



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

**Ανάπτυξη Μικροοργανισμών στην Εφοδιαστική
Αλυσίδα των Πετρελαιοειδών και Επιπτώσεις από τη
Χρήση Ανανεώσιμων Υποκατάστατων**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΣΕΣΜΕΛΗ ΧΡΥΣΟΒΑΛΑΝΤΗ

Διπλ. Χημικού Μηχανικού Ε.Μ.Π.

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ:

Φ. ΖΑΝΝΙΚΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε.Μ.Π.

Αθήνα, 2019



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

**Ανάπτυξη Μικροοργανισμών στην Εφοδιαστική
Αλυσίδα των Πετρελαιοειδών και Επιπτώσεις από τη
Χρήση Ανανεώσιμων Υποκατάστατων**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΣΕΣΜΕΛΗ ΧΡΥΣΟΒΑΛΑΝΤΗ

Διπλ. Χημικού Μηχανικού Ε.Μ.Π.

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ
ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

1. Φ. ΖΑΝΝΙΚΟΣ, Καθ. Ε.Μ.Π.
(Επιβλέπων)
2. Ε. ΛΟΗΣ, Καθ. Ε.Μ.Π.
3. Δ. ΚΑΡΩΝΗΣ, Αν. Καθ. Ε.Μ.Π.

**ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ
ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

1. Α. ΑΝΔΡΕΟΠΟΥΛΟΣ, Καθ.
Ε.Μ.Π.
2. Φ. ΖΑΝΝΙΚΟΣ, Καθ. Ε.Μ.Π.
(Επιβλέπων)
3. Σ. ΚΑΛΛΙΓΕΡΟΣ, Επίκ. Καθ.
ΣΝΔ
4. Δ. ΚΑΡΩΝΗΣ, Αν. Καθ. Ε.Μ.Π.
5. Δ. ΚΕΚΟΣ, Καθ. Ε.Μ.Π.
6. Ε. ΛΟΗΣ, Καθ. Ε.Μ.Π.
7. Ν. ΠΑΣΑΔΑΚΗΣ, Καθ.
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ

Αθήνα, 2019

Η παρούσα διδακτορική διατριβή χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ) – General Secretariat for Research and Technology (GSRT) και το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ) – Hellenic Foundation for Research and Innovation (HFRI).



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανώτατη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε. Μ. Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα (Ν. 5343/1932, Άρθρο 202)»

“ΑΥΤΟΣ

ο κόσμος ο μικρός, ο μέγας!”

Οδυσσέας Ελύτης, Το Άξιον Εστί

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική έρευνα εμβαθύνει στο σύγχρονο ζήτημα της ανάπτυξης μικροοργανισμών στην ενεργειακή εφοδιαστική αλυσίδα καυσίμων, υπό την επίδραση της σταδιακής υποκατάστασης των συμβατικών πετρελαιοειδών από τα ανανεώσιμα βιοκαύσιμα. Η μελέτη αυτή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Καυσίμων και Λιπαντικών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, την περίοδο 2015 - 2019 στα πλαίσια υποτροφίας αριστείας που χορηγήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ) και το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ).

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Φανούριο Ζαννίκο αφενός για την ανάθεση της διατριβής αυτής και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την αρχή και καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής και αφετέρου για τη συνεχή ενθάρρυνση και τη δυνατότητα που μου έδωσε να αναδείξω τα επιμέρους ερευνητικά αποτελέσματα της διατριβής μέσω ανακοινώσεων σε διεθνή συνέδρια.

Αντίστοιχα, ευχαριστώ ιδιαιτέρως τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, Καθηγητή κ. Ευριπίδη Λόη, για την υποστήριξη του καθ' όλη τη διάρκεια της διατριβής, και τον Καθηγητή κ. Δημήτριο Καρώνη για τις πολύτιμες υποδείξεις και συμβουλές, καθώς και για το άψογο κλίμα συνεργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Δρ. Γεώργιο Αναστόπουλο για τις εύστοχες πάντα επιστημονικές του υποδείξεις. Οι γνώσεις του, οι συμβουλές του και οι συζητήσεις υπήρξαν καταλυτικές για την υλοποίηση της διατριβής.

Φυσικά δεν μπορώ να μην ευχαριστήσω το συνάδελφο και συνεργάτη, Δρ. Γεώργιο Ντόντο, για την ιδιαίτερα σημαντική συνεισφορά του στο σχεδιασμό, στη διεξαγωγή και στην ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής. Η υποστήριξη και η συμβολή του ήταν καθοριστικές τόσο στην υλοποίηση της διατριβής αλλά και στη δημοσίευση των ερευνητικών αποτελεσμάτων σε επιστημονικά περιοδικά και διεθνή συνέδρια.

Αντιστοίχως ευχαριστώ τον Δρ. Αλέξανδρο Δεληγιάννη για τις πολύτιμες υποδείξεις του, τη Δρ. Δέσποινα Χείλαρη για την βοήθειά της, καθώς και τους υπόλοιπους φίλους και συναδέλφους – τον Δρ. Ηρακλή Ζάχο – Σιάγκο, τη Δρ. Μαίρη Ατζέμη, τη Δρ. Υπατία Ζαννίκου και την Υ.Δ. Δώρα Τυροβολά, - όπως και όλα τα μέλη και συνεργάτες του εργαστηρίου για την αगाστή συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον Δρ. Πέτρο Σχοινά για τη καθοριστική βοήθειά του για τη χρηματοδότηση της παρούσας έρευνας από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ) και το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ).

Επίσης, ευχαριστώ τους φοιτητές, και πλέον Διπλ. Χημικούς Μηχανικούς, κ.κ. Ιωάννη Τσίτσιο, Μιχάλη Πέππα και Μίλτο Καϊλή, για την ιδιαίτερος ευχάριστη συνεργασία και για την συνεισφορά τους στην ολοκλήρωση της διατριβής.

Τέλος, θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους όσους ήταν κοντά μου και με στήριξαν ουσιαστικά, σεβόμενοι τις προτεραιότητες μου και που με το τρόπο τους συνέβαλλαν ενθαρρυντικά στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής. Πρωτίστως, οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου που μου πρόσφερε και συνεχίζει απρόσκοπτα να μου παρέχει αμέριστη υποστήριξη και εμπιστοσύνη σε κάθε βήμα μου. Ευχαριστώ, επίσης, όλους τους φίλους μου για την συμπαράστασή τους, και ιδιαίτερος το Βασίλη για την υπομονή του, την ανιδιοτελή υποστήριξη και τη συνεχή ενθάρρυνση.

Περίληψη

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εστιάζει στην μελέτη και την αντιμετώπιση της μικροβιακής ανάπτυξης στα συμβατικά πετρελαιοειδή από την υποκατάστασή τους με ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα. Σύμφωνα με τις σύγχρονες περιβαλλοντικές τάσεις, οι ευρωπαϊκές οδηγίες και τα πρότυπα ποιότητας που διέπουν τα καύσιμα τόσο των επίγειων όσο και των θαλάσσιων μεταφορών, προβλέπουν την προσθήκη βιοκαυσίμων και εναλλακτικών πηγών ενέργειας. Συγκεκριμένα, τα πρότυπα EN 590 και EN228 επιτάσσουν την υποκατάσταση του ντήζελ κίνησης και της αμόλυβδης βενζίνης από βιοντήζελ (έως και 7% κ.ό.) και βιοιθανόλη (έως και 10% κ.ό.), αντίστοιχα. Προς την ίδια κατεύθυνση, η τελευταία έκδοση του ISO 8217:2017 αναφέρεται στη δυνατότητα προσθήκης βιοκαυσίμων, όπως τα FAME και HVO, στα αποσταγματικά ναυτιλιακά καύσιμα και θέτει νέες προδιαγραφές για τα κλάσματα που θα περιέχουν FAME έως και 7% κ.ό. (DFA, DFZ, DFB). Λαμβάνοντας υπόψιν την αυξημένη καταγραφή κρουσμάτων στην εφοδιαστική αλυσίδα του ντήζελ κίνησης, τα οποία σχετίζονται με το φαινόμενο της μικροβιακής επιμόλυνσης και αποδίδονται κυρίως στην προσθήκη του βιοντήζελ, κρίνεται σκόπιμη και ιδιαιτέρως επίκαιρη, η διερεύνηση της επίδρασης των δυνητικών υποκατάστατων των πετρελαϊκών προϊόντων στην μικροβιακή τους σταθερότητα. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην αντιμετώπιση του φαινομένου και στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των έως τώρα, αλλά και των δυνητικών μελλοντικών στρατηγικών.

Με γνώμονα τα προαναφερθέντα, στο πρώτο μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής μελετήθηκε η επίπτωση της προσθήκης ανανεώσιμων και εναλλακτικών υποκατάστατων στην μικροβιακή σταθερότητα των συμβατικών καυσίμων ντήζελ κίνησης, αμόλυβδης βενζίνης καθώς και ναυτιλιακών καυσίμων. Αρχικά, διερευνήθηκε η συμπεριφορά των ανανεώσιμων και συνθετικών καυσίμων, τα οποία δύνανται να υποκαταστήσουν ή και να αντικαταστήσουν πλήρως το πετρελαϊκό ντήζελ, έναντι του πολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών. Εκ των εξεταζόμενων καυσίμων, το βιοντήζελ αποδείχθηκε περισσότερο επιρρεπές στην μικροβιακή ανάπτυξη, ενώ τα υπόλοιπα βιοκαύσιμα και συνθετικά καύσιμα έδειξαν τουλάχιστον παρόμοια συμπεριφορά έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας, με αυτή του συμβατικού πετρελαϊκού ντήζελ κίνησης. Παράμετροι, όπως η σύσταση των λιπαρών οξέων ή η διακλάδωση στο μόριο του καυσίμου, φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο στο βαθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Στη συνέχεια, εξετάστηκε μια σειρά αλκοολών που μπορούν να αποτελέσουν ανανεώσιμα οξυγονούχα συστατικά της αμόλυβδης βενζίνης – EtOH, IPA, TBA – όπου σε γενικές γραμμές παρατηρήθηκε αναστολή της μικροβιακής δραστηριότητας με την προσθήκη αυτών. Παρόμοια, οι αλκοόλες θεωρούνται ως πιθανά υποκατάστατα και του συμβατικού πετρελαίου ντήζελ κίνησης και συγκεκριμένα η βουτανόλη φαίνεται να είναι η επικρατέστερη υποψήφια,

καθώς επιδεικνύει καλύτερες ιδιότητες ανάμειξης σε σχέση με την αιθανόλη. Συνεπώς, διερευνήθηκε η επίδραση της βουτανόλης σε μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ, όσον αφορά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εν λόγω μιγμάτων, με έμφαση στη μικροβιακή και οξειδωτική σταθερότητα. Η βουτανόλη συνέβαλε στην αύξηση της σταθερότητας - οξειδωτική και μικροβιακή - των τριαδικών μιγμάτων σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δυαδικά B7 και B20. Ανάλογη έρευνα πραγματοποιήθηκε και σε δύο συμβατικά ναυτιλιακά αποστάγματα, όπου εξετάστηκε η επίδραση τεσσάρων διαφορετικών ειδών FAME και δύο εναλλακτικών παραφινικών καυσίμων ντήζελ (HVO και GTL) στις ιδιότητες και στη σταθερότητα τους, έπειτα από την προσθήκη αυτών στο ανώτατο επιτρεπόμενο όριο που ορίζει το ISO 8217:2017 για τα FAME, ήτοι 7% κ.ό. Σύμφωνα με τα ευρήματα που προέκυψαν, η παρουσία των FAME στα ναυτιλιακά καύσιμα δημιουργεί ένα ευνοϊκότερο περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς και ως εκ τούτου ο πολλαπλασιασμός τους ήταν ευχερέστερος και ταχύτερος. Από την άλλη πλευρά, αν και η μικροβιακή δραστηριότητα ήταν μεν πιο περιορισμένη, τα ναυτιλιακά gasoils και τα μίγματά τους με HVO και GTL δεν βρέθηκαν να είναι ανασταλτικά υποστρώματα της μικροβιακής δράσης. Εντούτοις, τα υποκατάστατα αυτά δε φαίνεται να συνεισφέρουν στον περαιτέρω πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών συγκριτικά με το FAME.

Στο δεύτερο μέρος της διατριβής, μελετήθηκε και αξιολογήθηκε η στρατηγική αντιμετώπισης μιας υφιστάμενης μικροβιακής επιμόλυνσης με την εφαρμογή τόσο ενός εμπορικού αντιμικροβιακού παράγοντα, όσο και μιας σειράς άλλων προσθέτων, των οποίων η χρήση είναι διαδεδομένη στα συστήματα καυσίμων ντήζελ/βιοντήζελ. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η επίδραση ενός εμπορικά διαθέσιμου αντιμικροβιακού προϊόντος στην μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ και του αντίστοιχου μίγματος B7 σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και χρονικές στιγμές εφαρμογής. Η αποτελεσματικότητα της βιοκτόνου ουσίας εξετάστηκε μέσω προσδιορισμού των αδιάλυτων στερεών και του ενεργού μικροβιακού φορτίου. Το φορτίο των αδιάλυτων σωματιδίων των υπό μελέτη μικρόκοσμων προσδιορίστηκε με μία μέθοδο που αναπτύχθηκε στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, η οποία βασίζεται στην καταμέτρηση των συνολικών στερεών (αβιοτικών και μη) της υδατικής φάσης και της φάσης καυσίμων μέσω τεχνικών διήθησης. Με αυτή τη διεργασία επιχειρήθηκε μια ποσοτική αξιολόγηση της επίδρασης της μικροβιακής δραστηριότητας στο σχηματισμό μη επιθυμητών αδιάλυτων στερεών ενώ δύναται επίσης, να αναπτυχθεί μεθοδολογία η οποία να επιτρέπει μια αρχική αξιολόγηση του ενδεχόμενου μικροβιακού φορτίου στο καύσιμο προτού εφαρμοστούν εξειδικευμένες μικροβιολογικές τεχνικές. Από την παραπάνω μελέτη, παρατηρήθηκε ότι η παρουσία του βιοκτόνου καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης φαίνεται να αναστέλλει τη μικροβιακή ανάπτυξη του μίγματος B7, ενώ σχεδόν καμία θετική επίδραση δεν παρατηρήθηκε στην περίπτωση του FAME. Υπό αμφισβήτηση δε, τίθεται η αποτελεσματικότητα της προσθήκης του προϊόντος σε υψηλή συγκέντρωση, η οποία αποτελεί την πιο κοινή στρατηγική

αντιμετώπισης, στο τέλος της αποθήκευσης, καθώς παρόλο που επιτεύχθηκε δραστική μείωση του μικροβιακού φορτίου, η συγκέντρωση των αιωρούμενων σωματιδίων δε μεταβλήθηκε. Στην συνέχεια, εξετάστηκε η επίδραση διαφόρων βελτιωτικών προσθέτων, στη μικροβιακή σταθερότητα των συστημάτων ντήζελ/βιοντήζελ. Τα αντιοξειδωτικά, τα βελτιωτικά του αριθμού κετανίου και των ιδιοτήτων ψυχρής ροής, καθώς και τα καθαριστικά και τα αντιδιαβρωτικά είναι τα πιο διαδεδομένα είδη χημικών εμπορικών προσθέτων που εφαρμόζονται στα εν λόγω καύσιμα. Συνολικά δέκα αντιοξειδωτικές φαινολικές ουσίες προστέθηκαν σε δύο είδη βιοντήζελ σε συγκεντρώσεις των 1000, 200 και 50 ppm ενώ εξετάστηκε και η αποτελεσματικότητα των πιο δραστικών εξ' αυτών σε μίγματα βιοντήζελ με πετρελαϊκό ντήζελ κίνησης σε συγκέντρωση 7% κ.ό. Από το σύνολο των εξετασθέντων φαινολικών ενώσεων, η υδροκινόνη (TBHQ) και οι δύο κατεχόλες (MCT και TBC) αποδείχθηκαν αρκετά αποτελεσματικές και ως αντιμικροβιακά πρόσθετα. Ικανοποιητική αντιμικροβιακή δράση παρατηρήθηκε και στην περίπτωση των PY και PG ενώ τα φαινολικά οξέα (CFA, GA και PCA) μολονότι επέδειξαν αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση, οι αντιμικροβιακές τους ιδιότητες στο βιοντήζελ δεν ήταν ικανοποιητικές και μόνο το υδροξυκιναμικό οξύ (CFA) παρουσίασε ένα μέτριο επίπεδο δραστικότητας έναντι του μικροβιακού φορτίου. Τα μονο-υδρικά και αρκετά διαδεδομένα αντιοξειδωτικά BHT και BHA δεν είχαν την ικανότητα να βελτιώσουν την μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ. Τέλος, εξετάστηκε και μια σειρά εμπορικών προσθέτων που χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση του αριθμού κετανίου, των ιδιοτήτων ψυχρής ροής, καθώς και για την αναστολή της διάβρωσης των μετάλλων, στο πετρέλαιο κίνησης. Στην προτεινόμενη συγκέντρωση ανάμιξης, τα βελτιωτικά των ιδιοτήτων ψυχρής ροής και του αριθμού κετανίου περιόρισαν την μικροβιακή ανάπτυξη, ενώ δράση μεγαλύτερης διάρκειας καταγράφηκε στις περιπτώσεις του προσθέτου ευρείας δράσης, του απενεργοποιητή μετάλλων και του αναστολέα της διάβρωσης. Η εισαγωγή των προσθέτων για την ενίσχυση των ψυχρών ιδιοτήτων και του αριθμού κετανίου πέρα της προτεινόμενης συγκέντρωσης φαίνεται να μην επιφέρει σημαντικές διαφοροποιήσεις στην ανασταλτική δράση αυτών έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης ενώ αντίθετα αποτελέσματα προέκυψαν στις περιπτώσεις του ευρείας δράσης βελτιωτικού προσθέτου και του αναστολέα της διάβρωσης, των οποίων η δράση επηρεάστηκε σημαντικά όταν η ανάμιξή τους έγινε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τα μίγματα που περιείχαν τον βελτιωτικό παράγοντα, που οδηγεί στην απενεργοποίηση της οξειδωτικής δράσης των ιόντων των μετάλλων, φαίνεται να είναι ισχυρά περιοριστικά υποστρώματα του μικροβιακού πολλαπλασιασμού και η δράση τους φαίνεται να είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης ανάμιξης.

