



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο  
Σχολή Χημικών Μηχανικών  
Τομέας IV: Σύνθεση και Ανάπτυξη Βιομηχανικών  
Διεργασιών  
Εργαστήριο Οργανικής Χημικής Τεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ  
Ιωάννη Ζαχαρόπουλου

# Παραγωγή βιοϋδρογόνου από FORBI (Food Residue Biomass product)

Επιβλέπων Καθηγητής  
Γεράσιμος Λυμπεράτος

ΑΘΗΝΑ 2018

## Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	8
Abstract .....	9
1. Εισαγωγή.....	9
1.1 Βιομάζα .....	11
1.2 Αστικά Στερεά απόβλητα.....	12
1.2.1 Αστικά στερεά απόβλητα στην Ελλάδα .....	13
1.3 Υπολείμματα τροφίμων.....	13
1.4 Ξήρανση .....	15
1.5 Βιοκαύσιμα.....	16
1.6 Υδρογόνο.....	16
1.6.1 Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας – Οικονομία του υδρογόνου .....	17
1.7 Μέθοδοι παραγωγής υδρογόνου.....	20
1.7.1 Βιολογική παραγωγή υδρογόνου.....	21
1.8 Βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου.....	23
1.8.1 Άμεση βιοφωτόλυση .....	24
1.8.2 Έμμεση βιοφωτόλυση .....	24
1.8.3 Biological water-gas shift.....	25
1.8.4 Φωτοετεροτροφική ζύμωση .....	25
1.9 Ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου .....	25
1.9.1 Εισαγωγή-Γενικά για την ζύμωση.....	25
1.9.2 Υποστρώματα-Μικροοργανισμοί.....	28
1.9.3 Συστήματα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου.....	29
1.10 Εκκίνηση και εμβόλιο .....	30
1.11 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιολογική παραγωγή υδρογόνου. ....	30
1.11.1 Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής.....	31
1.11.2 Το pH.....	31
1.11.3 Χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας .....	31
1.11.4 Η θερμοκρασία .....	32
1.11.5 Μικροοργανισμοί χρήστες υδρογόνου – Μικροοργανισμοί με παρεμποδιστική δράση.....	32
2. Αναλυτικές μέθοδοι.....	34
2.1 Γενικά.....	34
2.2 Αέρια Χρωματογραφία.....	34

2.3 Μέτρηση pH.....	35
2.4 Προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων και πτητικών στερεών .....	35
2.5 Προσδιορισμός του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου σε υδατικό διάλυμα .....	36
2.6 Προσδιορισμός υδατανθράκων σε υδατικό διάλυμα.....	37
2.7 Προσδιορισμός πτητικών λιπαρών οξέων.....	37
2.8 Προσδιορισμός της παροχής του βιοαέριου.....	37
2.9 Προσδιορισμός συγκέντρωσης υδρογόνου και μεθανίου.....	38
3. Πειραματική διάταξη.....	38
3.1 Δοχείο τροφοδοσίας .....	38
3.2 Σύστημα ζυμωτικής παραγωγής υδρογόνου.....	39
4. Παραγωγή υδρογόνου από ζυμώσιμα οικιακά απορρίμματα.....	41
4.1 Προεπεξεργασία των ζυμώσιμων οικιακών απορριμμάτων.....	41
4.2 Προκατεργασία του FORBI .....	43
4.3 Γενικά για την διεργασία παραγωγής βιουδρογόνου .....	43
5. Πρώτος κύκλος λειτουργίας .....	44
6. Δεύτερος πειραματικός κύκλος.....	50
6.1 Ημέρα 0 έως 70 .....	51
6.1.1 Κινητική μελέτη για χρόνο παραμονής 4 ώρες .....	58
6.2 Ημέρα 71 έως 90 .....	64
6.2.1 Κινητική μελέτη για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	72
7. Τρίτος πειραματικός κύκλος λειτουργίας.....	76
7.1 Προσθήκη μυρμηγκικού οξέος.....	84
7.2 Προσθήκη προπιονικού οξέος.....	87
7.3 Εμβολιασμός με καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών .....	90
7.4 Κινητική μελέτη για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	91
8. Συμπεράσματα-Προτάσεις .....	94
9. Βιβλιογραφία.....	96

## Εικόνες

Εικόνα 1: Οικιακή μονάδα παραγωγής βιοαερίου στην Ζιμπάμπουε (Πηγή: Dieter Telemans)	16
Εικόνα 2: Σχεδιάγραμμα της συσκευής που χρησιμοποίησε ο Cavedish στα πειραματά του	17
Εικόνα 3: Honda Clarity, Πρωτότυπο μοντέλο αυτοκινήτου που κινείται αποκλειστικά με κυψελίδα καυσίμου υδρογόνου (Πηγή: Honda Motor Co., Ltd.)	19
Εικόνα 4: Εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας βακτηριών του γένους Clostridium (Πηγή: Dr. David Phillips/Getty Images)	22
Εικόνα 5: Κυανοβακτήρια στην επιφάνεια λίμνης στην πολιτεία του New Hampshire (Πηγή: Getty Images)	23
Εικόνα 6: Μεταβολικά μονοπάτια της διεργασίας αναερόβιας χώνευσης (Πηγή: S. Dahiya et al.)	27
Εικόνα 7: Σχεδιάγραμμα συστήματος αέριας χρωματογραφίας	35
Εικόνα 8: Διάταξη για την μέτρηση του παραγόμενου βιοαερίου (1: Είσοδος βιοαερίου, 2: Πλωτήρας, 3: Τρίοδη ηλεκτροβάννα	38
Εικόνα 9: Εργαστηριακό σύστημα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου	40
Εικόνα 10: Συσκευή ξήρανσης/τεμαχισμού GAIA GC-300	41
Εικόνα 11: Το FORBI	42

## Διαγράμματα

Διάγραμμα 1 Μέση παγκόσμια θερμοκρασία από το 1880 (Πηγή: NASA GISS)	10
Διάγραμμα 2: Τιμές πετρελαίου την περίοδο (\$/βαρέλι) την περίοδο 1970-2014 και παράλληλα σημαντικά γεγονότα ( Πηγή: US Office of Energy Efficiency & Renewable Energy)	11
Διάγραμμα 3: Μέση ποιοτική σύσταση των αστικών στερεών αποβλήτων στην Ελλάδα. (Πηγή: ΕΕΔΣΑ)	13
Διάγραμμα 4: Σύστασή σε είδος τρόφιμου του οργανικού κλάσματος αστικών στερεών αποβλήτων (Πηγή: Xu et al. 2018)	14
Διάγραμμα 5: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας	44
Διάγραμμα 6: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα στον πρώτο κύκλο λειτουργίας	45
Διάγραμμα 7: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας	45
Διάγραμμα 8: Συσχέτιση pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα με το παραγόμενο ανά ημέρα βιοαέριο στον πρώτο κύκλο λειτουργίας	46
Διάγραμμα 9: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά στην τροφοδοσία κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας	46
Διάγραμμα 10: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας	47

Διάγραμμα 11: Σύγκριση Ολικών Στερεών στην τροφοδοσία και στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας.....	47
Διάγραμμα 12: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας.....	48
Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση βαλερικού, ισοβουτυρικού και προπιονικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας.....	48
Διάγραμμα 14: Συσχέτιση της παραγωγής βιοαερίου με την συγκέντρωση βουτυρικού και οξικού οξέος κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας.....	49
Διάγραμμα 15: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	51
Διάγραμμα 16: Παραγόμενο βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα ανά ημέρα τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	52
Διάγραμμα 17: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	52
Διάγραμμα 18: Παραγόμενο βιοϋδρογόνο κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	53
Διάγραμμα 19: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	53
Διάγραμμα 20: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δευτέρου κύκλου λειτουργίας.....	54
Διάγραμμα 21: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	54
Διάγραμμα 22: Σύγκρισή Ολικών Στερεών στον βιοαντιδραστήρα και στη τροφοδοσία κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	55
Διάγραμμα 23: Διαλυτό COD στον βιοαντιδραστήρα και στη τροφοδοσία κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	55
Διάγραμμα 24: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	56
Διάγραμμα 25: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	56
Διάγραμμα 26: Συσχέτιση της σύστασης του βιοαερίου με την συγκέντρωση του βουτυρικού και του οξικού οξέος κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας.....	57
Διάγραμμα 27: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ώρα κατά την διάρκεια του πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	58
Διάγραμμα 28: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	59
Διάγραμμα 29: pH της τροφοδοσίας και του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	59
Διάγραμμα 30: Ολικά και Πτητικά Στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	60
Διάγραμμα 31: Διαλυτό COD στον βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	60
Διάγραμμα 32: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθρακών στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	61
Διάγραμμα 33: : Συσχέτιση απομάκρυνσης υδατανθράκων και περιεκτικότητας σε υδρογόνο του βιοαερίου κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	61

Διάγραμμα 34: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες.....	62
Διάγραμμα 35: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες .....	62
Διάγραμμα 36: Συσχέτιση της σύστασης του βιοαερίου με την συγκέντρωση του βουτυρικού και του οξικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες	63
Διάγραμμα 37: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	64
Διάγραμμα 38: Παραγόμενο βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα ανά ημέρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας .....	64
Διάγραμμα 39: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	65
Διάγραμμα 40: Παραγόμενο βιοϋδρογόνο ανά ημέρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	65
Διάγραμμα 41: pH στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	66
Διάγραμμα 42: Ολικά και Πτητικά Στερεά στον βιοαντιδραστήρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	66
Διάγραμμα 43: Ολικά και Πτητικά Στερεά στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	67
Διάγραμμα 44: Σύγκρισή Ολικών και Πτητικών Στερεών στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας .....	67
Διάγραμμα 45: Διαλυτό COD στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας .....	68
Διάγραμμα 46: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας .....	68
Διάγραμμα 47: Συσχέτιση απομάκρυνσης υδατανθράκων και περιεκτικότητας σε υδρογόνο του βιοαερίου μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	69
Διάγραμμα 48: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα μετά την 70 <sup>η</sup> ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	69
Διάγραμμα 49: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	70
Διάγραμμα 50: Συσχέτιση της σύστασης του βιοαερίου με την συγκέντρωση του βουτυρικού και του οξικού οξέος μετά την 70 <sup>η</sup> ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας.....	70
Διάγραμμα 51: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	72
Διάγραμμα 52: pH του βιοαντιδραστήρα και της τροφοδοσίας κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	72
Διάγραμμα 53: Ολικά και Πτητικά αιωρούμενα στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	73
Διάγραμμα 54: Διαλυτό COD στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	73

Διάγραμμα 55: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	74
Διάγραμμα 56: Συσχέτιση απομάκρυνσης υδατανθράκων με το ποσοστό του υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	74
Διάγραμμα 57: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	75
Διάγραμμα 58: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	75
Διάγραμμα 59: Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό βιουδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής με χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	76
Διάγραμμα 60: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ώρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας.....	77
Διάγραμμα 61: Παραγόμενο βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα ανά ώρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας.....	77
Διάγραμμα 62: Σύστασή του παραγόμενου βιοαερίου κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας.....	78
Διάγραμμα 63: Παραγόμενο βιουδρογόνο ανα ημέρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας.....	78
Διάγραμμα 64: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας .....	79
Διάγραμμα 65: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας.....	79
Διάγραμμα 66: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας .....	80
Διάγραμμα 67: Σύγκριση Ολικών Αιωρούμενων Στερεών στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας .....	80
Διάγραμμα 68: Διαλυτό COD στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στη τροφοδοσία κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργείας της διεργασίας .....	81
Διάγραμμα 69: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια του τρίτου κύκλου λειτουργείας της διεργασίας .....	81
Διάγραμμα 70: Συσχέτιση της απομάκρυνσης υδατανθράκων με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια του τρίτου κύκλου λειτουργείας της διεργασίας....	82
Διάγραμμα 71: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος.....	84
Διάγραμμα 72: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος.....	84
Διάγραμμα 73: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος .....	85
Διάγραμμα 74: Συγκέντρωση βουτυρικού και οξικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος .....	85

Διάγραμμα 75: Συγκέντρωση προπιονικού, ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος.....	86
Διάγραμμα 76: Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος.....	86
Διάγραμμα 77: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος.....	87
Διάγραμμα 78: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος.....	87
Διάγραμμα 79: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος .....	88
Διάγραμμα 80: Συγκέντρωση οξικού, βουτυρικού και προπιονικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος .....	88
Διάγραμμα 81: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος .....	89
Διάγραμμα 82: Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού, βουτυρικού και προπιονικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος.....	89
Διάγραμμα 83: Περιεκτικότητα παραγόμενου βιοαερίου σε μεθάνιο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά τον εμβολιασμό του βιοαντιδραστήρα με καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών.....	90
Διάγραμμα 84: Ποσοστό μεθανίου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	91
Διάγραμμα 85: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	91
Διάγραμμα 86: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες.....	92
Διάγραμμα 87: Συγκέντρωση προπιονικού, ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	92
Διάγραμμα 88 Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες .....	93



## Πίνακες

<i>Πίνακας 1: Τυπική σύσταση αστικών οικιακών αποβλήτων στον διεθνή χώρο (% w/w) (Πηγή: Σύγχρονες τεχνολογίες ανακύκλωσης απορριμμάτων. Διαχείριση και ενεργειακή αξιοποίηση, ΤΕΙ Χαλκίδας, Μάιος 2004).....</i>	<i>12</i>
<i>Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά και χημική σύσταση υπολείμματος τροφίμων και ενός υπολείμματος φρούτων και λαχανικών (Πηγή: Xu et al. 2018).....</i>	<i>15</i>
<i>Πίνακας 3: Ενεργειακό περιεχόμενο υδρογόνου και άλλων συχνά χρησιμοποιούμενων καυσίμων (Πηγή: US Office of Energy Efficiency &amp; Renewable Energy).....</i>	<i>19</i>
<i>Πίνακας 4: Περιεκτικότητα (% w/w) του FORBI σε διαφορετικά συστατικά.....</i>	<i>42</i>

## Εξισώσεις

<i>Εξίσωση 1:.....</i>	<i>12</i>
<i>Εξίσωση 2.....</i>	<i>21</i>
<i>Εξίσωση 3.....</i>	<i>21</i>
<i>Εξίσωση 4.....</i>	<i>21</i>
<i>Εξίσωση 5.....</i>	<i>23</i>
<i>Εξίσωση 6.....</i>	<i>23</i>
<i>Εξίσωση 7.....</i>	<i>24</i>
<i>Εξίσωση 8.....</i>	<i>24</i>
<i>Εξίσωση 9.....</i>	<i>25</i>
<i>Εξίσωση 10.....</i>	<i>25</i>
<i>Εξίσωση 11.....</i>	<i>36</i>
<i>Εξίσωση 12.....</i>	<i>36</i>

## Περίληψη

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η μελέτη της ικανότητας παραγωγής βιοϋδρογόνου από ένα καινοτόμο προϊόν, το FORBI, που προέρχεται από την επεξεργασία υπολειμμάτων τροφίμων μέσω μιας διεργασίας συνεχούς έργου και στην συνέχεια η βελτιστοποίηση αυτής της διεργασίας τόσο ως προς την παραγωγή βιοϋδρογόνου όσο και ως προς τον χρόνο ζωής της.

Η πειραματική διαδικασία διήρκησε συνολικά 223 ημέρες και χωρίστηκε σε τρεις διακριτούς πειραματικούς κύκλους, διάρκειας 91, 90 και 32 ημερών. Ταυτόχρονα πραγματοποιήθηκαν πειράματα κινητικής. Και στους τρεις πειραματικούς κύκλους γινόταν καθημερινή μέτρηση της ποσότητας του παραγόμενου βιοαερίου, καθώς και της σύστασής του σε υδρογόνο και μεθάνιο. Παράλληλα, σε καθημερινή βάση γινόταν προσδιορισμός, των τιμών διαφόρων λειτουργικών παραμέτρων της διεργασίας. Πιο συγκεκριμένα η απόδοση σε βιοαέριο ήταν ικανοποιητική και στους τρεις πειραματικούς κύκλους καθώς κυμάνθηκε από 12 έως 3 L ανά ημέρα, με μέση τιμή τα 3,5 L ανά ημέρα. Η περιεκτικότητα του βιοαερίου σε υδρογόνο έφτασε μέχρι και 60 %. Παράλληλα το σύστημα παρουσίασε εξαιρετική ικανότητα στην απομάκρυνση των διαλυτών υδατανθράκων, η οποία έφτασε έως και 80 %. Ακόμα το σύστημα ήταν ικανό στη διατήρηση της τιμής του pH σε μια σχετικά σταθερή περιοχή τιμών, ανάμεσα στο 5 και το 5,5, η οποία είναι και η ιδανική για την βιολογική παραγωγή υδρογόνου. Τέλος η αρχική αποστείρωση εμβολίου και η λειτουργία της διεργασίας σε μικρούς χρόνους παραμονής (3 ώρες) συντέλεσε τόσο σε αυξημένη παραγωγικότητα βιοαερίου με υψηλά ποσοστά υδρογόνου και μηδαμινό μεθάνιο (> 1 %).

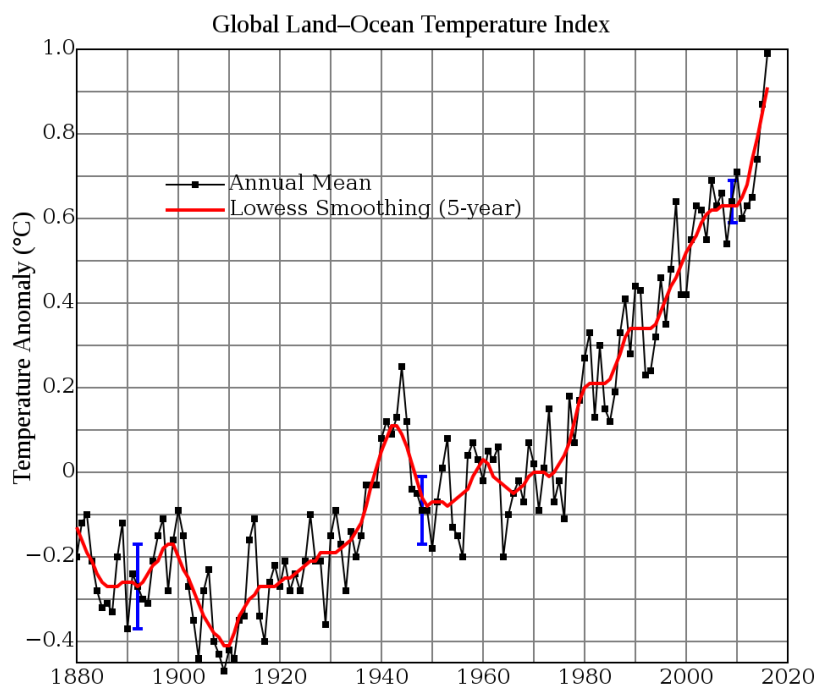
## Abstract

The aim of the present diploma thesis was the investigation of biohydrogen production through the dark fermentation of a novel innovative biomass product, which is called FORBI (FOod Residue BIomass product). FORBI is produced from drying and shredding of municipal food waste.

The fermentation process, took place in a 4L lab scale continuous stirred tank reactor (CSTR). The bioreactor operated for 223 days in total and three different experimental cycles where conducted, lasting 91, 90 and 32 days respectively. The main parameters examined, during these experimental cycles were the production of biogas and its content in hydrogen and methane. Other parameters such as the pH of the fermented broth and the concentration of volatile fatty acids, inside the bioreactor were also measured daily. Biogas yield ranged from 12 to 3 L per day with an average yield equal to 3.5 L per day. The hydrogen content of the biogas reached up to 60 %, while the removal of the dissolved carbohydrates of feed reached up to 80 %. It was proved that hydrogen consuming methanogens developed in the CSTR were inhibitory for the process. In order to avoid the dominance of methanogens in the bioreactor, we modified the start-up of the bioreactor using thermally treated activated sludge as inoculum and Hydraulic Retention Time (HRT) of 3-4 hours.

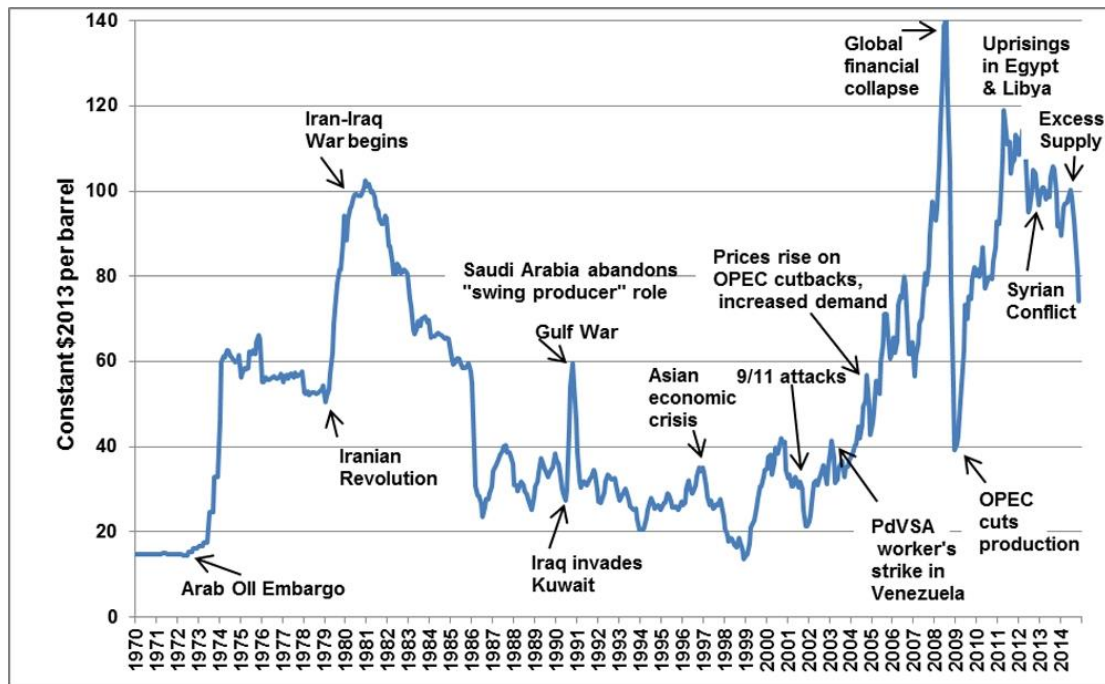
## 1. Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια γίνονται όλο και πιο εμφανείς οι επιπτώσεις της εκτεταμένης χρήσης των ορυκτών καυσίμων από την ανθρώπινη κοινωνία. Χρόνο με τον χρόνο οι ενεργειακές απαιτήσεις αυξάνονται και παράλληλα με αυτές και οι εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα, οι οποίες σε πολύ μεγάλο βαθμό ευθύνονται για το φαινόμενο του θερμοκηπίου και την υπερθέρμανση του πλανήτη. Από το 1850, όπου και άρχισε να παρακολουθείται και να καταγράφεται συστηματικά η θερμοκρασία του πλανήτη, έχει παρατηρηθεί αύξηση κατά 0,5 °C και αναμένεται να φτάσει τον 1 °C μέχρι το 2020. Ιδιαίτερα ανησυχητικό είναι το γεγονός ότι από το 1970 και μετά η αύξηση έχει επισπευθεί σημαντικά. Ως άμεση συνέπεια του φαινομένου αυτού είναι το λιώσιμο των παγετώνων και η αύξηση της στάθμης των ωκεανών. Μάλιστα το καλοκαίρι του 2040 αναμένεται να είναι η πρώτη φορά που η Αρκτική και η Βόρεια θάλασσα δεν θα είναι καλυμμένες από πάγο[1]. Παράλληλα τα τελευταία χρόνια παρατηρούνται όλο και πιο συχνά ακραία καιρικά φαινόμενα, όπως τυφώνες και τροπικές καταιγίδες. Οι περιβαλλοντικές αυτές επιπτώσεις αναμένεται να έχουν τρομερό αντίκτυπο τόσο σε διάφορα οικοσυστήματα τα οποία οδηγούνται με βεβαιότητα στην εξαφάνιση, όσο και κοινωνικό και οικονομικό. Η Υπατη Αρμοστεία του ΟΗΕ για τους Πρόσφυγες εκτιμάει ότι από το 2008 έχουν εκτοπιστεί λόγω της κλιματικής αλλαγής πάνω από 22.5 εκατομμύρια άτομα οι οποίοι είναι γνωστοί ως «κλιματικοί πρόσφυγες». Σύμφωνα με υπολογισμούς της μη κυβερνητικής οργάνωσης Greenpeace, εάν ο ρυθμός χρήσης ορυκτών καυσίμων παραμείνει ως έχει τότε σε 25 χρόνια θα έχει επέλθει ανεπανόρθωτη ζημιά στο κλίμα.



Διάγραμμα 1 Μέση παγκόσμια θερμοκρασία από το 1880 (Πηγή: NASA GISS)

Παράλληλα η τεταμένη γεωπολιτική κατάσταση που επικρατεί στις περιοχές όπου βρίσκονται τα μεγαλύτερα κοιτάσματα ορυκτών καυσίμων έχει οδηγήσει σε ραγδαία αύξηση των τιμών τους, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα:



Διάγραμμα 2: Τιμές πετρελαίου την περίοδο (\$/βαρέλι) την περίοδο 1970-2014 και παράλληλα σημαντικά γεγονότα ( Πηγή: US Office of Energy Efficiency & Renewable Energy)

Είναι φανερό ότι η τιμή του πετρελαίου είναι πολύ ευμετάβλητη και επιρρεπής σε διάφορα γεγονότα, πράγμα που το καθιστά μη ιδανικό για την κάλυψη των ολοένα και αυξανόμενων ενεργειακών αναγκών της ανθρωπότητας.

Όλα τα παραπάνω συντελούν στην επιτακτική ανάγκη εύρεσης μια λύσης για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του πλανήτη η οποία από τη μια δεν θα επιβαρύνει αρνητικά το συνολικό ισοζύγιο του διοξειδίου του άνθρακα, έτσι ώστε να μην συμβάλει στο φαινόμενο του θερμοκηπίου, αλλά θα είναι βιώσιμη οικονομικά. Οι παραπάνω προϋποθέσεις μπορούν να καλυφθούν με τη χρήση Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας και πιο συγκεκριμένα βιοκαυσίμων παραγόμενα από βιομάζα.

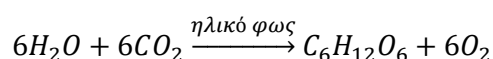
## 1.1 Βιομάζα

Σαν βιομάζα εννοείται κάθε υλικό του οποίου η προέλευση είναι ένας ζωντανός οργανισμός. Ειδικότερα η βιομάζα που χρησιμοποιείται έτσι ώστε να παραχθεί ενέργεια, ορίζεται ως το σύνολο των υλικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή στερεών, υγρών και αερίων καυσίμων. Ανάλογα με την προέλευση της η βιομάζα μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες:

- Υπολειμματική βιομάζα, η οποία περιλαμβάνει οποιοδήποτε υπόλειμμα που προκύπτει από επεξεργασία υλικών που προέρχονται από ζωντανούς οργανισμούς, όπως για παράδειγμα φυτικά υπολείμματα που προκύπτουν από κηπευτικές ή γεωργικές εργασίες, απόβλητα από την επεξεργασία τροφών, ζωικά απορρίμματα αλλά και το οργανικό κλάσμα των στερεών αστικών αποβλήτων.
- Βιομάζα από ενεργειακές καλλιέργειες, οι οποίες γίνονται με αποκλειστικό σκοπό την μετατροπή τους σε βιοκαύσιμα για την παραγωγή ενέργειας.

Η προερχόμενη από φυτικούς οργανισμούς βιομάζα μπορεί να θεωρηθεί ως μια «αποθήκη ενέργειας», αφού κατά την καύση της απελευθερώνεται η δεσμευμένη, μέσω της βιολογικής διεργασίας της φωτοσύνθεσης, η αποθηκευμένη σε αυτά ηλιακή ενέργεια. Κατά την φωτοσύνθεση η χλωροφύλλη μια χημική ουσία που βρίσκεται στους χλωροπλάστες των φυτικών κυττάρων δεσμεύει την ενέργεια του ορατού φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας. Αυτό συμβαίνει με χρήση του διοξειδίου του άνθρακα που υπάρχει στην ατμόσφαιρα και νερού και ανόργανων αλάτων που προσλαμβάνουν μέσω του ριζικού τους συστήματος από το έδαφος. Το προϊόν της διεργασίας της φωτοσύνθεσης είναι γλυκόζη, η οποία στην συνέχεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατά την διεργασία της κυτταρικής αναπνοής και να απελευθερωθεί η δεσμευμένη σε αυτή ενέργεια, και οξυγόνο[2]. Η διεργασία της φωτοσύνθεσης μπορεί να περιγραφεί συνοπτικά από την παρακάτω εξίσωση:

*Εξίσωση 1:*



## 1.2 Αστικά Στερεά απόβλητα

Με τον όρο αστικά στερεά απόβλητα ονομάζεται το σύνολο των αποβλήτων τα οποία παράγονται από τις διάφορες ανθρώπινες δραστηριότητες. Τα αστικά στερεά απόβλητα συνήθως αποτελούνται από διαφορετικά διακριτά κλάσματα, όπως αδρανή υλικά, ανακυκλώσιμα υλικά (χαρτί, πλαστικό, μέταλλο, γυαλί) αλλά και βιοδιασπώμενα υλικά (υπολείμματα τροφών, μη ανακυκλώσιμο χαρτί).

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται μια τυπική σύσταση των αστικών οργανικών αποβλήτων στον διεθνή χώρο:

*Πίνακας 1: Τυπική σύσταση αστικών οικιακών αποβλήτων στον διεθνή χώρο (% w/w) (Πηγή: Σύγχρονες τεχνολογίες ανακύκλωσης απορριμμάτων. Διαχείριση και ενεργειακή αξιοποίηση, ΤΕΙ Χαλκίδας, Μάιος 2004)*

Υλικό	Δυτική Ευρώπη	ΗΠΑ	Μέση Ανατολή
Οργανικά	21,3	22,6	60,0
Χαρτί	27,4	45,6	25,3
Υφάσματα	3,5	4,5	1,4
Πλαστικά	3,1	2,6	5,8
Γυαλί	9,5	6,2	1,0
Μέταλλα	8,5	9,1	2,8
Αδρανή	19,8	7,6	2,3
Διάφορα	6,8	1,8	1,4

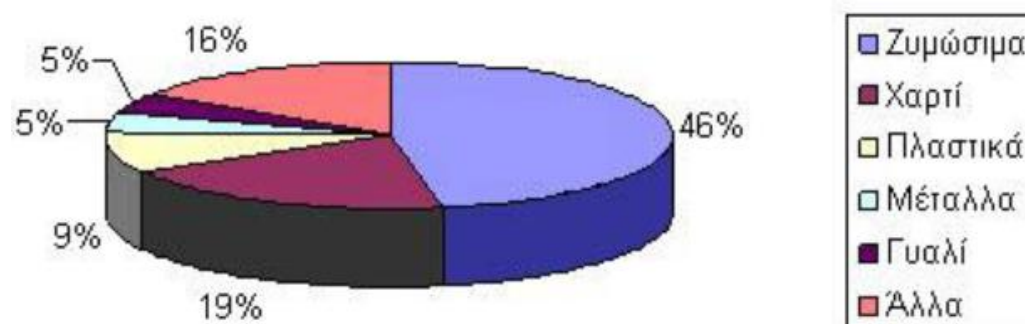
Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα σε παγκόσμιο επίπεδο ο κύριος όγκος των αστικών στερεών αποβλήτων αποτελείται από βιοδιασπώμενα υλικά και στη συνέχεια ακολουθούν τα ανακυκλώσιμα υλικά.

Σύμφωνα με την IUPAC βιοαποικοδομήσιμο ή βιοδιασπώμενο ονομάζεται οποιοδήποτε υλικό μπορεί να αποσυντεθεί λόγω της δράσης βακτηρίων, μυκήτων ή μέσω οποιασδήποτε άλλης

βιολογικής δράσης. Το βιοδιασπώμενο κλάσμα των αστικών στερεών αποβλήτων αποτελείται κυρίως από μη ανακυκλώσιμο χαρτί, υπολείμματα κηπευτικών εργασιών και υπολείμματα τροφίμων. Αποτελείται συνεπώς από το σύνολο των οργανικών υλικών που απορρίπτονται. Το οργανικό κλάσμα των αστικών στερεών αποβλήτων λόγω της αφθονίας που παρουσιάζει σε θρεπτικά συστατικά μπορεί να αποτελέσει εξαιρετικό υπόστρωμα για διεργασίες αναερόβιας χώνευσης ή ζύμωσης με σκοπό την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Σημαντικός παράγοντας στην καταλληλότητα του οργανικού κλάσματος ως υποστρώματος για βιολογικές διεργασίες είναι τα υπολείμματα τροφίμων, λόγω της μεγάλης ποσότητας θρεπτικών που περιέχουν[3].

### 1.2.1 Αστικά στερεά απόβλητα στην Ελλάδα

Σύμφωνα με την Ελληνική Εταιρία Διαχείρισης Αστικών Αποβλήτων στην Ελλάδα παράγονται περίπου 5 εκατομμύρια τόνοι αστικών αποβλήτων ετησίως. Το ποσό αυτό αντιστοιχεί σε 1,14 kg/κάτοικο/ημέρα. Μονό στην περιφέρεια Αττικής υπολογίζεται ότι η ημερήσια παραγωγή αποβλήτων ξεπερνά τους 6000 τόνους. Ο τελικός αποδέκτης των αστικών αποβλήτων στην Ελλάδα είναι οι Χώροι Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων (ΧΥΤΑ) οι οποίοι είναι σχεδόν κορεσμένοι. Συνεπώς είναι σημαντικό να βρεθούν και να εφαρμοστούν εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης, διάθεσης και αξιοποίησης τους. Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνεται η μέση ποιοτική σύσταση των αστικών στερεών αποβλήτων στην Ελλάδα.



Διάγραμμα 3: Μέση ποιοτική σύσταση των αστικών στερεών αποβλήτων στην Ελλάδα. (Πηγή: ΕΕΔΣΑ)

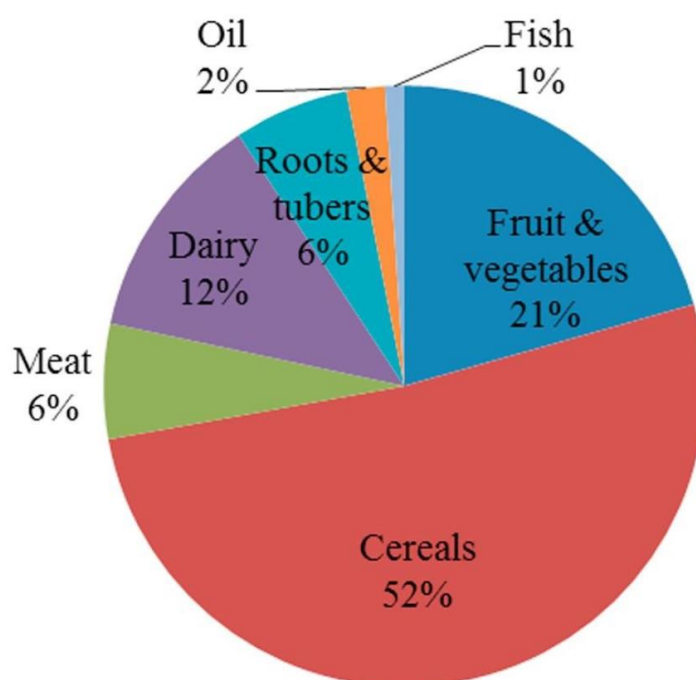
### 1.3 Υπολείμματα τροφίμων

Υπολείμματα ή απόβλητα τροφίμων (food waste) ονομάζεται το μέρος των τροφίμων που χάνεται κατά την διάρκεια όλων των σταδίων του κύκλου ζωής τους, δηλαδή την παραγωγή, την επεξεργασία, την εμπορική διάθεση και την τελική κατανάλωση[4]. Υπάρχουν πολλοί ορισμοί για τα απόβλητα τροφίμων: Ένας αντιπροσωπευτικός ορισμός είναι αυτός που δίνει η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών, όπου σαν υπολείμματα

τροφών ορίζονται « το φαγητό που δεν έχει καταναλωθεί και τα υπολείμματα από την προετοιμασία φαγητού σε οικίες ή μέρη όπου αναπτύσσεται εμπορική δραστηριότητα σχετιζόμενη με την πώληση ή και την παρασκευή τροφίμων.»

Στην περίπτωση του οργανικού κλάσματος των αστικών στερεών αποβλήτων τα υπολείμματα τροφών συνήθως είναι με την μορφή των απορριμμάτων κουζίνας (kitchen waste) και αποτελούνται κυρίως από τα μη βρώσιμα υπολείμματα κατά την παρασκευή φαγητού, όπως ο φλοιός των φρούτων, και από αποφάγια[5].

Το παρακάτω διάγραμμα δίνει την μια ενδεικτική σύσταση σε είδος τρόφιμου του οργανικού κλάσματος των αστικών στερεών αποβλήτων.



Διάγραμμα 4: Σύστασή σε είδος τρόφιμου του οργανικού κλάσματος αστικών στερεών αποβλήτων (Πηγή: Xu et al. 2018)

Είναι φανερό ότι κατά κύριο λόγο τα υπολείμματα τροφίμων αποτελούνται στην πλειοψηφία τους από τρόφιμα φυτικής προέλευσης.

Τα χαρακτηριστικά και η χημική σύσταση ενός υπολείμματος τροφίμων, καθώς και η σύστασή ενός υπολείμματος φρούτων και λαχανικών παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά και χημική σύσταση υπολείμματος τροφίμων και ενός υπολείμματος φρούτων και λαχανικών (Πηγή: Xu et al. 2018)

	<b>Φυτικά υπολείμματα</b>	<b>Οικιακά υπολείμματα</b>
<b>TS%</b>	7,4-17,9	4,0-41,5
<b>VS/TS(%)</b>	83,4-95,3	88,7-95,1
<b>Λόγος C/N</b>	15,2-18,9	11,4-36,4
<b>pH</b>	3,7-4,2	3,3-5,7
<b>Υδατάνθρακες (% TS)</b>		3,3-59,0
<b>Πρωτεΐνες (% TS)</b>	10,5-17,8	1,4-22,8
<b>Λίπη (% TS)</b>	0,8-5,2	4,0-41,5

## 1.4 Ξήρανση

Ξήρανση ορίζεται ως η διεργασία κατά την οποία ποσότητα νερού ή οποιοδήποτε άλλου διαλύτη αφαιρείται μέσω εξάτμισης από ένα στερεό ή ένα ημιστερεό. Τα ζυμώσιμα οικιακά απόβλητα αποτελούνται από υπολείμματα τροφίμων και για τον λόγο αυτό τα δεδομένα που ισχύουν για την ξήρανση τους είναι αυτά τα οποία ισχύουν και για την ξήρανση των τροφίμων.

Η διεργασία της ξήρανσης χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό από τη βιομηχανία τροφίμων αφού μετά το πέρας της διεργασίας παραλαμβάνεται ένα προϊόν βιολογικά σταθερό. Για να γίνει ξεκάθαρος ο ρόλος της ξήρανσης είναι σημαντικό να οριστεί η έννοια της ενεργότητας του νερού. Με τον όρο ενεργότητα νερού  $a_w$  ορίζεται ο λόγος της τάσης ατμών στο τρόφιμο ως προς την τάση ατμών στο καθαρό νερό στην ίδια θερμοκρασία. Με την ξήρανση γίνεται εφικτή η μείωση αυτού του λόγου μέσω της εξάτμισης του ελεύθερου νερού στο τρόφιμο. Κάτω από ορισμένες τιμές ενεργότητας νερού διάφορες ομάδες μικροοργανισμών παύουν να είναι ενεργές και σε τιμές κάτω από 0.6 το προϊόν μπορεί να θεωρηθεί μικροβιολογικά σταθερό[6].

Η μικροβιολογική σταθεροποίηση των ζυμώσιμων οικιακών αποβλήτων είναι μια διεργασία σημαντική για πολλούς λόγους. Τα διάφορα θρεπτικά συστατικά που υπάρχουν στα τρόφιμα και κατά συνέπεια στα απόβλητα τους, τα καθιστούν κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών γεγονός που συνεπάγεται την ποιοτική υποβάθμιση του αποβλήτου, ως προς τη χρήση του για υπόστρωμα σε διεργασίες ζύμωσης για παραγωγή βιοκαυσίμων ή άλλων ουσιών υψηλής προστιθέμενης αξίας. Η ανεπιθύμητη ανάπτυξη μικροοργανισμών στα αστικά απόβλητα συνεπάγεται και την παραγωγή δυσάρεστων οσμών, όπως για παράδειγμα συμβαίνει κατά την ανάπτυξη γαλακτοβάκιων. Πολλοί από τους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται ενδέχεται να είναι και δυνητικά παθογόνοι γεγονός που κάνει ακόμα πιο αναγκαία την αποτροπή της ανάπτυξης τους[7].

Ένας ακόμα σημαντικός λόγος για τον οποίο τα αστικά απόβλητα υπόκεινται στην διεργασία της ξήρανσης είναι η μείωση του όγκου τους. Ένα μεγάλο μέρος του όγκου των τροφίμων



αποτελείται από νερό. Η περιεκτικότητα αυτή σε υγρασία μπορεί να φτάσει από 35% σε αρτοσκευάσματα έως 90% σε ορισμένα φρούτα και λαχανικά [8]. Το τελικό προϊόν της ξήρανσης το μπορεί να έχει έως και 70% μειωμένο όγκο σε σχέση με τον όγκο του αρχικού αποβλήτου. Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό καθώς έτσι η μεταφορά και η αποθήκευση του τελικού προϊόντος καθίσταται πιο εύκολη.

## 1.5 Βιοκαύσιμα

Βιοκαύσιμα ονομάζονται όλα τα στερεά, υγρά και αέρια καύσιμα, τα οποία προέρχονται από την επεξεργασία της βιομάζας και χρησιμοποιούνται ως φορείς ενέργειας, η οποία απελευθερώνεται μέσω της καύσης τους. Παραδείγματα βιοκαυσίμων είναι η βιοαιθανόλη, το βιοντίζελ, το βιοαέριο, το βιοϋδρογόνο και η βιομεθανόλη. Τα βιοκαύσιμα είναι πολύ σημαντικά καθώς πλεονεκτούν σε σχέση με τα συμβατικά ορυκτά καύσιμα λόγω του γεγονότος ότι έχουν μηδενικό ισοζύγιο άνθρακα, αφού κατά την καύση τους απελευθερώνεται ακριβώς όση ποσότητα άνθρακα έχει δεσμευτεί σε αυτά μέσω της διεργασίας της φωτοσύνθεσης που συμβαίνει κατά το στάδιο ανάπτυξης της βιομάζας.



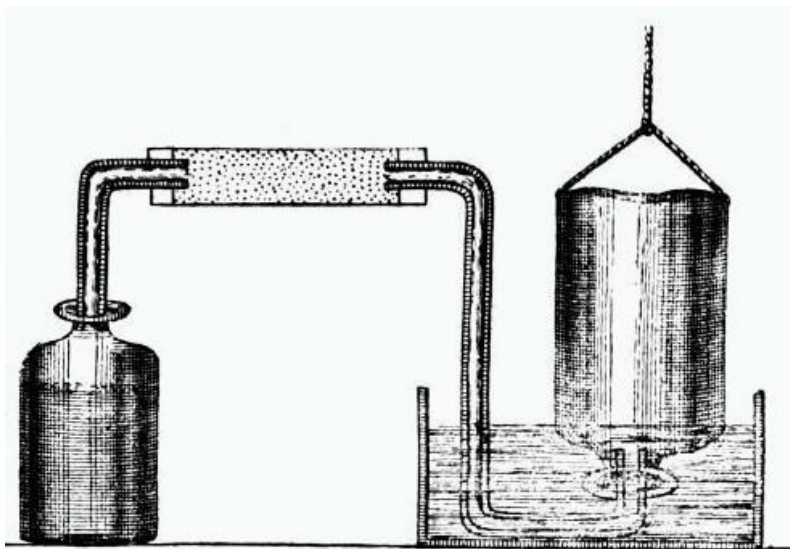
Εικόνα 1: Οικιακή μονάδα παραγωγής βιοαερίου στην Ζιμπάμπουε (Πηγή: Dieter Telemans)

## 1.6 Υδρογόνο

Το υδρογόνο είναι το πρώτο στοιχείο του περιοδικού πίνακα, με ατομικό και μαζικό αριθμό ίσο με ένα. Ο πρώτος που αναγνώρισε ότι το υδρογόνο αποτελεί ξεχωριστή χημική ουσία είναι ο Άγγλος χημικός Henry Cavendish το 1766, παρατηρώντας το αέριο που εκλύεται κατά την αντίδραση ενός οξέος με ένα μέταλλο το οποίο και το ονόμασε εύφλεκτο αέρα. Σε επόμενα πειράματά του, ο Cavendish παρατήρησε ότι κατά την καύση του παράγεται νερό. Όταν οι Γάλοι επιστήμονες Pierre – Simone Laplace και Antoine Lavoisier επανέλαβαν τα πειράματα του Cavendish το 1783 έδωσαν στην ουσία αυτή το όνομα υδρογόνο από τις αρχαίες ελληνικές λέξεις «ύδωρ» και «γεννώ».

