριο για δημόσιο φωτισμό. Το 1962 εγκαταστάθηκε στη Γερμανία ο πρώτος θερμαινόμενος χωνευτήρας. Αυτό σήμανε την αρχή της συστηματικής βιομηχανικής παραγωγής βιοαερίου.

Στη δεκαετία του 1950, δημιουργήθηκαν 40 περίπου πιλοτικές εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαερίου από κτηνοτροφικά απόβλητα, οι οποίες χρησιμοποιούσαν το παραγόμενο αέριο, για να ζεστάνουν τις ίδιες τις κτηνοτροφικές μονάδες. Οι

εγκαταστάσεις αυτές κρίθηκαν ως οικονομικά ασύμφορες εξαιτίας της χαμηλής τιμής των υγρών καυσίμων την περίοδο εκείνη.

Η πρώτη πετρελαϊκή κρίση του 1973 επανάφερε στο προσκήνιο το ενδιαφέρον για εναλλακτικές μορφές ενέργειας μεταξύ των οποίων και η Αναερόβια Χώνευση (ΑΧ). Πολλές ερευνητικές προσπάθειες έγιναν σε Ευρώπη και Αμερική με σκοπό κυρίως την παραγωγή ενέργειας. Τα αρχικά προβλήματα ξεπεράστηκαν και κατά τις δυο τελευταίες δεκαετίες η τεχνολογία βελτιώθηκε σε μεγάλο βαθμό. Τους αντιδραστήρες της πρώτης γενεάς, που χαρακτηρίζονταν από τον μεγάλο όγκο και τη μεγάλη χρονική διάρκεια παραμονής των αποβλήτων σε αυτούς, διαδέχτηκαν οι αντιδραστήρες της δεύτερης γενεάς με μικρότερο όγκο και συντομότερο χρόνο παραμονής των αποβλήτων.

2.2. Βιολογική διαδικασία

Αναερόβια Χώνευση (ΑΧ) είναι η αποδόμηση του βιοαποδομήσιμου κλάσματος της οργανικής ύλης με τη δράση αναερόβιων μικροοργανισμών (μ/ο). Η ΑΧ είναι μια φυσική διαδικασία ευρέως διαδεδομένη σε φυσικά περιβάλλοντα, όπως έλη, λίμνες ή θαλάσσια ιζήματα όπου δεν υπάρχει οξυγόνο. ΑΧ πραγματοποιείται επίσης, στο πρώτο στομάχι των μηρυκαστικών.

Το περιβάλλον που είναι κατάλληλο για την ανάπτυξη των αναερόβιων μ/ο πρέπει να διαθέτει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- Χαμηλή συγκέντρωση κατιόντων
- Ουδέτερο προς αλκαλικό pH (7,0 – 9,0)
- Απουσία τοξικών ουσιών
- Απουσία οξυγόνου
- Κατάλληλη ρυθμιστική ικανότητα
- Κατάλληλη θερμοκρασία (10 – 60 °C)

Ανάλογα με τη θερμοκρασία που επικρατεί διακρίνουμε τρεις κατηγορίες αναερόβιων βακτηρίων και τρεις αντίστοιχα τύπους ΑΧ:

- Για θερμοκρασίες 10 – 20 °C αναπτύσσονται ψυχρόφιλα αναερόβια βακτήρια (ψυχρόφιλος τύπος).
- Για θερμοκρασίες 20 – 40 °C αναπτύσσονται μεσόφιλα αναερόβια βακτήρια (μεσόφιλος τύπος).

- Για θερμοκρασίες 40 – 60 °C αναπτύσσονται θερμοφιλα αναερόβια βακτήρια (θερμόφιλος τύπος).

Η ΑΧ είναι μια βαθμιδωτή βιολογική διεργασία που λαμβάνει χώρα σε τρεις φάσεις και συμμετέχουν περισσότερα του ενός είδη βακτηρίων:

- 1 Φάση: Υδρόλυση των σύνθετων οργανικών ενώσεων σε απλούστερες με τη βοήθεια έξω-ενζύμων τα οποία παράγονται από τα οξεοπαραγωγά βακτήρια.
- 2 Φάση: Σχηματισμός οξέων με τη βοήθεια των προαναφερθέντων βακτηρίων. Τα βακτήρια αυτά αποδομούν τα προϊόντα της υδρόλυσης της πρώτης φάσης. Επιπλέον απελευθερώνονται H₂ και CO₂ σε μικρές ποσότητες.
- 3 Φάση: Παραγωγή μεθανίου με τη δράση των οξεοτρόφων μεθανοβακτηρίων τα οποία αποδομούν τα οξέα (κυρίως οξικό οξύ) που σχηματίστηκαν στην προηγούμενη φάση.

Ουσιαστικά διακρίνονται δυο κύριες διεργασίες, αυτή της υδρόλυσης (1 & 2 φάση) και αυτή της παραγωγής μεθανίου (3 φάση). Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιείται μέσα σε ειδικές δεξαμενές απουσία οξυγόνου, που ονομάζονται αναερόβιοι αντιδραστήρες, με αποτέλεσμα την έκλυση ενός μίγματος αερίων, γνωστό ως βιοαέριο. Η ποσότητα του βιοαερίου που θα παραχθεί, αλλά και η σύσταση του (συγκέντρωση μεθανίου) εξαρτάται από την προέλευση της οργανικής ύλης (γεωργικά, βιομηχανικά ή αστικά απόβλητα).

3. ΜΕΘΑΝΟΓΕΝΕΣΗ

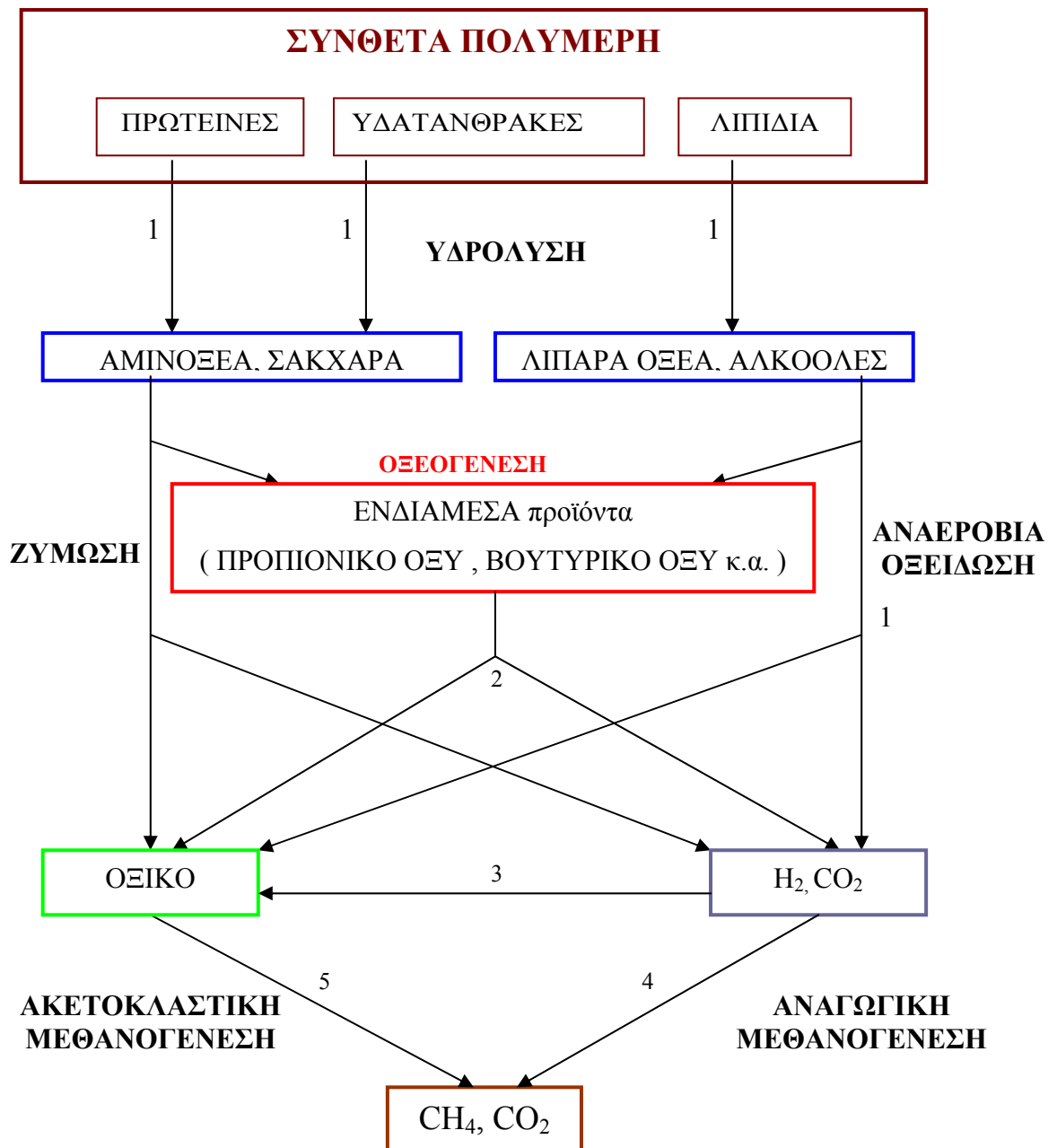
Το τελικό στάδιο της αναερόβιας χώνευσης είναι η παραγωγή μεθανίου. Η μεθανογένεση γίνεται είτε με κατανάλωση οξικού είτε με σύνθεση υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

3.1. Μικροβιολογία της αναερόβιας επεξεργασίας

Η αναερόβια βιοαποδόμηση του σύνθετου οργανικού υλικού περιγράφεται ως μια διαδικασία πολλαπλών σταδίων με οριζόντιες και παράλληλες αντιδράσεις (Σχήμα 3.1). 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 3.1.

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 3.1: Μετατροπή του οργανικού υλικού προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα κατά τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης.

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 3.1 παρουσιάζεται η

κατάταξη των μικροοργανισμών ανάλογα με την ικανότητα τους να χρησιμοποιούν - και με ποιο τρόπο - το οξυγόνο.

Πίνακας 3.1: Κατάταξη των μικροοργανισμών με κριτήριο τη σχέση της κυτταρικής τους λειτουργίας με το οξυγόνο.

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. Στη συνέχεια μελετώνται ξεχωριστά οι δύο αυτές κύριες ομάδες μικροοργανισμών που συμβάλλουν στην αναερόβια επεξεργασία.

3.1.1. Μικροβιολογία της μη μεθανογόνου φάσης

Έχει διαπιστωθεί η παρουσία διαφόρων ομάδων μικροοργανισμών στο στάδιο της μη μεθανογόνου φάσης της αναερόβιας χώνευσης όπως είναι τα βακτήρια, τα πρωτόζωα και οι μύκητες ενώ έχουν απομονωθεί πολλά είδη των μικροοργανισμών αυτών. Η ύπαρξη, ο αριθμός, ο τύπος και το είδος των μικροοργανισμών αυτών κάτω από αναερόβιες συνθήκες εξαρτάται από τα ποιοτικά και τα ποσοτικά χαρακτηριστικά των προς επεξεργασία αποβλήτων .

Η κύρια κατηγορία μικροοργανισμών που απαντώνται στους αναερόβιους αντιδραστήρες είναι τα βακτήρια. Στη μη μεθανογόνο φάση υπάρχουν είτε προαιρετικά αναερόβια είτε υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια.. Ο O'Shaughnessy το 1914 ανέφερε την ύπαρξη κολοβακτηριδίων, απονιτροποιητικών, λιπολυτικών και κυτταρινολυτικών βακτηρίων σε αναερόβια επεξεργασμένη ιλύ. Επίσης ο Gaub (1924) κατάφερε να απομονώσει 16 αερόβια και 5 προαιρετικά αναερόβια βακτήρια από αναερόβια λάσπη. Ωστόσο η πλειονότητα των βακτηρίων είναι αυστηρώς αναερόβια και βρίσκονται σε ποσότητες 100 φορές μεγαλύτερες από τα προαιρετικά αναερόβια. Στον πίνακα 3.2 παρουσιάζονται διάφορα είδη μη μεθανογόνων βακτηρίων που έχουν καταγραφεί στην αναερόβια χώνευση.

Όσον αφορά την υδρόλυση του σύνθετου οργανικού υλικού λαμβάνουν μέρος διάφορα βακτήρια όπως είναι τα κυτταρινολυτικά βακτήρια που παράγουν κυρίως οξικό και προπιονικό οξύ, τα ημικυτταρινολυτικά βακτήρια που παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή αμμωνίας κατά την διάσπαση των αμινοξέων, τα αμυλολυτικά βακτήρια, τα πρωτεϊνολυτικά βακτήρια και τα λιπολυτικά βακτήρια. Έχει βρεθεί ότι τα υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια παίζουν σημαντικό ρόλο στην υδρολυτική ενεργότητα του χωνευτήρα, ιδιαίτερα όταν επεξεργάζονται αστικά λύματα (*Hobson et al, 1974*). Σε παρόμοια συμπεράσματα έφθασαν και οι Toerien et al. (1967) υποστηρίζοντας ότι τα υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια είναι η κύρια ομάδα μικροοργανισμών για την παραγωγή οξέων, σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες που θεωρούσαν τα προαιρετικά αναερόβια βακτήρια ως τα σημαντικότερα για την παραγωγή οξέων.

Πίνακας 3.2: Μη μεθανογόνα βακτήρια που έχει διαπιστωθεί η παρουσία τους στην αναερόβια χώνευση.

