



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

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ  
**Χρήστου Βουκούτη**

Παραγωγή Βιο-υδρογόνου σε Περιοδικό Αναερόβιο Αντιδραστήρα δύο Διαμερισμάτων με υπόστρωμα μελάσα

---

Επιβλέπων Καθηγητής  
**Γεράσιμος Λυμπεράτος**

Ιούνιος 2019

## Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	1
Abstract .....	1
1. Θεωρητικό υπόβαθρο .....	2
1.1 Γενικά.....	2
1.2 Κυκλική Οικονομία .....	4
1.3 Βιομάζα – Βιοκαύσιμα .....	6
1.3.1 Βιομάζα.....	6
1.3.2 Βιοκαύσιμα.....	7
1.4 Υδρογόνο .....	7
1.4.1 Εισαγωγή .....	7
1.4.2 Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας .....	8
1.5 Μέθοδοι παραγωγής υδρογόνου .....	10
1.6 Ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου .....	11
1.6.1 Γενικά για την ζύμωση .....	11
1.6.2 Υποστρώματα για παραγωγή βιο-υδρογόνου μέσω ζύμωσης .....	13
1.6.3 Μικροοργανισμοί.....	16
1.6.4 Συστήματα ζυμωτικής παραγωγής υδρογόνου .....	17
1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου.....	17
1.7.1 Το pH .....	17
1.7.2 Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής .....	17
1.7.3 Χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας .....	18
1.7.4 Η θερμοκρασία.....	18
1.7.5 Μικροοργανισμοί χρήστες υδρογόνου – Μικροοργανισμοί με παρεμποδιστική δράση.....	19
1.8 Εκκίνηση (Start-Up) βιοαντιδραστήρων παραγωγής υδρογόνου .....	20
2. Υλικά και μέθοδοι.....	20
2.1 Μέτρηση pH .....	20
2.3 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών .....	21
2.4 Προσδιορισμός του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου .....	21
2.5 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού (FID) .....	22
2.6 Μέτρηση παροχής βιοαερίου .....	22
2.7 Πειράματα κατανομής χρόνου παραμονής στον αντιδραστήρα.....	23
2.7.1 Ιχνηθέτης .....	23

2.8 Εμβολιασμός του βιοαντιδραστήρα .....	24
2.9. Υπόστρωμα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου .....	24
3. Πειραματική διάταξη .....	25
3.1 Περιοδικός αναερόβιος αντιδραστήρας δύο διαμερισμάτων.....	25
4. Παρουσίαση αποτελεσμάτων .....	27
4.1 Πείραμα κατανομής χρόνου παραμονής (RTD) .....	27
4.2 Λειτουργία Αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων.....	28
4.2.1 pH .....	29
4.2.2 Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά (Total - Volatile Suspended Solids, TSS-VSS) .....	29
4.2.3 Ολικό και διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο (Total - Soluble Chemical Oxygen Demand, tCOD - sCOD).....	30
4.2.4 Πτητικά λιπαρά οξέα (Volatile Fatty Acids – VFAs).....	31
4.3 Περιοδική Λειτουργία Αντιδραστήρα .....	32
4.3.1 pH .....	32
4.3.2 Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά (Total - Volatile Suspended Solids, TSS-VSS) .....	33
4.3.3 Ολικό και διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο (Total - Soluble Chemical Oxygen Demand, tCOD - sCOD).....	34
4.3.4 Πτητικά λιπαρά οξέα (Volatile Fatty Acids – VFAs).....	35
4.3.5 Υδατάνθρακες .....	36
4.3.6 Παραγωγικότητα Βιοαερίου .....	37
5. Συμπεράσματα – Προτάσεις για μελλοντική έρευνα .....	38
6. Βιβλιογραφία.....	39

## Εικόνες

Εικόνα 1: Φωτογραφία από τις 13/6/2019 που απεικονίζει σκύλους μιας ερευνητικής αποστολής να σύρουν το έλκηθρο πάνω σε νερό εξαιτίας ασυνήθιστα προώρου λιωσίματος των πάγων στην Γροιλανδία. (Πηγή: Steffen Olsen of the Centre for Ocean and Ice at the Danish Meteorological Institute) .....	3
Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση του μοντέλου της κυκλικής Οικονομίας. (Πηγή: anthesisgroup.com).....	5
Εικόνα 3: Σχεδιάγραμμα τις συσκευής που χρησιμοποίησε ο Cavedish στα πειράματά του... ..	8
Εικόνα 4: Μελάσα .....	15
Εικόνα 5: Ηλεκτρονικό pH-μετρο .....	21
Εικόνα 6: Διάταξη μέτρησης παροχής βιοαερίου .....	23

Εικόνα 7: Συντακτικός τύπος ιχνηθέτη Ponceau 4R.....	23
Εικόνα 8: Περιοδικός βιοαντιδραστήρας δύο διαμερισμάτων .....	26
Εικόνα 9: Σχεδιάγραμμα λειτουργίας του περιοδικού βιοαντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων. 1. Δοχείο ανάμειξης τροφοδοσίας, 2. Αντλία τροφοδοσίας 3. Ηλεκτροβάνες εναλλαγής του διαμερίσματος τροφοδοσίας 4. Ηλεκτροβάνες εναλλαγής του διαμερίσματος εξόδου. 5,6. Τα δύο διαφορετικά διαμερίσματα του περιοδικού αντιδραστήρα.....	26

## Διαγράμματα

Διάγραμμα 1: Καταγραφή της θερμοκρασίας του πλανήτη από το 1880 έως σήμερα. (Πηγή: NASA).....	2
Διάγραμμα 2: Τιμές πετρελαίου (\$/βαρέλι) την περίοδο 1970-2014 και παράλληλα σημαντικά γεγονότα ( Πηγή: US Office of Energy Efficiency & Renewable Energy).....	3
Διάγραμμα 3: Μεταβολικά μονοπάτια της διεργασίας αναερόβιας χώνευσης (Πηγή: S. Dahiya et al.) .....	13
Διάγραμμα 4. Πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης για τη φωτομετρική μέτρηση της Ponceau 4R.....	24
Διάγραμμα 5: Αποτελέσματα Πειράματος Κατανομής Χρόνου Παραμονής.....	27
Διάγραμμα 6: Τιμές pH κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων.....	29
Διάγραμμα 7: Ολικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων .....	29
Διάγραμμα 8: Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων .....	30
Διάγραμμα 9: Ολικό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά τη λειτουργία χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων.....	30
Διάγραμμα 10: Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων.....	31
Διάγραμμα 11: Πτητικά λιπαρά οξέα κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων.....	31
Διάγραμμα 12: Τιμές pH κατά την Περιοδική Λειτουργία.....	32
Διάγραμμα 13: Ολικά Αιωρούμενα Στερεά κατά την Περιοδική Λειτουργία.....	33
Διάγραμμα 14: Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά την Περιοδική Λειτουργία .....	33
Διάγραμμα 15. Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά την Περιοδική Λειτουργία... 34	
Διάγραμμα 16: Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά την Περιοδική Λειτουργία... 34	
Διάγραμμα 17: Πτητικά λιπαρά οξέα στο διαμέρισμα τροφοδοσίας κατά την Περιοδική Λειτουργία.....	35
Διάγραμμα 18: Πτητικά λιπαρά οξέα στο διαμέρισμα απορροής κατά την Περιοδική Λειτουργία.....	35
Διάγραμμα 19: Συγκεντρώσεις Υδατανθρακών κατά την Περιοδική Λειτουργία .....	36
Διάγραμμα 20: Απομάκρυνση Υδατανθρακών κατά την Περιοδική Λειτουργία .....	36
Διάγραμμα 21: Παραγωγή Βιοαερίου ανά ημέρα κατά την Περιοδική Λειτουργία .....	37
Διάγραμμα 22: Παραγωγικότητα Βιοαερίου κατά την Περιοδική Λειτουργία .....	37

## Περίληψη

Αντικείμενο της παρούσας Διπλωματικής εργασίας είναι η ανάπτυξη ενός καινοτόμου αντιδραστήρα, του Περιοδικού Αναερόβιου Αντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων, για την παραγωγή βιο-υδρογόνου. Το σύστημα αποτελείται από δύο κυλινδρικά δοχεία, συνολικού ενεργού όγκου 8L που συνδέονται εξωτερικά επικοινωνώντας στο κάτω μέρος. Χαρακτηριστικό του αντιδραστήρα είναι η δυνατότητα περιοδικής εναλλαγής των διαμερισμάτων τροφοδοσίας και εκροής. Κατά την πειραματική διαδικασία μελετήθηκαν αρχικά τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του αντιδραστήρα με τη διεξαγωγή πειράματος κατανομής χρόνου παραμονής (RTD). Στη συνέχεια, μελετήθηκε η συμπεριφορά του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων με υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT) 12 h. Ως υπόστρωμα για την διεργασία χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα μελάσας ολικού οργανικού φορτίου 10 g tCOD / L. Στον επόμενο πειραματικό κύκλο, η λειτουργία του αντιδραστήρα πραγματοποιήθηκε με εναλλαγή των διαμερισμάτων με περίοδο εναλλαγής 6 h, διατηρώντας τις υπόλοιπες παραμέτρους σταθερές. Καθ' όλη την πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του pH, των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών, του ολικού και διαλυτού χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου, των πτητικών λιπαρών οξέων και της παραγωγικότητας βιοαερίου. Η μέγιστη παραγωγικότητα που παρατηρήθηκε κατά τη λειτουργία του βιοαντιδραστήρα αντιστοιχεί σε 1,6 L βιοαερίου /L αντιδραστήρα/ d.

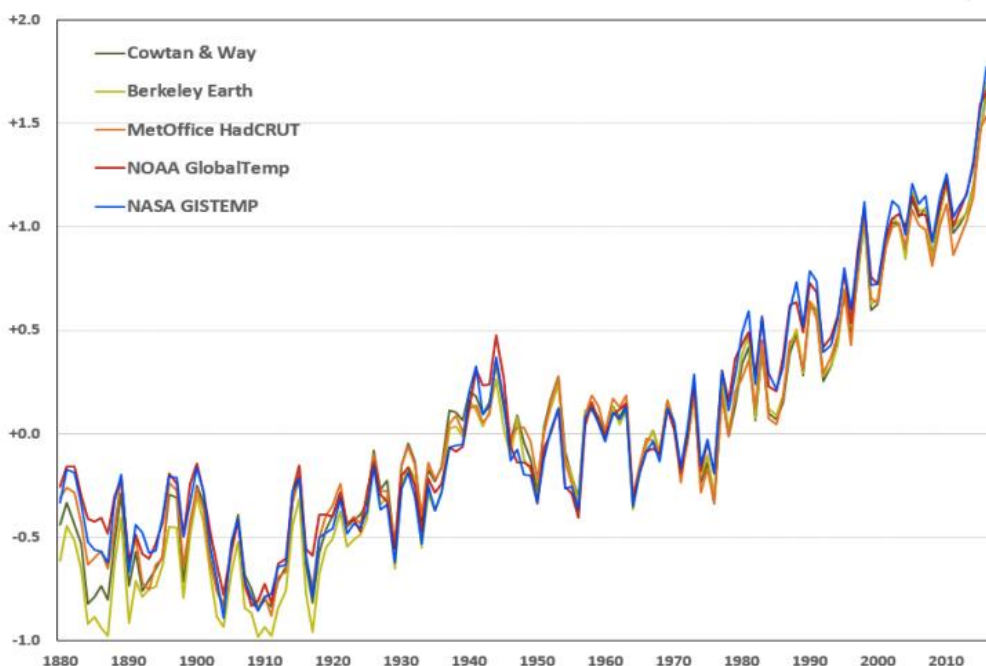
## Abstract

The present Diploma Thesis targets at the development of an innovative type of reactor, the Two-Compartment Periodic Anaerobic Reactor, for bio-hydrogen production. This bioreactor consists of two cylindrical compartments with a total working volume of 8 L that are hydraulically connected. The advantage of this reactor is the inherent ability of periodically alternating between the feeding and effluent compartments. First, Retention Time Distribution (RTD) test is conducted to study the rheological characteristics of the reactor. Then, the bioreactor operated with a Hydraulic Retention Time (HRT) of 12 h without periodical alteration of the feeding and effluent compartment. An aquatic solution of molasses with an organic charge of 10 g tCOD/L was used as feedstock for the process. After this phase, the bioreactor operated under the same conditions with periodic switch of the feeding compartment every six hours. Throughout the operation, the values of pH, total and volatile suspended solids, total and soluble Chemical Oxygen Demand, volatile fatty acids and the productivity of biogas were monitored. The maximum biogas productivity that was achieved is 1,6 L / L<sub>react</sub> /d.

## 1. Θεωρητικό υπόβαθρο

### 1.1 Γενικά

Τα τελευταία χρόνια η συντριπτική πλειοψηφία των δημοσιεύσεων που αφορούν το κλίμα (97%) συγκλίνει στο συμπέρασμα πως η ανθρωπογενής δραστηριότητα διαδραματίζει βασικό ρόλο στην υπερθέρμανση του πλανήτη και την κλιματική αλλαγή. Ετησίως, οι ενεργειακές απαιτήσεις, όπως επιβάλλεται από τον διεθνή ανταγωνισμό, αυξάνονται. Η ανθρώπινη κοινωνία είναι σε μεγάλο βαθμό εξαρτωμένη από την χρήση ορυκτών καυσίμων για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών της. Κατά συνέπεια, έχουν αυξηθεί δραματικά οι εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα, αέριου ρύπου που φέρει το μεγαλύτερο μερίδιο ευθύνης στην επιδείνωση του φαινομένου του θερμοκηπίου.



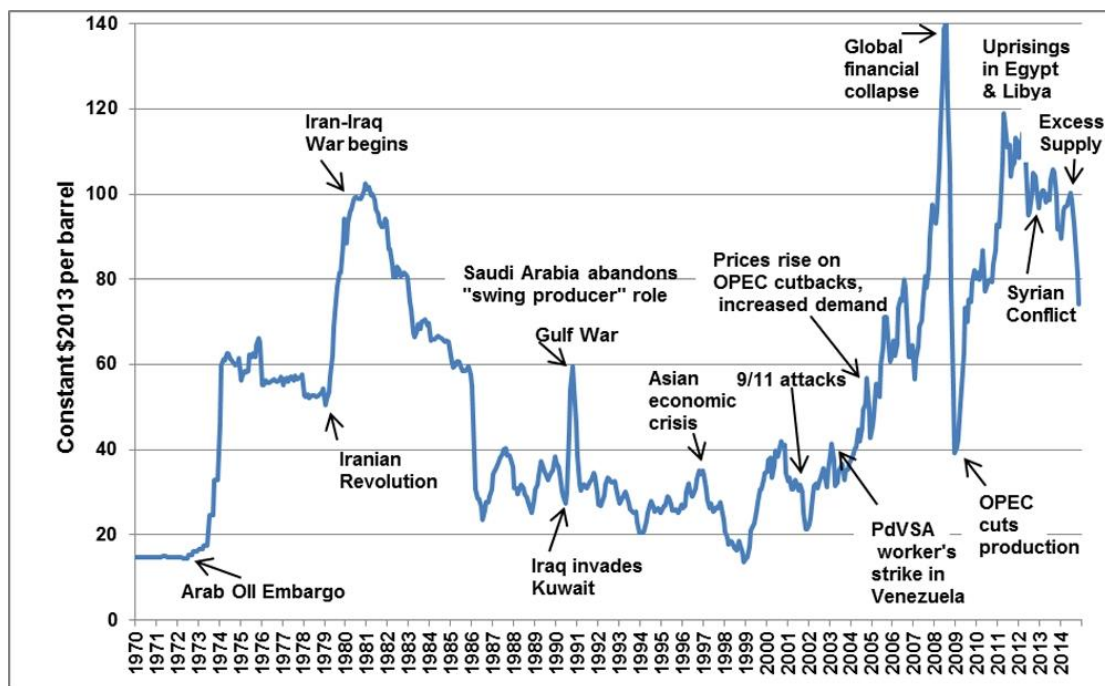
**Διάγραμμα 1: Καταγραφή της θερμοκρασίας του πλανήτη από το 1880 έως σήμερα. (Πηγή: NASA)**

Από το 1850, οπότε και άρχισε να παρακολουθείται και να καταγράφεται συστηματικά η θερμοκρασία του πλανήτη, έχει παρατηρηθεί αύξηση που σήμερα ανέρχεται σε 1,5 °C. Ιδιαίτερα ανησυχητικό είναι το γεγονός ότι από το 1970 και μετά η αύξηση έχει επισπευσθεί σημαντικά. Η κλιματική αλλαγή συμπεριλαμβάνει την αύξηση της θερμοκρασίας αλλά ως όρος αναφέρεται γενικότερα στο εύρος των αλλαγών που λαμβάνουν χώρα στον πλανήτη. Στον ορό κλιματική αλλαγή περιλαμβάνονται φαινόμενα όπως τα αυξανόμενα επίπεδα της στάθμης των ωκεανών, η συρρίκνωση των παγετώνων, το επιταχυνόμενο λιώσιμο των πάγων σε Γροιλανδία, Αρκτική και Ανταρκτική. Στα ανωτέρω προστίθενται και τα ακραία καιρικά φαινόμενα που παρατηρούνται πλέον όλο και συχνότερά όπως τυφώνες και τροπικές καταιγίδες.