Το υδρογόνο όταν βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου είναι σε αέρια φάση. Είναι μια ουσία άοσμη, άγευστη και άχρωμη, ενώ είναι μη τοξικό και εξαιρετικά εύφλεκτο. Το προϊόν της καύσης του, της αντίδρασης του δηλαδή με οξυγόνο είναι καθαρό νερό. Το υδρογόνο βρίσκεται άφθονο στην φύση καθώς αποτελεί βασικό στοιχείο πολλών, ανόργανων, οργανικών αλλά και βιολογικών ενώσεων, αλλά σπάνια συναντάται ελεύθερο στοιχειακό υδρογόνο στην φύση. Η ατμόσφαιρά της γης αποτελείται κατά 0,07 % από υδρογόνο και ο φλοιός της κατά 0,14%. Το υδρογόνο αντιδρά με μια πληθώρα χημικών στοιχείων και μπορεί να σχηματίσει από απλά ανόργανα οξέα, όπως το υδροχλώριο, μέχρι περίπλοκες οργανικές ενώσεις με μεγάλο ενεργειακό περιεχόμενο σαν τους υδρογονάνθρακες που βρίσκονται στο πετρέλαιο. Ακόμη το υδρογόνο είναι από τα πιο σημαντικά στοιχεία που συμμετέχουν στον σχηματισμό των οργανικών βιολογικών ενώσεων, όπως των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν δυο ισότοπα του υδρογόνου τα οποία διαφέρουν κατά ένα νετρόνιο στο πυρήνα τους, το δευτέριο και το τρίτιο, το οποίο είναι και ραδιενεργό.

Ήδη από το 1783 το υδρογόνο άρχισε να χρησιμοποιείται στα αερόστατα λόγω του γεγονότος ότι είναι ελαφρύτερο από τον αέρα. Τα αερόστατα αυτά στη συνέχεια εξελίχθηκαν στα αερόπλοια και με την χρήση του υδρογόνου έγινε το πρώτο διατλαντικό ταξίδι χωρίς στάση. Με την ανακάλυψη του ηλίου και το ατύχημα του Hindenburg, το υδρογόνο σταμάτησε να χρησιμοποιείται στην αεροπλοΐα καθώς φάνηκαν οι καταστροφικές συνέπειες της μη ασφαλούς χρήσης του.



Εικόνα 2: Σχεδιάγραμμα της συσκευής που χρησιμοποίησε ο Cavendish στα πειράματά του

### 1.6.1 Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας – Οικονομία του υδρογόνου

Τα τελευταία χρόνια η υπερθέρμανση του πλανήτη για την οποία σε μεγάλο βαθμό έχει συντελέσει το φαινόμενο του θερμοκηπίου, αλλά και οι συνεχώς αυξανόμενες τιμές των ορυκτών καυσίμων έχουν αναγκάσει την παγκόσμια ερευνητική κοινότητα να στρέψει το ενδιαφέρον της στην ανάπτυξη εναλλακτικών καυσίμων.

Η χρήση των εναλλακτικών πηγών ενέργειας έχει ως σκοπό τόσο την μείωση του εκλυόμενου στην ατμόσφαιρα CO<sub>2</sub>, όσο και τη σταδιακή απεξάρτηση της κοινωνίας από τα ορυκτά

καύσιμα. Ένα από τα πιο υποσχόμενα εναλλακτικά καύσιμα είναι το υδρογόνο καθώς κατά την χρήση του υπάρχει απουσία ρυπογόνων ουσιών στα απαέρια της καύσης του, αφού το μόνο προϊόν της καύσης του είναι καθαρό νερό. Το υδρογόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί, ακόμα και μόνο του ως καύσιμο σε κυψελίδες καυσίμου στις οποίες αντιδρά με το οξυγόνο της ατμόσφαιρας παράγοντας ενέργεια και καθαρό νερό. Οι κυψελίδες καυσίμου έχουν σαφώς μικρότερο όγκο και βάρος από της συμβατικές μηχανές εσωτερικής καύσης, ενώ παράλληλα έχουν πολλαπλάσια απόδοση και βοηθούν σημαντικά στην εξοικονόμηση καυσίμου, αφού απαιτούν σαφώς μικρότερη ποσότητα καυσίμου για την λειτουργία τους. Ενδιαφέρουσα είναι η εφαρμογή της τεχνολογίας των κυψελίδων καυσίμου σε πολεμικά υποβρύχια, στα οποία είναι πολύ σημαντική η χρήση ενός καυσίμου το οποίο να τους επιτρέπει να παραμένουν για παρατεταμένες περιόδους κάτω από το νερό, ενώ παράλληλα να μην έχει καυσαέρια τα οποία να προδίδουν το στίγμα του υποβρυχίου.

Ένας τομέας που έχει επικεντρωθεί η έρευνα για τις κυψελίδες καυσίμου είναι αυτός της αυτοκινητοβιομηχανίας. Τα πλεονεκτήματα ενός αυτοκινήτου που κινείται με την χρήση υδρογόνου είναι το γεγονός ότι δεν ρυπαίνει, δεν προκαλεί ηχορύπανση αφού η κυψελίδες είναι αθόρυβες, ενώ σε σχέση με τους συμβατικούς κινητήρες εσωτερικής καύσης το κόστος συντήρησής τους είναι σημαντικά μικρότερο. Το σημαντικό πλεονέκτημα του υδρογόνου ως εναλλακτικού καυσίμου κίνησης σε σχέση με τα υπόλοιπα υπό μελέτη καύσιμα, έγκειται στο γεγονός ότι για την διανομή του υδρογόνου και τον ανεφοδιασμό των οχημάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ήδη υπάρχον δίκτυο πρατηρίων υγρών καυσίμων, ενώ σε αντίθεση με τα ηλεκτρικά αυτοκίνητα τα οποία δεν έχουν καταφέρει να έχουν μεγάλη αυτονομία και χρειάζονται πολλές ώρες για να επιτευχθεί πλήρης φόρτιση των συσσωρευτών τους, ο ανεφοδιασμός με υδρογόνο είναι ταχύτατος. Αντίθετα το μεγάλο μειονέκτημα της εισαγωγής της τεχνολογίας των κυψελίδων καυσίμου στις οδικές μεταφορές είναι το γεγονός ότι το υδρογόνο είναι εξαιρετικά εύφλεκτη ουσία και έτσι η χρήση του θα πρέπει να είναι απαλλαγμένη από την πιθανότητα διαρροής του σε περίπτωση τροχαίου ατυχήματος. Για τον λόγο αυτό η έρευνα στρέφεται κυρίως στην εύρεση μεθόδων ασφαλούς αποθήκευσης του υδρογόνου στο όχημα[9].

Λόγω της πολυπλοκότητας της εφαρμογής της τεχνολογίας των κυψελίδων καυσίμου στις οδικές μεταφορές ή χρήση της γίνεται ακόμα σε πιλοτικά στάδια και έτσι έχουν κυκλοφορήσει πολύ λίγα μοντέλα οχημάτων. Ένα παράδειγμα είναι το Honda Clarity, το οποίο κυκλοφόρησε το 2008. Για τον λόγο αυτό γίνονται μελέτες για την χρήση του υδρογόνου σε συμβατικούς κινητήρες εσωτερικής καύσης με σκοπό τόσο την μείωση των εκπεμπόμενων ρύπων, όσο και την εξοικονόμηση καυσίμου. Πιο συγκεκριμένα το υδρογόνο μπορεί να αναμειχθεί με κάποιο άλλο συμβατικό καύσιμο όπως βενζίνη ή φυσικό αέριο. Τέτοια μείγματα καυσίμου μπορούν να αυξήσουν την αποδοτικότητα ως προς την κατανάλωση καυσίμου αλλά και να οδηγήσουν στην μείωση αερίων του θερμοκηπίου όπως το διοξείδιο του άνθρακα και των διαφόρων οξειδίων του αζώτου (NO<sub>x</sub>). [10], [11]



Εικόνα 3: Honda Clarity, Πρωτότυπο μοντέλο αυτοκινήτου που κινείται αποκλειστικά με κυψέλιδα καυσίμου υδρογόνου (Πηγή: Honda Motor Co., Ltd.)

Η καταλληλότητα της χρήσης του υδρογόνου ως καύσιμο ενισχύεται και από το γεγονός ότι αποτελεί το καύσιμο με την μεγαλύτερη ενεργειακή πυκνότητα, δηλαδή μονάδες περιεχόμενης ενέργειας ανά μονάδα βάρους, η οποία κυμαίνεται στα 120 MJ/kg υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα σε σχέση με την βενζίνη έχει περίπου τρεις φορές μεγαλύτερο ενεργειακό περιεχόμενο και πέντε φορές μεγαλύτερο σε σχέση με την αιθανόλη. Συγκρινόμενο με το μεθάνιο, το κύριο συστατικό του φυσικού αερίου έχει περίπου 2,5 φορές μεγαλύτερο ενεργειακό περιεχόμενο. Στον παρακάτω πίνακα συγκρίνεται το ενεργειακό περιεχόμενο του υδρογόνου με αυτό διαφόρων άλλων κοινών καυσίμων.

Πίνακας 3: Ενεργειακό περιεχόμενο υδρογόνου και άλλων συχνά χρησιμοποιούμενων καυσίμων (Πηγή: US Office of Energy Efficiency & Renewable Energy)

Τύπος καυσίμου	Ενέργεια ανά μονάδα βάρους (MJ/kg)
Αέριο υδρογόνο	120
Φυσικό αέριο	35-50
Βενζίνη	40-43
Πετρέλαιο	42-45
Bio-diesel	37
Αιθανόλη	21
Βιομάζα (αγροτικά υπολείμματα)	10-17

Εκτός από το υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο του υδρογόνου ένα άλλο γεγονός που καθιστά ελκυστική τη χρήση του ως φορέα ενέργειας σχετίζεται με το ότι το υδρογόνο παρασκευάζεται με πληθώρα μεθόδων και έτσι η παραγωγή του δεν περιορίζεται από χωροταξικά κριτήρια. Αυτό δίνει την δυνατότητα σε οποιαδήποτε χώρα να επιχειρήσει την παραγωγή του επιλέγοντας μια μέθοδο παραγωγής ανάλογα με τις διαθέσιμες πρώτες ύλες ενώ παράλληλα είναι εύκολη η δημιουργία ανεξαρτητών μονάδων παραγωγής σε απομακρυσμένες περιοχές. Έτσι το υδρογόνο είναι μια ενεργειακή λύση για κάθε χώρα, η οποία είναι εξαρτημένη από κάποια άλλη για την κάλυψη των ενεργειακών της αναγκών.

Το μεγαλύτερο πρόβλημα της χρήσης του υδρογόνου είναι το γεγονός ότι είναι εξαιρετικά εύφλεκτο και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι είναι άχρωμο, άγευστο και άοσμο κάνει το

ενδεχόμενο μιας διαρροής ένα πολύ επικίνδυνο σενάριο. Για τον λόγο αυτό είναι σημαντική η έρευνα και η ανάπτυξη φθηνών και αξιόπιστων αισθητήρων υδρογόνου[12]. Παράλληλα έχουν αναπτυχθεί τεχνικές για ασφαλέστερη αποθήκευση του όπας η αποθήκευση του υδρογόνου υπό την μορφή μεθυλοκυκλοεξανίου (MCH), μιας ουσίας σταθερής σε θερμοκρασία δωματίου, το οποίο μέσω μια καταλυτικής αντίδρασης μπορεί εύκολα να αφυδατωθεί και να παραχθεί υδρογόνο.[13]

Η βασική εφαρμογή του υδρογόνου σήμερα είναι η βιομηχανία. Το υδρογόνο χρησιμοποιείται στα διυλιστήρια στις διεργασίες αναμόρφωσης της νάφθας και αποθείωσης της βενζίνης, παράλληλα χρησιμοποιείται τόσο στην βιομηχανία τροφίμων κατά την διαδικασία υδρογόνωσης λιπών και ελαίων αλλά και ως πρώτη ύλη στην χημική βιομηχανία, όπως για παράδειγμα σε μονάδες παραγωγής αμμωνίας.[14].

Σε παγκόσμια κλίμακα η ετήσια παραγωγή υδρογόνου αγγίζει τους 50.000.000 τόνους, ενώ κάθε χρόνο παρατηρείται ένα ποσοστό αύξησης της παραγωγής της τάξης του 10%[15]. Σύμφωνα με το Υπουργείο Ενέργειας των Ηνωμένων Πολιτειών η συμμετοχή του υδρογόνου στον τομέα της ενέργειας θα αγγίξει το 10% μέχρι το 2025. Παράλληλα αναμένεται ότι μέχρι το 2040 σε κάθε πολιτεία των ΗΠΑ θα έχει δημιουργηθεί κατάλληλη υποδομή που θα επιτρέπει την χρήση του υδρογόνου ως καυσίμου. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση σύμφωνα με το χρονοδιάγραμμα της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, προβλέπεται σταδιακή διεύρυνση του υδρογόνου στα καύσιμα μεταφοράς και το 2040 αναμένεται να αποτελεί το κύριο καύσιμο για τις οδικές μεταφορές στην Ευρώπη.

Παρόλο που η χρήση του υδρογόνου ως εναλλακτικού καυσίμου βρίσκεται ακόμα σε πολύ πρώιμο στάδιο διαφαίνεται ότι σταδιακά η χρήση θα γίνει όλο και πιο διαδεδομένη αφού τα πλεονεκτήματα του το καθιστούν ιδανικό για την κάλυψη των ολοένα και αυξανόμενων ενεργειακών αναγκών του πλανήτη. Παράλληλα το γεγονός ότι η καύση του είναι απαλλαγμένη από ρύπους που συμβάλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου, καθιστά στο υδρογόνο πολύ σημαντικό στον αγώνα εναντίον της κλιματικής αλλαγής. Τέλος οι πολλαπλές δυνατότητες παραγωγής του ιδιαίτερα με τη χρήση αποβλήτων ως πρώτων υλών, καθιστούν το υδρογόνο ως κεντρικό άξονα ενός βιώσιμου μοντέλου κυκλικής οικονομίας.

## 1.7 Μέθοδοι παραγωγής υδρογόνου

Το υδρογόνο σήμερα παράγεται από μια πληθώρα φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος από την οποία και παράγεται περίπου το 90% του συνολικά παραγόμενου υδρογόνου είναι αυτή της αναμόρφωσης φυσικού αερίου ή άλλων υδρογονανθράκων με ατμό υψηλής θερμοκρασίας. Άλλες διεργασίες για την παραγωγή υδρογόνου είναι η αεριοποίηση βαρέων υδρογονανθράκων, η αεριοποίηση βιομάζας, η ηλεκτρόλυση του νερού σε οξυγόνο και υδρογόνο αλλά και η ζύμωση της βιομάζας με χρήση μικροοργανισμών.[16]

Οι χημικές μέθοδοι απαιτούν την χρήση ενέργειας για την πραγματοποίησή τους. Τις περισσότερες φορές η ενέργεια αυτή προέρχεται από την καύση ορυκτών καυσίμων, τα οποία χρησιμοποιούνται και ως πρώτη ύλη για την παραγωγή υδρογόνου. Στα διυλιστήρια πετρελαίου, τα οποία έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε υδρογόνο, αυτό παράγεται μέσω αναμόρφωσης υδρογονανθράκων με ατμό μια διεργασία στην οποία γίνεται κατανάλωση περίπου του 20% της παραγωγής του διυλιστηρίου σε υδρογονάνθρακες με παράλληλη μεγάλη έκλυση αέριων ρύπων που συμβάλουν στην όξυνση του φαινομένου του θερμοκηπίου[17]. Η παραγωγή υδρογόνου μέσω ηλεκτρόλυσης του νερού δεν είναι ούτε αυτή απαλλαγμένη από ρύπους, καθώς εάν η ενέργεια που χρησιμοποιείται έχει παραχθεί με τη χρήση ορυκτών καυσίμων υπάρχει απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα στο περιβάλλον.

Η χρήση της βιομάζας ως εναλλακτική πρώτη ύλη για την παραγωγή υδρογόνου αποτελεί εξαιρετική λύση καθώς το διοξείδιο του άνθρακα που εκλύεται από τη βιομάζα είναι το ίδιο που έχει απορροφηθεί από αυτή κατά το στάδιο ανάπτυξης της με την διεργασία της φωτοσύνθεσης. Παρόλα αυτά οι διεργασίες αεριοποίησης και πυρόλυσης της βιομάζας συμβάλουν και αυτές στην έκλυση αερίων του θερμοκηπίου μέσω της ενέργειας που χρησιμοποιείται για την πραγματοποίησή τους[18]. Για τον λόγο αυτό η βιολογική παραγωγή του υδρογόνου μέσω ζύμωσης αποτελεί την πιο περιβαλλοντικά φιλική διεργασία, αφού τόσο οι απαιτήσεις σε εξωτερική ενέργεια όσο και οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου είναι ελάχιστες[19].

## 1.7.1 Βιολογική παραγωγή υδρογόνου

### 1.7.1.1 Φορείς ηλεκτρονίων και ενέργειας

Το υδρογόνο παράγεται στα κύτταρα ως προϊόν των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων παραγωγής ενέργειας που συμβαίνουν μέσα σε αυτά. Πιο συγκεκριμένα το υδρογόνο παράγεται με την μορφή πρωτονίων ( $H^+$ ) και έχει να κάνει με την δράση δυο ενεργοποιημένων μορίων-φορέων, του  $NAD^+$  και του  $NADP^+$ .

Τα δυο αυτά στενά σχετιζόμενα μόρια λειτουργούν ως φορείς μεταφοράς ηλεκτρονίων στα κύτταρα, με το  $NAD^+$  να συμμετέχει σε αντιδράσεις καταβολισμού και το  $NADP^+$  σε αντιδράσεις αναβολισμού. Η μεταφορά των ηλεκτρονίων γίνεται με τον εξής τρόπο: Από το υπόστρωμα γίνεται απόσπαση δύο ηλεκτρονίων και ενός μορίου υδρογόνου και σχηματίζεται η ανοιγμένη τους μορφή  $NADH$  και  $NADPH$  με ταυτόχρονη απελευθέρωση ενός πρωτονίου. Η ελεύθερη ενέργεια αντίδρασης σχηματισμού και των δύο ανοιγμένων φορέων είναι θετική, πράγμα που σημαίνει ότι για τον σχηματισμό τους απαιτείται ενέργεια. Όταν το κύτταρο χρειαστεί ενέργεια τότε συμβαίνει η αντίθετη δράση από την οποία απελευθερώνεται ενέργεια και ένα μόριο υδρογόνου. Παρακάτω παρουσιάζονται σχηματικά οι αντιδράσεις σχηματισμού  $NADH$  και  $NADPH$ [2]:

#### Εξίσωση 2

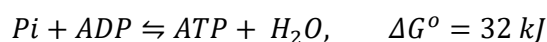


#### Εξίσωση 3



Στην συνέχεια η παραγόμενη ενέργεια μεταφέρεται από τους φορείς ηλεκτρονίων του κυττάρου στους ενεργειακούς φορείς. Ένας τέτοιος φορέας είναι το ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη), το οποίο είναι γνωστό και ως το «ενεργειακό νόμισμα του κυττάρου». Πιο συγκεκριμένα η ενέργεια του φορέα ηλεκτρονίων αποθηκεύεται μέσω της πρόσδεσης ενός μορίου φωσφόρου σε ένα μόριο ADP (διφωσφορική αδενοσίνη), όπως φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση[2]:

#### Εξίσωση 4

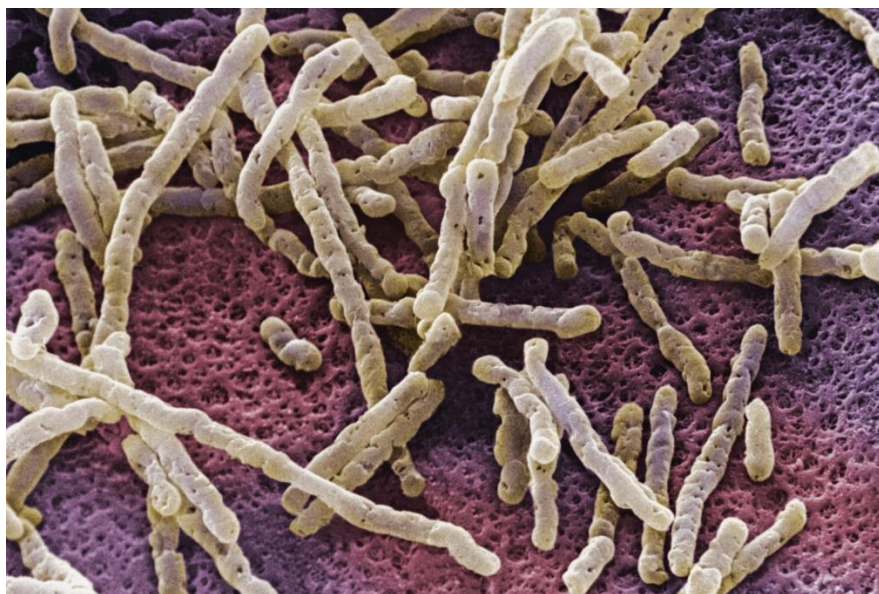


Με την διάσπαση του ATP σε ADP και φωσφόρο, μπορεί να απελευθερωθεί ενέργεια όποτε το κύτταρο χρειάζεται.

#### 1.7.1.2 Παραγωγή υδρογόνου από μικροοργανισμούς

Οι μικροοργανισμοί μπορούν να παράγουν υδρογόνο με διάφορους τρόπους κάτω από διαφορετικές συνθήκες, έτσι μπορούν να καταταχθούν σε διαφορετικές κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο ανάπτυξής τους[20] :

- Αποκλειστικά αναερόβιοι ετερότροφοι μικροοργανισμοί που δεν διαθέτουν κυτοχρώματα, οι οποίοι αφομοιώνουν τον απαιτούμενο άνθρακα από οργανικές πηγές. Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι για παράδειγμα τα βακτήρια του γένους *Clostridium*.
- Προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί που περιέχουν κυτοχρώματα και χρησιμοποιούν ως πηγή το φορμικό οξύ, το οποίο λύνουν προς υδρογόνο. Ένα παράδειγμα τέτοιου μικροοργανισμού είναι το βακτήριο *E. coli*.
- Αυτότροφοι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι παράγουν υδρογόνο μέσω της ανοιγμένης μορφής του NADH. Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι τα κυανοβακτήρια και τα άλγη.



Εικόνα 4: Εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας βακτηριών του γένους *Clostridium* (Πηγή: Dr. David Phillips/Getty Images)



Εικόνα 5: Κυανοβακτήρια στην επιφάνεια λίμνης στην πολιτεία του New Hampshire (Πηγή: Getty Images)

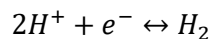
## 1.8 Βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου

Υπάρχουν πέντε διαφορετικές διεργασίες βιολογικής παραγωγής υδρογόνου:

- Άμεση βιοφωτόλυση του νερού
- Έμμεση βιοφωτόλυση του νερού
- Biological water-gas shift
- Φωτοετεροτροφική ζύμωση
- Ετεροτροφική ζύμωση

Το κοινό όλων των παραπάνω διεργασιών είναι ότι όλες σχετίζονται με την παρουσία κάποιου ενζύμου το οποίο να μπορεί να παράγει υδρογόνο καταλύοντας την χημική αντίδραση:

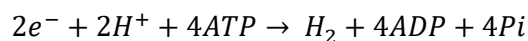
*Εξίσωση 5*



Τα ένζυμα αυτά είναι η νιτρογενάση, η Fe-υδρογονάση και η NiFe-υδρογονάση.

Η βασική διεργασία που επιτελεί το ένζυμο νιτρογενάση είναι η αναγωγή του στοιχειακού αζώτου σε αμμωνία. Απουσία όμως αζώτου από το περιβάλλον μπορούν να ανάγουν τα πρωτόνια σε υδρογόνο. Η νιτρογενάση αποτελείται από MoFe-πρωτεΐνες και Fe-πρωτεΐνες. Η παραγωγή υδρογόνου μέσω αυτού του ενζύμου πραγματοποιείται μέσω μιας μη αντιστρεπτής χημικής αντίδρασης:

*Εξίσωση 6*





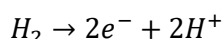
Η απαίτηση τεσσάρων μορίων ATP για την πραγματοποίηση αυτής της δράσης την καθιστά απαιτητική σε ενέργεια και επομένως μη αποτελεσματικό τρόπο παραγωγής υδρογόνου[21].

Οι υδρογονάσες είναι μια μεγάλη κατηγορία ενζύμων που βρίσκεται σε αυτότροφους (φωτοσυνθετικούς) και ετερότροφους μικροοργανισμούς. Τα ένζυμά αυτά ανάλογα με τον τρόπο λειτουργίας τους μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες:

1. Υδρογονάσες πρόσληψης
2. Αντιστρεπτές υδρογονάσες

Οι υδρογονάσες πρόσληψης στις οποίες περιλαμβάνεται η NiFe-υδρογονάση, καταλύουν την αντίδραση της κατανάλωσης του υδρογόνου:

*Εξίσωση 7*

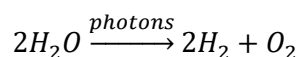


Οι αντιστρεπτές υδρογονάσες μπορούν να καταλύσουν αντιδράσεις τόσο διάσπασης του υδρογόνου σε πρωτόνια και ηλεκτρόνια, όσο και παραγωγής του από αυτά, συμφωνά με την Εξ.4. Η πορεία αυτής της αντίδρασης εξαρτάται από τις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον.

### 1.8.1 Άμεση βιοφωτόλυση

Οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί, όπως για παράδειγμα τα μικροφύκη, χρησιμοποιούν την άμεση βιοφωτόλυση με σκοπό την μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε χημική με την μορφή υδρογόνου, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:

*Εξίσωση 8:*



Η διαδικασία παραγωγής ενέργειας αυτών των μικροοργανισμών περιλαμβάνει τρία στάδια: την απορρόφηση ηλιακής ενέργειας, το φωτοσυνθετικό σύστημα I και το φωτοσυνθετικό σύστημα II.

Στο φωτοσυνθετικό σύστημα I (PSI) παράγεται το αναγωγικό μέσο για την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα και στο φωτοσυνθετικό σύστημα (PSII) γίνεται διάσπαση του νερού σε οξυγόνο και υδρογόνο.

### 1.8.2 Έμμεση βιοφωτόλυση

Τα στάδια της έμμεσης βιοφωτόλυσης είναι τα παρακάτω:

- Παραγωγή βιομάζας με την μορφή υδατανθράκων.
- Συγκέντρωση βιομάζας.
- Σκοτεινή ζύμωση της βιομάζας ως προς υδρογόνο και οξικό οξύ.
- Μετατροπή του οξικού οξέος σε υδρογόνο.

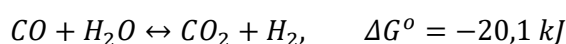
Η έμμεση βιοφωτόλυση έχει το πλεονέκτημά της υψηλής απόδοσης σε υδρογόνο ανά mol γλυκόζης αφού κατά την ζύμωσή αποδίδονται 4 mol υδρογόνου και 2 mol οξικού ανά mol

γλυκόζης και από την περαιτέρω επεξεργασία τα 2 mol οξικού οξέος μπορούν να μετατραπούν σε 8 mol υδρογόνου, φέρνοντας την τελική απόδοση της διεργασίας στα 12 mol υδρογόνου ανά mol γλυκόζης. Για τον λόγο αυτό η διεργασία αυτή είναι αντικείμενο σημαντικής έρευνας.

### 1.8.3 Biological water-gas shift

Το biological water-gas shift πραγματοποιείται από μικροοργανισμούς, οι οποίοι απουσία φωτός, μπορούν να χρησιμοποιήσουν και να αφομοιώσουν μονοξείδιο του άνθρακα ως πηγή άνθρακα για την παραγωγή ATP. Όπως φαίνεται και στην παρακάτω αντίδραση οι μικροοργανισμοί, οξειδώνουν το μονοξείδιο του άνθρακα για τον σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα και στοιχειακού υδρογόνου, με την βοήθεια του ενζύμου υδρογονάση.

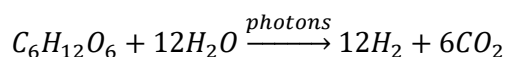
*Εξίσωση 9:*



### 1.8.4 Φωτοετεροτροφική ζύμωση

Η παραγωγή υδρογόνου στην φωτοετεροτροφική ζύμωση συμβαίνει μέσω της δράσης του ενζύμου νιτρογονάση το οποίο παράγει υδρογόνο χρησιμοποιώντας βιομάζα ή κάποιο οργανικό υπόστρωμα και ηλιακή ενέργεια.

*Εξίσωση 10*



Η φωτοετεροτροφική ζύμωση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν διεργασία για παραγωγή υδρογόνου με παράλληλο καθαρισμό ρεύματος οργανικών αποβλήτων. Η διεργασία παραγωγής υδρογόνου με φωτοετεροτροφική ζύμωση παρουσιάζει βασικά μειονεκτήματα που δεν την καθιστούν την βέλτιστη διεργασία για βιολογική παραγωγή υδρογόνου: Αρχικά οι υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις της νιτρογονάσης, δεύτερον ο μικρός βαθμός μετατροπής της ηλιακής ενέργειας και τέλος η απαίτηση μεγάλου εμβαδού επιφάνειας του αντιδραστήρα, λόγω των μικρών αποδόσεων[22].

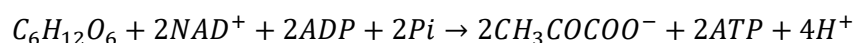
## 1.9 Ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου

### 1.9.1 Εισαγωγή-Γενικά για την ζύμωση

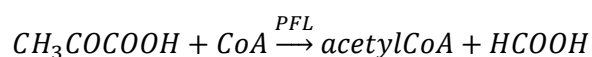
Η ζύμωση είναι μια μικροβιολογική διεργασία, υπό διεξάγεται υπό αναερόβιες συνθήκες, απουσία φωτός (dark fermentation). Κατά την διάρκεια της ζύμωσης ένα οργανικό υπόστρωμα μετατρέπεται μέσω βιολογικών διεργασιών σε ένα οξύ ή μια αλκοόλη. Για την παραγωγή του υδρογόνου η χρήση της ζύμωσης αποτελεί μια πολύ αξιόλογη επιλογή, αφού επιτρέπει υψηλά ποσοστά παραγωγή υδρογόνου με συνεχή τρόπο, χωρίς την απαίτηση ηλιακής ενέργειας.[23]

Η κύρια πηγή άνθρακα και ενέργειας των μικροοργανισμών είναι η γλυκόζη. Το κύριο μεταβολικό μονοπάτι για τον καταβολισμό της γλυκόζης από τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι αυτό της γλυκόλυσης ή αλλιώς μονοπάτι Embden – Meyerhof -Parnas (EMP). Άλλοι μικροοργανισμοί ακολουθούν άλλα μεταβολικά μονοπάτια, όπως αυτά της φωσφορικής εξόζης (HMP) και το μονοπάτι Entner-Doudoroff (ED).

Στο γλυκολυτικό μονοπάτι η γλυκόζη μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό ανιόν, αποδίδοντας παράλληλα και 2 moles ATP ανά mole γλυκόζης. Αυτό φαίνεται και στην παρακάτω αντίδραση:



Στην συνέχεια και μέσω του αναερόβιου μεταβολισμού του πυροσταφυλικού οξέος συμβαίνει η μικροβιακή παραγωγή του υδρογόνου. Ο μεταβολισμός του πυροσταφυλικού οξέος ξεκινάει με την παρακάτω αντίδραση αυτή δηλαδή της λύσης του ως προς μυρμηκικό οξύ και ακετύλο-CoA[2], [24]:

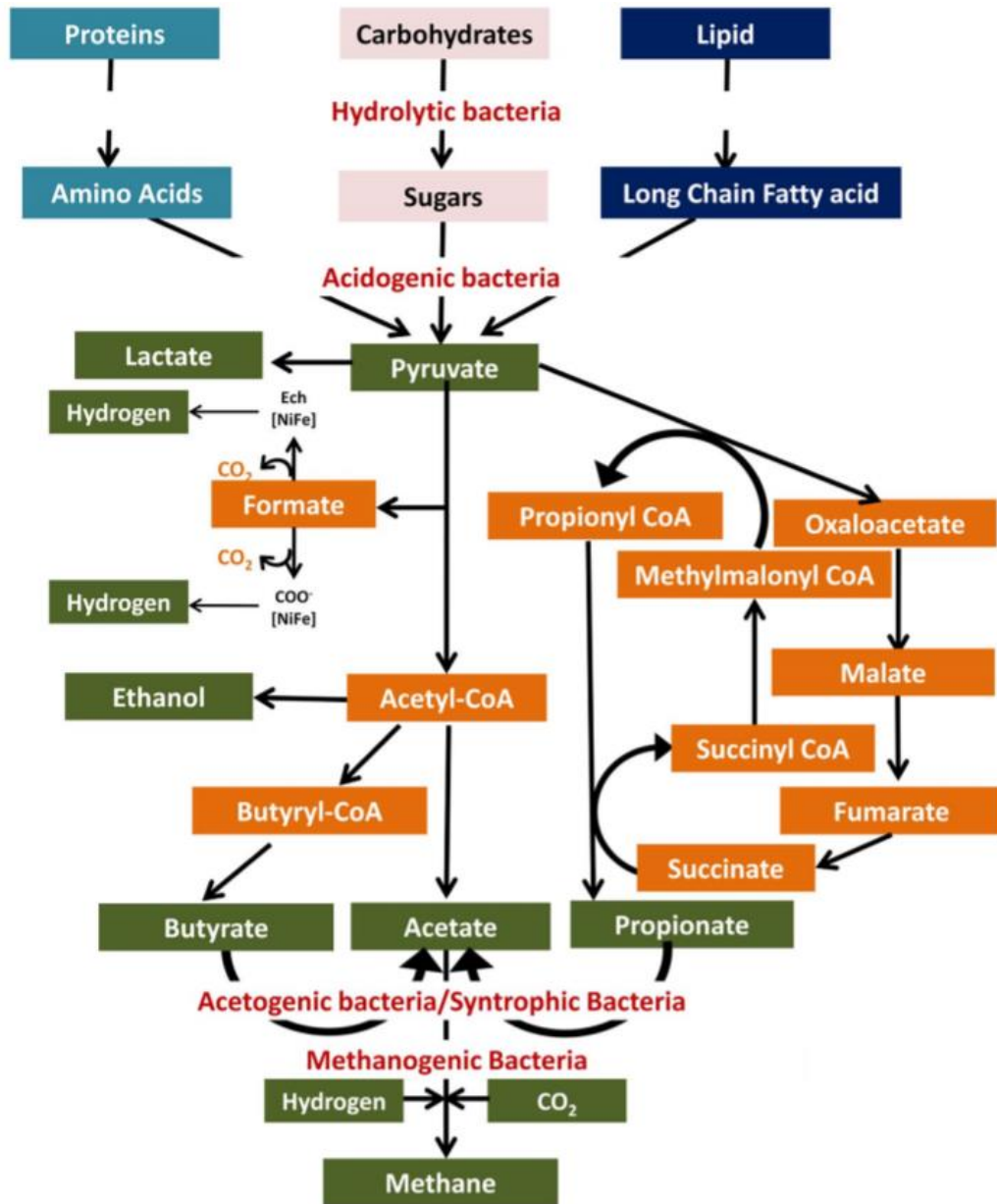


Πολύ σημαντικές για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου είναι οι διεργασίες υδρόλυσης της βιομάζας, οξεογένεσης και οξικογένεσης οι οποίες συμβαίνουν από διαφορετικά βακτήρια. Η υδρόλυση είναι μια διεργασία, η οποία λαμβάνει χώρα με την βοήθεια μια ομάδας ενζύμων τα οποία ονομάζονται υδρολάσες. Οι υδρολάσες είναι μια ευρεία κατηγορία ενζύμων, τα οποία μπορούν να δρουν τόσο εξωκυτταρικά με σκοπό να επιτευχθεί η διάσπαση βιοπολυμερών μεγάλου οργανικού βάρους σε μικρότερα κομμάτια, όσο και ενδοκυτταρικά για την διάσπαση διαφόρων διμερών[25].

Οι υδρολάσες, μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τα βιολογικά μακρομόρια που διασπούν. Ειδικότερα οι πρωτεάσες είναι εξωκυτταρικά ένζυμα τα οποία έχουν την δυνατότητα να διασπάσουν τις πρωτεΐνες σε μικρότερα πολυπεπίδια αλλά και σε αμινοξέα. Τα αμινοξέα που προκύπτουν από την διάσπαση των πρωτεϊνών, διασπώνται μέσω πολλών διαφορετικών μηχανισμών από διάφορους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στην μεικτή καλλιέργεια. Μέσω μεταβολικών μονοπατιών η πρωτεΐνες οδηγούνται τελικά σε οργανικά οξέα.

Τα λιπίδια βιοαποικοδομούνται με την βοήθεια ενζύμων τα οποία ονομάζονται λιπάσες. Τα ένζυμα αυτά διασπούν τα λιπαρά οξέα σε ακετύλο-CoA, το οποίο ύστερα εισέρχεται στον κύκλο του κιτρικού οξέος, NADH και FADH<sub>2</sub>, μέσω της β- οξειδωσης κατά την οποία ο β άνθρακας του λιπαρού οξέος οξειδώνεται προς καρβονύλιο. Τα τελικά προϊόντα από την διάσπαση των λιπαρών οξέων είναι το οξικό οξύ, ενώ από την γενικότερη διάσπαση λιπιδίων προκύπτει ένα μείγμα οξικού και προπιονικού οξέος[2], [26]. Σαν τελικός δέκτης ηλεκτρονίων κατά την αντίδραση της β-οξειδωσης σε αναερόβιες συνθήκες λειτουργεί το διοξείδιο του άνθρακα. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα τελικά προϊόντα της οξειδωσης των λιπαρών μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με το είδος του λιπαρού οξέος που καταβολίζεται αλλά και της συνθήκες στις οποίες βρίσκεται ο μικροοργανισμός. Έτσι για παράδειγμα από την βιοαποικοδόμηση του βουτυρικού οξέος μπορεί ναπραχθεί είτε οξικό οξύ και υδρογόνο, είτε φορμικό οξύ[27], [28]. Ένα άλλο παράδειγμα είναι η οξειδωση του προπιονικού οξέος ως προς οξικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο[29].

Οι υδατάνθρακες ανάλογα με το είδος τους (κυτταρίνη, λιγνίνη, ημικυτταρίνη) και το μοριακό τους βάρος αποικοδομούνται σε απλούστερα σάκχαρα με την βοήθεια πολλών διαφορετικών υδρολυτικών ενζύμων. Τα σάκχαρα αυτά, εισέρχονται στη συνέχεια στον κύκλο του κιτρικού οξέος από τον οποίο παράγεται ATP αλλά και υδρογόνο, διοξείδιο του άνθρακα και οργανικά οξέα όπως φορμικό, οξικό, προπιονικό, βουτυρικό, γαλακτικό και βαλερικό οξύ[2], [24]. Το είδος αλλά και η σύσταση των τελικών προϊόντων εξαρτάται τόσο από τους μικροοργανισμούς της μεικτής καλλιέργειας, όσο και από το είδος των αρχικών υδατανθράκων καθώς και τις συνθήκες που επικρατούν μέσα στον βιοαντιδραστήρα. Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται τα μεταβολικά μονοπάτια της αναερόβιας χώνευσης:



Εικόνα 6: Μεταβολικά μονοπάτια της διεργασίας αναερόβιας χώνευσης (Πηγή: S. Dahiya et al.)

## 1.9.2 Υποστρώματα-Μικροοργανισμοί

Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την παραγωγή βιο-υδρογόνου. Έχει πλέον διαπιστωθεί ότι τα υλικά πλούσια σε υδατάνθρακες αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για την επιτυχή πραγματοποίηση αυτής της διεργασίας. Παράδειγμα τέτοιων υποστρωμάτων, πλούσιων σε υδατάνθρακες που έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί είναι απόβλητα, αγροτικά υπολείμματα και γενικότερα λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα. Πιο συγκεκριμένα η σχέση της συγκέντρωσης υδατανθράκων στο υπόστρωμα με την τελική παραγωγή σε υδρογόνο είναι ανάλογη. Αντίθετα η συγκέντρωση των πρωτεϊνών και των λιπιδίων στο υπόστρωμα δεν φαίνεται να επηρεάζει την παραγωγή υδρογόνου.[30]

Λόγω της σημασίας της συγκέντρωσης υδατανθράκων στο υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου, έχουν γίνει πειράματα με καθαρά σάκχαρα όπως γλυκόζη και σακχαρόζη με σκοπό την εργαστηριακή μελέτη της παραγωγής υδρογόνου[31]. Τα πειράματα με αυτά τα «καθαρά» υποστρώματα δεν μπορούν, όμως να δώσουν αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα καθώς η χρήση τους είναι απαλλαγμένη από την δυσκολία που έχουν οι μικροοργανισμοί να διασπάσουν ένα υπόστρωμα στο οποίο τα σάκχαρα θα βρίσκονται υπό δυσκολότερα αποικοδομήσιμη μορφή[32].

Πολλά υποστρώματα έχουν προταθεί για την παραγωγή υδρογόνου με αναερόβια ζύμωση. Ένα από αυτά είναι τα ενεργειακά φυτά, όπως το γλυκό σόργο το οποίο έχει συγκέντρωση σακχάρων ικανή για ικανοποιητική παραγωγή υδρογόνου[33]. Ένα υπόστρωμα που παρουσιάζει ενδιαφέρον είναι τα ζυμώσιμα αστικά απόβλητα. Αρχικά η χρήση ζυμώσιμων αστικών απόβλητων για ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου, λύνει το πρόβλημα της διαχείρισής τους. Σαν υπόστρωμα, σε μεγάλο βαθμό αποτελούνται από υπολείμματα φρούτων, λαχανικών, αρτοποιημάτων και ζυμαρικών. Όλα τα παραπάνω συστατικά είναι πλούσια είτε σε καθαρούς υδατάνθρακες (σουκρόζη) είτε σε άμυλο που αποτελούν συστατικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με σχετική ευκολία από τους ζυμωτικούς μικροοργανισμούς. Ένα ακόμη σημαντικό πλεονέκτημα που έρχεται από την χρήση ζυμώσιμων αστικών αποβλήτων, είναι το γεγονός ότι αφού πρόκειται για υπολείμματα φαγητού στο υπόστρωμα περιέχονται όλα εκείνα τα θρεπτικά, όπως άζωτο και φωσφόρος τα οποία είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των ζυμωτικών μικροοργανισμών. Έτσι επέρχεται σημαντική μείωση του κόστους της ζυμωτικής διεργασίας αφού η ανάγκη για εξωτερική προσθήκη θρεπτικών είναι είτε μηδενική είτε ελάχιστη [32], [34]. Τέλος έχει προταθεί και η χρήση αγροτικών αποβλήτων για την παραγωγή υδρογόνου, όμως η παρουσία λιγνίνης ή οποία δεν υδρολύεται εύκολα ενζυμικά εμποδίζει την υδρόλυση των υδατανθράκων και οδηγεί σε χαμηλές αποδόσεις [35].

Πειράματα παραγωγής υδρογόνου έχουν γίνει με πολλούς μικροοργανισμούς οι οποίοι έχουν την δυνατότητα αναερόβιας ζύμωσης υδατανθρακικού υποστρώματος. Αναφέρεται ότι η χρήση μικροοργανισμών του γένους *Clostridium*, *Bacillus* και *Enterobacter* επιφέρει ικανοποιητικά αποτελέσματα παραγωγικότητας υδρογόνου. Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε σε καθαρή μορφή, είτε σε μορφή μεικτών καλλιιεργειών στις οποίες εμπεριέχονται ένα ή παραπάνω από αυτά τα είδη. Στην περίπτωση αυτή επιβάλλοντας τις κατάλληλες συνθήκες στο σύστημα, το επιθυμητό είδος καταφέρνει να υπερισχύσει έναντι των άλλων[19].

Σημαντική έρευνα έχει γίνει για την μελέτη, την εύρεση και τον χαρακτηρισμό, μικροοργανισμών οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια ζυμωτική διεργασία παραγωγής υδρογόνου. Ένα από τα γένη μικροοργανισμών που έχουν μελετηθεί είναι το γένος *Clostridium*. Πρόκειται για υποχρεωτικά αναερόβιους σπορογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι μέσω του ενζύμου υδρογονάση, παράγουν στοιχειακό υδρογόνο, το οποίο το χρησιμοποιούν για να αποβάλουν την περίσσεια ηλεκτρονίων που προκύπτει κατά την δράση του καταβολισμού τους[36]. Παραδείγματα βακτηριών του γένους *Clostridium* που έχουν χρησιμοποιηθεί για βιολογική διεργασία είναι *C. pasteurianum*[36] και *C. Bifermentans* [37][38]. Πολύ σημαντικό για την χρήση μικροοργανισμών του γένους *Clostridium*, είναι το γεγονός ότι σε μια μεικτή μεσόφιλη καλλιέργεια αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της μικροπανίδας. Για τον λόγο αυτό οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι εύκολο να απομονωθούν από μέρη όπως μια μονάδα επεξεργασίας λυμάτων και χρησιμεύσουν ως εμβόλιο με πολύ μικρή και εύκολη προεπεξεργασία[39]. Ακόμη η χρήση προαιρετικά αναερόβιων και αερόβιων βακτηριών, όπως αυτά του γένους *Aeromonas*, έχει μελετηθεί.