Συνολικά, συμπεραίνεται ότι η έκταση της μικροβιακής δραστηριότητας στα συστήματα καυσίμων είναι πολυπαραγοντική και όσον αφορά στα υποκατάστατα που δύναται να χρησιμοποιηθούν - ανανεώσιμα ή μη - εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος και τον τύπο

αυτών, καθώς παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη των εναλλακτικών καυσίμων δύναται άλλοτε να ευνοεί ή να περιορίζει την μικροβιακή ανάπτυξη. Οι στρατηγικές αντιμετώπισης που εξετάστηκαν καταδεικνύουν ότι υπάρχει δυνατότητα της προληπτικής αναστολής της μικροβιακής δράσης με τη χρήση διαφόρων προσθέτων. Εντούτοις, η χρήση αυτών επιβάλλεται να γίνεται με γνώμονα τη συνολική διατήρηση των βασικών ποιοτικών χαρακτηριστικών του καυσίμου, ειδικότερα, όσον αφορά στη χρήση και στο τρόπο εφαρμογής των βιοκτόνων. Σε κάθε περίπτωση η μικροβιακή ανάπτυξη είναι ένα δυναμικό φαινόμενο βιολογικής δράσης, στο οποίο σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν και οι συνθήκες που επικρατούν στα διάφορα ευπαθή σημεία της εφοδιαστικής αλυσίδας. Συνεπώς, λαμβάνοντας υπόψιν και τα ευρήματα της διατριβής, κρίνεται αναγκαία η αναθεώρηση των έως τώρα πρακτικών αντιμετώπισης του ζητήματος της μικροβιακής επιμόλυνσης, καθώς και η μελέτη και εφαρμογή ενός ολοκληρωμένου σχεδίου που θα εστιάζει στην πρόληψη και στην αποτελεσματική καταπολέμηση του φαινομένου με τέτοιο τρόπο ώστε να προάγει τη σταθερότητα, αναβάθμιση και βελτιστοποίηση των ποιοτικών παραμέτρων των καυσίμων.

Abstract

The current thesis focuses on the study of microbial growth in conventional petroleum products and the impact of renewable and alternative fuels in the fuel supply chain. In accordance with the current environmental trends, the European guidelines and the fuel quality standards, encourage the addition of biofuels and alternative energy sources into the conventional fuels used in the automotive and marine sector. Specifically, EN 590 and EN228 quality standards mandate the substitution of automotive diesel and unleaded gasoline for biodiesel (up to 7% v/v) and bioethanol (up to 10% v/v), respectively. In the same direction, the latest version of ISO 8217 refers to the addition of biofuels, such as FAME and HVO, in distillate marine fuels and includes additional specifications for DF grades (DFA, DFZ, DFB) containing FAME up to 7% v/v. Taking into account the microbial contamination incidences in the diesel fuel supply chain, which are mainly attributed to the addition of biodiesel, it is rather interesting to investigate the impact of the potential renewable and alternative substitutes for petroleum products on their microbial stability. Extensive emphasis is also given to the the evaluation of the effectiveness of current and future strategies that could be applied in order to remedy the microbial contaminated fuel systems.

Based on the aforementioned, in the first part of the thesis, the impact of the addition of renewable and alternative substitutes on the microbial stability of conventional diesel fuel, unleaded gasoline and marine distillate fuels was examined. Initially, the behavior of renewable and synthetic fuels, which can substitute or fully replace automotive diesel, against the proliferation of microorganisms, has been investigated. Among the examined fuels, biodiesel proved to be more susceptible to microbial growth, while the rest of biofuels and synthetic fuels showed at least the similar behavior against microbial activity with that of the conventional petroleum diesel. Parameters, such as fatty acid composition or branching in the fuel molecules, appeared to play a significant role. Subsequently, a series of alcohols referred as renewable oxygenated components of unleaded gasoline - EtOH, IPA, TBA – generally contributed to the inhibition of microbial activity. Similarly, alcohols are also considered as possible substitutes for conventional diesel fuel and, in particular, butanol seems to be the predominant candidate as it exhibits better stability than ethanol. Consequently, the effect of butanol on diesel/biodiesel blends concerning the fuel quality parameters, especially microbial and oxidation stability, was investigated. Butanol was able to upgrade the stability - oxidation and microbial - of the the binary blends, B7 and B20, at the examined mixing ratios. Similar research was also carried out on two typical conventional marine distillate fuels, after the addition of four different types of FAME and two alternative paraffinic diesel fuels (HVO and GTL) at the maximum permitted rate for FAME, designated by ISO 8217:2017, i.e. 7% v/v. According to the findings, the

presence of FAME in marine fuels creates a more favorable environment for micro-organisms and therefore their proliferation was easier and faster. On the other hand, marine gasoils and their mixtures with HVO and GTL were not found to be inhibitory substrates for microbes although the microbial activity was more restricted. However, in the contrary of FAME, these substitutes did not enhance the microbial proliferation.

In the second part of the thesis, the application of both a commercial antimicrobial agent and a series of other additives that are commonly used in the diesel/biodiesel fuel systems in order to deal with an existing microbial contamination was well-studied and evaluated. In particular, the effect of a commercially available antimicrobial product on the microbial stability of biodiesel and the corresponding B7 blend at different concentrations and time intervals was examined. The efficacy of the biocidal product was examined by determining the insoluble solids and the active microbial load. The concentration of the insoluble particles was identified by a method, which was developed in the terms of the current thesis, based on the determination of the total solids of the aqueous and fuel phase by using filtration techniques. This methodology can lead to a quantitative assessment of the undesirable biomass formations caused by the microbial metabolic processes and give an initial estimation of the potential microbial growth before using exclusive microbiological techniques. According to the obtained results, it was observed that the presence of the examined biocide could inhibit the microbial growth in B7 blend but it was almost ineffective in the case of FAME. Furthermore, the strategy of treating fuels with a biocidal product at a high concentration, which is referred as the most common controlling action, proved to be doubtful, as the concentration of suspended particles has not been affected although a considerable reduction in active bioburden has been achieved. Subsequently, the effect of various additives on the microbial stability of diesel/biodiesel blends was also examined. Antioxidants, cetane number and cold flow properties improvers as well as cleaning and anti-corrosion agents are the most common types of commercial chemical additives applied to these kinds of fuels. Ten antioxidant phenolic substances were added to two types of biodiesel at concentrations of 1000, 200 and 50 ppm and the most active ones to the respective B7 blends. Among the examined phenolic compounds, hydroquinone (TBHQ) and both catechols (MCT and TBC) proved to be quite effective as antimicrobial additives. Satisfactory antimicrobial activity was also observed in the case of PY and PG whereas the antimicrobial properties of phenolic acids (CFA, GA and PCA), although exhibiting good antioxidant activity, were not adequate, with the exception of hydroxycinnamic acid (CFA), which showed a modest level activity. Finally, the most common monohydric antioxidants - BHT and BHA – were not able to improve the microbial stability of both biodiesels. Finally, the antimicrobial activity of a series of representative commercial additives of diesel fuel - referred as cetane number, cold flow properties, multifunctional diesel improvers, metal deactivators and corrosion inhibitors -

was assessed. At the recommended mixing ratio, CFPP and the cetane number improvers were able to restrict the microbial growth, while higher duration antimicrobial activity was recorded in the case of the diesel performance improver, metal deactivator and corrosion inhibitor. Beyond the recommended mixing ratio, no significant variations were observed in the case of CFPP and cetane number improvers, while the opposite results were obtained in the case of multi-package additive and the corrosion inhibitor, whose action was significantly affected at lower concentrations. The blends containing the metal deactivator appeared to be strong inhibitory substrates against the bacterial proliferation regardless of the applied dosage.

Generally, it is concluded that a variety of factors may affect the extent of fuel microbial contamination and as far as the substitutes – renewable or not – are concerned, their kind or type may play a significant role on the proliferation of microbes, which may be either enhancing or limiting parameters. It is demonstrated that the use of various additives could be considered as a preventive remedial strategy in order to control the microbial activity in fuel systems but it should seriously taken into account that the application and handling of these products shall intend to retain and upgrade the fuel quality characteristics. Furthermore, the microbial growth in fuel systems is rather a dynamic biological phenomenon, in which the prevailing conditions may also an impact in the so called “high-risk” points of the fuel supply chain. Consequently, according to the findings of the current thesis, it is critical to review the current strategies as well as to study thoroughly and implement an integrated plan that focuses on the effective control of the fuel microbial contamination in such a way as to promote stability, upgrading and optimization of fuel quality parameters.

Στοιχεία Πρωτοτυπίας

Οι παράγοντες πρωτοτυπίας της διατριβής συνοψίζονται στα εξής:

- Η διατριβή επικεντρώθηκε αποκλειστικά στη μελέτη της μικροβιακής επιμόλυνσης των πετρελαιοειδών, καθώς και των υποκατάστατων αυτών, και αξίζει να σημειωθεί ότι απαρτίζει μία από τις πρώτες και λεπτομερείς προσπάθειες διερεύνησης του προβλήματος και την προσαρμογή αυτής, στις νέες προκλήσεις με τις οποίες έρχεται αντιμέτωπη τόσο η ελληνική όσο και η διεθνής ενεργειακή εφοδιαστική αλυσίδα.
- Διεξήχθη συγκριτική μελέτη της μικροβιακής σταθερότητας των ανανεώσιμων και εναλλακτικών υποκατάστατων των συμβατικών πετρελαϊκών καυσίμων των επίγειων και θαλάσσιων μεταφορών. Το θέμα είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον, αν ληφθούν υπόψη οι νέες νομοθεσίες που προβλέπουν τη χρήση των νέων καυσίμων και έχουν ως στόχο τη σταδιακή υποκατάσταση των έως τώρα συμβατικών.
- Διερευνήθηκε η δυνατότητα αναβάθμισης της μικροβιακής σταθερότητας της αμόλυβδης βενζίνης έπειτα από την προσθήκη βιο-αιθανόλης και άλλων αλκοολών με αφορμή τη νέα νομοθεσία (Ν. 4546/2018, άρθρο 29) που επιτάσσει την ανάμιξη βιο-αιθανόλης στην αμόλυβδη βενζίνη από την 1η Ιανουαρίου του 2019.
- Επιχειρήθηκε η μελέτη της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε μίγματα του ντήζελ κίνησης με βουτανόλη, η οποία θεωρείται μία από τις επικρατέστερες και υπό μελέτη αλκοόλες που δύναται να υποκαταστήσει το ντήζελ κίνησης με απώτερο στόχο την μείωση των ανεπιθυμητών εκπομπών.
- Πραγματοποιήθηκε προσπάθεια ανάπτυξης μεθόδου προσδιορισμού των αδιάλυτων στερεών σε επιμολυσμένα συστήματα καυσίμων μέσω τεχνικών διήθησης. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας ήταν ιδιαίτερος ενθαρρυντικά και προτείνεται να εφαρμόζεται συμπληρωματικά και σε συνδυασμό με τις μεθόδους ανίχνευσης του ενεργού μικροβιακού πληθυσμού, καθώς μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με το επίπεδο των αδρανών μικροοργανισμών ή αβιοτικών σωματιδίων, τα οποία ενδεχομένως να προκαλέσουν ανεπιθύμητα προβλήματα στα επιμέρους συστήματα της εφοδιαστικής αλυσίδας και δεν είναι δυνατό να ανιχνευθούν από τις ήδη υπάρχουσες μεθόδους ανίχνευσης, όπως αυτή του προσδιορισμού του ATP.
- Η διατριβή, επίσης, προσανατολίστηκε στη διερεύνηση διαφόρων βελτιωτικών προσθέτων των βιοντήζελ και ντήζελ κίνησης που θα μπορούσαν να έχουν ταυτόχρονα και αντιμικροβιακή δράση. Η εξεύρεση και η ανάδειξη τέτοιων ουσιών θα είναι ιδιαίτερα επωφελής αναφορικά με τη συνολική σταθερότητα του βιοντήζελ και του ντήζελ κίνησης έναντι των μηχανισμών υποβάθμισής του.

Περιεχόμενα

Περίληψη	iii
Abstract.....	vii
Στοιχεία Πρωτοτυπίας	x
Περιεχόμενα.....	xi
Κατάλογος Σχημάτων.....	xvi
Κατάλογος Πινάκων	xix
Αρκτικόλεξα - Συνομογραφίες.....	xxii
1. Ανασκόπηση του ζητήματος της μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων.....	1
1.1. Ιστορική Αναδρομή	1
1.2. Προέλευση Μικροβιακής Επιμόλυνσης	2
1.3. Ανάπτυξη Μικροοργανισμών σε Συστήματα καυσίμων	3
1.4. Προβλήματα Μικροβιακής Επιμόλυνσης.....	7
1.5. Έλεγχος Μικροβιακής Επιμόλυνσης	10
2. Μελέτη προβλημάτων και κατάστασης της ελληνικής εφοδιαστικής αλυσίδας καυσίμων	14
2.1 Δείγματα εκτός προδιαγραφής στην περιεκτικότητα σε νερό	15
2.2 Δείγματα εκτός προδιαγραφής στην οπτική αξιολόγηση	17
3. Μέθοδοι ανίχνευσης μικροβιακής δραστηριότητας και ουσιών με αντιμικροβιακή δράση.....	22
3.1 Μέθοδοι Ανίχνευσης Μικροβιακής Δραστηριότητας	22
3.1.1 Μέθοδοι επώασης και καταμέτρησης CFU.....	23
3.1.1.1 Μέθοδος Dip-Slide	23
3.1.1.2 Μέθοδος Thixotropic Gel Culture	24
3.1.1.3 Μέθοδος Sig - SRB.....	25
3.1.1.4 Προσδιορισμός της Τρι-φωσφορικής Αδενοσίνης (ATP).....	25
3.1.2 Συγκριτική αξιολόγηση μεθόδων ανίχνευσης μικροβιακής δραστηριότητας ..	27
3.2 Μέθοδος Ανίχνευσης Ουσιών με Αντιμικροβιακή Δράση.....	32
3.2.1.1 Αξιολόγηση μεθοδολογίας ανίχνευσης ουσιών με βιοκτόνο-ανασταλτική δράση	32
4. Συγκριτική αξιολόγηση της μικροβιακής σταθερότητας εναλλακτικών και ανανεώσιμων καυσίμων ντήζελ	35

4.1	Εισαγωγή	35
4.2	Πειραματική διαδικασία	37
4.2.1	Καύσιμα Βάσης	37
4.2.1.1	Μεθυλεστέρες των λιπαρών Οξέων.....	37
4.2.1.2	Ανανεώσιμα και συνθετικοί παραφινικοί υδρογονάνθρακες	38
4.2.1.3	Συμβατικό ντήζελ κίνησης.....	40
4.2.2	Μεθοδολογία	40
4.2.2.1	Προκαταρκτική εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας.....	40
4.2.2.2	Μικροβιακή Σταθερότητα σε Προσομοιασμένους Επιμολυσμένους Μικρόκοσμους.....	41
4.2.2.3	Προσδιορισμός Ποιοτικών Παραμέτρων	41
4.3	Αποτελέσματα - Συζήτηση	41
4.3.1	Προκαταρκτική εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας.....	41
4.3.2	Μικροβιακή σταθερότητα σε προσομοιασμένους επιμολυσμένους μικρόκοσμους	42
4.3.2.1	Προσδιορισμός της Τριφωσφορικής Αδενοσίνης	43
4.3.2.2	Επώαση και καταμέτρηση CFU	44
4.3.3	Προσδιορισμός Ποιοτικών Παραμέτρων	47
4.3.3.1	Οξειδωτική Σταθερότητα.....	47
4.3.3.2	Περιεκτικότητα σε Νερό.....	48
5.	Μελέτη της επίδρασης της βιοιθανόλης και άλλων αλκοολών στο μικροβιακό φορτίο της αμόλυβδης βενζίνης.....	50
5.1	Εισαγωγή	50
5.2	Πειραματική Διαδικασία	51
5.2.1	Καύσιμα Βάσης	51
5.2.1.1	Δείγματα Βενζίνης.....	51
5.2.1.2	Αλκοόλες	52
5.2.2	Μεθοδολογία	54
5.2.3	Έλεγχος Μικροβιακού Φορτίου	56
5.2.4	Προσδιορισμός Ποιοτικών Παραμέτρων	56
5.3	Αποτελέσματα - Συζήτηση	56
5.3.1	Μελέτη Εξέλιξης Μικροβιακού Φορτίου	56
5.3.1.1	CWM Μικρόκοσμοι	56
5.3.1.2	DWM μικρόκοσμοι.....	60
5.3.2	Προσδιορισμός Μεταβολής ποιοτικών παραμέτρων.....	61
5.3.2.1	Περιεκτικότητα σε θείο	61