Εικόνα 1: Φωτογραφία από τις 13/6/2019 που απεικονίζει σκύλους μιας ερευνητικής αποστολής να σύρουν το έλκθηρο πάνω σε νερό εξαιτίας ασυνήθιστα προώρου λιωσίματος των πάγων στην Γροιλανδία. (Πηγή: Steffen Olsen of the Centre for Ocean and Ice at the Danish Meteorological Institute)

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 (\$/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 βιώσιμης λύσης για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του πλανήτη η οποία από την μια δεν θα επιβαρύνει αρνητικά το συνολικό ισοζύγιο του διοξειδίου του άνθρακα, έτσι ώστε να μην συμβάλει στο φαινόμενο του θερμοκηπίου η οποία όμως να είναι βιώσιμη οικονομικά. Οι παραπάνω προϋποθέσεις μπορούν να καλυφθούν με την χρήση Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας και πιο συγκεκριμένα βιοκαυσίμων παραγόμενα από βιομάζα.

## 1.2 Κυκλική Οικονομία

Μετά την βιομηχανική επανάσταση, τα απορρίμματα και ιδίως τα απόβλητα που προέρχονται από τη βιομηχανική και μαζική γεωργική και κτηνοτροφική δραστηριότητα αυξάνονται σταθερά. Η αιτία του προβλήματος έγκειται στο κυρίαρχο οικονομικό μοντέλο που διαμορφώθηκε με τη χαρακτηριστική γραμμική μορφή «παραγωγή-κατανάλωση-απόρριψη». Το γραμμικό αυτό μοντέλο βασίζεται στην εσφαλμένη παραδοχή ότι οι φυσικοί πόροι είναι άφθονοι, διαθέσιμοι και πως η διάθεση των αποβλήτων τους είναι φθηνή.

Το μοντέλο της γραμμικής οικονομίας επιβάλλει αυξανόμενους ρυθμούς εκμετάλλευσης των φυσικών πόρων, αδιαφορώντας για τις επιπτώσεις που επιφέρει αυτό στο περιβάλλον. Εκτιμήσεις δείχνουν πως μέσα στα επόμενα δέκα χρόνια ο αριθμός των καταναλωτών θα ανέρθει στα εννέα δισεκατομμύρια που θα αγοράζουν βιομηχανικά προϊόντα και εξαιτίας του αυξανόμενου πλούτου τους θα αυξάνουν και τα απόβλητα τους. Πλέον, γίνεται αντιληπτό από πολιτικούς και επιχειρηματίες πως ο αυξανόμενος παγκόσμιος ανταγωνισμός καθιστά την πρόσβαση σε φυσικούς πόρους σε ένα συνεχώς αυξανόμενης δυσκολίας εγχείρημα. Το γραμμικό μοντέλο ανάπτυξης έχει φτάσει στα όριά του και δεν αποτελεί πλέον βιώσιμη επιλογή.

Σε αντιδιαστολή με το γραμμικό μοντέλο εισάγεται το μοντέλο της κυκλικής οικονομίας (circular economy) που τροποποιεί την αλυσίδα «παραγωγή-κατανάλωση-απόρριψη» αντικαθιστώντας το τελευταίο στάδιο με τις έννοιες της επαναχρησιμοποίησης, επισκευής και ανακύκλωσης.

Πρόκειται για ένα παραγωγικό και καταναλωτικό μοντέλο που έχει ως στόχο να αυξήσει την αποδοτικότητα των πρώτων υλών μέσω της χρήσης των υλικών για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και παράλληλα ελαχιστοποιώντας την χρήση των φυσικών πόρων. Η κυκλική οικονομία (circular economy) χαρακτηρίζεται ως η επανορθωτική οικονομία που σχεδιάζεται για να ανταποκριθεί στην φιλοδοξία για αειφόρο ανάπτυξη στο πλαίσιο της αυξανόμενης πίεσης από την παραγωγή και την κατανάλωση των πόρων και του περιβάλλοντος του πλανήτη.





Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση του μοντέλου της κυκλικής Οικονομίας. (Πηγή: [anthesis-group.com](http://anthesis-group.com))

Στόχος είναι η αξιοποίηση των αποβλήτων ώστε να κλείσει ο κύκλος της κυκλικής οικονομίας. Είναι ανάγκη η διαχείριση των πόρων να γίνεται αποτελεσματικότερα σε όλο τον κύκλο ζωής τους. Αυτό θα δημιουργήσει νέες αναπτυξιακές δυνατότητες και ευκαιρίες απασχόλησης. Ειδικότερα για τις επιχειρήσεις στην ΕΕ εκτιμάται ότι οι βελτιώσεις στην αποδοτική χρήση των πόρων σε όλο το μήκος των αλυσίδων αξίας σε συνδυασμό με την πρόληψη στη δημιουργία απορριμμάτων, θα μπορούσαν να μειώσουν τις ανάγκες εισροών κατά 17 % – 24 % μέχρι το 2030, ενώ η καλύτερη χρήση των πόρων θα μπορούσε να οδηγήσει σε συνολικό δυναμικό εξοικονόμησης ύψους 630 δισεκατομμυρίων ευρώ ετησίως για την ευρωπαϊκή βιομηχανία. Επίσης, θα υπήρχε και μείωση των συνολικών εκπομπών αερίων θερμοκηπίου (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2010)

Σημαντικό ρόλο στην κυκλική οικονομία διαδραματίζει ο κλάδος της διαχείρισης αποβλήτων. Ο συγκεκριμένος κλάδος μετατρέπεται σε πάροχος πρώτων υλών και ενέργειας για την υπόλοιπη οικονομία. Υπό τις αυξημένες ανάγκες σε φυσικούς πόρους η απαξιωμένη βιομηχανία απορριμμάτων κατά το γραμμικό μοντέλο μετατρέπεται δηλαδή στην καρδιά της κυκλικής οικονομίας. Με τον τρόπο αυτό η βιομηχανία απορριμμάτων και φυσικών πόρων αξιοποιούν τα απορρίμματα ως σύνολο και ανακτούν όλο και περισσότερη αξία από αυτά.

Καθίσταται επομένως σαφές ότι η αποτελεσματικότερη διαχείριση των αποβλήτων είναι το πρώτο βήμα για την καθιέρωση μιας κυκλικής οικονομίας, όπου τα περισσότερα αν όχι όλα τα προϊόντα και υλικά ανακυκλώνονται, επαναχρησιμοποιούνται ξανά και ξανά.

Η ανάγκη για την υλοποίηση ενός νέου οικονομικού μοντέλου εναρμονισμένου με την πρόκληση των περιορισμένων πόρων και την κλιματική αλλαγή που αυτοί επιφέρουν

είναι ευρέως αναγνωρισμένη και ήδη η Ε.Ε. διαμορφώνει στρατηγικές και σχέδια δράσης προς αυτήν την κατεύθυνση. Παρατηρείται δηλαδή ότι η ιδέα της κυκλικής οικονομίας στην οποία ανακτώνται υλικά και ενέργεια από απορριπτόμενα προϊόντα εδραιώνεται όλο και περισσότερο τόσο σε πολιτικό όσο και σε επιχειρηματικό επίπεδο.

Πράγματι, σε μια κυκλική οικονομία η χρήση φυσικών πόρων και ενέργειας γίνεται με βιώσιμες πρακτικές οι οποίες προστατεύουν τα οικοσυστήματα. Σε μια κυκλική οικονομία ουδέτερη σε άνθρακα βασικό τμήμα αποτελεί η βιώσιμη βιοοικονομία που στηρίζεται στη βιώσιμη χρήση ανανεώσιμων πόρων για την παραγωγή τροφίμων, ενέργειας, προϊόντων και υπηρεσιών.

Το οικονομικό γραμμικό μοντέλο που έχει καθιερωθεί τις τελευταίες δεκαετίες έχει οδηγήσει στην υπέρβαση των οικολογικών ορίων και στην κατακόρυφη αύξηση του κόστους των πρώτων υλών. Υπό το πρίσμα των ανωτέρω, κρίνεται επιτακτικής σημασίας η ανάγκη μορφοποίησής του και στροφής προς ένα μοντέλο κυκλικής οικονομίας το οποίο εξασφαλίζει την αειφορία στις πρώτες ύλες καθώς και την προστασία του περιβάλλοντος. Επομένως οι τεχνολογίες παραγωγής βιοαερίου οι οποίες μελετώνται στην παρούσα διπλωματική εργασία θα πρωταγωνιστήσουν στο περιβαλλοντικό προσκήνιο τα επόμενα χρόνια.

## 1.3 Βιομάζα – Βιοκαύσιμα

### 1.3.1 Βιομάζα

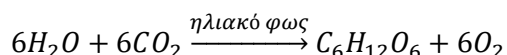
Η βιομάζα, γενικά, περιλαμβάνει οποιοδήποτε υλικό προέρχεται από ζωντανούς οργανισμούς. Στην περίπτωση που αναφέρεται στην κάλυψη ενεργειακών σκοπών, η βιομάζα προσδιορίζεται από το σύνολο των υλικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή στερεών, υγρών ή αέριων καυσίμων (Ghosh, 1997)

Πρακτικά διακρίνονται δύο τύποι βιομάζας:

- οι υπολειμματικές μορφές που αναφέρονται σε κάθε είδους φυτικά υπολείμματα, όπως υπολείμματα γεωργικών και δασικών καλλιεργειών (π.χ. φύλλα, άχυρο) ή υπολείμματα επεξεργασίας γεωργικών προϊόντων (π.χ. πυρηνόξυλο, πυρήνες φρούτων), ζωικά απόβλητα (π.χ. απόβλητα εντατικής κτηνοτροφίας από πτηνοτροφεία, βουστάσια), και τα αστικά απορρίμματα (οργανικό τμήμα των αστικών αποβλήτων)
- οι ενεργειακές καλλιέργειες, καλλιέργειες ή φυτά που η καλλιέργεια τους δεν είναι εμπορική και το τελικό προϊόν τους προορίζεται για την παραγωγή ενέργειας και βιοκαυσίμων.

Η βιομάζα στους φυτικούς οργανισμούς, αποτελεί μία δεσμευμένη και αποθηκευμένη μορφή της ηλιακής ενέργειας και είναι αποτέλεσμα της φωτοσυνθετικής δραστηριότητάς τους. Έτσι, η χλωροφύλλη των φυτών δεσμεύει και μεταφέρει την ενέργεια του

ορατού φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας, μέσω μιας σειράς σύνθετων διεργασιών, χρησιμοποιώντας ως βασικές πρώτες ύλες το διοξείδιο του άνθρακα από την ατμόσφαιρα, το νερό και ανόργανα άλατα από το έδαφος. Η διεργασία αυτή μπορεί να περιγραφεί από την παρακάτω εξίσωση:



### 1.3.2 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.

## 1.4 Υδρογόνο

### 1.4.1 Εισαγωγή

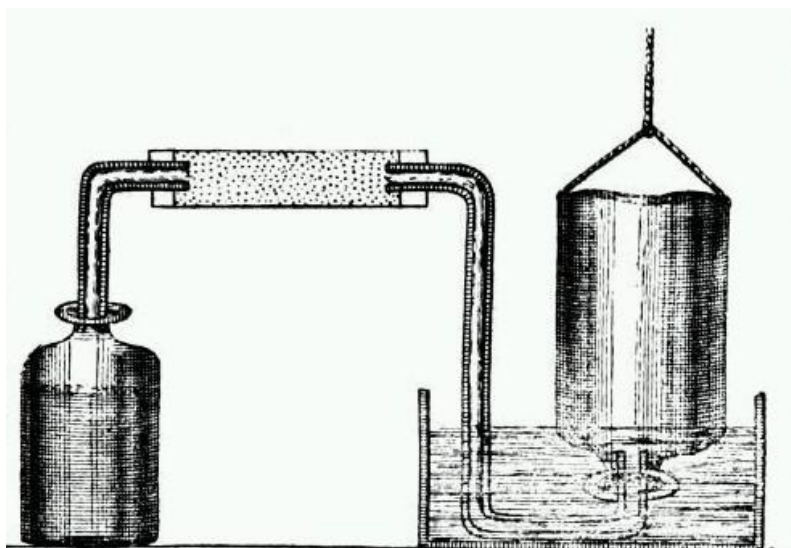
Το υδρογόνο είναι το πρώτο στοιχείο του περιοδικού πίνακα, με ατομικό και μαζικό αριθμό ίσο με ένα. Ο πρώτος που αναγνώρισε ότι το υδρογόνο αποτελεί ξεχωριστή χημική ουσία είναι ο Άγγλος χημικός Henry Cavendish το 1766, παρατηρώντας το αέριο που εκλύεται κατά την αντίδραση ενός οξέος με ένα μέταλλο το οποίο και το ονόμασε εύφλεκτο αέρα. Σε επόμενα πειράματα του, ο Cavendish παρατήρησε ότι κατά την καύση του παράγεται νερό. Όταν οι Γάλλοι 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 «γενώ».

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

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

Ήδη από το 1783 το υδρογόνο άρχισε να χρησιμοποιείται στα αερόστατα λόγω του γεγονότος ότι είναι ελαφρύτερο από τον αέρα. Τα αερόστατα αυτά στην 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 3: Σχεδιάγραμμα τις συσκευής που χρησιμοποίησε ο Cavendish στα πειράματά του

#### 1.4.2 Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας

Το υδρογόνο θεωρείται μία από τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας που παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Το βασικότερο πλεονέκτημα του, ως φορέας ενέργειας, είναι η απουσία ρυπογόνων εκπομπών, διότι όταν καίγεται παράγει αποκλειστικά νερό. Ιδανική τεχνολογική ενεργειακή εφαρμογή της καύσης του, είναι οι κυψελίδες καυσίμου, με τις οποίες παράγεται ηλεκτρισμός λόγω της ένωσης υδρογόνου και οξυγόνου που υπάρχει στον αέρα.

Οι κυψελίδες καυσίμου είναι μια προηγμένη εναλλακτική λύση για την αντικατάσταση των μηχανών εσωτερικής καύσης. Πιο συγκεκριμένα, πλεονεκτούν έναντι των μηχανών εσωτερικής καύσης, καθώς προσφέρουν τη δυνατότητα της υψηλότερης απόδοσης, του μικρότερου μεγέθους και της μηδενικής εκπομπής ρύπων. Επιπλέον, οι κυψελίδες καυσίμου είναι έως και τρεις φορές περισσότερο οικονομικές στην κατανάλωση καυσίμου, ενώ η πιθανή αντικατάσταση των κινητήρων εσωτερικής καύσης, υψηλής θερμοκρασίας, θα έχει ως αποτέλεσμα και την αποφυγή ορισμένων επικίνδυνων ρύπων όπως τα οξειδία του αζώτου ( $\text{NO}_x$ ). Η τεχνολογία που χρησιμοποιούν οι κυψελίδες καυσίμου έχει εφαρμοσθεί στην αεροδιαστημική (προγράμματα Gemini και Apollo) και σε διάφορες πολεμικές εφαρμογές, όπως π.χ. στην κίνηση των υποβρυχίων. Στο τελευταίο παράδειγμα, 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.

Τα τελευταία χρόνια, σχεδόν όλες οι μεγάλες αυτοκινητοβιομηχανίες ασχολούνται με την ανάπτυξη αυτοκινήτων που κινούνται με κυψελίδες καυσίμου. Ο ανεφοδιασμός αυτών των αυτοκινήτων μπορεί να γίνει με το υπάρχον δίκτυο διανομής της βενζίνης, γεγονός που αποτελεί πλεονέκτημα σε σχέση με τα ηλεκτρικά αυτοκίνητα τα οποία χρειάζονται αρκετές ώρες επαναφόρτισης, όταν βρίσκονται σε πλήρη ακινησία. Ακόμη,

είναι αθόρυβα και με πολύ μικρότερες απαιτήσεις συντήρησης από τα αυτοκίνητα συμβατικής τεχνολογίας. Κοινή πεποίθηση των μεγαλύτερων αυτοκινητοβιομηχανιών του κόσμου αποτελεί το γεγονός ότι τα αυτοκίνητα που λειτουργούν με κυψελίδες καυσίμου μπορούν να γίνουν πλήρως εμπορεύσιμα, κάτι που θα συντελέσει παράλληλα και στη μείωση της περιβαλλοντικής μόλυνσης σε παγκόσμιο επίπεδο.

Λόγω της πολυπλοκότητας της εφαρμογής της τεχνολογίας των κυψελίδων καυσίμου στις οδικές μεταφορές η χρήση της γίνεται ακόμα σε πιλοτικό στάδιο 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>). (Suzuki & Sakurai, 2006) (Hemmes, 2015)

Το υδρογόνο πλεονεκτεί ως καύσιμο, έχει υψηλή ενεργειακή απόδοση ανά μονάδα βάρους (122 kJ/kg), δηλαδή το ενεργειακό του περιεχόμενο είναι περίπου τρεις φορές μεγαλύτερο από αυτό της συμβατικής βενζίνης, 2,4 φορές μεγαλύτερο από αυτό του μεθανίου (50 kJ/kg) και περίπου πέντε φορές μεγαλύτερο από της αιθανόλης (26 kJ/kg).