Η παραγωγή υδρογόνου από μικροοργανισμούς παρατηρείται παράλληλα με την παραγωγή άλλων προϊόντων, όπως πτητικά λιπαρά οξέα, γαλακτικό οξύ και αιθανόλη και είναι αποτέλεσμα της αναερόβιας διάσπασης σακχάρων για παραγωγή ενέργειας, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω. Πιο συγκεκριμένα η παραγωγή του υδρογόνου σχετίζεται με την εκθετική φάση ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Στην φάση αυτή που ονομάζεται και φάση οξεογένεσης παρατηρείται ραγδαία αύξηση του πληθυσμού των μικροοργανισμών με παράλληλη υψηλή παραγωγή υδρογόνου και λιπαρών οξέων (οξικό οξύ, βουτυρικό οξύ), η φάση αυτή ακολουθείται από μείωση της ταχύτητας ανάπτυξης της καλλιέργειας με ταυτόχρονη μείωση της παραγωγής του υδρογόνου[40]. Από όλα τα πιθανά λιπαρά οξέα που μπορούν να παραχθούν η παραγωγή βουτυρικού οξέος είναι αυτή που σχετίζεται με την πιο αυξημένη παραγωγή υδρογόνου. Η εμφάνιση αλκοόλης στα προϊόντα της ζύμωσης, μπορεί να αποτελέσει δείκτη ότι η διεργασία έχει αρχίσει να αστοχεί[41].

Από την καταβολική λύση της γλυκόζης, η μέγιστη θεωρητική απόδοση σε υδρογόνο είναι 12 mol υδρογόνου ανά mol μεταβολιζόμενης γλυκόζης. Στην πραγματικότητα όμως δεν υπάρχουν μεταβολικά μονοπάτια που μπορούν να το κάνουν αυτό, αφού τότε δεν θα ήταν δυνατή η κυτταρική ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Τελικά η θεωρητική απόδοση σε υδρογόνο εξαρτάται από το είδος των μικροοργανισμών και κυμαίνεται από 2 mol υδρογόνου ανά mol γλυκόζης για προαιρετικά αναερόβια βακτήρια έως 4 mol υδρογόνου ανά mol γλυκόζης για υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια[42]. Φυσικά υπάρχουν αποκλίσεις από την θεωρητική τιμή, οι οποίες σχετίζονται με την υπερπαραγωγή των λιπαρών οξέων όπως για παράδειγμα το βουτυρικό οξύ[39].

### 1.9.3 Συστήματα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου

Έχει γίνει μελέτη πολλών διαφορετικών συστημάτων με σκοπό να βρεθεί το κατάλληλο για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου. Οι πιο πολλές μελέτες γίνονται με υπόστρωμα απλά σάκχαρα, είτε σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου είτε σε αντιδραστήρες συνεχούς έργου πλήρους ανάμειξης (CSTR).

Ιδιαίτερη μελέτη γίνεται στα αναερόβια συστήματα στα οποία είτε γίνεται τέτοια ανάπτυξη των υδρογονοπαραγωγών μικροοργανισμών όπου ευνοείται ο σχηματισμός βιολογικών συσσωματωμάτων (granulation)[39], [43], είτε σε αναερόβια συστήματα στα οποία οι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί έχουν ακινητοποιηθεί σε διάφορα μέσα[43], [44].

Παράλληλα μελετάται χρήση διαφορετικών ειδών αντιδραστήρων, όπως για παράδειγμα αντιδραστήρες ανοδικής ροής με κουβέρτα ιλύος (UASB) [45] ή αντιδραστήρες πακτωμένης στήλης [44].

## 1.10 Εκκίνηση και εμβόλιο

Στις ζυμωτικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου, συχνά επιλέγεται η χρήση μεικτών καλλιιεργειών καθώς έτσι δεν υπάρχει φόβος μόλυνσης της καλλιέργειας και κατ' επέκταση ανάγκη για διατήρηση στειρών συνθηκών λειτουργείας[19]. Τα συνηθέστερα βακτήρια που χρησιμοποιούνται είναι αυτά του γένους *Clostridium*, αφενός λόγω της καλής στοιχειομετρικής τους απόδοσης σε υδρογόνο (1,62-2,36 mol/mol γλυκόζης) και αφετέρου λόγω της ιδιότητας τους να σποριάζουν[41]. Η ιδιότητα τους αυτή είναι χρήσιμη αφού με μια αύξηση της θερμοκρασίας οι υδρογονοπαραγωγοί μικροοργανισμοί θα επιζήσουν σε αντίθεση με τους μικροοργανισμούς- καταναλωτές του υδρογόνου[46]. Η θερμική κατεργασία του εμβολίου παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι τα βακτήρια που επιζούν παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία στην τοξικότητα του οξυγόνου και ο κίνδυνος αστοχίας της διεργασίας αυξάνεται. Μια καλή πηγή λήψης του πρωτογενούς εμβολίου είναι η ενεργός ιλύς ή αερόβια λάσπη. Μετά από θερμική επεξεργασία της, βακτήρια του γένους *Clostridium* τα οποία έχουν το ένζυμο υδρογονάση καταφέρνουν να επιβιώσουν σε αντίθεση με άλλους μικροοργανισμούς οι οποίοι χρησιμοποιούν το υπόστρωμα, παράγοντας άλλα προϊόντα[47]. Το γεγονός ότι τα βακτήρια του εμβολίου εισέρχονται υπό την μορφή ενδοσπορίων, οδηγεί στην καθυστέρηση εμφάνισης υδρογόνου, καθώς αρχικά απαιτείται βλάστηση των σπορίων[46]. Μια ακόμα σημαντική παράμετρος είναι η ρύθμιση του χρόνου παραμονής και του pH, έτσι ώστε παρεμποδιστεί η ανάπτυξη μεθανογόνων βακτηρίων που μπορεί να υπάρχουν στο εμβόλιο και η ύπαρξη τους θα λειτουργήσει ανταγωνιστικά με τα υδρογονοπαραγωγά βακτήρια. Η ρύθμιση του συστήματος σε όξινο pH βοηθάει στην παρεμπόδιση των μεθανογόνων βακτηρίων, ενώ λόγω του σχετικά αργού ρυθμού ανάπτυξης η λειτουργία της διεργασίας σε μικρούς χρόνους παραμονής οδηγεί σε τελική έκπλυση των μεθανογόνων από το σύστημα[48].

## 1.11 Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

Η ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου, όπως και κάθε άλλη βιολογική διεργασία χαρακτηρίζεται από τη ύπαρξη πολλών παραγόντων, οι οποίοι βρίσκονται σε μια λεπτή ισορροπία, η διαταραχή της οποίας θα οδηγήσει πιθανότητα σε αστοχία της διεργασίας. Οι σημαντικότεροι παράγοντες, οι οποίοι θα αναφερθούν και εκτενέστερα παρακάτω είναι ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, τα χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας, το pH, η θερμοκρασία και η παρουσία μικροοργανισμών- χρηστών του υδρογόνου. Η παρακολούθηση αυτών των παραμέτρων, αλλά και η διατήρησή τους στις βέλτιστες τιμές είναι σημαντική για την επιτυχημένη και αποδοτική λειτουργία της διεργασίας.

### 1.11.1 Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ο υδραυλικός χρόνος παραμονή αποτελεί σημαντική παράμετρο του συστήματος, αφού η σωστή ρύθμιση του, σε χρόνους μικρότερους από τον ρυθμό ανάπτυξης ανεπιθύμητων μικροοργανισμών επιτρέπει την απομάκρυνσή τους από το σύστημα. Γενικότερα μικροί χρόνοι παραμονής οδηγούν σε αύξηση της παραγωγικότητας του υδρογόνου, καθώς αυξάνουν το διαθέσιμο υπόστρωμα μέσα στο σύστημα. Παράλληλα όμως μειώνεται το ποσοστό απομάκρυνσης των υδατανθράκων. Η μείωση του χρόνου παραμονής δεν μπορεί να γίνεται άκριτα αφού σε πολύ μικρούς χρόνους οι μικροοργανισμοί δεν έχουν την δυνατότητα να υδρολύσουν το υπόστρωμα, ενώ μπορεί να παρατηρηθεί και έκπλυση τους. Στην βιβλιογραφία αναφέρεται ένα βέλτιστο διάστημα χρόνων παραμονής ανάμεσα στις 6 και στις 12 ώρες. Σημαντική είναι και η εξάρτηση του χρόνου παραμονής και από το pH του συστήματος, αφού σε δεδομένο χρόνο παραμονής και διαφορετικό pH η παραγωγικότητα μπορεί να παρουσιάσει πολύ μεγάλη διακύμανση [49][50].

### 1.11.2 Το pH

Η ρύθμιση του pH είναι σημαντική τόσο για τον μεταβολισμό των ζυμωτικών μικροοργανισμών, όσο και για την διατήρηση συγκεκριμένου είδους μικροοργανισμών στην καλλιέργεια. Τιμές στην όξινη περιοχή εγγυούνται την απενεργοποίηση των μεθανογόνων μικροοργανισμών. Στην βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορες βέλτιστες τιμές pH, με τι οποίες παρατηρείται η μέγιστη παραγωγικότητα υδρογόνου, οι οποίες κινούνται από 5,5 έως 7, με ένα μέγιστο γύρω στο 6. Φυσικά η βέλτιστη τιμή pH εξαρτάται τόσο από το υπόστρωμα όσο και από την τελική μικροβιολογική σύσταση της καλλιέργειας[34], [48], [49].

### 1.11.3 Χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας

Το είδος του υποστρώματος, η συγκέντρωσή του, η περιεκτικότητά του σε θρεπτικά αλλά και η μορφή στην οποία οι υδατάνθρακες βρίσκονται στην τροφοδοσία επιδρούν στην διαδικασία και στην ρύθμιση της ζυμωτικής διεργασίας. Μια αυξημένη ποσότητα υποστρώματος είναι ικανή να φέρει αλλαγή στα μεταβολικά μονοπάτια που χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί και κατ' επέκταση μεταβολή στα προϊόντα της ζύμωσης[51]. Πιο συγκεκριμένα φαίνεται ότι μεγαλύτερη ποσότητα υποστρώματος οδηγεί στην μετατροπή του προς το στάδιο της παραγωγής διαλυτών (solventogenesis) και όχι στην οξεογένεση (acidogenesis), η οποία συνεπάγεται την παραγωγή υδρογόνου.

Είναι φανερό ότι ανάλογα με τον τύπο του υποστρώματος υπάρχει ένα ανώτερο όριο στην συγκέντρωσή του, το οποίο εάν ξεπεραστεί η παραγωγή του υδρογόνου μειώνεται[52]. Παράλληλα, όσο πιο περίπλοκο είναι το υπόστρωμα, δηλαδή όσο περισσότερα συστατικά έχει, η συγκέντρωση στην οποία παρατηρείται μέγιστη παραγωγικότητα αυξάνεται. Για παράδειγμα στην περίπτωση των ζυμώσιμων οικιακών αποβλήτων έχει αναφερθεί ότι χρειάζεται πενταπλάσια συγκέντρωση σε σχέση με τη χρήση καθαρής σακχαρόζης[53].



Στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών σημαντική θέση κατέχει η ύπαρξη ή μη θρεπτικών, αλλά και η συγκέντρωση τους. Τέτοια θρεπτικά όπως το άζωτο και ιδιαίτερα ο σίδηρος και ο φωσφόρος εμπλέκονται στον μεταβολισμό των βακτηρίων και βοηθούν στην παραγωγή υδρογόνου[41]. Ειδικότερα η συγκέντρωση του φωσφόρου σχετίζεται με το είδος των προϊόντων και πιο συγκεκριμένα η έλλειψη του ευνοεί την παραγωγή διαλυτών (solventogenesis) και όχι την επιθυμητή οξεογένεση (acidogenesis)[54]. Ο σίδηρος αποτελεί συστατικό του ενζύμου της υδρογονάσης και έτσι μειωμένη συγκέντρωση σιδήρου στο υπόστρωμα οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου, και ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών οδηγείται προς την παραγωγή βουτανόλης και αιθανόλης[55]. Τέλος για το άζωτο η βιβλιογραφία αναφέρει ότι ένας λόγος C/N = 47 είναι ικανός για την μέγιστη παραγωγικότητα σε υδρογόνο, ενώ όσο ο λόγος αυτός μεγαλώνει, τόσο η παραγωγικότητα μειώνεται λόγω της έλλειψης του αζώτου[56].

#### 1.11.4 Η θερμοκρασία

Ο ρόλος της θερμοκρασίας στην διεργασία της αναερόβιας ζύμωσης είναι πολλαπλός καθώς επηρεάζει την μικροβιακή ανάπτυξη και τα μεταβολικά προϊόντα που συνεπάγονται αυτής, την παραγωγικότητα του συστήματος σε υδρογόνο αλλά και την αποικοδόμηση του υποστρώματος. Παράλληλα το είδος της καλλιέργειας (ψυχρόφιλη, μεσόφιλη, θερμόφιλη) εξαρτάται από την θερμοκρασία στη οποία εκτελείται η διεργασία. Στην βιβλιογραφία οι θερμόφιλες ζυμώσεις εμφανίζονται αποδοτικότερες, αφενός λόγω του γεγονότος ότι η βέλτιστη λειτουργία της υδρογονάσης παρατηρείται σε θερμοκρασιακό εύρος 50 - 70 °C [57], αφετέρου οδηγεί στην μείωση της διαλυτότητας του υδρογόνου στην υγρή φάση ευνοώντας περαιτέρω την παραγωγή του[41]. Λόγω της αστάθειας που παρουσιάζουν οι θερμόφιλες καλλιέργειες, αλλά και των αυξημένων ενεργειακών απαιτήσεων για την διατήρηση του αντιδραστήρα σε υψηλή θερμοκρασία, χρησιμοποιούνται μεσόφιλες καλλιέργειες, οι οποίες είναι οικονομικά πιο συμφέρουσες.

#### 1.11.5 Μικροοργανισμοί χρήστες υδρογόνου – Μικροοργανισμοί με παρεμποδιστική δράση

Η ύπαρξη στην μικτή καλλιέργεια μικροοργανισμών οι οποίοι καταναλώνουν το παραγόμενο υδρογόνο, οδηγεί στην πτώση της απόδοσης της διεργασίας. Για να μπορέσει λοιπόν η διεργασία να είναι επιτυχημένη θα πρέπει όσο το δυνατόν να περιοριστεί η ανάπτυξη τους και ο μεταβολισμός τους ή να επιτευχθεί η εξαφάνισή τους.

Οι πιο συχνοί μικροοργανισμοί είναι οι μεθανογόνοι[48], οι ομοοξικογόνοι[58], οι γαλακτοβακτήρια[59] αλλά και βακτήρια που ανάγουν τα θειικά σε υδρόθειο[60]. Η λειτουργία του συστήματος σε μικρούς χρόνους παραμονής σε συνδυασμό με διατήρηση χαμηλών τιμών pH, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, εξασφαλίζει την καταστολή των μεθανογόνων βακτηρίων. Παράλληλα η προεπεξεργασία της καλλιέργειας, όπως για παράδειγμα η θερμική κατεργασία του εμβολίου παίζει σημαντικό ρόλο στην απενεργοποίηση τόσο των μεθανογόνων όσο και των γαλακτικών βακτηρίων[59].

Εκτός από την ύπαρξη μικροοργανισμών, ανταγωνιστικών στην παραγωγή υδρογόνου, η παραγωγή μπορεί να παρεμποδίζεται και από αντιδράσεις του μεταβολισμού των

υδρογονοπαραγωγών, οι οποίες καταναλώνουν υδρογόνο. Μια τέτοια διεργασία, η οποία συμβαίνει σε πολλούς μικροοργανισμούς του γένους Clostridia είναι η ομοοξικογένεση κατά την οποία το παραγόμενο υδρογόνο αντιδρά με διοξείδιο του άνθρακα προς την παραγωγή οξικού οξέος, όπως φαίνεται και στην παρακάτω αντίδραση:



Στην περίπτωση δράσης ομοοξικογόνων μικροοργανισμών παρατηρείται αύξηση της παραγωγής οξικού οξέος και μείωση του υδρογόνου[58]. Για την αποτροπή εμφάνισης τέτοιων αντιδράσεων είναι σημαντική η διατήρηση του pH του συστήματος σε τιμές κάτω από 5 και σε σχετικά μικρούς χρόνους παραμονής.

## 2. Αναλυτικές μέθοδοι

### 2.1 Γενικά

Για να μπορέσουν να χαρακτηριστούν πλήρως όλα τα χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας και για να παρακολουθηθεί η λειτουργία του αντιδραστήρα και η σύσταση του βιοαερίου, χρησιμοποιήθηκαν μια σειρά αναλυτικών μεθόδων που παρουσιάζονται παρακάτω. Τα χημικά χαρακτηριστικά που προσδιορίζονταν είναι το Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (COD), οι ολικοί και οι διαλυτοί υδατάνθρακες και τα πτητικά λιπαρά οξέα (VFAs). Παράλληλα με σκοπό την παρακολούθηση της διεργασίας πραγματοποιήθηκαν συστηματικές μετρήσεις, του pH, της συγκέντρωσης των ολικών (TSS) και των πτητικών αιρούμενων στερεών (VSS) και της παροχής και της σύστασης του βιοαερίου σε υδρογόνο και μεθάνιο.

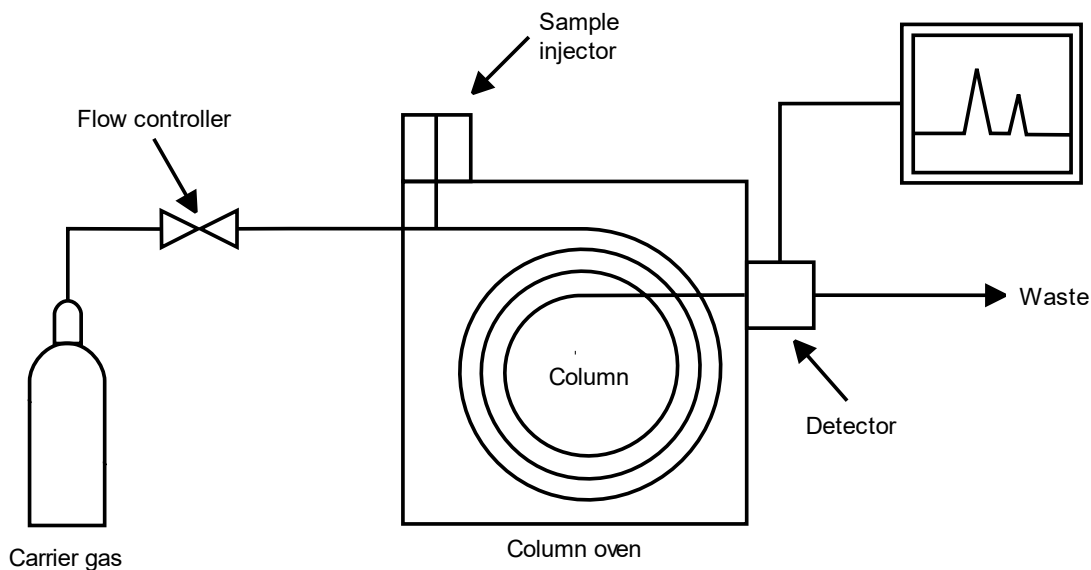
Για τον προσδιορισμό του ολικού COD, των ολικών υδατανθράκων, του pH και των ολικών και πτητικών αιρούμενων στερεών, πραγματοποιούνταν δειγματοληψία από τον αντιδραστήρα και από το δοχείο τροφοδοσίας από ειδική βαλβίδα τροφοδοσίας και ύστερα από πολύ καλή ανάδευση. Οι συγκέντρωσης του διαλυτού COD, των διαλυτών υδατανθράκων, των VFAs προσδιορίζονταν από το διήθημα που λαμβανόταν ύστερα από διήθηση υπό κενό μέσω ηθμού ινών υάλου, 10 ml δείγματος

### 2.2 Αέρια Χρωματογραφία

Στο παρακάτω σχεδιάγραμμα φαίνονται τα βασικά μέρη ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας. Το προς ανάλυση δείγμα εισέρχεται σε ένα θερμαινόμενο θάλαμο είτε μέσω ένεσης σε ένα ελαστικό διάφραγμα, είτε μέσω ειδικά κατασκευασμένης βαλβίδας. Για να μπορέσει να πραγματοποιηθεί η ανάλυση, χρησιμοποιείται ένα φέρον αέριο το οποίο μεταφέρει το δείγμα μέσα στην στήλη στην οποία λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός των συστατικών του. Στην συνέχεια αυτό το ρεύμα διέρχεται από έναν ανιχνευτή, ο οποίος δίνει σήμα σε ένα καταγραφέα. Οι διάφορες αναλύσεις γίνονται σε ορισμένη θερμοκρασία και για αυτόν τον λόγο η στήλη βρίσκεται μέσα σε θερμοστατούμενο θάλαμο[61].

Κριτήριο επίλογης για το φέρον αέριο στην αέρια χρωματογραφία είναι να είναι σχετικά χημικά αδρανές. Για τον λόγο αυτό τα αέρια που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι το ήλιο, το αργό, το άζωτο και το υδρογόνο. Η επίλογη του φέροντος αερίου σχετίζεται με το είδος της ανάλυσης.

Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι τύποι ανιχνευτών είναι ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (FID), ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD) και ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD). Τέλος μπορούν να χρησιμοποιηθούν δυο διαφορετικά είδη στήλης οι πακτωμένες και οι τριχοειδείς.



Εικόνα 7: Σχεδιάγραμμα συστήματος αέριας χρωματογραφίας

## 2.3 Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH στα δείγματα από το εσωτερικό του αντιδραστήρα και την τροφοδοσία πραγματοποιήθηκε μέσω της εμφύσησης του ηλεκτροδίου ενός φορητού, βαθμονομημένου, ηλεκτρονικού pH-μέτρου (idola WTW series pH 720) σε δείγμα όγκου 10ml.

## 2.4 Προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων και πτητικών στερεών

Η μέτρηση των ολικών αιωρούμενων ολικών και πτητικών στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την αντίστοιχη μέθοδο που περιγράφεται στο «Standard methods for the examination of water and wastewater».

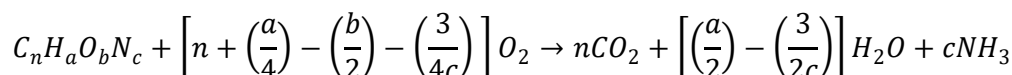
Ολικά αιωρούμενα στερεά (Total Suspended Solids, TSS) χαρακτηρίζονται τα μη διηθούμενα στερεά. Για τον προσδιορισμό τους, γνωστή ποσότητα καλώς ανανεμιγμένου δείγματος (10ml) διηθείται σε προζυγισμένο ηθμό ινών υάλου. Το υλικό που κατακρατείται στον ηθμό ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους σε φούρνο στους 103–105°C. Η αύξηση του βάρους του ηθμού αντιπροσωπεύει τα ολικά αιωρούμενα στερεά.

Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά (Volatile Suspended Solids, VSS) 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.

## 2.5 Προσδιορισμός του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου σε υδατικό διάλυμα

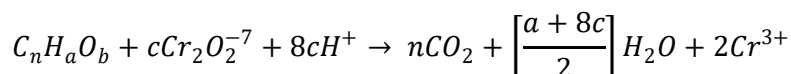
Ο προσδιορισμός του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (Chemical Oxygen Demand, COD) χρησιμοποιείται για την μέτρηση της οργανικής ισχύος και αντιστοιχεί στη συνολική ποσότητα του οξυγόνου που απαιτείται για την πλήρη οξείδωση του άνθρακα σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:

*Εξίσωση 11:*



Βασίζεται στο γεγονός ότι όλες οι οργανικές ενώσεις εκτός κάποιων εξαιρέσεων, μπορούν να οξειδωθούν με τη δράση κάποιου ισχυρά οξειδωτικού μέσου σε όξινο περιβάλλον. Η οξείδωση του οργανικού υλικού ενός διαλύματος (με την προϋπόθεση ότι δεν περιέχει  $2g\text{Cl}^-/L$ ) γίνεται από περίσσεια διχρωμικού καλίου ( $K_2Cr_2O_7$ ) με θέρμανση στους  $148^\circ\text{C}$  και σε ισχυρά όξινες συνθήκες (παρουσία  $H^+$ ). Ως καταλύτης, για την οξείδωση των πτητικών αλειφατικών ενώσεων χρησιμοποιείται θειικός άργυρος ( $AgSO_4$ ). Η αντίδραση οξείδωσης του οργανικού υλικού από τα διχρωμικά ιόντα περιγράφεται γενικά από την εξίσωση:

*Εξίσωση 12:*



Όπου,  $c = \frac{2}{3}n + \frac{1}{6}n - \frac{1}{3}b$

Ο προσδιορισμός του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (Soluble Chemical Oxygen Demand, sCOD) γίνεται με τη μέθοδο κλειστής επαναρροής με φωτομέτρηση στα  $600\text{nm}$  σε ηλεκτρονικό φωτόμετρο τύπου Hach Lange (DR2800), όπως περιγράφεται στο βιβλίο 'Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater'. Να σημειωθεί ότι η επαναρροή είναι απαραίτητη εξαιτίας της ύπαρξης πτητικών οργανικών ενώσεων, οι οποίες κάτω από τις συνθήκες θέρμανσης μπορούν να διαφύγουν. Η μέθοδος βασίζεται στην φωτομέτρηση των ιόντων  $Cr^{3+}$ , τα οποία προκύπτουν έπειτα από την οξείδωση του οργανικού υλικού από το  $K_2Cr_2O_7$  και προφανώς όσο περισσότερο διχρωμικό κάλιο έχει αντιδράσει τόσο μεγαλύτερη η απορρόφηση που λαμβάνεται κατά την φωτομέτρηση. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης του διαλυτού COD γίνεται με την αναγωγή της απορρόφησης σε συγκέντρωση, με τη βοήθεια "πρότυπης καμπύλης" βαθμονόμησης. Η καμπύλη αυτή προκύπτει με τη φωτομέτρηση πρότυπων δειγμάτων γνωστού COD και η βαθμονόμηση του φασματοφωτομέτρου επαναλαμβάνεται κάθε φορά που καταναλώνεται πλήρως η ποσότητα διαλύματος  $K_2Cr_2O_7$ .

## 2.6 Προσδιορισμός υδατανθράκων σε υδατικό διάλυμα

Ο προσδιορισμός των υδατανθράκων έγινε με την μέθοδο που αναπτύχθηκε από τον Josefsson (1983). Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται μέσω της αντίδρασης των υδατανθράκων του υδατικού διαλύματος με L-τροπτοφάνη παρουσία βορικού και θειικού οξέος για 20 min σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 100 °C. Στην συνέχεια πραγματοποιείται φωτομέτρηση στα 520 nm σε φωτόμετρο Hach DR 5000. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των υδατανθράκων στο δείγμα γινόταν με την βοήθεια πρότυπης καμπύλης οπτικής απορρόφησης διαλυμάτων D-γλυκόζης γνωστής συγκέντρωσης 5, 20, 50 και 100  $mg/L$ . Η κατασκευή της πρότυπης καμπύλης βασίζεται στο γεγονός ότι η αντίδραση της τροπτοφάνης με διαφορετικούς μονοσακχαρίτες έχει σαν προϊόν παράγωγα ίδιας περιόδου έντασης απορρόφησης.

## 2.7 Προσδιορισμός πτητικών λιπαρών οξέων

Η μέτρηση των πτητικών λιπαρών οξέων πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο SHIMADZU GC-2010 plus με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού (FID) με την εξής διαδικασία: Σε 1ml διηθημένου δείγματος προστίθενται 30μl H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (20% κατά όγκο). Στη συνέχεια το δείγμα αναμειγνύεται και ακολουθεί φυγοκέντρηση και μικροδιήθηση (με φίλτρο Whatman 0,2μm). Το δείγμα οδηγείται στο χρωματογράφο όπου 10μl εγχέονται με ειδική μικροσύριγγα. Η στήλη διαχωρισμού είναι τριχοειδής (Agilent Technologies HP-FFAP, 30m x 0.53mm x 1μm φιλμ) και ο αυτόματος δειγματολήπτης είναι του τύπου SHIMADZU AOC-20s). Η αρχική θερμοκρασία του θαλάμου της στήλης είναι 105°C. Στη συνέχεια ο θάλαμος θερμαίνεται έως τους 160°C με ρυθμό 15°C/min και στη συνέχεια ως τους 225°C (όπου διατηρείται για 3 λεπτά) με ρυθμό 20°C/min. Το φέρον αέριο είναι το Ήλιο με παροχή 30ml/min και η θερμοκρασία του ανιχνευτή είναι σταθερή στους 230°C. Από τη διαδικασία αυτή προκύπτει το χρωματογράφημα που αντιστοιχεί στο δείγμα και στη συνέχεια, με τη χρήση πρότυπων καμπυλών, πραγματοποιείται ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών λιπαρών οξέων που περιέχονται στο δείγμα.

## 2.8 Προσδιορισμός της παροχής του βιοαερίου

Η μέτρηση της παροχής του βιοαερίου γινόταν με συνεχή τρόπο. Για τον προσδιορισμό της ημερήσιας παροχής του βιοαερίου χρησιμοποιήθηκε μια ειδική διάταξη η οποία αποτελούταν από έναν γυάλινο σωλήνα σχήματος «U», ο οποίος ήταν πληρωμένος με ορυκτέλαιο, έναν πλωτήρα και μια τρίοδη ηλεκτροβάνα συνδεδεμένη με ένα καταγραφικό

Το παραγόμενο βιοαέριο οδηγούταν, μέσω σωλήνωσης από τον βιοαντιδραστήρα στην μια πλευρά του γυάλινου σωλήνα. Το βιοαέριο που συσσωρευόταν στην μια πλευρά εκτόπιζε όγκο ορυκτελαίου ίσο με τον όγκο του προς την πλευρά του πλωτήρα. Όταν το ορυκτέλαιο ξεπερνούσε μια καθορισμένη στάθμη, τότε ο πλωτήρας ο οποίος λειτουργούσε σαν διακόπτης έκλεινε στιγμιαία το κύκλωμα στέλνοντας ένα σήμα στο καταγραφικό το οποίο λειτουργούσε σαν μετρητής (counter). Παράλληλα η ηλεκτροβάνα άνοιγε απελευθερώνοντας τη συγκεκριμένη ποσότητα αερίου. Μετά από 24 ώρες το καταγραφικό μηδενιζόταν. Τελικά ο όγκος του παραγόμενου βιοαερίου υπολογίζονταν πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των εκτοπισμών του πλωτήρα που εμφανιζόταν στο καταγραφικό με τον όγκο του ορυκτελαίου που εκτοπίζεται μέχρις ότου ενεργοποιηθεί ο πλωτήρας.

Η διάταξη φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 8: Διάταξη για την μέτρηση του παραγόμενου βιοαερίου (1: Είσοδος βιοαερίου, 2: Πλωτήρας, 3: Τρίοδη ηλεκτροβάννα

## 2.9 Προσδιορισμός συγκέντρωσης υδρογόνου και μεθανίου

Για τον προσδιορισμό του υδρογόνου και μεθανίου στο βιοαέριο, χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος της εταιρίας Shimadzu (GC-2014) με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD) και φέρον αέριο το αργό. Η στήλη διαχωρισμού (Carboxen 1000) ήταν μήκους 5m και εσωτερικής διαμέτρου 2,1mm. Ο θάλαμος του χρωματογράφου βρισκόταν αρχικά σε θερμοκρασία 40 °C. Για την εύρεση του ποσοστού μεθανίου χρησιμοποιήθηκε θερμοκρασιακό πρόγραμμα στην στήλη (διάρκειας περίπου 25 λεπτών), στο οποίο αρχικά η θερμοκρασία της στήλης ήταν στους 40 °C, αυξανόταν σταδιακά με ρυθμό 10 °C ανά λεπτό μέχρι τους 185 °C, και στη συνέχεια παρέμενε σταθερή για 5 λεπτά. Για τη μέτρηση του υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος χρωματογράφος με φέρον αέριο το αργό. Η χρήση αργού αντί ηλίου ως φέρον αέριο έγινε λόγω του γεγονότος ότι ήλιο και το υδρογόνο έχουν παραπλήσιες θερμικές αγωγιμότητες κάνοντας την απόκριση του υδρογόνου να συμπίπτει με την γραμμή βάσης του οργάνου. Για τη μέτρηση του υδρογόνου η θερμοκρασία της στήλης παρέμεινε σταθερή και ίση με 40°C. Σε κάθε μέτρηση ενέθηκε 1ml αερίου δείγματος.

## 3. Πειραματική διάταξη

### 3.1 Δοχείο τροφοδοσίας

Το υλικό της τροφοδοσίας, αφού πρώτα είχε προετοιμαστεί κατάλληλα, αναμιγνυόταν με νερό σε ένα δοχείο τροφοδοσίας. Το δοχείο ήταν ανοξείδωτο και διέθετε ρυθμιζόμενο σύστημα ψύξης, έτσι ώστε να μην παρατηρείται ποιοτική υποβάθμιση της τροφοδοσίας με το πέρασμα του χρόνου. Το δοχείο διέθετε σύστημα ανάμειξης, αποτελούμενο από έναν περιστρεφόμενο άξονα με μια πτερωτή. Η ανάμειξη ήταν αναγκαία έτσι ώστε το στερεό να παραμένει σε αιώρημα και να μην καθιζάνει. Σε τακτά χρονικά διαστήματα το δοχείο άδειαζε και καθαριζόταν με σκοπό

τον περιορισμό μολύνσεων από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς, οι οποίοι θα υποβάθμιζαν την ποιότητα της τροφοδοσίας. Η τροφοδοσία γινόταν με χρήση περισταλτικής αντλίας.

### 3.2 Σύστημα ζυμωτικής παραγωγής υδρογόνου

Η διεργασία ζυμωτικής παραγωγής υδρογόνου πραγματοποιήθηκε σε σύστημα εργαστηριακής κλίμακας. Το σύστημα αποτελείτο από ένα αντιδραστήρα συνεχούς έργου πλήρους ανάμειξης (CSTR) ενεργού όγκου 4L και ένα δοχείο διαχωρισμού της υγρής και της αέριας φάσης. Το δοχείο διαχωρισμού ήταν αναγκαίο καθώς, λόγω κατασκευής του βιοαντιδραστήρα, η έξοδος του υγρού πραγματοποιούνταν από το καπάκι με αποτέλεσμα την απουσία υπερκείμενης αέριας φάσης. Στο πάνω μέρος του αντιδραστήρα ήταν προσαρμοσμένο σύστημα ανάμειξης αποτελούμενο από ένα μοτέρ συνδεδεμένο σε έναν άξονα με μια πτερωτή στην άκρη του. Ο αντιδραστήρας διέθετε διπλότοιχο, μέσα στο οποίο κυκλοφορούσε νερό σταθερής θερμοκρασίας, θερμαινόμενο σε υδατόλουτρο, με την βοήθεια αντλίας. Τέλος δειγματοληψία γινόταν από ειδικό σωληνάκι το οποίο εσωτερικά έφτανε έως το μέσο του αντιδραστήρα.



Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το σύστημα ζυμοτικής παραγωγής υδρογόνου:



1: Είσοδος τροφοδοσίας

2: Έξοδος αντιδραστήρα

3: Απορροή

4: Δοχείο διαχωρισμού

5: Έξοδος αερίου

6: Υδατόλουτρο

7: Είσοδος ζεστού νερού

8: Έξοδος ζεστού νερού

9: Σωληνάκι δειγματοληψίας

10: Μοτέρ ανάδευσης

Η τροφοδοσία του συστήματος γίνεται με μία περισταλτική αντλία, η οποία τροφοδοτούσε χρονικά, ρυθμιζόμενη με χρονοδιακόπτη.

## 4. Παραγωγή υδρογόνου από ζυμώσιμα οικιακά απορρίμματα

### 4.1 Προεπεξεργασία των ζυμώσιμων οικιακών απορριμμάτων

Τα ζυμώσιμα οικιακά απορρίμματα συλλέγονται από τους κατοίκους του Δήμου Χαλανδρίου που συμμετέχουν στο πρόγραμμα Waste4Think. Ποιο συγκεκριμένα συμμετέχουν περίπου 700 κάτοικοι, οι οποίοι συλλέγουν όλα τα υπολείμματα τροφών από τις κουζίνες τους με εξαίρεση τα όσρα. Οι κάτοικοι είναι εφοδιασμένοι με ειδικές βιοδιασπώμενες σακούλες από άμυλο πατάτας στις οποίες απορρίπτονται τα υπολείμματα και στην συνέχεια τις αποθέτουν σε καφέ κάδους με ειδική σήμανση χωρητικότητας 120 L, οι οποίοι είναι τοποθετημένοι σε κοντινό σημείο από τις οικίες των συμμετεχόντων. Η αποκομιδή γίνεται κάθε τρεις μέρες από ειδικό απορριμματοφόρο.

Μετά την αποκομιδή τους τα απορρίμματα μεταφέρονται σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο του Δήμου, όπου υπόκεινται σε ξήρανση και τεμαχισμό με σκοπό την μείωση του όγκου τους και των οσμών και την βιολογική τους σταθεροποίηση. Το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι ένα βιολογικά σταθερό, καινοτόμο προϊόν που ονομάζεται FORBI (Food Residue Biomass product).

Η θερμική επεξεργασία των απορριμμάτων γίνεται με ξηραντήρα τύπου GAIA GC-300. Ο μέσος χρόνος της διεργασίας είναι 9 ώρες με επιπρόσθετο χρόνο 2 ώρες για την ψύξη του προϊόντος. Ο χρόνος της θερμικής επεξεργασίας δεν είναι πάντα σταθερός αφού εξαρτάται από την αρχική υγρασία των απορριμμάτων. Η ξήρανση γίνεται σε θερμοκρασιακό εύρος 92-98 °C και η μέση μέγιστη ισχύς της συσκευής είναι 23,8 kW. Τα υπολείμματα τροφίμων αποτελούνται σε μεγάλο μέρος από νερό (60-80%) και έτσι μετά το πέρας της ξήρανσης επιτυγχάνεται μείωση του αρχικού όγκου έως και 90% και μείωση του βάρους τους κατά περίπου 4,5 φορές. Παράλληλα η υγρασία του FORBI είναι περίπου 5,5%. Το τελικό προϊόν παρουσιάζει μεγάλη ομοιογένεια ενώ έχει την δυνατότητα αποθήκευσης για μεγάλα χρονικά διαστήματα χωρίς να παρουσιάζεται αλλοίωση των ποιοτικών του χαρακτηριστικών.



Εικόνα 10: Συσκευή ξήρανσης/τεμαχισμού GAIA GC-300

Το FORBI, καθώς προέρχεται από υπολείμματα τροφών έχει μια πολύ καλή αναλογία υδατανθράκων, πρωτεϊνών και λιπαρών την οποία μπορεί να την διατηρήσει για μεγάλο χρονικό διάστημα, καθώς η μείωση του περιεχόμενου νερού εγγυάται την βιολογική του σταθερότητα και αποτρέπει φαινόμενα υποβάθμισης των χαρακτηριστικών του. Παράλληλα ο τρόπος που γίνεται η επεξεργασία του βοηθάει στο να παράγεται ένα προϊόν με σταθερά χαρακτηριστικά κατά την διάρκεια του χρόνου, των οποίων οι διαφοροποιήσεις εξαρτούνται από την τυχόν εποχικότητα στις διατροφικές συνήθειες των κατοίκων. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η χημική σύσταση του FORBI και τα χαρακτηριστικά του σε ξηρή βάση, τα οποία προσδιορίστηκαν από αναλύσεις που έγιναν στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος Waste4Think.

Πίνακας 4: Περιεκτικότητα (% w/w) του FORBI σε διαφορετικά συστατικά

Συστατικό	% w/w, ξηρή βάση
Πρωτεΐνες	13,70±0,44
Λιπίδια	12,26±0,11
Προϊόντα εκχύλισης	27,29±1,71
Γλυκόζη	0,00
Σακχαρόζη	0,51±0,04
Ολικά αναγωγικά σάκχαρα	4,96±0,94
Υδατοδιαλυτό άμυλο	1,15±0,09
Άμυλο	10,68±0,07
Πηκτίνες	3,27±0,082
Κυτταρίνη	10,31±0,07
Ημικυτταρίνη	11,32±0,17
Ολική λιγνίνη	6,75±0,15
Τέφρα	7,16±0,27

Ακόμα με αναλύσεις που έγιναν το FORBI δεν περιέχει υδράργυρο και η συνδυασμένη περιεκτικότητα σε τοξικά χημικά στοιχεία, όπως βανάδιο, νικέλιο, χρώμιο, κοβάλτιο, αρσενικό και μόλυβδό είναι 18,4 mg/kg προϊόντος, γεγονός που το καθιστά ιδανικό υπόστρωμα για μια βιολογική διεργασία.



Εικόνα 11: Το FORBI

## 4.2 Προκατεργασία του FORBI

Προκειμένου να χρησιμοποιηθεί το FORBI ως υπόστρωμα μιας βιολογικής διεργασίας σε εργαστηριακή κλίμακα πρέπει να έχει ορισμένη κοκκομετρία. Πιο συγκεκριμένα το υλικό υπόκειται σε διεργασία μηχανικής αφαίρεσης συστατικών κοκκομετρίας μεγαλύτερης των 5mm. Αυτό επιτυγχάνεται με την χρήση μιας ειδικής σίτας. Ο μηχανικός διαχωρισμός των συστατικών του υλικού πραγματοποιείται πρώτον για να επιτευχθεί μεγαλύτερη ομοιογένεια του υλικού και δεύτερον για να διευκολυνθεί η διεργασία της ζύμωσης. Πιο συγκεκριμένα το γεγονός ότι η διεργασία πραγματοποιείται σε εργαστηριακή κλίμακα, σημαίνει ότι και οι σωληνώσεις είναι σε μικρότερη κλίμακα, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της πιθανότητας να φράξουν οι σωληνώσεις, λόγω συσσωμάτων μεγάλου μεγέθους, και να διακοπεί η συνεχής λειτουργία της διάταξης.

## 4.3 Γενικά για την διεργασία παραγωγής βιουδρογόνου

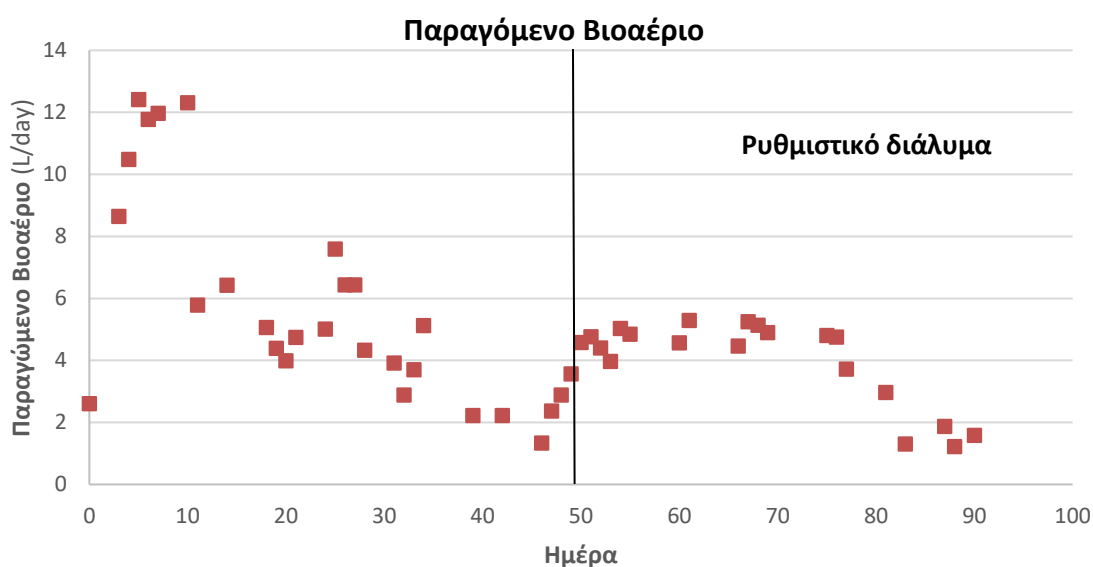
Για την παραγωγή βιουδρογόνου από το FORBI, πραγματοποιήθηκαν τρεις διαφορετικοί κύκλοι λειτουργίας. Στον κάθε κύκλο πραγματοποιήθηκε διαφορετική διαδικασία εκκίνησης (start up) της βιοδιεργασίας με παράλληλη αλλαγή των συνθηκών λειτουργίας κατά την διάρκεια του κύκλου με σκοπό την συσχέτιση της επιρροής τους στην παραγωγικότητα του υδρογόνου. Παράλληλα πραγματοποιούνταν διορθωτικές ενέργειες με σκοπό την αύξηση της παραγωγικότητας όταν αυτή μειωνόταν. Ο σκοπός του τρίτου κύκλου ήταν να πραγματοποιηθούν πειράματα για τον προσδιορισμό της κινητικής των μικροοργανισμών της καλλιέργειας και του κινητικού περιορισμού στην παραγωγή βιουδρογόνου που παρουσιάζεται λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων στα προϊόντα. Ο κάθε πειραματικός κύκλος είχε διαφορετική διάρκεια. Κάθε κύκλος ολοκληρωνόταν όταν η διεργασία αποτύγχανε και η παραγωγικότητα του υδρογόνου έπεφτε πολύ χαμηλά.. Ανάμεσα στους κύκλους λειτουργία πριν το νέο start-up του αντιδραστήρα πραγματοποιούνταν απολύμανση του βιοαντιδραστήρα με χρήση υποχλωριώδους νατρίου, έτσι ώστε να αποφευχθεί η μεταφορά μικροοργανισμών από τον έναν κύκλο λειτουργίας στον άλλον. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιούνταν και στο δοχείο τροφοδοσίας για αποφυγή μόλυνσης από μικροοργανισμούς που τυχόν έχουν αναπτυχθεί σε αυτό.