5.3.2.2	Συγκέντρωση Αλκοολών	64
6.	Αξιολόγηση της σταθερότητας μιγμάτων ντήζελ – βιοντήζελ - βουτανόλης.....	71
6.1	Εισαγωγή	71
6.2	Πειραματική διαδικασία	72
6.2.1	Καύσιμα Βάσης	72
6.2.1.1	Συμβατικό Πετρελαϊκό Ντήζελ Κίνησης (ULSD)	72
6.2.1.2	Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME).....	72
6.2.1.3	Βουτανόλη	73
6.2.2	Μεθοδολογία	73
6.3	Αποτελέσματα - Συζήτηση	74
6.3.1	Σταθερότητα Ανάμειξης	74
6.3.2	Ιδιότητες των μιγμάτων	75
6.3.3	Λιπαντική Ικανότητα	75
6.3.4	Οξειδωτική σταθερότητα.....	77
6.3.5	Μικροβιακή Σταθερότητα	78
6.3.5.1	Προκαταρκτική εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας.....	78
6.3.5.2	Μικροβιακή Σταθερότητα σε Προσομοιασμένους Επιμολυσμένους Μικρόκοσμους.....	79
7.	Επίπτωση προσθήκης ανανεώσιμων υποκατάστατων στη σταθερότητα των ναυτιλιακών καυσίμων	82
7.1	Εισαγωγή	82
7.2	Πειραματική Διαδικασία	85
7.2.1	Συμβατικά Καύσιμα βάσης.....	85
7.2.2	Ανανεώσιμα Υποκατάστατα.....	86
7.2.2.1	Βιοντήζελ.....	86
7.2.2.2	Εναλλακτικά και Ανανεώσιμα Υποκατάστατα	88
7.2.3	Μεθοδολογία	88
7.3	Αποτελέσματα - Συζήτηση	90
7.3.1	Ιδιότητες Μιγμάτων	90
7.3.2	Μικροβιακή Σταθερότητα	94
7.3.2.1	Υδατική Φάση	94
7.3.2.2	Φάση καυσίμου.....	95
7.3.3	Οξειδωτική Σταθερότητα.....	98
7.3.4	Αριθμός Οξύτητας.....	100

8. Επίδραση βιοκτόνου ουσίας στην μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ και μίγματος B7 υπό συνθήκες μακράς αποθήκευσης	102
8.1 Εισαγωγή	102
8.2 Πειραματική Διαδικασία	105
8.2.1.1 Καύσιμα Βάσης	105
8.2.1.2 Μεθοδολογία	108
8.2.1.3 Μέθοδος Διήθησης	110
8.3 Αποτελέσματα	113
8.3.1 Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (t_0-t_{180}).....	113
8.3.1.1 Προσδιορισμός του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων.....	113
8.3.1.2 Οξειδωτική Σταθερότητα.....	119
8.3.1.3 Αριθμός Οξύτητας.....	121
8.3.2 Τέλος Αποθήκευσης (t_{180}).....	123
8.3.2.1 Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP).....	123
8.3.2.2 Οξειδωτική Σταθερότητα.....	125
8.3.3 Διορθωτική Ενέργεια.....	126
8.3.3.1 Προσδιορισμός του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων.....	126
8.3.3.2 Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP).....	128
8.3.3.3 Οξειδωτική Σταθερότητα.....	130
8.3.3.4 Αριθμός Οξύτητας.....	131
9. Μελέτη προσθέτων των ντήζελ - βιοντήζελ με ανασταλτική δράση έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης.....	135
A' μέρος – Αντιοξειδωτικά Πρόσθετα.....	135
9.1 Εισαγωγή	135
9.2 Πειραματική Διαδικασία	137
9.2.1 Καύσιμα Βάσης	137
9.2.1.1 Μεθυλεστέρες Λιπαρών Οξέων (Βιοντήζελ)	137
9.2.1.2 Μείγμα B7	138
9.2.2 Φαινολικά αντιοξειδωτικά.....	139
9.2.3 Μεθοδολογία	140
9.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση	142
9.3.1 Επίδραση των φαινολικών αντιοξειδωτικών στην οξύτητα	142
9.3.2 Προκαταρκτική εξέταση της αντιμικροβιακής και αντιοξειδωτικής δράσης.....	142
9.3.2.1 FAME	142
9.3.2.2 Μίγματα B7	150

9.3.3	Αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων σε επιμολυσμένους μικρόκοσμους	151
9.3.3.1	Αντιμικροβιακή δράση	152
9.3.3.2	Αντιοξειδωτική δράση - σταθερότητα κατά την αποθήκευση	158
9.3.3.3	Προφίλ λιπαρών οξέων των επιμολυσμένων μικρόκοσμων (CWM).....	162
9.3.3.4	Αριθμός Οξύτητας των επιμολυσμένων μικρόκοσμων (CWM)	163
B'	μέρος- Εμπορικά Βελτιωτικά Πρόσθετα	165
9.4	Εισαγωγή	165
9.5	Πειραματική Διαδικασία	166
9.5.1	Καύσιμα.....	166
9.5.1.1	Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME).....	166
9.5.1.2	Μείγμα B7	168
9.5.2	Πρόσθετα	168
9.5.3	Μεθοδολογία	171
9.5.4	Αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης.....	171
9.5.5	Μέταλλα	172
9.6	Αποτελέσματα - Συζήτηση	172
9.6.1	Αναβάθμιση Ποιοτικών Παραμέτρων	172
9.6.2	Αντιμικροβιακή Δράση.....	174
10.	Συμπεράσματα - Επίλογος	178
10.1	Υποκατάσταση Συμβατικών Πετρελαιοειδών από Ανανεώσιμα και Εναλλακτικά Καύσιμα	178
10.2	Μέθοδοι Αντιμετώπισης της Μικροβιακής Επιμόλυνσης.....	181
	Βιβλιογραφία	184
	Παραρτήματα	195

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 2-1: Περιεκτικότητα σε νερό vs. μικροβιακή δραστηριότητα σε εμπορικά μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ.....	16
Σχήμα 3-1: Σύγκριση αποτελεσμάτων μικροβιακής δραστηριότητας σε υδατική φάση επιμολυσμένου καυσίμου με χρήση διαφορετικών τεχνικών ανίχνευσης.....	29
Σχήμα 4-1: Προσδιορισμός της συγκέντρωσης ATP στην υδατική φάση των εξεταζόμενων μικρόκοσμων .	43
Σχήμα 4-2: Αριθμός αποικιών βακτηρίων και μυκήτων στην υδατική φάση των εξεταζόμενων μικρόκοσμων.....	45
Σχήμα 4-3: Οξειδωτική σταθερότητα των εξεταζόμενων καυσίμων έπειτα από 15 ημέρες αποθήκευσης και επιμόλυνσης.	48
Σχήμα 4-4: Περιεκτικότητα σε νερό των εξεταζόμενων καυσίμων έπειτα από 15 ημέρες αποθήκευσης και επιμόλυνσης.	49
Σχήμα 5-1: Μικροβιακό φορτίο στους επιμολυσμένους CWM μικρόκοσμους (α) U-Μίγματα, (β) SU-Μίγματα, (γ) καύσιμα βάσης, (δ) E85 μίγματα (διαλυμένο νερό στη φάση καυσίμου).....	58
Σχήμα 5-2: Μικροβιακό φορτίο στους DWM μικρόκοσμους (α) U-Μίγματα, (β) SU-Μίγματα, (γ) καύσιμα βάσης, (δ) E85 μίγματα (διαλυμένο νερό στη φάση καυσίμου).....	62
Σχήμα 5-3: Ποσοστό μείωσης θείου στην υδατική φάση των επιμολυσμένων CWM μικρόκοσμους.	62
Σχήμα 5-4: Συγκέντρωση θείου στους E85 μικρόκοσμους με το πέρας των 4 εβδομάδων αποθήκευσης. 63	
Σχήμα 5-5: Περιεχόμενο θείου στη φάση καυσίμου των (α) U-μιγμάτων και (β) SU-μιγμάτων των διαφορετικών μικρόκοσμων στο τέλος της 4ης εβδομάδας αποθήκευσης.	64
Σχήμα 5-6: Ποσοστό μείωσης αλκοόλης στα (α) U-μίγματα, (β) SU-μίγματα, φάση καυσίμου στους CWM και DWM μικρόκοσμους.....	66
Σχήμα 5-7: Σύγκριση φασμάτων FTIR της φάσης καυσίμου των E5-E85 μιγμάτων με παρουσία υδατικής φάσης (α) πριν και (β) μετά την περίοδο αποθήκευσης.....	67
Σχήμα 6-1: Λιπαντική ικανότητα των υπό εξέταση καυσίμων και μιγμάτων.	76
Σχήμα 6-2: Οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων και των καθαρών καυσίμων σύμφωνα με την RSSOT μέθοδο.....	78
Σχήμα 6-3: Συγκέντρωση ATP ($C_{ATP} \times 10^3$) της υδατικής φάσης των επιμολυσμένων μικρόκοσμων B7, B20 και ULSD.	80
Σχήμα 6-4: Συγκέντρωση ATP (C_{ATP}) της υδατικής φάσης των επιμολυσμένων μικρόκοσμων των τριαδικών μιγμάτων.	81
Σχήμα 7-1: Μεταβολή του κινηματικού ιξώδους των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων BF1 και BF2 από την υποκατάστασή τους από τα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα.	91
Σχήμα 7-2: Μεταβολή της πυκνότητας των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων BF1 και BF2 από την υποκατάστασή τους από τα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα.....	91
Σχήμα 7-3: Μεταβολή του αριθμού οξύτητας των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων BF1 και BF2 από την υποκατάστασή τους από τα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα.	93
Σχήμα 7-4. Μεταβολή του χρόνου επαγωγής των BF1 και BF2 λόγω της προσθήκης των ανανεώσιμων και εναλλακτικών καυσίμων - RSSOT μέθοδος (160°C).....	94
Σχήμα 7-5: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων (CM) BF ₁	96
Σχήμα 7-6: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων (CM) BF ₂	96

Σχήμα 7-7: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στη φάση καυσίμου των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων BF1.....	97
Σχήμα 7-8: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στη φάση καυσίμου των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων BF2.....	97
Σχήμα 7-9: Οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων BF ₁ στο πέρας της αποθήκευσης.....	99
Σχήμα 7-10: Οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων BF ₂ στο πέρας της αποθήκευσης.....	99
Σχήμα 7-11: Αριθμός οξύτητας των εξεταζόμενων μιγμάτων του BF ₁ κατά την επιμόλυνση μετά την αποθήκευση.....	100
Σχήμα 7-12: Αριθμός οξύτητας των εξεταζόμενων μιγμάτων του BF ₂ κατά την επιμόλυνση μετά την αποθήκευση.....	101
Σχήμα 8-1: Πειραματική διάταξη διήθησης μικροσωματιδίων.....	111
Σχήμα 8-2: Ανάλυση γραμμικότητας μεθόδου προσδιορισμού σωματιδίων (50 - 600 ppm).....	112
Σχήμα 8-3: Ανάλυση γραμμικότητας μεθόδου προσδιορισμού σωματιδίων (50 - 2700 ppm).....	113
Σχήμα 8-4: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην υδατική φάση των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	114
Σχήμα 8-5: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στη φάση καυσίμου των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	115
Σχήμα 8-6: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην υδατική φάση των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	116
Σχήμα 8-7: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στη φάση καυσίμου των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	116
Σχήμα 8-8: Εξέλιξη του σχηματισμού βιοφίλμ των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	119
Σχήμα 8-9: Εξέλιξη του σχηματισμού βιοφίλμ των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	119
Σχήμα 8-10: Μεταβολή της οξειδωτικής σταθερότητας των FAME μικρόκοσμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με την μέθοδο ASTM D7545. Η μεταβολή του χρόνου επαγωγής προκύπτει από την ποσοστιαία μεταβολή του χρόνου επαγωγής σε σχέση με αυτόν των RM μικρόκοσμων ($DIP(\%) = [(IPx-IPRM)/IPRM] \times 100$).....	120
Σχήμα 8-11: Μεταβολή της οξειδωτικής σταθερότητας των B7 μικρόκοσμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με την μέθοδο ASTM D7545. Η μεταβολή του χρόνου επαγωγής προκύπτει από την ποσοστιαία μεταβολή του χρόνου επαγωγής σε σχέση με αυτόν των RM μικρόκοσμων ($DIP(\%) = [(IPx-IPRM)/IPRM] \times 100$).....	121
Σχήμα 8-12: Εξέλιξη του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	122
Σχήμα 8-13: Εξέλιξη του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.....	123
Σχήμα 8-14: Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων κατά το πέρας του χρόνου αποθήκευσης.....	124
Σχήμα 8-15: Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας των αποθηκευμένων μικρόκοσμων με FAME και B7 μετά από 180 ημέρες αποθήκευσης βάσει τις μεθόδους EN 14112 και 15751, αντίστοιχα.....	125
Σχήμα 8-16: Προσδιορισμός του φορτίου των αιώρουμένων σωματιδίων, τόσο της υδατικής όσο και της φάσης καυσίμου, στους μικρόκοσμους με FAME κατόπιν διορθωτικής δράσης στο τέλος της αποθήκευσης.....	126
Σχήμα 8-17: Προσδιορισμός του φορτίου των αιώρουμένων σωματιδίων, τόσο της υδατικής όσο και της φάσης καυσίμου, στους μικρόκοσμους με B7 κατόπιν διορθωτικής δράσης στο τέλος της αποθήκευσης.....	127

Σχήμα 8-18: Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων κατόπιν διορθωτικής δράσης.....	128
Σχήμα 8-19: Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας κατόπιν διορθωτικής δράσης βάσει της μεθόδου ASTM D7545.....	130
Σχήμα 8-20: Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας κατόπιν διορθωτικής δράσης βάσει των μεθόδων EN 14112 και 15751.....	131
Σχήμα 8-21: Προσδιορισμός του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των μικρόκοσμων κατόπιν διορθωτικής δράσης.....	131
Σχήμα 9-1: Οξειδωτική σταθερότητα των (α) POME και (β) SBOME έπειτα από την προσθήκη των φαινολικών ενώσεων σε συγκεντρώσεις των 50, 200 and 1000 mg/kg.....	148
Σχήμα 9-2: Οξειδωτική σταθερότητα των B7 μιγμάτων (προσθήκη των φαινολικών ενώσεων στα FAMES στην συγκέντρωση των 1000 ppm).....	151
Σχήμα 9-3: Επίδραση των επιλεγμένων φαινολικών ενώσεων (συγκέντρωση 1000 ppm) στην μικροβιακή δραστηριότητα της υδατικής φάσης των CWM μικρόκοσμων (α) POME, (β) SBOME, και σύγκριση με το εμπορικό βιοκτόνο ουσία MBO.....	153
Σχήμα 9-4: Επίδραση των επιλεγμένων φαινολικών ενώσεων (συγκέντρωση 1000 ppm στο FAME) στην μικροβιακή δραστηριότητα της υδατικής φάσης των CWM μικρόκοσμων (α) B7 (POME / ULSD), (β) B7 (SBOME / ULSD), και σύγκριση με την βιοκτόνο ουσία MBO.....	157
Σχήμα 9-5: Αύξηση του αριθμού κετανίου στα μίγματα B7 μετά την εισαγωγή των βελτιωτικών προσθέτων Β και Γ.....	173
Σχήμα 9-6: Επίδραση των προσθέτων Δ και Ε, στην οξειδωτική σταθερότητα μιγμάτων B7 υπό την παρουσία μετάλλων.....	174
Σχήμα 9-7: Χρόνος αναστολής της ανάπτυξη του βακίλου παρουσία των προσθέτων στο μείγμα B7 στην προτεινόμενη συγκέντρωση.....	176
Σχήμα 9-8: Ανασταλτική ικανότητα μιγμάτων B7 με τα εξεταζόμενα πρόσθετα σε συγκεντρώσεις 1000, 500 και 250 ppm.....	177