Γένος	Είδος	Αναφορά
<i>Aerobacter</i>	<i>A.aerogenes</i>	Toerien (1967a)
<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas sp.</i>	Kotze et al. (1968)
<i>Alcaligenes</i>	<i>A. boukerii</i>	Toerien (1967b)
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i>	Hattingh et al. (1967)
<i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides sp.</i>	Post et al. (1967)
<i>Clostridium</i>	<i>C. aminovalericum</i>	Hardman and Stadman (1960)
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	McCarty et al. (1962)
<i>Leptospira</i>	<i>L. biflexa</i>	Toerien (1967b)
<i>Micrococcus</i>	<i>M. candidus</i>	Toerien (1967a)
<i>Neisseria</i>	<i>N. catarrhalis</i>	McCarty et al. (1962)
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. denitrificans</i>	Burbank et al. (1966)
<i>Sarcina</i>	<i>S. lutea</i>	Burbank et al. (1966)
<i>Streptococcus</i>	<i>S. diploides</i>	Buck et al. (1953)
<i>Streptomyces</i>	<i>S. bikiniensis</i>	Toerien (1967a)

Ορισμένα από τα βακτήρια που υπάρχουν στους αναερόβιους αντιδραστήρες, όπως τα υποχρεωτικά αερόβια νιτροποιητικά βακτήρια, εισάγονται σε αυτούς μέσω της τροφοδοσίας και θεωρούνται ‘μολυσματικοί’ μικροοργανισμοί που δεν είναι όμως σε ενεργή μορφή. Σημαντικό ρόλο στην όλη διαδικασία παίζουν δυο ιδιαίτερες μορφές αναερόβιων βακτηρίων, αυτά που ανάγουν τα SO_4^- σε υδρόθειο (*sulfate-reducing bacteria*) και τα ομοοξικογόνα που μετατρέπουν το CO_2 και το H_2 σε οξικό (*homoacetogenic*).

3.1.2. Μεταβολισμός των μη μεθανογόνων βακτηρίων

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, για την πλήρη διάσπαση του οργανικού υλικού απαιτείται ένα πλήθος διαφορετικών βακτηρίων προκειμένου να έρθουν σε πέρας ένας αριθμός αντιδράσεων απαραίτητων για την αποδόμηση του πολύπλοκου

υποστρώματος. Έχει βρεθεί η παρουσία διαφόρων εξωκυτταρικών ενζύμων όπως είναι η κελοβιάση (*cellobiase*), η πρωτεάση (*protease*) και η αμυλάση (*amylase*) σε αναερόβιους αντιδραστήρες. Τα εξωκυτταρικά ένζυμα, ή εξωένζυμα, διασπούν το σύνθετο οργανικό υπόστρωμα (λίπη, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες) σε μικρότερα μόρια.

Ειδικότερα η αποδόμηση των λιπιδίων αρχίζει με τη βοήθεια του ενζύμου λιπάση προκαλώντας β-οξειδωση. Ο τελικός δέκτης ηλεκτρονίων για την β-οξειδωση των λιπαρών οξέων μεγάλου μοριακού βάρους κάτω από αναερόβιες συνθήκες είναι το διοξείδιο του άνθρακα.

Από την άλλη μεριά, οι πρωτεΐνες διασπώνται εξωκυτταρικά σε πολυπεπτίδια και αμινοξέα από την πρωτεάση. Περαιτέρω διάσπαση των αμινοξέων γίνεται με τη βοήθεια διαφόρων διαφορετικών μηχανισμών, ανάλογα με τους μικροοργανισμούς που εμπλέκονται κάθε φορά. Τα τελικά προϊόντα της αποδόμησης των πρωτεϊνών είναι τα οργανικά οξέα.

Τέλος, οι υδατάνθρακες αποδομούνται με τη βοήθεια διαφόρων ενζύμων παράγοντας διάφορα προϊόντα όπως : υδρογόνο, διοξείδιο του άνθρακα, αιθανόλη, μυρμηκικό, οξικό, προπιονικό, βουτυρικό, βαλερικό, γαλακτικό οξύ και διάφορα άλλα οξέα. Τα προϊόντα αυτά της ζύμωσης διαφέρουν ανάλογα με το είδος ή το γένος των βακτηρίων καθώς επίσης και με τις συνθήκες που αναπτύσσονται.

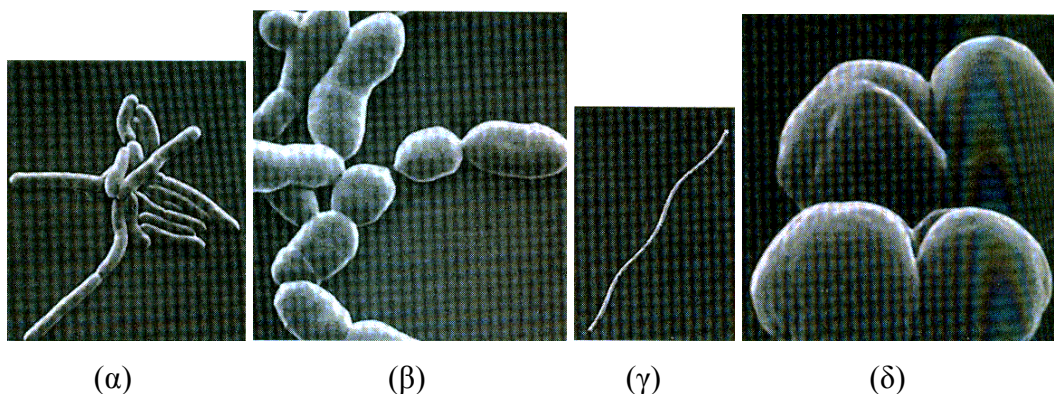
Τα τελικά προϊόντα του μη μεθανογόνου πληθυσμού είναι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, το υδρογόνο, το διοξείδιο το άνθρακα και η αμμωνία. Οι ενώσεις αυτές είναι πολύ σημαντικές για την λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης, καθώς αποτελούν ενεργειακές πηγές για την ανάπτυξη ακολούθως των βακτηρίων.

Γενικά λοιπόν μπορούμε να πούμε ότι σε ένα αναερόβιο αντιδραστήρα πραγματοποιούνται μια σειρά από πολύπλοκες βιοχημικές αντιδράσεις από διαφορετικούς σε φυσιολογία μικροοργανισμούς. Τα τελικά προϊόντα της μη μεθανογόνου φάσης χρησιμοποιούνται στη συνέχεια από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς, όπως θα δούμε παρακάτω, για την τελική μετατροπή του σύνθετου οργανικού υλικού σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα.

3.1.3. 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 κ.α.

Έχει βρεθεί μια μεγάλη ποικιλία μεθανογόνων μικροοργανισμών που διαφέρουν σε μέγεθος και σχήμα (Εικόνα 3.1). 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 3.3 παρουσιάζονται τα κύρια χαρακτηριστικά των μεθανογόνων αρχαιοβακτηρίων.



Εικόνα 3.1: 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).

Πίνακας 3.3: Χαρακτηριστικά μεθανογόνων μικροοργανισμών.

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. Στον πίνακα 3.4 παρουσιάζονται οι κυριότερες αντιδράσεις παραγωγής μεθανίου.

Πίνακας 3.4: Κυριότερες αντιδράσεις παραγωγής μεθανίου.

Αντιδράσεις		ΔG° (KJ)
Υπόστρωμα	Προϊόντα	
Τύπου CO₂		
CO ₂ + 4H ₂	→ CH ₄ + 2H ₂ O	-131
4HCOOH + 4H ⁺	→ CH ₄ + 3CO ₂ + 2H ₂ O	-145
4CO + 2H ₂ O	→ CH ₄ + 3CO ₂	-210
Μεθυλομάδες		
4CH ₃ OH	→ 3CH ₄ + CO ₂ + 2H ₂ O	-319
4CH ₃ NH ₃ Cl + 2H ₂ O	→ 3CH ₄ + CO ₂ + 4NH ₄ Cl	-230
Οξικό		
CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O	→ CH ₄ + 3CO ₂ + 2H ₂ O	-31

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. Επίσης, έχει βρεθεί ένας σημαντικός αριθμός συνενζύμων που είναι μοναδικά και τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των οργανισμών αυτών.

3.2. 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.

3.2.1. 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. 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 θερμοφιλή (55 °C με 60 °C), ανάμεσα στις οποίες οι ρυθμοί μειώνονται. Η μείωση αυτή θεωρείται ότι οφείλεται στην έλλειψη προσαρμογής των μικροοργανισμών. Ωστόσο, έχει αναφερθεί αναερόβια επεξεργασία λυμάτων σε χωνευτήρες που λειτουργούσαν ακόμη και στους 15 °C.

Αυτή η θερμοφιλική τάση των μεθανογόνων μικροοργανισμών είναι κοινή σχεδόν για όλα τα αρχαιοβακτήρια. Για να προσαρμοστεί ένας μικροοργανισμός σε υψηλές θερμοκρασίες θα πρέπει να μπορεί να διατηρήσει τη δομή και τις λειτουργίες των μακρομορίων του (πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα και λιπίδια) καθώς αυξάνει η θερμοκρασία. Φαίνεται ότι οι μεθανογόνοι έχουν αυτούς τους κατάλληλους μηχανισμούς να διατηρούν σταθερές τις πρωτεΐνες τους. επίσης, επειδή μόνο τα αρχαιοβακτήρια μπορούν να αναπτυχθούν σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 90 °C, τα λιπίδια που σχηματίζουν τη μεμβράνη θα πρέπει να έχουν ειδικά χαρακτηριστικά για να διατηρούν την συνοχή της. Αξιοσημείωτο είναι ότι ενώ οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί αντέχουν σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, απότομες μεταβολές τις θερμοκρασίας μπορούν να αποβούν μοιραίες για την διεργασία της αναερόβιας χώνευσης.

3.2.2. 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 οξικογόνοι ή οι μεθανογόνοι 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' ότι 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.

Ωστόσο, παραγωγή μεθανίου έστω και σε μικρές ποσότητες μπορεί να συμβεί είτε σε όξινο είτε σε βασικό περιβάλλον υποδηλώνοντας ότι η μεθανογένεση δεν περιορίζεται μόνο στα όρια του ουδέτερου pH. Η *Methanosarcina barkeri* και η *Methanosarcina vacuolata*, δυο μεθανοβακτήρια που καταναλώνουν οξικό, αναπτύσσονται και σε pH~5. Επίσης μεθανογόνοι μικροοργανισμοί σε βαλτώδη τύρφη παράγουν σημαντικές ποσότητες μεθανίου σε pH~3 ενώ η βέλτιστη τιμή τους είναι σε pH~6. Από την άλλη μεριά, έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη μεθανοβακτηρίων σε pH~9.

3.2.3. Αλκαλικότητα

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

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 :

$$[H^+] = k_1 \frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-]}$$

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.

3.2.4. Θρεπτικά στοιχεία

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. Παρόμοια ο βέλτιστος λόγος N:P είναι 7:1.

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 οξυκογόνων βακτηρίων. Στις περισσότερες περιπτώσεις αναερόβιας επεξεργασίας αποβλήτων τα ιχνοστοιχεία που είναι απαραίτητα βρίσκονται σε περίσσεια στην τροφοδοσία.

3.2.5. 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.

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. 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. Από την άλλη μεριά, ο μη μεθανογόνος πληθυσμός επηρεάζεται σε συγκεντρώσεις αμμωνίας μεγαλύτερες από 6000 mg/l.

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.

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 $Ni > Ca > Pb > Cr > Zn$.

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, αλογονομάδες, νιτροομάδες και θειοομάδες, παρεμποδίζουν την παραγωγή μεθανίου.

4. ΥΔΡΟΓΟΝΟ

4.1. Εισαγωγή

Το όνομα του στοιχείου αυτού δόθηκε από το Γάλλο χημικό Antoine Lavoisier και προέρχεται από τις λέξεις της αρχαίας ελληνικής γλώσσας «ύδωρ» και «γένομαι». Αναγνωρίστηκε ως ξεχωριστό στοιχείο, για πρώτη φορά, από τον Άγγλο χημικό Henry Cavendish, το 1766.

Το υδρογόνο σε θερμοκρασία δωματίου, βρίσκεται σε αέρια φάση. Είναι άοσμο, άχρωμο, μη τοξικό και εύφλεκτο. Όταν αέριο υδρογόνο καίγεται, σχηματίζεται νερό. Μπορεί να συνδυαστεί χημικά με πάρα πολλά στοιχεία, δίνοντας μεγαλύτερες ενώσεις, όπως το νερό και διάφοροι υδρογονάνθρακες, όπως το πετρέλαιο και το φυσικό αέριο. Σε καθαρή αέρια μορφή συναντάται σπάνια, παρόλο που πολλά ορυκτά και όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί περιέχουν ενώσεις του, σε πολύ μεγάλο βαθμό. Έτσι το υδρογόνο βρίσκεται σε αφθονία στο σύμπαν, αφού εμπεριέχεται στα κύτταρα, στην κερατίνη, στα ένζυμα που συντελούν στην πέψη, στα μόρια του DNA, ενώ βρίσκεται άφθονο στις τροφές υπό τη μορφή λιπών, πρωτεϊνών και υδρογονανθράκων.

Η ατμόσφαιρα αποτελείται από υδρογόνο σε ποσοστό 0.07%, ενώ στην επιφάνεια της γης το 0.14 % είναι υδρογόνο. Είναι το ελαφρύτερο στοιχείο του Περιοδικού Πίνακα, καθώς η μάζα 1 L υδρογόνου ζυγίζει μόλις 0.09 g, ενώ 1 L αέρα ζυγίζει 1.2 g.