Όταν η παραγωγικότητα του συστήματος σε υδρογόνο παρουσίαζε μείωση, τότε γινόταν αερισμός του βιοαντιδραστήρα έτσι ώστε να επιτευχθεί η θανάτωση των μικροοργανισμών που δημιουργούσαν παρεμπόδιση στους υδρογονοπαραγωγούς ή καταναλώνανε το παραγόμενο υδρογόνο, καθώς όλοι οι μικροοργανισμοί της μικτής καλλιέργειας είναι αναερόβιοι με τους υδρογονοπαραγωγούς, σε αντίθεση με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς, να έχουν την δυνατότητα να σποριάζουν σε συνθήκες περιβαλλοντικής πίεσης. Σκοπός της μεθόδου αυτής είναι η παρεμπόδιση της ανάπτυξης και η θανάτωση των υδρογονοχρηστών ώστε οι υδρογονοπαραγωγοί να αποτελέσουν εκ νέου τον επικρατέστερο πληθυσμό στην μικτή καλλιέργεια, οδηγώντας σε αύξηση της παραγωγικότητας του συστήματος σε υδρογόνο.

## 5. Πρώτος κύκλος λειτουργείας

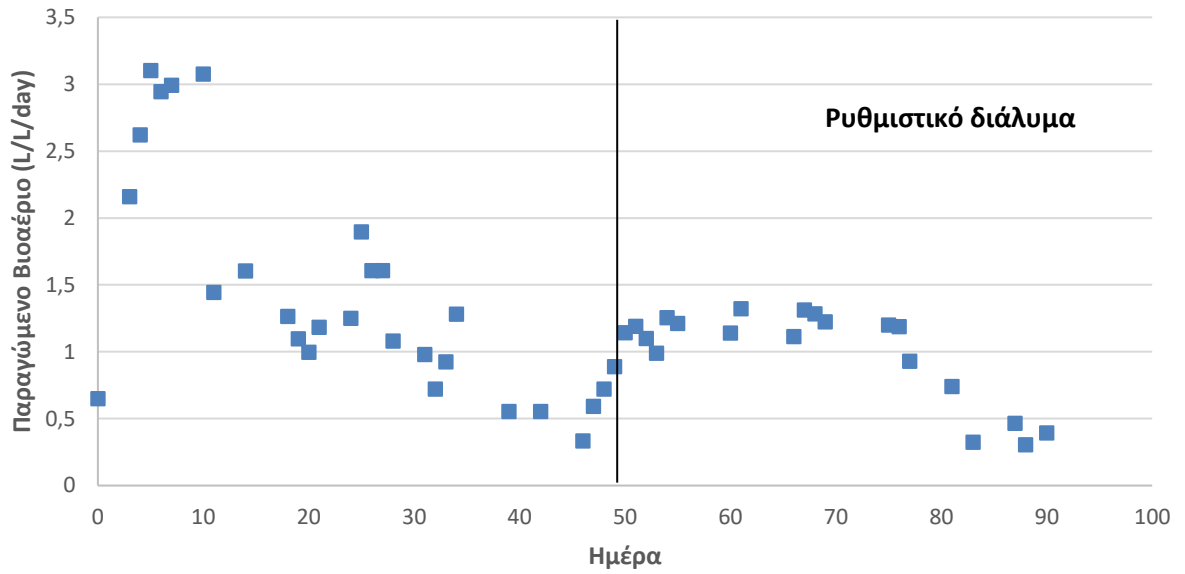
Η διάρκεια του πρώτου κύκλου λειτουργείας ήταν 91 ημέρες. Η διεργασία ήταν συνεχούς έργου με υδραυλικό χρόνο παραμονής 12h και οργανική φόρτιση  $15 \text{ g στερεών} / \text{L τροφοδοσίας}$ . Για τον εμβολιασμό του συστήματος λήφθηκε δείγμα ενεργού ιλύος από την δεξαμενή αερόβιας επεξεργασίας λυμάτων της Μονάδας Επεξεργασίας Λυμάτων Μεταμόρφωσης. Στην συνέχεια η ιλύς υπέστη θερμική επεξεργασία. Συγκεκριμένα 4 L ιλύος (όσο και ο όγκος του αντιδραστήρα) τοποθετήθηκαν σε λουτρό θερμοκρασίας 100 °C για χρόνο 15 min. Η θερμική επεξεργασία έγινε με σκοπό την θανάτωση των μικροοργανισμών χρηστών υδρογόνου και των μεθανογόνων μικροοργανισμών, υποθέτοντας ότι η πλειονότητα των υδρογονοπαραγωγών μικροοργανισμών έχουν την δυνατότητα σχηματισμού εξαιρετικά ανθεκτικών ενδοσπορίων (όπως μικροοργανισμοί του γένους *Clostridium*), σε συνθήκες έντονης περιβαλλοντικής πίεσης, όπως στην προκειμένη περίπτωση ακραίων θερμοκρασιών. Στην συνέχεια η θερμικά επεξεργασμένη μεικτή καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε ως εμβόλιο στον αντιδραστήρα μαζί με 60 g FORBI ( $4\text{L} \times 15 \text{ g στερεών} / \text{L}$ ). Στην συνέχεια το σύστημα λειτούργησε ως διαλείπωντος έργου για χρόνο ίσο με δυο χρόνους παραμονής (24 h), έτσι ώστε να επιτευχθεί ο εγκλιματισμός της καλλιέργειας. Μετά το πέρας αυτού του χρόνου ο αντιδραστήρας ξεκίνησε να λειτουργεί ως συνεχούς έργου. Στην μέση περίπου του κύκλου (49<sup>η</sup> ημέρα), έγινε χρήση ρυθμιστικού διαλύματος,  $\text{NaOH/K-H}_2\text{PO}_4$  με προσθήκη  $\text{NaOH}$  συγκέντρωσης  $1,12 \text{ g/L}$  και  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  συγκέντρωσης  $3,401 \text{ g/L}$  έτσι ώστε το pH να διατηρείται πάνω από 5 και κοντά στο 5,5 τιμή που στην βιβλιογραφία θεωρείται ιδανική για την βιολογική παραγωγή υδρογόνου. Την 31<sup>η</sup> και την 44<sup>η</sup> ημέρα του κύκλου έγινε αερισμός του βιοαντιδραστήρα για 30 min.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται οι παρακολουθούμενες παράμετροι στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια του πρώτου πειραματικού κύκλου.

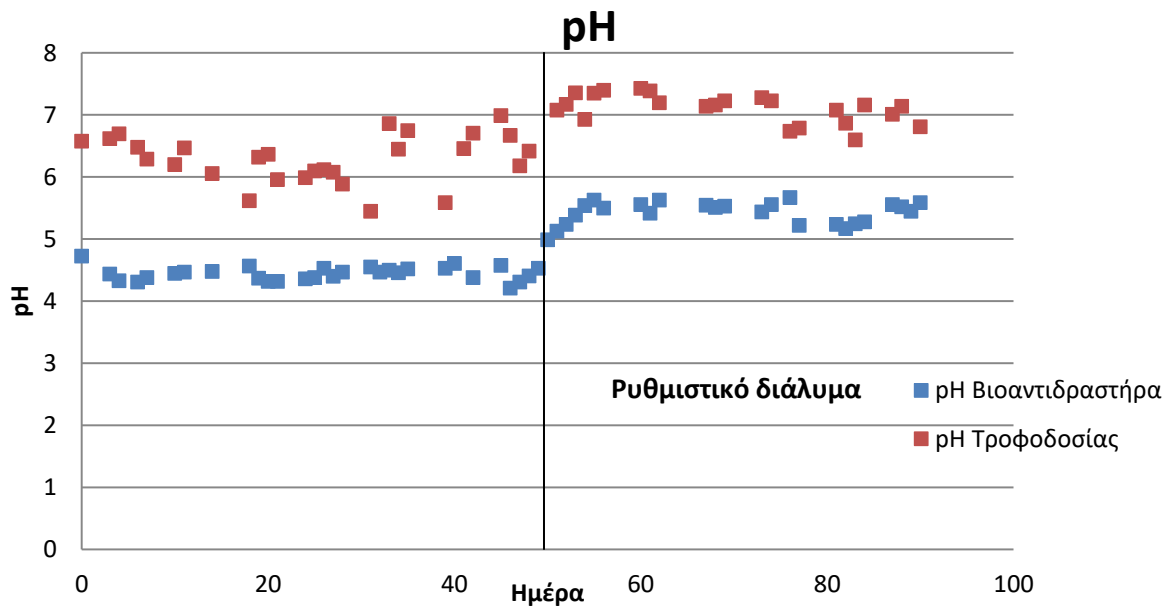


Διάγραμμα 5: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργείας

### Παραγόμενο Βιοαέριο ανά Μονάδα Όγκου Αντιδραστήρα

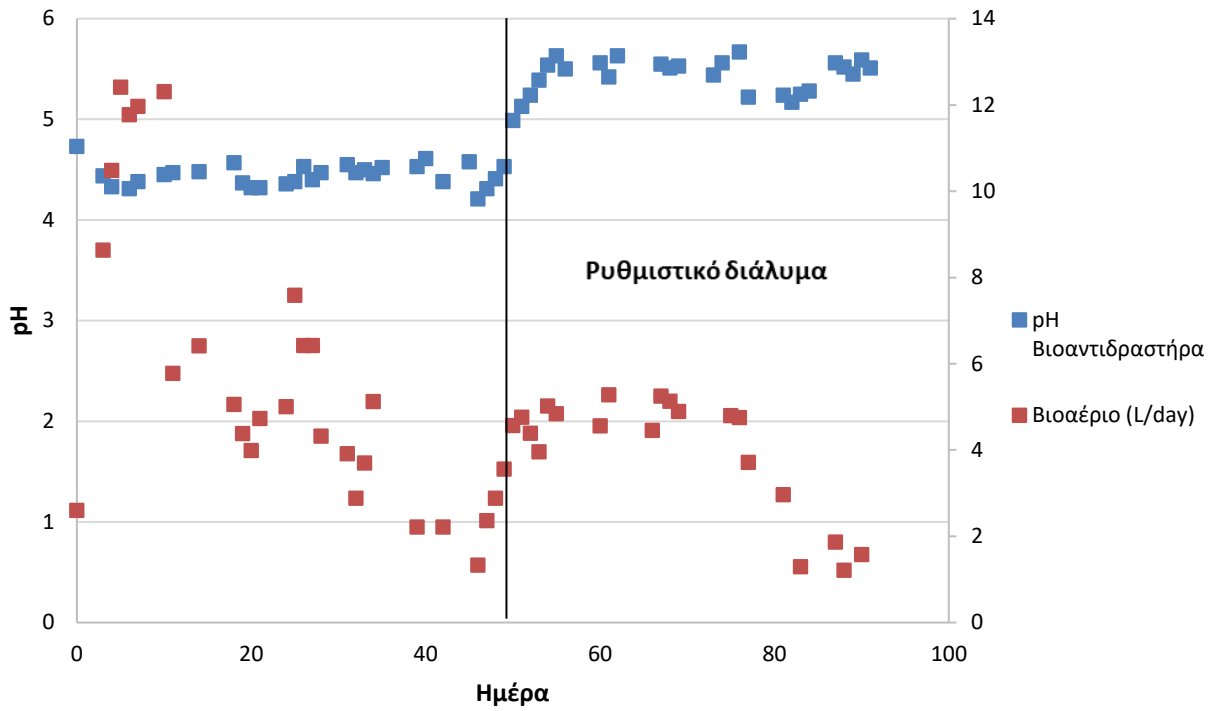


Διάγραμμα 6: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα στον πρώτο κύκλο λειτουργίας



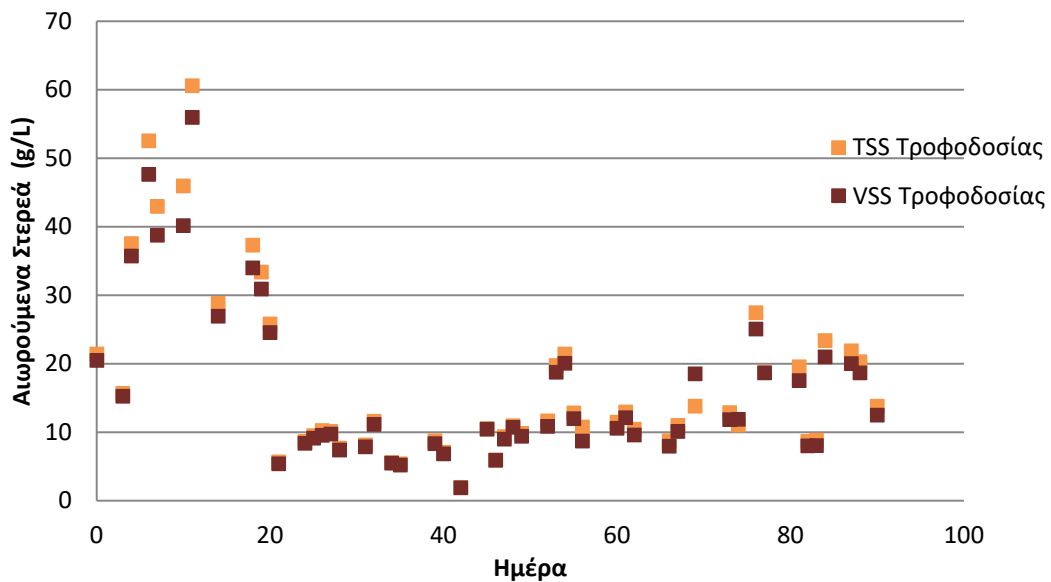
Διάγραμμα 7: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

### ρΗ Βιοαντιδραστήρα-Παραγόμενο Βιοαέριο



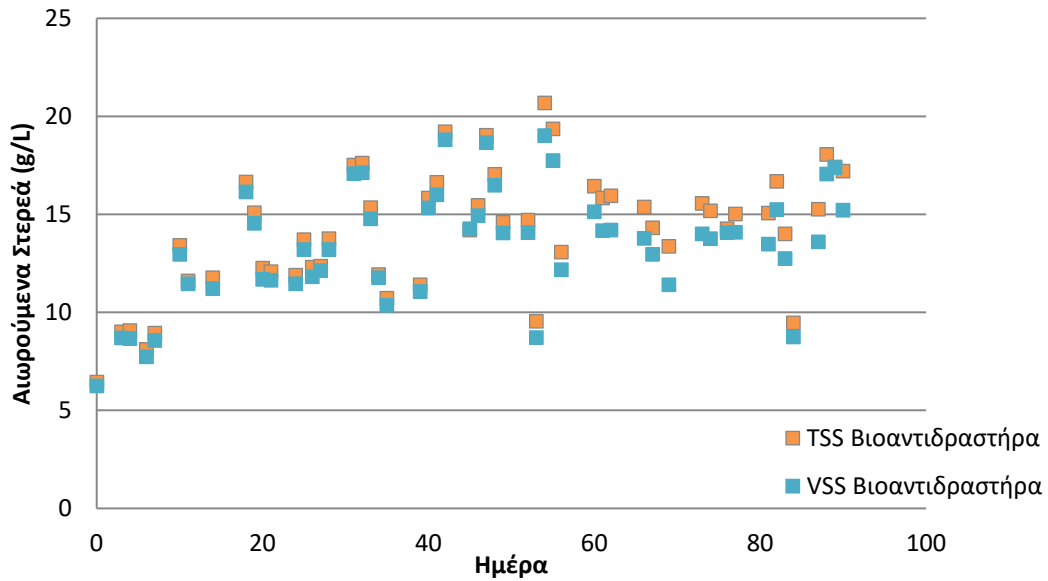
Διάγραμμα 8: Συσχέτιση pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα με το παραγόμενο ανά ημέρα βιοαέριο στον πρώτο κύκλο λειτουργίας

### Αιωρούμενα Στερεά Τροφοδοσίας



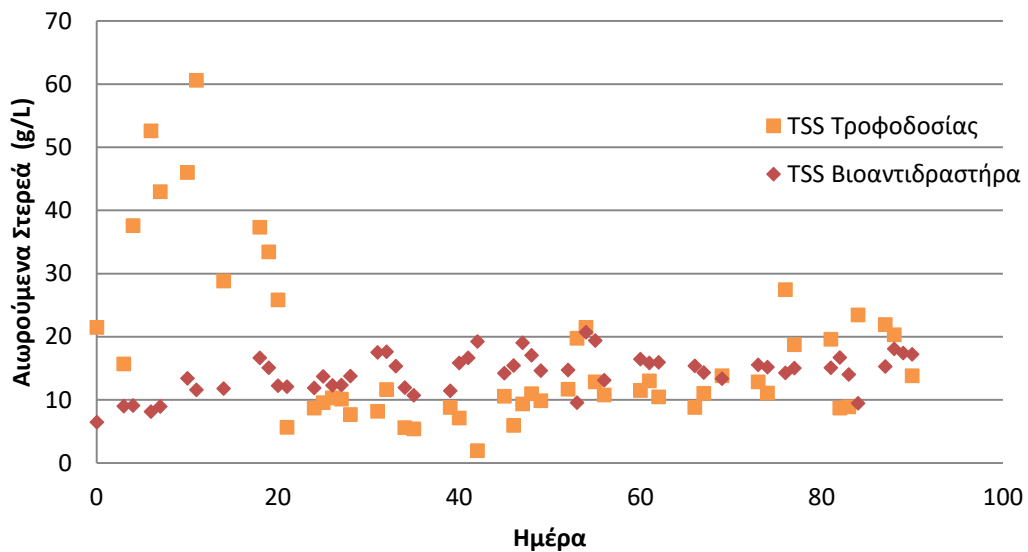
Διάγραμμα 9: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά στην τροφοδοσία κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

## Αιωρούμενα Στερεά Βιοαντιδραστήρα



Διάγραμμα 10: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

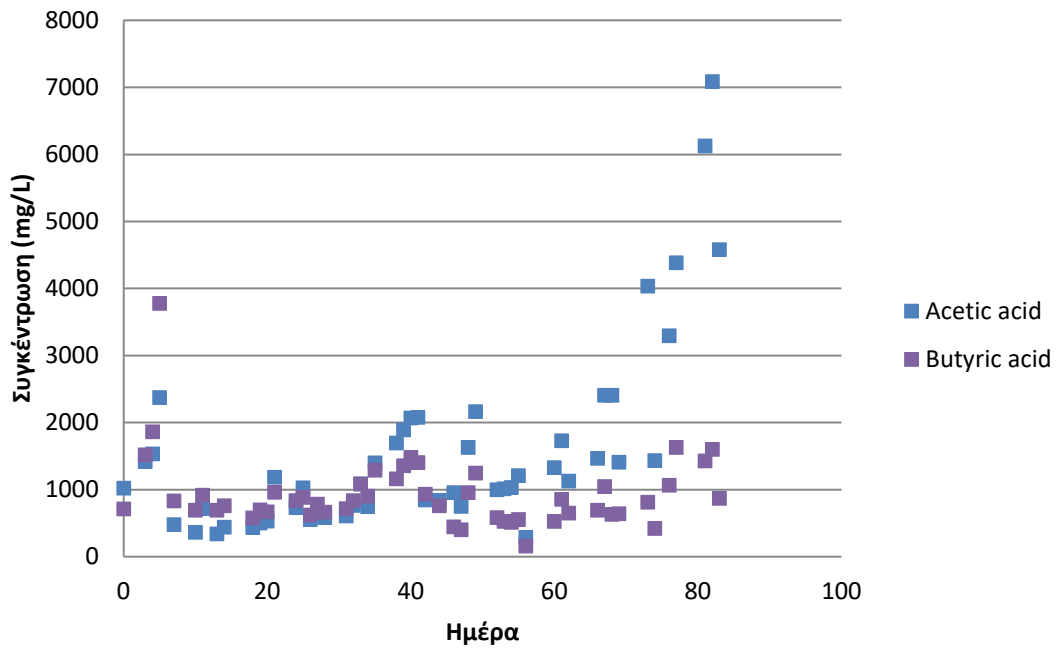
## Ολικά Αιωρούμενα Στερεά



Διάγραμμα 11: Σύγκριση Ολικών Στερεών στην τροφοδοσία και στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

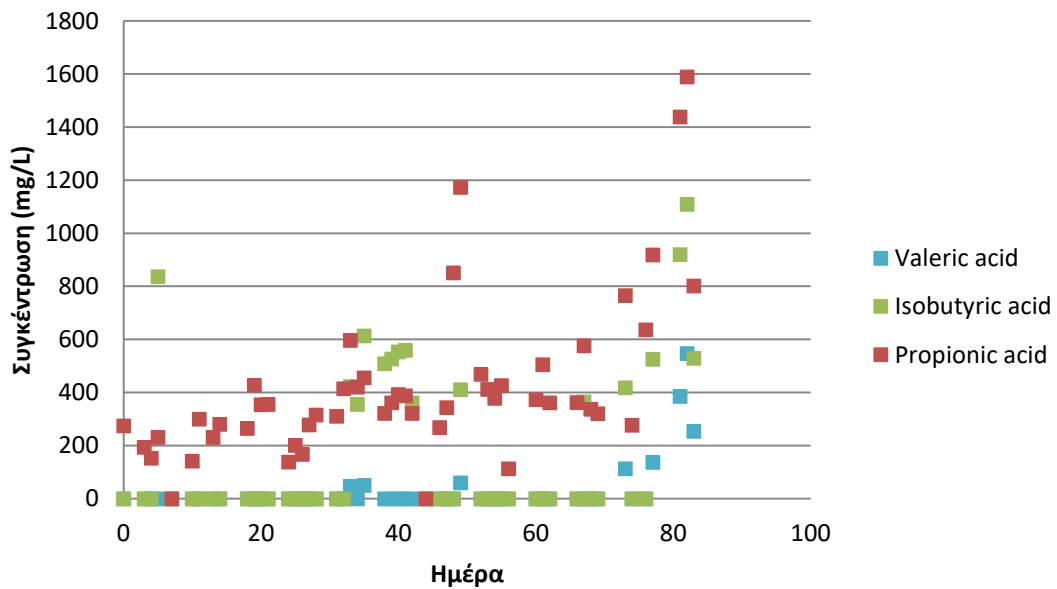


## Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος



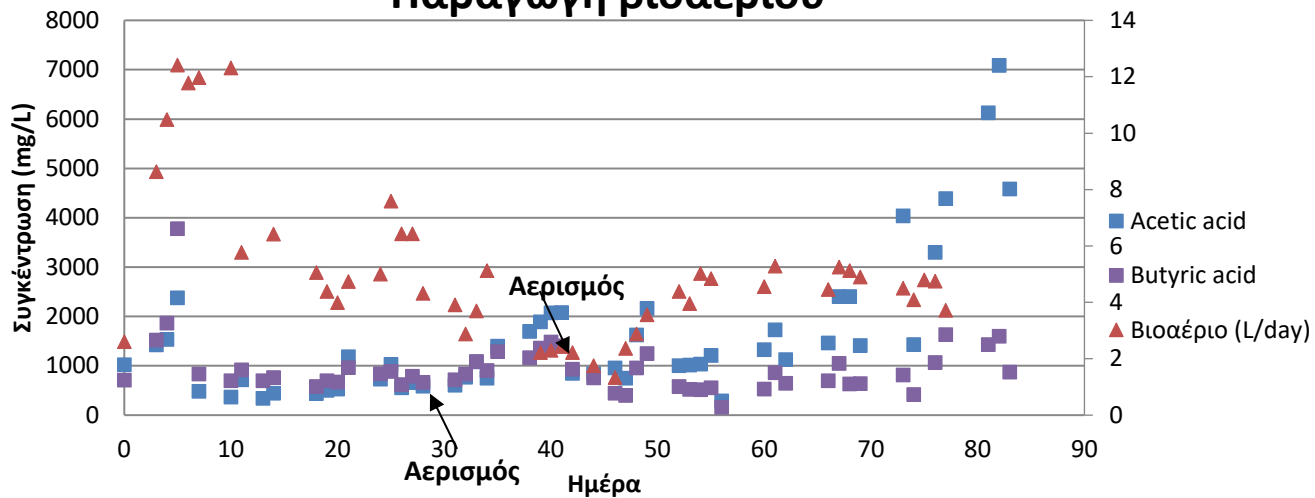
Διάγραμμα 12: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

## Συγκέντρωση βαλερικού, ισοβουτυρικού και προπιονικού οξέος



Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση βαλερικού, ισοβουτυρικού και προπιονικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

## Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος- Παραγωγή βιοαερίου



Διάγραμμα 14: Συσχέτιση της παραγωγής βιοαερίου με την συγκέντρωση βουτυρικού και οξικού οξέος κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας

Από τα διαγράμματα που καταγράφεται η παραγωγικότητα της διεργασίας σε βιοαέριο ανά ημέρα κατά τον πρώτο κύκλο λειτουργίας, φαίνεται ότι ενώ η παραγωγή βιοαερίου αυξάνεται ραγδαία κατά τις πρώτες 10 ημέρες λειτουργίας του συστήματος φτάνοντας πάνω από τα 12 L βιοαερίου ανά ημέρα, ακολουθεί μια πτώση και σταθεροποίηση της παραγωγικότητας αναμεσα στα 4 με 5 L ανά ημέρα. Την 31<sup>η</sup> ημέρα όπου πραγματοποιήθηκε αερισμός η παραγωγικότητα σημείωσε μια μικρή αύξηση από τα 2,8 περίπου λίτρα ανά ημέρα στα 5 L ανά ημέρα. Αντίστοιχα την δεύτερη φορά που πραγματοποιήθηκε αερισμός την 44<sup>η</sup> ημέρα η παραγωγικότητα αυξήθηκε μετά την πάροδο 10 ημερών από τα 1,3 L ανά ημέρα στα 5,2 όπου και σταθεροποιήθηκε. Στην συνέχεια η παραγωγικότητα μειωνόταν σταθερά μέχρι την λήξη του πειραματικού κύκλου.

Το pH είναι σταθερό σε όλη την διάρκεια της διεργασίας τόσο στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα όσο και στην τροφοδοσία έχοντας τιμές κοντά στο 4,5 και στο 6,5 αντίστοιχα. Μετά την προσθήκη του ρυθμιστικού διαλύματος παρατηρείται μια αύξηση και στις δύο τιμές του pH και σταθεροποίηση του στο 5,5 για τον βιοαντιδραστήρα και στο 7,2 για την τροφοδοσία. Με την προσθήκη του ρυθμιστικού διαλύματος και την συνεπαγόμενη αύξηση του pH παρατηρείται και αύξηση της παραγωγικότητας της διεργασίας. Η αύξηση της παραγωγικότητας συμπίπτει και με τον δεύτερο αερισμό του συστήματος. Η παραγωγικότητα όμως δεν είναι μεγαλύτερη από την μέγιστη σταθερή παραγωγικότητα που είχε το σύστημα πριν την προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος (5 L ανά ημέρα), ενώ μετά το πέρας 30 ημερών αρχίζει να παρατηρείται ξανά μείωση της. Για τον λόγο αυτό η χρήση ρυθμιστικού διαλύματος στην διεργασία δεν κρίνεται αναγκαία για την επίτευξη υψηλής παραγωγικότητας βιοαερίου.

Τα ολικά στερεά σε όλη την διάρκεια του πειραματικού κύκλου παρουσιάζουν σταθερή συγκέντρωση τόσο στην τροφοδοσία (10 g/L) όσο και στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα (13-15 g/L). Ακόμη τα πτητικά στερεά και στις δύο περιπτώσεις (τροφοδοσία, βιοαντιδραστήρας) αποτελούν σχεδόν το σύνολο των ολικών στερεών, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πλειονότητα των στερεών αποτελούνται από οργανικές ενώσεις. Η διαφορά

στην συγκέντρωση των στερεών μεταξύ της τροφοδοσίας και του εσωτερικού του βιοαντιδραστήρα υποδηλώνει την ύπαρξη και την ανάπτυξη της βιομάζας. Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι η μεγάλες τιμές και η διακύμανση που παρατηρείται στην συγκέντρωση των στερεών της τροφοδοσίας κατά τις πρώτες 20 ημέρες οφείλονται στον τρόπο που πραγματοποιούσαν η δειγματοληψία.

Τα πτητικά λιπαρά οξέα μπορούν να χωριστούν σε δυο κατηγορίες ανάλογα με την συγκέντρωσή τους: Στο οξικό και το βουτυρικό όπου η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται κοντά στο 1000 mg/L και στα βαλερικό, ισοβουτυρικό και προπιονικό των οποίων η συγκέντρωση είναι είτε μηδενική είτε πολύ μικρή (300 mg/L). Είναι φανερό ότι ο αερισμός ευνοεί την ανάπτυξη των οξεογόνων μικροοργανισμών, αφού μετά και από τις δυο φορές που πραγματοποιήθηκε αερισμός παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης των λιπαρών πτητικών οξέων και ιδιαίτερα του οξικού οξέος. Παράλληλα είναι ξεκάθαρη η συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της οξεογένεσης και της παραγωγής βιοαερίου, αφού υπάρχει απόλυτη ταύτιση μεταξύ της αύξησης της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων και της παραγωγικότητας σε βιοαέριο. Κατά το τέλος του πειραματικού κύκλου παρατηρείται μια αύξηση στη συγκέντρωση του οξικού οξέος χωρίς την αναμενόμενη αύξηση στην παραγωγικότητα του βιοαερίου, το οποίο μαρτυρά την ύπαρξη ομοοξικογόνων μικροοργανισμών που καταναλώνουν το υδρογόνο και σε συνδυασμό με CO<sub>2</sub> το μετατρέπουν σε οξικό οξύ.

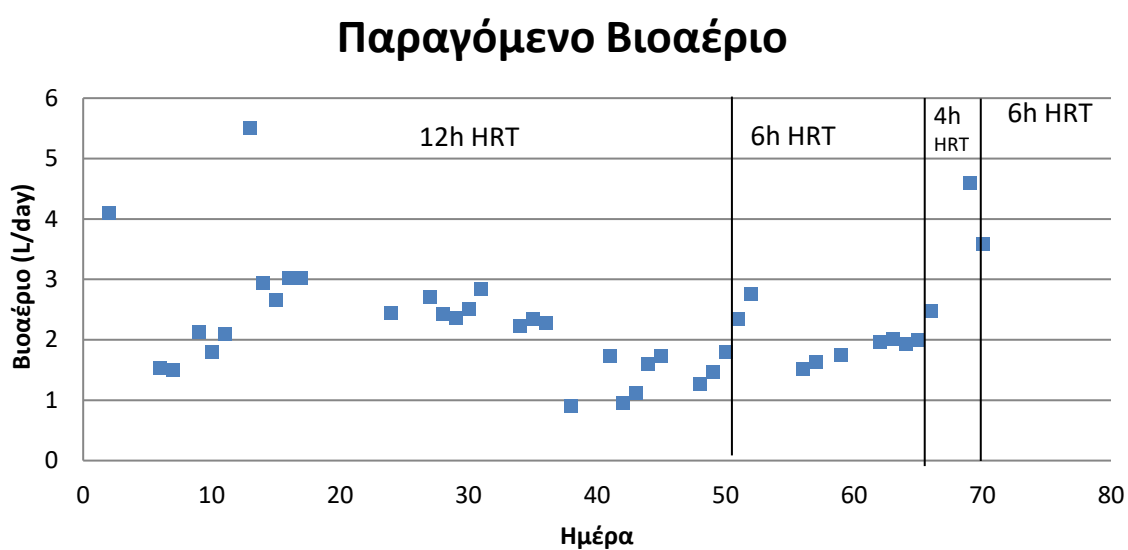
## 6. Δεύτερος πειραματικός κύκλος

Ο δεύτερος πειραματικός κύκλος διήρκησε 90 ημέρες. Η διεργασία ήταν συνεχούς έργου για τις πρώτες 70 ημέρες, ενώ στην συνέχεια ο βιοαντιδραστήρας λειτούργησε σαν περιοδικής πλήρωσης και απορροής (draw and fill reactor). Ποιο συγκεκριμένα ο υδραυλικός χρόνος παραμονής τις διεργασίας ήταν 12 h για τις πρώτες 49 ημέρες και 6 h έως την 70<sup>η</sup> ημέρα όπου άλλαξε ο τρόπος τροφοδοσίας του αντιδραστήρα και ο χρόνος παραμονής μειώθηκε στις 3 h. Κατά την 65<sup>η</sup> ημέρα λειτουργείας ως CSTR, ο χρόνος παραμονής μειώθηκε στις 4 h και πραγματοποιήθηκε πείραμα κινητικής. Σε όλη την διάρκεια του πειραματικού κύκλου η οργανική φόρτιση της τροφοδοσίας ήταν  $15 \frac{g \text{ στερεών}}{L \text{ τροφοδοσίας}}$ . Όπως και στον προηγούμενο πειραματικό κύκλο για το εμβόλιο λήφθηκε δείγμα ενεργού ιλύος από την Μονάδα Επεξεργασίας Λυμάτων Μεταμόρφωσης. Στην προκειμένη περίπτωση όμως δεν υποβλήθηκε σε θερμική επεξεργασία, αλλά ο αντιδραστήρας πληρώθηκε με 4L ιλύος και ξεκίνησε να λειτουργεί απευθείας σαν CSTR με χρόνο παραμονής της 6h. Κατά την μετάβαση της λειτουργείας από CSTR σε Draw and Fill, η καλλιέργεια αφαιρέθηκε από το εσωτερικό του αντιδραστήρα υπέστη θερμική επεξεργασία χρόνου 30 min στους 100 °C με σκοπό την θανάτωση των μικροοργανισμών-χρηστών υδρογόνου και επανατοποθετήθηκε στον βιοαντιδραστήρα. Στην διάρκεια της λειτουργείας του συστήματος σαν περιοδικής πλήρωσης και απορροής πραγματοποιήθηκε επίσης πείραμα κινητικής. Κατά την διάρκεια του πειραματικού κύκλου πραγματοποιήθηκε αερισμός του βιοαντιδραστήρα δύο φορές, την 44<sup>η</sup> και την 69<sup>η</sup> ημέρα λειτουργείας του. Τέλος από την 86<sup>η</sup> ημέρα άρχισε να γίνεται προσθήκη υπό την μορφή στερεού FeCl<sub>3</sub>. Η προσθήκη του έγινε για να αυξηθεί η συγκέντρωση του σιδήρου στο υπόστρωμα, καθώς λόγω του γεγονότος ότι ο σίδηρος αποτελεί βασικό δομικό στοιχείο

του ενζύμου υδρογονάση είναι σημαντική η ύπαρξη του για την επίτευξη υψηλής παραγωγικότητας σε βιουδρογόνο. Επιπλέον έχειδειχθεί ότι η ύπαρξη  $\text{FeCl}_3$  λειτουργεί παρεμποδιστικά για τους μεθανογόνους υδρογονοχρήστες.

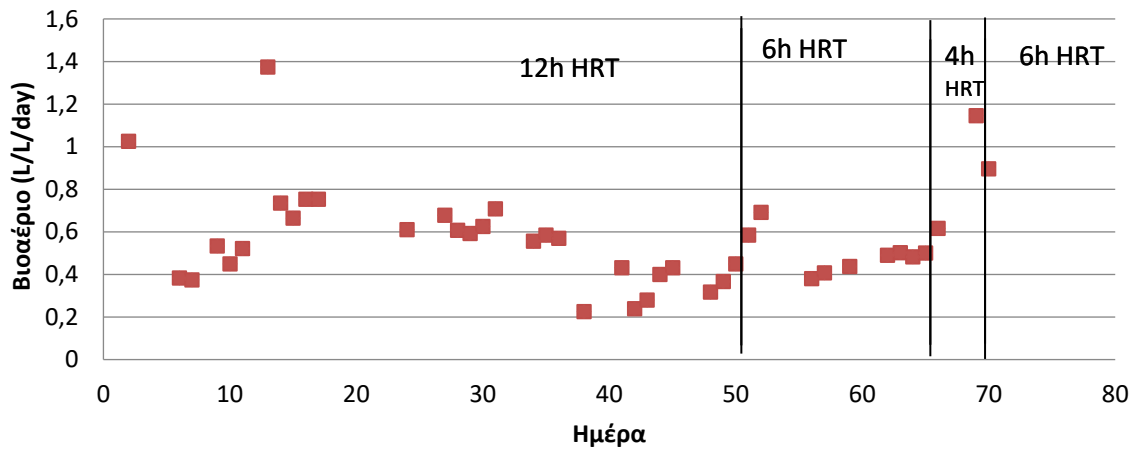
Παρακάτω παρουσιάζονται ξεχωριστά διαγράμματα των παρακολουθούμενων παραμέτρων στο εσωτερικό του αντιδραστήρα και στην τροφοδοσία, τόσο για τους δύο διαφορετικούς τρόπους λειτουργίας του συστήματος στον δεύτερο πειραματικό κύκλο όσο και για τα δύο πειράματα κινητικής.

### 6.1 Ημέρα 0 έως 70



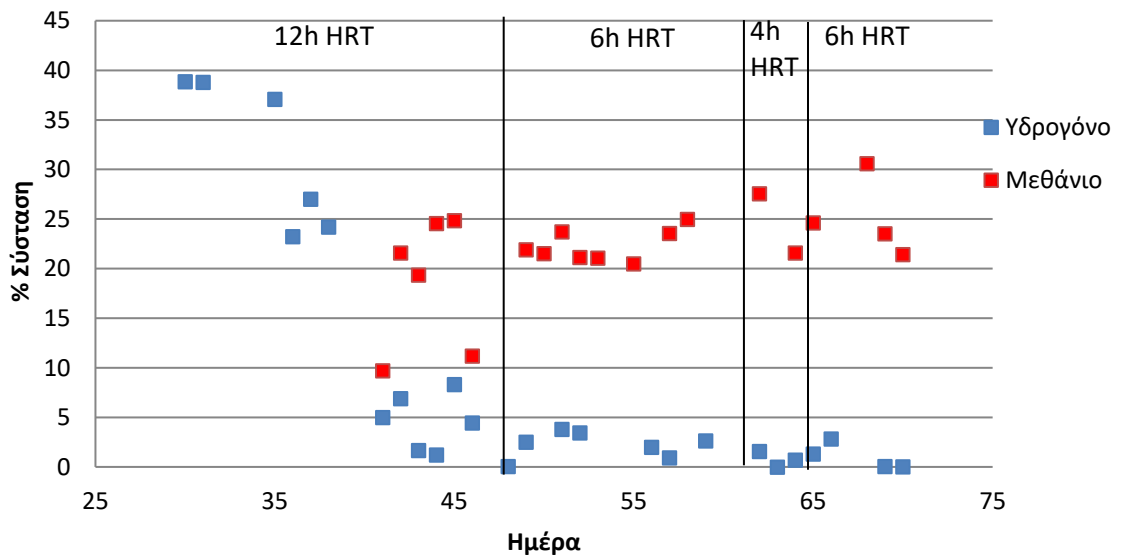
Διάγραμμα 15: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Παραγόμενο Βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα-CSTR



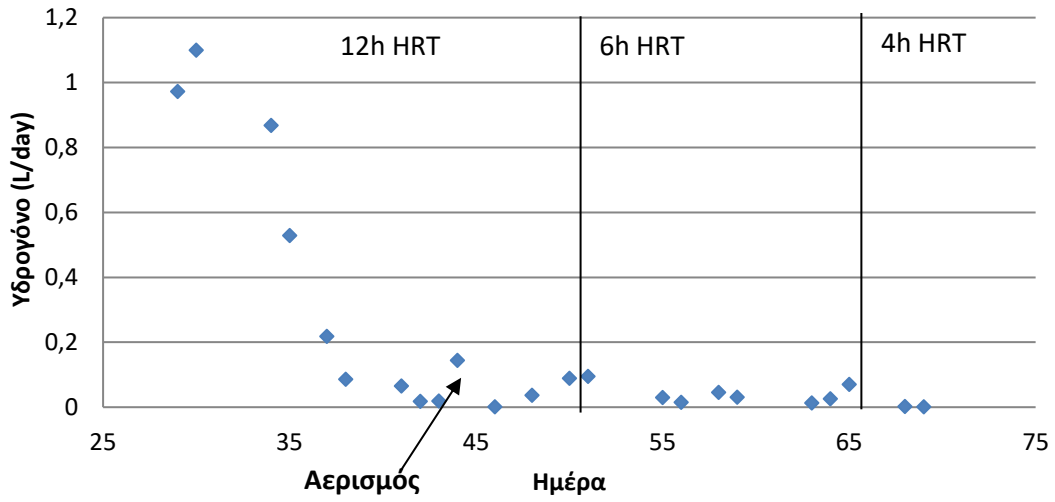
Διάγραμμα 16: Παραγόμενο βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα ανά ημέρα τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου

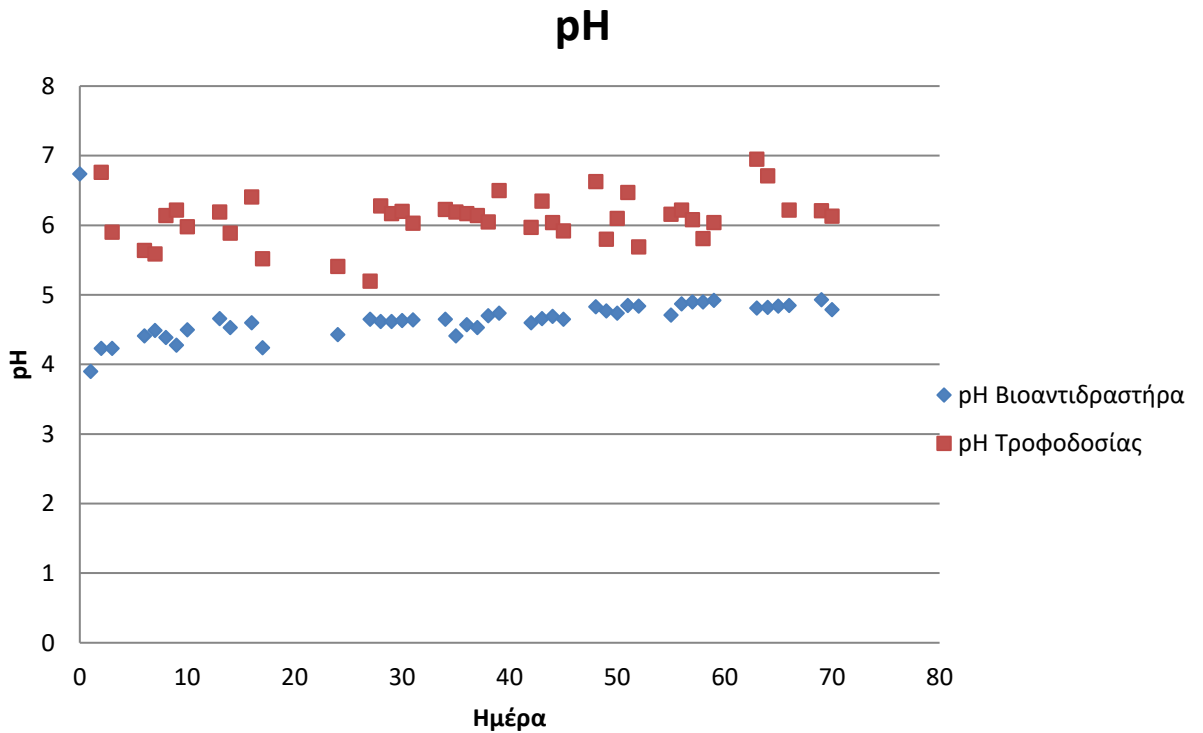


Διάγραμμα 17: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Παραγόμενο Βιοϋδρογόνο

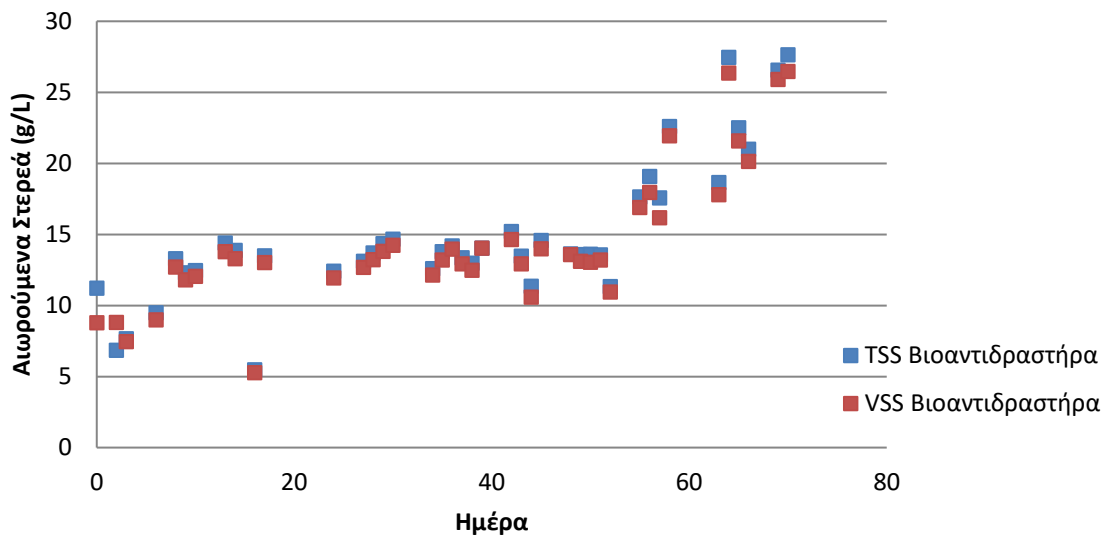


Διάγραμμα 18: Παραγόμενο βιοϋδρογόνο κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας