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1-1: Μικροοργανισμοί που δύνανται να αποικοδομούν τα καύσιμα.....	5
Πίνακας 1-2: Χαρακτηριστικά προβλήματα μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων.....	8
Πίνακας 1-3: Ενώσεις που έχουν βιοκτόνο δράση στα συστήματα καυσίμων.....	12
Πίνακας 2-1: Επίπεδα μικροβιακής επιμόλυνσης εμπορικών δειγμάτων ντήζελ κίνησης.....	16
Πίνακας 3-1: Έκταση επιμόλυνσης βάσει του αριθμού των αποικιών με την μέθοδο Dip Slide.....	24
Πίνακας 3-2: Έκταση επιμόλυνσης με την μέθοδο Thixotropic Gel Culture.....	25
Πίνακας 3-3: Έκταση επιμόλυνσης με την μέθοδο Sig – SRB.....	25
Πίνακας 3-4: Ερμηνεία αποτελεσμάτων (RLU/L).....	27
Πίνακας 3-5: Ερμηνεία αποτελεσμάτων (pg ATP/ml).....	27
Πίνακας 3-6: Αποτελέσματα των τεσσάρων μεθόδων ανίχνευσης μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση επιμολυσμένου δείγματος καυσίμου ντήζελ (DI.2).....	28
Πίνακας 3-7: Συνοπτική παρουσίαση των μεθόδων ανίχνευσης της μικροβιακής δραστηριότητας σε συστήματα καυσίμων.....	31
Πίνακας 3-8: Δραστικές ουσίες των εμπορικών βιοκτόνων.....	33
Πίνακας 4-1: Ποιοτικές παράμετροι των εξεταζόμενων FAMES.....	38
Πίνακας 4-2: Σύσταση λιπαρών οξέων των εξεταζόμενων FAMES.....	38
Πίνακας 4-3: Φυσικοχημικές ιδιότητες των ανανεώσιμων και εναλλακτικών παραφινικών καυσίμων.....	39
Πίνακας 4-4: Φυσικοχημικές ιδιότητες του συμβατικού ντήζελ κίνησης (ULSD).....	40
Πίνακας 4-5: Αποτελέσματα προκαταρκτικής εξέτασης.....	42
Πίνακας 4-6: Μικροβιακή δραστηριότητα στην υδατική φάση των μικρόκοσμων μετά από 15 ημέρες αποθήκευσης – Εμφάνιση των θρεπτικών υποστρωμάτων έπειτα από επώαση στους 28°C για 5 ημέρες.....	44
Πίνακας 5-1: Φυσικοχημικές ιδιότητες των δύο δειγμάτων αμόλυβδης βενζίνης που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την έρευνα.....	52
Πίνακας 5-2: Χαρακτηριστικά των αλκοολών.....	53
Πίνακας 5-3: Βασικές ποιοτικές παράμετροι των αλκοολών.....	53
Πίνακας 5-4: Χαρακτηριστικά των μιγμάτων αλκοολών - βενζίνης U.....	53
Πίνακας 5-5: Χαρακτηριστικά των μιγμάτων αλκοολών - βενζίνης SU.....	54
Πίνακας 5-6: Πυκνότητα υδατικής φάσης των μικρόκοσμων που αποτελούνται από μίγματα U & SU με την εκάστοτε αλκοόλη.....	67
Πίνακας 5-7: Ποσοστό αλκοόλης υδατικής φάσεως στους μικρόκοσμους που αποτελούνται από μίγματα U & SU με την εκάστοτε αλκοόλη.....	67
Πίνακας 6-1: Ιδιότητες πετρελαιικού ντήζελ κίνησης (ULSD).....	72
Πίνακας 6-2: Φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος FAME.....	72
Πίνακας 6-3: Προφίλ λιπαρών οξέων του εξεταζόμενου FAME.....	73
Πίνακας 6-4: Σύνθεση των υπό εξέταση μιγμάτων καυσίμων.....	74
Πίνακας 6-5: Βασικές ιδιότητες ποιότητας των μιγμάτων ULSD/FAME /βουτανόλης.....	75
Πίνακας 6-6: Ποσοστιαία μείωση του χρόνου επαγωγής (% DIP) των τριαδικών μιγμάτων εν συγκρίσει αυτού των ULSD και των μιγμάτων Bu5, Bu10.....	78
Πίνακας 6-7: Αρχικός έλεγχος της αντιμικροβιακής δράσης των μιγμάτων n-βουτανόλης.....	79

Πίνακας 7-1: Ιδιότητες καυσίμων βάσης.....	86
Πίνακας 7-2: Φυσικοχημικές ιδιότητες των βιοντήζελ που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία. .	87
Πίνακας 7-3: Προφίλ λιπαρών οξέων των βιοντήζελ.....	87
Πίνακας 7-4. Φυσικοχημικές ιδιότητες των καυσίμων HVO και GTL.....	88
Πίνακας 7-5: Σύσταση των μιγμάτων που παρασκευάστηκαν για την μελέτη της οξειδωτικής και μικροβιακής σταθερότητας.....	90
Πίνακας 7-6. Ιδιότητες μιγμάτων του καυσίμου βάσης BF1.....	92
Πίνακας 7-7. Ιδιότητες μιγμάτων του καυσίμου βάσης BF2.....	92
Πίνακας 7-8: Αποτελέσματα ανίχνευσης βιοκτόνου ουσίας στα εξεταζόμενα καύσιμα βάσει του εμπορικού κλπ.....	98
Πίνακας 8-1: Βασικές ιδιότητες του συμβατικού ντήζελ αναφοράς.....	105
Πίνακας 8-2: Ιδιότητες του FAME αναφοράς.....	106
Πίνακας 8-3: Σύσταση σε λιπαρά οξέα του βιοντήζελ αναφοράς.....	106
Πίνακας 8-4: Ιδιότητες του B7 αναφοράς.....	107
Πίνακας 8-5: Πλήθος μικρόκοσμων ανά εξεταζόμενο καύσιμο και χρονικό διάστημα αποθήκευσης....	109
Πίνακας 8-6: Συγκριτικός πίνακας μικροβιακής δραστηριότητας για διαφορετικές εφαρμογές βιοκτόνου στις 180 ημέρες αποθήκευσης.....	129
Πίνακας 9-1: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά παραχθέντων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (βιοντήζελ).	138
Πίνακας 9-2: Περιεκτικότητα των βιοντήζελ σε λιπαρά οξέα.....	138
Πίνακας 9-3: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των μιγμάτων B7 (FAME/ULSD).....	139
Πίνακας 9-4: Ονοματολογία και χαρακτηριστικά των εξεταζόμενων φαινολικών ενώσεων.....	141
Πίνακας 9-5: Οξύτητα των δυο βιοντήζελ μετά την προσθήκη των εξεταζόμενων φαινολικών αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 0.1% w/w (1000 ppm).....	142
Πίνακας 9-6: Ικανότητα του POME να αναστείλει την ανάπτυξη του <i>Bacillus stearothermophilus</i> με την προσθήκη των φαινολικών αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 50, 200 και 1000 ppm.....	143
Πίνακας 9-7: Ικανότητα του SBOME να αναστείλει την ανάπτυξη του <i>Bacillus stearothermophilus</i> με την προσθήκη των φαινολικών αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 50, 200 και 1000 ppm.....	144
Πίνακας 9-8: Ελάχιστη απαιτηθείσα συγκέντρωση των εξεταζόμενων φαινολικών ενώσεων ανά FAME για ταυτόχρονη αντιοξειδωτική ($IP \geq 8h$) και αντιμικροβιακή δράση (παρεμπόδιση ανάπτυξης του βακίλου).....	149
Πίνακας 9-9: Ικανότητα των B7 μιγμάτων να αναστέλλουν την ανάπτυξη του <i>Bacillus stearothermophilus</i> έπειτα από την προσθήκη φαινολικών ενώσεων.....	150
Πίνακας 9-10: Χαρακτηριστικά του εξεταζόμενου εμπορικού βιοκτόνου.....	152
Πίνακας 9-11: Προσδιορισμοί και μεταβολές οξειδωτικής σταθερότητας στους RM και CWM μικρόκοσμους των δύο βιοντήζελ, μετά από 30 ημέρες.....	159
Πίνακας 9-12: Προσδιορισμοί και μεταβολές οξειδωτικής σταθερότητας στους RM και CWM μικρόκοσμους των B7 μιγμάτων, μετά από 30 ημέρες.....	161
Πίνακας 9-13: Προφίλ λιπαρών οξέων στη φάση καυσίμου των ενισχυμένων POME και SBOME μετά από 1 μήνα στους CWM μικρόκοσμους.....	162
Πίνακας 9-14: Οξύτητα των δυο βιοντήζελ μετά το πέρας των 30 ημερών στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους CWM.....	163
Πίνακας 9-15: Ιδιότητες σογιέλαιου.....	167
Πίνακας 9-16: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των παραχθέντων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (βιοντήζελ).....	167

Πίνακας 9-17: Περιεκτικότητα του βιοντήζελ SBOME σε λιπαρά οξέα.....	168
Πίνακας 9-18: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ντήζελ κίνησης (ULSD).....	169
Πίνακας 9-19: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του B7 Μίγματος.....	169
Πίνακας 9-20: Χημική σύνθεση των εξεταζόμενων προσθέτων και συνιστώμενη δοσολογία των κατασκευαστών (C).....	170
Πίνακας 9-21: Ικανότητα των μιγμάτων B7 να αναστείλουν την ανάπτυξη του <i>Bacillus stearothermophilus</i>	175

Αρκτικόλεξα - Συντομογραφίες

AO	Antioxidant
ASTM	American Society of Testing and Materials
ATP	Adenosine triphosphate
BTL	Biomass to Liquid
B7	Diesel/Biodiesel blends with 7% V/V FAME
BXX	FAME/Diesel Blend - (XX% v/v FAME)
CFU	Colony Forming Units
CFPP	Cold Filter Plugging Point
CW	Contaminated Water
CWM	Contaminated Water Microcosms
DW	Distilled Water
DWM	Distilled Water Microcosms
EN	European Standard
EtOH	Ethanol
Ex	Ethanol blended Gasoline (x: % v/v ethanol content)
FAME	Fatty Acid Methyl Ester
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GTL	Gas to Liquid
HVO	Hydrogenated Vegetable Oils
IATA	International Air Transport Association
IPA	Isopropyl Alcohol
IP	Induction Period
IP	Institute of Petroleum
ISO	International Organization for Standardization
MBO	Methylene bismethyloxazolidine
MIC	Microbially Induced Corrosion
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MON	Motor Octane Number
MTBE	Methyl-tert-butyl-ether
MUFA	Mono-unsaturated Fatty Acids
PCR	Polymerase Chain Reaction
POME	Pomace olive Oil Methyl Ester
POMO	Pomace olive Oil
PUFA	Poly-unsaturated Fatty Acids
RLU	Relative Light Units
RM	Reference Microcosms
RON	Research Octane Number
RSSOT	Rapid Small Scale Oxidation Test
SBO	Soybean Oil
SBOME	Soybean Oil Methyl Esters
SRB	Sulphate Reducing Bacteria
SU	Super Unleaded Gasoline
TBA	Tert-Butyl-alcohol
U	Unleaded Gasoline
ULSD	Ultra Low Sulphur Diesel

1. Ανασκόπηση του ζητήματος της μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η δυνατότητα ανάπτυξης μικροοργανισμών στους παραφινικούς υδρογονάνθρακες είναι καταγεγραμμένη ήδη από τα τέλη του 19ου αιώνα (*Miyoshi, 1895*). Το πρόβλημα της μικροβιακής επιμόλυνσης στην εφοδιαστική αλύσιδα των καυσίμων τεκμηριώνεται από μια σειρά περιστατικών που έχουν καταγραφεί κατά το τελευταίο αιώνα (*Hill, et al., 2008*) και παρουσιάζονται ενδεικτικά παρακάτω:

- 1939: Αέρια βακτήρια προκαλούν έκρηξη σε δεξαμενή κηροζίνης
- 1941: Αποικοδόμηση αεροπορικής βενζίνης και κηροζίνης από βακτήρια
- 1950: Βακτήρια αναγωγής θείου (SRB) σε αεροπορική βενζίνη προκαλούν βλάβες στις αντλίες καυσίμου των αεροσκαφών Hastings, Valetta και Canberra. Βακτήρια προκαλούν φραγή φίλτρων στα Boeing B47 και KC97.
- 1958: Πτώση του αεροσκάφους US B52 από φραγή φίλτρου καυσίμου (*Rauch, et al., 2006*).
- 1960: Καταγραφές από διάβρωση και βλάβες σε δεξαμενές αποθήκευσης αεροπορικής κηροζίνης (Fury, Boeing και Lockheed αεροσκάφη). Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων χρησιμοποιείται ως βιοκτόνο το Biodor JF.
- 1970: Παρατηρούνται ευρέως προβλήματα διάβρωσης και ποιοτικής υποβάθμισης σε καύσιμα που χρησιμοποιούνται σε πλοία, οχήματα, τραίνα, γεννήτριες και σε συστήματα θέρμανσης.
- 1980: Καταγράφονται ολοένα και περισσότερα προβλήματα. Λιγότερα περιστατικά συναντώνται στα αεροπορικά καύσιμα λόγω ανάπτυξης και βελτίωσης των έως τότε μεθόδων.
- 1990: Προβλήματα καταγράφονται στα καύσιμα κίνησης - επίγειων και θαλάσσιων μεταφορών - ενώ παρατηρούνται και ορισμένα κρούσματα και σε υπολειμματικά καύσιμα.

Ορόσημο της περιόδου αυτής αποτελεί η εμφάνιση σοβαρών λειτουργικών προβλημάτων σε στροβίλους αεροσκαφών και πλοίων. Οι αερογραμμές, που έως τότε ακολουθούσαν τις αποκλίνουσες και συχνά αντιφατικές συμβουλές των κατασκευαστών και των προμηθευτών βιοκτόνων ουσιών, απευθύνθηκαν στη Διεθνή Ένωση Αερομεταφορών (IATA) για τεχνική

υποστήριξη. Η τελευταία σύνταξε μια ομάδα εργασίας αποτελούμενη από καταρτισμένους μηχανικούς πάνω στα συστήματα καυσίμων προερχόμενοι τόσο από τις κατασκευάστριες εταιρείες όσο και από τους προμηθευτές των καυσίμων, καθώς επίσης και από μικροβιολόγους, και εκδόθηκε μια ολοκληρωμένη Οδηγία που προβλέπει την αντιμετώπιση του φαινομένου της μικροβιακής μόλυνσης των αεροπορικών καυσίμων (*IATA Aviation Fuel Working Group, 2005*). Οι στρατηγικές που προβλέπονται από την IATA δημιούργησαν τις κατάλληλες προδιαγραφές για την πρώτη επιτόπια ποσοτική εξέταση ανίχνευσης μικροοργανισμών σε σύστημα καυσίμου (*Hill, 1998*). Συγκεκριμένα, η Οδηγία της IATA περιέγραψε το πρόβλημα της μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων, προσδιόρισε τις περιοχές υψηλής επικινδυνότητας και παρείχε συμβουλές σχετικά με την ορθή δειγματοληψία από τα σημεία αποστράγγισης των δεξαμενών κατά τις επιτόπιες μελέτες. Τα αποτελέσματα της επιτόπιας εξέτασης ερμηνεύονται ως αμελητέα, μέτρια και υψηλή επιμόλυνση και υποδεικνύουν, αντίστοιχα, τα κατάλληλα μέτρα αντιμετώπισης. Συνοπτικά, σε περίπτωση μέτριας επιμόλυνσης προτείνεται η προσθήκη ενός εγκεκριμένου βιοκτόνου, ενώ καθαρισμός της δεξαμενής πριν την εισαγωγή βιοκτόνου απαιτείται όταν η επιμόλυνση χαρακτηρίζεται υψηλή. Η αξιολόγηση των παραπάνω διαδικασιών πραγματοποιούταν με επανεξέταση των επιπέδων του μικροβιακού φορτίου. Η στρατηγική αυτή αποδείχθηκε σε μεγάλο βαθμό επιτυχής και ακολουθήθηκε από τους προμηθευτές καυσίμων και τους αντίστοιχους φορείς των ενόπλων δυνάμεων, φυσικά με παραλλαγές που αφορούν τα διαφορετικής φύσης καύσιμα και συστήματα, τα εκάστοτε σημεία δειγματοληψίας, τις εξεταζόμενες μεθόδους εξέτασης, καθώς και διαφορετικές στρατηγικές αντιμετώπισης. Παρά το πλήθος των καταγεγραμμένων περιστατικών καθώς και της συσσωρευμένης εμπειρίας από το τομέα των αεροπορικών καυσίμων, οι εμπλεκόμενοι της εφοδιαστικής αλυσίδας των επίγειων και θαλάσσιων μεταφορών δεν επέδειξαν τη αντίστοιχη δέουσα προσοχή σε πρωταρχικό στάδιο με αποτέλεσμα να παρατηρηθεί κλιμάκωση των ανεπιθύμητων συνεπειών της μικροβιακής επιμόλυνσης, ειδικότερα με την εισαγωγή διαφοροποιημένων καυσίμων.

1.2. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ

Οι μικροοργανισμοί δύνανται να εισέλθουν στα καύσιμα στις δεξαμενές των διωλιστηρίων μαζί με την μορφή αιωρούμενων σωματιδίων και σταγονιδίων νερού μέσω των αεραγωγών των δεξαμενών ενώ μεγάλος μικροβιακός αριθμός συναντάται στο θαλασσινό ή γλυκό νερό με το οποίο πληρώνονται οι δεξαμενές έρματος των πλοίων (ballast tanks). Παρά το γεγονός ότι κατά τις διεργασίες διύλισης του πετρελαίου σημειώνονται υψηλές θερμοκρασίες που επιτρέπουν την αποστείρωση των τελικών προϊόντων, οι συνθήκες κατά την αποθήκευση, διακίνηση και χρήση αυτών μπορεί να οδηγήσουν σε μικροβιακή επιμόλυνση και πιθανή υποβάθμιση των καυσίμων.