**Πίνακας 1: Σύγκριση ενεργειακού περιεχομένου και εκπομπών σε άνθρακα, συμβατικών και εναλλακτικών καυσίμων**

Τύπος καυσίμου	Ενέργεια ανά μονάδα βάρους (MJ / kg)	Ενέργεια ανά μονάδα όγκου (MJ / L)	kg ελευθερούμενου C ανά kg καυσίμου
Αέριο Υδρογόνο	120	2	0
Υγρό Υδρογόνο	120	8.5	0
Ανθρακίτης	15-19	-	0.5
Φυσικό αέριο	33-50	9	0.46
Βενζίνη	40-43	31.5	0.86
Πετρέλαιο	42-45	38	0.84
Diesel	42.8	35	0.9
Βιο-ντήζελ	37	33	0.5
Αιθανόλη	21	23	0.5
Κάρβουνο	30	-	0.5
Αγροτικά υπολείμματα	10-17	-	0.5
Ξύλο	15	-	0.5

Ένα ακόμα πλεονέκτημα του υδρογόνου είναι ότι παρασκευάζεται με πάρα πολλές μεθόδους και σε πολλές χώρες, γεγονός που συνεπάγεται την ανάπτυξη αποκεντροποιημένων συστημάτων παραγωγής ενέργειας. Αυτό επιφέρει σημαντικά οφέλη για τα λιγότερο ανεπτυγμένα κράτη, τα οποία εξαρτώνται ενεργειακά από ισχυρότερες χώρες.

Ωστόσο, ένα βασικό μειονέκτημα του υδρογόνου, αποτελεί η δυσκολία στην αποθήκευση και την μεταφορά του. Όμως το πρόβλημα επιλύεται με την εφαρμογή σύγχρονων τεχνολογιών, όπως η χρήση μεταλλικών υδριδίων, τα οποία έχουν την δυνατότητα να ροφούν το υδρογόνο σε θερμοκρασία δωματίου και χαμηλές πιέσεις είτε η αποθήκευσή του ως συμπιεσμένο αέριο ή κρυογενικό υγρό. Μια άλλη λύση είναι η αποθήκευση του υδρογόνου στο εσωτερικό μιας νέας μορφής άνθρακα, των νανοσωλήνων άνθρακα, που επιτυγχάνει να ροφά και να αποδίδει το υδρογόνο σε συνθήκες περιβάλλοντος.

Το υδρογόνο χρησιμοποιείται κυρίως στη βιομηχανία, καθώς αποτελεί πρώτη ύλη για την παραγωγή χημικών. Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιείται για την υδρογόνωση λιπών και ελαίων, στη βιομηχανία αμμωνίας (όπου και καταναλώνεται το 50 % του παραγόμενου υδρογόνου) (Ramachandran & Menon, 1998), στην παραγωγή ηλεκτρονικών συσκευών, καθώς και στην αναμόρφωση της νάφθας και στην αποθείωση βενζίνης στα διυλιστήρια.

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% (Winter, 2005). 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 την 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 πλεονεκτήματά 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 την χρήση αποβλήτων ως πρώτων υλών, καθιστούν το υδρογόνο ως κεντρικό άξονα ενός βιώσιμου μοντέλου κυκλικής οικονομίας.

### 1.5 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 του 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. (Das & Veziroğlu, 2001)

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 (Rosen & Scott, 1998).

Το πρόβλημα της ρύπανσης παραμένει και στην περίπτωση της ηλεκτρόλυσης, εφόσον η ηλεκτρική ενέργεια που απαιτείται για την λύση του νερού προς υδρογόνο και οξυγόνο, προέρχεται από ορυκτά καύσιμα. Εάν όμως η ηλεκτρική ενέργεια έχει παραχθεί από Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας, τότε κατά την παραγωγή του υδρογόνου εκλύονται μηδενικοί ρύποι.

Η χρήση της βιομάζας ως εναλλακτική πρώτη ύλη για την παραγωγή υδρογόνου αποτελεί εξαιρετική λύση καθώς το διοξείδιο του άνθρακα που εκλύεται από την 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 (Sansaniwal, et al., 2017). 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 (Levin, et al., 2004).

## 1.6 Ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου

### 1.6.1 Γενικά για την ζύμωση

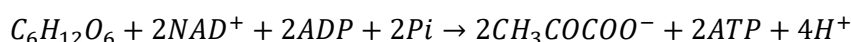
Η ζύμωση είναι μια μικροβιολογική διεργασία, που πραγματοποιείται υπό αναερόβιες συνθήκες, απουσία φωτός (dark fermentation). Αποτελεί μέρος της διεργασίας της αναερόβιας χώνευσης (στάδιο της οξεογένεσης). Κατά την διάρκεια της ζύμωσης ένα οργανικό υπόστρωμα μετατρέπεται μέσω βιολογικών διεργασιών σε 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. (Noike & Mizuno, 2000)

Η κύρια πηγή άνθρακα και ενέργειας των μικροοργανισμών είναι η γλυκόζη ή άλλα απλά σάκχαρα, διότι φέρουν το μεγαλύτερο ενεργειακό περιεχόμενο (ανά ηλεκτρονιακό ισοδύναμο) συγκρινόμενα με άλλα απλά οργανικά γραμμομόρια.

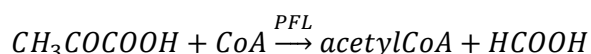
Διακρίνονται τα κάτωθι τέσσερα διαφορετικά δίκτυα μεταβολισμού της γλυκόζης που όλα οδηγούν σε πυροσταφυλικό οξύ.

- i. το γλυκολυτικό δίκτυο (Embden – Meyerhof – Parnas ή EMP),
- ii. το δίκτυο μονοφωσφορικής εξόζης (HMP),
- iii. το δίκτυο Entner – Doudoroff (ED) και
- iv. το δίκτυο φωσφοκετολάσης (PK).

Στο γλυκολυτικό μονοπάτι, που είναι και το πιο σύνηθες, 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 ακέτυλο-CoA (Alberts et al., 2003) (Shuler & Kargi, 2002)



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 (Thiel, et al., 1968).

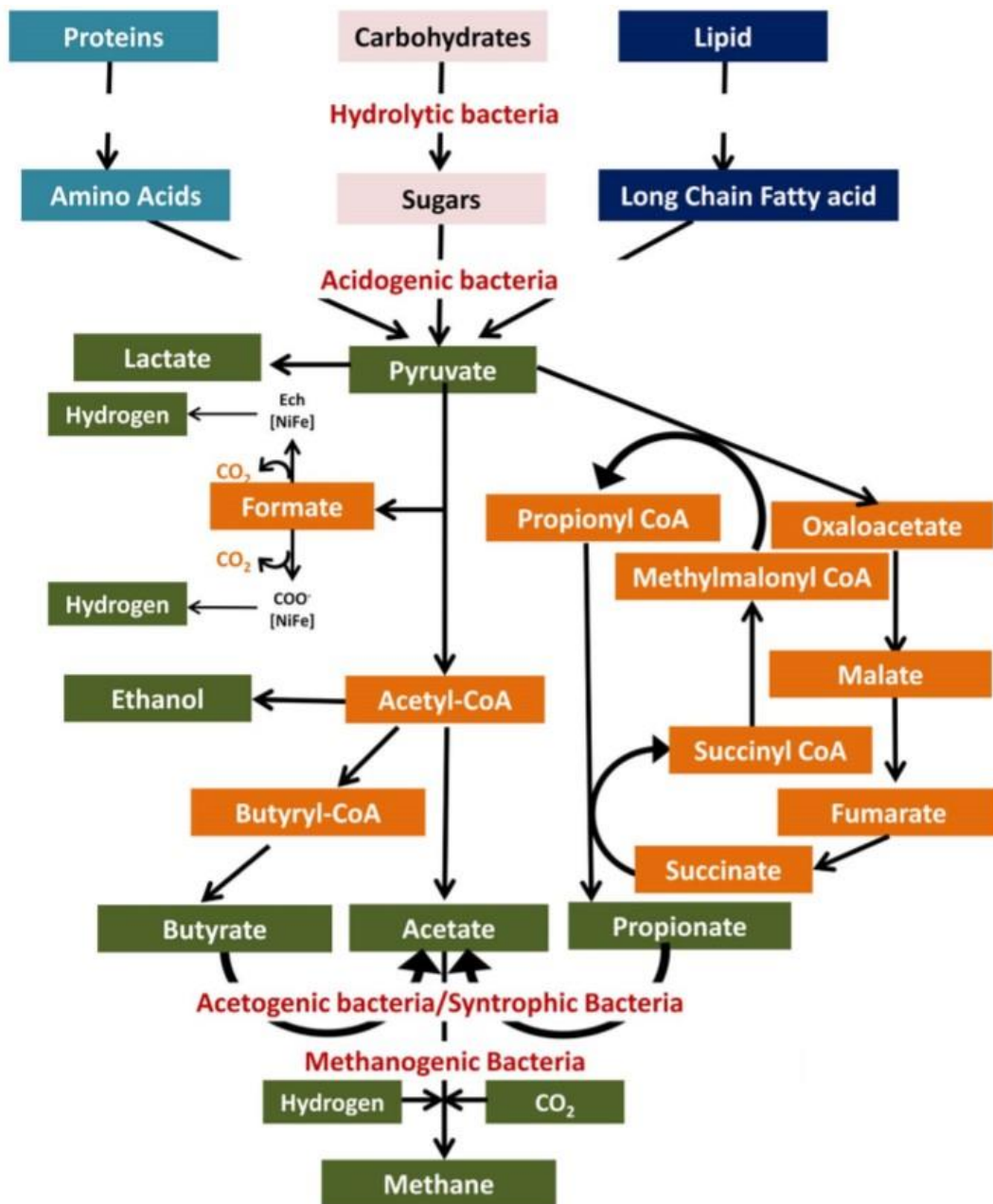
Οι υδρολάσες, μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με την βιολογικά μακρομόρια που διασπούν. Ειδικότερα οι πρωτεάσες είναι εξωκυτταρικά ένζυμα τα οποία έχουν την δυνατότητα να διασπύσουν τις πρωτεΐνες σε μικρότερα πολυπεπτίδια αλλά και σε αμινοξέα. Τα αμινοξέα που προκύπτουν από την διάσπαση των πρωτεϊνών, 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 ακέτυλο-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 (Alberts et al., 2003) (Simpson, 1960). 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 να πραχθεί είτε οξικό οξύ και υδρογόνο, είτε φορμικό οξύ (Mcinerney & Bryant, 1981) (Boone, et al., 1989). Ένα άλλο παράδειγμα είναι η οξειδωση του προπιονικού οξέος ως προς οξικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο (Boone & Bryant, 1980).

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 στην συνέχεια στον κύκλο του κιτρικού οξέος από τον οποίο παράγεται ATP αλλά και υδρογόνο,



διοξειδίο του άνθρακα και οργανικά οξέα όπως φορμικό, οξικό, προπιονικό, βουτυρικό, γαλακτικό και βαλερικό οξύ (Alberts et al., 2003) (Shuler & Kargi, 2002). Το είδος αλλά και η σύσταση των τελικών προϊόντων εξαρτάται τόσο από του 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:



Διάγραμμα 3: Μεταβολικά μονοπάτια της διεργασίας αναερόβιας χώνευσης (Πηγή: S. Dahiya et al.)

### 1.6.2 Υποστρώματα για παραγωγή βιο-υδρογόνου μέσω ζύμωσης

Μέσα από τις 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 υποστρωμά-

των, 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 (Alibardi & Cossu, 2016).

Λόγω της σημασίας της συγκεντρώσεως 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 (Nakamura, et al., 1993). 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 (Alibardi & Cossu, 2015).

Πολλά υποστρώματα έχουν προταθεί για την παραγωγή υδρογόνου με αναερόβια ζύμωση. Ένα από αυτά είναι τα ενεργειακά φυτά, όπως το γλυκό σόργο το οποία έχει συγκέντρωση σακχάρων ικανή για ικανοποιητική παραγωγή υδρογόνου (Antonopoulou, et al., 2008). Ένα υπόστρωμα που παρουσιάζει ενδιαφέρον είναι τα ζυμώσιμα αστικά απόβλητα. Αρχικά η χρήση ζυμώσιμων αστικών απόβλητων για ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου, λύνει το πρόβλημα της διαχείρισή τους. Σαν υπόστρωμα, σε μεγάλο βαθμό αποτελούνται από υπολείμματα φρούτων, λαχανικών, αρτοσκευασμάτων 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 (Alibardi & Cossu, 2015) (Lee, et al., 2008). Τέλος έχει προταθεί και η χρήση αγροτικών αποβλήτων για την παραγωγή υδρογόνου, όμως η παρουσία λιγνίνης ή οποια δεν υδρολύεται εύκολα ενζυμικά εμποδίζει την υδρόλυση των υδατανθράκων και οδηγεί σε χαμηλές αποδόσεις (de Vrije, et al., 2002).

#### *1.6.2.1 Η μελάσα ως υπόστρωμα για την παραγωγή βιοϋδρογόνου*

Στην παρούσα Διπλωματική Εργασία, ως υπόστρωμα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου επιλέγεται η μελάσα, καθώς η πλούσια σε σάκχαρα βιομάζα της μελάσας την καθιστά ελκυστική επιλογή. Έχοντας υπόψη τις αρχές του μοντέλου της κυκλικής οικονομίας, η ακατέργαστη μελάσα, από παραπροϊόν της βιομηχανίας ζάχαρης με χαμηλή αξία, αναβαθμίζεται σε πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή αναερόβιας ενέργειας. Αναγνωρίζεται, σαφώς, πως υπάρχει αγορά για τη μελάσα και σε καμία περίπτωση δεν αποτελεί υλικό στο τέλος του κύκλου ζωής του. Ωστόσο, ως υπόστρωμα για τη ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου, το συγκεκριμένο υλικό αποκτά περφόρη θέση στον κύκλο της κυκλικής οικονομίας.

Η μελάσα είναι ένας παχύς χυμός, σαν σιρόπι, που παρασκευάζεται από την επεξεργασία ζαχαροκάλαμου. Ο βαθμός και ο τύπος της μελάσας εξαρτάται από την ωριμότητα των ζαχαροκάλαμων και την μέθοδο παραγωγής. Υπάρχουν διάφοροι τύποι μελάσας ονομάζονται first molasses, second molasses, unsulphured molasses, sulphured molasses, και blackstrap molasses. Εξάγεται κατά την διαδικασία της παραγωγής της ζάχαρης από το ζαχαροκάλαμο, κατά την οποία τα θρεπτικά συστατικά του ζαχαροκάλαμου συγκεντρώνονται στη μελάσα.



Εικόνα 4: Μελάσα

Η μελάσα σε ακατέργαστη μορφή χρησιμοποιείται από την ποτοποιητική βιομηχανία για την παραγωγή ρουμιού. Μελάσα, ακόμη, προστίθεται σε ζαχαρόπιτα (ένα ακόμα παραπροϊόν της ζαχαροβιομηχανίας) για τη δημιουργία ζωοτροφών. Η μελάσα επεξεργασμένη πωλείται ως γλυκαντική ουσία.

Πίνακας 2: Διατροφική αξία μελάσας

Στοιχείο	Διατροφική αξία
Ενέργεια	1210 kJ/284kcal
Λιπαρά	0 g
ΕΚ των οποίων κορεσμένα	0 g
Υδατάνθρακες	59 g
ΕΚ των οποίων Σάκχαρα	59 g
Πρωτεΐνες	2 g
Αλάτι	0,15 g
Ασβέστιο	500 mg
Μαγνήσιο	140 mg
Σίδηρος	9 mg
Κάλιο	1470 mg

### 1.6.3 Μικροοργανισμοί

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 (Levin, et al., 2004).

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 (Chen & Mortenson, 1974). Παραδείγματα βακτηριών του γένους *Clostridium* που έχουν χρησιμοποιηθεί για βιολογική διεργασία είναι *C. pasteurianum* (Chen & Mortenson, 1974) και *C. Bifermentans* (Wang, et al., 2003) (Zhang, et al., 2012). 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 χρησιμεύουν ως εμβόλιο με πολύ μικρή και εύκολη προεπεξεργασία (Fang, et al., 2002). 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 (Hawkes, et al., 2002).

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 (Mathews &

Wang., 2009). Φυσικά υπάρχουν αποκλίσεις από την θεωρητική τιμή, οι οποίες σχετίζονται με την υπερπαραγωγή των λιπαρών οξέων όπως για παράδειγμα το βουτυρικό οξύ (Fang, et al., 2002).

#### 1.6.4 Συστήματα ζυμωτικής παραγωγής 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 (batch) 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) (Fang, et al., 2002) (Lee, et al., 2003), είτε σε αναερόβια συστήματα στα οποία οι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί έχουν ακινητοποιηθεί σε διάφορα μέσα (Lee, et al., 2003) (Palazzi, et al., 2000).

Παράλληλα μελετάται χρήση διαφορετικών ειδών αντιδραστήρων, όπως για παράδειγμα αντιδραστήρες ανοδικής ροής με κουβέρτα ιλύος (UASB) (Chang & Lin, 2004) ή αντιδραστήρες πακτωμένης στήλης (Palazzi, et al., 2000).

### 1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου

Η ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου, όπως και κάθε άλλη βιολογική διεργασία χαρακτηρίζεται από την 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.