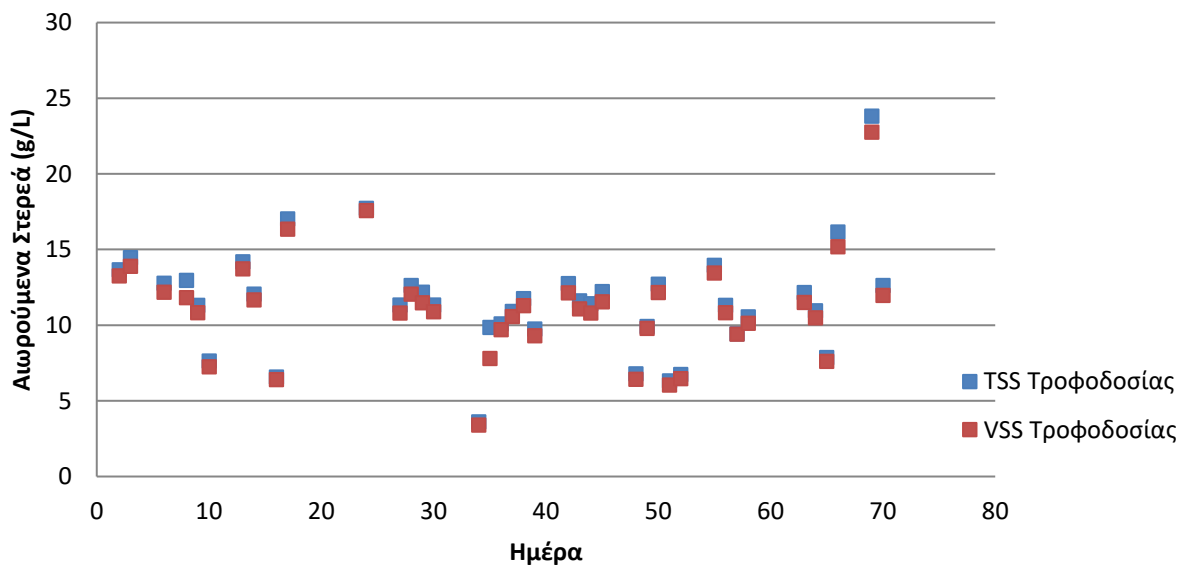
Διάγραμμα 19: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Αιωρούμενα Στερεά Βιοαντιδραστήρα



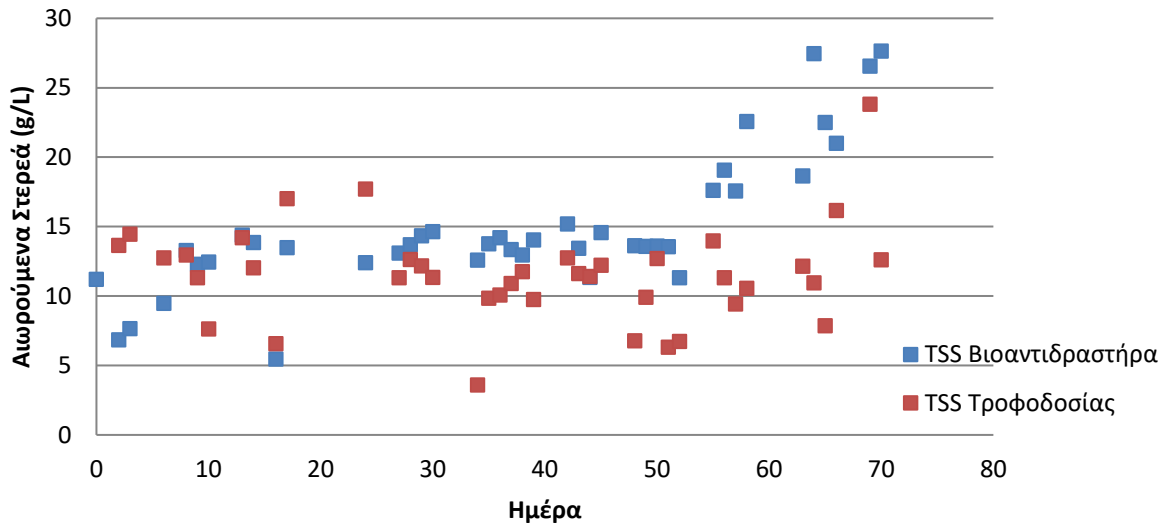
Διάγραμμα 20: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δευτέρου κύκλου λειτουργίας

## Αιωρούμενα Στερεά Τροφοδοσίας



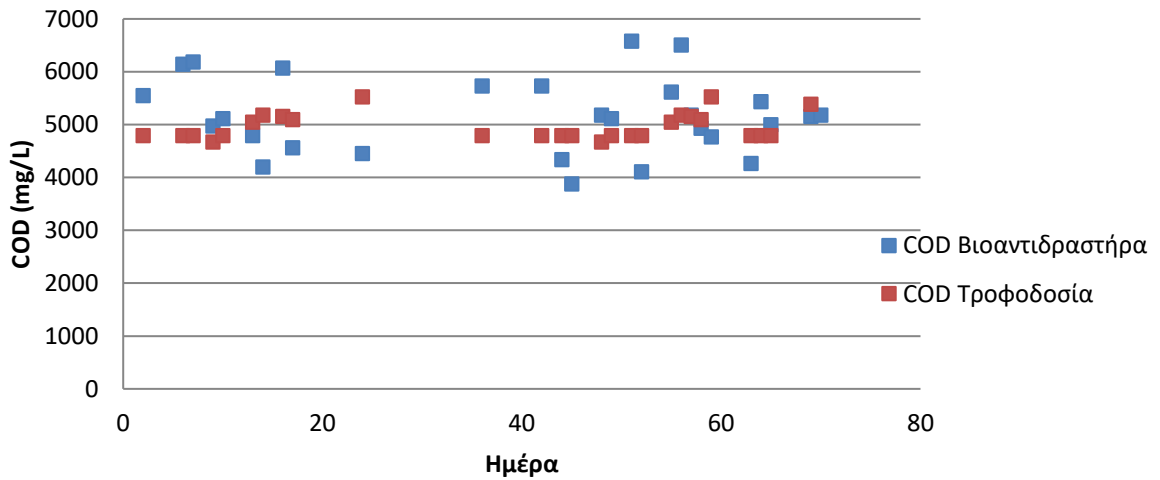
Διάγραμμα 21: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Ολικά Αιωρούμενα Στερεά



Διάγραμμα 22: Σύγκριση Ολικών Στερεών στον βιοαντιδραστήρα και στη τροφοδοσία κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

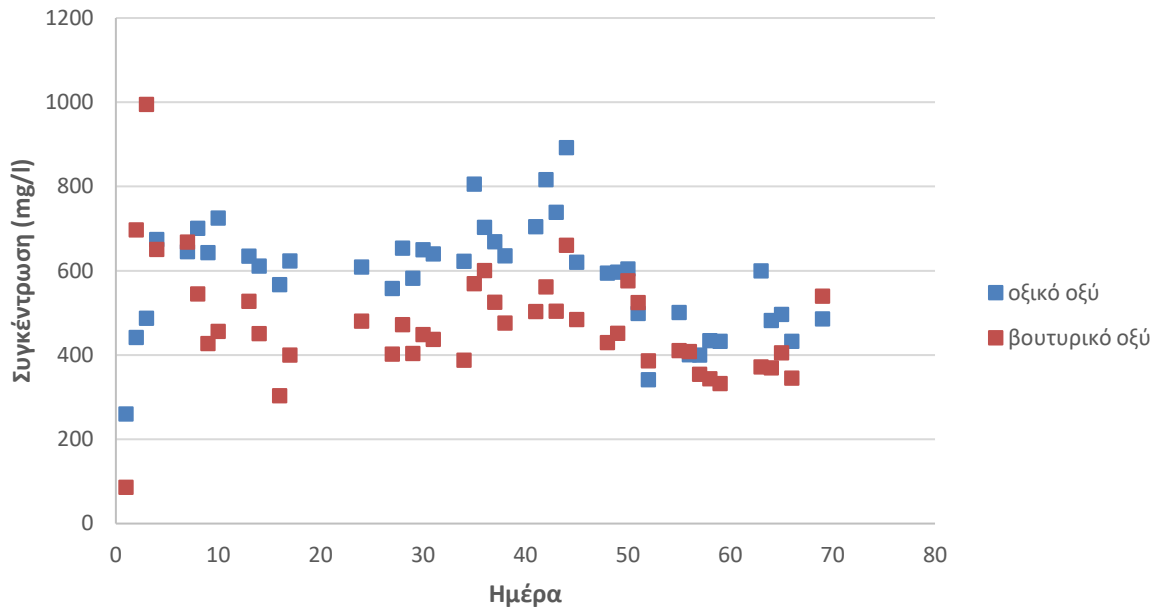
## Διαλυτό COD



Διάγραμμα 23: Διαλυτό COD στον βιοαντιδραστήρα και στη τροφοδοσία κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

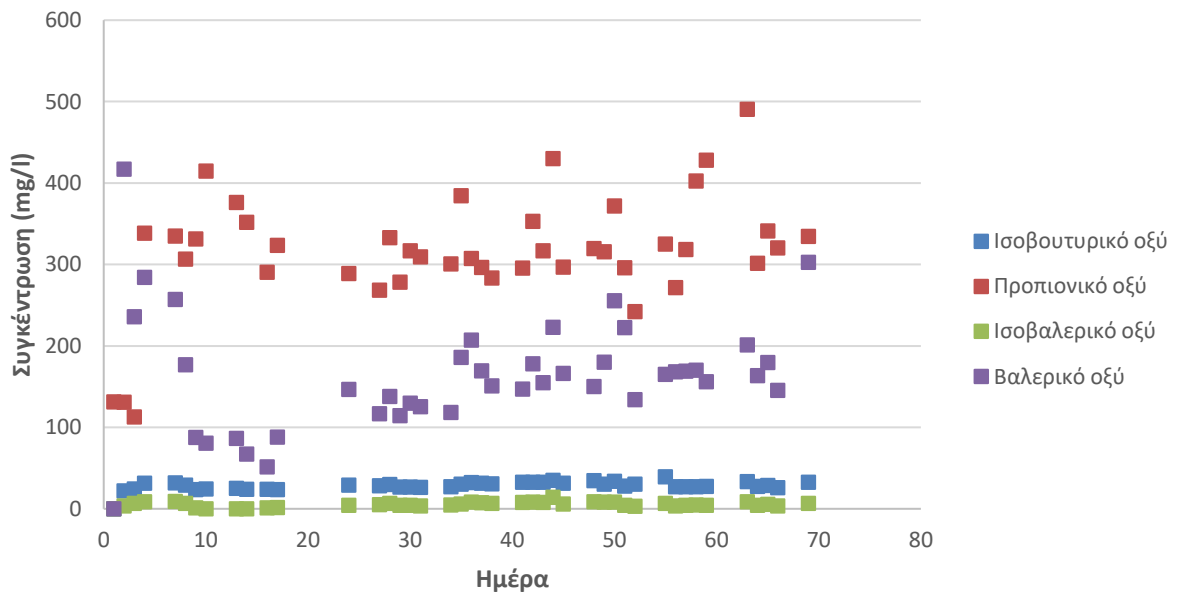


### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος

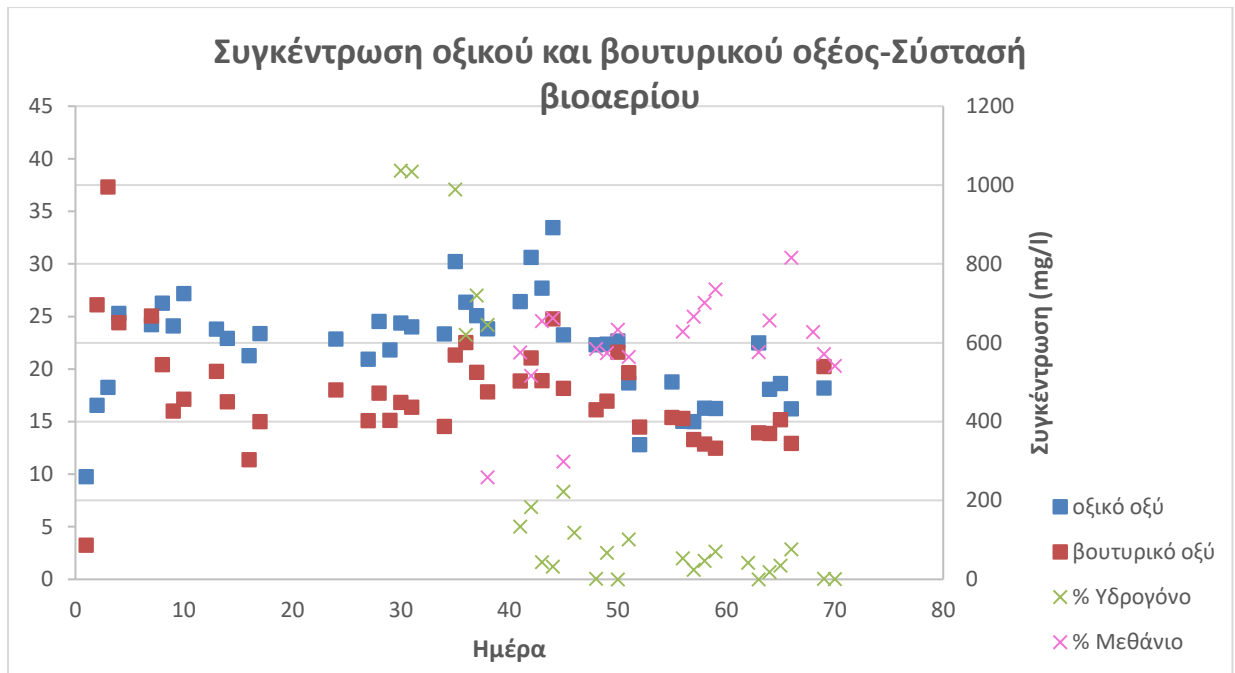


Διάγραμμα 24: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργείας

### Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος



Διάγραμμα 25: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στον βιοαντιδραστήρα κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργείας



Διάγραμμα 26: Συσχέτιση της σύστασης του βιοαερίου με την συγκέντρωση του βουτυρικού και του οξικού οξέος κατά τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργείας

Τις πρώτες 70 ημέρες του δεύτερου κύκλου λειτουργείας η παραγωγή του βιοαερίου ήταν σχετικά σταθερή. Μετά την 10<sup>η</sup> ημέρα λειτουργείας η παραγωγή βιοαερίου βρισκόταν σταθερά πάνω από τα 2,5 L ανά ημέρα. Μετά την 40<sup>η</sup> ημέρα η παραγωγικότητα άρχισε να μειώνεται, μείωση που αναστράφηκε με τον αερισμό που πραγματοποιήθηκε την 44<sup>η</sup> ημέρα, φτάνοντας και έως τα 3 L ανά ημέρα. Η μείωση του χρόνου παραμονής στις 6 ώρες οδήγησε αρχικά σε μείωση της παραγωγικότητας βιοαερίου, ενώ στη συνέχεια η παραγωγή εμφάνισε ανοδική τάση. Η περαιτέρω μείωση του χρόνου παραμονής στις 4 ώρες οδήγησε σε θεαματική αύξηση της παραγωγής βιοαερίου (σχεδόν 5 L ανά ημέρα).

Η αρχική σύσταση του βιοαερίου ήταν 40% υδρογόνο ενώ δεν υπήρχε σε αυτό μεθάνιο. Η περιεκτικότητα του υδρογόνου εμφάνισε σταδιακή μείωση και μετά τη 40<sup>η</sup> ημέρα ήταν κάτω από το 10%, ενώ η περιεκτικότητα του μεθανίου άρχισε να αυξάνεται φτάνοντας σε τιμές κοντά στο 25% όπου και παρέμεινε σταθερή. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο αερισμός που πραγματοποιήθηκε την 44<sup>η</sup> ημέρα είχε κάποιο αποτέλεσμα αφού η περιεκτικότητα σε υδρογόνο αυξήθηκε σχεδόν στο 10% για δύο ημέρες, με την περιεκτικότητα σε μεθάνιο να μειώνεται και αυτή σημαντικά. Στην συνέχεια όμως η περιεκτικότητα σε υδρογόνο μειώθηκε πολύ κάτω από το 5% και οι αλλαγές στον χρόνο παραμονής δεν φάνηκε να βοηθούν στην αύξηση της.

Σε όλη την διάρκεια των 70 ημερών το pH της τροφοδοσίας παρέμεινε σε σταθερή τιμή ανάμεσα στο 6 και το 6,5. Το pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα ξεκίνησε από τιμές κοντά στο 4 και εμφάνισε μια ελαφριά αυξητική τάση φτάνοντας σε τιμές κοντά στο 5 με το πέρασμα των ημερών. Από την βιβλιογραφία τέτοιες τιμές εμφανίζονται ως ιδανικές για την βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

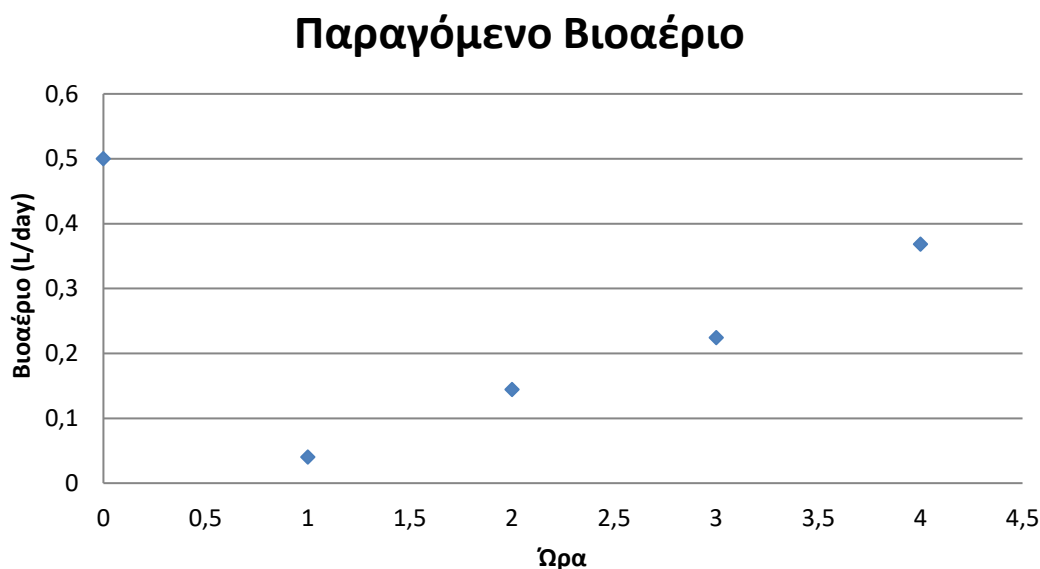
Τα ολικά στερεά σε όλη την διάρκεια του πειραματικού κύκλου παρουσιάζουν σταθερή συγκέντρωση τόσο στην τροφοδοσία (10 g/L) όσο και στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα (15 g/L). Ακόμη τα πτητικά στερεά και στις δύο περιπτώσεις (τροφοδοσία, βιοαντιδραστήρας)

αποτελούν σχεδόν το σύνολο των ολικών στερεών, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πλειονότητα των στερεών αποτελούνται από οργανικές ενώσεις. Η διαφορά στην συγκέντρωση των στερεών μεταξύ της τροφοδοσίας και του εσωτερικού του βιοαντιδραστήρα υποδηλώνει την ύπαρξη και την ανάπτυξη της βιομάζας. Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι η αύξηση της ποσότητας των στερεών στον βιοαντιδραστήρα προς το τέλος οφείλεται στην συσσώρευση βιομάζας και στερεών λόγω των συνεχών αλλαγών στους χρόνους παραμονής.

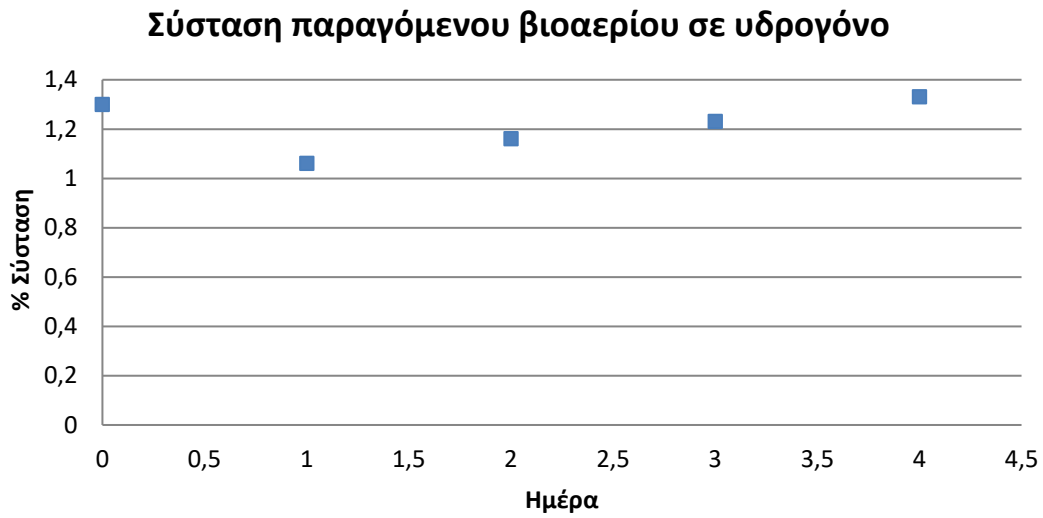
Το διαλυτό COD της τροφοδοσίας έχει σταθερή τιμή περίπου στα 5000 mg/L. Το διαλυτό COD στο εσωτερικό του αντιδραστήρα κυμαίνεται από 4000-6500 mg/L. Οι μεγαλύτερες τιμές COD στο εσωτερικό του αντιδραστήρα οφείλονται στο γεγονός ότι στη διεργασία συμβαίνει υδρόλυση των αδιάλυτων στερεών και έτσι αυξάνεται η συγκέντρωση των διαλυτών οργανικών.

Τα πτητικά λιπαρά οξέα μπορούν να χωριστούν σε δυο κατηγορίες ανάλογα με την συγκέντρωσή τους: Στο οξικό και το βουτυρικό όπου η συγκέντρωσή τους κυμαίνεται κοντά στο 400-700mg/L και ενώ η συγκέντρωση του βαλερικού, του ισοβαλερικού, του ισοβουτυρικού και του προπιονικού είναι είτε μηδενική είτε πολλή μικρή (>400 mg/L). Μετά τον αερισμό την 44<sup>η</sup> ημέρα η συγκέντρωση του οξικού οξέος εμφάνισε ένα μέγιστο όμως γρήγορα μειώθηκε φτάνοντας στα προηγούμενα επίπεδα. Οι αλλαγές στον χρόνο παραμονής δεν φαίνεται να επηρεάζουν σημαντικά την συγκέντρωση των λιπαρών πτητικών οξέων στον βιοαντιδραστήρα. Η συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της οξεογένεσης, ιδιαίτερα της παραγωγής οξικού οξέος και της παραγωγής υδρογόνου και μεθανίου φαίνεται καθαρά, αφού η συγκέντρωση του οξικού οξέος στον αντιδραστήρα είναι ανάλογη με την παραγωγή υδρογόνου και αντιστρόφως ανάλογη με την παραγωγή μεθανίου.

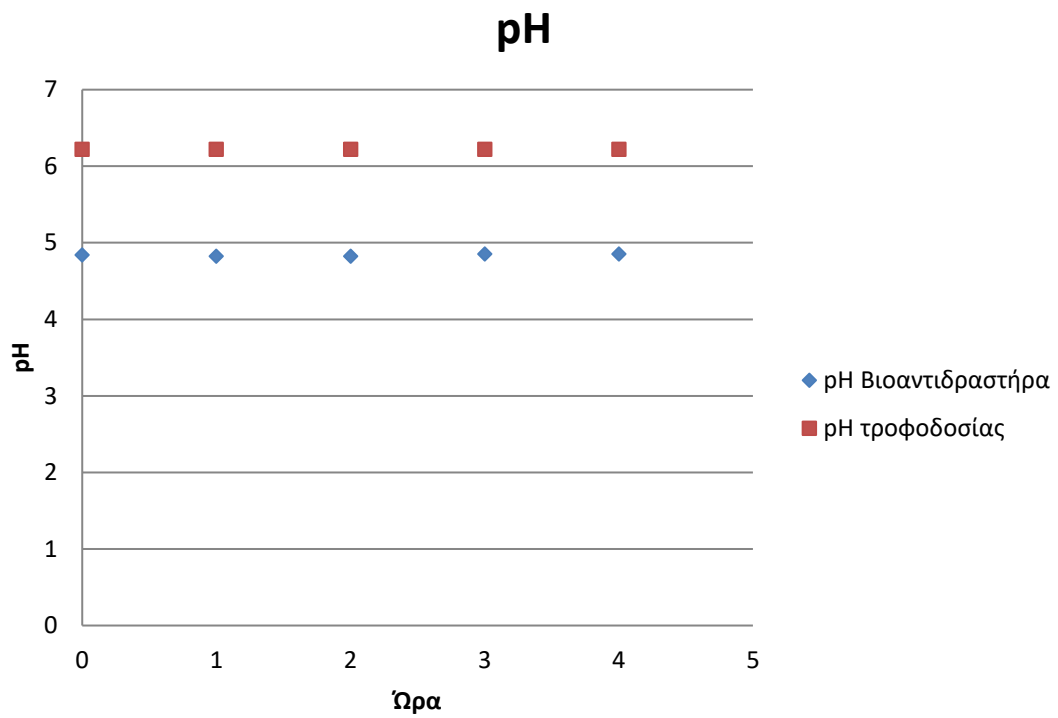
#### 6.1.1 Κινητική μελέτη για χρόνο παραμονής 4 ώρες



Διάγραμμα 27: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ώρα κατά την διάρκεια του πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

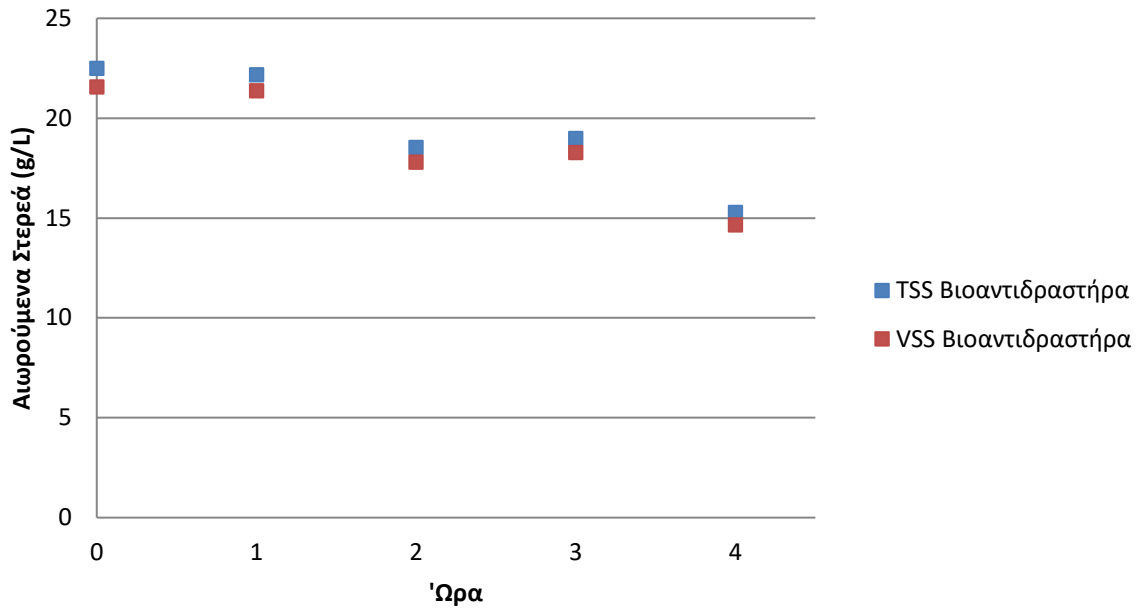


Διάγραμμα 28: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες



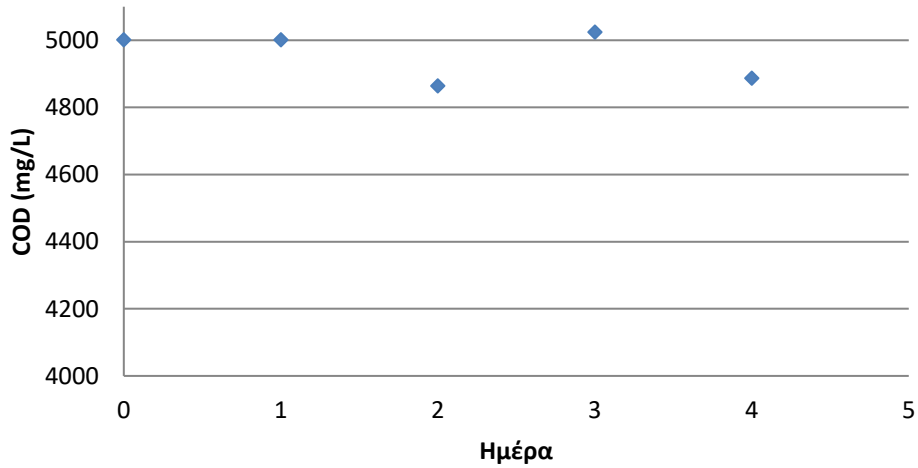
Διάγραμμα 29: pH της τροφοδοσίας και του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

## Αιωρούμενα Στερεά Βιοαντιδραστήρα

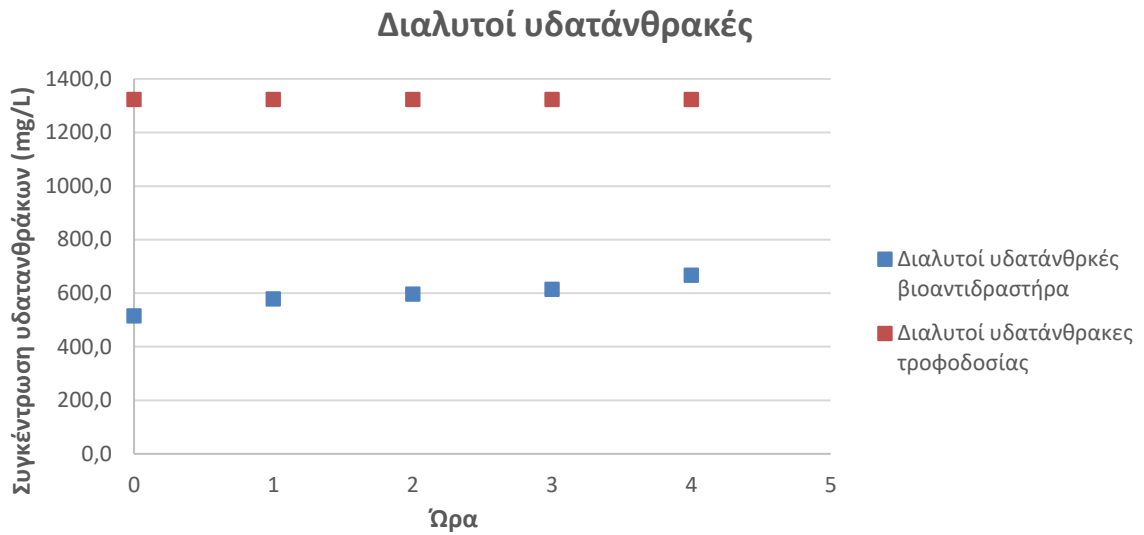


Διάγραμμα 30: Ολικά και Πτητικά Στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

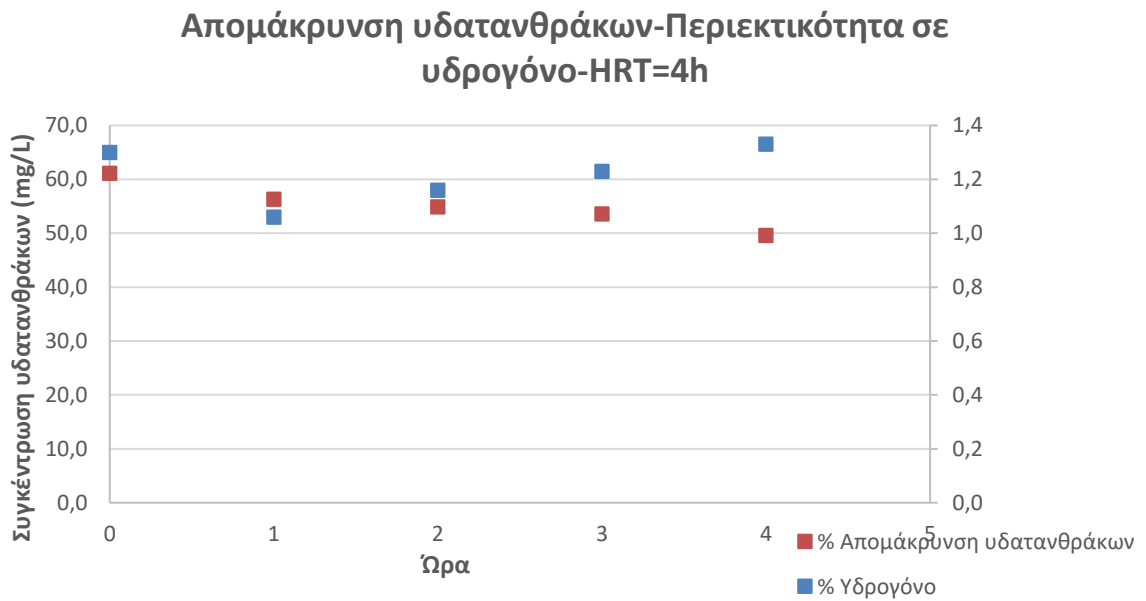
## Διαλυτό COD βιοαντιδραστήρα



Διάγραμμα 31: Διαλυτό COD στον βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

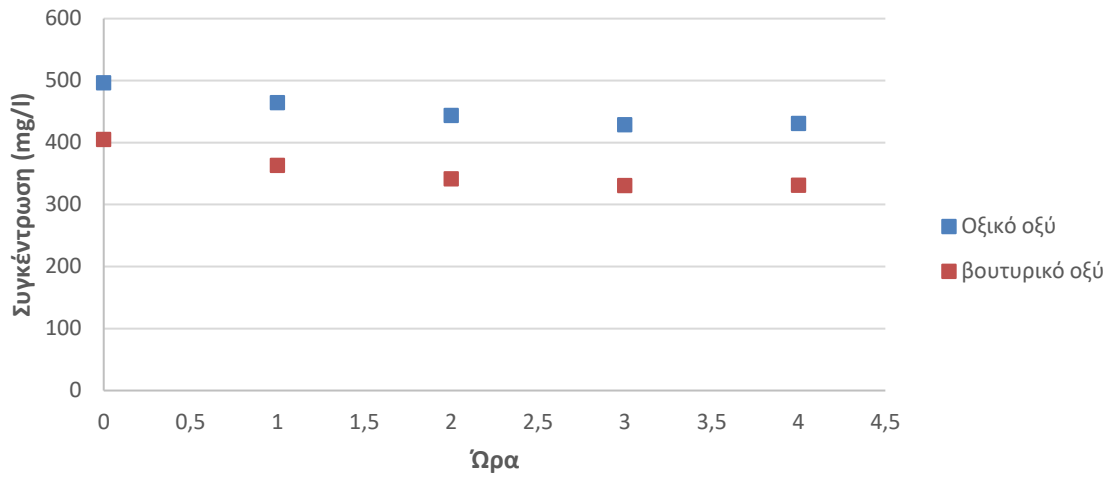


Διάγραμμα 32: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες



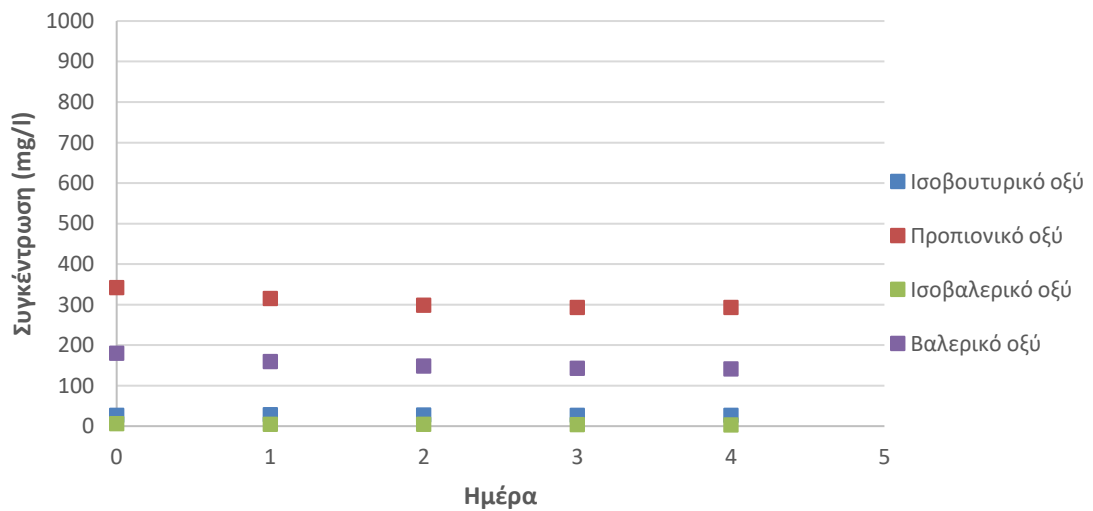
Διάγραμμα 33: : Συσχέτιση απομάκρυνσης υδατανθράκων και περιεκτικότητας σε υδρογόνο του βιοαερίου κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος



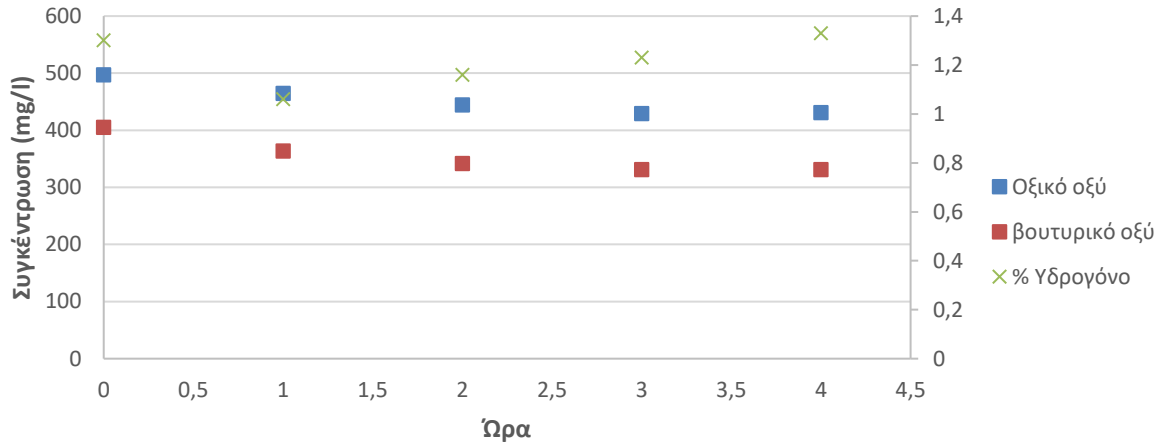
Διάγραμμα 34: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

### Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος



Διάγραμμα 35: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος-4η

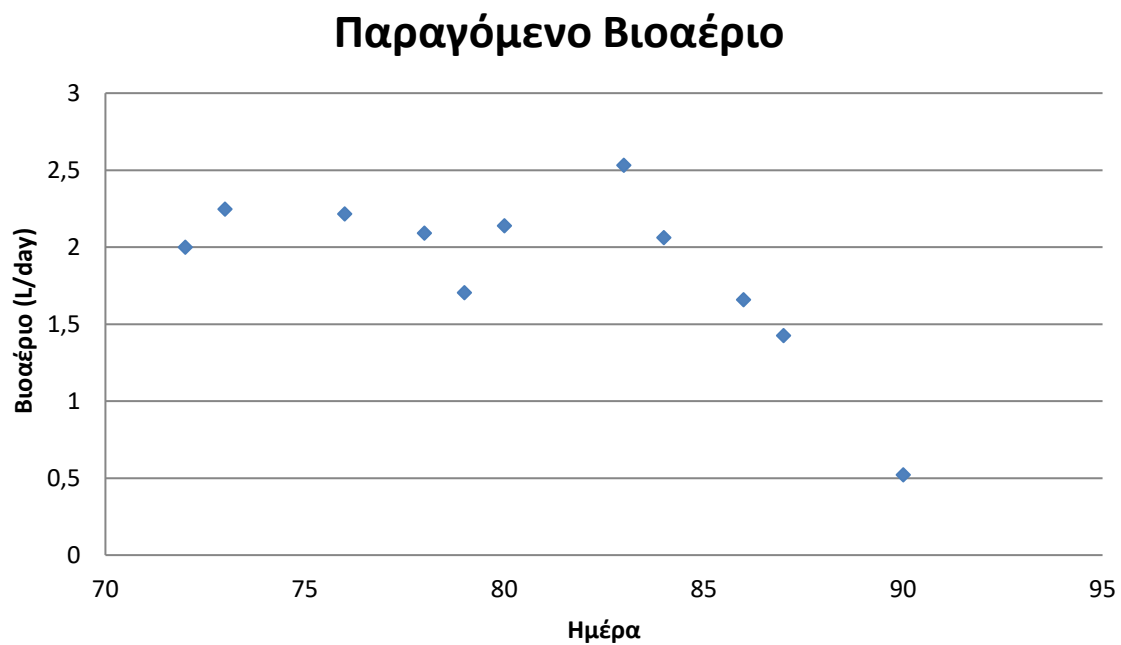


Διάγραμμα 36: Συσχέτιση της σύστασης του βιοαερίου με την συγκέντρωση του βουτυρικού και του οξικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 4 ώρες

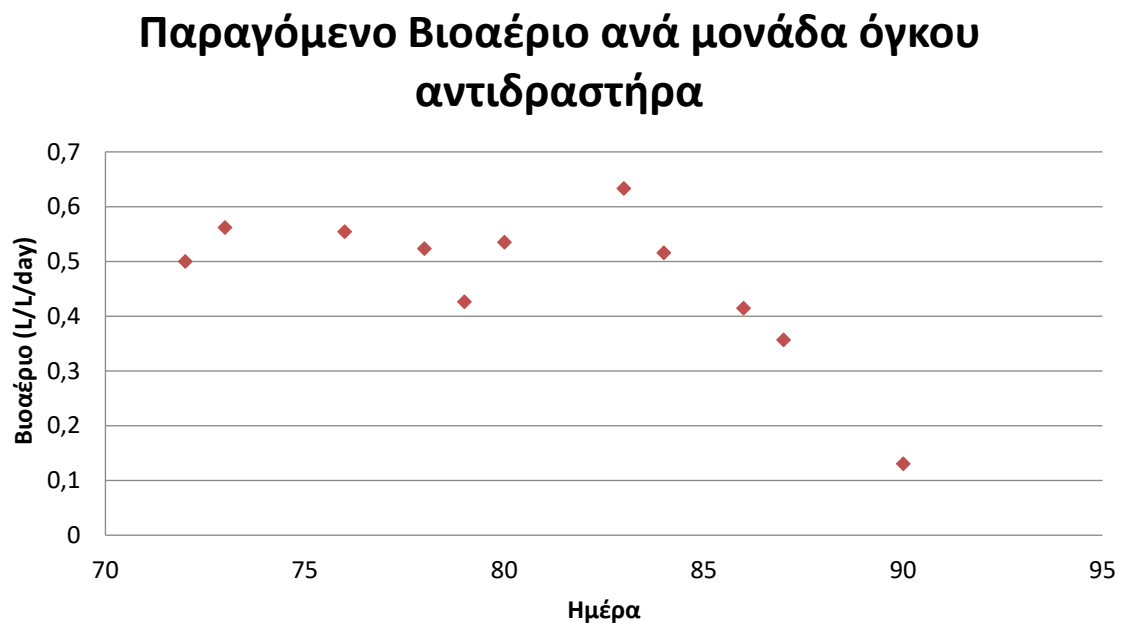
Τα δεδομένα από το πείραμα κινητικής στην αλλαγή του χρόνου παραμονής της διεργασίας από 6 σε 4 ώρες δεν είναι ικανά για να εξαχθεί κάποιο ασφαλές συμπέρασμα για το πώς επηρεάζει η μείωση του χρόνου παραμονής τη σύσταση και την ποσότητα του παραγόμενου βιοαερίου.