Οι δεξαμενές των διωλιστηρίων μπορεί να αποτελέσουν το πρωταρχικό στάδιο όπου μπορεί να λάβει χώρα η μικροβιακή επιμόλυνση, καθώς μέσω των οπών αερισμού υγρασία, σκόνη και άλλα σωματίδια από την ατμόσφαιρα που φέρουν μικροοργανισμούς εισάγονται στα πετρελαϊκά προϊόντα ενώ ψύχονται. Κατά την μεταφορά, είτε μέσω δεξαμενοπλοίου είτε αγωγού, επιπλέον νερό ενδέχεται να εισέλθει μέσω συμπύκνωσης. Μάλιστα για να διευκολυνθεί πολλές φορές η εκφόρτωση των μικρών ποσοτήτων του εκάστοτε φορτίου από τις δεξαμενές των πλοίων, εισάγονται μεγάλες ποσότητες νερού. Ο σχηματισμός βιοφίλμ λαμβάνει χώρα στις δεξαμενές των δεξαμενόπλοιων ή στους αγωγούς μεταφοράς όταν υπάρχει ικανή ποσότητα νερού, ανόργανων σωματιδίων και θρεπτικών συστατικών που μπορούν να υποστηρίξουν την μικροβιακή ανάπτυξη, της οποίας οι ανεπιθύμητες συνέπειες θα είναι εμφανείς στα τελικό στάδιο της εφοδιαστικής αλυσίδας και εν τέλει στο τελικό καταναλωτή. Στις δεξαμενές των τερματικών σταθμών, όταν ο χρόνος παραμονής του καυσίμου μπορεί να είναι ίσος ή μεγαλύτερος της μιας εβδομάδας, η καθίζηση των σωματιδίων ή του βιοφίλμ επιτυγχάνεται προτού την αφαίρεση του προϊόντος. Καθώς μειώνεται ο χρόνος παραμονής, αυξάνεται και η πιθανότητα να λαμβάνεται βιομάζα μαζί με το καύσιμο εξαιτίας της μειωμένου χρόνου καθίζησής της. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι μικροβιακά φορτία μικρότερα των 2×10^6 cfu/ml δεν επηρεάζουν τη διαύγεια του καυσίμου, σπάνια μπορεί να ανιχνευτεί η μικροβιακή επιμόλυνση σε αυτό το στάδιο. Οι δεξαμενές τελικής χρήσης διαφέρουν τόσο δομικά όσο και κατασκευαστικά ανάλογα με την εκάστοτε εφαρμογή τους. Η τοποθεσία (επίγειες ή υπόγειες δεξαμενές) όσο και η απόσταση από το σημείο ανάφλεξης, επίσης, κυμαίνονται. Οι δεξαμενές αποθήκευσης των προϊόντων πριν από τη χρήση τους, συσσωρεύουν νερό και βιομάζα που δύναται να οδηγήσει σε βλάβες των κινητήρων εξαιτίας φραγής φίλτρου ή/ και της γραμμής τροφοδοσίας του καυσίμου. Επιπλέον, εξαιτίας της μικροβιακής ανάπτυξης μπορεί να σημειωθεί διάβρωση των δεξαμενών και να οδηγήσει σε διαρροή του προϊόντος.

1.3. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΥΣΙΜΩΝ

Οι μικροοργανισμοί βρίσκονται συνήθως στο καύσιμο αλλά η καλή συντήρηση των συστημάτων (αφαίρεση του νερού και χρήση βιοκτόνων ουσιών) ελαχιστοποιεί την ανάπτυξή τους. Παρόλ' αυτά οι αναφορές ανάπτυξης μικροβιακού φορτίου σε δεξαμενές αποθήκευσης καυσίμων είχαν αυξηθεί ήδη από τις προηγούμενες δεκαετίες και οι στρατηγικές μακράς αποθήκευσης είχε αποδειχθεί ότι επιδεινώνουν το πρόβλημα (Fass, et al., 1986). Οι πρωταρχικοί παράγοντες που ευνοούν τον μικροβιακό πολλαπλασιασμό στα συστήματα καυσίμων είναι οι κλιματολογικές συνθήκες, ο σχεδιασμός των συστημάτων αποθήκευσης και διακίνησης, η χημική σύσταση του καυσίμου, ο χρόνος αποθήκευσης και η συντήρηση των υποδομών.

Η παρουσία του νερού είναι από τους πιο κρίσιμους παράγοντες για τον μικροβιακό πολλαπλασιασμό (Arnold, 1991). Ακόμα και αμελητέες ποσότητες επαρκούν για να υποστηρίξουν την μικροβιακή ανάπτυξη. Ένα πολύ λεπτό στρώμα νερού ή ακόμα και μερικά μικρόλιτρα (μl) στο καύσιμο είναι αρκετά για να επιτρέψουν στους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν (Gaylarde, et al., 1999). Παρόμοια, οι υψομετρικές διαφορές και το θερμοκρασιακό εύρος στα οποία εκτίθενται οι δεξαμενές καυσίμων των αεροσκαφών οδηγούν σε διαχωρισμό του νερού και την συμπύκνωσή του (IATA Aviation Fuel Working Group, 2005).

Το οξυγόνο υφίσταται σε επαρκείς ποσότητες στην εφοδιαστική αλυσίδα των πετρελαιοειδών και ανανεώνεται συνεχώς με την αναπλήρωση των δεξαμενών, καθώς και από τα διάφορα σημεία αερισμού. Ωστόσο, ακόμα και αν οι συνθήκες γίνουν ανοξικές, η μικροβιακή ανάπτυξη θα συνεχιστεί να λαμβάνει χώρα, καθώς ορισμένοι μικροοργανισμοί, όπως ο βάκιλος και τα βακτήρια αναγωγής θείου (SRB) δύνανται να επιβιώσουν και σε ανοξικό περιβάλλον. Παρόλο που η θερμοκρασία αναμφισβήτητα επηρεάζει την μικροβιακή επιμόλυνση (Passman, 2003; Chung, et al., 2000) δεν είναι απολύτως σίγουρο ότι αποτελεί κυρίαρχο παράγοντα. Πράγματι όσον αφορά τους ρυθμούς ανάπτυξης των θερμοφίλων, μεσόφιλων και ψυχρόφιλων μικροοργανισμών, αυτοί ακολουθούν τις εξισώσεις Arrhenius (Passman, 2003). Ωστόσο, η διάβρωση λόγω μικροβιακής ανάπτυξης που παρατηρήθηκε σε αγωγούς στην Αλάσκα (CIC Group, 2007) υποδεικνύει ότι οι χαμηλές θερμοκρασίες δεν αποτρέπουν τη βιο-υποβάθμιση. Ως εκ τούτου, η θερμοκρασία είναι πιθανότερο να επηρεάζει το ρυθμό της μικροβιακής ανάπτυξης εντός των φυσιολογικών ορίων για τον καθένα μικροοργανισμό παρά να αποτρέπει το φαινόμενο της μικροβιακής επιμόλυνσης (Passman, 2003). Μερικά μικρόβια απαιτούν θερμοκρασίες μικρότερες των 20°C ενώ άλλοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε υπέρθερμο περιβάλλον (>100°C). Ωστόσο, οι πιο συνήθεις θερμοκρασίες ανάπτυξης για τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι από 0°C έως 35°C ενώ το βέλτιστο θερμοκρασιακό εύρος είναι μεταξύ των 25°C και 35°C. Ως εκ τούτου, στις περιοχές που ανήκουν στις τροπικές ζώνες εμφανίζεται υψηλότερη επιδεκτικότητα στην μικροβιακή επιμόλυνση. Παρόλ' αυτά, προβλήματα από την ανάπτυξη των μικροοργανισμών απουσία κατάλληλων μέτρων ενδέχεται να καταγραφούν και σε ψυχρά κλίματα. Επίσης, οι περισσότεροι μικροοργανισμοί επιβιώνουν σε τιμές pH από 5.5 έως 8.0. Αντίστοιχα με τη θερμοκρασία, ορισμένοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε πιο όξινο περιβάλλον ενώ άλλοι σε ισχυρά αλκαλικά συστήματα (pH>11). Το pH της υδατικής φάσης στις περισσότερες δεξαμενές είναι μεταξύ των 6.0 και 9.0 (Passman, 2013).

Τα προϊόντα που προκύπτουν από τη διύλιση του πετρελαίου είναι μίγματα από υδρογονάνθρακες ευθείων ή διακλαδισμένων αλειφατικών, αρωματικών και κυκλικών ενώσεων. Οι διεργασίες που χρησιμοποιούνται κατά την παραγωγή των τελικών προϊόντων

καυσίμου επηρεάζουν την σύστασή τους και κατ' επέκταση το βαθμό στον οποίο είναι επιρρεπή στην μικροβιακή επιμόλυνση. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, όλα τα πετρελαϊκά προϊόντα αποτελούνται από υδρογονάνθρακες, άζωτούχες, θειούχες, οργανομεταλλικές και φωσφορικές ενώσεις. Τα μόρια αυτά παρέχουν άζωτο, θείο, φώσφορο και άλλα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά. Η βενζίνη είναι μίγματα αλκανίων (31-55%), αλκενίων (2-5%) και αρωματικών ενώσεων (20-50%). Τα μεσαία κλάσματα τυπικά αποτελούνται από χιλιάδες ενώσεις που συμπεριλαμβάνονται στα αλκάνια (64%), αλκένια (1-2%), στις αρωματικές (39%) και στις ενώσεις ετεροατόμων (Bacha, et al., 1998). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Robbins J. & Levy R., 2004), όλα τα είδη καυσίμων – συμβατικά, ανανεώσιμα και συνθετικά – δύνανται να αποικοδομηθούν. Στον Πίνακα 1-1 παρουσιάζονται ορισμένοι μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί από διάφορα καύσιμα.

Πίνακας 1-1: Μικροοργανισμοί που δύνανται να αποικοδομούν τα καύσιμα.

Βακτήρια (Bacteria)	Ζυμομύκητες (Yeasts)	Νηματοειδής μύκητες (Filamentous fungi)
Acinetobacter	Aureobasidiumpullulans	Acremoniumstrictum
Pseudomonas sp.	Candida lipolytica	Fusarium moniliforme
Alcaligenes	Candida sp.	Aspergillus sp.
Pseudomonas aeruginosa	Candida zeylanoides	Penicillium sp.
Bacillus sp.	Candida famata	Aspergillus fumigatus
Pseudomonas oleovorans	Hansenulamrakii	Penicillium corylophilum
Bacillus acidocaldarius	Candida fluviatilis	Aspergillus niger
Pseudomonas putida	Rhodotorula sp.	Rhinoctadiella sp.
Enterobacterglomerans	Candida guilliermondii	Cladosporium cladosporoides
SRB	Saccharomyces sp.	Trichodermaviride

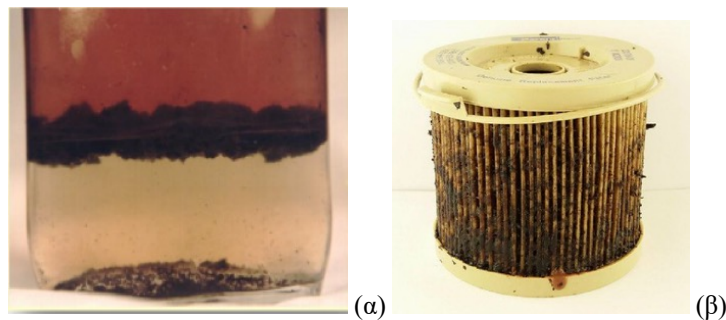
Εκτός από τους υδρογονάνθρακες από τους οποίους αποτελούνται τα πετρελαϊκά καύσιμα, ο πολλαπλασιασμός των μικροοργανισμών ευνοείται και από τα θρεπτικά συστατικά που περιέχονται στα καύσιμα, από οργανική ύλη που εισέρχεται στα συστήματα καυσίμων ή και από την ανάπτυξη πρωτογενών μικροοργανισμών. Το οξυγόνο, ο άνθρακας, το υδρογόνο, το άζωτο, το θείο και ο φώσφορος αποτελούν ορισμένα από τα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται για τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών. Επίσης, έχει καταγραφεί ότι οι ανθρακικές αλυσίδες C10-C18 αποικοδομούνται ευκολότερα από τους μικροοργανισμούς ενώ οι μικρότερες μπορεί να αποτελέσουν και ανασταλτικό παράγοντα ανάπτυξης αυτών. Η χημική σύσταση των καυσίμων επηρεάζει τη βιοαποικοδομησιμότητά τους με πολύπλοκο τρόπο

σύμφωνα με τις διαθέσιμες – αντικρουόμενες συχνά - βιβλιογραφικές αναφορές. Ειδικότερα, το βιοντήζελ και οι αλκοόλες είναι γνωστό ότι αυξάνουν την διαλυτότητα και την διασπορά του νερού στο καύσιμο (*Affens, et al., 1981; Passman, 2009; Shah, et al., 2010*). Ωστόσο, παρά τις εκτενείς αναφορές, δεν υπάρχει ομοφωνία στο κατά πόσο διάφορα είδη μεθυλεστέρων συνεισφέρουν στην βιοαποικοδόμιση του ντήζελ (*Passman, et al., 2005; Bücker F., 2011*). Παρόμοια, στη βιβλιογραφία συναντώνται αντικρουόμενες αναφορές σχετικά με την αντιμικροβιακή συμπεριφορά της αιθανόλης σε μίγματα αυτής με βενζίνη (*Solana, et al., 1995; Passman, et al., 2001*). Αξιωματικά, η αφαίρεση του μολύβδου από την βενζίνη αύξησε τη βιοαποικοδόμισή του καυσίμου. Επίσης, υποστηρίζεται ότι κατά την υδρογονοκατεργασία, εκτός από το περιεχόμενο θείο αφαιρείται και ένα μεγάλο μέρος αρωματικών ενώσεων, και ως εκ τούτου ενισχύεται περισσότερο η βιοαποικοδόμιση των καυσίμων (*Hill, et al., 1995*). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα βελτιωτικά πρόσθετα, τα οποία εισάγονται στα καύσιμα για τη βελτίωση των ιδιοτήτων τους, μπορούν να αποτελέσουν θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, καθώς περιέχουν άζωτο και φώσφορο (*Gaylarde, et al., 1999*). Ως εκ τούτου, η παρουσία προσθέτων (αλειφατικές αμίνες, καθαριστικά, αναστολείς της διάβρωσης) στο καύσιμο ντήζελ, ενδέχεται να ενθαρρύνουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Η μικροβιακή ανάπτυξη λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στη διεπιφάνεια της υδατικής και της οργανικής φάσης. Διεπιφάνεια νερού και καυσίμου συναντάται και στις εσωτερικές επιφάνειες του κελύφους των δεξαμενών. Παρόλο που τα βακτήρια και οι μύκητες μπορεί να βρίσκονται και στη φάση καυσίμου, η κύρια ανάπτυξη και η δραστηριότητά τους περιορίζονται στην υδατική φάση των συστημάτων καυσίμων. Τυπικά, η υποβάθμιση των καυσίμων και των συστημάτων αυτών προκαλούνται από τη δραστηριότητα πολύπλοκων μικροβιακών αποικιών που συναντώνται κυρίως σε μια ενδιάμεση φάση (μεταξύ της υδατικής και οργανικής) κολλώδους υφής που ονομάζεται βιοφίλμ (biofilm). Το βιοφίλμ αποτελείται από μικροοργανισμούς, προϊόντα του μεταβολισμού τους (βιοπολυμερή), νερό καθώς και παρελκόμενες οργανικές και ανόργανες ύλες. Με την πάροδο του χρόνου και εφόσον η δράση των μικροοργανισμών δεν περιοριστεί, το βιοφίλμ αναπτύσσεται πλήρως δημιουργώντας μια ευδιάκριτη μεμβρανοειδή ανομοιογενή φάση αποτελούμενη τόσο από βιολογικό υλικό όσο και από γαλακτώματα νερού-καυσίμου. Θρεπτικά συστατικά τόσο από την άνω φάση του καυσίμου όσο και από την κάτω φάση του νερού συγκετρώνονται στην ενδιάμεση αυτή ζώνη, η οποία αποτελεί μια μεγάλη αποθήκη για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Στις περιπτώσεις των δεξαμενών σε μικρότερο βέβαια βαθμό έχει, επίσης, παρατηρηθεί ανάπτυξη μικροοργανισμών στον πυθμένα, στα τοιχώματα και στο εσωτερικό της οροφής δεξαμενών αποθήκευσης καθώς και στο εσωτερικό των σωληνώσεων με αντίστοιχη δημιουργία βιοφίλμ. Η γενικότερη εμφάνιση ενός βιοφίλμ μαρτυρά και τις συνθήκες κάτω από τις οποίες έχει δημιουργηθεί. Επί παραδείγματι, σε αγωγούς διακίνησης όπου η ροή είναι συνεχής τα βιοφίλμ

τείνουν να είναι λεία και συμπαγή. Αντιθέτως σε πιο αδρανές περιβάλλον (π.χ. τοιχώματα δεξαμενών) αποκτούν νηματοειδή όψη. Σε μία δεξαμενή καυσίμου, το μικροβιακό φορτίο παρουσιάζει μέγιστη τιμή στον πυθμένα (φάση νερού και διεπιφάνεια καυσίμου-νερού), ενώ στον κύριο όγκο του καυσίμου συνήθως μειώνεται αισθητά καθ' ύψος προς την επιφάνεια του καυσίμου.

Αερόβια και προαιρετικά αναερόβια (βακτήρια που μπορούν να αναπτυχθούν τόσο παρουσία οξυγόνου όσο και σε ανοξικό περιβάλλον) καταναλώνουν το οξυγόνο και δημιουργούν τις απαραίτητες συνθήκες για τον πολλαπλασιασμό των αναερόβιων μικροοργανισμών. Ορισμένα βακτήρια και είδη μυκήτων παράγουν βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες που δημιουργούν ανάστροφα γαλακτώματα, τα οποία με τη σειρά τους καθιστούν διαθέσιμα τα μη πολικά συστατικά των καυσίμων. Επίσης, τα προϊόντα που εκκρίνονται από την αποικοδόμιση των υδρογονανθράκων αποτελούν τροφή για άλλα μέλη της μικροβιακής κοινότητας. Ως επίδραση των παραπάνω είναι η μεταβολή του pH, του οξειδοαναγωγικού δυναμικού και η σύσταση των θρεπτικών συστατικών, η οποία παρουσιάζει ελάχιστη ομοιότητα με αυτή του περιβαλλόντος εκτός του βιοφίλμ.