#### 1.7.1 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 τις 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 (Lee, et al., 2008), (Kim, et al., 2004), (Silva-Illanes, et al., 2017).

#### 1.7.2 Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής αποτελεί σημαντική παράμετρο του συστήματος, αφού η σωστή ρύθμιση του, σε χρόνους μικρότερους από τον ρυθμό ανάπτυξης ανεπιθύμητων μικροοργανισμών επιτρέπει την απομάκρυνση-έκπλυσή 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 (Silva-Illanes, et al., 2017) (Kumar, et al., 2014).

### 1.7.3 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 (Yu & Fang, 2001). 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 (Lay, 2001). 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 (Chen, et al., 2006).

Στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών σημαντική θέση κατέχει η ύπαρξη ή μη θρεπτικών, αλλά και η συγκέντρωσή τους. Τέτοια θρεπτικά όπως το άζωτο και ιδιαίτερα ο σίδηρος και ο φωσφόρος εμπλέκονται στον μεταβολισμό των βακτηρίων και βοηθούν στην παραγωγή υδρογόνου (Hawkes, et al., 2002). 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) (Dabrock, et al., 1992). 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 (Lee, et al., 2001). 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 (Lin & Lay, 2004).

### 1.7.4 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 (Koesnandar, et al., 1991), αφετέρου διότι οδηγεί στην μείωση της διαλυτότητας του υδρογόνου στην υγρή φάση ευνοώντας περαιτέρω την παραγωγή του (Hawkes, et al., 2002). Ωστόσο, 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.

#### 1.7.5 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 (Kim, et al., 2004), οι ομοοξικογόνοι (Ueno, et al., 1995), τα γαλακτοβακτήρια (Noike & Mizuno, 2000) αλλά και βακτήρια που ανάγουν τα θειικά σε υδρόθειο (Esposito, et al., 2003). 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 (Noike, et al., 2002).

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 (Ueno, et al., 1995). 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.

## 1.8 Εκκίνηση (Start-Up) βιοαντιδραστήρων παραγωγής υδρογόνου

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 στείρων συνθηκών λειτουργίας (Levin, et al., 2004). 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 δημιουργούν σπόρια (Hawkes, et al., 2002). 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 (Cohen, et al., 1985). 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 (Wang, et al., 2007). Το γεγονός ότι τα βακτήρια του εμβολίου εισέρχονται υπό την μορφή ενδοσπορίων, οδηγεί στην καθυστέρηση εμφάνισης υδρογόνου, καθώς αρχικά απαιτείται βλάστηση των σπορίων (Cohen, et al., 1985). 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 (Kim, et al., 2004).

## 2. Υλικά και μέθοδοι

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των αντιδρώντων που εισήχθησαν στον αντιδραστήρα όσο και για την παρακολούθηση της λειτουργίας του αντιδραστήρα παρουσιάζονται παρακάτω.

Με σκοπό την παρακολούθηση της διεργασίας πραγματοποιήθηκαν συστηματικές μετρήσεις του pH, της συγκέντρωσης των ολικών (TSS) και των πτητικών (VSS) αιρούμενων στερεών, του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD) και των πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs).

### 2.1 Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH στα δείγματα από το εσωτερικό του αντιδραστήρα και την τροφοδοσία πραγματοποιήθηκε μέσω της εμβάπτισης του ηλεκτροδίου ενός ηλεκτρονικού pH-μέτρου πάγκου (Sanxin PHS-3D-01 Lab pH Meter) σε δείγμα όγκου 10ml.





Εικόνα 5: Ηλεκτρονικό pH-μετρο

### 2.3 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών

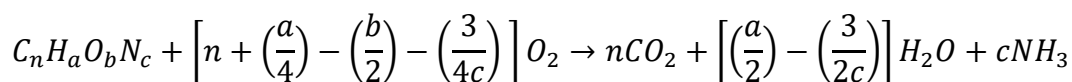
Η μέτρηση των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την αντίστοιχη μέθοδο που περιγράφεται στο «Standard methods for the examination of water and wastewater».

Ολικά αιωρούμενα στερεά (Total Suspended Solids, TSS) χαρακτηρίζονται τα μη διηθούμενα στερεά. Για τον προσδιορισμό τους, γνωστή ποσότητα καλώς ανανεμεμειγμένου 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.

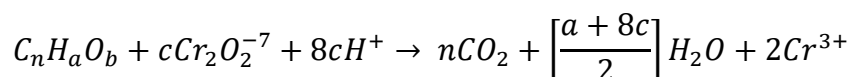
Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά (Volatile Suspended Solids, VSS) αποτελούν το κλάσμα των ολικών αιωρούμενων στερεών, το οποίο εξαερώνεται στους 550°C. Για τον προσδιορισμό τους, ο ηθμός στον οποίο έχουν κατακρατηθεί τα ολικά αιωρούμενα στερεά πυρακτώνεται, μέχρι σταθερού βάρους σε πυραντήριο στους 550°C. Η μείωση του βάρους του ηθμού αντιστοιχεί στα πτητικά αιωρούμενα στερεά.

### 2.4 Προσδιορισμός του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου

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:



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  $(2g^{Cl^-}/L)$ ) γίνεται από περίσσεια διχρωμικού καλίου ( $K_2Cr_2O_7$ ) με θέρμανση στους 148°C και σε ισχυρά όξινη 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:



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

Ο προσδιορισμός του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (Soluble Chemical Oxygen Demand, sCOD) γίνεται με τη μέθοδο κλειστής επαναρροής με φωτομέτρηση στα 600nm στο ηλεκτρονικό φωτόμετρο Hach Lange ( DR2800 ), όπως περιγράφεται στο «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 όσο περισσότερα ιόντα  $Cr^{6+}$  έχουν αναχθεί 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  $K_2Cr_2O_7$ .

## 2.5 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού (FID)

Για την μέτρηση των πτητικών λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος SHIMADZU GC-17A με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού (FID). Για να πραγματοποιηθεί η παραπάνω μέτρηση έγινε η ακόλουθη διαδικασία: σε 1ml διηθημένου δείγματος προστίθενται 30μl  $H_2SO_4$  (20% κατά όγκο). Ακολουθεί φυγοκέντρηση και μικροδιήθηση (με φίλτρο Whatman 0,2μm) του διαλύματος. Το δείγμα οδηγείται στο χρωματογράφο όπου 1μl εγχέεται με ειδική μικροσύριγγα. Η στήλη διαχωρισμού είναι τριχοειδής (Agilent Technologies HP-FFAP, 30m x 0.53mm x 1μm φιλμ) και ο αυτόματος δειγματολήπτης είναι SHIMADZU AOC-20s). Η αρχική θερμοκρασία της στήλης είναι 105°C. Στη συνέχεια 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 που χρησιμοποιείται είναι το Ήλιο με παροχή 30ml/min και η θερμοκρασία του ανιχνευτή είναι σταθερή στους 230°C. Στο τέλος της μέτρησης προκύπτει το χρωματογράφημα που αντιστοιχεί στο δείγμα και εν συνεχεία, με τη χρήση πρότυπων καμπυλών, γίνεται ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών λιπαρών οξέων που περιέχονται στο δείγμα. (Α.Παππά, 2004)

## 2.6 Μέτρηση παροχής βιοαερίου

Το σύστημα μέτρησης της παροχής του βιοαερίου αποτελείται από ένα υάλινο σωλήνα διαμέτρου 30 mm, μήκους πλευρών 200mm και σχήματος "U". Από τη μία πλευρά του σωλήνα γίνεται η εισροή του βιοαερίου με αποτέλεσμα τον εκτοπισμό του ορυκτελαίου προς την άλλη πλευρά. Μόλις το ορυκτέλαιο εκτοπιστεί από το παραγόμενο βιοαέριο πραγματοποιείται καταγραφή της εκτόπισης καθώς αποκόπτεται η δέσμη ενός κατάλληλα τοποθετημένου ανιχνευτή με αποτέλεσμα το στιγμιαίο άνοιγμα της ηλεκτροβαλβίδας για την εκτόνωση του βιοαερίου. Το σύστημα πρέπει να είναι βαθμονομημένο, έτσι ώστε σύμφωνα με τον αριθμό των εκτοπίσεων να μπορεί να υπολογιστεί ο όγκος που διέφυγε από την βαλβίδα εκτόνωσης.



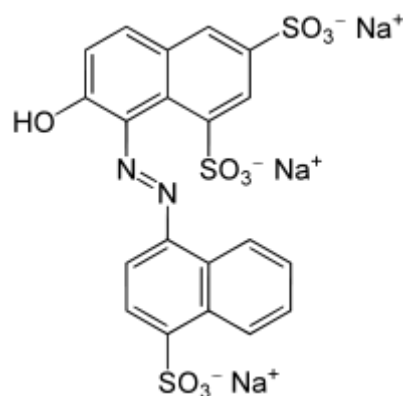
Εικόνα 6: Διάταξη μέτρησης παροχής βιοαερίου

## 2.7 Πειράματα κατανομής χρόνου παραμονής στον αντιδραστήρα

Για τα πειράματα κατανομής του χρόνου παραμονής στον βιοαντιδραστήρα εφαρμόστηκε η μέθοδος της βηματικής επιβολής ιχνηθέτη, δηλαδή απότομη αύξηση της συγκέντρωσης του ιχνηθέτη στην είσοδο από μία τιμή σε μία μεγαλύτερη και διατήρηση της τιμής αυτής, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα πραγματοποιείται δειγματοληψία από την εκροή του αντιδραστήρα. Στα δείγματα αυτά μετριέται και καταγράφεται η συγκέντρωση του ιχνηθέτη ώστε να μελετηθεί η διαφοροποίηση της συγκέντρωσης εξόδου στη διάρκεια του χρόνου.

### 2.7.1 Ιχνηθέτης

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ως ιχνηθέτης η ουσία Ponceau 4R (Trisodium-2-Hydroxy-1-(4-Sulfonato-1-Naphthylazo)-6,8-Naphthalenedisulfonate) με χημικό τύπο  $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$ . Ο συντακτικός τύπος του χρησιμοποιούμενου ιχνηθέτη φαίνεται στην εικόνα 6.

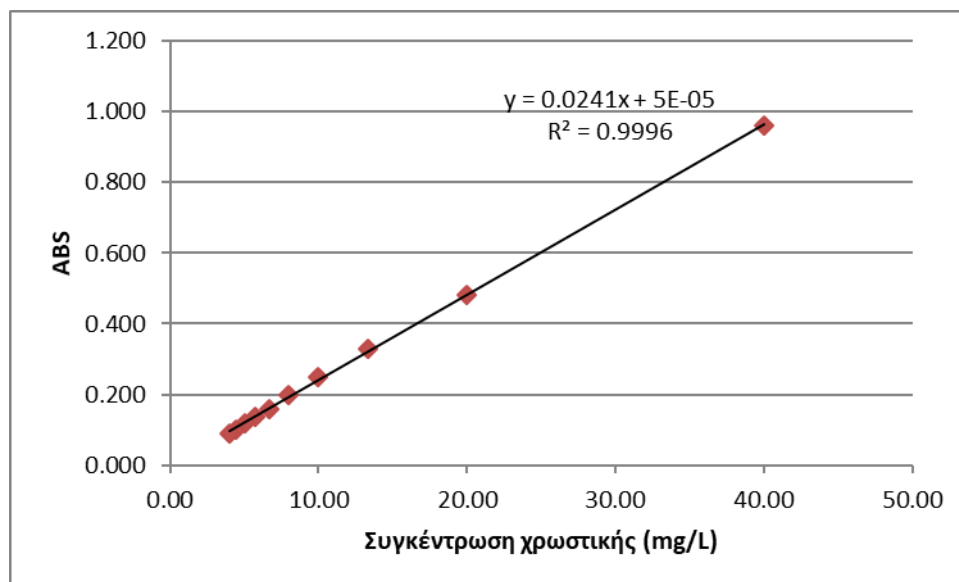


Εικόνα 7: Συντακτικός τύπος ιχνηθέτη Ponceau 4R

Πρόκειται για συνθετική χρωστική ουσία ερυθρού χρώματος σε μορφή σκόνης η οποία χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στη βιομηχανία τροφίμων με την κωδική ονομασία

E214. Έχει μοριακό βάρος 604.48 g/mol και συντελεστή διάχυσης στο νερό  $D_c=4e^{-10}$  m<sup>2</sup>/s.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ιχνηθέτη στην έξοδο του αντιδραστήρα, χρησιμοποιήθηκε φωτομετρική μέθοδος. Η ανίχνευση της χρωστικής πραγματοποιήθηκε στα 510 nm και κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη (Διάγραμμα 5) με τη χρήση του φωτομέτρου HACH DR2800.



Διάγραμμα 4. Πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης για τη φωτομετρική μέτρηση της Ponceau 4R

## 2.8 Εμβολιασμός του βιοαντιδραστήρα

Για την εκκίνηση του βιοαντιδραστήρα χρησιμοποιήθηκε αναερόβια λάσπη η οποία είχε υποστεί θερμική κατεργασία στους 80° C για χρονικό διάστημα μίας ώρας. Η αναερόβια λάσπη προήλθε από τον αναερόβιο χωνευτήρα της μονάδας επεξεργασίας λυμάτων της ΕΥΔΑΠ στη Μεταμόρφωση του νομού Αττικής. Ο εμβολιασμός με την θερμικά κατεργασμένη αναερόβια λάσπη ήταν της τάξεως του 15%. Κατά την θερμική κατεργασία επιβιώνουν μόνο οι μικροοργανισμοί που έχουν την ικανότητα σπορογονίας οι οποίοι ταυτίζονται με τους υδρογονοπαραγωγούς μικροοργανισμούς της αναερόβιας λάσπης.

## 2.9. Υπόστρωμα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας χρησιμοποιήθηκε η μελάσα ως υπόστρωμα για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου. Χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα μελάσας σε τελική συγκέντρωση 11.93 g/L. Προκειμένου η αναλογία C:N:P να είναι ίση με 1000:5:1, που αποτελεί ιδανική συγκέντρωση για την ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου, προστέθηκαν ουρία και DAP σε τελική συγκέντρωση 0.0197 g/L και 0.0174 g/L αντιστοίχως.

### 3. Πειραματική διάταξη

#### 3.1 Περιοδικός αναερόβιος αντιδραστήρας δύο διαμερισμάτων

Ο σχεδιασμός του περιοδικού βιοαντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων εμπνέεται από αυτόν του PABR (Periodic Anaerobic Baffled Reactor) που αναπτύχθηκε από τους Γεράσιμο Λυμπεράτο και Ιωάννη Σκιαδά στο Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Τεχνολογίας περιβάλλοντος (Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Χημικών Μηχανικών) (Skiadas & Lyberatos, 1998) (Σκιαδάς, 1998). Ο περιοδικός αντιδραστήρας μοιράζεται τα πλεονεκτήματα του PABR, ενώ παράλληλα απλοποιεί το σχεδιασμό του. Κοινό χαρακτηριστικό των δύο αντιδραστήρων αποτελεί η δυνατότητα εναλλαγής του διαμερίσματος τροφοδοσίας με διαφορετική συχνότητα.

Η συχνότητα εναλλαγής της τροφοδοσίας του αντιδραστήρα αποτελεί μία από τις κύριες παραμέτρους της λειτουργίας του αντιδραστήρα. Έχειδειχθεί ότι ο PABR στην ακραία περίπτωση όπου η συχνότητα εναλλαγής των διαμερισμάτων είναι μηδέν συμπεριφέρεται σαν αντιδραστήρας ABR, ενώ όταν η συχνότητα εναλλαγής τείνει στο άπειρο, η λειτουργία του αντιδραστήρα προσομοιάζει τη λειτουργία ενός αντιδραστήρα UASB. Ρυθμίζοντας έτσι την συχνότητα εναλλαγής της τροφοδοσίας σε μία ενδιάμεση τιμή, ο αντιδραστήρας λειτουργεί σε μια κατάσταση «ενδιάμεση» (“something between”) των δύο ακραίων καταστάσεων, γεγονός που του προσδίδει το πλεονέκτημα της ευελιξίας.

Όπως αναφέρει ο (Σκιαδάς, 1998) τα πλεονεκτήματα του PABR και κατά προέκταση του Περιοδικού Αναερόβιου Αντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων είναι:

- Η ευελιξία λειτουργίας μεταξύ των ακραίων καταστάσεων UASBR και ABR, η οποία κρίνεται ως ιδιαίτερα σημαντική καθώς σε μεγάλες τιμές ρυθμού οργανικής φόρτισης προτιμάται η λειτουργία του σε μεγάλες συχνότητες, δηλαδή πιο κοντά στην UASBR κατάσταση, ενώ σε χαμηλές τιμές οργανική φόρτιση σε μικρές, πιο κοντά στην ABR κατάσταση
- παρουσιάζει ιδιαίτερα μεγάλη σταθερότητα σε αιφνίδιες αυξήσεις του ρυθμού οργανικής φόρτισης (robust) γιατί καταλήγει σε σταθερή περιοδική κατάσταση.