4.1.1. Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας

Τα τελευταία χρόνια, εξαιτίας των κλιματικών αλλαγών και του φαινομένου του θερμοκηπίου, η παγκόσμια ερευνητική κοινότητα έστρεψε το ενδιαφέρον της προς τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας και συγκεκριμένα, προς την παραγωγή βιοκαυσίμων. Στην κατεύθυνση αυτή, σημαντική ερευνητική δραστηριότητα έχει επιτευχθεί στην τεχνολογία παραγωγής του υδρογόνου, το οποίο θεωρείται ως «το καύσιμο του μέλλοντος».

Το βασικό πλεονέκτημα του υδρογόνου, ως φορέας ενέργειας, είναι η ολοσχερής απουσία ρυπογόνων εκπομπών, μιας και η χρήση του μέσω καύσης

παράγει αποκλειστικά καθαρό νερό. Ιδανική τεχνολογική και ενεργειακή εφαρμογή της καύσης του, αποτελούν οι κυψελίδες καυσίμου, που επιτρέπουν την παραγωγή ηλεκτρισμού από την ένωση υδρογόνου και οξυγόνου που υπάρχει στον αέρα.

Οι κυψελίδες καυσίμου αποτελούν μια προηγμένη εναλλακτική λύση για την αντικατάσταση των μηχανών εσωτερικής καύσης. Συγκεκριμένα, υπερέχουν αυτών, αφού προσφέρουν το πλεονέκτημα της υψηλότερης απόδοσης, του μικρότερου μεγέθους και της μηδενικής εκπομπής ρύπων. Επιπλέον, οι κυψελίδες καυσίμου είναι έως και τρεις φορές περισσότερο οικονομικές, στην κατανάλωση καυσίμου, ενώ η αντικατάσταση των κινητήρων εσωτερικής καύσης, υψηλής θερμοκρασίας, θα έχει ως αποτέλεσμα και την αποφυγή ορισμένων επικίνδυνων ρυπαντών όπως τα οξείδια του αζώτου (NO_x). Η τεχνολογία που χρησιμοποιούν οι κυψελίδες καυσίμου, δεν είναι εντελώς άγνωστη, αφού μέχρι σήμερα έχει εφαρμοσθεί στην αεροδιαστημική (προγράμματα Gemini και Apollo) και σε διάφορες πολεμικές εφαρμογές, όπως π.χ. στην κίνηση των υποβρυχίων.

Τα τελευταία χρόνια, σχεδόν όλες οι μεγάλες αυτοκινητοβιομηχανίες ασχολούνται με την ανάπτυξη αυτοκινήτων που κινούνται με κυψελίδες καυσίμου. Ο ανεφοδιασμός των αυτοκινήτων που λειτουργούν με κυψελίδες καυσίμου, μπορεί να πραγματοποιηθεί με το υπάρχον δίκτυο διανομής της βενζίνης, γεγονός που αποτελεί πλεονέκτημα σε σχέση με τα ηλεκτρικά αυτοκίνητα τα οποία χρειάζονται αρκετές ώρες επαναφόρτισης, όταν βρίσκονται σε πλήρη ακινησία. Είναι αθόρυβα και με πολύ μικρότερες απαιτήσεις συντήρησης από τα αυτοκίνητα συμβατικής τεχνολογίας.

Κοινή πεποίθηση των μεγαλύτερων αυτοκινητοβιομηχανιών του κόσμου αποτελεί το γεγονός ότι τα αυτοκίνητα που λειτουργούν με κυψελίδες καυσίμου θα είναι πλήρως εμπορεύσιμα μετά το 2010, κάτι που θα συντελέσει στη μείωση της περιβαλλοντικής μόλυνσης σε παγκόσμιο επίπεδο. Στην *εικόνα 4.1* εικονίζεται ένα σύστημα ανάκτησης και διανομής αερίου υδρογόνου (το οποίο έχει παραχθεί ως παραπροϊόν διάφορων χημικών διεργασιών), σε ένα δοκιμαστικό σταθμό καυσίμου, στο Tsurumi της Ιαπωνίας, ενώ στην *εικόνα 4.2* φαίνεται ένας σταθμός ανεφοδιασμού υδρογόνου της BP στη Βαρκελώνη της Ισπανίας.



Εικόνα 4.1: Σταθμός παραγωγής και διανομής υδρογόνου στο Tsurumi της Ιαπωνίας.



Εικόνα 4.2: Σταθμός διανομής καυσίμου της BP στη Βαρκελώνη της Ισπανίας, για τον ανεφοδιασμό τριών δημόσιων λεωφορείων που κινούνται με κυψέλες καυσίμου.

Ένα άλλο πλεονέκτημα της χρήσης του υδρογόνου ως καύσιμο, είναι ότι παρουσιάζει υψηλότερη ενεργειακή απόδοση ανά μονάδα βάρους (122 kJ/kg), συγκρινόμενη με άλλα καύσιμα. Έτσι, το ενεργειακό του περιεχόμενο είναι περίπου τρεις φορές μεγαλύτερο από αυτό της συμβατικής βενζίνης, 2.4 φορές μεγαλύτερο από αυτό του μεθανίου (50 kJ/kg) και περίπου πέντε φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο, της αιθανόλης (26 kJ/kg).

Ένα ακόμα πλεονέκτημα της χρήσης του υδρογόνου είναι ότι μπορεί να παρασκευαστεί με πάρα πολλές μεθόδους, σε οποιαδήποτε χώρα και σε οποιοδήποτε μέρος, γεγονός που συνεπάγεται την ανάπτυξη αποκεντροποιημένων συστημάτων παραγωγής ενέργειας. Αυτό παρουσιάζει σημαντικά οφέλη, για τα λιγότερο ανεπτυγμένα κράτη, τα οποία σήμερα εξαρτώνται ενεργειακά από άλλες, ισχυρότερες χώρες.

Από την άλλη πλευρά, βασικό μειονέκτημα που σχετίζεται με την χρήση του υδρογόνου, είναι η δυσκολία στην αποθήκευση και την μεταφορά του, κυρίως στα ηλεκτροκίνητα οχήματα. Το πρόβλημα, όμως αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με την εφαρμογή σύγχρονων τεχνολογιών, όπως με τη χρήση μεταλλικών υδριδίων, τα οποία έχουν την δυνατότητα να ροφούν το υδρογόνο σε θερμοκρασία δωματίου και χαμηλές πιέσεις είτε με την αποθήκευσή του ως συμπιεσμένο αέριο ή κρυογενικό υγρό. Μια ακόμα υποψήφια λύση στο πρόβλημα αυτό, είναι η αποθήκευση του υδρογόνου στο εσωτερικό μιας νέας μορφής άνθρακα, των νανοσωλήνων άνθρακα, που επιτυγχάνουν να ροφούν και να αποδίδουν το υδρογόνο, σε συνθήκες περιβάλλοντος.

Επί του παρόντος το υδρογόνο έχει κυρίως βιομηχανική χρήση, καθώς χρησιμοποιείται ευρέως ως πρώτη ύλη για την παραγωγή χημικών. Επιπλέον, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων για την υδρογόνωση λιπών και ελαίων, στη βιομηχανία αμμωνίας (όπου και καταναλώνεται το 50% του παραγόμενου υδρογόνου), στην παραγωγή ηλεκτρονικών συσκευών, καθώς και για την αποθείωση και την αναμόρφωση της βενζίνης στα διυλιστήρια.

Ο Winter (2005) αναφέρει ότι 50 εκατομμύρια τόνοι υδρογόνου διακινούνται ετησίως, σε παγκόσμιο επίπεδο, με ένα ρυθμό αύξησης περίπου ίσο με 10% ανά έτος. Με βάση το Εθνικό πρόγραμμα των Η.Π.Α για το υδρογόνο, η συνεισφορά του στον τομέα της ενέργειας θα είναι 8-10% έως το 2025. Ακόμα, το υπουργείο Ενέργειας των Η.Π.Α., σχετικά με την ενέργεια, αναφέρει ότι μέχρι το 2040 τα συστήματα που κινούνται και λειτουργούν με υδρογόνο, θα είναι πλήρως διαθέσιμα σε όλες τις πολιτείες της χώρας (*United States Department of Energy, 2004*).

Είναι φανερό ότι η οικονομία του υδρογόνου, αποτελεί μία από τις πιο ελκυστικές λύσεις, για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του μέλλοντος. Μπορεί να αποτελείται από ένα συνδεδεμένο δίκτυο:

- διεργασιών οι οποίες παράγουν υδρογόνο
- αποθήκευσης του παραγόμενου υδρογόνου με φυσικές ή χημικές μεθόδους
- μετατροπής της παραγόμενης από το υδρογόνο, ενέργειας σε ηλεκτρική ενέργεια και θερμότητα, στο σημείο ζήτησης.

Επιπλέον, σε συνδυασμό με ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, το υδρογόνο κατά την παραγωγή, αποθήκευση και χρήση του, αποτελεί την κινητήρια δύναμη μίας καθαρής από ρύπους, κυκλικής διεργασίας. Στον πίνακα 4.1 που ακολουθεί,

παρουσιάζεται το ενεργειακό περιεχόμενο, ανά μονάδα βάρους και ανά μονάδα όγκου, αρκετών καυσίμων καθώς και οι εκπομπές σε άνθρακα, κατά την καύση τους.

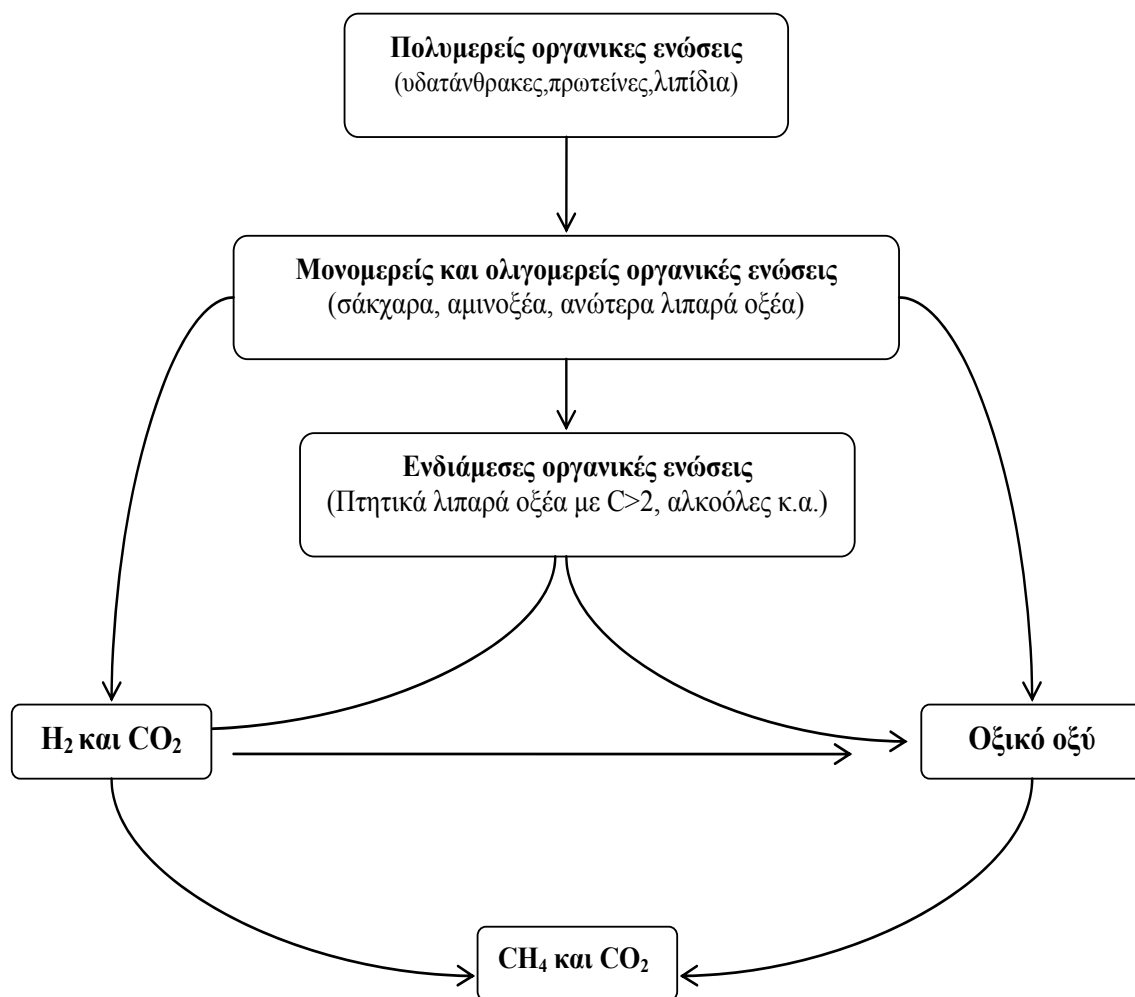
Πίνακας 4.1: Σύγκριση ενεργειακού περιεχομένου (ανά μονάδα βάρους και ανά μονάδα όγκου) καθώς και εκπομπών σε άνθρακα, συμβατικών και εναλλακτικών καυσίμων