Εικόνα 1-1: (α) Σχηματισμός βιοφίλμ και ιζήματος σε επιμολυσμένο δείγμα ντήζελ κίνησης, (β) Μικροβιακά επιμολυσμένο φίλτρο αντλίας καυσίμου.

1.4. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ

Η μη ελεγχόμενη μικροβιακή δράση υποβαθμίζει σταδιακά την ποιότητα του καυσίμου καθώς συντελεί στην αποδόμηση του. Εκτός από τη δημιουργία του βιοφίλμ, οπτικά παρατηρείται συνήθως θόλωση της φάσης του καυσίμου, σχηματισμός ιζήματος και εναποθέσεις λασπώδους υφής στον πυθμένα των δεξαμενών. Σε ακραίες περιπτώσεις, πιθανόν τα ανώτερα να συνοδεύονται και από ύπαρξη δυσάρεστης οσμής. Εάν δεν ληφθούν τα κατάλληλα μέτρα, είναι δυνατή η διάδοση της επιμόλυνσης σε διάφορα σημεία κατά μήκος της εφοδιαστικής αλυσίδας μέσω των συστημάτων διανομής του καυσίμου. Οι περισσότεροι εμφανείς επιπτώσεις, πάντως, προκύπτουν από τα προϊόντα του μεταβολισμού των μικροοργανισμών. Στον Πίνακα 1-2 αναφέρονται κάποια χαρακτηριστικά συμπτώματα της ανάπτυξης μικροβιακού φορτίου στα καύσιμα σε αντιστοιχία με τους μικροοργανισμούς που εκτιμάται ότι συντελούν σε αυτά.

Πίνακας 1-2: Χαρακτηριστικά προβλήματα μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων.

Πρόβλημα	Κύριοι τύποι μικροοργανισμών
Απόφραξη φίλτρων, βαλβίδων, σωληνώσεων και λάθος ενδείξεις από όργανα ελέγχου του συστήματος καυσίμου	Μύκητες, βακτήρια παραγωγής πολυμερών
Υψηλή περιεκτικότητα σε νερό	Όλα
Σχηματισμός λασποειδών επικαθίσεων	Όλα
Παραγωγή επιφανειοδραστικών ουσιών	Μύκητες και αερόβια βακτήρια
Διάβρωση δεξαμενών αποθήκευσης και σωληνώσεων	Μύκητες και αναερόβια βακτήρια
Παραγωγή αιωρούμενων στερεών μέσα στο καύσιμο	Όλα
Αποικοδόμηση υδρογονανθράκων	Μύκητες και αερόβια βακτήρια
Μείωση χρόνου ζωής φίλτρων	Όλα
Δυσλειτουργία συστήματος ψεκασμού	Αερόβια βακτήρια και μύκητες
Αυξημένη περιεκτικότητα θείου στο καύσιμο	Βακτήρια αναγωγής θείου (SRB)
Μείωση χρόνου ζωής μηχανικών εξαρτημάτων	Αδιευκρίνιστο
Διείσδυση στην προστατευτική επένδυση των δεξαμενών	Μύκητες
Προβλήματα υγείας	Βακτήρια που παράγουν ενδοτοξίνες, SRB

(Gaylarde, et al., 1999)

Η συσσώρευση βιομάζας στα συστήματα καυσίμων περιορίζει τη ροή του καυσίμου, παρεμβαίνει στη λειτουργία των βαλβίδων, αντλιών ή άλλων κινούμενων μερών ή προκαλεί δυσλειτουργίες σε αυτόματους μετρητές (Neihof, et al., 1983; IATA Aviation Fuel Working Group, 2005). Το πιο σύνηθες πρόβλημα που έχει αναφερθεί είναι η φραγή των φίλτρων (Siegert, 2013) ενώ η αύξηση της πίεσης και περιορισμός της ροής αναφέρονται πιο σπάνια και υποδεικνύουν υψηλή μικροβιακή επιμόλυνση. Οι μικροοργανισμοί προκαλούν φραγή των φίλτρων με τρεις μηχανισμούς: (1) Στα μεσαία κλάσματα του πετρελαίου και το βιοντήζελ, όπου υπάρχει επαρκής ποσότητα νερού για αν υποστηρίζει τον μικροβιακό πολλαπλασιασμό, τα βακτήρια και οι μύκητες δύνανται να δημιουργήσουν αποικίες στο φίλτρο. (2) Σε φίλτρα που χρησιμοποιούνται σε συστήματα διακίνησης μεγάλων ποσοτήτων καυσίμων, όπως στους διαχωριστήρες των πλοίων, ο μικροβιακός πολλαπλασιασμός σχηματίζει χαρακτηριστικές περιοχές μαύρου χρώματος επάνω στις εξωτερικές επιφάνειες των φίλτρων. (3) Όταν η μικροβιακή ανάπτυξη λαμβάνει χώρα εσωτερικά ή πάνω στα φίλτρα, η παραγωγή βιοπολυμερών επιδεινώνει το ρυθμό φραγής των φίλτρων. Αν η φραγή των φίλτρων συμβεί

στο σύστημα διανομής καυσίμου σε ένα όχημα μπορεί να αποτελέσει ενόχληση, αν όμως συμβεί σε αεροσκάφος εν πτήση μπορεί να είναι καταστροφικό (Rauch, et al., 2006). Το 2009 παρατηρήθηκε αύξηση των περιστατικών πρόωμης αλλαγής φίλτρων σε φορτηγά που χρησιμοποιούν καύσιμο B5 ενώ, επίσης, είχε παρατηρηθεί σε παραπάνω από το 60% των πρατηρίων υγρών καυσίμων των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής ότι ο ρυθμός ροής διανομής της βενζίνης ήταν κατά 70% μικρότερος της ονομαστικής μέγιστης τιμής (Passman, 2003).

Άλλα συμπτώματα που αποδίδονται στη μικροβιακή δράση αφορούν σε διαρροές καυσίμων οφειλόμενες στην ηλεκτροχημική βιο-διάβρωση των τοιχωμάτων των δεξαμενών και των σωληνώσεων (MIC - Microbiologically Induced Corrosion) κυρίως σε ανοξικό περιβάλλον και συνήθως από τους μεταβολίτες των SRB μικροοργανισμών. Σύμφωνα με την μελέτη της Ομοσπονδιακής Επιτροπής Μεταφορών των Η.Π.Α. που διεξήχθη από μεταξύ των 1999 και 2001, το κόστος που προκλήθηκε από προβλήματα διάβρωσης άγγιξε τα \$276 δισεκατομμύρια και υπολογίζεται μάλιστα ότι το 50% αποδίδεται σε φαινόμενα βιοδιάβρωσης. Σχεδόν πάντοτε, η βιοδιάβρωση σχετίζεται με τον σχηματισμό βιοφίλμ. Εάν οι εναποθέσεις του βιοφίλμ είναι ανδρανείς, μπορούν να συνεισφέρουν στο φαινόμενο της βιοδιάβρωσης με το να δημιουργούν χημικές και ηλεκτροδυναμικές διαβαθμίσεις μεταξύ των επιφανειών του βιοφίλμ και των επιφανειών που εκτίθενται στην υδατική ή οργανική φάση. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε, οι αποικίες που βρίσκονται στο βιοφίλμ είναι μεταβολικά ενεργές. Ασθενή οργανικά οξέα που παράγονται από τις μεταβολικές διεργασίες αντιδούν με ανόργανα άλατα, όπως τα χλωρίδια, νιτρικά, νιτρώδη και θειικά, και σχηματίζονται ισχυρά ανόργανα οξέα: υδροχλωρικό, σουλφουρικό, νιτρικό και νιτρώδες οξύ.

Σύμφωνα με τους (Hill, et al., 2008) τα μέταλλα που προσβάλλονται από τη βιο-διάβρωση είναι ο σίδηρος, ο χάλυβας, ο ανοξειδωτος χάλυβας και τα υλικά σειράς AISI 300 που περιέχουν 8-35% Νικέλιο, αλουμίνιο και τα κράμματά του, καθώς και χαλκό και τα κράμματά του. Σύμφωνα με μια συγκριτική μελέτη που διεξήχθη από τους (Lee, et al., 2009) σχετικά με τη βιο-διάβρωση αλουμινίου (UNS A95052), χάλυβα (UNS C10200) και ανοξειδωτου χάλυβα (UNS S30403) σε συστήματα καυσίμων ντήζελ υψηλού θείου (>150 ppm S), χαμηλού θείου (ULSD), βιοντήζελ (B100) καθώς και σε μίγματα – B5 και B20 - αυτού με ντήζελ (ULSD), παρατηρήθηκε ότι η μεγαλύτερη διάβρωση καταγράφηκε στην περίπτωση του ULSD/ C10200 μικρόκοσμου ενώ το κράμμα του ανοξειδωτου χάλυβα έμεινε ανεπηρέαστο ανεξάρτητα του είδους του καυσίμου. Στην περίπτωση δε του A9052, το φαινόμενο της βιοδιάβρωσης έλαβε μεγαλύτερη έκταση στην περίπτωση του ULSD σε σχέση με το καθαρό βιοντήζελ (B100) ενώ το φαινόμενο της βιο-διάβρωσης φαίνεται να μην έλαβε χώρα στα B5 και B20 μίγματα.

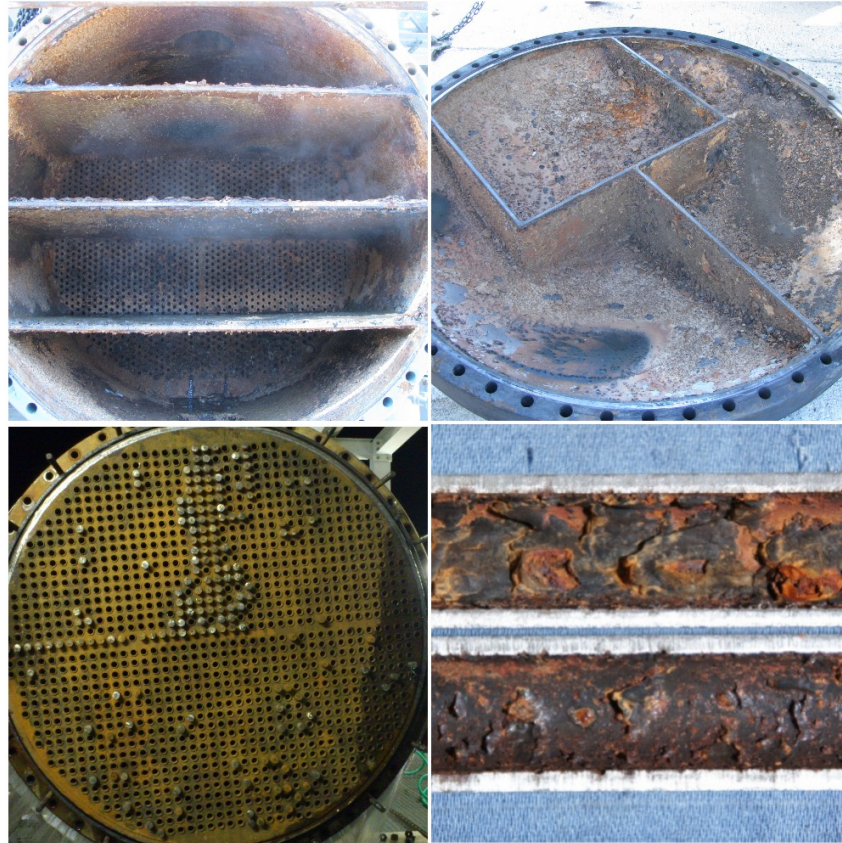


Εικόνα 1-2: Βιοδιάβρωση (MIC) σε πυθμένα δεξαμενής λόγω βακτηρίων τύπου SRB.

Οι μικροοργανισμοί, επίσης, καταστρέφουν τις προστατευτικές επικαλύψεις των μετάλλων και απενεργοποιούν τους οργανικούς και ανόργανους αναστολείς διάβρωσης και ως εκ τούτου επιταχύνουν τη διαδικασία της διάβρωσης των μεταλλικών δεξαμενών και του επιμέρους εξοπλισμού. Συγκεκριμένα, σε μελέτη που διεξήχθη από τους (Gu, *et al.*, 1998), παρατηρήθηκε αποικοδόμιση της προστατευτικής επικάλυψης από πολυουρεθάνη και της πολυμερικής της μήτρας έπειτα από έκθεση αυτής σε μείγμα μικροβιακού πληθυσμού (*P. aeruginosa*, *Ochrobactrum anthropii*, *Alcaligenes denitrificans*, *Xanthomonas maltophilia*, and *Vibrio harveyi*). Η βιοποβάθμιση της πολυουρεθάνης δεν αποφεύχθηκε, επίσης, ούτε έπειτα από την προσθήκη βιοκτόνου ουσίας (diiodomethyl-p-tolylsulfon). Επίσης, οι (Stranger-Johannessen, *et al.*, 1991) παρατήρησαν ότι, σε αντίθεση με το έως τότε υπάρχον μοντέλο, το οποίο υποστηρίζει ότι η βιοαποικοδόμιση της επικάλυψης πραγματοποιείται όταν το νερό και τα μικρόβια αποκτούν πρόσβαση μεταξύ της επίστρωσης και της μεταλλικής επιφανείας, οι μικροβιακές κοινότητες μπορούν να επιτεθούν απευθείας στις επιφάνειες που φέρουν την επίστρωση.

1.5. ΈΛΕΓΧΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ

Οι δύο βασικοί πυλώνες για τον έλεγχο της μικροβιακής ανάπτυξης είναι η πρόληψη και η αποκατάσταση. Η πρόληψη αφορά κατά κύριο λόγο τον σχεδιασμό των συστημάτων αποθήκευσης και διακίνησης και ελαχιστοποίηση των σημείων που μπορεί να υπάρξει συσσώρευση νερού. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι όλες οι δεξαμενές - υπέργειων κατά προτίμηση όπου είναι δυνατόν - θα πρέπει να είναι σχεδιασμένες ώστε να διευκολύνεται η απομάκρυνση νερού και στερεών από τους πυθμένες τους, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η μόλυνση και να διευκολύνεται η δειγματοληψία.



Εικόνα 1-3: Προβλήματα διάβρωσης που οφείλεται στην ύπαρξη μικροοργανισμών σε εναλλάκτες θερμότητας του διυλιστηρίου της Motor Oil Hellas στην Κόρινθο, Ελλάδα.

Επίσης, η γεωμετρία του πυθμένα της δεξαμενής θα πρέπει να είναι κωνική, με ικανοποιητική κλίση που θα επιτρέπει στη φάση νερού και στο ίζημα να απομακρυνθεί εύκολα. Επειδή όμως σε ήδη υπάρχουσες εγκαταστάσεις η επανασχεδίαση είναι πιθανότατα μη εφικτή, ιδιαίτερη βαρύτητα αποκτά η εφαρμογή προληπτικής συντήρησης, όπως επί παραδείγματι η εξυδάτωση των συστημάτων και ο καθαρισμός των δεξαμενών σε τακτά διαστήματα. Η διάβρωση μπορεί να αντιμετωπιστεί με την εφαρμογή προστατευτικών επιστρώσεων στις επιφάνειες της δεξαμενής, καθώς και μέσω της καθοδικής προστασίας. Είναι απαραίτητο να καταρτιστεί σχέδιο εποπτείας στα κρίσιμα σημεία της εφοδιαστικής αλυσίδας με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης μικροβιακού φορτίου ώστε ο εντοπισμός της επιμόλυνσης να πραγματοποιείται στα αρχικά του στάδια προτού μετατραπεί σε ζήτημα άμεσης αντιμετώπισης. Για την αξιοπιστία των μετρήσεων είναι σημαντικό να τηρούνται αυστηρά τα πρωτόκολλα δειγματοληψιών (π.χ. ASTM D7464) και τα δείγματα να εξετάζονται το συντομότερο δυνατό.

Η επιλογή της στρατηγικής για την αποκατάσταση των επιμολυσμένων συστημάτων εξαρτάται από τη φύση της επιμόλυνσης, νομοθετικών περιορισμών και τεχνικών θεμάτων. Φυσικές μέθοδοι, όπως η καθίζηση, θερμική επεξεργασία και φίλτραυση (Hill, 1995), μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως στρατηγικές αντιμετώπισης λαμβάνοντας πάντοτε υπόψιν το μέγεθος των δεξαμενών αλλά και το είδος και την έκταση της επιμόλυνσης (Chesneau, 2003; Anderson, et

al., 2009). Η εφαρμογή βιοκτόνων (biocides) γίνεται σε εκείνες τις περιπτώσεις που ανιχνεύεται υψηλό επίπεδο μικροβιακού φορτίου και απαιτείται άμεση αντιμετώπιση.