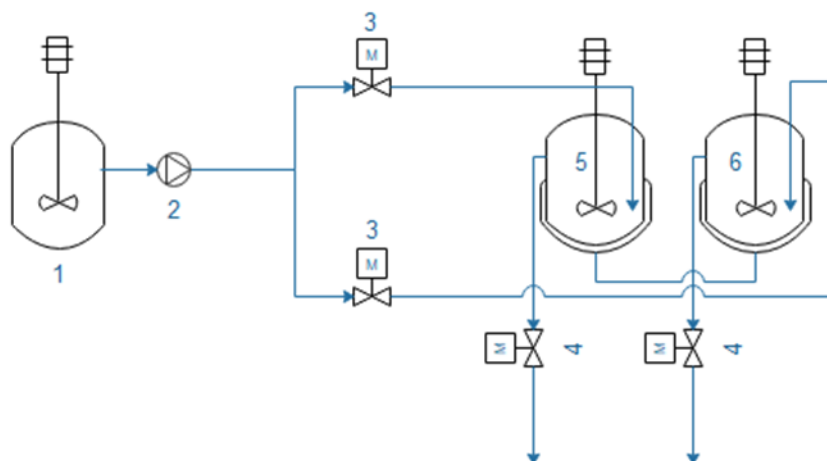
Το σημείο υπεροχής του περιοδικού αντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων είναι το γεγονός πως προσομοιάζει την συμπεριφορά του PABR με σημαντικά λιγότερες απαιτήσεις σε μηχανικά μέρη. Ενδεικτικά αναφέρεται πως σε πιλοτικό επίπεδο οι δώδεκα ηλεκτροβάνες που απαιτεί η λειτουργία του PABR, περιορίζονται σε τέσσερις στον περιοδικό αντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων.

Ο αντιδραστήρας που αναπτύχθηκε στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία αποτελεί έναν καινοτόμο περιοδικό αντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων. Ο αντιδραστήρας είναι κατασκευασμένος από ανοξείδωτο χάλυβα AISI 316 και έχει συνολικό ενεργό όγκο 8L. Κάθε δοχείο είναι κυλινδρικού σχήματος ενεργού όγκου 4 L (Υ:44cm x Δ: 10.8 cm). Για την ανάδευση των περιεχομένων των δύο διαμερισμάτων, όποτε αυτό είναι αναγκαίο υπάρχουν εγκατεστημένοι αναδευτήρες τύπου προπέλας. Για τη διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας και ίσης με 35° C, τα δύο διαμερίσματα φέρουν διπλά τοιχώματα

στα οποία ανακυκλοφορείται νερό με τη χρήση αντλίας ενιδρύου από ένα θερμοστατούμενο λουτρό. Τα δύο δοχεία επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω εξωτερικών σωληνώσεων, ενώ πραγματοποιείται χρονική εναλλαγή των διαμερισμάτων τροφοδοσίας και εκροής με τη χρήση δύο ηλεκτροβάνων (Εικόνα 8 και Εικόνα 9).



Εικόνα 8: Περιοδικός βιοαντιδραστήρας δύο διαμερισμάτων



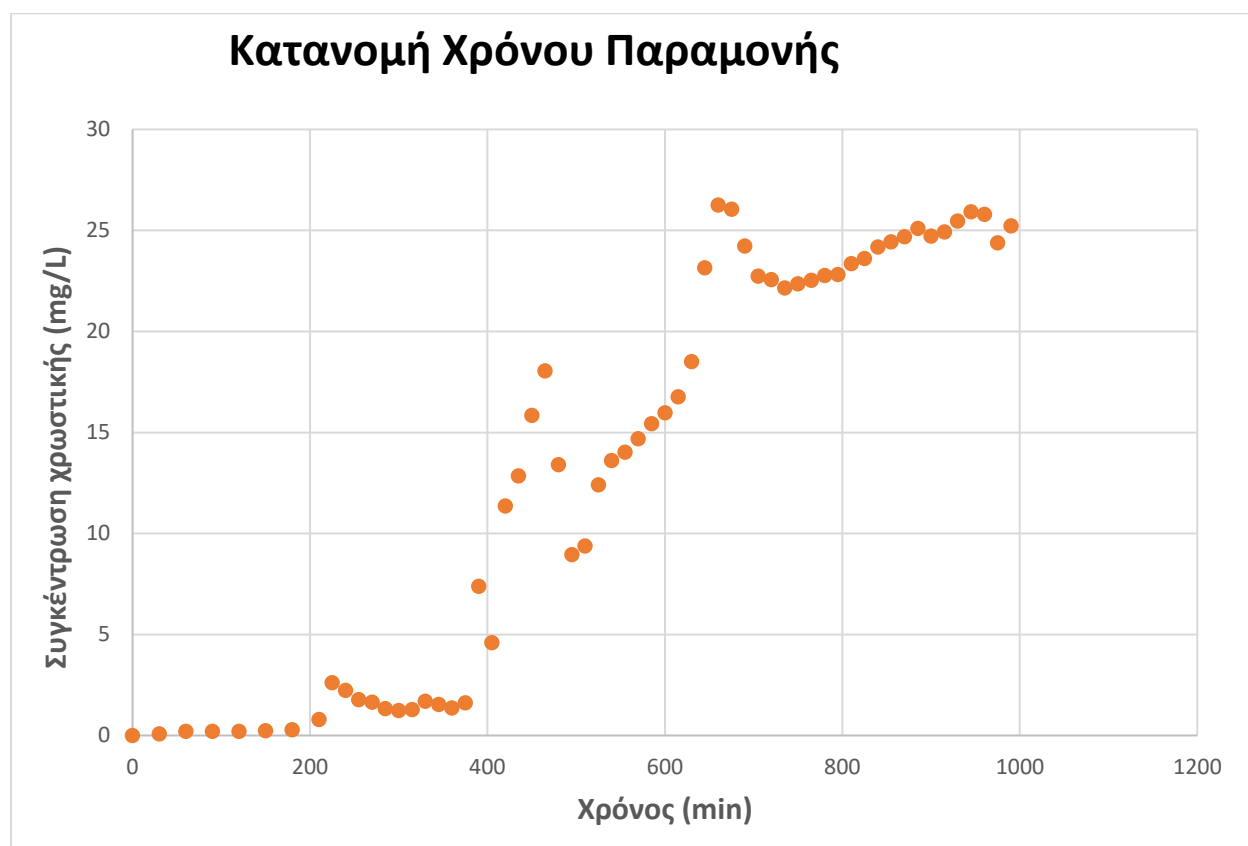
Εικόνα 9: Σχεδιάγραμμα λειτουργίας του περιοδικού βιοαντιδραστήρα δύο διαμερισμάτων. 1. Δοχείο ανάμειξης τροφοδοσίας, 2. Αντλία τροφοδοσίας 3. Ηλεκτροβάνες εναλλαγής του διαμερίσματος τροφοδοσίας 4. Ηλεκτροβάνες εναλλαγής του διαμερίσματος εξόδου. 5,6. Τα δύο διαφορετικά διαμερίσματα του περιοδικού αντιδραστήρα.

## 4. Παρουσίαση αποτελεσμάτων

### 4.1 Πείραμα κατανομής χρόνου παραμονής (RTD)

Τα αποτελέσματα του πειράματος κατανομής χρόνου παραμονής στον βιοαντιδραστήρα φαίνονται στο διάγραμμα 6. Ο συνολικός όγκος του αντιδραστήρα είναι 8 L και η ογκομετρική παροχή της αντλίας που χρησιμοποιήθηκε για την εκτέλεση του πειράματος κατανομής χρόνου παραμονής ήταν ίση με 12.5 mL / min. Βάση της ογκομετρικής παροχής της αντλίας υπολογίζεται ότι ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (Hydraulic Retention Time, H.R.T.) του βιοαντιδραστήρα, για τις συγκεκριμένες συνθήκες πρέπει να είναι ίσος με 640 min, δηλαδή απαιτείται χρόνος τροφοδότησης ίσος με 640 min για να ανανεωθεί όλος ο όγκος του αντιδραστήρα.

Πραγματοποιήθηκε βηματική επιβολή στην τροφοδοσία του αντιδραστήρα, τροφοδοτώντας υδατικό διάλυμα που περιείχε την χρωστική Ponceau 4R σε συγκέντρωση ίση με 40 mg / L. Ο αντιδραστήρας ήταν πληρωμένος με νερό πριν την επιβολή και δεν πραγματοποιήθηκε εναλλαγή των διαμερισμάτων. Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες ανά μισή ώρα από την εκκίνηση του πειράματος και προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της χρωστικής τα δείγματα που πάρθηκαν από την έξοδο του αντιδραστήρα.



Διάγραμμα 5: Αποτελέσματα Πειράματος Κατανομής Χρόνου Παραμονής

Ο χρόνος που πραγματοποιήθηκε το συγκεκριμένο πείραμα ήταν ίσος με 1000 min. Από τη θεωρία είναι γνωστό ότι ένας αντιδραστήρας χρειάζεται χρόνο ίσο με 3 φορές το H.R.T. του προκειμένου να καταλήξει κοντά σε μια κατάσταση ισορροπίας μετά από

μια επιβολή. Ο χρόνος που πραγματοποιήθηκε το συγκεκριμένο πείραμα δεν ήταν αρκετός αλλά υπήρχε επιτακτική ανάγκη έναρξης της λειτουργίας του αντιδραστήρα.

Παρατηρήθηκε από το διάγραμμα πως ο αντιδραστήρας 8 L, μετά από 200 min τροφοδοσίας αρχίζει να εμφανίζει σημαντική ποσότητα χρωστικής στην έξοδο του. Η απόκριση του αντιδραστήρα στην συγκεκριμένη επιβολή φαίνεται να παρομοιάζει αυτή αντιδραστήρα σε βηματική επιβολή. Επίσης, η μέγιστη συγκέντρωση που μετρήθηκε, κατά τις δειγματοληψίες, ήταν ίση με 26 mg / L. Η συγκεκριμένη τιμή αντιστοιχεί στο 66% της αρχικής συγκέντρωσης που τροφοδοτείται στον αντιδραστήρα, 40 mg / L. Επιτεύχθηκε, συγκέντρωση 66% της συγκέντρωσης τροφοδοσίας σε χρόνο ίσο με 1.5 φορές τον H.R.T. Το αναμενόμενο από τη θεωρία είναι να επιτευχθεί συγκέντρωση άνω του 95% της αρχικής σε χρόνο ίσο με 3 φορές τον H.R.T.

Στο διάγραμμα παρουσιάζεται μια περιοχή μεταξύ των 400 min και των 700 min, στην οποία οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν από το φωτόμετρο διέφεραν σημαντικά από τις υπόλοιπες στο ίδιο χρονικό διάστημα. Αυτό, ενδεχομένως, οφείλεται είτε σε αστοχία του φωτομέτρου ή σε ανθρώπινο λάθος κατά τη δειγματοληψία, τη μέτρηση και την προετοιμασία της συγκεκριμένης παρτίδας της τροφοδοσίας. Στα αποτελέσματα των συγκεκριμένων πειραμάτων κατανομής χρόνου παραμονής του αντιδραστήρα πρέπει να ληφθεί υπόψη και η ιδιαίτερη γεωμετρία του αντιδραστήρα που ωφελεί τη συσσώρευση της συγκέντρωσης της χρωστικής σε ένα από τα δύο δοχεία του, εξαιτίας της δημιουργίας δινών και το ενδεχόμενο αστοχιών της αντλίας που χρησιμοποιήθηκε για την τροφοδότηση.

#### 4.2 Λειτουργία Αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων

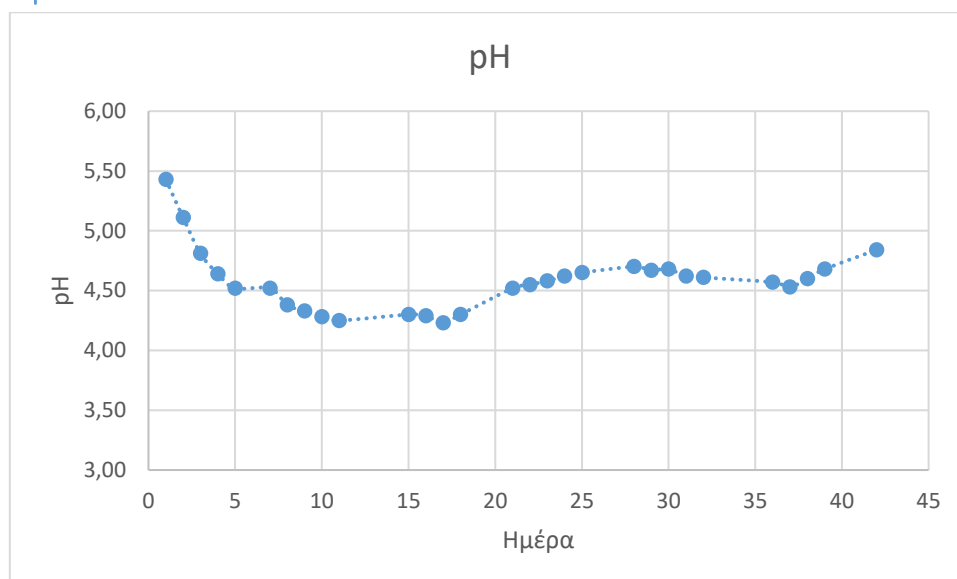
Κατά την έναρξη λειτουργίας του αντιδραστήρα, πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός της τάξης του 15% και ο αντιδραστήρας πληρώθηκε με το υδατικό διάλυμα μελάσας που περιγράφηκε ανωτέρω. Ο αντιδραστήρας λειτούργησε ως διαλείπωντος έργου για χρονικό διάστημα 5 ημερών οπότε και σταμάτησε η παραγωγή του βιοαερίου. Στη συνέχεια τέθηκε σε λειτουργία η αντλία τροφοδοσίας και ο αντιδραστήρας λειτούργησε ως συνεχούς λειτουργίας. Η λειτουργία της αντλίας τροφοδοσίας ελεγχόταν μέσω χρονοδιακόπτη και ήταν διακοπτόμενη. Ο HRT αντιστοιχούσε σε 12 ώρες και δεν πραγματοποιούταν εναλλαγή των διαμερισμάτων τροφοδοσίας εκροής. Το διαμέρισμα «1» λειτούργησε ως διαμέρισμα τροφοδοσίας και το διαμέρισμα «2» ως διαμέρισμα εκροής. Αντιδραστήρας λειτούργησε υπό αυτές τις συνθήκες για χρονικό διάστημα 42 ημερών. Καθ' όλη της διάρκεια του πειράματος δεν υπήρξε μηχανική ανάδευση του περιεχομένου των διαμερισμάτων και η λειτουργία του προσομοίαζε αυτή ενός αντιδραστήρα ABR. Τα δείγματα λαμβάνονταν στην έξοδο του διαμερίσματος 2.

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά του υδατικού διαλύματος μελάσας της τροφοδοσίας

Χαρακτηριστικά διαλύματος τροφοδοσίας	
pH	6,3
tCOD	10,92 g/L
sCOD	9.75 g/L
C:N:P	1000:5:1



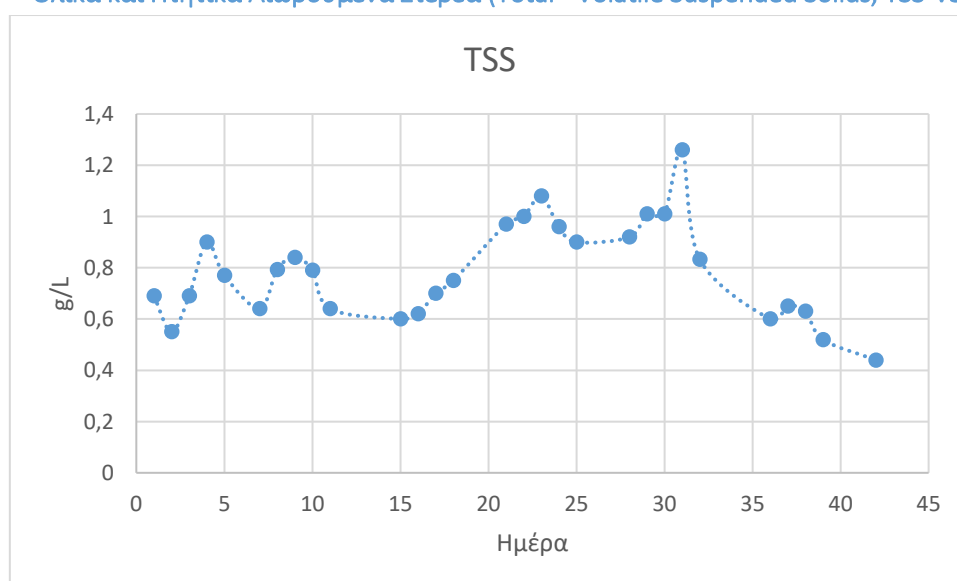
#### 4.2.1 pH



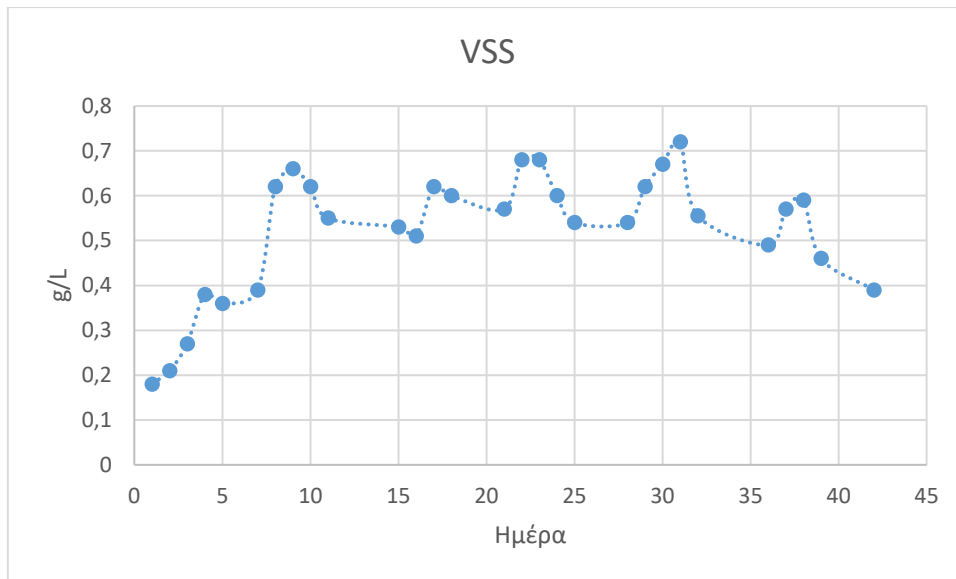
Διάγραμμα 6: Τιμές pH κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων

Κατά το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της λειτουργίας χωρίς εναλλαγή, το pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα παρέμεινε σταθερό. Αρχικά, ωστόσο, παρατηρείται μια πτωτική πορεία από το 5,5 έως το 4,25, που αποδίδεται στον εγκλιματισμό των μικροοργανισμών και τη μετάβαση από τις τιμές pH της τροφοδοσίας στις τιμές που τελικά επικρατούν στο εσωτερικό. Στη συνέχεια, το pH σταθεροποιείται στην περιοχή του 4,5 με ελαφρώς αυξητική τάση προς το πέρας του πειραματικού κύκλου. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το συγκεκριμένο εύρος τιμών είναι ευνοϊκό για τη ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου. Σημειώνεται πως κατά τη διάρκεια του πειράματος δεν έγινε χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων. Εκ του αποτελέσματος, η αυτορυθμιστική ικανότητα που παρουσίασε το σύστημα, καθιστά τη χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων μη αναγκαία.