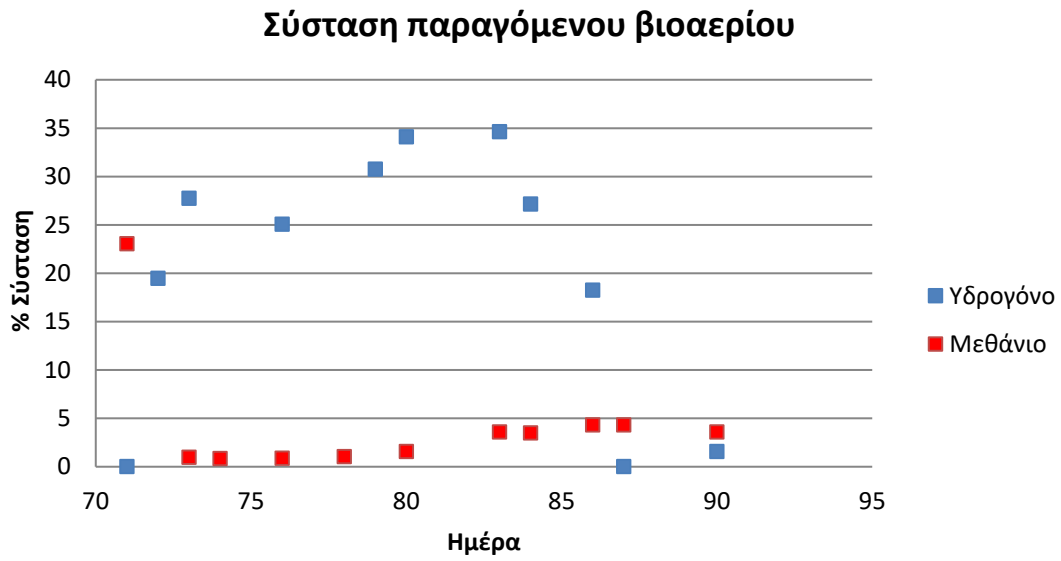
## 6.2 Ημέρα 71 έως 90



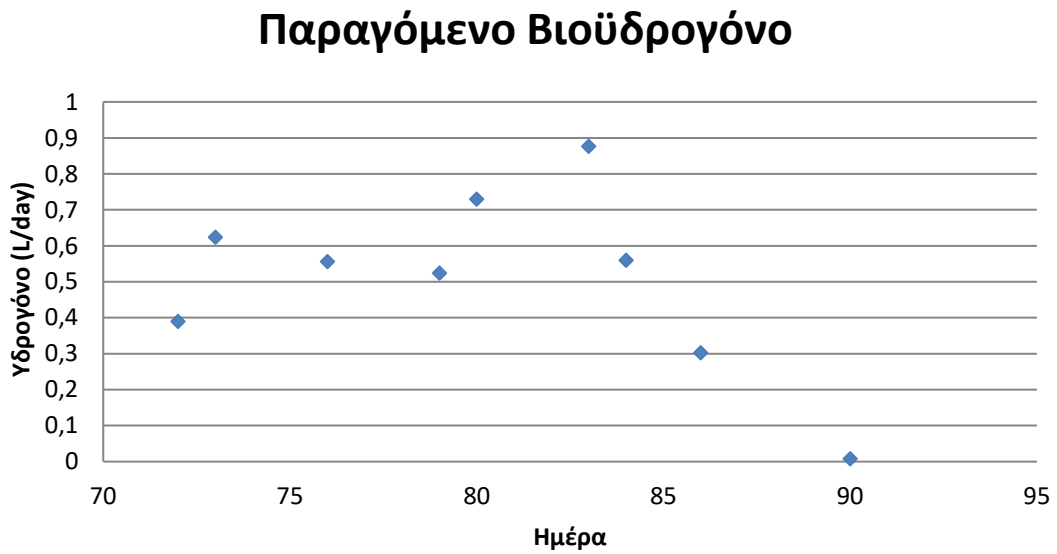
Διάγραμμα 37: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας



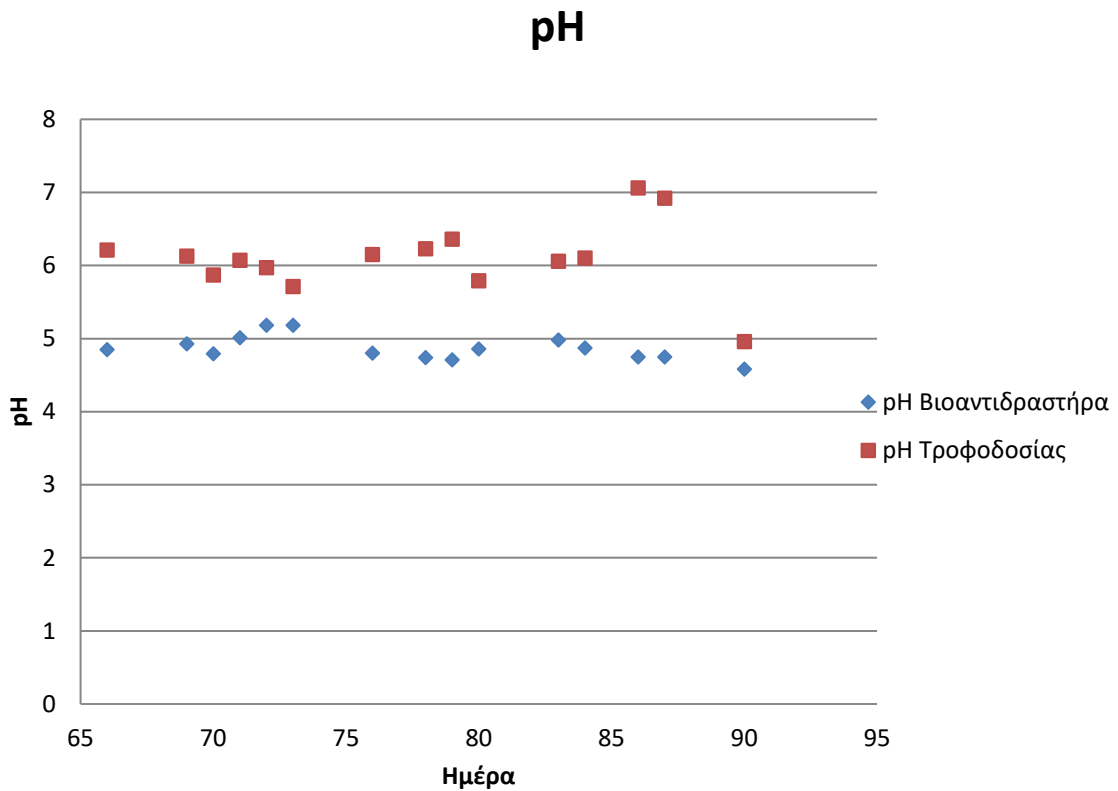
Διάγραμμα 38: Παραγόμενο βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα ανά ημέρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας



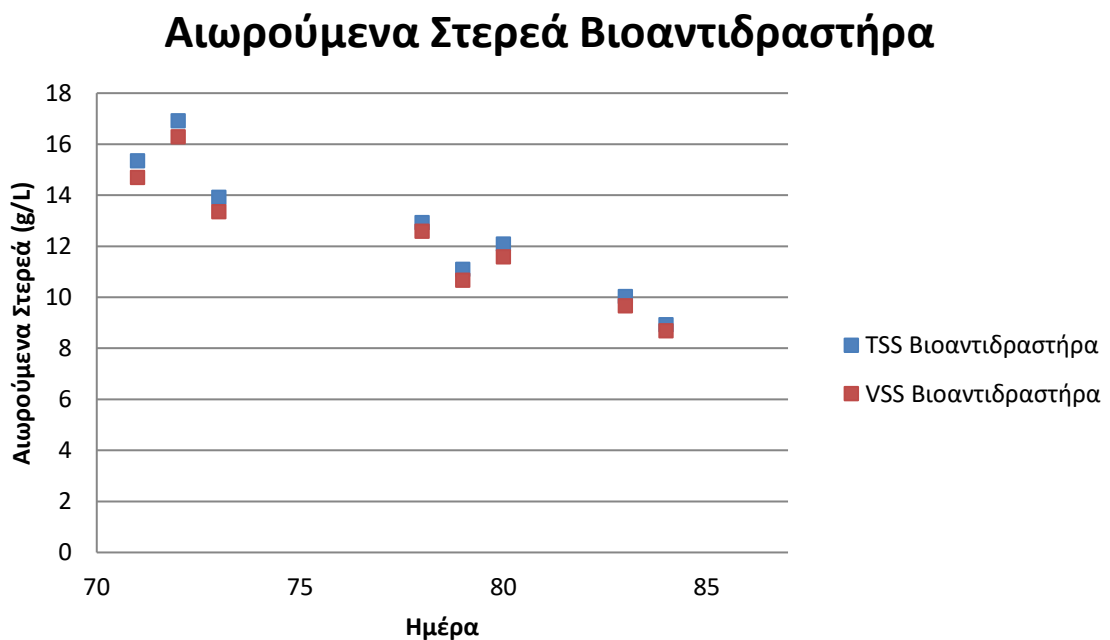
Διάγραμμα 39: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας



Διάγραμμα 40: Παραγόμενο βιοϋδρογόνο ανά ημέρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

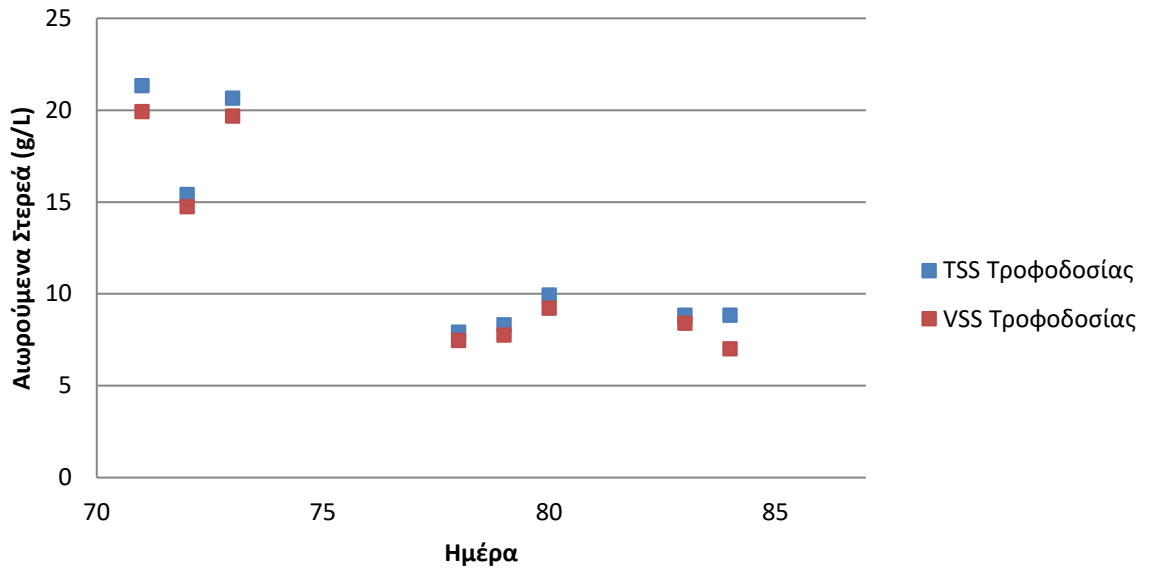


Διάγραμμα 41: pH στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσίας μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας



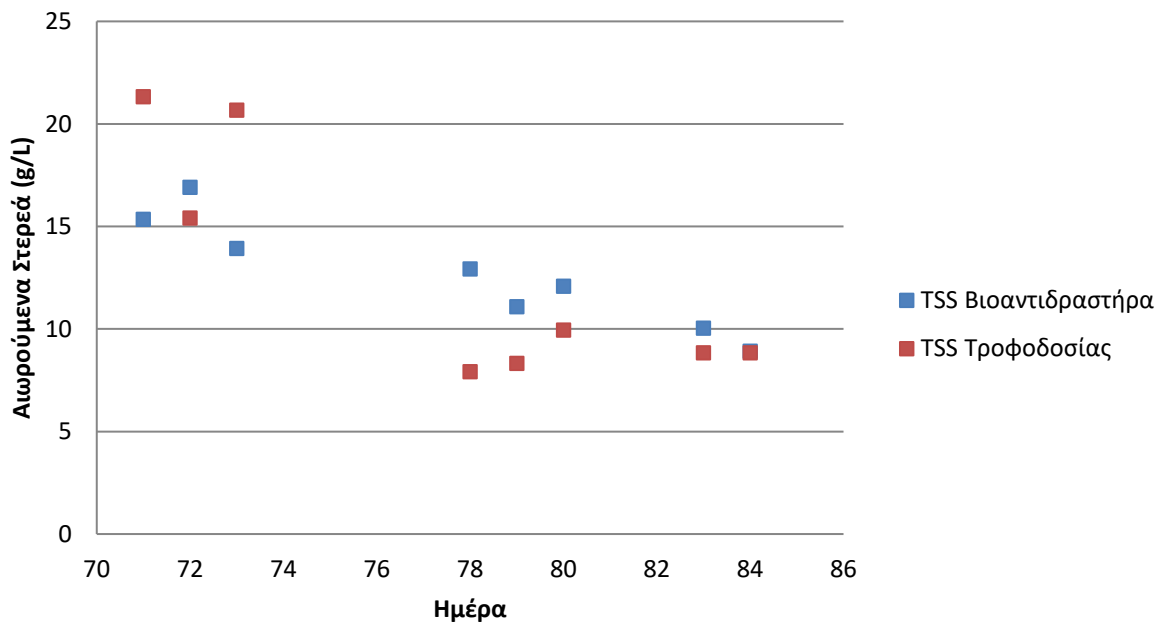
Διάγραμμα 42: Ολικά και Πτητικά Στερεά στον βιοαντιδραστήρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Αιωρούμενα Στερεά Τροφοδοσίας



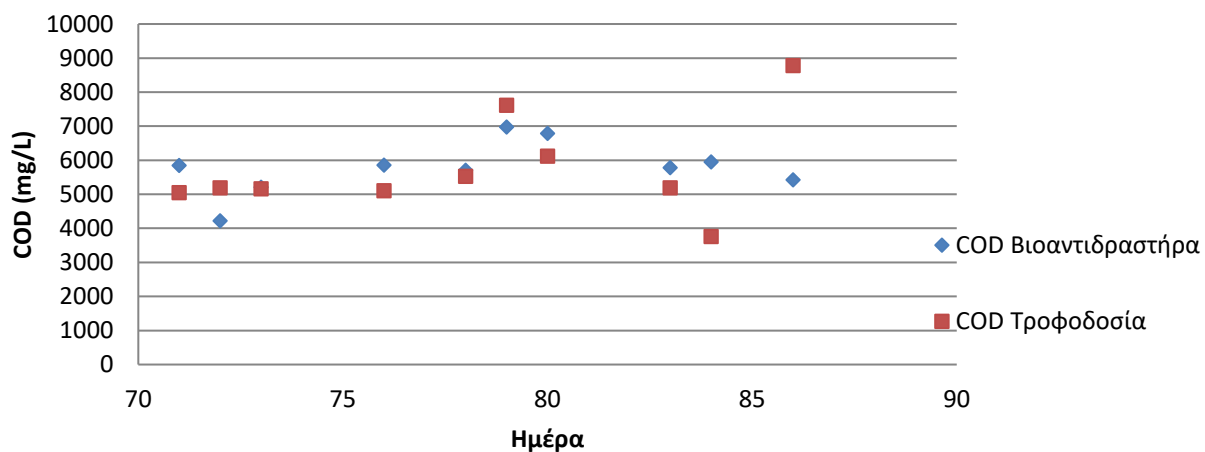
Διάγραμμα 43: Ολικά και Πτητικά Στερεά στην τροφοδοσία μετά την 70 ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Ολικά Αιωρούμενα Στερεά



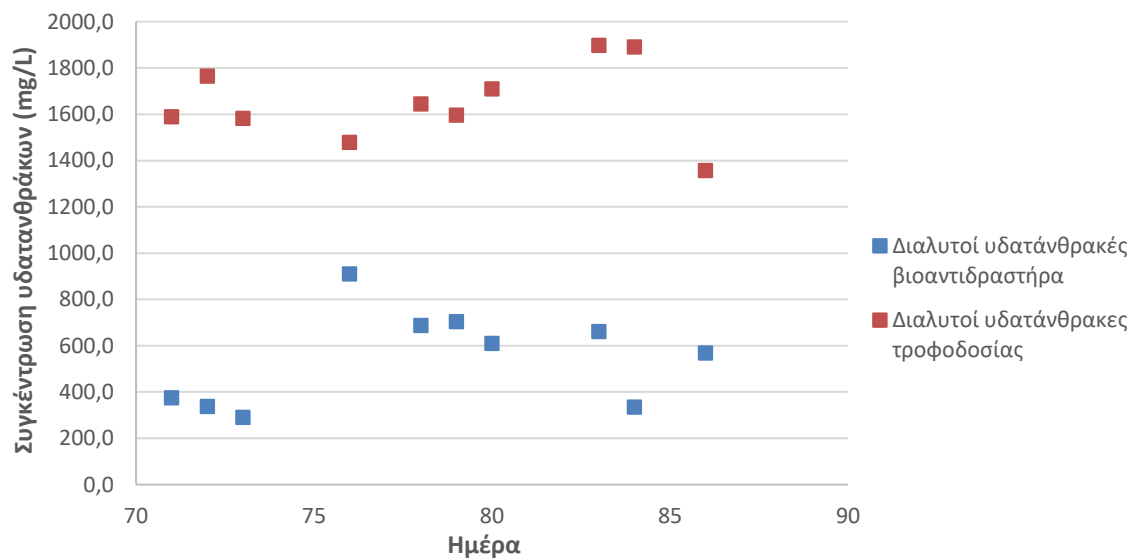
Διάγραμμα 44: Σύγκριση Ολικών και Πτητικών Στερεών στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70 ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Διαλυτό COD



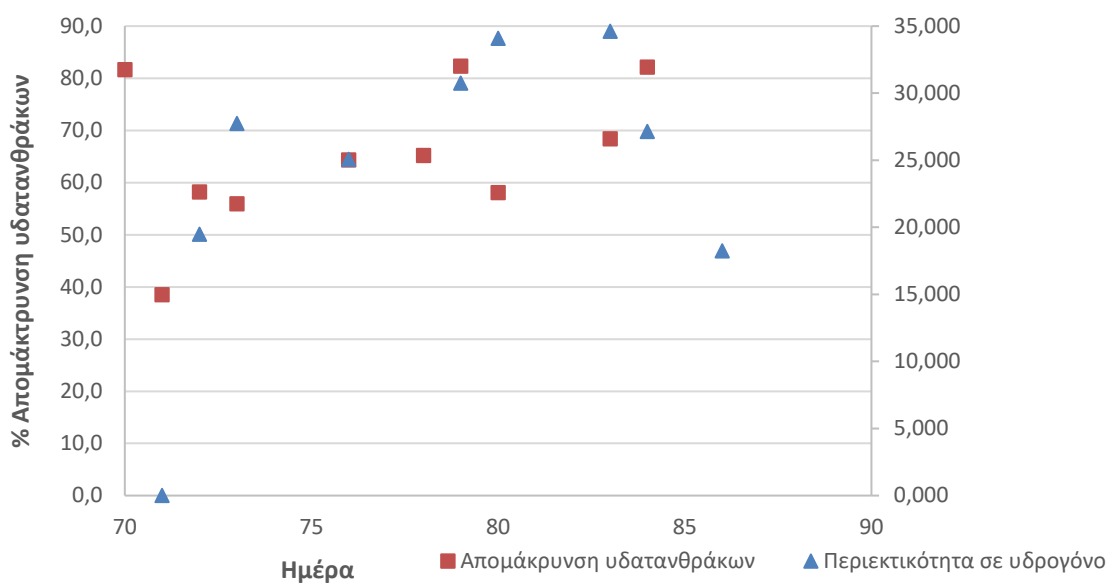
Διάγραμμα 45: Διαλυτό COD στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δευτερου κύκλου λειτουργείας

## Διαλυτοί υδατάνθρακες



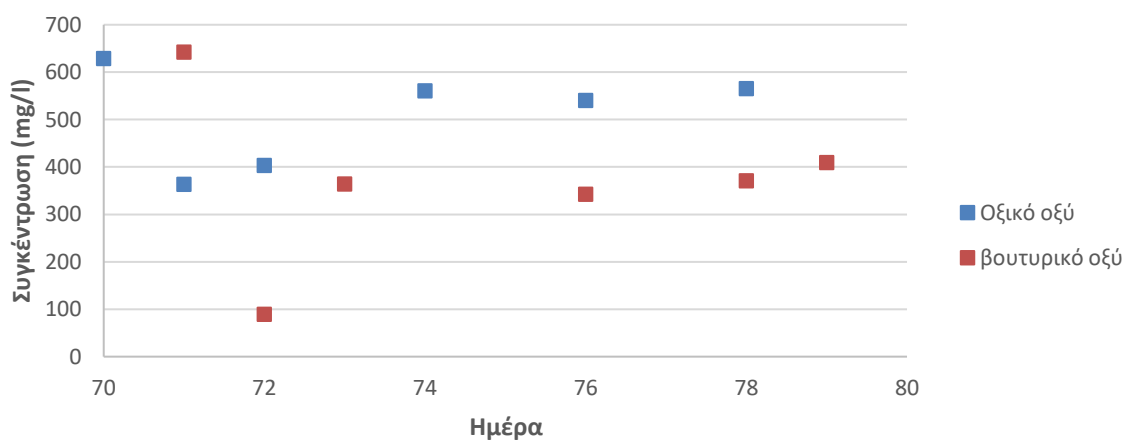
Διάγραμμα 46: Συγκέντρωση διαλυτών υδατάνθρακων στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργείας

## Απομάκρυνση υδατανθράκων-Περιεκτικότητα σε υδρογόνο



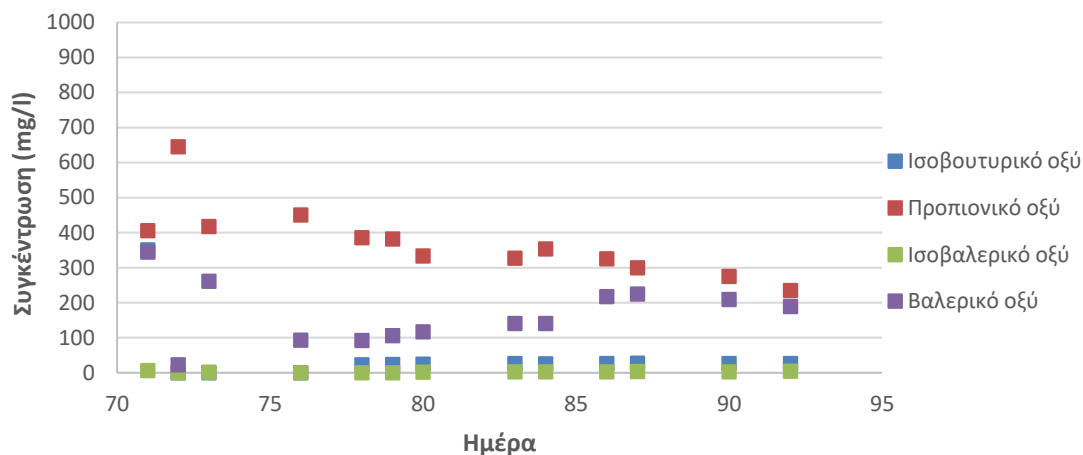
Διάγραμμα 47: Συσχέτιση απομάκρυνσης υδατανθράκων και περιεκτικότητας σε υδρογόνο του βιοαερίου μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

## Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος



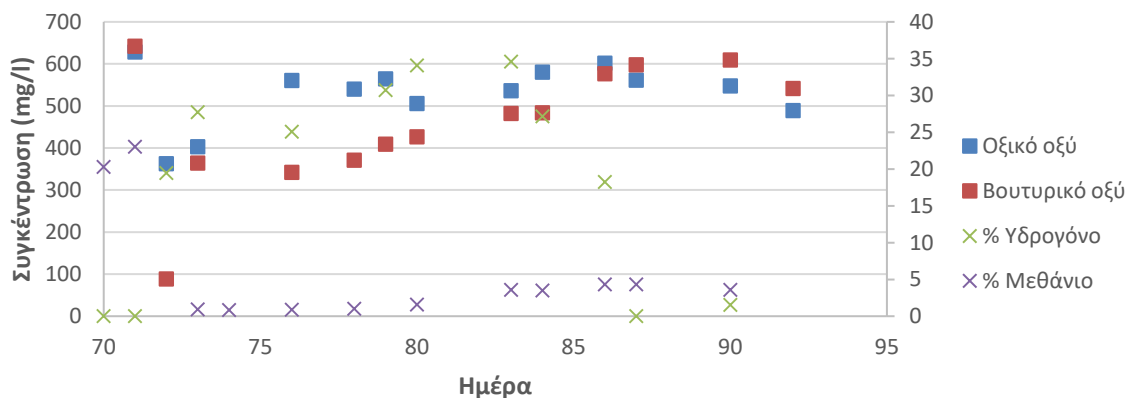
Διάγραμμα 48: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα μετά την 70<sup>η</sup> ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

### Συγκέντρωση ισοβουτυρικού,προπιονικού,ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος



Διάγραμμα 49: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού,ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στο εσωτερικό του αντιδραστήρα μετά την 70η ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος-Σύστασή βιοαερίου



Διάγραμμα 50: Συσχέτιση της σύστασης του βιοαερίου με την συγκέντρωση του βουτυρικού και του οξικού οξέος μετά την 70<sup>η</sup> ημέρα του δεύτερου κύκλου λειτουργίας

Μετά την θερμική επεξεργασία της καλλιέργειας παρατηρείται μείωση της παραγωγή του βιοαερίου από τα 4 L ανά ημέρα στα 2 L ανά ημέρα. Η παραγωγικότητα σε βιοαέριο παρέμεινε σχετικά σταθερή για 15 ημέρες (85<sup>η</sup> ημέρα). Στην συνέχεια, όμως σημείωσε απότομη μείωση φτάνοντας τα 0,5 L ανά ημέρα την 90<sup>η</sup> ημέρα.

Από την άλλη η σύσταση του βιοαερίου επηρεάστηκε σημαντικά από την θερμική επεξεργασία της καλλιέργειας. Την 71<sup>η</sup> ημέρα η περιεκτικότητα σε υδρογόνο ήταν μηδενική όμως από την επόμενη ημέρα σημείωσε σημαντική άνοδο φτάνοντας το 20% την 72<sup>η</sup> ημέρα και το 35% την

83<sup>η</sup> ημέρα . Στην συνέχεια άρχισε να μειώνεται, φτάνοντας το 1,5% την 90<sup>η</sup> ημέρα. Από την άλλη την 71<sup>η</sup> ημέρα το ποσοστό του μεθανίου στο βιοαέριο ήταν λίγο κάτω από 25% αλλά από την επόμενη ημέρα και μέχρι το τέλος του κύκλου λειτουργείας μειώθηκε και έμεινε σταθερά κάτω από 5%.

Σε όλη την διάρκεια των του δεύτερου μισού του κύκλου λειτουργείας το pH της τροφοδοσίας παρέμεινε σταθερό και ίσο με στο 6 . Το pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα βρισκόταν και αυτό σε σταθερή τιμή στο 5, ιδανική τιμή για τη βιολογική παραγωγή υδρογόνου σύμφωνα με την βιβλιογραφία.

Τα ολικά στερεά σε όλη την διάρκεια του πειραματικού κύκλου, λόγω προβλήματος στην τροφοδοσία παρουσιάζουν αρχικά μειούμενη συγκέντρωση τόσο στην τροφοδοσία όσο και στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα πέφτοντας από τα 16 στα 10 g/L και από τα 20 στα 10 g/L αντίστοιχα. Ακόμη τα πτητικά στερεά και στις δύο περιπτώσεις (τροφοδοσία, βιοαντιδραστήρας) αποτελούν σχεδόν το σύνολο των ολικών στερεών, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πλειονότητα των στερεών αποτελούνται από οργανικές ενώσεις. Η διαφορά στη συγκέντρωση των στερεών μεταξύ της τροφοδοσίας και του εσωτερικού του βιοαντιδραστήρα υποδηλώνει την ύπαρξη και την ανάπτυξη της βιομάζας. Το γεγονός ότι τις πρώτες ημέρες του δεύτερου μισού του κύκλου λειτουργείας τα ολικά στερεά της τροφοδοσίας είναι περισσότερα από αυτά στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα δείχνει ότι η θερμική επεξεργασία της καλλιέργειας επέφερε καταστροφή μέρους των μικροοργανισμών της καλλιέργειας, η οποία στην συνέχεια προσαρμόστηκε στις νέες συνθήκες και αναπτύχθηκε εκ νέου.

Το διαλυτό COD της τροφοδοσίας έχει σταθερή τιμή περίπου στα 5000 mg/L με μικρές διακυμάνσεις. Το διαλυτό COD στο εσωτερικό του αντιδραστήρα κυμαίνεται περίπου στα 6000 mg/L με κάποιες διακυμάνσεις. Οι μεγαλύτερες τιμές COD στο εσωτερικό του αντιδραστήρα οφείλονται στο γεγονός ότι στη διεργασία συμβαίνει υδρόλυση των αδιάλυτων στερεών και έτσι αυξάνεται η συγκέντρωση των διαλυτών οργανικών.

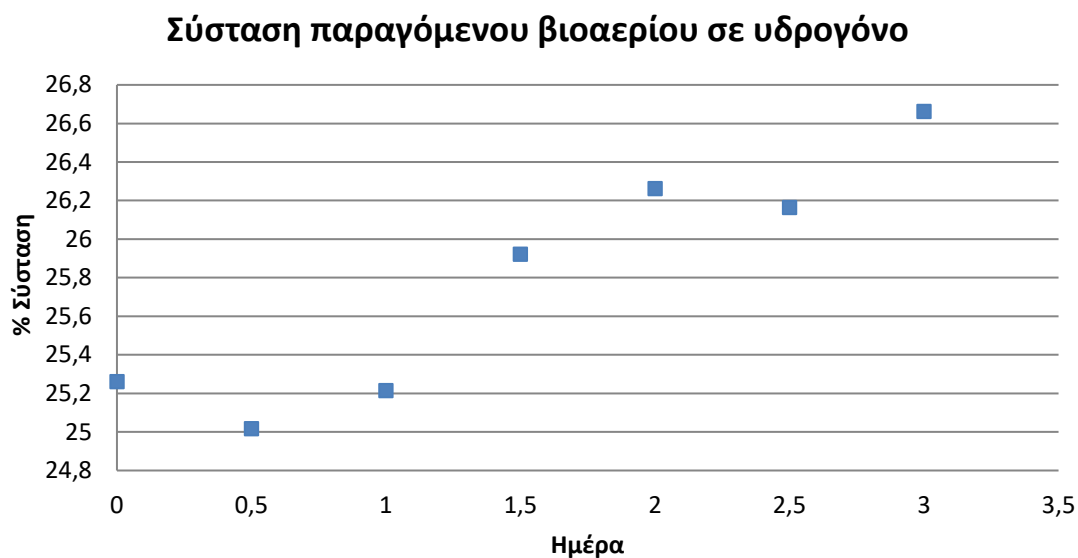
Οι διαλυτοί υδατανθρακες της τροφοδοσίας είχαν σταθερή συγκέντρωση κοντά στα 1700 mg/L. Στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα οι συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων ήταν πολύ μικρότερη και κυμαίνονταν από τα 300 mg/L έως σχεδόν τα 1000 mg/L. Η απομάκρυνση των υδατανθράκων στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα ήταν σχετικά καλή και μεγαλύτερη του 50%. Η περιεκτικότητα σε υδρογόνο του παραγόμενου βιοαερίου σχετίζεται άμεσα με την απομάκρυνση των υδατανθράκων καθώς είναι σχεδόν ανάλογες.

Η συγκέντρωση του οξικού και του βουτυρικού οξέος κυμαίνεται στα 350-650 mg/L. Η συγκέντρωση του προπιονικού οξέος ξεκινάει από 400 mg/L και μειώνεται σταδιακά ενώ η συγκέντρωση του ισοβαλικού, του βαλικού και του ισοβουτυρικού είναι είτε μηδενική είτε πολύ χαμηλή (>200 mg/L). Μετά τον αερισμό την 44<sup>η</sup> ημέρα η συγκέντρωση του οξικού οξέος εμφάνισε ένα μέγιστο όμως γρήγορα μειώθηκε φτάνοντας στα προηγούμενα επίπεδα. Οι αλλαγές στο χρόνο παραμονής δε φαίνεται να επηρεάζουν σημαντικά την συγκέντρωση των λιπαρών πτητικών οξέων στον βιοαντιδραστήρα. Η συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της οξεογένεσης, ιδιαίτερα της παραγωγής οξικού οξέος και της παραγωγής υδρογόνου και μεθανίου φαίνεται καθαρά, αφού η συγκέντρωση του οξικού οξέος στον αντιδραστήρα είναι ανάλογη με την παραγωγή υδρογόνου και αντιστρόφως ανάλογη με την παραγωγή μεθανίου. Τις τελευταίες 5 ημέρες όμως παρόλο που η συγκέντρωση του οξικού και του βουτυρικού

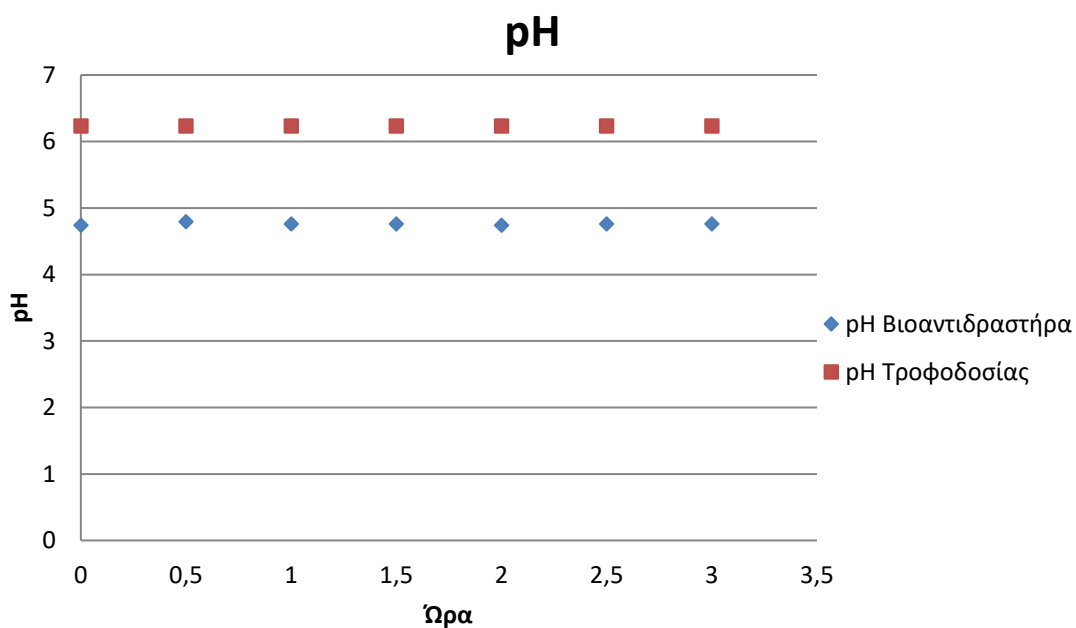


οξέος αυξάνεται, το ποσοστό του υδρογόνου μειώνεται σημαντικά και τελικά γίνεται σχεδόν μηδενικό.

### 6.2.1 Κινητική μελέτη για χρόνο παραμονής 3 ώρες

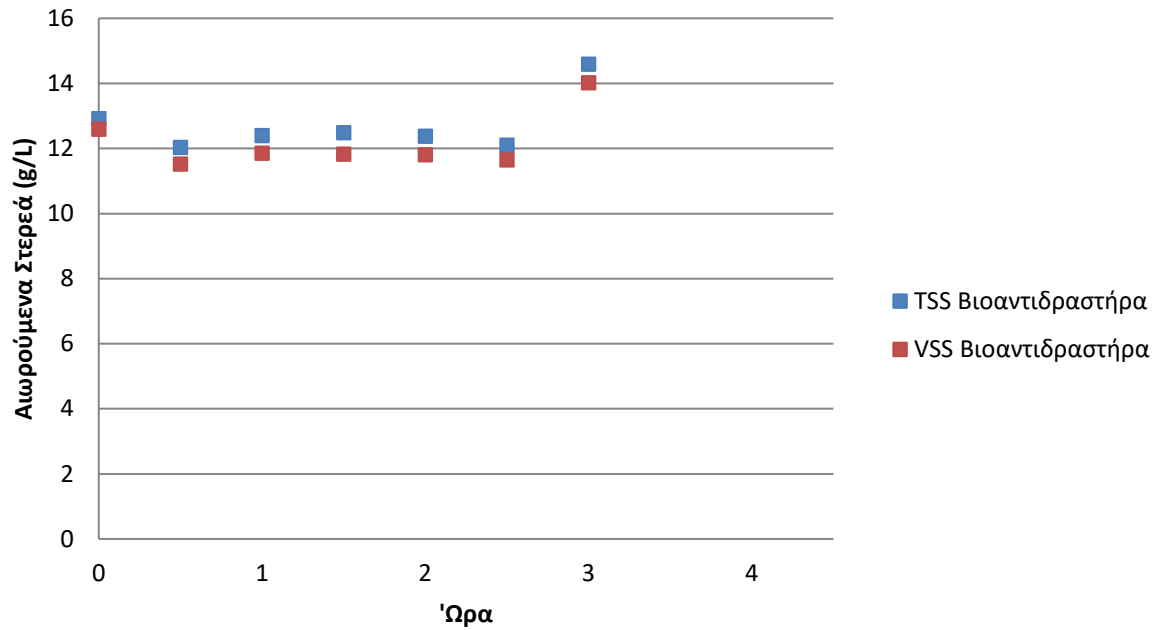


Διάγραμμα 51: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες



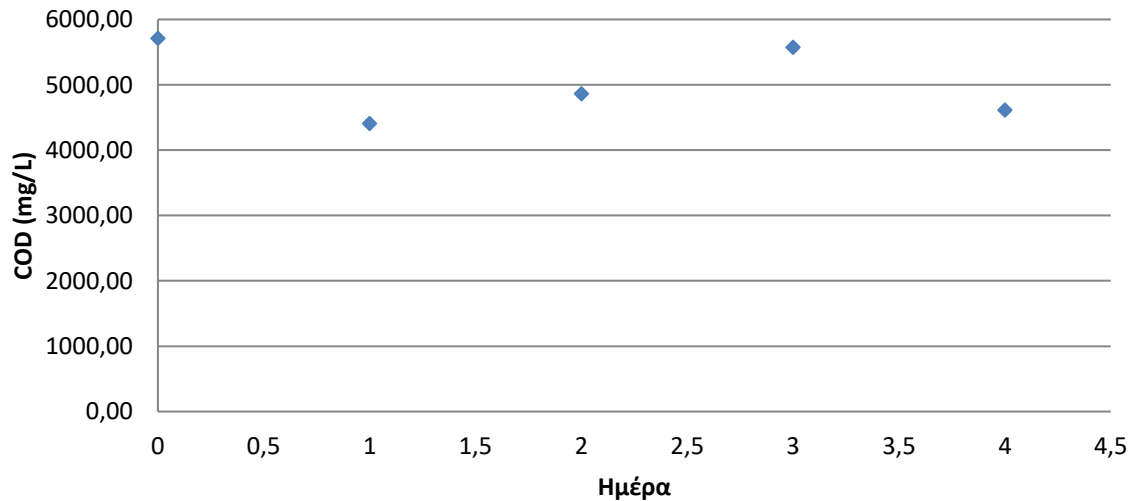
Διάγραμμα 52: pH του βιοαντιδραστήρα και της τροφοδοσίας κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

## Αιωρούμενα Στερεά Βιοαντιδραστήρα

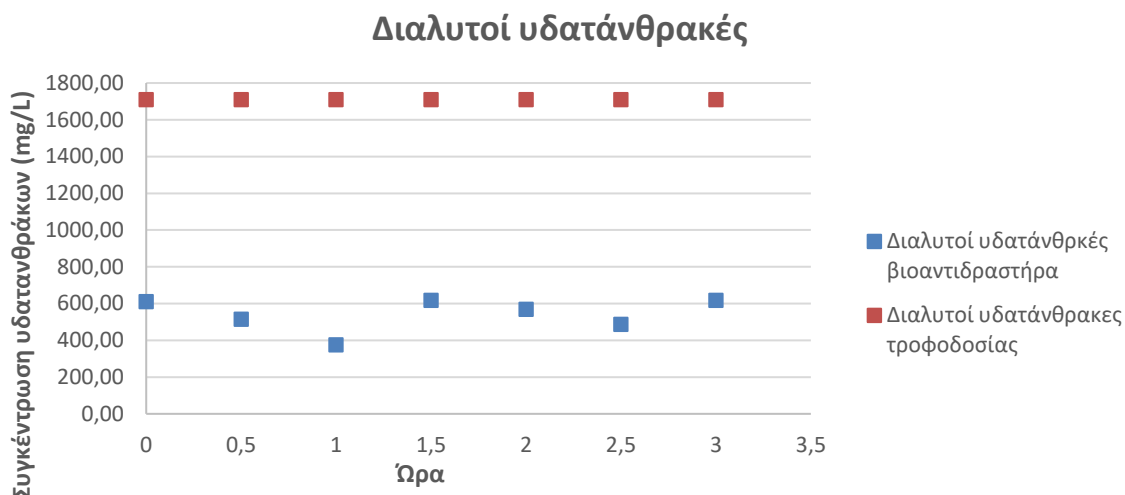


Διάγραμμα 53: Ολικά και Πτητικά αιωρούμενα στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειραματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

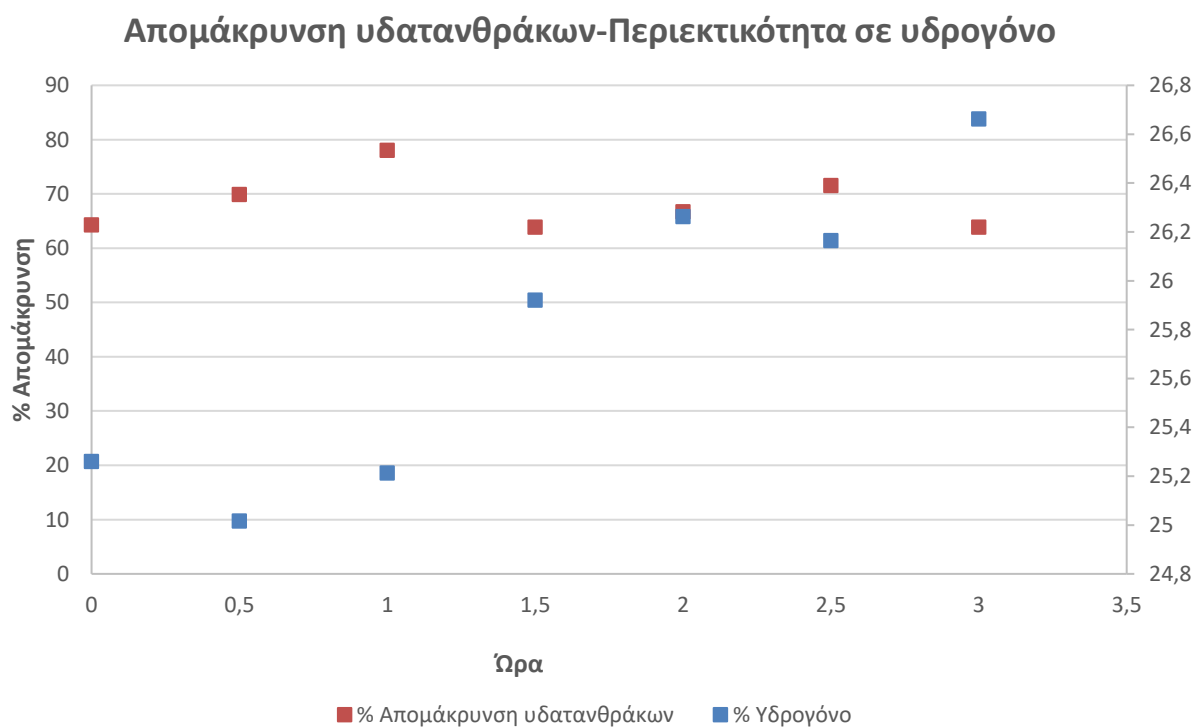
## Διαλυτό COD βιοαντιδραστήρα



Διάγραμμα 54: Διαλυτό COD στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

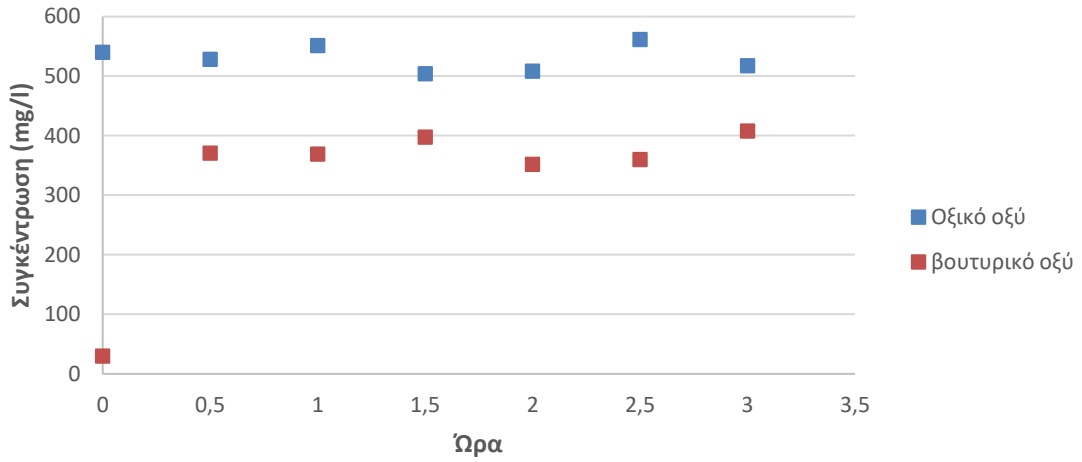


Διάγραμμα 55: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες



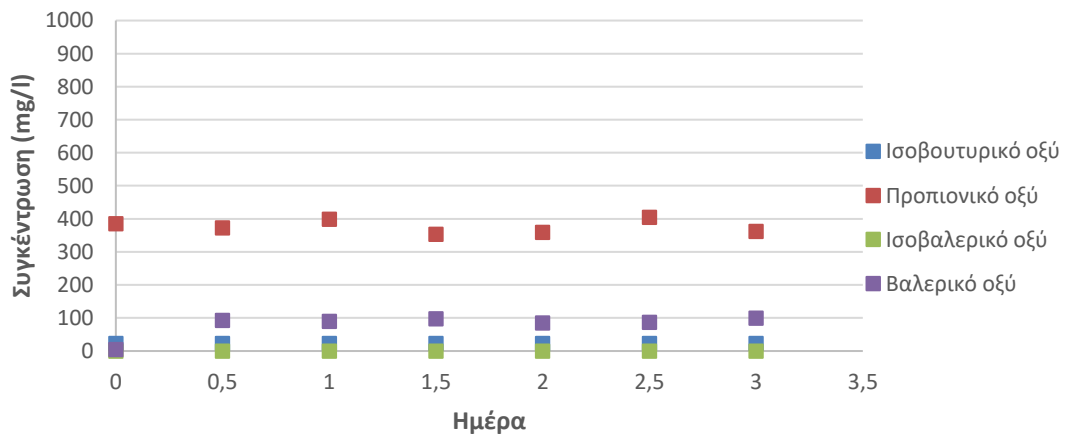
Διάγραμμα 56: Συσχέτιση απομάκρυνσης υδατανθράκων με το ποσοστό του υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος



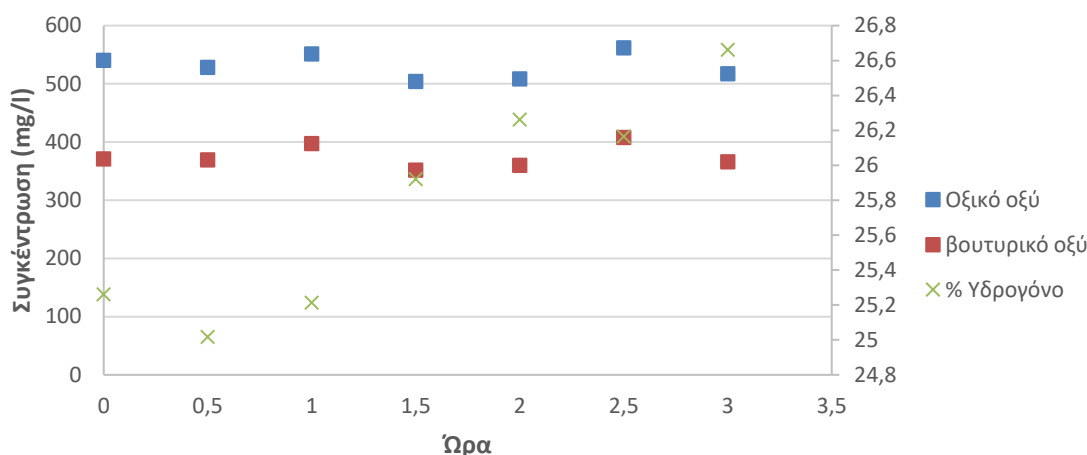
Διάγραμμα 57: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

### Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος



Διάγραμμα 58: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού και βαλερικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος- Περιεκτικότητα σε υδρογόνο



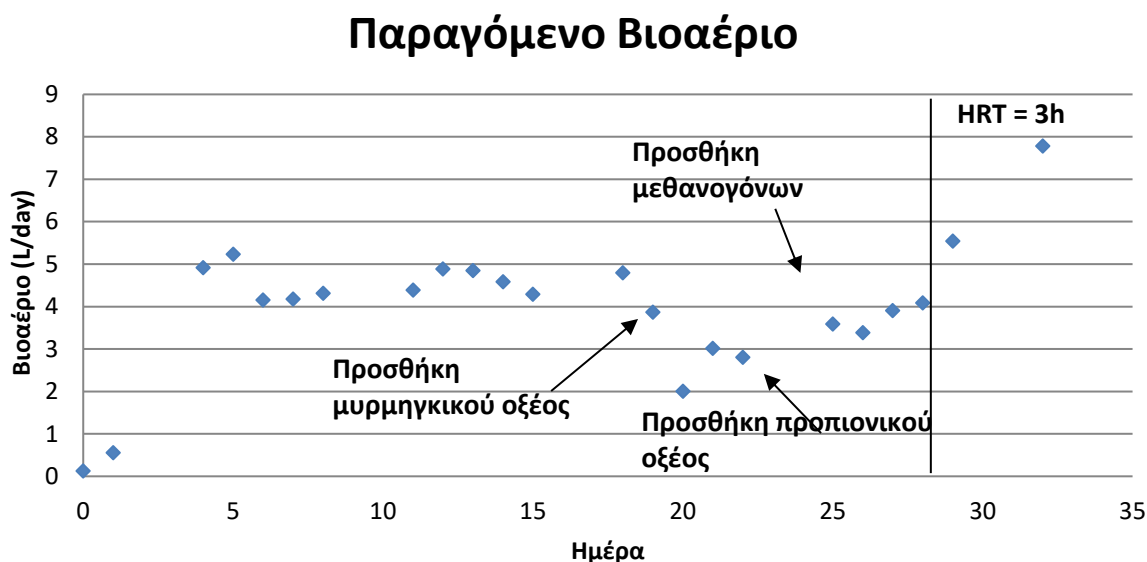
Διάγραμμα 59: Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό βιουδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής με χρόνο παραμονής 3 ώρες

Από τα δεδομένα του πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση που έχει στην παραγωγή βιοαερίου και την περιεκτικότητα του σε υδρογόνο η λειτουργία του συστήματος σαν διεργασία περιοδικής πλήρωσης και απορροής.