Τύπος καυσίμου	Ενέργεια ανά μονάδα βάρους (MJ / kg)	kg ελευθερούμενου C ανά kg καυσίμου	Kg ελευθερούμενου C ανά kg καυσίμου
Αέριο Υδρογόνο	120	0	0
Υγρό Υδρογόνο	120	0	0
Ανθρακίτης	15-19	0.5	0.5
Φυσικό αέριο	33-50	0.46	0.46
Βενζίνη	40-43	0.86	0.86
Πετρέλαιο	42-45	0.84	0.84
Diesel	42.8	0.9	0.9
Βιο-ντίζελ	37	0.5	0.5
Αιθανόλη	21	0.5	0.5
Κάρβουνο	30	0.5	0.5
Αγροτικά υπολείμματα	10-17	0.5	0.5
Ξύλο	15	0.5	0.5

4.2. Τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης

Κατά την αναερόβια χώνευση η οργανική ύλη μετατρέπεται κυρίως σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω μιας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων, οι οποίες λαμβάνουν χώρα από διακριτές ομάδες αναερόβιων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, κυρίως τρεις σημαντικές ομάδες μικροοργανισμών έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί και θεωρείται ότι, παίζουν σημαντικό ρόλο στη διεργασία της αναερόβιας βιοαποδόμησης της οργανικής ύλης, η οποία λαμβάνει

χώρα σε τέσσερα στάδια. Σύμφωνα με το *σχήμα 4.4*, τα υδρολυτικά βακτήρια (1α) υδρολύουν τις πολυμερείς οργανικές ενώσεις προς μονομερή ή ολιγομερή, τα οποία στη συνέχεια, κατά το στάδιο της οξεογένεσης/ζύμωσης, μεταβολίζονται από τα ζυμωτικά βακτήρια (1β) σε πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες κ.α., με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Στο στάδιο της οξικογένεσης, συντελείται η μετατροπή των ανωτέρων πτητικών λιπαρών οξέων καθώς και των αλκοολών σε οξικό οξύ με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα από τα υποχρεωτικά οξικογόνα βακτήρια παραγωγής υδρογόνου (2α). Επίσης, ομοοξικογόνα βακτήρια (2β) παράγουν οξικό οξύ από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα. Τέλος, κατά το τέταρτο στάδιο της αναερόβιας ζύμωσης, τη μεθανογένεση, μεθάνιο παράγεται είτε από οξικό οξύ μέσω των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων (3α) είτε από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω των μεθανογόνων βακτηρίων που χρησιμοποιούν το υδρογόνο για να ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα προς μεθάνιο (3β). Είναι γνωστό ότι περίπου το 65-70% του παραγόμενου μεθανίου προέρχεται από τα οξικολυτικά μεθανογόνα βακτήρια. Το γεγονός αυτό καθιστά το οξικό οξύ ως το σπουδαιότερο υπόστρωμα των μεθανογόνων κατά την αναερόβια χώνευση.



Σχήμα 4.1: Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή βιοαερίου από οργανική ύλη

Η οξείδωση του προπιονικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι εφικτή μόνο όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μικρότερη από 10^{-4} atm, ενώ η οξείδωση του βουτυρικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο λαμβάνει χώρα μόνο όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μικρότερη από 10^{-3} atm. Η οξείδωση της αιθανόλης και του γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι αδύνατη όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι σχεδόν 1 atm.

Ωστόσο, σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα παραγωγής μεθανίου, η μερική πίεση του υδρογόνου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα, λόγω της δράσης των μεθανογόνων βακτηρίων που είναι χρήστες υδρογόνου, με αποτέλεσμα να είναι

θερμοδυναμικά εφικτές οι αντιδράσεις οξείδωσης των προϊόντων της οξεογένεσης. Η σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών που αποδομούν τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα βακτήρια που παράγουν μεθάνιο από υδρογόνο χαρακτηρίζεται ως 'συντροφική' και το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως η μεταξύ μικροβιακών ειδών μεταφορά υδρογόνου (*interspecies hydrogen transfer*).

Αντίθετα, σε αναερόβιους βιοαντιδραστήρες παραγωγής υδρογόνου, όπου η μερική πίεση του υδρογόνου καθιστάται αρκετά μεγαλύτερη από τις απαγορευτικές τιμές και η δράση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο (όπως υδρογονοχρηστικά μεθανογόνα βακτήρια, ομοοξικογόνα βακτήρια και βακτήρια που ανάγουν τα θειικά ιόντα) καταστέλλεται, η οξείδωση των προϊόντων της οξεογένεσης και η παραγωγή μεθανίου καθιστάται μη αυθόρμητη με βάση τη θερμοδυναμική.

4.3. Ανάσχεση της μεθανογένεσης με στόχο την παραγωγή υδρογόνου

Η βιολογική παραγωγή υδρογόνου, μέσω της αναερόβιας επεξεργασίας βιοαποδομήσιμων οργανικών αποβλήτων, έχει πολλά κοινά σημεία με την παραγωγή μεθανίου, καθώς το υδρογόνο αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν της αναερόβιας χώνευσης, αφού παράγεται κατά το στάδιο της οξεογένεσης. Για αυτό, έχει προταθεί και αναπτυχθεί με επιτυχία η αναερόβια επεξεργασία δυο σταδίων σε σειρά, όπου η οξεογένεση και η μεθανογένεση λαμβάνουν χώρα ξεχωριστά για την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου, αντίστοιχα.

Τα ζυμωτικά βακτήρια που έχουν την ικανότητα να παράγουν υδρογόνο, μπορεί να είναι αυστηρά αναερόβια (*Clostridia*, *Methanobacteria* κ.α.), προαιρετικά αναερόβια (*Enterobacteria* κ.α.) ακόμα και αερόβια βακτήρια (*Alcaligenes*, *Bacillus* κ.α.) υπό ανοξικές συνθήκες.

Συχνά μικτές καλλιέργειες αντί καθαρών καλλιιεργειών χρησιμοποιούνται για την αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, καθώς μπορούν να μεταβολίσουν μια μεγάλη ποικιλία από υποστρώματα σε μη άσηπτες συνθήκες, καθιστώντας τη λειτουργία του βιοαντιδραστήρα ευκολότερη σε επίπεδο χειρισμών και οικονομικότερη. Ωστόσο, το υδρογόνο που παράγεται από μικτές καλλιέργειες υπό αναερόβιες συνθήκες, συχνά καταναλώνεται από άλλα βακτήρια, που το χρησιμοποιούν για το μεταβολισμό τους. Κατά συνέπεια η μικτή αναερόβια καλλιέργεια πρέπει να υποστεί κατάλληλη επεξεργασία, ώστε να περιοριστεί στο

ελάχιστο η μη επιθυμητή διεργασία της κατανάλωσης του παραγόμενου υδρογόνου από τα βακτήρια αυτά. Η επιτυχία των μεθόδων προεπεξεργασίας της μικτής αναερόβιας καλλιέργειας βασίζεται στην ικανότητα των βακτηρίων που παράγουν υδρογόνο να σχηματίζουν σπόρους (όπως έλλειψη θρεπτικών, αύξηση θερμοκρασίας, ξήρανση, ακτινοβολία κ.α.), σε αντίθεση με την πλειοψηφία των βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο (μεθανογόνα βακτήρια που είναι χρήστες υδρογόνου, ομοοξικογόνα βακτήρια και βακτήρια που ανάγουν τα θειικά ιόντα). Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι, οι μικτές καλλιέργειες που προέρχονται από αναερόβια λάσπη και ιζήματα, αποτελούνται κυρίως από αναερόβια βακτήρια του γένους *Clostridia*. Η θέρμανση, η όξινη ή βασική επεξεργασία, ο αερισμός, η χρήση χημικών και η χρήση ηλεκτρικού ρεύματος είναι οι πιο γνωστές και αποτελεσματικές μέθοδοι προεπεξεργασίας.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αναερόβια μετατροπή της οργανικής ύλης προς μεθάνιο λαμβάνει χώρα για ουδέτερες τιμές του pH. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο ρυθμός παραγωγής μεθανίου μειώνεται απότομα ή και σταματά για pH κάτω από 6.3 ή πάνω από 7.8. Συνεπώς, ρύθμιση του pH σε τιμές μικρότερες ή μεγαλύτερες του 7, παρεμποδίζει τη δράση των μεθανογόνων, αρκετοί από τους οποίους καταναλώνουν υδρογόνο, χωρίς όμως να περιορίζεται η δράση των ζυμωτικών μικροοργανισμών παραγωγής υδρογόνου.

Οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί είναι αυστηρά αναερόβιοι και ιδιαίτερα ευαίσθητοι όταν εκτίθενται σε αρκετές ουσίες. Επομένως, η δράση των μεθανογόνων μπορεί να ανασταλεί με απλό αερισμό ή με την προσθήκη τοξικών ουσιών. Για παράδειγμα, ο Ueno και οι συνεργάτες του (1995, 1996) αναφέρουν ότι η λάσπη προερχόμενη από λιπασματοποίηση ύστερα από έντονο αερισμό παράγαγε αναερόβια, από απόβλητο πλούσιο σε κυτταρίνη, 330-340 mL H₂/g εξόζης, ενώ δεν παράγαγε καθόλου μεθάνιο. Οι χημικές ουσίες που συνήθως χρησιμοποιούνται για να αναστείλουν τη δράση των μεθανογόνων είναι το βρωμιούχο άλας του αιθανοσουλφονικού οξέος (*2-Bromoethanesulfonate, BES*) το ακετυλένιο και το χλωροφόρμιο. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, έχει αναφερθεί ότι η χρήση BES σε συγκεντρώσεις μέχρι 25 mM ή 100 mM είναι αποτελεσματική για την παραγωγή υδρογόνου, καθίσταται όμως οικονομικά ασύμφορη για λειτουργία σε μεγάλη κλίμακα.

4.4. Αναερόβιος μεταβολισμός οργανικής ύλης για παραγωγή υδρογόνου

Τα σημαντικότερα κριτήρια για το χαρακτηρισμό ενός τύπου οργανικής ύλης ως κατάλληλου για την παραγωγή υδρογόνου είναι η διαθεσιμότητα, το κόστος, η περιεκτικότητα κυρίως σε υδατάνθρακες και η βιοαποδομησιμότητα της. Πολλοί τύποι οργανικών ενώσεων, από πολυμερή μέχρι μονομερή σάκχαρα, λίπη και πρωτεΐνες, μπορούν να αποτελέσουν υποστρώματα για την παραγωγή υδρογόνου. Ωστόσο, πειράματα διαλείποντος έργου με υπόστρωμα υγρά ή στερεά απόβλητα κατέδειξαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου είναι πιο αποδοτική όταν το απόβλητο είναι πλούσιο σε υδατάνθρακες σε αντίθεση με απόβλητα που είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και λίπη. Τα απλά σάκχαρα (όπως γλυκόζη, σακχαρόζη, λακτόζη) παρόλο που είναι εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις αποτελούν ακριβές πρώτες ύλες. Επομένως, η παραγωγή υδρογόνου μέσω της αναερόβιας ζύμωσης καθίσταται ιδιαίτερα ελκυστική όταν, εκτός από μικτές καλλιέργειες, ως υποστρώματα χρησιμοποιούνται απόβλητα (υγρά ή στερεά), καθώς παράγεται ενέργεια χωρίς μεγάλο οικονομικό κόστος με σημαντικά οφέλη για το περιβάλλον (βιοτεχνολογική επεξεργασία αποβλήτων). Τα απόβλητα που χρησιμοποιούνται κυρίως ως υποστρώματα για την παραγωγή υδρογόνου συνοψίζονται στα ακόλουθα:

→ Γεωργικά απόβλητα, απόβλητα βιομηχανίας τροφίμων και αγροτοβιομηχανικά απόβλητα (στερεά ή υγρά) πλούσια σε άμυλο και κυτταρίνη.

Πολλά γεωργικά απόβλητα, αγροτοβιομηχανικά απόβλητα (όπως απόβλητα ελαιοτριβείων, τυροκομείων κ.α.), απόβλητα βιομηχανίας τροφίμων περιέχουν πολυμερή υδατανθράκων, όπως άμυλο ή/και κυτταρίνη, η σύνθεση δομή των οποίων επηρεάζει δυσμενώς τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Το άμυλο, που περιέχεται στα απόβλητα, μέσω της όξινης ή της ενζυμικής υδρόλυσης από εξωκυτταρικά ένζυμα (αμυλάσες), μετατρέπεται σε γλυκόζη, μαλτόζη και άλλα ολιγομερή και στη συνέχεια μέσω της αναερόβιας ζύμωσης προς υδρογόνο και πτητικά λιπαρά οξέα. Τα απόβλητα που ανήκουν στην κατηγορία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών, απαιτούν περαιτέρω προεπεξεργασία, ώστε να είναι κατάλληλα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

→ Περίσσεια ιλύος από μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων.