#### 4.2.2 Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά (Total - Volatile Suspended Solids, TSS-VSS)



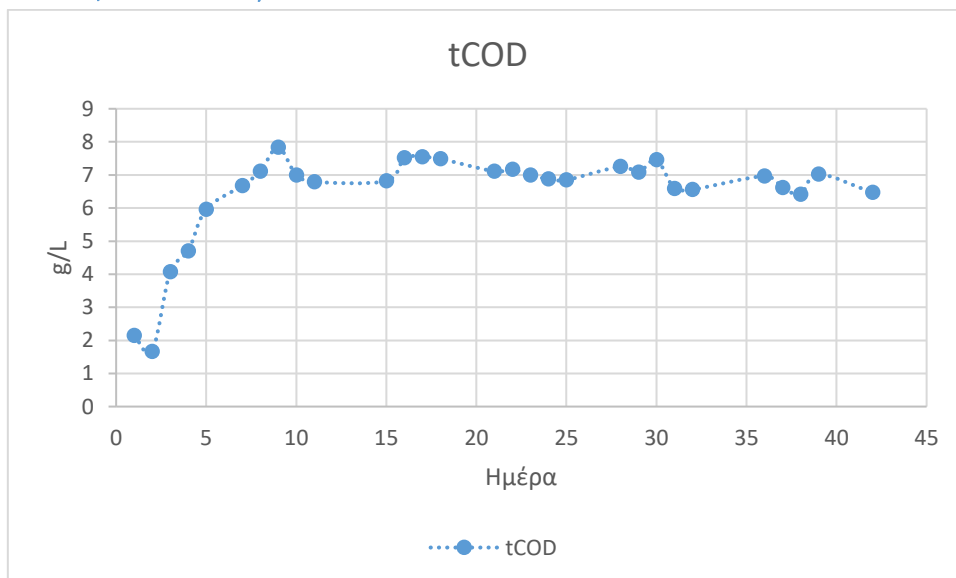
Διάγραμμα 7: Ολικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων



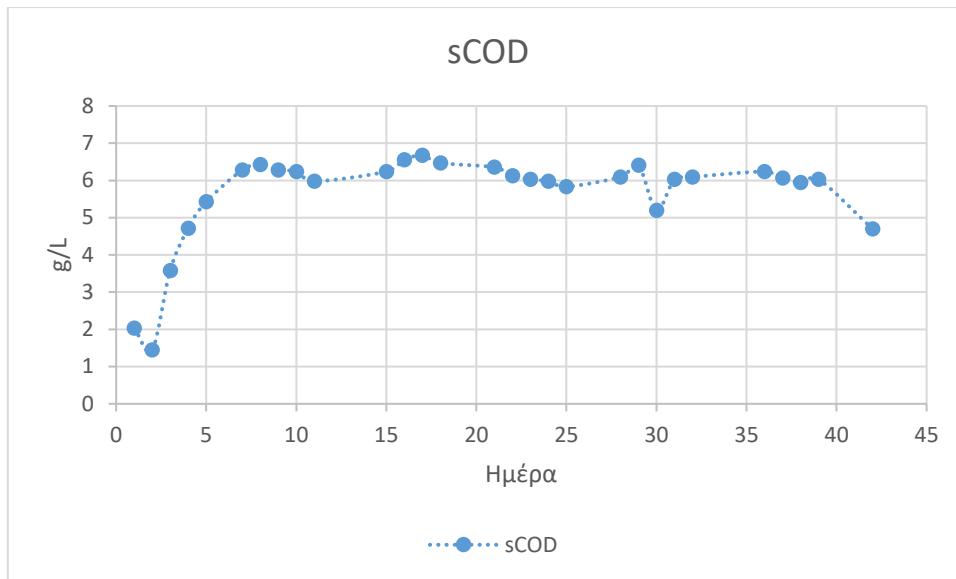
**Διάγραμμα 8: Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων**

Κατά τη διάρκεια του πειράματος παρατηρείται διακύμανση των ολικών και των πτητικών αιωρούμενων στερεών από 0.44 έως 1.26 g/L και από 0.18 έως 0.72 g/L αντίστοιχα. Τα VSS συνιστούν το μεγαλύτερο μέρος των TSS, γεγονός που μαρτυρά πως η πλειοψηφία των στερεών αποτελείται από οργανικές ενώσεις. Η αρχική αύξηση των VSS υποδεικνύει την ανάπτυξη της βιομάζας. Στη συνέχεια, η συμπεριφορά των VSS είναι ανάλογη αυτής των TSS.

#### 4.2.3 Ολικό και διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο (Total - Soluble Chemical Oxygen Demand, tCOD - sCOD)



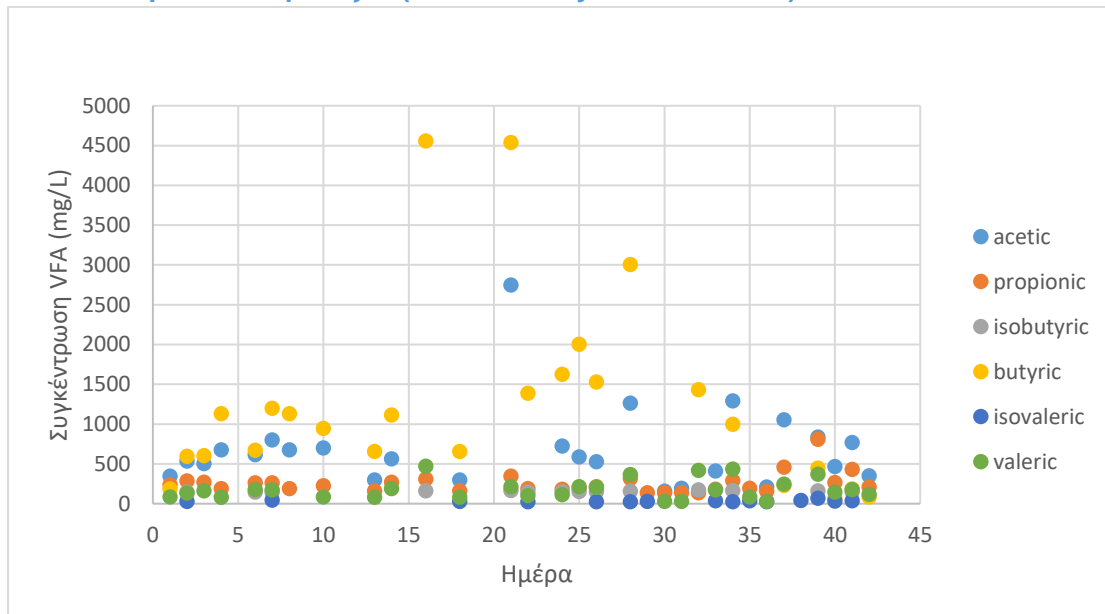
**Διάγραμμα 9: Ολικό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά τη λειτουργία χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων**



**Διάγραμμα 10: Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων**

Το ολικό COD της εξόδου του αντιδραστήρα έπειτα από τη δέκατη μέρα λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα σταθεροποιήθηκε στα περίπου 7g/L το οποίο αντιστοιχεί σε μία απομάκρυνση της τάξεως του 30%.

#### 4.2.4 Πτητικά λιπαρά οξέα (Volatile Fatty Acids – VFAs)



**Διάγραμμα 11: Πτητικά λιπαρά οξέα κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα χωρίς εναλλαγή των διαμερισμάτων**

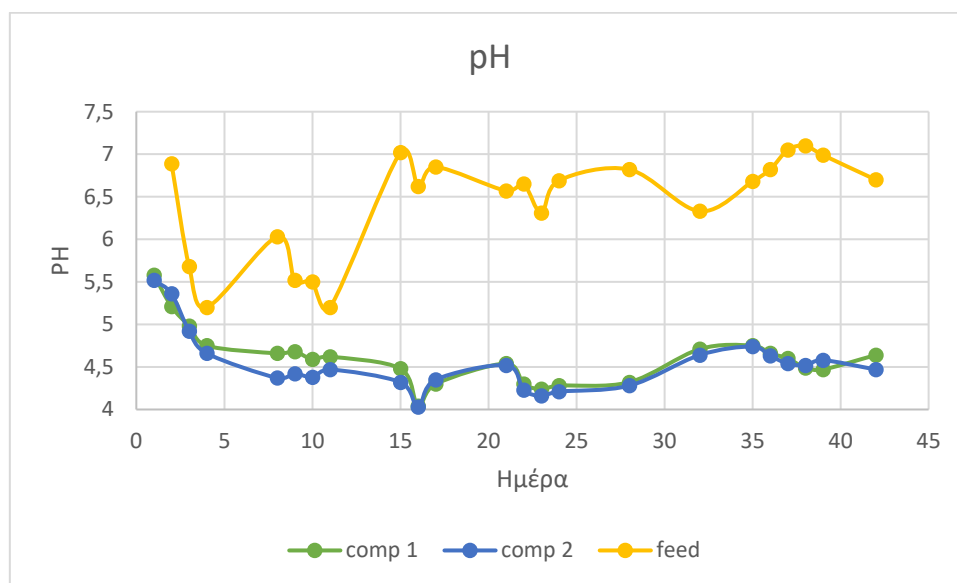
Καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου πειραμάτων χωρίς την περιοδική εναλλαγή των διαμερισμάτων η παρουσία πτητικών λιπαρών οξέων είναι εμφανής. Καθώς τα πτητικά λιπαρά οξέα παράγονται στη φάση της οξεογένεσης, η ύπαρξή τους είναι συνυφασμένη με την παραγωγή υδρογόνου. Κύριοι δείκτες της παραγωγής υδρογόνου είναι οι συγκεντρώσεις του οξικού οξέος και του βουτυρικού οξέος. Στο παρόν πείραμα η συγκέντρωση του οξικού οξέος βρίσκεται συνεχώς πάνω από την τιμή των 500 mg/L,

αντίστοιχα, το βουτυρικό οξύ παρουσιάζει ακόμη υψηλότερες συγκεντρώσεις. Επιβεβαιώνεται, δηλαδή πως πρόκειται για οξεογένεση και όχι ομοοξικογένεση, όπου καταναλώνεται υδρογόνο προς σχηματισμό οξικού οξέος. Τα λοιπά οξέα (προπιονικό, βαλερικό, ισοβαλερικό) κυμαίνονται σε τιμές χαμηλότερες των 500 mg/L. Η παραγωγή του προπιονικού συνάδει με την κατανάλωση του παραγόμενου  $H_2$  επομένως οι χαμηλές του τιμές δείχνουν ότι η συγκέντρωση των μικροοργανισμών αυτών ήταν ιδιαίτερα χαμηλή.

### 4.3 Περιοδική Λειτουργία Αντιδραστήρα

Έπειτα από χρονικό διάστημα 42 ημερών (Υποενότητα 4.1) ο αντιδραστήρας λειτούργησε με περιοδική εναλλαγή των διαμερισμάτων τροφοδοσίας και εκροής. Ο HRT διατηρήθηκε ίσος με 12 h, ενώ η περίοδος εναλλαγής των διαμερισμάτων ήταν ίση με 6 h. Στο συγκεκριμένο πείραμα τα ενδεικτικά «1» και «2» υποδηλώνουν την κατάσταση του διαμερίσματος – «1»: διαμέρισμα τροφοδοσίας, «2»: διαμέρισμα απορροής. Η δειγματοληψία γίνεται από το μέσο του κάθε διαμερίσματος.

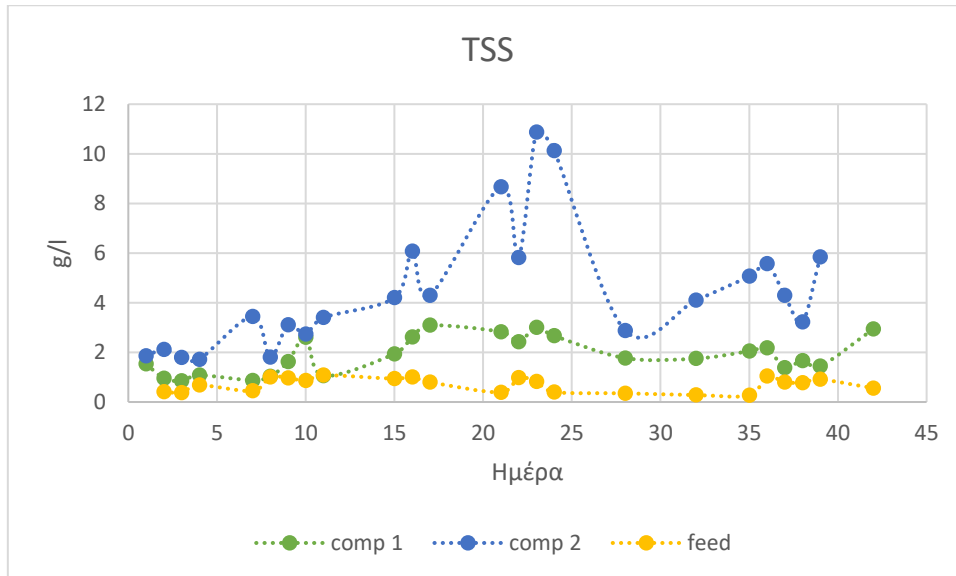
#### 4.3.1 pH



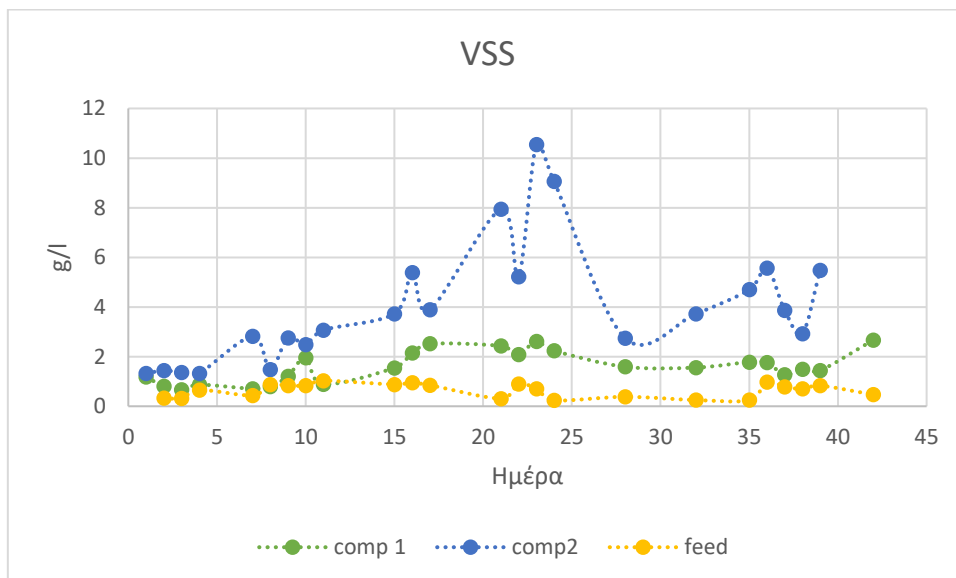
Διάγραμμα 12: Τιμές pH κατά την Περιοδική Λειτουργία

Κατά την περιοδική λειτουργία του αντιδραστήρα, τόσο το pH της τροφοδοσίας όσο και αυτό των δύο διαμερισμάτων παραμένουν σταθερά σε περιοχές κοντά στο 6,5 – 7 και στο 4,5 αντίστοιχα. Οι χαμηλότερες τιμές pH τροφοδοσίας στο αρχικό στάδιο αποδίδονται σε βλάβη του συστήματος ψύξης που προκάλεσε αλλοίωση της τροφοδοσίας. Μετά την αποκατάσταση της βλάβης, οι τιμές αποκαθίστανται. Όσον αφορά το εσωτερικό του αντιδραστήρα, η αυτορυθμιστική ικανότητα του συστήματος παραμένει και διατηρεί το pH εντός του επιθυμητού εύρους, χωρίς τη χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων.