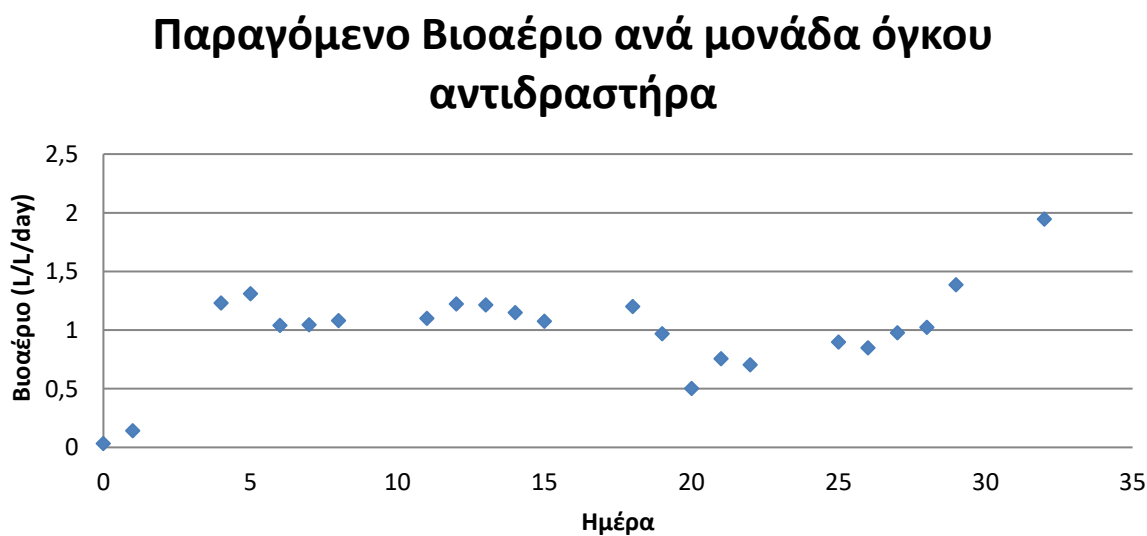
## 7. Τρίτος πειραματικός κύκλος λειτουργείας

Ο τρίτος πειραματικός κύκλος λειτουργείας διήρκησε 32 ημέρες. Η διεργασία ήταν συνεχούς έργου με χρόνο παραμονής 6h και οργανική φόρτιση  $15 \frac{g \text{ στερεών}}{L \text{ τροφοδοσίας}}$ . Για τον εμβολιασμό του συστήματος λήφθηκε δείγμα ενεργού ιλύος από τη δεξαμενή αερόβιας επεξεργασίας λυμάτων της Μονάδας Επεξεργασίας Λυμάτων Μεταμόρφωσης. Στην συνέχεια η ιλύς υπέστη θερμική επεξεργασία. Πιο συγκεκριμένα 4 L ιλύος (όσο και ο όγκος του αντιδραστήρα) τοποθετήθηκαν σε λουτρό θερμοκρασίας 100 °C για χρόνο 30 min. Η θερμική επεξεργασία έγινε με σκοπό τη θανάτωση των μικροοργανισμών χρηστών υδρογόνου και των μεθανογόνων μικροοργανισμών. Στη συνέχεια το εμβόλιο το οποίο περιείχε τους υδρογονοπαραγωγούς μικροοργανισμούς τοποθετήθηκε στον αντιδραστήρα και η διεργασία ξεκίνησε απευθείας σαν συνεχούς λειτουργείας. Στην διάρκεια του πειραματικού κύκλου ο αντιδραστήρας ενέθηκε με προπιονικό και μυρμηγκικό οξύ καθώς και με καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών (οι οποίοι λήφθηκαν από αντιδραστήρα παραγωγής μεθανίου του εργαστηρίου Οργανικής Χημικής Τεχνολογίας), έτσι ώστε να μελετηθεί η επίδραση τους στην παραγωγή βιοαερίου και την σύστασή του σε υδρογόνο και μεθάνιο.. Τέλος τις τελευταίες τρεις ημέρες ο χρόνος παραμονής της διεργασίας μειώθηκε στις 3 ώρες με σκοπό την μελέτη της επίδρασης του χρόνου παραμονής στην ποσότητα του παραγόμενου αερίου και την σύσταση του καθώς και τη χρήση των δεδομένων που εξάχθηκαν για την μελέτη της κινητικής της διεργασίας.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται οι παρακολουθούμενες παράμετροι στο εσωτερικό του αντιδραστήρα αλλά και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια του πρώτου πειραματικού κύκλου.

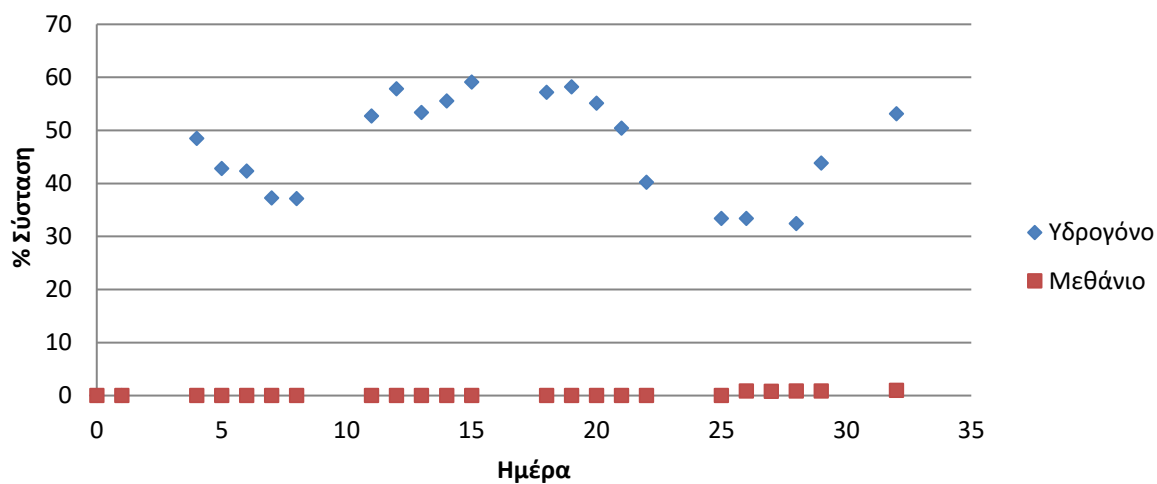


Διάγραμμα 60: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ώρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας



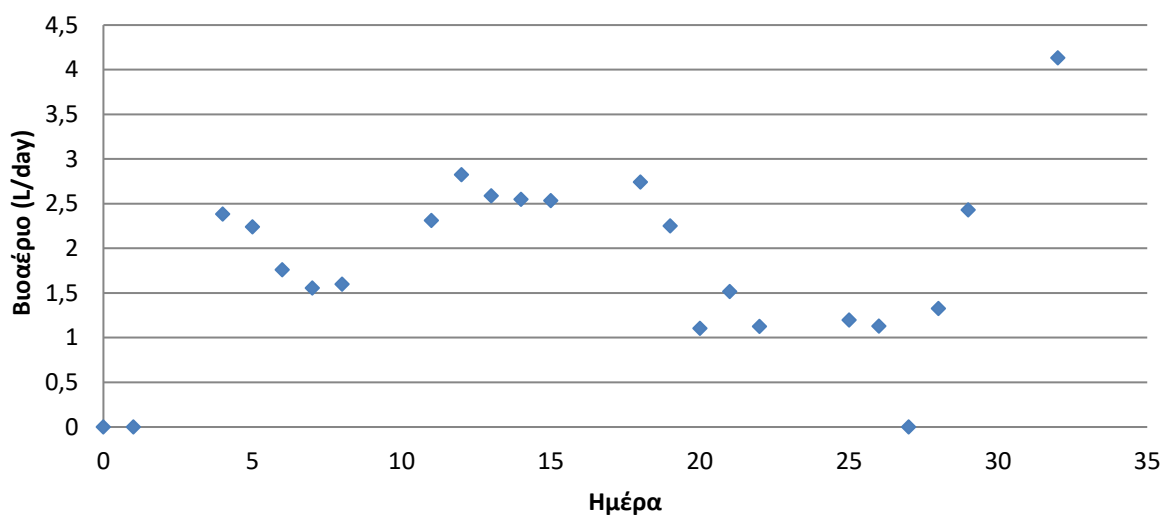
Διάγραμμα 61: Παραγόμενο βιοαέριο ανά μονάδα όγκου αντιδραστήρα ανά ώρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας

## Σύσταση Παραγόμενου Βιοαερίου

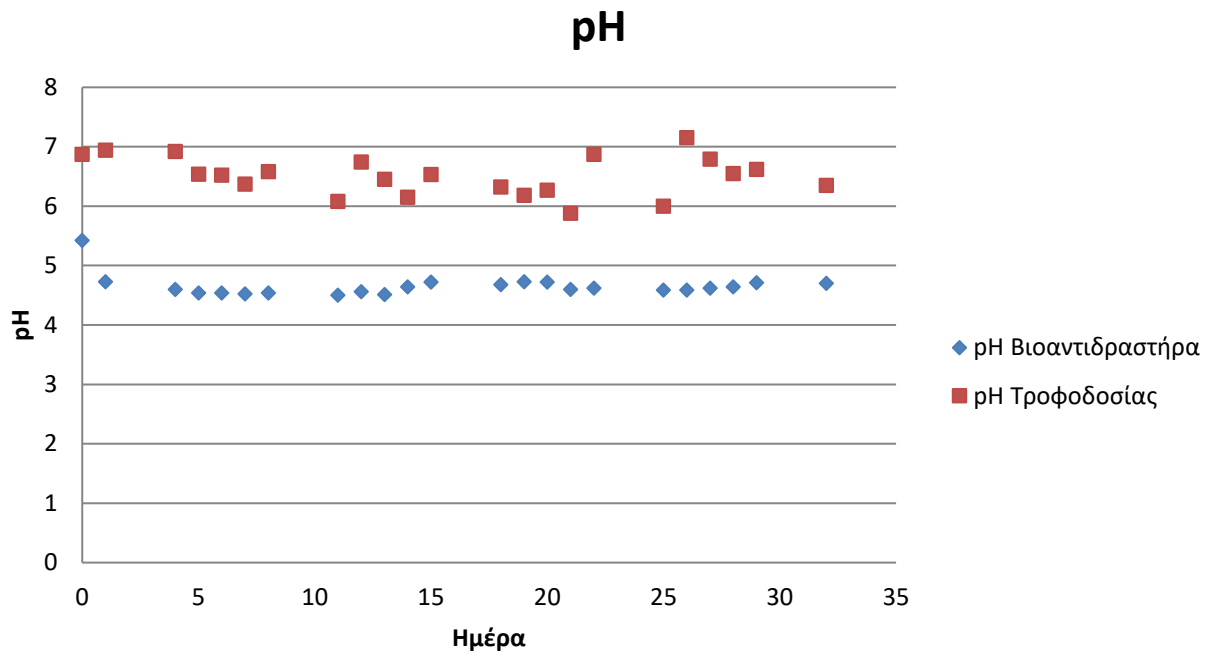


Διάγραμμα 62: Σύστασή του παραγόμενου βιοαερίου κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας

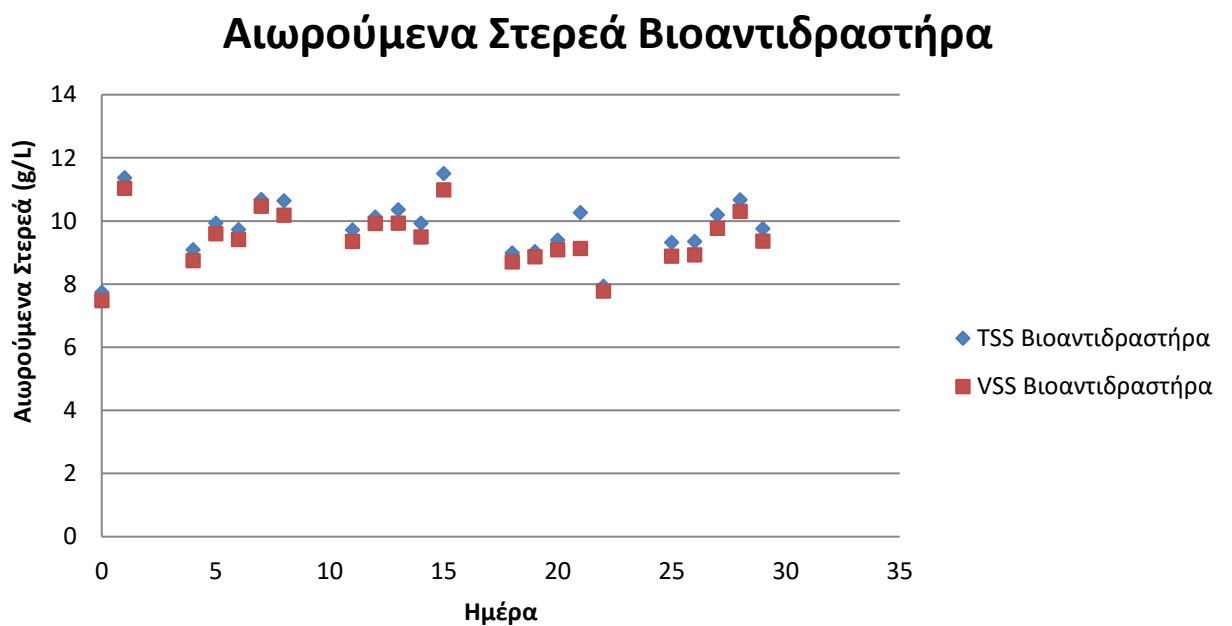
## Παραγόμενο Βιοϋδρογόνο



Διάγραμμα 63: Παραγόμενο βιοϋδρογόνο ανα ημέρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας



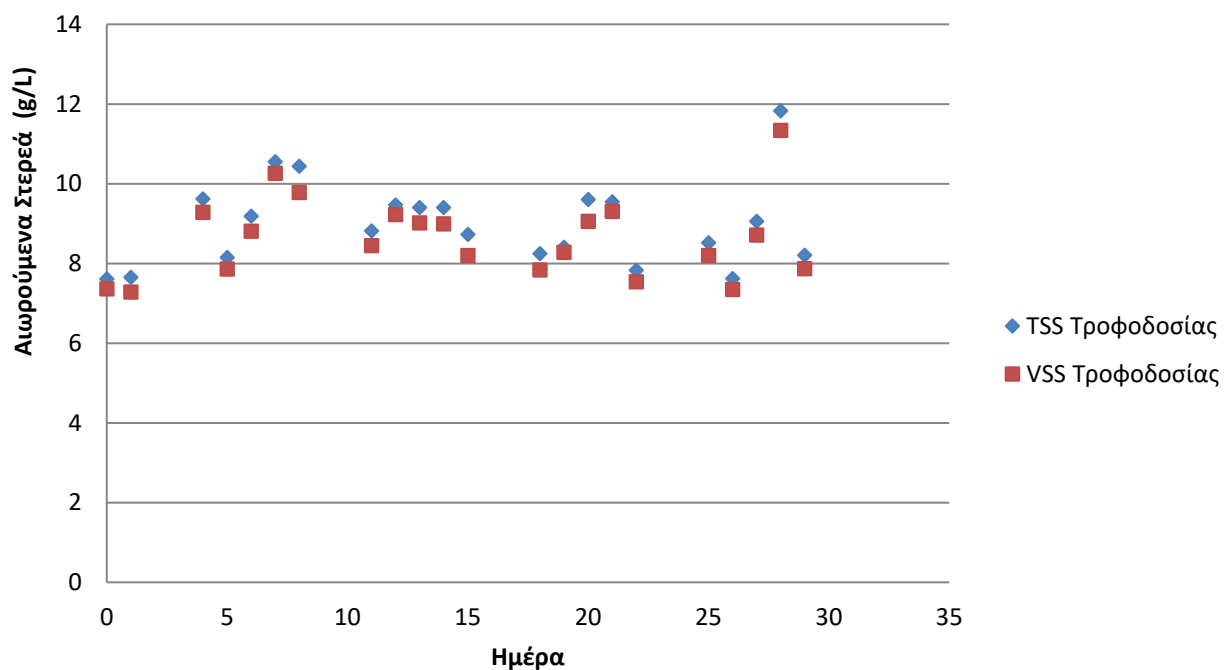
Διάγραμμα 64: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας



Διάγραμμα 65: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά στον βιοαντιδραστήρα κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας

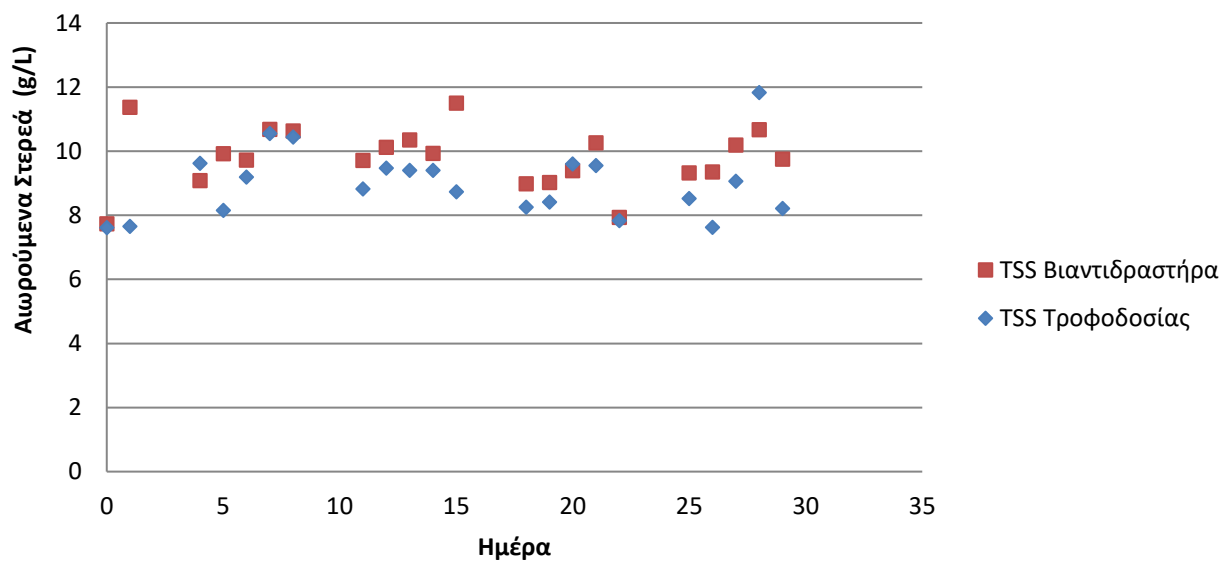


## Αιωρούμενα Στερεά Τροφοδοσίας



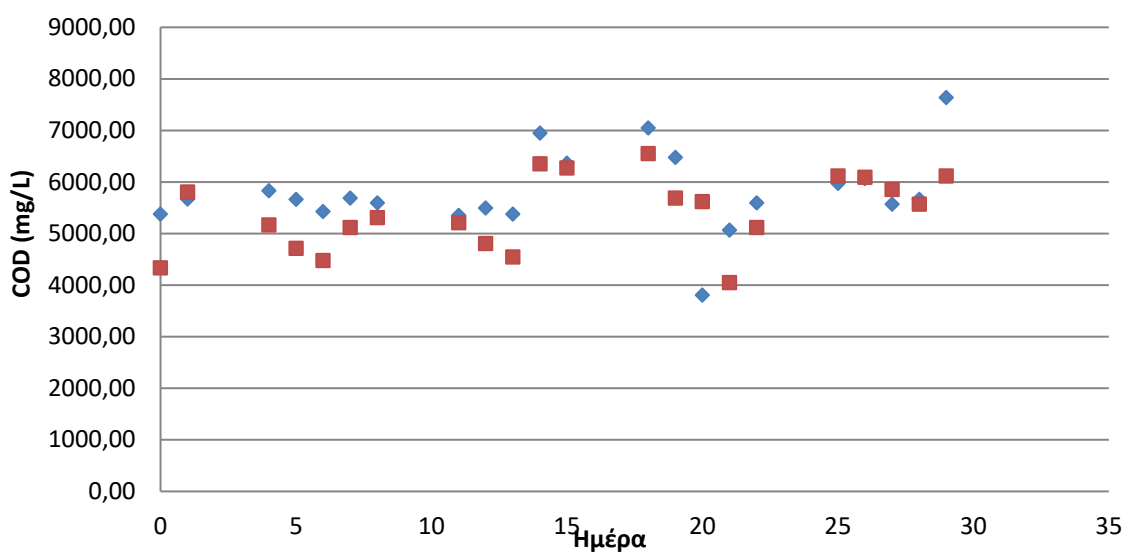
Διάγραμμα 66: Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας

## Ολικά Αιωρούμενα Στερεά



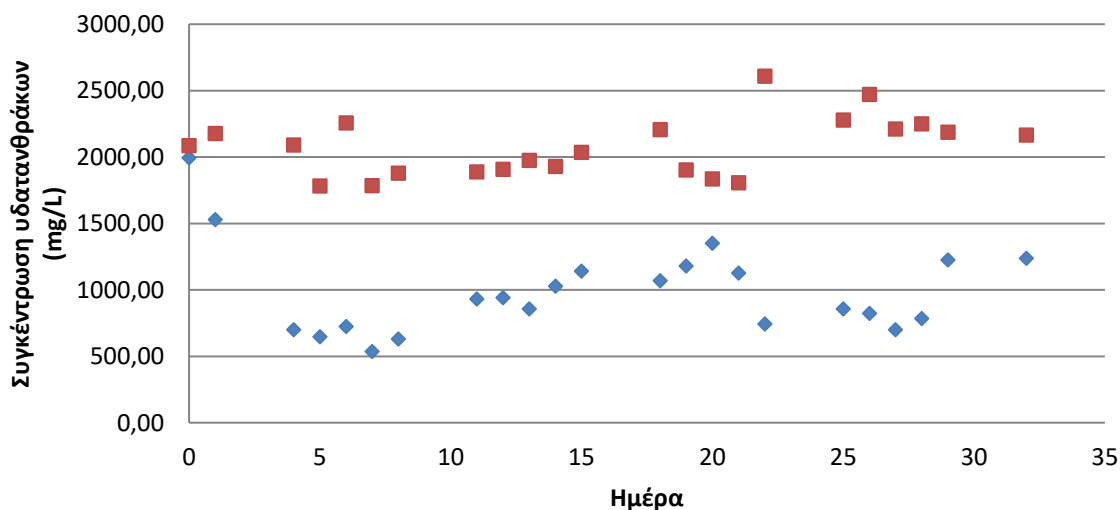
Διάγραμμα 67: Σύγκριση Ολικών Αιωρούμενων Στερεών στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας

## Διαλυτό COD



Διάγραμμα 68: Διαλυτό COD στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα και στη τροφοδοσία κατά τον τρίτο κύκλο λειτουργίας της διεργασίας

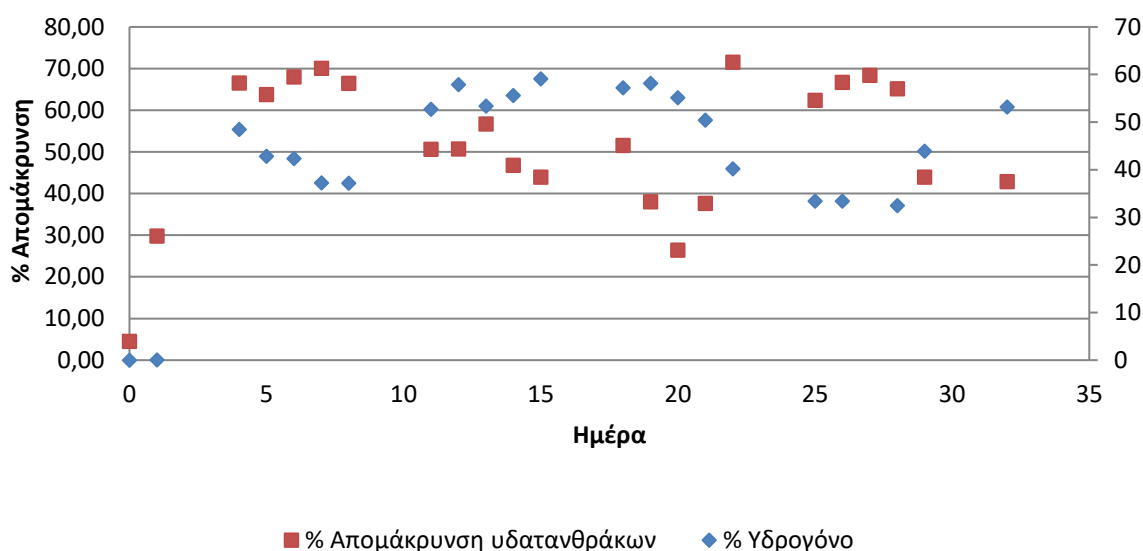
## Διαλυτοί Υδατάνθρακες



◆ Διαλυτοί υδατάνθρακες βιοαντιδραστήρα    ■ Διαλυτοί υδατάνθρακες τροφοδοσίας

Διάγραμμα 69: Συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων στον βιοαντιδραστήρα και στην τροφοδοσία κατά την διάρκεια του τρίτου κύκλου λειτουργίας της διεργασίας

## Απομάκρυνση υδατανθράκων-Ποσοστό υδρογόνου στο βιοαέριο



Διάγραμμα 70: Συσχέτιση της απομάκρυνσης υδατανθράκων με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια του τρίτου κύκλου λειτουργίας της διεργασίας

Από τα διαγράμματα για τον τρίτο κύκλο λειτουργίας γίνεται εμφανές ότι η παραγωγή του βιοαερίου παρουσίασε κάποιες διακυμάνσεις με τιμές ανάμεσα στα 4 και 5 L ανά ημέρα. Μετά την προσθήκη του μυρμηγκικού και του προπιονικού οξέος η παραγωγή μειώθηκε στα 3 L ανά ημέρα αλλά η προσθήκη των μεθανογόνων συνετέλεσε στην αύξηση της παραγωγής στα 4 L ανά ημέρα. Με την μείωση του χρόνου παραμονής στις 3 ώρες η παραγωγή έφτασε στα 8 L ανά ημέρα.

Η αρχική σύσταση του βιοαερίου ήταν 50% υδρογόνο ενώ δεν υπήρχε σε αυτό μεθάνιο. Η περιεκτικότητα του υδρογόνου ακολούθησε την πορεία της παραγωγής βιοαερίου φτάνοντας μέχρι και το 60% υδρογόνο. Μετά την προσθήκη του μυρμηγκικού οξέος την 19 ημέρα η περιεκτικότητα σε υδρογόνο εμφάνισε μείωση φτάνοντας λίγο πάνω από το 30%. Η μείωση του χρόνου παραμονής είχε ευεργετική επίπτωση στην παραγωγή υδρογόνου καθώς μέσα σε 3 ημέρες η περιεκτικότητα αυξήθηκε στα αρχικά επίπεδα ( περίπου 55%). Ο εμβολιασμός με την καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών συντέλεσε την αύξηση του ποσοστού του μεθανίου στο παραγόμενο βιοαέριο το οποίο, όμως δεν υπερέβη το 1%.

Σε όλη την διάρκεια των 70 ημερών το pH τόσο της τροφοδοσίας παρέμεινε σε σταθερή τιμή ανάμεσα στο 7 και το 6. Το pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα ήταν σταθερό σε όλη την διάρκεια του πειραματικού κύκλου μένοντας στο 5,5 και δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη των δύο λιπαρών οξέων και τον εμβολιασμό με την καλλιέργεια των μεθανογόνων μικροοργανισμών. Από την βιβλιογραφία τέτοιες τιμές εμφανίζονται ως ιδανικές για την βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

Τα ολικά στερεά σε όλη την διάρκεια του πειραματικού κύκλου παρουσιάζουν σταθερή συγκέντρωση τόσο στην τροφοδοσία (10 g/L) όσο και στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα

(10 g/L). Ακόμη τα πτητικά στερεά και στις δύο περιπτώσεις (τροφοδοσία, βιοαντιδραστήρας) αποτελούν σχεδόν το σύνολο των ολικών στερεών, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πλειονότητα των στερεών αποτελούνται από οργανικές ενώσεις. Η διαφορά στην συγκέντρωση των στερεών μεταξύ της τροφοδοσίας και του εσωτερικού του βιοαντιδραστήρα υποδηλώνει την ύπαρξη και την ανάπτυξη της βιομάζας.

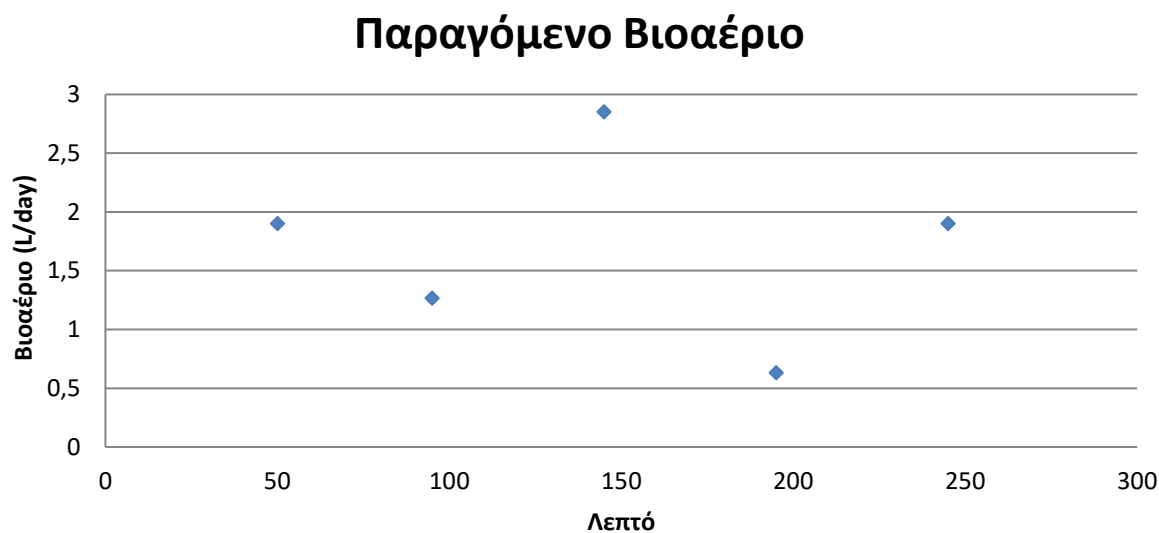
Το διαλυτό COD της τροφοδοσίας παρουσίασε μια διακύμανση στα 5000 με 6000 mg/L. Το διαλυτό COD στο εσωτερικό του αντιδραστήρα κυμαίνεται από 6000-7000 mg/L. Οι μεγαλύτερες τιμές COD στο εσωτερικό του αντιδραστήρα οφείλονται στο γεγονός ότι στην διεργασία συμβαίνει υδρόλυση των αδιάλυτων στερεών και έτσι αυξάνεται η συγκέντρωση των διαλυτών οργανικών.

Οι διαλυτοί υδατανθρακες της τροφοδοσίας είχαν σταθερή συγκέντρωση κοντά στα 2000 mg/L. Στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα η συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων ήταν πολύ μικρότερη και κυμαίνονταν από τα 500 mg/L έως σχεδόν τα 1500 mg/L. Η απομάκρυνση των υδατανθράκων στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα ήταν σχετικά καλή και έφτανε το 70% για πολλές ημέρες ενώ δεν έπεσε ποτέ κάτω από το 30%. Η περιεκτικότητα σε υδρογόνο του παραγόμενου βιοαερίου σχετίζεται με την απομάκρυνση των υδατανθράκων καθώς είναι σχεδόν ανάλογες.

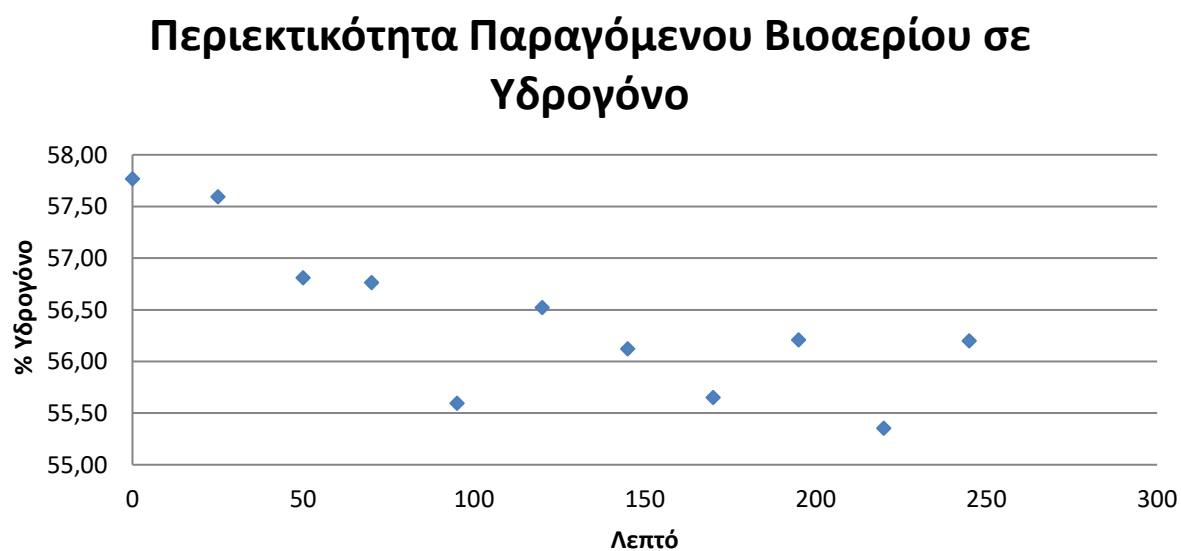
Τα πτητικά λιπαρά οξέα μπορούν να χωριστούν ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους: Στο οξικό οξύ όπου η συγκέντρωση ήταν σταθερή στα 400mg/L και στο βουτυρικό οξύ που παρουσίασε διακύμανση μεταξύ των 200-880 mg/L. Η συγκέντρωση του βαλερικού, του ισοβαλερικού, του ισοβουτυρικού και του προπιονικού είναι είτε μηδενική είτε πολύ μικρή (>300 mg/L). Η προσθήκη του μυρμηγκικού οξέος επηρέασε την συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος συμβάλλοντας στην μείωση της στα 200 mg/L. Στην συνέχεια η συγκέντρωση του επανήλθε στα προηγούμενα επίπεδα (πριν την προσθήκη των λιπαρών οξέων). Η συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της οξεογένεσης, ιδιαίτερα της παραγωγής οξικού οξέος και της παραγωγής υδρογόνου και μεθανίου φαίνεται καθαρά, αφού η συγκέντρωση του οξικού οξέος στον αντιδραστήρα είναι ανάλογη με την παραγωγή υδρογόνου και αντιστρόφως ανάλογη με την παραγωγή μεθανίου.

## 7.1 Προσθήκη μυρμηγκικού οξέος

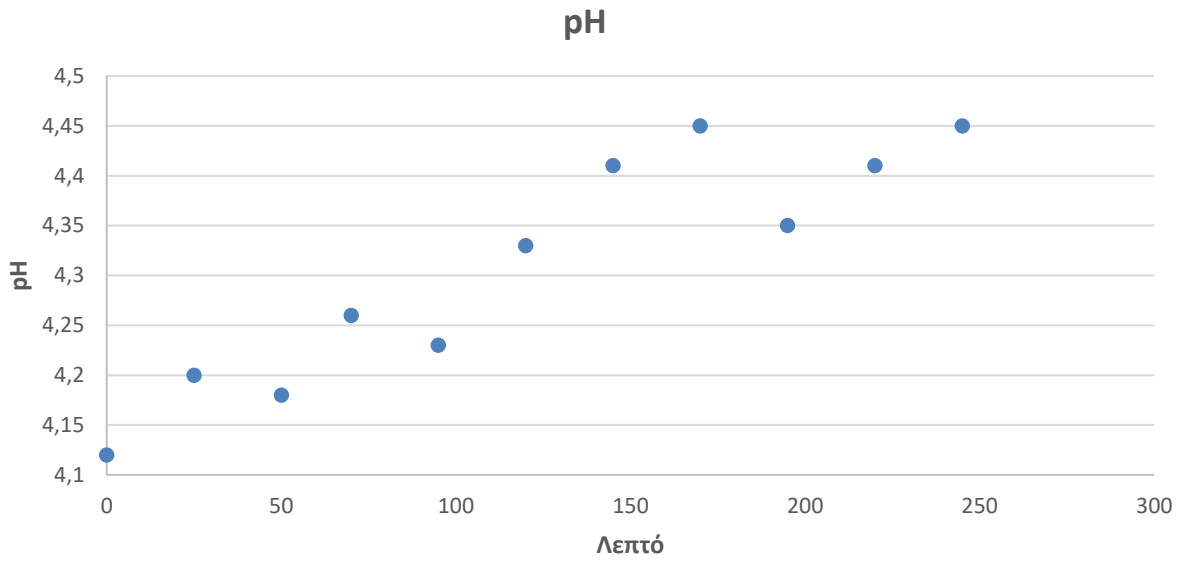
Παρακάτω φαίνονται οι μεταβολές στις παρακολουθούμενες παραμέτρους αμέσως μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος στην διεργασία.