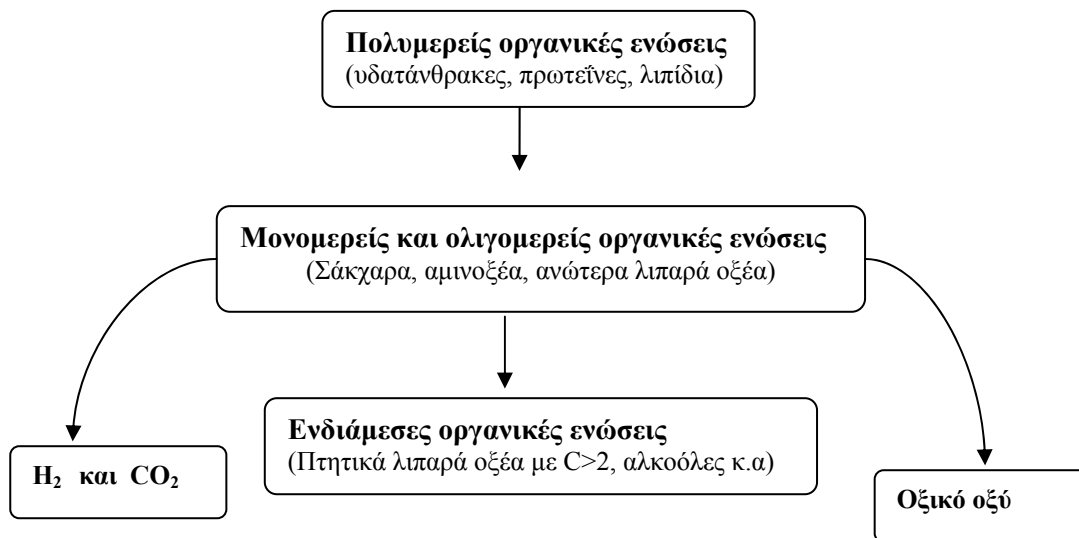
Η περίσσεια ιλύος από μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, με υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, έχει προταθεί από αρκετούς

ερευνητές ως υποστρώμα για την παραγωγή υδρογόνου, παρά τη χαμηλή απόδοση της, αφού πρώτα επεξεργαστεί κατάλληλα ώστε να ανασταλεί η δράση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το υδρογόνο κατά την αναερόβια χώνευση της οργανικής ύλης παράγεται στο στάδιο της οξεογένεσης. Επομένως, για να θεωρηθεί επιτυχής η βιολογική παραγωγή υδρογόνου από αναερόβια μικτή καλλιέργεια, οι μικροοργανισμοί που καταναλώνουν υδρογόνο θα πρέπει να παρεμποδιστούν.

Έχοντας εξασφαλίσει ότι η δράση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών έχει ανασταλεί, η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή υδρογόνου περιλαμβάνει τα ακόλουθα δύο στάδια (Σχήμα 4.2):

1. Ενζυμική υδρόλυση των οργανικών πολυμερών προς ενδιάμεσα οργανικά μονομερή ή ολιγομερή.
2. Ζύμωση των οργανικών ενδιάμεσων προς πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες κ.α. με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.



Σχήμα 4.2. Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή υδρογόνου από οργανική ύλη.

4.5. Υδρόλυση στη αναερόβια χώνευση

4.5.1. Γενικά

Οι μικροοργανισμοί δεν μπορούν να μεταβολίσουν απευθείας τη σύνθετη διαλυτή ή αδιάλυτη οργανική ύλη, καθώς η κυτταρική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη για τέτοιου είδους υλικά. Πρέπει να προηγηθεί υδρόλυση των σύνθετων οργανικών ενώσεων προς διαλυτά πολυμερή και στη συνέχεια προς διμερή ή μονομερή, τα οποία μπορούν πλέον να εισαχθούν στο κύτταρο με την δράση ειδικών ενζύμων (περμεάσες) και να μεταβολιστούν. Η υδρόλυση λαμβάνει χώρα με τη δράση μιας ειδικής κατηγορίας ενζύμων (υδρολάσες), τα οποία δρουν είτε εξωκυτταρικά (όπως στην περίπτωση των βιοπολυμερών) είτε ενδοκυτταρικά (όπως στην περίπτωση των μικρών διμερών). Η οργανική ύλη των αποβλήτων έχει συνήθως τη μορφή πολύπλοκων ενώσεων (μακρομόρια) και μπορεί να διακριθεί σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη. Τα ένζυμα με βάση την κατηγορία των ενώσεων που υδρολύουν μπορούν να ταξινομηθούν όπως φαίνεται στον πίνακα 4.2 που ακολουθεί.

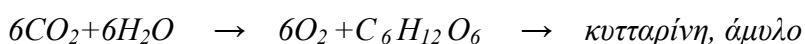
Πινάκας 4.2: Τα κυριότερα υδρολυτικά ένζυμα

Ένζυμο	Υπόστρωμα	Προϊόν Υδρόλυσης
<i>Υδρολάσες υδατανθράκων</i>		
Φρουκτοσιδάση	Σακχαρόζη	Φρουκτόζη + γλυκόζη
α- γλυκοσιδάση	Μαλτόζη	Γλυκόζη
β- γλυκοσιδάση	Κελλοβιόζη	Γλυκόζη
β- γαλακτοσιδάση	Λακτόζη	Γαλακτόζη + γλυκόζη
Αμυλάσες	Άμυλο	Μαλτόζη
Κυτταρινάση	Κυτταρίνη	Κελλοβιόζη
<i>Υδρολάσες αζωτούχων ενώσεων</i>		
Ενδοπεπτιδάσες	Μέσο πρωτεϊνών	Πεπτίδια
Εξωπεπτιδάσες	Άκρα πρωτεϊνών	Αμινοξέα
Απαμινάσες	Αμινοξέα	NH ₃ + οργανικά οξέα
<i>Εστεράσες</i>		
Λιπάσες	Γλυκερίδια (λίπη)	Γλυκερόλη + λιπαρά οξέα

4.5.2. Υδρόλυση υδατανθράκων

Οι υδατάνθρακες (πολυσακχαρίτες) έχουν γενικό εμπειρικό τύπο C_nH_{2n}O_n και περιλαμβάνουν ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον τρία άτομα άνθρακα. Οι υδατάνθρακες βιοσυντίθενται από τα φυτά μέσω της φωτοσύνθεσης, μιας περίπλοκης διαδικασίας κατά την οποία το ηλιακό φως προσφέρει της απαραίτητη ενέργεια για την

μετατροπή του CO₂ σε γλυκόζη. Στην συνέχεια, πολλά μόρια γλυκόζης συνδέονται με χημικούς δεσμούς, σχηματίζοντας μεγαλύτερα μόρια τα οποία αποθηκεύονται με την μορφή κυτταρίνης ή αμύλου. Έτσι, οι υδατάνθρακες είναι κατά κάποιο τρόπο οι ενδιάμεσες χημικές ενώσεις, μέσω της βιοσύνθεσης των οποίων, η ηλιακή ενέργεια αποθηκεύεται και αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας όταν μεταβολίζεται από τους ζωντανούς οργανισμούς.



Οι πλέον διαδεδομένοι πολυσακχαρίτες που απαντώνται στα απόβλητα είναι η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και το άμυλο. Η κυτταρίνη, ένα γραμμικό ομοπολυμερές, αποτελείται από μονομερή – γλυκόζης, συνδεδεμένα με β-1, 4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η ημικυτταρίνη είναι ένα διακλαδισμένο συμπολυμερές, αποτελούμενο από πεντόζες (*D-ξυλόζη*, *L-αραβινόζη*), εξόζες (*D-μαννόζη*, *D-γλυκόζη*, *D-γαλακτόζη*) και ουρονικά οξέα.

Το άμυλο είναι ένα πολυμερές της γλυκόζης, στο οποίο οι μονοσακχαριτικές μονάδες συνδέονται με α-1, 4- γλυκοζιτικούς δεσμούς. Το άμυλο μπορεί να διαχωριστεί σε δυο κλάσματα: σε αυτό που είναι αδιάλυτο στο νερό και ονομάζεται αμυλόζη και σε αυτό που είναι διαλυτό και ονομάζεται αμυλοπηκτίνη. Η αμυλόζη, που αντιστοιχεί στο 10-20% περίπου του βάρους του αμύλου, αποτελείται από εκατοντάδες μόρια α-D-γλυκόζης ενωμένα με α-1, 4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η αμυλοπηκτίνη, που αποτελεί το υπόλοιπο 80-90% του αμύλου, έχει πιο περίπλοκη δομή από την αμυλόζη καθώς παρουσιάζει διακλαδώσεις περίπου κάθε 20-30 μόρια γλυκόζης, τα οποία συνδέονται με α-1, 6-γλυκοζιτικούς δεσμούς.

Η διάσπαση του αμύλου μπορεί να λάβει χώρα μέσω όξινης ή ενζυμικής υδρόλυσης. Στην περίπτωση της ενζυμικής υδρόλυσης, το άμυλο υδρολύεται από εξοκυτταρικά ένζυμα, τις αμυλάσες. Πιο συγκεκριμένα, η α-αμυλάση υδρολύει το άμυλο πολύ γρήγορα, προσβάλλοντας ταυτόχρονα πολλούς δεσμούς, ακόμη και αυτούς που είναι στο κέντρο της αλυσίδας, παράγοντας μαλτόζη, γλυκόζη και ολιγομερή με τρία έως επτά μόρια γλυκόζης. Οι β-αμυλάσες ξεκινούν από τα ελεύθερα μη αναγωγικά άκρα του μακρομορίου. Η υδρόλυση σταματά στα σημεία διακλάδωσης. Όταν τα σημεία αυτά διασπαστούν από άλλα ένζυμα, η υδρόλυση συνεχίζεται μέχρι την πλήρη μετατροπή σε μαλτόζη, η οποία μπορεί να διασπαστεί εξοκυτταρικά από τις μαλτάσες. Αν το κύτταρο διαθέτει ειδικές περμεάσες, η

μαλτόζη και άλλα ολιγομερή μπορούν να περάσουν μέσα στο κύτταρο και να μεταβολιστούν.

4.6. Οξεογένεση στην αναερόβια χώνευση

Κατά το στάδιο της οξεογένεσης/ζύμωσης διαλυτό οργανικό υλικό βιοαποδομείται προς απλούστερες οργανικές ενώσεις, κυρίως προς πτητικά λιπαρά οξέα και αλκοόλες με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

Στη συνέχεια, περιγράφεται η οξεογένεση από διάφορες οργανικές ενώσεις (όπως σάκχαρα, αμινοξέα, λιπαρά οξέα) με τους υδατάνθρακες (σάκχαρα) να αποτελούν την κυριότερη πηγή άνθρακα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

4.7. Ζύμωση σακχάρων και προϊόντα

Κατά την ζύμωση των σακχάρων παράγονται κυρίως πτητικά λιπαρά οξέα (οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ κ.α.), γαλακτικό οξύ, μεθανικό (μυρμηκικό) οξύ, αιθανόλη, βουτανόλη, ακετόνη κ.α., με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

Η βιοαποδόμηση της γλυκόζης μέσω διάφορων μεταβολικών δικτύων έχει μελετηθεί εκτενώς, καθώς αποτελεί ένα από τα βασικότερα στοιχεία του κυτταρικού μεταβολισμού. Το πιο σύνηθες μεταβολικό δίκτυο είναι το δίκτυο Embden-Meyerhof-Parnas (AMP) γνωστό και ως γλυκόλυση. Σε κάποιες ζυμώσεις η γλυκόζη βιοαποδομείται μέσω του δικτύου των φωσφορικών πεντοζών ή και μέσω του δικτύου Entner-Doudoroff (ED). Η ζύμωση άλλων σακχάρων εκτός της γλυκόζης περιλαμβάνει την ενζυμική μετατροπή τους σε γλυκόζη είτε σε άλλες ενδιάμεσες ενώσεις των παραπάνω δικτύων. Ο σχηματισμός του υδρογόνου συνεισφέρει έμμεσα στη αξιοποίηση των παραγόμενων ηλεκτρονίων, που μεταφέρονται μέσω της ανηγμένης μορφής συνεχζύμων NAD^+ ή NADP^+ .

4.8. Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου

4.8.1. Θρεπτικά συστατικά και παρεμποδιστές

Όπως όλες οι βιολογικές διεργασίες, έτσι και η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου απαιτεί θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και το μεταβολισμό της οργανικής ύλης. Τα θρεπτικά συστατικά που συνήθως απαιτούνται είναι άζωτο, φώσφορος και κάποια ιχνοστοιχεία.

Το άζωτο είναι το πιο απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Σύμφωνα με αρκετές μελέτες, η βέλτιστη συγκέντρωση αζώτου κυμαίνεται από 0.1 έως 2 g N/L και ο λόγος C/N από 3.3 έως 130.

Για παράδειγμα ο Ueno και οι συνεργάτες του (2001) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου από κυτταρίνη (10 g/L) σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις αζώτου (0.13 και 0.9 g N/L) και αντίστοιχους λόγους C/N 34 και 5, ήταν περίπου 100% υψηλότερη από την παραγωγή υδρογόνου (136 mL H₂/g εξόζης) με 0.13 g N/L και λόγο C/N ίσο με 34. Επίσης, οι Lin και Lay (2004) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου σε τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις σακχαρόζης με 0.9 g N/L και λόγους C/N ίσους με 130,98,47 και 40 παρατήρησαν ότι, η μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο (327 mL H₂/g εξόζης) επιτεύχθηκε για λόγο C/N ίσο με 47.

Σύμφωνα με ελάχιστες μελέτες έχει βρεθεί ότι, ο φώσφορος είναι απαραίτητος για την παραγωγή υδρογόνου τόσο ως θρεπτικό συστατικό όσο και για την ρυθμιστική του ικανότητα. Ο Hawkes και οι συνεργάτες του (2002) μελετώντας όλα τα δεδομένα της βιβλιογραφίας κατέληξαν ότι, ο βέλτιστος λόγος C/P για την παραγωγή υδρογόνου είναι ίσος με 130. Ανάλογο είναι και το συμπέρασμα που προκύπτει από την μελέτη των Lin και Lay (2004) σύμφωνα με την οποία ο βέλτιστος λόγος C/P για την παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη είναι ίσος με 120.