#### 4.3.2 Ολικά και Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά (Total - Volatile Suspended Solids, TSS-VSS)



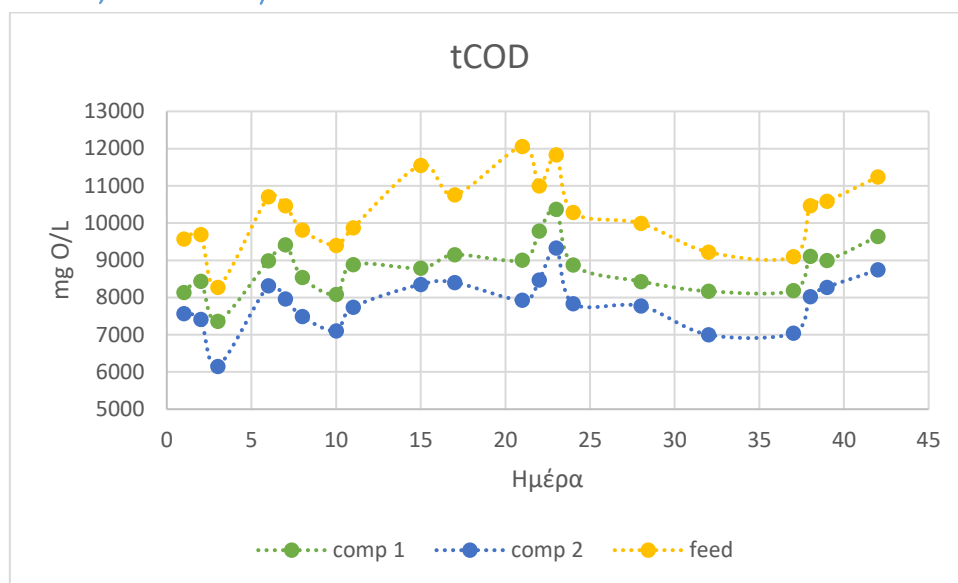
Διάγραμμα 13: Ολικά Αιωρούμενα Στερεά κατά την Περιοδική Λειτουργία



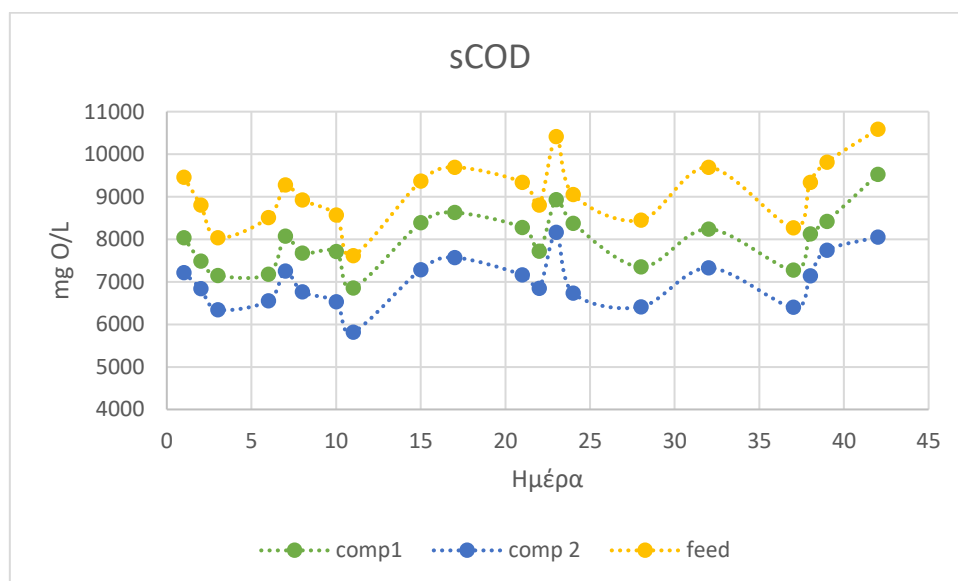
Διάγραμμα 14: Πτητικά Αιωρούμενα Στερεά κατά την Περιοδική Λειτουργία

Από τα διαγράμματα Ολικών και Πτητικών Αιωρούμενων Στερεών παρατηρείται, αρχικά, ότι οι τιμές TSS, VSS στην τροφοδοσία και στο διαμέρισμα εισόδου παραμένουν σταθερές, αλλά στο διαμέρισμα εξόδου υπάρχει διακύμανση. Αυτό υποδεικνύει συσσώρευση στερεών στο διαμέρισμα εξόδου. Το μεγαλύτερο ποσοστό των TSS αποτελείται από VSS, μαρτυρώντας πως τα στερεά είναι οργανικής προέλευσης. Η αύξηση των στερεών είναι δείκτης της αύξησης της βιομάζας που τείνει να δημιουργεί συσσωματώματα, και έπειτα να κροκιδώνεται και να καθιζάνει. Οι αυξομειώσεις των στερεών αποδίδονται στην απομάκρυνση βιομάζας από την απορροή καθώς κατά τις εναλλαγές του διαμερίσματος τροφοδοσίας επιβάλλεται μετακίνηση των συσσωματωμάτων βιομάζας.

#### 4.3.3 Ολικό και διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο (Total - Soluble Chemical Oxygen Demand, tCOD - sCOD)



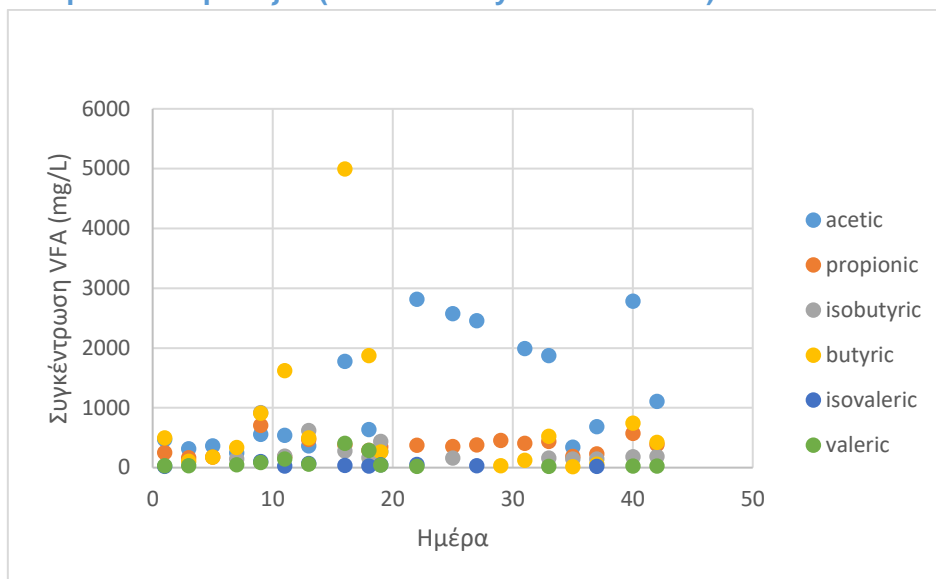
Διάγραμμα 15. Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά την Περιοδική Λειτουργία



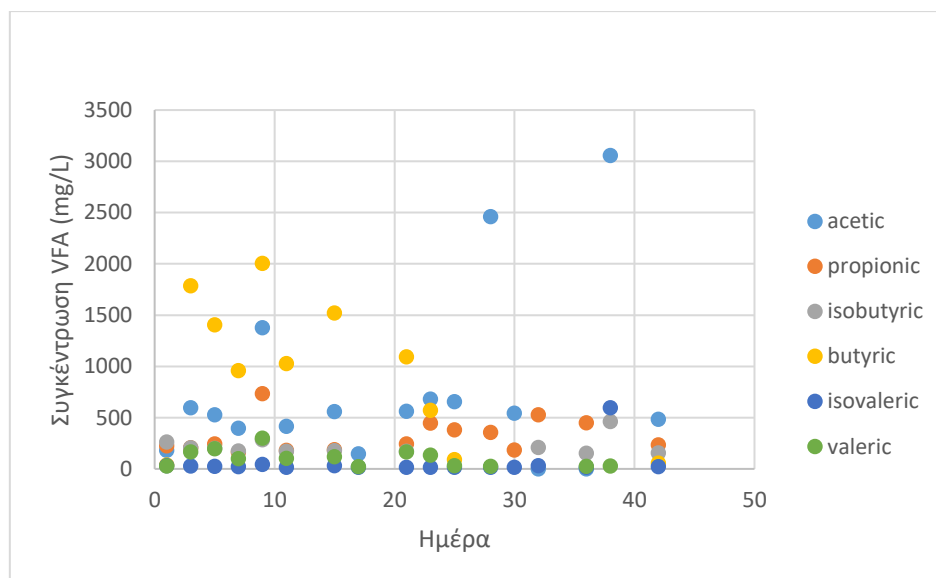
Διάγραμμα 16: Διαλυτό Χημικώς Απαιτούμενο Οξυγόνο κατά την Περιοδική Λειτουργία

Η συνολική απομάκρυνση τόσο του ολικού όσο και το διαλυτού COD κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα ήταν της τάξεως του 30%. Πρέπει να τονιστεί ότι τα δύο διαμερίσματα δεν εμφάνισαν σημαντική διαφοροποίηση ως προς τη λειτουργία τους, γεγονός που καταδεικνύει πως εμφανίζουν ίδια λειτουργικά χαρακτηριστικά και έχουν αναπτύξει παραπλήσια συγκέντρωση βιομάζας.

#### 4.3.4 Πτητικά λιπαρά οξέα (Volatile Fatty Acids – VFAs)



Διάγραμμα 17: Πτητικά λιπαρά οξέα στο διαμέρισμα τροφοδοσίας κατά την Περιοδική Λειτουργία



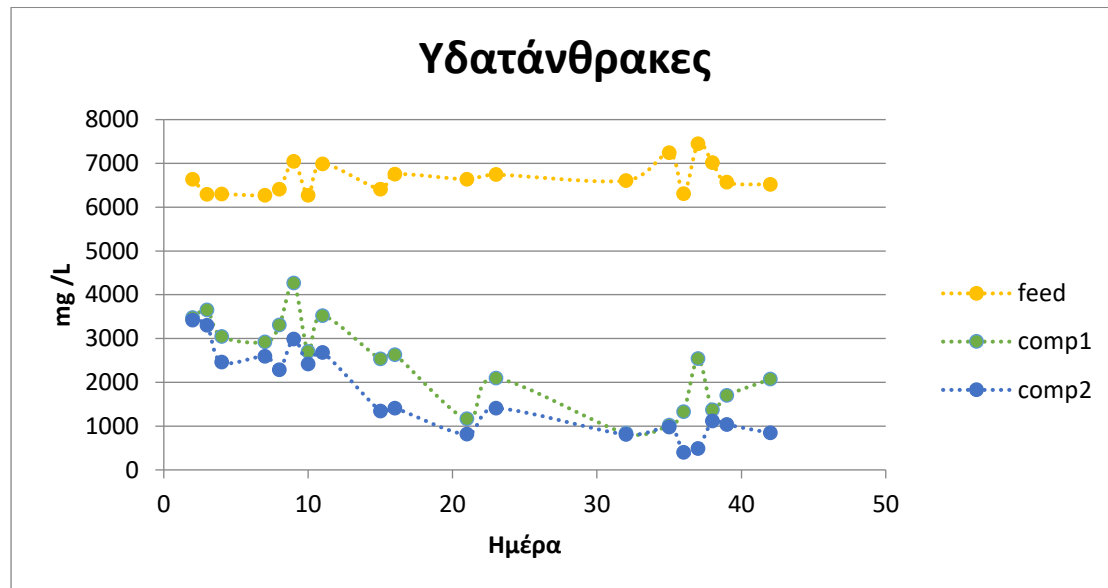
Διάγραμμα 18: Πτητικά λιπαρά οξέα στο διαμέρισμα απορροής κατά την Περιοδική Λειτουργία

Στην περιοδική λειτουργία του αντιδραστήρα, και τα δύο διαμερίσματα παρουσιάζουν εικόνα αντίστοιχη του προηγούμενου πειράματος. Επικρατέστερα VFAs είναι το οξικό και το βουτυρικό οξύ, συμβαδίζοντας με την βιβλιογραφία και μαρτυρώντας την παραγωγή βιοαερίου πλούσιου σε υδρογόνο.

Άξιο παρατήρησης είναι το γεγονός πως στο διαμέρισμα τροφοδοσίας η συγκέντρωση των VFAs είναι υψηλότερη στο διαμέρισμα εισόδου και μάλιστα πολλαπλάσια όσον αφορά τα κύρια, σε σχέση με αυτά του διαμερίσματος απορροής. Η συμπεριφορά αυτή υποδεικνύει τη σύσταση νέας βιομάζας που βρίσκεται στην εκθετική φάση ανάπτυξης και παράγει συνεχώς οξέα, ενώ οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις στο άλλο διαμέρισμα συνδέονται με συσσωματωμένη βιομάζα σε άλλη φάση ανάπτυξης που μεταφέρεται εκεί κατά την εναλλαγή.

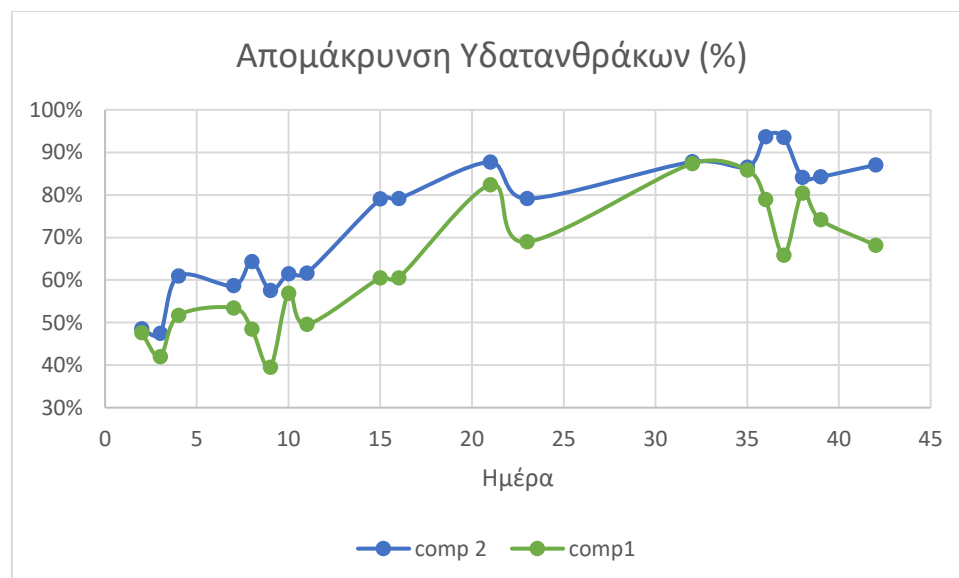
Τα λοιπά πτητικά λιπαρά οξέα εμφανίζουν χαμηλές συγκεντρώσεις, μην ξεπερνώντας τα 300 mg / L στο διαμέρισμα εκροής. Εξάιρεση αποτελεί το προπιονικό οξύ, που στο συγκεκριμένο διαμέρισμα παρουσιάζει αυξητική τάση.