Η επιλογή του βιοκτόνου πραγματοποιείται με βάση τις παραμέτρους και τα χαρακτηριστικά του συστήματος καυσίμου/ νερού, το επίπεδο και το είδος του μικροβιακού φορτίου και φυσικά με γνώμονα τις εγκρίσεις που φέρει, ενώ ταυτόχρονα θα πρέπει να χρησιμοποιείται στην προτεινόμενη δοσολογία λαμβάνοντας όλα τα μέτρα ασφαλείας όπως αναφέρονται στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (Safety Data Sheets). Τα κριτήρια που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για την ορθή επιλογή και την αποτελεσματικότητα του βιοκτόνου είναι επιγραμματικά τα εξής:

- Δραστικότητα σε μεγάλο εύρος μικροοργανισμών
- Συμβατότητα με το καύσιμο και τα πρόσθετα αυτού
- Κατάλληλος συντελεστής διαχωρισμού σε συστήματα νερού – καυσίμου
- Εύκολη χρήση και διαχείριση
- Βιοαποικοδομησιμότητα

Ταξινομούνται ως βακτηριοκτόνα (bactericides), μυκητοκτόνα (fungicides) ή συνολικά μικροβιοκτόνα (microbiocides) ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών που στοχεύουν να καταπολεμήσουν. Επίσης ταξινομούνται ως υδατοδιαλυτά (water-soluble), διαλυτά στη φάση καυσίμου (fuel-soluble) ή διαλυτά και στις δύο φάσεις (dual soluble). Η χημική τους σύσταση ποικίλει και στον Πίνακα 1-3 δίνονται μερικοί χαρακτηριστικοί τύποι χημικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται (ή έχουν χρησιμοποιηθεί) σε συστήματα καυσίμων.

Πίνακας 1-3: Ενώσεις που έχουν βιοκτόνο δράση στα συστήματα καυσίμων.

Διαλυτές στη φάση καυσίμου	Διαλυτές στη φάση νερού
Isothiazolines	Morpholines
Organoborinanes	Oxazolidines
Pyridinethione	Halides
Hexahydrotriazines	Aldehydes
Imidazolcarbamate	Phenolics

(Gaylarde, et al., 1999; Siegert, et al., 2013)

Από την άλλη μεριά, λαμβάνοντας υπόψη ότι τα βιοκτόνα είναι από τη φύση τους ιδιαίτερα τοξικές ουσίες, η χρήση τους απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και δεν προβλέπεται από το υπάρχον

θεσμικό πλαίσιο. Η εφαρμογή βιοκτόνων σε περιοδική ή μόνιμη βάση είναι ένα ζήτημα που προβληματίζει ιδιαίτερα τους εμπλεκόμενους φορείς. Αφενός μεν εγείρονται αμφισβητήσεις λόγω δυνητικών επιπτώσεών τους στο οικολογικό προφίλ προϊόντων, όπως το βιοντήζελ. Αφετέρου, εκφράζονται επιφυλάξεις από την αυτοκινητοβιομηχανία αναφορικά με πιθανές επιδράσεις στις προδιαγραφές του καυσίμου και στους κινητήρες, καθώς εκτός από κάποιες εγκρίσεις από μεμονωμένους φορείς δεν υπάρχει ένα συνολικό θεσμικό πλαίσιο ή προδιαγραφή που να καλύπτει τη χρήση των προϊόντων αυτών στο καύσιμο ντήζελ. Επίσης, η χρήση τους αντιμετωπίζει αυξανόμενους περιορισμούς λόγω του αυστηρού ελέγχου που επιβάλλεται από τις ρυθμιστικές διατάξεις. Στην Ευρώπη το νέος κανονισμός για τα βιοκτόνα (*REGULATION (EU) No 528/2012, 2012*), εγκρίθηκε στις 22 Μαΐου 2012 και αποσκοπεί στο να ασκήσει αυστηρό έλεγχο στα προϊόντα που προορίζονται για βιοκτόνα απαιτώντας αδειδότηση και προηγούμενη έγκριση των δραστικών ουσιών πραγματοποιείται σε επίπεδο Ε.Ε.

2. Μελέτη προβλημάτων και κατάστασης της ελληνικής εφοδιαστικής αλυσίδας καυσίμων

Στην ενότητα αυτή επιχειρείται μια ανασκόπηση της κατάστασης που επικρατεί στην ελληνική εφοδιαστική αλυσίδα καυσίμων ώστε να γίνει αντιληπτή η ύπαρξη και το μέγεθος του προβλήματος που δικαιολογεί τόσο την ενδελεχή εξέταση του αντικειμένου σε ερευνητικό επίπεδο όσο και την εγρήγορση και ανάληψη δράσεων από τους εμπλεκόμενους φορείς.

Τα προβλήματα που σχετίζονται με την ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου στο ντήζελ/βιοντήζελ έχουν γίνει περισσότερο εμφανή κυρίως σε πρατήρια υγρών καυσίμων και γενικά σε εγκαταστάσεις ανεφοδιασμού. Απαρτίζουν τα τελευταία στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας και συνήθως συνιστούν πρόσφορο έδαφος συσσωρευμένης διάδοσης όποιας επιμόλυνσης από προηγούμενα στάδια. Περαιτέρω το πρόβλημα διογκώνεται διότι, ακριβώς επειδή οι εγκαταστάσεις αυτές είναι από τους τελευταίους κρίκους της αλυσίδας, οι εκάστοτε χειριστές ενίοτε είναι ελάχιστα ενημερωμένοι για ζητήματα μικροβιακού φορτίου και επομένως δεν έχουν τη δυνατότητα είτε να αποτρέψουν, είτε να αναγνωρίσουν και να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά την εμφάνιση μικροβιολογικής δραστηριότητας. Μεγάλο ποσοστό, λοιπόν, των επιμολυσμένων δειγμάτων που καταφθάνουν στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Καυσίμων και Λιπαντικών Ε.Μ.Π. προέρχονται από πρατήρια / δεξαμενές ανεφοδιασμού υγρών καυσίμων. Τα παράπονα περιλαμβάνουν το σχηματισμό λασπώδους υφής ιζημάτων με ταχύτερο ρυθμό καθώς και δυσλειτουργία των αντλιών του καυσίμου. Αναπόφευκτα, το μικροβιακό φορτίο μεταφέρεται στους τελικούς χρήστες - κυρίως σε επαγγελματικά οχήματα - και είναι αναρίθμητα τα περιστατικά φραγής του φίλτρου καυσίμου ή διάβρωσης του συστήματος διανομής λόγω της επιμόλυνσης του καυσίμου. Πάντως δεν απουσιάζουν και προβληματικά δείγματα από βυτιοφόρα ή ενδιάμεσες εγκαταστάσεις, γεγονός που καταδεικνύει τη διασπορά του προβλήματος.

Τα τελευταία χρόνια, επίσης, έχει παρατηρηθεί μια αύξηση των κρουσμάτων που σχετίζονται με ζητήματα μικροβιακής ανάπτυξης σε εμπορικά δείγματα βενζίνης. Το εργαστήριο Τεχνολογίας Καυσίμων και Λιπαντικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου έχει λάβει δείγματα από προμηθευτές αλλά και από καταναλωτές, οι οποίοι κάνουν λόγο για προβλήματα που σχετίζονται με μικροβιακή ανάπτυξη. Από την ανάλυση της φάσης καυσίμου αλλά και της υδατικής φάσης των εν λόγω δειγμάτων βρέθηκε ότι η πλειοψηφία των προβλημάτων σχετίζεται με αυξημένη μικροβιακή ανάπτυξη. Συγκεκριμένα, σημαντικό μικροβιακό φορτίο ανιχνεύτηκε στην υδατική φάση των δειγμάτων ενώ η φάση καυσίμου ήταν σε γενικές γραμμές ανεπηρέαστη από την μικροβιακή ανάπτυξη. Παρ' όλα αυτά, σε ορισμένες περιπτώσεις ορισμένες ποιοτικές παράμετροι του καυσίμου είχαν επηρεαστεί προκαλώντας υποβάθμιση

αυτού. Επίσης, αυξάνοντας το χρονικό διάστημα στο οποίο η υδατική ήταν σε επαφή με τη φάση καυσίμου, η μικροβιακή δραστηριότητα επηρέαζε, επίσης, και τη φάση καυσίμου. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε κανένα από τα δείγματα δεν περιείχε αιθανόλη (ή άλλου τύπου αλκοόλη) καθώς η σταδιακή εισαγωγή της βιοαιθανόλης στο ενεργειακό μείγμα της χώρας θα εκκινήσει από το 2018. Γενικά, τα παραπάνω περιστατικά έχουν προκαλέσει το ενδιαφέρον για περαιτέρω έρευνα σχετικά με την ευαισθησία της βενζίνης στη μικροβιακή επιμόλυνση, καθώς και την επίδραση των ανανεώσιμων υποκατάστατων όπως η βιοαιθανόλη.

Η μελέτη των προβλημάτων και της κατάστασης στην ελληνική ενεργειακή εφοδιαστική των καυσίμων επίγειων μεταφορών πραγματοποιήθηκε μέσω της εξέτασης εμπορικών δειγμάτων τα οποία κατηγοριοποιούνται ως εξής:

A. Δείγματα που κρίθηκαν ως φέροντα ενδείξεις μικροβιακού φορτίου λόγω της αρχικής οπτικής αξιολόγησης (π.χ. θολότητα, ύπαρξη φάσης νερού ή ιζήματος ή βιοφίλμ) ή των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους (π.χ. περιεκτικότητα σε νερό).

B. Τυχαία εμπορικά δείγματα χωρίς ενδείξεις ή ποιοτικές παραμέτρους εκτός ορίων.

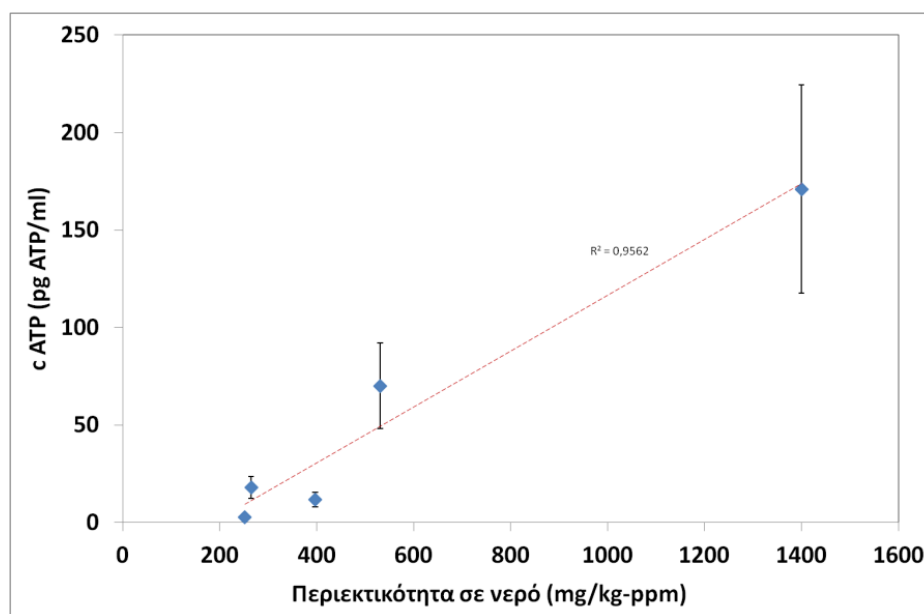
Τα δείγματα προέρχονται κυρίως από τα τελευταία στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας και από διάφορες περιοχές της ελληνικής επικράτειας και αποτελούν ενδεικτικά παραδείγματα – προβλήματα. Η διάκριση των δειγμάτων σε δύο κατηγορίες έγινε για την επιβεβαίωση ή μη της ύπαρξης μικροβιακού φορτίου αφενός σε εκείνα τα δείγματα που έφεραν εμφανείς αλλοιώσεις στα χαρακτηριστικά τους και αφετέρου σε αυτά που δεν υπήρχε αρχική ένδειξη μικροβιακής δραστηριότητας. Με αυτό το τρόπο ουσιαστικά επιχειρήθηκε μια κατά το δυνατόν αντιπροσωπευτική αξιολόγηση του ζητήματος. Παρακάτω αναλύονται κάποιες αντιπροσωπευτικές περιπτώσεις. Παραδείγματα προβληματικών καυσίμων με ενδείξεις ανάπτυξης μικροβιακού φορτίου

2.1 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΚΤΟΣ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΗΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΝΕΡΟ

Εξέταση πέντε εμπορικών δειγμάτων ντήζελ κίνησης (B7) με περιεκτικότητα σε νερό υψηλότερη από την προδιαγραφή (>200ppm), χωρίς όμως σαφή εμφάνιση διαχωρισμένης υδατικής φάσης ή βιοφίλμ. Τα τέσσερα από τα πέντε δείγματα έχρηζαν είτε προληπτικού ελέγχου είτε διορθωτικής δράσης. Επίσης, φάνηκε να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας σε νερό στη φάση καυσίμου και της συγκέντρωσης του ATP όπως δίνεται στο διάγραμμα του Πίνακα 2-1.

Πίνακας 2-1: Επίπεδα μικροβιακής επιμόλυνσης εμπορικών δειγμάτων ντήζελ κίνησης.

ΔΕΙΓΜΑ	Υγρασία (ppm)	Βιοφωτάγεια ATP		Dip Slide	
		c _{ATP} (pg ATP/ml)	Σχόλια	Βακτήρια (cfu/ml)	Μήκυτες (cfu/ml)
AD1	252	2.76	Καλός έλεγχος	0	0
AD2	397	11.9	Προληπτική δράση	10 ³	10 ³
AD3	265	17.9	Προληπτική δράση	0	0
AD4	1400	171	Διορθωτική Δράση	10 ⁴	0
AD5	531	70.1	Διορθωτική Δράση	10 ⁴	10 ³



Σχήμα 2-1: Περιεκτικότητα σε νερό vs. μικροβιακή δραστηριότητα σε εμπορικά μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ.

2.2 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΚΤΟΣ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΗΣ ΣΤΗΝ ΟΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ


- Εμπορικό ντίζελ κίνησης από το ακροστόμιο ("πιστόλι") της αντλίας ανεφοδιασμού πρατηρίου με μειωμένη διαύγεια. Το καύσιμο, το οποίο έφτανε στον τελικό καταναλωτή, παρότι είχε ένα χαμηλό επίπεδο επιμόλυνσης εντούτοις έπρεπε να υπάρξουν ενέργειες προληπτικού χαρακτήρα στο σύστημα για τη μη επιδείνωση της κατάστασης.

	Μέθοδος	Dip Slides (cfu/ml)		CA TP (pg ATP/ml)
		Βακτήρια	Μύκητες	7,53
		10 ³	0	
	Παρατηρήσεις	<i>Χαμηλή επιμόλυνση</i>	<i>N/A</i>	<i>Προληπτική Δράση</i>


- Εμπορικό ντίζελ κίνησης από δεξαμενή πρατηρίου με σαφή ύπαρξη δύο φάσεων και εμφάνιση "βιοφίλμ" στη διεπιφάνεια αυτών. Οι μετρήσεις στην υδατική φάση έδειξαν ότι το σύστημα παρουσίαζε υψηλά επίπεδα μικροβιακής δραστηριότητας και ήταν αναγκαία η λήψη διορθωτικών δράσεων για την άμεση επαναφορά του.

	Μέθοδος	Dip Slides (cfu/ml)		CA TP (pg/ml)	Thixotropic Gel Culture (cfu/ml)	SRB Test (cfu/ml)
		Βακτήρια	Μύκητες	1730	10 ⁵	10 ⁵
	10 ⁴	10 ² -10 ³				
	Παρατηρήσεις	<i>Ελαφριά-Μέση επιμόλυνση</i>	<i>Ελαφριά-Μέση επιμόλυνση</i>	<i>Διορθωτική Δράση</i>	<i>Μέτρια Μόλυνση</i>	<i>Υψηλή Μόλυνση SRB</i>


- Εμπορικό ντήζελ κίνησης από δεξαμενή πρατηρίου με σαφή υπαρξη δύο φάσεων χωρίς εμφανή υπαρξη "βιοφίλμ" αλλά με αδιαφάνεια και αλλοιωμένη όψη της φάσης καυσίμου. Εντούτοις, η μέτρηση της μικροβιακής δραστηριότητας στην υδατική φάση έδειξε ότι το σύστημα δεν παρουσίαζε υψηλά επίπεδα μικροβιακής δραστηριότητας. Παρ' όλα αυτά η οπτική αξιολόγηση το κατατάσσει ως καύσιμο μη κατάλληλο για πώληση.

	Μέθοδος	CATP (pg ATP/ml)
	Παρατηρήσεις	170 <i>Προληπτική Δράση</i>


- Δείγματα εμπορικού ντήζελ κίνησης από το σύστημα αποθήκευσης και διανομής πρατηρίου καυσίμου. Η δειγματοληψία έγινε από τρία διαφορετικά επίπεδα στη δεξαμενή αποθήκευσης (άνω-μέση-κάτω) καθώς και από το ακροστόμιο της αντλίας ανεφοδιασμού. Τα δείγματα είχαν μειωμένη διαύγεια ενώ επιπροσθέτως στο δείγμα από τον πυθμένα ήταν εμφανής η παρουσία ιζημάτων. Παρατηρείται ότι τα δείγματα είναι πράγματι μικροβιακά επιβαρυνμένα και χρήζουν διορθωτικής δράσης. Αυτό σημαίνει ότι σε όλα τα σημεία της δεξαμενής η μικροβιακή ανάπτυξη στη φάση καυσίμου είναι έντονη. Μικροβιακή μόλυνση, σε μικρότερο πάντως βαθμό, ανιχνεύεται και στο αντιπροσωπευτικό δείγμα που καταλήγει στο τελικό καταναλωτή (ακροστόμιο). Επίσης, είναι εμφανές ότι στον κάτω μέρος της φάσης καυσίμου η μικροβιακή δραστηριότητα είναι εντονότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα σημεία της δεξαμενής.