Οι Lin και Lay (2005) μελέτησαν την επίδραση 11 ιχνοστοιχείων στην αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου και κατέληξαν ότι, το μαγνήσιο, το νάτριο, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος είναι τα πιο απαραίτητα ιχνοστοιχεία, με το μαγνήσιο να είναι το πιο σημαντικό από τα τέσσερα. Η μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο, από απόβλητο πλούσιο σε σακχαρόζη, ήταν 233 mL H₂/g εξόζης, για 4.8 mg Mg²⁺/L 393 mg Na²⁺/L, 0.25 mg Zn²⁺/L και 1 mg Fe⁺²/L. Ωστόσο οι μελέτες επικεντρώνονται στην επίδραση του σιδήρου, καθώς η παρουσία του είναι ουσιώδης

για την δράση του ενζύμου υδρογενάσης. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι, η περιορισμένη συγκέντρωση σε σίδηρο όχι μόνο οδηγεί σε μείωση της παραγωγής σε υδρογόνο αλλά και σε αύξηση της παραγωγής σε αλκοόλες (π.χ. αιθανόλη και βουτανόλη) με την βέλτιστη συγκέντρωση σιδήρου να κυμαίνεται από 10 mg Fe²⁺/L έως 353 mg Fe²⁺/L.

Βαρέα μέταλλα (όπως κάδμιο, χρώμιο, ψευδάργυρος, χαλκός, νικέλιο και μόλυβδος) που βρίσκονται κυρίως σε βιομηχανικά αλλά και αστικά απόβλητα είναι ιδιαίτερα παρεμποδιστικά για την αναερόβια χώνευση. Ο Hsieh (2004) διαπίστωσε ότι κατά την βιολογική παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη, ο ψευδάργυρος (C₅₀ 65 mg/L) ήταν πιο τοξικός από τον ψευδάργυρο (C₅₀ 120 mg/L) και το χρώμιο (C₅₀ 72 mg/L) ήταν πιο τοξικό από το κάδμιο (C₅₀ 170 mg/L).

4.8.2. Λειτουργικές παράμετροι

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, κρίσιμες λειτουργικές παράμετροι για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου είναι το pH, η θερμοκρασία και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT).

Το pH είναι από τις βασικότερες λειτουργικές παραμέτρους καθώς μπορεί να επηρεάσει την ενεργότητα της υδρογενάσης (παρεμπόδιση για χαμηλές τιμές του pH), το δίκτυο μεταβολισμού των υποστρωμάτων, ενώ μπορεί να συμβάλλει στην κααστολή της δράσης των μεθανογόνων βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο.

Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες, το βουτυρικό οξύ και το οξικό οξύ είναι τα κύρια προϊόντα κατά την αναερόβια βιολογική παραγωγή βουτυρικού οξέος. Η παραγωγή του προπιονικού οξέος αυξάνεται αισθητά για τις τιμές pH κοντά στο 7 ή και παραπάνω. Οι ερευνητές Fang και Liu (2002) μελέτησαν την κατανομή των προϊόντων για τιμές pH από 4 έως 7 και διαπίστωσαν ότι, το βουτυρικό οξύ ήταν το κυρίαρχο προϊόν (μέχρι 45.6%) για pH μικρότερο ή ίσο του 6, ενώ το οξικό οξύ ήταν το κυρίαρχο προϊόν (μέχρι 34.1%) για pH μεγαλύτερο ή ίσο του 6.5. Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν ότι, η βέλτιστη τιμή του pH για την παραγωγή υδρογόνου ήταν 5.5 (286 mL H₂ /g εξόζης). Επίσης, σύμφωνα με την μελέτη του ερευνητή Kim και των συνεργατών του (2004), το βουτυρικό οξύ ήταν το κύριο προϊόν για pH= 5.5, ενώ η βουτανόλη έγινε το κυρίαρχο προϊόν pH=4.3.

Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις των πτητικών λιπαρών οξέων (κυρίως οξικού οξέος και βουτυρικού οξέος) μπορεί να περιορίσουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που παράγουν υδρογόνου. Οι Van Ginkel και Logan (2005) παρατήρησαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου σταμάτησε, όταν πρόσθεσαν οξικό οξύ και βουτυρικό οξύ, μέχρι η τελική συγκέντρωσή τους να γίνει ίση με 50 mM και 63 mM, αντίστοιχα (pH = 5). Πιο συγκεκριμένα, τα πτητικά λιπαρά οξέα μειώνοντας το pH στο εσωτερικό του κυττάρου, καθώς δίστανται λόγω της αρχικά υψηλότερης τιμής του ενδοκυτταρικού pH. Για να αποφευχθεί η πτώση του pH στο εσωτερικό του κυττάρου, λόγω της ελεύθερης διείσδυσης των αδιάστατων μορίων των πτητικών λιπαρών οξέων, οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν ενέργεια για να ανταλλάξουν τα πρωτόνια με ιόντα καλίου από το περιβάλλον τους. Αυτό έχει ως συνέπεια τη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης τους. Όταν το pH στο εσωτερικό του κυττάρου μειώνεται, το κύτταρο παράγει αλκοόλες, σπόρια ή παρεμποδίζεται εντελώς η λειτουργία του. Αξίζει να αναφερθεί ότι, εάν η τιμή του εξωκυτταρικού pH είναι τέτοια ώστε ένα μεγάλο ποσοστό των πτητικών λιπαρών οξέων έχει διασταθεί, αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ιοντικής ισχύος του διαλύματος και πιθανότατα τη λύση των κυττάρων.

Η θερμοκρασιακή κλίμακα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου διακρίνεται σε τρεις περιοχές: στην θερμοκρασιακή περιοχή περιβάλλοντος (15 – 30° C), στη μεσόφιλη (32 – 39° C) και στη θερμοφιλή (50 – 64° C). Τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών έδειξαν ότι, η απόδοση σε υδρογόνο αυξάνει με την θερμοκρασία. Μια πιθανή εξήγηση που μπορεί να δοθεί είναι ότι η υδρογέωση, το ένζυμο κλειδί για την παραγωγή υδρογόνου, έχει βέλτιστη θερμοκρασία 50° C και 70° C και ότι οξεογόνα βακτήρια παραγωγής υδρογόνου (κυρίως Clostridia) είναι στην πλειοψηφία τους θερμοφιλά βακτήρια.

5. ΧΑΡΟΥΠΙΑ *CERATONIA SILIQUA*

5.1. Γενικά – Χρήσεις

Δένδρο που όπως αποδεικνύει η μακρά πορεία του ανά τους αιώνες έρχεται στην επικαιρότητα μόνο σε περιόδους πολέμων, λιμών και σιτοδειών που η τροφή είναι λιπή και δυσεύρετη. Πολύ θρεπτικό φυτό που είχε εισαχθεί στην Ελλάδα στην αρχαιότητα - ίσως όμως να ήταν και ιθαγενές στην Κρήτη και στη Ρόδο. Το επιστημονικό του όνομα (*Ceratonia siliqua*) προέρχεται από το "κέρατον", που υποδηλώνει και τη μορφή που έχει ο καρπός. Το δένδρο ήταν πολύ γνωστό στη Συρία και στην Ιουδαία την εποχή του Χριστού, (αναφορά στην παραβολή του Ασώτου).

Ο Πλίνιος (μοναδικός συγγραφέας Φυσικής Ιστορίας στο Λατινικό κόσμο) περιγράφει τα γλυκά φασόλια της χαρουπιάς σαν τροφή για τα γουρούνια. Ο Θεόφραστος (γνώστης Βοτανικής) περιέγραψε την χαρουπιά με μεγάλη ακρίβεια, ίσως γιατί δεν τη γνώριζαν οι αναγνώστες του από δική τους αντίληψη. Με την προσοχή που τον διακρίνει, ο Θεόφραστος παρατήρησε σωστά πως οι καρποί της βγαίνουν από τον κορμό του δένδρου, κι αυτό γιατί τα λουλούδια φυτρώνουν πάντοτε στις μασχάλες των φύλλων ή απ' ευθείας από τα παλιά κλαδιά

Η χαρουπιά είναι ένα δέντρο πού ευδοκίμει κυρίως σε όλη την Μεσόγειο. Η χαρουπιά είναι δέντρο αειθαλές, μακρόβιο, πολύγαμο και ανήκει στη τάξη φαβώδη και στην οικογένεια φαβίδες γένος αγγειόσπερμων δικότυλων φυτών.

Μπορεί να φτάσει σε ύψος και τα 20 μέτρα. Βρίσκεται σε όλες σχεδόν τις παράκτιες περιοχές της Μεσόγειου είναι και γνωστή με το όνομα ξυλοκερατιά. Τα φύλλα της είναι σύνθετα σκληρά με λείες σχηματίζονται πυκνό φύλλωμα. Απ'ότι φαίνεται από την ιστορία έρχεται στην επικαιρότητα σε περιόδους πολέμων και λιμών, πού ή τροφή είναι λιεινή και δυσεύρετη. Το γεγονός αυτό δείχνει την υψηλή θρεπτική αξία των. Τα χαρούπια άλλωστε κατάφεραν να θρέψουν τον Ιωάννη τον Βαπτιστή στην έρημο αλλά και χιλιάδες που διά κατά την διάρκεια του 2ου Παγκοσμίου Πολέμου. Κι αυτό διότι στη σάρκα τους περιέχουν 80 % πρωτεΐνη, ασβέστιο, φώσφορο, σίδηρο και βιταμίνες. Βράζοντας τα χαρούπια παρασκευάζεται, από το μέλι πού υπάρχει στο εσωτερικό τους, το χαρουπόμελο, ή γεύση του οποίου μοιάζει με της σοκολάτας. Το χαρουπόμελο υπερέχει σε θρεπτικά στοιχεία σε σχέση με την σοκολάτα γιατί περιέχει 52 φορές λιγότερο λίπος, δεν έχει οξαλικά οξέα, δεν

περιέχει αλλεργιογόνα και καφεΐνη και ή γλυκύτητα του οφείλεται σε φυσικό ζάχαρο. Το χαρουπόμελο αποτελεί πλούσια πηγή υδατανθράκων, ασβεστίου, σιδήρου, μαγνησίου, καλίου και έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο.

Οι Τούρκοι παρασκεύαζαν το καλοκαίρι από το "μέλι" των χαρουπιών ένα δροσιστικό σερμπέτι που σέρβιραν με χιόνι ή κρύο και ονόμαζαν "χαρουπάδα" ή "χαρουπιά". Ο σπόρος της χαρουπιάς αντικατέστησε στο παρελθόν ακόμα και τον καφέ, καβουρντιζόμενος με αμύγδαλα και ρεβύθια.

Επίσης από το χαρούπι παρασκευάζεται το χαρουπόλευρο, ένα αλεύρι που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή ψωμιού, κέικ, μπισκότων κλπ. Το χαρουπόλευρο όπως και το χαρουπόμελο μπορεί να τα βρει κανείς σε καταστήματα με βιολογικά προϊόντα. Επίσης τα χαρούπια χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ενός θεραπευτικού αλευριού κατάλληλο για βρεφικούς κοιλόπονους και παιδικές γαστρεντερίτιδες.

Το αφέψημα από κοπανισμένα χαρούπια είναι ιδανικό για τα παιδιά που πάσχουν από βροχίτιδα και κοκίτη. Βρασμένα επίσης μαζί με ξερά σύκα και σταφίδες χρησιμοποιούνται ως άριστο αντιβηχικό φάρμακο.

Το ξύλο της χαρουπιάς δίνει κάρβουνα άριστης ποιότητας και το καρδιόξυλό της χρησιμοποιείται στην επιπλαποιεία, την ξυλογλυπτική, την τορνευτική και την βαρελοποιεία, ενώ ο φλοιός και τα φύλλα της στην βυρσοδεψία και την βαφική.

Η χαρουπιά αν και είναι φυτό θερμόβιο μπορεί να αντέξει σε έκτακτες χαμηλές θερμοκρασίες, 2 – 3 C υπό το μηδέν.

Καλλιεργείται εύκολα και ευδοκimeί σε όλα τα εδάφη εκτός από τα υγρά και τα άπορα. Στην Ελλάδα καλλιεργείται σποραδικά και σπάνια σε συστηματικές φυτείες, κυρίως στην Κρήτη, αλλά καλλιεργείται και σε φυτώρια για τον καλλωπισμό δρόμων και πάρκων. Εκτός της λεκάνης της Μεσογείου η χαρουπιά ευδοκimeί και σε περιοχές με κλίμα παρόμοιο με το Μεσογειακό όπως στην Καλιφόρνια, σε περιοχές της Νοτίου Αμερικής, Αυστραλίας, Ινδιών κλπ. Η παγκόσμια παραγωγή υπολογίζεται σε 310.000 τόνους ετησίως ενώ η αποδοτικότητα του δέντρου σε παραγωγή καρπού ποικίλει εξαρτώμενη από πολλούς παράγοντες.