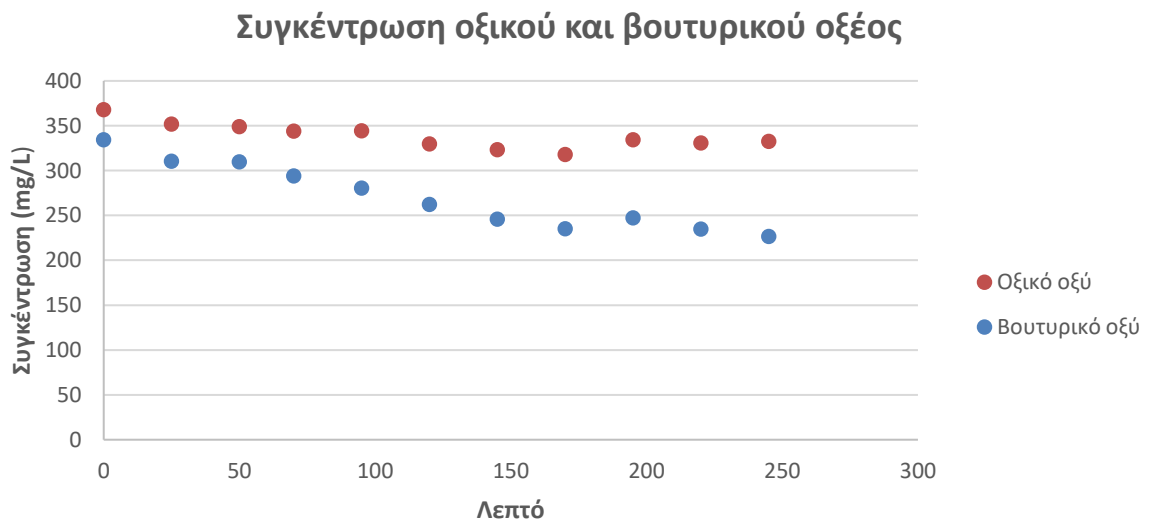
Διάγραμμα 71: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος



Διάγραμμα 72: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος

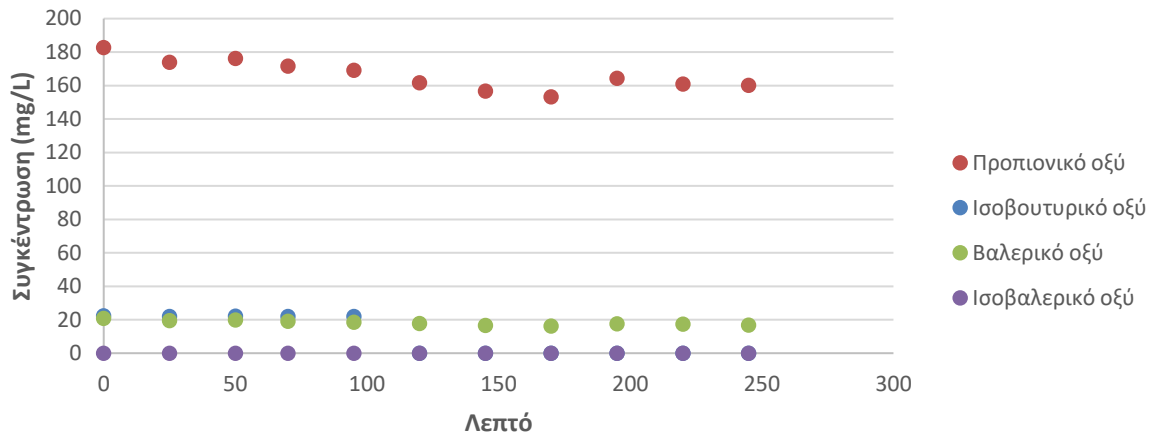


Διάγραμμα 73: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μωρμηγικού οξέος



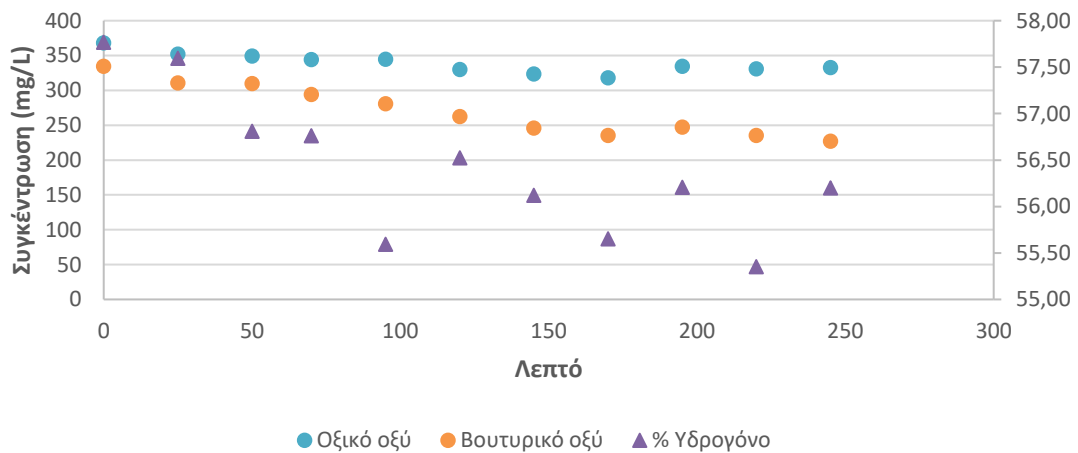
Διάγραμμα 74: Συγκέντρωση βουτυρικού και οξικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μωρμηγικού οξέος

### Συγκέντρωση προπιονικού, ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος



Διάγραμμα 75: Συγκέντρωση προπιονικού, ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος

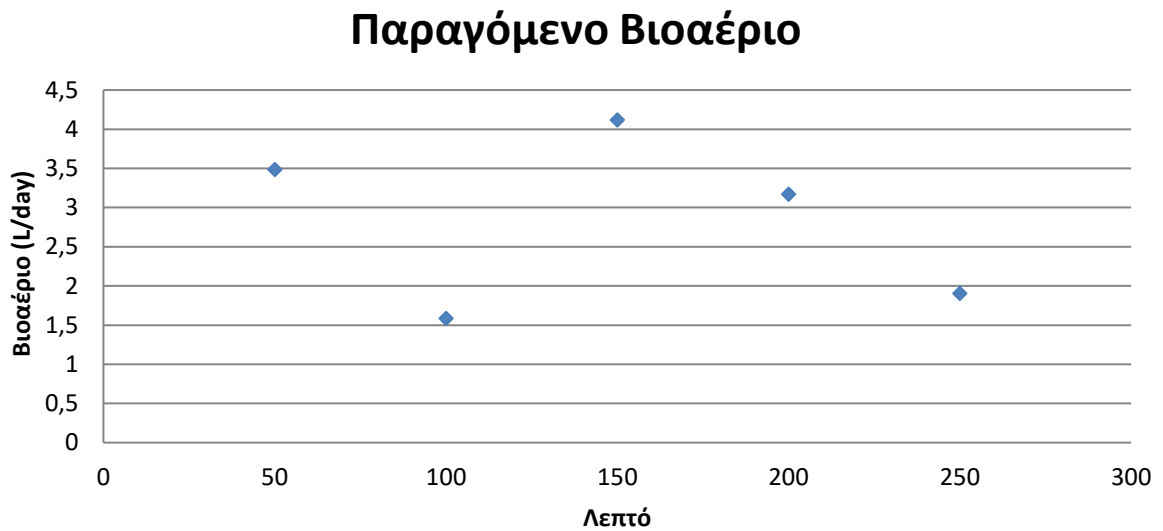
### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος-Ποσοστό υδρογόνου στο βιοαέριο



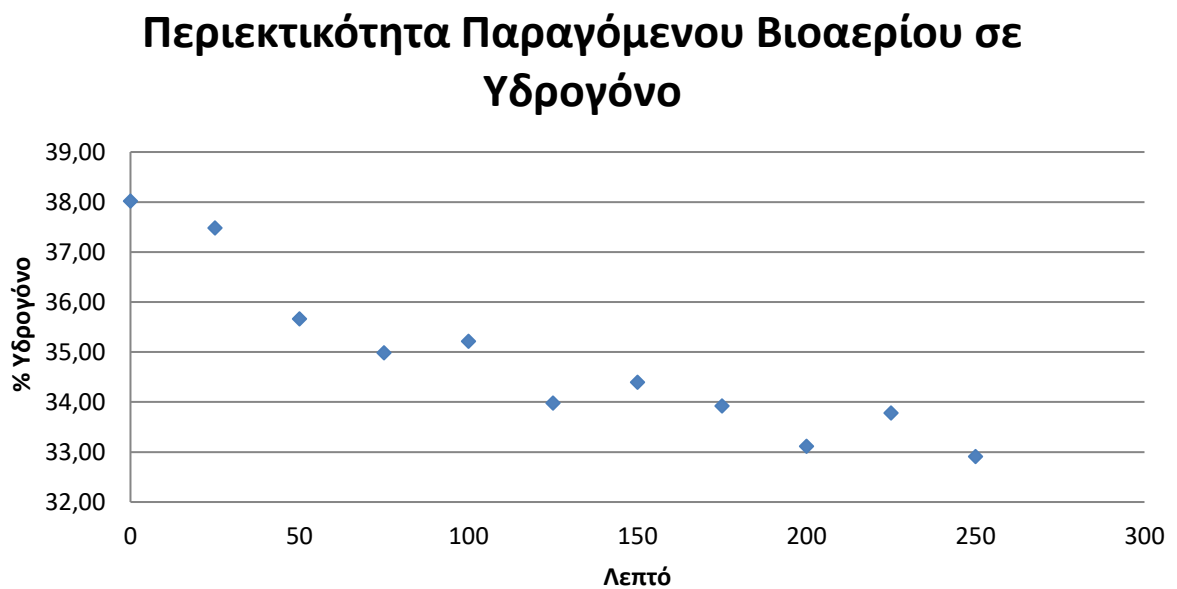
Διάγραμμα 76: Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη μυρμηγκικού οξέος

Οι μεταβολές που παρατηρούνται είναι τόσο μικρές που δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση που έχει στο σύστημα η προσθήκη μυρμηγκικού οξέος.

## 7.2 Προσθήκη προπιονικού οξέος

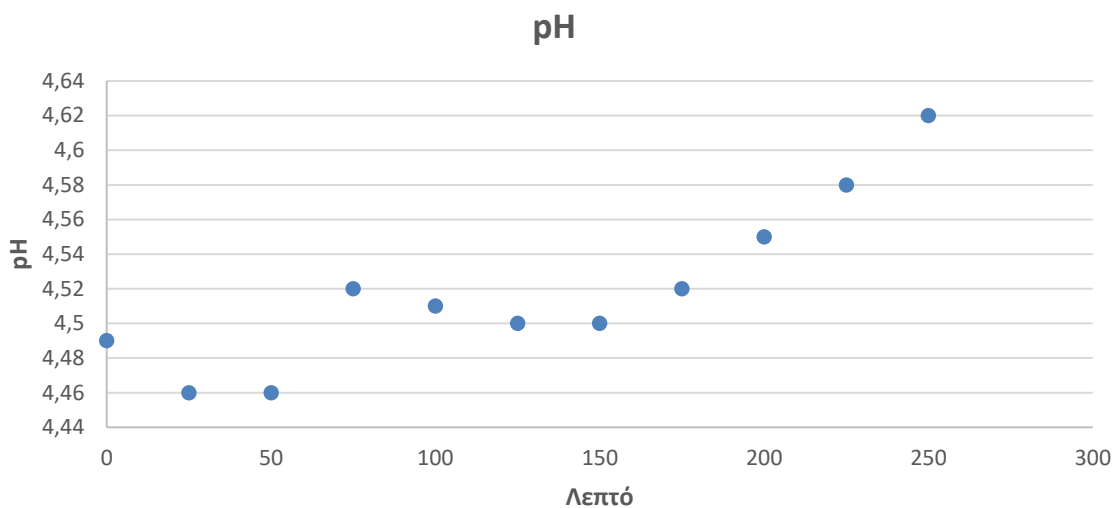


Διάγραμμα 77: Παραγόμενο βιοαέριο ανά ημέρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος

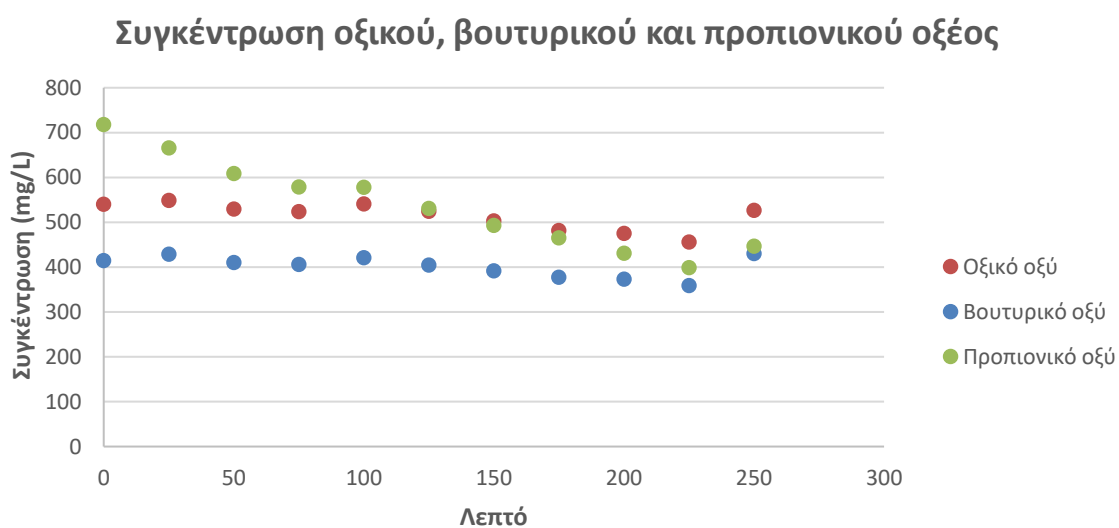


Διάγραμμα 78: Σύσταση παραγόμενου βιοαερίου κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος



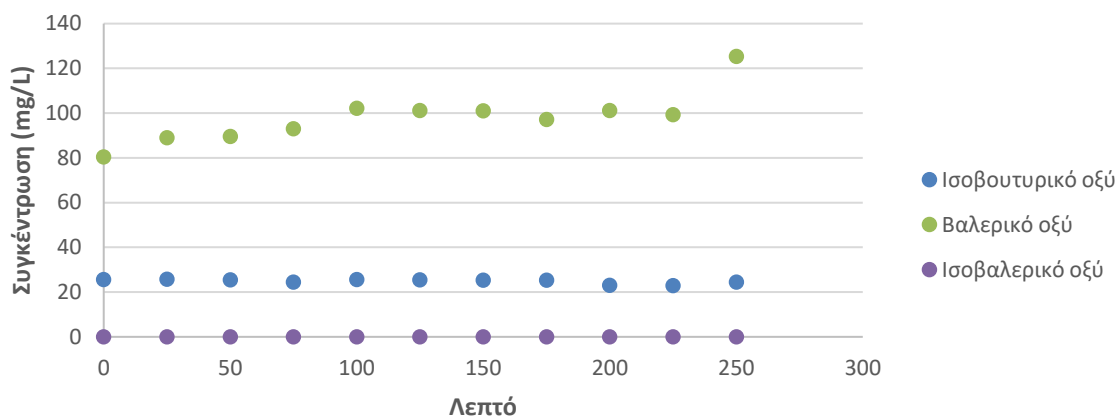


Διάγραμμα 79: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος



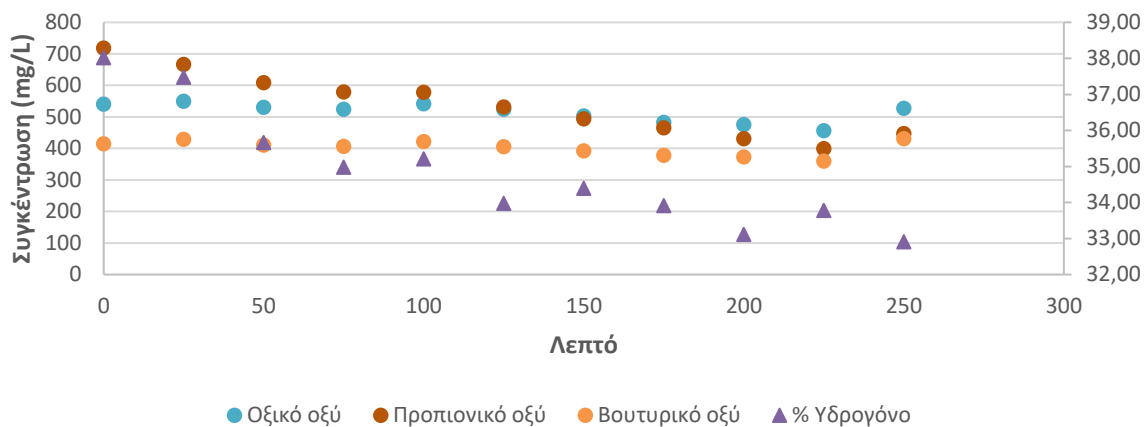
Διάγραμμα 80: Συγκέντρωση οξικού, βουτυρικού και προπιονικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος

### Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος



Διάγραμμα 81: Συγκέντρωση ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος

### Συγκέντρωση οξικού, προπιονικού και βουτυρικού οξέος- Ποσοστό υδρογόνου στο βιοαέριο

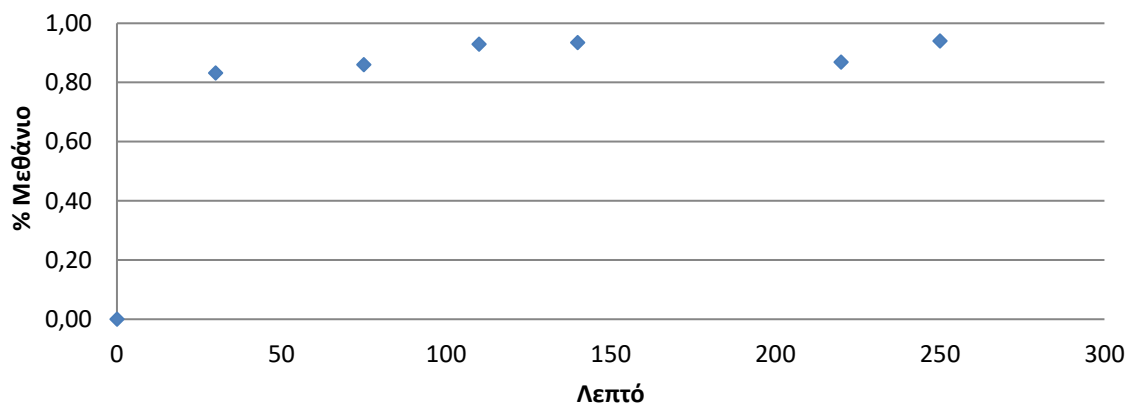


Διάγραμμα 82: Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού, βουτυρικού και προπιονικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά την προσθήκη προπιονικού οξέος

Οι μεταβολές που παρατηρούνται είναι τόσο μικρές που δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση που έχει στο σύστημα η προσθήκη προπιονικού οξέος. Φαίνεται όμως ότι το σύστημα καταφέρνει πολύ γρήγορα να απομακρύνει την περίσσεια του προπιονικού, μειώνοντας τη συγκέντρωση από 700 σε 400 mg/L μέσα σε τέσσερις ώρες.

### 7.3 Εμβολιασμός με καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών

#### Περιεκτικότητα Παραγόμενου Βιοαερίου σε Μεθάνιο

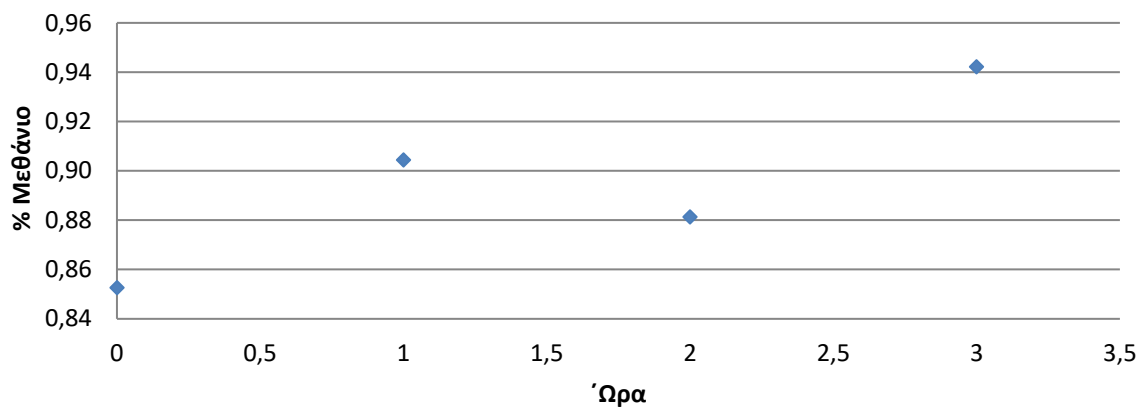


Διάγραμμα 83: Περιεκτικότητα παραγόμενου βιοαερίου σε μεθάνιο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής μετά τον εμβολιασμό του βιοαντιδραστήρα με καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών

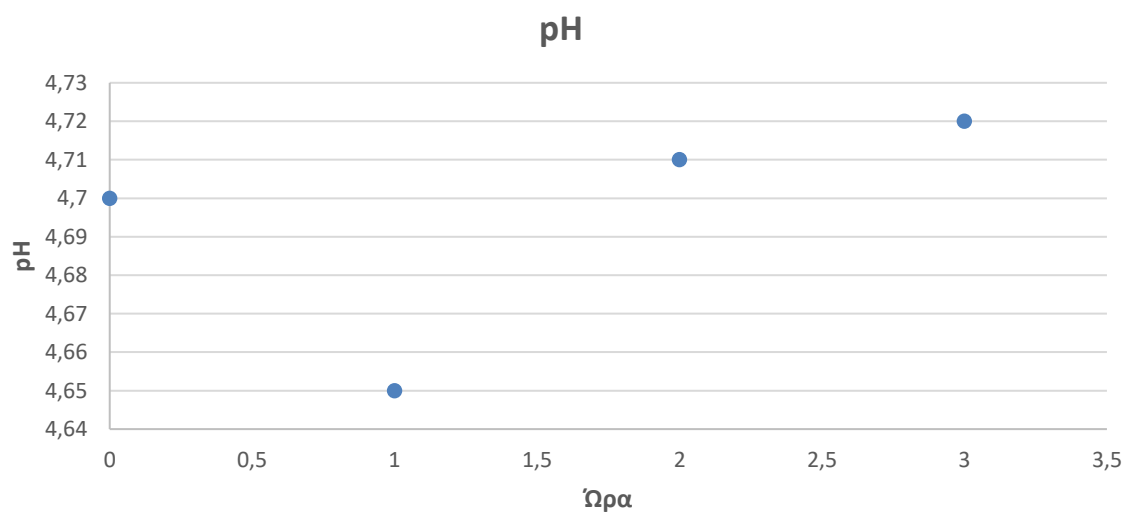
Η αύξηση του ποσοστού του μεθανίου στο παραγόμενο βιοαέριο είναι πολύ μικρή, όμως καθίσταται φανερό ότι από την στιγμή που η διεργασία προσβληθεί με μεθανογόνους μικροοργανισμούς, αρχίζει να παράγεται μεθάνιο.

## 7.4 Κινητική μελέτη για χρόνο παραμονής 3 ώρες

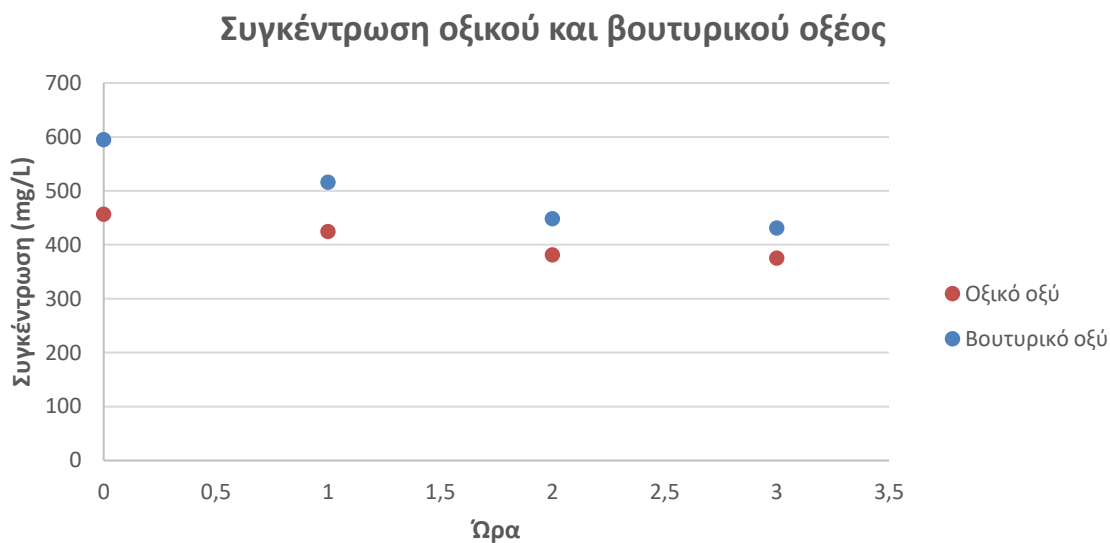
### Περιεκτικότητα Παραγόμενου Βιοαερίου σε Μεθάνιο



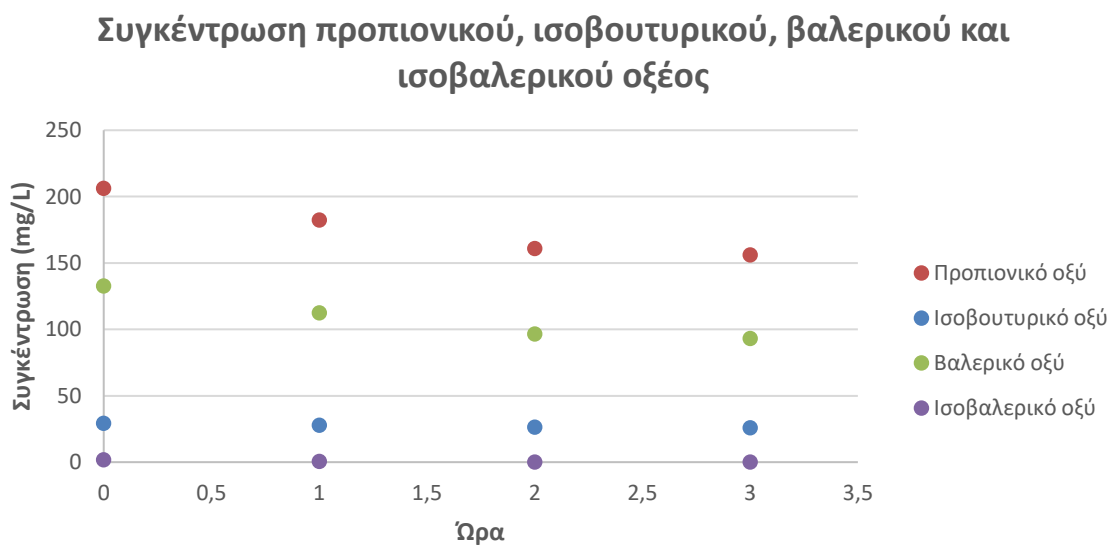
Διάγραμμα 84: Ποσοστό μεθανίου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες



Διάγραμμα 85: pH στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

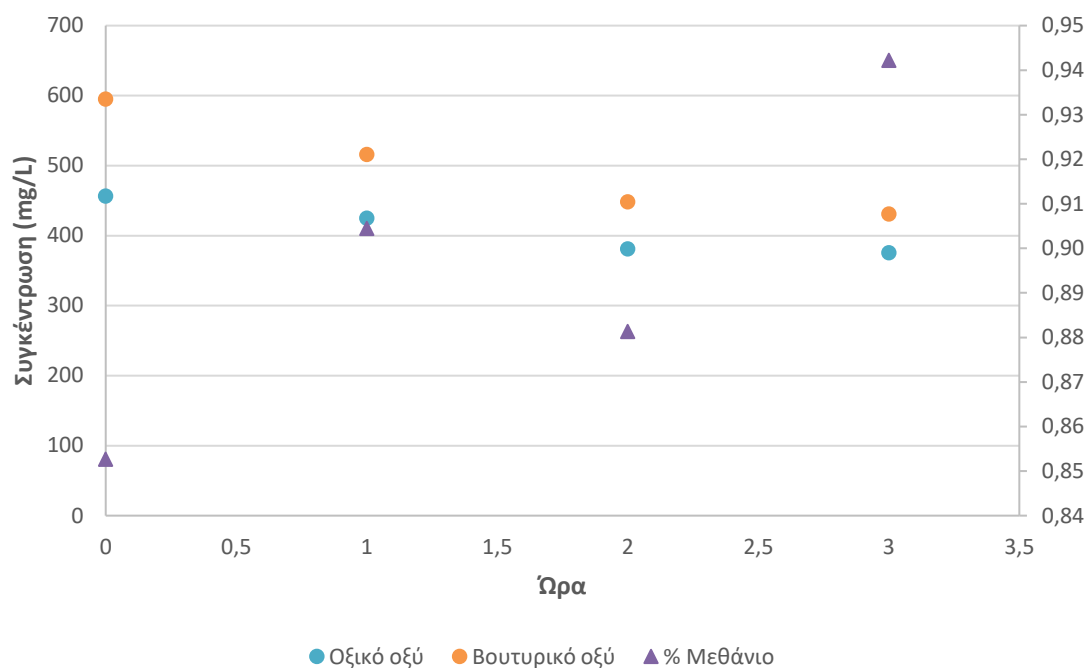


Διάγραμμα 86: Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες



Διάγραμμα 87: Συγκέντρωση προπιονικού, ισοβουτυρικού, βαλερικού και ισοβαλερικού οξέος κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

### Συγκέντρωση οξικού και βουτυρικού οξέος-Ποσοστό μεθανίου στο βιοαέριο



Διάγραμμα 88 Συσχέτιση της συγκέντρωσης οξικού και βουτυρικού οξέος στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα με το ποσοστό υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο κατά την διάρκεια πειράματος κινητικής για χρόνο παραμονής 3 ώρες

Οι μεταβολές που παρατηρούνται είναι τόσο μικρές που δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επίδραση που έχει στο σύστημα η μείωση του χρόνου παραμονής στις 3 ώρες. Μια παρατήρηση που μπορεί να γίνει είναι το γεγονός ότι μετά τον εμβολιασμό με καλλιέργεια μεθανογόνων μικροοργανισμών, η αύξηση του ποσοστού του μεθανίου στο παραγόμενο βιοαέριο δεν μπορεί να ανασχεθεί.

## 8. Συμπεράσματα-Προτάσεις

Ο βασικός στόχος της πειραματικής μελέτης που έγινε στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ήταν η διερεύνηση της καταλληλότητας και της δυνατότητας χρήσης του FORBI ως υπόστρωμα σε μια διεργασία βιολογικής παραγωγής υδρογόνου. Όπως φαίνεται από τα πειραματικά αποτελέσματα των τριών πειραματικών κύκλων, η χρήση του FORBI σαν υπόστρωμα οδηγεί σε αποδόσεις έως και 3,2 L βιοαερίου ανά L αντιδραστήρα ανά ημέρα υπό τις κατάλληλες συνθήκες. Τα παραγόμενο βιοαέριο μπορεί να έχει σύσταση έως και 60% υδρογόνο με σχεδόν μηδαμινή ποσότητα μεθανίου. Παράλληλα με την κατάλληλη ρύθμιση των λειτουργικών παραμέτρων η διεργασία μπορεί να λειτουργεί με συνεχή τρόπο για διάστημα αρκετών μηνών.

Παράλληλα και σε συνδυασμό με την μελέτη της καταλληλότητας του FORBI ως υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου, μελετήθηκαν και εξήχθησαν συμπεράσματα για την επίδραση διαφόρων λειτουργικών παραμέτρων στην διεργασία, αλλά και για τον τρόπο που η ρύθμιση τους μπορεί να επιφέρει βελτίωση στην παραγωγικότητα του συστήματος.

Από το Διάγραμμα 14 φαίνεται ότι η παραγωγή του βιοαερίου σχετίζεται με την διεργασία της οξεογένεσης και πιο συγκεκριμένα με την παραγωγή και την συγκέντρωση του οξικού οξέος στο σύστημα. Ακόμα φαίνεται ότι η αλλαγή του χρόνου παραμονής επηρεάζει το ποσό του παραγόμενου βιοαερίου και μάλιστα η μείωση του χρόνου παραμονής οδηγεί σε αύξηση του παραγόμενου βιοαερίου, με μικρότερο χρόνο παραμονής να οδηγεί σε μεγαλύτερη παραγωγή βιοαερίου.

Όσον αφορά το ποσοστό του υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο υπάρχει σαφή συσχέτιση τόσο με το την συγκέντρωση του οξικού οξέος στο σύστημα όσο και με το ποσοστό απομάκρυνσης των υδατανθράκων, με όσο μεγαλύτερες τιμές να έχουν αυτοί οι δύο παράμετροι τόσο μεγαλύτερο να είναι το ποσοστό του υδρογόνου στο βιοαέριο. Βλέποντας τα διαγράμματα είναι φανερός ο μηχανισμός παραγωγής μεθανίου από μικροοργανισμούς χρήστες υδρογόνου, καθώς αύξηση του ποσοστού μεθανίου στο βιοαέριο συνεπάγεται μεγάλη μείωση του ποσοστού του υδρογόνου.

Ο αερισμός του συστήματος βοηθάει στην αύξηση του παραγόμενου βιοαερίου και του ποσοστού του υδρογόνου σε αυτό, όμως η επίδραση του είναι πρόσκαιρη αφού μετά από λίγες μέρες τόσο το περιεχόμενο υδρογόνο όσο και το παραγόμενο βιοαέριο μειώνονται ξανά(δ10). Γενικότερα είναι σημαντική η εξασφάλιση της μη ύπαρξης μεθανογόνων μικροοργανισμών από την αρχή της διεργασίας και η συνεχής καταστολή τους στην συνέχεια, καθώς από την στιγμή που αναπτύσσονται δεν υπάρχει τρόπος να περιοριστούν. Αυτό φαίνεται και από το πρώτο μισό του δεύτερου κύκλου λειτουργίας όπου το εμβόλιο δεν υπέστη θερμική κατεργασία, σε σχέση με το δεύτερο μισό και τον τρίτο κύκλο λειτουργίας όπου πραγματοποιήθηκε. Στις δύο τελευταίες περιπτώσεις όπου το ποσοστό του μεθανίου ήταν είτε μηδενικό, είτε πολύ χαμηλό η μείωση του χρόνου παραμονής βοήθησε τόσο στον περαιτέρω περιορισμό των μεθανογόνων μικροοργανισμών όσο και στην αύξηση του ποσοστού υδρογόνου στο παραγόμενο βιοαέριο.

Τέλος ένα σημαντικό συμπέρασμα είναι ότι η διεργασία έχει την δυνατότητα αυτορρύθμισης. Σε όλους του πειραματικούς κύκλους και παρόλες τις αλλαγές στον τρόπο λειτουργίας της διεργασίας, το σύστημα έδειξε εξαιρετική ικανότητα στο να μπορεί να κρατάει σταθερές τιμές του pH, στο εσωτερικό του αντιδραστήρα, μέσα στις ιδανικές τιμές για τη βιολογική παραγωγή υδρογόνου, χωρίς να χρειάζεται προσθήκη κάποιου ρυθμιστικού διαλύματος. Από τους πειραματικούς κύκλους είναι φανερό ότι τόσο το υπόστρωμα, όσο και η ιλύς που παράγεται κατά την αναερόβια ζύμωση του υποστρώματος έχουν δυναμικότητα για την παραγωγή βιοαερίου με μεγάλο ποσοστό μεθανίου. Έτσι θα πρέπει να μελετηθούν διεργασίες αντιδραστήρων σε σειρά στις οποίες παράγεται τόσο υδρογόνο, όσο και μεθάνιο. Ακόμα σημαντική είναι η περαιτέρω μελέτη των λειτουργικών παραμέτρων της διεργασίας και η παραπάνω βελτιστοποίηση τους, έτσι ώστε να επιτευχθεί μεγαλύτερη παραγωγή υδρογόνου και μεγαλύτερος χρόνος ζωής της διεργασίας. Τέλος θα πρέπει να μελετηθεί και χρήση διαφορετικών τύπων διεργασιών έτσι ώστε να βρεθεί ο βέλτιστος τρόπος χρήσης του υποστρώματος.



## 9. Βιβλιογραφία

- [1] J. E. Overland and M. Wang, “When will the summer Arctic be nearly sea ice free?,” *Geophys. Res. Lett.*, vol. 40, no. 10, pp. 2097–2101, 2013.
- [2] B. Alberts *et al.*, *Essential Cell Biology*, 2nd ed. New York: Garland Science, 2003.
- [3] A. J. García, M. B. Esteban, M. C. Márquez, and P. Ramos, “Biodegradable municipal solid waste: Characterization and potential use as animal feedstuffs,” *Waste Manag.*, vol. 25, no. 8, pp. 780–787, 2005.
- [4] M. F. Bellemare, M. Çakir, H. H. Peterson, L. Novak, and J. Rudi, “On the Measurement of Food Waste,” *Am. J. Agric. Econ.*, vol. 99, no. 5, pp. 1148–1158, 2017.
- [5] F. Xu, Y. Li, X. Ge, L. Yang, and Y. Li, “Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities,” *Bioresour. Technol.*, vol. 247, no. Supplement C, pp. 1047–1058, 2018.
- [6] T. P. Labuza, “The Effects of Water Activity on Reaction Kinetics of Food Deterioration,” *Food Technol.*, pp. 36–59, 1980.
- [7] L. Gram, L. Ravn, M. Rasch, J. B. Bruhn, A. B. Christensen, and M. Givskov, “Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 78, no. 1, pp. 79–97, 2002.
- [8] H.-D. Belitz, W. Grosch, and P. Schieberle, *Χημεία Τροφίμων*, 4th ed. Εκδόσεις Τζιόλα, 2015.
- [9] D. K. Ross, “Hydrogen storage: The major technological barrier to the development of hydrogen fuel cell cars,” *Vacuum*, vol. 80, no. 10, pp. 1084–1089, 2006.
- [10] T. Suzuki and Y. Sakurai, “Effect of Hydrogen Rich Gas and Gasoline Mixed Combustion on Spark Ignition Engine,” in *SAE Technical Paper*, 2006.
- [11] K. Hemmes, “Exploring New Production Methods of Hydrogen/Natural Gas Blends,” in *Enriched Methane: The First Step Towards the Hydrogen Economy*, M. De Falco and A. Basile, Eds. Springer, 2015, p. 201.
- [12] Y. S. H. Najjar, “Hydrogen safety: The road toward green technology,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 38, no. 25, pp. 10716–10728, 2013.
- [13] P. Dimitriou and T. Tsujimura, “A review of hydrogen as a compression ignition engine fuel,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 42, no. 38, pp. 24470–24486, 2017.
- [14] R. Ramachandran and R. K. Menon, “An overview of industrial uses of hydrogen,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 23, no. 7, pp. 593–598, 1998.
- [15] C.-J. Winter, “Into the hydrogen energy economy—milestones,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 30, no. 7, pp. 681–685, 2005.
- [16] D. Das and T. N. Veziroğlu, “Hydrogen production by biological processes: a survey of literature,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 26, no. 1, pp. 13–28, 2001.
- [17] M. A. Rosen and D. S. Scott, “Comparative efficiency assessments for a range of hydrogen production processes,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 23, no. 8, pp. 653–659,

- 1998.
- [18] S. K. Sansaniwal, M. A. Rosen, and S. K. Tyagi, “Global challenges in the sustainable development of biomass gasification: An overview,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 80, no. Supplement C, pp. 23–43, 2017.
- [19] D. B. Levin, L. Pitt, and M. Love, “Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 29, no. 2, pp. 173–185, 2004.
- [20] C. T. Gray and H. Gest, “Biological Formation of Molecular Hydrogen,” *Science (80-. )*, vol. 148, no. 3667, pp. 186–192, 1965.
- [21] P. C. Hallenbeck and J. R. Benemann, “Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 27, no. 11, pp. 1185–1193, 2002.
- [22] A. S. Fedorov, A. A. Tsygankov, K. K. Rao, and D. O. Hall, “Hydrogen photoproduction by *Rhodobacter sphaeroides* immobilised on polyurethane foam,” *Biotechnol. Lett.*, vol. 20, no. 11, pp. 1007–1009, 1998.
- [23] T. Noike and O. Mizuno, “Hydrogen fermentation of organic municipal wastes,” in *Water Science and Technology*, 2000, vol. 42, no. 12, pp. 155–162.
- [24] M. L. Shuler and F. Kargi, *Bioprocess engineering: Basic concepts*, 2nd ed. Prentice Hall PTR, 2002.
- [25] P. G. Thiel, D. F. Toerien, W. H. J. Hattingh, J. P. Kotzé, and M. L. Siebert, “Interrelations between biological and chemical characteristics in anaerobic digestion,” *Water Res.*, vol. 2, no. 6, pp. 391–408, 1968.
- [26] J. R. Simpson, “Some aspects of the biochemistry of anaerobic digestion,” in *Waste Treatment*, P. C. G. ISAAC, Ed. Pergamon, 1960, pp. 31–51.
- [27] M. J. McInerney and M. P. Bryant, “Basic Principles of Bioconversions in Anaerobic Digestion and Methanogenesis,” in *Biomass Conversion Processes for Energy and Fuels*, S. S. Sofer and O. R. Zaborsky, Eds. Boston, MA: Springer US, 1981, pp. 277–296.
- [28] D. R. Boone, R. L. Johnson, and Y. Liu, “Diffusion of the Interspecies Electron Carriers H<sub>2</sub> and Formate in Methanogenic Ecosystems and Its Implications in the Measurement of K(m) for H<sub>2</sub> or Formate Uptake,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 55, no. 7, pp. 1735–1741, Jul. 1989.
- [29] D. R. Boone and M. P. Bryant, “Propionate-Degrading Bacterium, *Syntrophobacter wolinii* sp. nov. gen. nov., from Methanogenic Ecosystems,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 40, no. 3, pp. 626–632, Sep. 1980.
- [30] L. Alibardi and R. Cossu, “Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products,” *Waste Manag.*, vol. 47, no. Part A, pp. 69–77, 2016.
- [31] M. Nakamura, H. Kanbe, and J. Matsumoto, “Fundamental Studies on Hydrogen Production in the Acid-Forming Phase and Its Bacteria in Anaerobic Treatment Processes- The Effects of Solids Retention Time,” *Water Sci. Technol.*, vol. 28, no. 7, pp. 81–88, 1993.
- [32] L. Alibardi and R. Cossu, “Composition variability of the organic fraction of municipal solid waste and effects on hydrogen and methane production potentials,”

- Waste Manag.*, vol. 36, no. Supplement C, pp. 147–155, 2015.
- [33] G. Antonopoulou, H. N. Gavala, I. V. Skiadas, K. Angelopoulos, and G. Lyberatos, “Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 1, pp. 110–119, 2008.
- [34] Z.-K. Lee, S.-L. Li, J.-S. Lin, Y.-H. Wang, P.-C. Kuo, and S.-S. Cheng, “Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 33, no. 19, pp. 5234–5241, 2008.
- [35] T. de Vrije, G. G. de Haas, G. B. Tan, E. R. P. Keijsers, and P. A. M. Claassen, “Pretreatment of *Miscanthus* for hydrogen production by *Thermotoga elfii*,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 27, no. 11, pp. 1381–1390, 2002.
- [36] J.-S. Chen and L. E. Mortenson, “Purification and properties of hydrogenase from *Clostridium pasteurianum* W5,” *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct.*, vol. 371, no. 2, pp. 283–298, 1974.
- [37] C. C. Wang, C. W. Chang, C. P. Chu, D. J. Lee, B.-V. Chang, and C. S. Liao, “Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*,” *J. Biotechnol.*, vol. 102, no. 1, pp. 83–92, 2003.
- [38] S. Zhang, T.-H. Kim, Y. Lee, and S.-J. Hwang, “Effects of VFAs Concentration on Bio-hydrogen Production with *Clostridium Bifermentans* 3AT-ma,” *Energy Procedia*, vol. 14, no. Supplement C, pp. 518–523, 2012.
- [39] H. H. P. Fang, H. Liu, and T. Zhang, “Characterization of a hydrogen-producing granular sludge,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 78, no. 1, pp. 44–52, 2002.
- [40] L. Girbal, C. Croux, I. Vasconcelos, and P. Soucaille, “Regulation of metabolic shifts in *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824,” *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 17, no. 3, pp. 287–297, 1995.
- [41] F. R. Hawkes, R. Dinsdale, D. L. Hawkes, and I. Hussy, “Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 27, no. 11, pp. 1339–1347, 2002.
- [42] J. Mathews and G. Wang, “Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 34, no. 17, pp. 7404–7416, 2009.
- [43] K.-S. Lee, Y.-S. Lo, Y.-C. Lo, P.-J. Lin, and J.-S. Chang, “H<sub>2</sub> production with anaerobic sludge using activated-carbon supported packed-bed bioreactors,” *Biotechnol. Lett.*, vol. 25, no. 2, pp. 133–138, 2003.
- [44] E. Palazzi, B. Fabiano, and P. Perego, “Process development of continuous hydrogen production by *Enterobacter aerogenes* in a packed column reactor,” *Bioprocess Eng.*, vol. 22, no. 3, pp. 205–213, 2000.
- [45] F.-Y. Chang and C.-Y. Lin, “Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 29, no. 1, pp. 33–39, 2004.
- [46] A. Cohen, B. Distel, A. van Deursen, A. M. Breure, and J. G. van Andel, “Role of anaerobic spore-forming bacteria in the acidogenesis of glucose: Changes induced by discontinuous or low-rate feed supply,” *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 51, no. 2, pp. 179–192, 1985.

- [47] X. Wang, D. Hoefel, C. P. Saint, P. T. Monis, and B. Jin, "The isolation and microbial community analysis of hydrogen producing bacteria from activated sludge," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 103, no. 5, pp. 1415–1423, 2007.
- [48] I. S. Kim, M. H. Hwang, N. J. Jang, S. H. Hyun, and S. T. Lee, "Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 29, no. 11, pp. 1133–1140, 2004.
- [49] F. Silva-Illanes, E. Tapia-Venegas, M. C. Schiappacasse, E. Trably, and G. Ruiz-Filippi, "Impact of hydraulic retention time (HRT) and pH on dark fermentative hydrogen production from glycerol," *Energy*, vol. 141, no. Supplement C, pp. 358–367, 2017.
- [50] G. Kumar, J.-H. Park, M.-S. Kim, D.-H. Kim, and S.-H. Kim, "Hydrogen fermentation of different galactose–glucose compositions during various hydraulic retention times (HRTs)," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 39, no. 35, pp. 20625–20631, 2014.
- [51] H. Q. Yu and H. H. P. Fang, "Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters," *Water Res.*, vol. 35, no. 15, pp. 3697–3705, 2001.
- [52] J.-J. Lay, "Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 74, no. 4, pp. 280–287, 2001.
- [53] W.-H. Chen, S.-Y. Chen, S. K. Khanal, and S. Sung, "Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 31, no. 15, pp. 2170–2178, 2006.
- [54] B. Dabrock, H. Bahl, and G. Gottschalk, "Parameters Affecting Solvent Production by *Clostridium pasteurianum*," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 58, no. 4, pp. 1233–1239, Apr-1992.
- [55] Y. J. Lee, T. Miyahara, and T. Noike, "Effect of iron concentration on hydrogen fermentation," *Bioresour. Technol.*, vol. 80, no. 3, pp. 227–231, 2001.
- [56] C. Y. Lin and C. H. Lay, "Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 29, no. 1, pp. 41–45, 2004.
- [57] Koesnandar, N. Nishio, A. Yamamoto, and S. Nagai, "Enzymatic reduction of cystine into cysteine by cell-free extract of *Clostridium thermoaceticum*," *J. Ferment. Bioeng.*, vol. 72, no. 1, pp. 11–14, 1991.
- [58] Y. Ueno, T. Kawai, S. Sato, S. Otsuka, and M. Morimoto, "Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora," *J. Ferment. Bioeng.*, vol. 79, no. 4, pp. 395–397, 1995.
- [59] T. Noike, H. Takabatake, O. Mizuno, and M. Ohba, "Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 27, no. 11, pp. 1367–1371, 2002.
- [60] G. Esposito, J. Weijma, F. Pirozzi, and P. N. L. Lens, "Effect of the sludge retention time on H<sub>2</sub> utilization in a sulphate reducing gas-lift reactor," *Process Biochem.*, vol. 39, no. 4, pp. 491–498, 2003.
- [61] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis Sixth Edition*. 1998.