#### 4.3.5 Υδατάνθρακες



Διάγραμμα 19: Συγκεντρώσεις Υδατανθράκων κατά την Περιοδική Λειτουργία

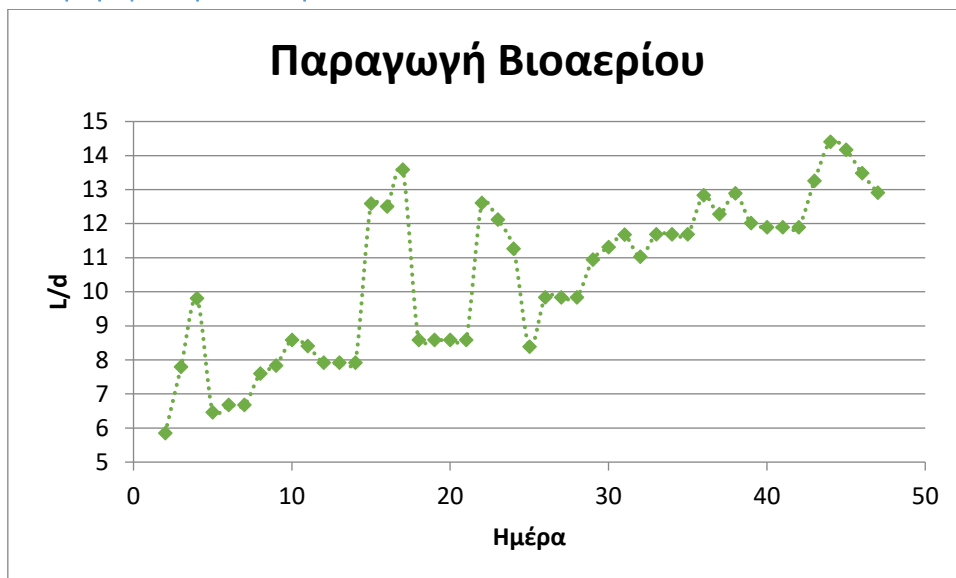
Κατά την περιοδική λειτουργία του αντιδραστήρα παρακολούθηθηκε και η συγκέντρωση των υδατανθράκων. Οι τιμές στην τροφοδοσία διατηρήθηκαν σταθερές στην περιοχή 6 - 7,5 g/L, ενώ διαπιστώθηκε σταθερή και παρόμοια απόκριση του συστήματος και στα δύο διαμερίσματα. Η μέγιστη συγκέντρωση υδατανθράκων εντός του αντιδραστήρα σπανίως ξεπερνούσε τα 3 g/L που μεταφράζεται σε ικανοποιητικά ποσοστά απομάκρυνσης και στα δύο διαμερίσματα. Συγκριτικά, ωστόσο η απομάκρυνση είναι μεγαλύτερη στο διαμέρισμα εξόδου (Διάγραμμα 20).



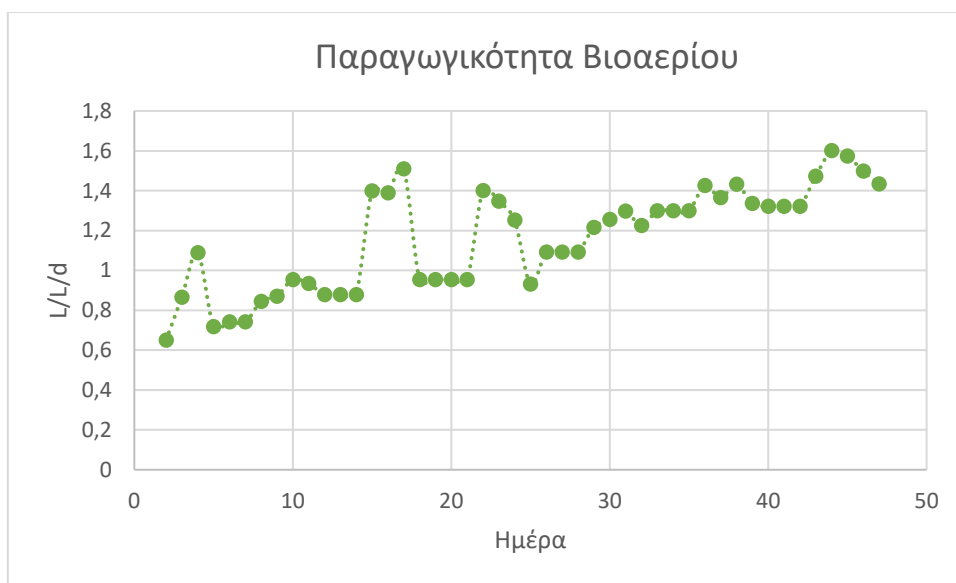
Διάγραμμα 20: Απομάκρυνση Υδατανθράκων κατά την Περιοδική Λειτουργία



#### 4.3.6 Παραγωγικότητα Βιοαερίου



Διάγραμμα 21: Παραγωγή Βιοαερίου ανά ημέρα κατά την Περιοδική Λειτουργία



Διάγραμμα 22: Παραγωγικότητα Βιοαερίου κατά την Περιοδική Λειτουργία

Η παραγωγή του βιοαερίου ακολουθεί διαρκώς αυξητική τάση γεγονός που αποδεικνύει ότι με την πάροδο του χρόνου η μεικτή καλλιέργεια εγκλιματίζεται όλο και καλύτερα. Παρότι στο Εργαστήριο Οργανικής Χημικής Τεχνολογίας την περίοδο υλοποίησης της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας δεν ήταν δυνατή η μέτρηση της σύστασης του βιοαερίου σε δείγματα αερίου που αναλύθηκαν σε συνεργαζόμενο εργαστήριο στο ΙΤΕ/ΙΕΧΜΗ η συγκέντρωση του υδρογόνου προσδιορίστηκε στο 40%. Τα δείγματα αυτά πάρθηκαν σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα και αποδεικνύεται ότι η ζυμωτική παραγωγή του υδρογόνου παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας.

## 5. Συμπεράσματα – Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε το κατά πόσο ο πιλοτικός Περιοδικός Αναερόβιος αντιδραστήρας δύο διαμερισμάτων μπορεί, μέσω της καινοτομίας του, να συνεισφέρει στην τεχνολογία παραγωγής βιο-υδρογόνου. Υπό τις συνθήκες που εξετάστηκαν η μέγιστη παραγωγικότητα σε βιοαέριο του αντιδραστήρα ανήλθε στα 1.6 L βιοαερίου ανά λίτρο αντιδραστήρα την ημέρα που αντιστοιχούν σε περίπου 0.4 L υδρογόνου ανά λίτρο αντιδραστήρα. Με την κατάλληλη ρύθμιση των λειτουργικών παραμέτρων η διεργασία είναι δυνατό να λειτουργεί με συνεχή τρόπο για διάστημα αρκετών μηνών.

Η παραγωγή του βιοαερίου κρίθηκε υψηλή και παρότι παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων δεν παρατηρήθηκε παρεμπόδιση της διεργασίας της οξεογένεσης και της παραγωγής υδρογόνου.

Σημαντική είναι η διαπίστωση πως το σύστημα έχει την ικανότητα να αυτορυθμίζει την τιμή του pH. Χωρίς τη χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων, το pH στο εσωτερικό του αντιδραστήρα παρέμεινε σταθερά εντός του εύρους που η βιβλιογραφία χαρακτηρίζει ιδανικό για τη βιολογική παραγωγή υδρογόνου, καθ' όλη την πειραματική διαδικασία.

Η παραγωγικότητα του βιοαερίου που καταγράφηκε στην παρούσα εργασία αφήνει περιθώρια για περαιτέρω πειραματισμό με τον συγκεκριμένο αντιδραστήρα. Η μεταβολή των παραμέτρων λειτουργίας του σε διαφορετικούς συνδυασμούς είναι αντικείμενο μελέτης. Είναι γνωστό πως η μείωση του χρόνου παραμονής δύναται να αυξήσει την περιεκτικότητα του βιοαερίου σε υδρογόνο, αλλά παρουσιάζει ενδιαφέρον και η απόκριση του συστήματος σε διαφορετικούς χρόνους εναλλαγής διαμερισμάτων.

Ακόμη, το υδατικό διάλυμα μελάσας ήταν ένα υπόστρωμα στο οποίο υπήρχε πρόσβαση και εξυπηρέτησε το σκοπό της εργασίας. Η λειτουργία του συστήματος με οργανικά απόβλητα ισχυρότερης δομής ή/και με υψηλότερο οργανικό φορτίο θα δοκίμαζε τα όρια του, ενώ δεν θα απέκλινε από την προσπάθεια για εφαρμογή της κυκλικής οικονομίας.

Επιπλέον, η μικρή απομάκρυνση COD, υποδεικνύει τη χρήση του συστήματος συνδεδεμένο σε σειρά με έναν αντιδραστήρα αναερόβιας χώνευσης για την από κοινού παράγωγή υδρογόνου και μεθανίου, αντιμετωπίζοντας ταυτόχρονα το πρόβλημα εκροής με υψηλό οργανικό φορτίο.

Ως προτάσεις για μελλοντική έρευνα προτείνεται η μοντελοποίηση της διεργασίας, η επανάληψη του πειράματος κατανομής του χρόνου παραμονής και η μελέτη των ρεολογικών χαρακτηριστικών με τη χρήση του προγράμματος comsol multiphysics.

## 6. Βιβλιογραφία

- Alberts et al., B., 2003. *Essential Cell Biology*. 2nd επιμ. New York: Garland Science.
- Alibardi, L. & Cossu, R., 2015. Composition variability of the organic fraction of municipal solid waste and effects on hydrogen and methane production potentials. *Waste Manag.*, Τόμος 36, pp. 147-155.
- Alibardi, L. & Cossu, R., 2016. Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products. *Waste Manag.*, Τόμος 47, pp. 69-77.
- Antonopoulou, G. και συν., 2008. Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. *Bioresour. Technol.*, 99(1), pp. 110-119.
- APHA, 2005. *Standard methods for the examination of water and waste water*. 21st επιμ. Washington, DC: American Public Health Association.
- Boone , D. R. & Bryant, M. P., 1980. Propionate-Degrading Bacterium, *Syntrophobacter wolinii* sp. nov. gen. nov., from Methanogenic Ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, September, 40(3), pp. 626-632.
- Boone, D. R., Johnson, R. L. & Liu, Y., 1989. 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.*, July, 55(7), pp. 1735-1741.
- Chang, F. Y. & Lin, C. Y., 2004. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29(1), pp. 33-39.
- Chen, J. S. & Mortenson, L. E., 1974. Purification and properties of hydrogenase from *Clostridium pasteurianum* W5. *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct.*, 371(2), pp. 283-298.
- Chen, W. H., Chen, S. Y., Khanal, S. K. & Sung, S., 2006. Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy*, 31(15), pp. 2170-2178.
- Cohen, A. και συν., 1985. Role of anaerobic spore-forming bacteria in the acidogenesis of glucose: Changes induced by discontinuous or low-rate feed supply. *Antoine Van Leeuwenhoek*, 51(2), pp. 179-192.
- Dabrock, B., Bahl, H. & Gottschalk, G., 1992. Parameters Affecting Solvent Production by *Clostridium pasteurianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, April, 58(4), pp. 1233-1239.
- Das, D. & Veziroğlu, T. N., 2001. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *Int. J. Hydrogen Energy*, 26(1), pp. 13-28.
- de Vrije, T. και συν., 2002. Pretreatment of *Miscanthus* for hydrogen production by *Thermotoga elfii*. *Int. J. Hydrogen Energy*, 27(11), pp. 1381-1390.

- Esposito, G., Weijma, J., Pirozzi, F. & Lens, P. N. L., 2003. Effect of the sludge retention time on H<sub>2</sub> utilization in a sulphate reducing gas-lift reactor. *Process Biochem.*, 39(4), pp. 491-498.
- Fang, H. H. P., Liu, H. & Zhang, T., 2002. Characterization of a hydrogen-producing granular sludge. *Biotechnol. Bioeng.*, 78(1), pp. 44-52.
- Garcia, A. J., Esteban, M. B., Marquez, M. C. & Ramos, P., 2005. Biodegradable municipal solid waste: Characterization and potential use as animal feedstuffs. *Waste Manag.*, 25(8), pp. 780-787.
- Ghosh, S., 1997. *Anaerobic digestion for renewable energy and environmental restoration. Proceedings of the 8th International Conference on Anaerobic Digestion.* Sendai, Japan, s.n.
- Hawkes, F. R., Dinsdale, R., Hawkes, D. L. & Hussy, I., 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. *Int. J. Hydrogen Energy*, pp. 1339-1347.
- Hemmes, K., 2015. Exploring New Production Methods of Hydrogen/Natural Gas Blends," in *Enriched Methane: The First Step Towards the Hydrogen Economy.* Springer, p. 201.
- Kim, I. S. και συν., 2004. Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29(11), pp. 1133-1140.
- Koesnandar, Nishio, N., Yamamoto, A. & Nagai, S., 1991. Enzymatic reduction of cystine into cysteine by cell-free extract of *Clostridium thermoaceticum*. *J. Ferment. Bioeng.*, 72(1), pp. 11-14.
- Kumar, G., Park, J. H., Kim, D. H. & Kim, S. H., 2014. Hydrogen fermentation of different galactose–glucose compositions during various hydraulic retention times (HRTs). *Int. J. Hydrogen Energy*, 39(35), pp. 20625-20631.
- Lay, J. J., 2001. Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose. *Biotechnol. Bioeng.*, 74(4), pp. 280-287.
- Lee, K. S., Lo, Y. C., Lin, P. J. & Chang, J. S., 2003. H<sub>2</sub> production with anaerobic sludge using activated-carbon supported packed-bed bioreactors. *Biotechnol. Lett.*, 25(2), pp. 133-138.
- Lee, Y. J., Miyahara, T. & Noike, T., 2001. Effect of iron concentration on hydrogen fermentation. *Bioresour. Technol.*, 80(3), pp. 227-231.
- Lee, Z. K. και συν., 2008. Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(19), pp. 5234-5241.
- Levin, D. B., Pitt, L. & Love, M., 2004. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29(2), pp. 173-185.

- Lin, C. Y. & Lay, C. H., 2004. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29(1), pp. 41-45.
- Mathews, J. & Wang., G., 2009. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy*, 34(17), pp. 7404-7416.
- Mcinerney, M. J. & Bryant, M. P., 1981. Basic Principles of Bioconversions in Anaerobic Digestion and Methanogenesis. Στο: *Biomass Conversion Processes for Energy and Fuels*. Boston: Springer, pp. 277-296.
- Nakamura, M., Kanbe, H. & Matsumoto, J., 1993. 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.*, 28(7), pp. 81-88.
- Noike, T. & Mizuno, O., 2000. Hydrogen fermentation of organic municipal wastes,. *Water Science and Technology*, 42(12), pp. 155-162.
- Noike, T., Takabatake, H., Mizuno, O. & Ohba, M., 2002. Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria. *Int. J. Hydrogen Energy*, 27(11), pp. 1367-1371.
- Palazzi, E., Fabiano, B. & Perego, P., 2000. Process development of continuous hydrogen production by *Enterobacter aerogenes* in a packed column reactor. *Bioprocess Eng*, 22(3), pp. 205-213.
- Ramachandran, R. & Menon, R. K., 1998. An overview of industrial uses of hydrogen. *Int. J. Hydrogen Energy*, 23(7), pp. 593-598.
- Rosen, M. A. & Scott, D. S., 1998. Comparative efficiency assessments for a range of hydrogen production processes. *Int. J Hydrogen Energy*, 23(8), pp. 653-659.
- Sansaniwal, S. K., Rosen , M. A. & Tyagi, S. K., 2017. Global challenges in the sustainable development of biomass gasification: An overview. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, Τόμος 80, pp. 23-43.
- Shuler, M. L. & Kargi, F., 2002. *Bioprocess engineering: Basic concepts*. 2nd επιμ. Prentice Hall : PTR.
- Silva-Illanes, F. και συν., 2017. Impact of hydraulic retention time (HRT) and pH on dark fermentative hydrogen production from glycerol. *Energy*, Τόμος 141, pp. 358-367.
- Simpson, J. R., 1960. Some aspects of the biochemistry of anaerobic digestion. Στο: *Waste Treatment*. s.l.:Pergamon, pp. 31-51.
- Skiadas, I. V. & Lyberatos, G., 1998. The Periodic Anaerobic Baffled Reactor. *Water Research*, Τόμος 38, pp. 401-408.
- Suzuki, T. & Sakurai, Y., 2006. Effect of Hydrogen rich gas and gasoline mixed combustion on spark ignition engine. *SAE Technical Paper*.

Thiel, P. G. και συν., 1968. Interrelations between biological and chemical characteristics in anaerobic digestion. *Water Res.*, 2(6), pp. 391-408.

Ueno, Y. και συν., 1995. Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora. *J. Ferment. Bioeng.*, 79(4), pp. 395-397.

Wang, C. C. και συν., 2003. Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*. *J. Biotechnol.*, 102(1), pp. 83-92.

Wang, X. και συν., 2007. The isolation and microbial community analysis of hydrogen producing bacteria from activated sludge. *J. Appl. Microbiol.*, 103(5), pp. 1415-1423.

Winter, C. J., 2005. Into the hydrogen energy economy—milestones,. *Int. J. Hydrogen Energy*, 30(7), pp. 681-685.

Yu, H. Q. & Fang, H. H. P., 2001. Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters. *Water Res.*, 35(15), pp. 3697-3705.

Zhang, S., Kim, T. H., Lee, Y. & Hwang, S. J., 2012. Effects of VFAs Concentration on Bio-hydrogen Production with *Clostridium Bifermentans* 3AT-ma. *Energy Procedia*, Τόμος 14, pp. 518-523.

Α. Παππά, 2004. *Φυσικές μέθοδοι ανάλυσης : Χρωματογραφικές , Θερμικές , Ηλεκτρομετρικές Μέθοδοι , Φασματομετρία Μάζας*. Αθίνα: Ε.Μ.Π.

Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2010. *Η Κυκλική οικονομία: Συνδέοντας, δημιουργώντας και διατηρώντας την αξία*, s.l.: Υπηρεσία Εκδόσεων.

Σκιαδάς, Ι., 1998. *Περιοδικός Αναερόβιος Χωνευτήρας Εναλλασσόμενης Καθοδικής και Ανοδικής Ροής*, Διαδακτορική Διατριβή: Πανεπιστήμιο Πατρών.