Η μεγαλύτερη ποσότητα χαρουπιού παράγεται σήμερα στην Ισπανία με 135.000 τόνους ετησίως ενώ σημαντικές ποσότητες παράγονται και στην Ιταλία, Πορτογαλία, Μαρόκο, Κύπρο και Τουρκία. Η παραγωγικότητα σε καρπό της χαρουπιάς ποικίλει και κυμαίνεται από 150 κιλά έως 200 κιλά ανά στρέμμα χωρίς φροντίδα σε αραιά

φυτεμένα δέντρα και στη καλλιεργούμενα φτάνει τα 1.200 κιλά ανά στρέμμα. Επίσης θα πρέπει να αναφέρουμε ότι η υψηλή περιεκτικότητα του χαρουπιού στη ζάχαρη δίνει την δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί σαν πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

Οι χαρουπόσποροι παρουσιάζουν μια ομοιομορφία στο βάρος τους, το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 189 – 205 χιλιοστών του γραμμαρίου. Στα παλιά τα χρόνια τα χρησιμοποιούσαν στην Ινδία και στην Αφρική σαν βαρίδια για να ζυγίσουν τα ακριβά μπαχαρικά, τους πολύτιμους λίθους και το χρυσάφι και από παραφθορά της λέξης καρούπ στα αραβικά προήλθε η λέξη καράτι, γνωστή μονάδα μέτρησης χρυσού όπως έχει επίσημα καθοριστεί στα 200 χιλιοστά του γραμμαρίου.

Ο σπόρος του χαρουπιού έχει σήμερα μεγαλύτερη αξία από τη ψύχα και χρησιμοποιείται στη φαρμακευτική βιομηχανία, στην βιομηχανία καταναλωτικών προϊόντων, στην βιομηχανία τροφίμων, κ. αλ. Στη Κρήτη υπάρχουν σήμερα 10 μικρές βιοτεχνίες επεξεργασίας χαρουπιού που βρίσκονται: 1 στο Ν. Χανίων, 3 στο Ν. Ρεθύμνης, 5 στο Ν. Ηρακλείου και 1 στο Ν. Λασιθίου. Στις βιοτεχνίες αυτές προσκομίζεται ο καρπός μετά τη συλλογή του όπου αλέθεται και διαχωρίζεται η ψύχα από το σπόρο. Ο σπόρος συνήθως πωλείται σε μία βιομηχανία επεξεργασίας του ενώ η ψύχα διατίθεται για ζωοτροφή στους κτηνοτρόφους της περιοχής (όπου χορηγείται είτε αυτούσια είτε κατόπιν ανάμιξης με άλλες ζωοτροφές).

5.2. Φυσιολογία

Ο καρπός του χαρουπιού αποτελείται από τη ψύχα: 90 – 92% κ.β. και τους σπόρους 8 – 10% κ.β. Η ψύχα περιέχει σημαντικές ποσότητες σακχάρων κυρίως γλυκόζη, σουκρόζη και φρουκτόζη. Στον πίνακα 5.1 φαίνεται η ποσοστιαία (%) σύσταση της ψύχας του χαρουπιού.

Πίνακας 5.1: Σύσταση της ψύχας του Χαρουπιού (%)

Ολικά σάκχαρα	48-56
Σουκρόζη	32-38
Γλυκόζη	5-6
Φρουκτόζη	5-7
Τανίνες	18-20
Μη Αμυλούχα πολυσακχαρίδια	18
Στάκτη	2-3
Λίπη	0,2-0,6

6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1. Εισαγωγή

Σε αυτό το κεφάλαιο γίνεται περιγραφή όλων των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

6.2. Παραγωγή διαλύματος

Για την παρασκευή του διαλύματος που αποσκοπεί στην εκχύλιση των σακχάρων του χαρουπιού από την ψύχα και τους σπόρους, βρέθηκε ότι η καλύτερη απόδοση εκχύλισης επιτυγχάνεται με θερμό νερό θερμοκρασίας 70 °C και για ανάμιξη με την ψύχα και τους σπόρους για διάρκεια 2h. Στη θερμοκρασία αυτή το μεγαλύτερο μέρος της σουκρόζης υδρολύεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Μετά το πέρας της εκχύλισης και τη λήψη του υδατικού σακχαρούχου διαλύματος παραμένει ένα ημιστερό υπόλειμμα με υψηλή υγρασία. Η αναλογία που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του διαλύματος είναι 3 λίτρα νερό και 0,5 κιλό αλεσμένη ψύχα και αλεσμένοι σπόροι χαρουπιού.

6.3. Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH γινόταν με τη χρήση φορητού πεχάμετρου HI 8224 της Hanna (Εικόνα 6.1).



Εικόνα 6.1: Φορητό πεχάμετρο HI 8224 της Hanna.

6.4. 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 επαναρροής 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 επαναρροής με τιτλοδότηση των ιόντων Cr^{3+} με αραιό δ/μα H_2SO_4 (0.02N) παρουσία δείκτη.

6.5. Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών

Ο προσδιορισμός των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την αντίστοιχη μέθοδο, που περιγράφεται στο βιβλίο “ Standard Methods for the examination of water and wastewater ”. Ολικά αιωρούμενα στερεά (ΟΑΣ) χαρακτηρίζονται τα μη διηθούμενα στερεά. Για τον προσδιορισμό τους, γνωστή ποσότητα καλώς αναμειγμένου δείγματος διηθείται σε προζυγισμένο ηθμό ινών ύαλου. Το υλικό που κατακρατείται στον ηθμό ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους σε φούρνο στους 103 – 105°C. Η αύξηση του βάρους του ηθμού αντιπροσωπεύει τα ολικά αιωρούμενα στερεά.

Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά αποτελούν το κλάσμα των ολικών αιωρούμενων στερεών, το οποίο εξαερώνεται στους 550°C. Για τον προσδιορισμό

τους, ο ηθμός στον οποίο έχουν κατακρατηθεί τα ολικά αιωρούμενα στερεά πυρακτώνεται, μέχρι σταθερού βάρους σε πυραντήριο στους 550°C. Η μείωση του βάρους του ηθμού αντιστοιχεί στα πτητικά αιωρούμενα στερεά.

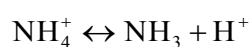
6.6. Περιγραφή της μεθόδου μέτρησης πτητικών λιπαρών οξέων και σύστασης βιοαερίου

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.

Επίσης για τη μέτρηση της σύστασης του βιο-υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ισοθερμοκρασιακό πρόγραμμα στους 80°C, ενώ η θερμοκρασία στον ανιχνευτή ήταν 180°C.

6.7. 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 (H₃BO₃) 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 ($Na_2S_2O_3$) 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 .

6.8. Προσδιορισμός ολικών και διαλυτών υδατανθράκων

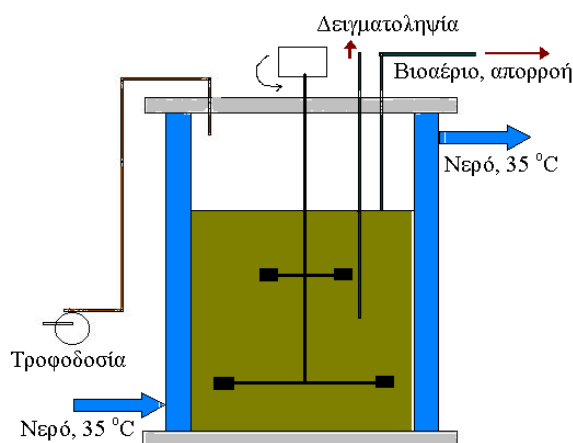
Για την μέτρηση των ολικών και διαλυτών υδατανθράκων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που προτείνει ο Josselsson (1986) και η οποία περιλαμβάνει την μετατροπή των ουσιών αυτών σε ένα χρωματισμένο παράγωγο σακχάρων με προσθήκη L-tryptophan στο δείγμα παρουσία θειικού και βορικού οξέος. Στη συνέχεια πραγματοποιούνταν φωτομέτρηση του δείγματος στα 520nm.

7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

7.1. Πειραματική διάταξη

7.1.1. Αντιδραστήρας παραγωγής μεθανίου

Για τη μελέτη της παραγωγής μεθανίου κατασκευάστηκε αναερόβιος αντιδραστήρας συνεχούς λειτουργίας (CSTR). Ο συνολικός όγκος του αντιδραστήρα ήταν 4 l , ενώ ο λειτουργικός όγκος ρυθμίστηκε, στα 3 l. Όπως βλέπουμε από το *σχήμα 7.1* ο αντιδραστήρας είχε διπλότοιχα τοιχώματα, από τα οποία περνούσε θερμαινόμενο νερό στους 37° C. Η απορροή του αντιδραστήρα πραγματοποιούνταν με φυσική ροή (χωρίς αντλία) λόγω της αύξησης της πίεσης στο εσωτερικό από την παραγωγή βιο-μεθανίου.

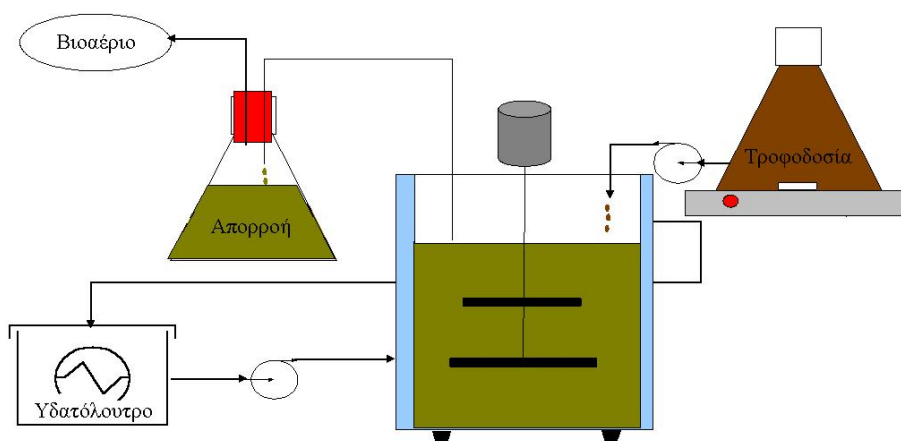


Σχήμα 7.1: Πειραματική διάταξη αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας (CSTR) για την παραγωγή μεθανίου.

Η τροφοδοσία στο σύστημα διατηρούνταν σε κλειστή φιάλη σε θερμοκρασία 10°C με τη βοήθεια θαλάμου ψύξης (*Εικόνα 7.1*). Ο αντιδραστήρας λειτούργησε με υδραυλικό χρόνο παραμονής 24 ημέρες.



Εικόνα 7.1: Πραγματική εικόνα τροφοδοσίας του αντιδραστήρα



Σχήμα 7.2: Πειραματική διάταξη αναερόβιας σε αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας (CSTR).

7.1.2. Αντιδραστήρας παραγωγής βιο-υδρογόνου

Για τη μελέτη της παραγωγής βιο-υδρογόνου κατασκευάστηκε επίσης ένας αναερόβιος αντιδραστήρας συνεχούς λειτουργίας με συνολικό όγκο αυτή τη φορά 1 l, ενώ ο λειτουργικός όγκος ρυθμίστηκε, στα 0,5 l. Ο αντιδραστήρας είχε διπλότοιχα τοιχώματα, από τα οποία περνούσε θερμαινόμενο νερό στους 37° C και η απορροή του αντιδραστήρα πραγματοποιούνταν με φυσική ροή όπως και στον αντιδραστήρα παραγωγής βιο-μεθανίου.

Στην εικόνα 7.2 παρουσιάζεται συνολικά η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για τη λειτουργία των αναερόβιων αντιδραστήρων για την παραγωγή βιοαερίου και υδρογόνου

Το σύστημα ήταν εφοδιασμένο με ρυθμιζόμενης ροής περισταλτικές αντλίες που τροφοδοτούσαν τους αντιδραστήρες. Επίσης η απορροές συλλέγονταν σε

κλειστές φιάλες, ενώ το παραγόμενο βιο-υδρογόνο και βιοαέριο, κατέληγαν σε ειδικές σακούλες. Στο σχήμα 7.2 και την εικόνα 7.2 παρουσιάζεται συνολικά η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για τη λειτουργία του CSTR.



Εικόνα 7.2: Πειραματική διάταξη των αναερόβιων αντιδραστήρων συνεχούς λειτουργίας που χρησιμοποιήθηκαν στην ερευνητική εργασία.

7.2. Τροφοδοσία

Η τροφοδοσία στο αντιδραστήρα του βιοαερίου γίνεται με διάλυμα που παρασκευάστηκε από καρπούς χαρουπιάς. Το διάλυμα διατηρήθηκε στην κατάψυξη στους $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ μέχρι την χρήση του. Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα βιοαερίου γινόταν από το διάλυμα απορροής του αντιδραστήρα βιο-υδρογόνου το οποίο και αυτό διατηρήθηκε στην κατάψυξη στους $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ μέχρι την χρήση του. Τα χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας μετά το άλεσμα και την υδρόλυση του χαρουπιού παρουσιάζονται στον πίνακα 7.1.

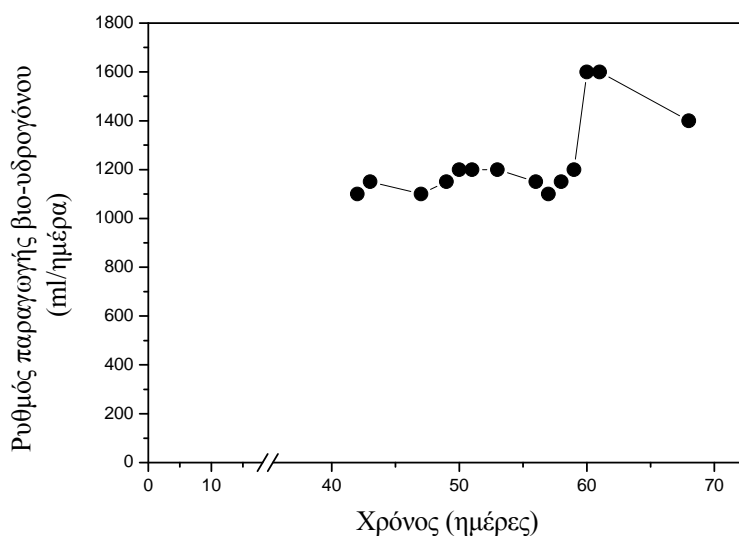
Πίνακας 7.1: Χαρακτηριστικά του χαρουπόζουμου.

Παράμετρος		Τιμή
pH		6.07
Ολικά στερεά	(g/l)	44.2
Πτητικά Στερεά	(g/l)	36.8
Ολικό Άζωτο	(mg/l)	103.5
Ολικός Φώσφορος	(mg/l)	96.0
Ολικό ΧΑΟ	(g/l)	36.2
Ολικοί Υδατάνθρακες	(g/l)	35.6

Όπως ήταν αναμενόμενο το διάλυμα της τροφοδοσίας περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις υδατανθράκων. Από την άλλη μεριά είναι φανερό η έλλειψη αζώτου σε σχέση με την οργανική ουσία αφού η αναλογία COD/N/P βρέθηκε να είναι 377/1/1. Για το λόγο αυτό στην τροφοδοσία προστέθηκε ποσότητα αζώτου και φωσφόρου με την μορφή KH_2PO_4 , K_2HPO_4 και Ουρία.

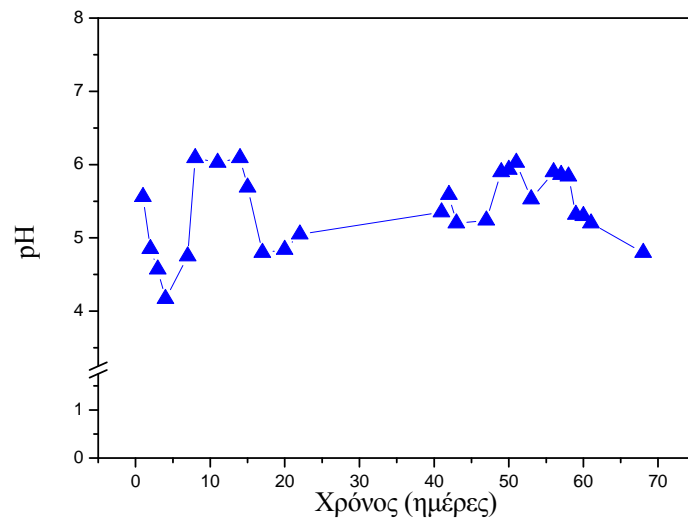
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΑΝΑΛΥΣΗ

Στο *διάγραμμα 8.1* παρουσιάζεται η μεταβολή του ρυθμού παραγωγή βιο-υδρογόνου στον αντιδραστήρα. Αρχικά δεν παρατηρήθηκε παραγωγή βιο-υδρογόνου εξαιτίας κυρίως της μη σωστής ρύθμισης του pH στην τροφοδοσία και τον αντιδραστήρα. Δοκιμάστηκαν διάφορες αναλογίες buffer από K_2HPO_4 και KH_2PO_4 αρχικά ήταν 55,6 g/l και 10,8 g/l, αντίστοιχα. Στην συνέχεια (μετά από 40 ημέρες) μειώθηκε στο μισό, δηλαδή 27,8 g/l K_2HPO_4 και 5,4 g/l KH_2PO_4 , ενώ μετά τις 60 ημέρες ήταν 20,1 g/l και 4,1 g/l, αντίστοιχα. Όπως βλέπουμε από το *διάγραμμα 8.1* μετά από τις 40 ημέρες ο αντιδραστήρας άρχισε να παράγει σταθερά μια ποσότητα βιοαερίου ~1150 ml/ημέρα. Οι μεγαλύτερες αποδόσεις παρουσιάστηκαν μετά από τις 60 ημέρες όπου ο μέσος ρυθμός παραγωγής αυξήθηκε περίπου στα 1600 ml/ημέρα. Η σύσταση του αερίου που παράγεται βρέθηκε να είναι 35.5 %.



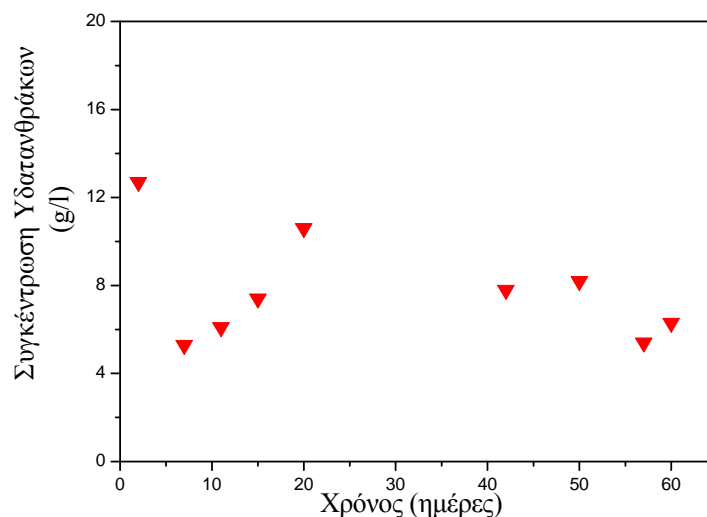
Διάγραμμα 8.1: Μεταβολή του ρυθμού παραγωγής βιο-υδρογόνου κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Στο *διάγραμμα 8.2* παρουσιάζεται η μεταβολή του pH στον αντιδραστήρα. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως τις πρώτες 40 ημέρες υπήρχε σημαντική διακύμανση του pH, αποτέλεσμα του οποίου ήταν η αδυναμία των μικροοργανισμών να παράγουν υδρογόνο. Στη συνέχεια υπήρξε μια μεγαλύτερη σταθεροποίηση του pH σε τιμές μεταξύ 5 και 6.



Διάγραμμα 8.2: Μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα. παραγωγής υδρογόνου

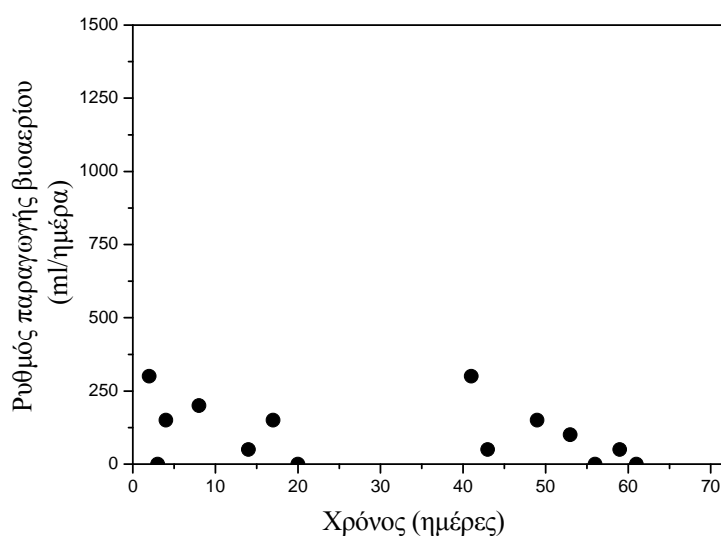
Η συγκέντρωση των υδατανθράκων στο σύστημα παρουσιάζεται στο *διάγραμμα 8.3*. Όπως είχε αναφερθεί προηγουμένως η αρχική συγκέντρωση τους στην τροφοδοσία ήταν 35.6 g/l (*Πίνακας 7.1*) ενώ μετά από τις 40 ημέρες η μέση τιμή τους ήταν 6.9 ± 1.3 g/l. Επομένως ένα μεγάλο ποσοστό (~80%) τους καταναλώνεται κατά της αναερόβια ζύμωση τους παράγοντας υδρογόνο.



Διάγραμμα 8.3: Μεταβολή της συγκέντρωσης ολικών υδατανθράκων κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα. παραγωγής υδρογόνου

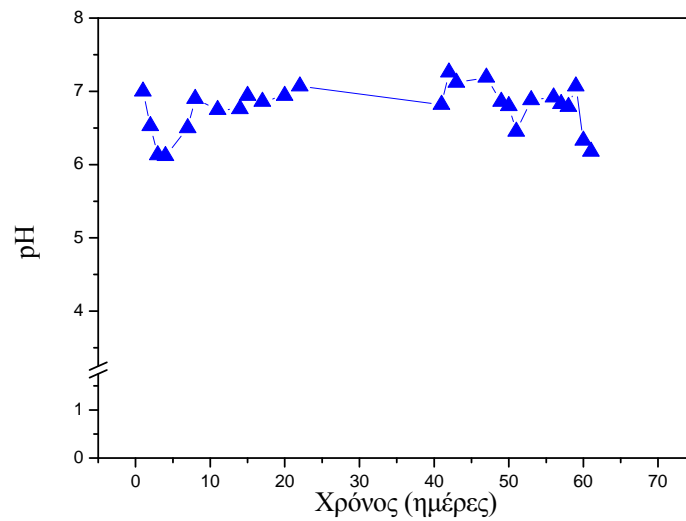
Η συγκέντρωση των ολικών στερεών στον αντιδραστήρα ήταν περίπου 66.2 g/l και των πτητικών στερεών 36.8 g/l. Η αυξημένη συγκέντρωση ολικών στερεών στον αντιδραστήρα οφείλεται στην προσθήκη των φωσφορικών αλάτων για τη ρύθμιση του pH.

Από την άλλη μεριά η παραγωγή βιοαερίου στον μεθανογόνο αντιδραστήρα δεν ήταν αποτελεσματική όπως φαίνεται και στο *διάγραμμα 8.4*. Παρά την ρύθμιση του pH σε τιμές κοντά στο 7 (*Διάγραμμα 8.5*) δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του ρυθμού παραγωγής βιοαερίου. Εκτιμάται ότι πιθανός η υψηλή αλκαλικότητα αρχικά (> 5000 mg CaCO₃/l) λόγω της προσθήκης του buffer να παρεμπόδιζε την διεργασία. Ωστόσο και μετά από τις 40 ημέρες όπου η αλκαλικότητα μετρήθηκε να είναι 3300 mg CaCO₃/l εξακολούθησε ο αντιδραστήρας να μην παράγει βιοαέριο. Επομένως είναι πιθανό το χαρούπι να περιέχει κάποια τοξική ουσία, παρεμποδιστική για τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς.



Διάγραμμα 8.4: Μεταβολή του ρυθμού παραγωγής βιοαερίου κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Τα ολικά και πτητικά στερεά στον αναερόβιο αντιδραστήρα ήταν 23.4 g/l και 10.7g/l, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 8.5: Μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής βιοαερίου

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι το χαρούπι:

- Ήταν εξαιρετικά αποτελεσματικό για την παραγωγή βιο-υδρογόνου καθώς περιέχει μεγάλες συγκεντρώσεις υδατανθράκων
- Χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στη ρύθμιση του pH του συστήματος
- Δεν είναι αποτελεσματικό για την παραγωγή βιοαερίου, τουλάχιστον στις συνθήκες που μελετήθηκε
- Πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω ξεχωριστά η παραγωγή βιοαερίου από χαρούπι χωρίς το στάδιο της παραγωγής βιο-υδρογόνου
- Πιθανό να περιέχει κάποια τοξική ένωση που παρεμποδίζει τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

1. Λυμπεράτος Γ., “Μηχανική υγρών αποβλήτων”, Εκδόσεις Πανεπιστημίου Πατρών, 1995.
2. Τσώνης Σ., “Επεξεργασία λυμάτων”, Εκδόσεις Παπασωτηρίου, Αθήνα, 2004.
3. Φουντουλάκης Μ., “Τύχη και επίδραση ξενοβιοτικών ουσιών κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων και ιλύος”, Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστημίου Πατρών, 2005.
4. Κοτρούλη Ε., “Βιοτεχνολογική αξιοποίηση αποβλήτων ελαιοτριβείων για παραγωγή υδρογόνου”, Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών, 2008.
5. Αντωνοπούλου Γ., “Ανάπτυξη ολοκληρωμένης διεργασίας παραγωγής υδρογόνου και βιοαερίου από ενεργειακή καλλιέργεια γλυκού σόργου”, Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστημίου Πατρών, 2009.
6. Βουρδούμπας Γ., Μακρής Δ., Κεφάλας Π., Καλιακάτσος Γ., Ναζάκης Γ., “Αξιοποίηση του χαρουπιού για παραγωγή βιοαιθανόλης”. 7^ο Εθνικό Συνέδριο για τις ΑΠΕ, Πάτρα. 6-8/11/02, Πρακτικά, σελ. 205-210.

Ξενόγλωσση

1. “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 19th ed, American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington DC, USA, 1995.
2. Josefsson B, “Rapid spectrophotometric determination of total carbohydrates”. Methods of seawater analysis, K. Grasshoff, M. Ehrhardt and K. Kremling (eds), Verlag Chemie GmbH, 340-342, 1983.
3. Koutrouli E.C. , Gavala H.N., Skiadas, I.V. and Lyberatos. G., “Mesophilic biohydrogen production from olive pulp”, Process Safety and Environ Prot. **84**, 285-289, 2006.

4. Kalfas H., Skiadas, I.V., Gavala, H.N., Stamatelatou, K. and Lyberatos G., “Application of ADM1 for the simulation of anaerobic digestion of olive pulp under mesophilic and thermophilic conditions”, Wat. Sci. Tech. **54**(4), 149-156, 2006.
5. APHA, “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 19th ed., American Public Health Association, Washington DC, USA, 1995.

Διαδουκτιακή

1. <http://www.imerazante.gr/imerazante/news/details.php?ID=13508>
2. <http://www.mani.org.gr/ithi/harouria/har.htm>