	Δείγμα	Βιοφωτάγεια ATP		Thixotropic Gel Culture	
		CATP (pg ATP/ml)	Σχόλια	(cfu/ml)	Σχόλια
	Άνω φάση	91.5	Διορθωτική δράση	-	-
	Ενδιάμεση φάση	56.1	Διορθωτική δράση	-	-
	Κάτω φάση	219	Διορθωτική δράση	10 ⁷	Υψηλή Μόλυνση
	Ακροστόμιο αντλίας	12.8	Προληπτική δράση	-	-

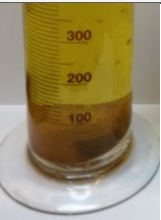
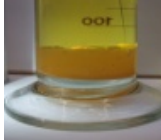
- Δείγματα εμπορικό ντήζελ κίνησης από δεξαμενές αποθήκευσης πρατηρίων καυσίμων με διαχωρισμένη υδατική φάση, χωρίς όμως εμφάνιση "βιοφίλμ" και σχετικά αποδεκτή διαύγεια. Οι μετρήσεις στην υδατική φάση έδειξαν ότι το σύστημα παρουσίαζε υψηλό μικροβιακό φορτίο από αερόβιους μικροοργανισμούς και ήταν αναγκαία η λήψη διορθωτικών δράσεων για την άμεση επαναφορά του. Είναι φανερό από τα αντίστοιχα αποτελέσματα ότι δείγματα από την εφοδιαστική αλυσίδα μπορεί να εμφανίζουν ισχυρή μικροβιακή επιμόλυνση, ακόμα και στις περιπτώσεις εκείνες όπου αρχικά η οπτική αξιολόγηση δεν υποδήλωνε δραστηριότητα μικροοργανισμών.

Δείγμα	CATP (pg/ml)	Thixotropic Gel Culture (CFU/ml)	SRB Test	
	AD6	1700	10^7	0
	AD7	1880	10^7	0
Παρατηρήσεις	Διορθωτική δράση	Υψηλή Μόλυνση	N/A	

- Δείγμα αμόλυβδης βενζίνης "σούπερ" (100RON) από τον πυθμένα δεξαμενής πρατηρίου καυσίμων Παρατηρείται μειωμένη διαύγεια και αλλοίωση στην απόχρωση της φάσης καυσίμου, σχηματισμός "βιοφίλμ", ενώ η υποκείμενη φάση νερού είναι ιδιαίτερα αδιαφανής και με παρουσία σωματιδίων, γεγονός που υποδηλώνει σημαντική μικροβιακή δραστηριότητα. Από την εξέταση της υδατικής φάσης προέκυψε ισχυρή βακτηριακή επιμόλυνση και ήταν αναγκαία η λήψη άμεσων ενεργειών για την εξυγίανση του συστήματος.


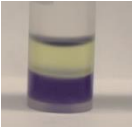
	Μέθοδος	Dip Slides (cfu/ml)	
		Βακτήρια	Μύκητες
		10 ⁶	-
	Παρατηρήσεις	Υψηλή επιμόλυνση	-

- Δείγματα αμόλυβδης βενζίνης "απλής" (95RON) από δεξαμενές πρατηρίου καυσίμων με σαφή ύπαρξη δύο φάσεων, εμφάνιση "βιοφίλμ" στη διεπιφάνεια αυτών και παρουσία ιζημάτων/σωματιδίων στην κάτω στοιβάδα. Η εξέταση των υδατικών φάσεων έδειξε ότι τα εξεταζόμενα καύσιμα είχαν υψηλό επίπεδο επιμόλυνσης εντούτοις έπρεπε να υπάρξουν ενέργειες διορθωτικού χαρακτήρα στο σύστημα.

Δείγμα		CA TP (pg/ml)
	UNL2	2730
	UNL3	10900
<i>Παρατηρήσεις</i>		<i>Διορθωτική δράση</i>

- Εμπορικό ντήζελ κίνησης από δεξαμενή πρατηρίου το οποίο έχει εμφανείς αλλοιώσεις στην ποιότητά του, καθώς είναι ιδιαίτερα θολό, υπάρχει υδατική φάση στο κάτω μέρος με παρουσία ιζημάτων καθώς εμφάνιση "βιοφίλμ" στη διεπιφάνεια. Τα παραπάνω αποτελούν ισχυρές ενδείξεις μικροβιακής δραστηριότητας. Όπως παρατηρείται από τα αποτελέσματα, η συγκέντρωση του μικροβιακού φορτίου σε όλα τα δείγματα είναι εντός ορίων σε όλες τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτό σημαίνει ότι παρά τις ενδείξεις το δείγμα δεν ήταν επιμολυσμένα. Καθώς όμως η οπτική εμφάνιση ιδιαίτερα του δείγματος πυθμένα, με βάση την εμπειρία, είναι χαρακτηριστική έντονης μικροβιακής δραστηριότητας και λαμβάνοντας υπ' όψιν πως οι μέθοδοι ανίχνευσης περιορίζονται στον εντοπισμό των ενεργών μικροοργανισμών κρίθηκε σκόπιμο να

γίνει εξέταση του δείγματος και με την μέθοδο ανίχνευσης βιοκτόνων ή ανασταλτικών ουσιών. Παρατηρήθηκε ότι το δείγμα παρουσίαζε ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη του βακίλου και συνεπώς, ενισχύθηκε η άποψη ότι στη δεξαμενή έχει γίνει προσθήκη βιοκτόνου χωρίς όμως οποιαδήποτε περαιτέρω ενέργεια. Το περιστατικό αυτό αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα μη ορθής αντιμετώπισης του προβλήματος της μικροβιακής ανάπτυξης στα συστήματα των καυσίμων, καθώς παρόλο που το μικροβιακό φορτίο μειώθηκε και βρίσκεται εντός φυσιολογικών ορίων, οι ανεπιθύμητες συνέπειες (ύπαρξη υδατικής φάσης και βιοφιλμ) του προβλήματος παραμένουν και είναι ικανές να δημιουργήσουν αρνητικές επιδράσεις τόσο στην ποιότητα του καυσίμου όσο και στον μηχανολογικό εξοπλισμό των συστημάτων (φραγή φίλτρων) ,ενώ υπάρχει πάντα και η πιθανότητα σταδιακής επανεμφάνισης της μικροβιακής δραστηριότητας όσο εξασθενεί η δράση του βιοκτόνου.

	Δείγμα	Dip Slides (cfu/ml)		SRB Test (cfu/ml)	c _{ATP} (pg/ml)	Παρατηρήσεις	Ανίχνευση Βιοκτόνων
		Βακτήρια	Μύκητες				
Φάση καυσίμου	-	-	-	-	3.19	Καλός Έλεγχος (<6 pg ATP/ml)	 Θετική
Υδατική Φάση	< 10 ³	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²	86.21	Καλός Έλεγχος (<100 pg ATP/ml)	-

3. Μέθοδοι ανίχνευσης μικροβιακής δραστηριότητας και ουσιών με αντιμικροβιακή δράση

3.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Η βιολογική υποβάθμιση έχει ενίοτε τα ίδια συμπτώματα με άλλες διαδικασίες υποβάθμισης του καυσίμου ή του συστήματος καυσίμων, συνεπώς είναι σημαντικό να υποβάλλονται τα δείγματα σε έναν επαρκή αριθμό ελέγχων ώστε να υπάρχει όσο το δυνατόν ακριβέστερη η διάγνωση του προβλήματος. Η εξέταση των δειγμάτων που είναι ύποπτα μικροβιακής επιμόλυνσης περιλαμβάνει συνήθως την οπτική αξιολόγηση, τον έλεγχο φυσικοχημικών χαρακτηριστικών (π.χ. ιξώδες, πυκνότητα, αριθμός οξύτητας, περιεκτικότητα σε νερό, pH φάσης νερού) αλλά και, κυρίως, μικροβιολογικούς ελέγχους ανίχνευσης.

Για την ανίχνευση του μικροβιακού φορτίου στα καύσιμα υπάρχουν διάφορες μέθοδοι προσδιορισμού οι οποίες ταξινομούνται συνοπτικά στις εξής κατηγορίες:

- Τεχνική επώασης/καλλιέργειας και απαρίθμησης αποικιών - (CFU)
- Μικροσκοπία
- Τεχνική ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης του ATP (βιοφωταύγεια ATP)
- Μοριακές τεχνικές

Η τεχνική της επώασης-καλλιέργειας (CFU) συνιστά την πιο διαδεδομένη μέθοδο για την ανίχνευση του επιπέδου του μικροβιακού φορτίου βάση των περισσότερων πρότυπων μικροβιολογικών εξετάσεων. Ανάλογα με το θρεπτικό υπόστρωμα μπορεί να ανιχνεύσει συγκεκριμένους τύπους μικροοργανισμών. Η καταλληλότητά της για τους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται στα συστήματα καυσίμων έχει αποδειχθεί εδώ και δεκαετίες (Bailey, *et al.*, 1979) και ως εκ τούτου στην αγορά υφίστανται πολυάριθμες παραλλαγές τους σε μορφή κιτ με έτοιμο θρεπτικό υλικό.

Η τεχνική του μικροσκοπίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση, την ταυτοποίηση και ενίοτε την απαρίθμηση των μικροβιακών αποικιών. Θεωρείται ο καλύτερος τρόπος για να διαφοροποιήσει τους τύπους και την πολυπλοκότητα ενός μικροβιακού πληθυσμού. Αυτό συνήθως γίνεται είτε με απευθείας εξέταση του δείγματος, είτε με εξέταση των φιλτραρισμένων σωματιδίων του δείγματος. Η ανάλυση δεν διακρίνει πάντοτε τα ζωντανά από τα νεκρά μικρόβια.

Οι τεχνικές ανίχνευσης του ATP μέσω της τεχνολογίας βιοφωταύγειας (ATP Bioluminescence) θεωρούνται νεοεισερχόμενες στον τομέα των καυσίμων αν και χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία των τροφίμων. Η μέθοδος ανίχνευσης ουσιαστικά βασίζεται στον προσδιορισμό της τρι-φωσφορικής αδενοσίνης (ATP), μίας ουσίας που υπάρχει σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς συμπεριλαμβανομένων και των βακτηρίων και μυκήτων. Το ATP δε σχετίζεται με μη βιολογικά συστήματα και συνεπώς η καταμέτρησή του θεωρείται ένας αξιόπιστος δείκτης της μικροβιακής επιβάρυνσης. Μολονότι η εφαρμογή της μεθόδου στα συστήματα των καυσίμων είναι σχετικά πρόσφατη, εντούτοις κερδίζει συνεχώς έδαφος και θεωρείται πλέον από τις αξιόπιστες μεθόδους ανίχνευσης του μικροβιακού φορτίου όπως αποδεικνύουν και οι πρότυπες μέθοδοι που έχουν υιοθετηθεί από το 2008 και μετά και έχουν εφαρμογή και στα συστήματα που περιέχουν βιοκαύσιμα.

Οι μοριακές τεχνικές, τέλος, έχουν ως βάση την εκτίμηση της παρουσίας συγκεκριμένων αλληλουχιών γενετικού υλικού (π.χ. 16s RNA). Ένα παράδειγμα είναι ο άμεσος ή έμμεσος εντοπισμός της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (qPCR) (Martin-Sanchez, et al., 2018; Martin-Sanchez, et al., 2016; Suflita, et al., 2012). Ουσιαστικά πρόκειται για τεχνικές οι οποίες βρίσκονται ακόμα σε ερευνητικό επίπεδο όσον αφορά στα συστήματα καυσίμων. Οι αρχικές μελέτες πάντως καταδεικνύουν θετική προοπτική, αλλά ταυτόχρονα με τα τεχνικά θέματα θα πρέπει να λυθούν και θέματα που σχετίζονται με το κόστος των μεθόδων.

Στην παρούσα έρευνα για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της μικροβιακής δραστηριότητας έγινε διερεύνηση των παρακάτω τεχνικών.

- Μέθοδος επώασης και καταμέτρησης αποικιών
- Προσδιορισμός της Τρι-φωσφορικής αδενοσίνης (ATP).

3.1.1 Μέθοδοι επώασης και καταμέτρησης CFU

3.1.1.1 Μέθοδος Dip-Slide

Η μέθοδος αυτή αποτελείται από ένα αποστειρωμένο φιαλίδιο το οποίο φέρει κάποιο κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα (συνήθως TTC ή Potato Dextrose Agar) το οποίο διαβρέχεται ή αναμειγνύεται με το προς εξέταση δείγμα κατά προτίμηση από την υδατική φάση του δείγματος καυσίμου. Εν συνεχεία φιαλίδια, τοποθετούνται για χρονικό διάστημα από 24h μέχρι 3 ημέρες σε θάλαμο επώασης με θερμοκρασία μεταξύ 28-30°C. Μετά το πέρας της επώασης παρατηρείται η πυκνότητα των μικροοργανισμών που έχουν αναπτυχθεί στο εκάστοτε μέσο και είτε γίνεται καταμέτρηση αυτού είτε αντιπαραβολή με πρότυπα διαγράμματα της πυκνότητας. Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως cfu/ml. Με τη μέθοδο αυτή είναι δυνατός ο εντοπισμός και διαχωρισμός μεταξύ αερόβιων βακτηρίων (total aerobic bacteria),

ζυμομυκήτων (yeast) και μυκήτων νηματοειδούς μορφής. Είναι μια γενικά χαμηλού κόστους τεχνική που μπορεί να δώσει ένα ημι-ποσοτικό αποτέλεσμα του περιεχόμενου μικροβιακού φορτίου. Από την άλλη μεριά είναι σχετικά χρονοβόρα μέθοδος και η σύγκριση με τα πρότυπα διαγράμματα ενίοτε δεν είναι αμερόληπτη. Επίσης, το κάθε θρεπτικό μέσο είναι περιοριστικό ως προς κάποιους μικροοργανισμούς και δεν είναι δυνατή η ανίχνευση των SRB. Τέλος, απαιτείται συγκεκριμένη διαδικασία διάθεσης και απόρριψης των δειγμάτων.

Η έκταση της επιμόλυνσης καθορίζεται ως εξής:

Πίνακας 3-1: Έκταση επιμόλυνσης βάσει του αριθμού των αποικιών με την μέθοδο Dip Slide.

<i>Είδος μικροοργανισμού</i>	<i>Αριθμός Αποικιών (cfu/ml)</i>	<i>Έκταση Επιμόλυνσης</i>
Βακτήρια/ Ζυμομύκητες	10 ³	Πολύ μικρή επιμόλυνση
	10 ⁴	Ελαφριά επιμόλυνση
	10 ⁵	Μέση επιμόλυνση
	10 ⁶	Υψηλή επιμόλυνση
	10 ⁷	Πολύ υψηλή επιμόλυνση
Νηματοειδείς Μύκητες	10 ²	Ελαφριά επιμόλυνση
	10 ³	Μέση επιμόλυνση
	10 ⁴	Υψηλή επιμόλυνση

3.1.1.2 Μέθοδος Thixotropic Gel Culture

Η δεύτερη μέθοδος επώασης είναι μία ημιποσοτική ή ποσοτική (ανάλογα με την έκταση της επιβάρυνσης) μέθοδος εντοπισμού των αερόβιων ζωντανών μικροοργανισμών. Η μέθοδος έχει προσφάτως προτυποποιηθεί και διενεργείται σύμφωνα με τα πρωτόκολλα:

- IP 613: Determination of the viable aerobic microbial content of fuels and associated water- Thixotropic Gel Culture Method.
- ASTM D7978-14: Standard Test Method for Determination of the Viable Aerobic Microbial Content of Fuels and Associated Water—Thixotropic Gel Culture Method

Είναι δυνατή η εξέταση και των δύο φάσεων του συστήματος καυσίμου (υδατική και φάση καυσίμου). Ποσότητα φάσης καυσίμου (0.5 ml) ή υδατικής φάσης (0.01 ml) προστίθεται σε γυάλινο φιαλίδιο με θρεπτικό υλικό σε μορφή gel με τη βοήθεια σύριγγας. Στη συνέχεια, το μπουκάλι ανακινείται και τοποθετείται για επώαση η οποία γίνεται στους 28-30°C για 1-4 μέρες. Το υπό εξέταση δείγμα εξετάζεται μετά την επώαση και απαριθμούνται οι αποικίες ή εκτιμώνται κατόπιν σύγκρισης από διάγραμμα της μεθόδου. Τα αποτελέσματα δίνονται επίσης σε cfu/ml ή cfu/L, χωρίς όμως να υπάρχει δυνατότητα διαχωρισμού μεταξύ του είδους των

μικροοργανισμών. Και εδώ το κάθε θρεπτικό μέσο είναι περιοριστικό ως προς κάποιους μικροοργανισμούς (π.χ. SRB) ενώ και η απόρριψη των δειγμάτων ακολουθεί συγκεκριμένη διαδικασία. Η έκταση της επιμόλυνσης καθορίζεται ως εξής:

Πίνακας 3-2: Έκταση επιμόλυνσης με την μέθοδο *Thixotropic Gel Culture*.

<i>Εξεταζόμενο δείγμα</i>	<i>Μέτρια επιμόλυνση</i>	<i>Υψηλή επιμόλυνση</i>
<i>Φάση καυσίμου</i>	$(4 - 20) \times 10^3$ cfu/L	$> 20 \times 10^3$ cfu/L
<i>Υδατική φάση</i>	$10^5 - 10^6$ cfu/ml	$> 10^6$ cfu/ml

3.1.1.3 Μέθοδος *Sig - SRB*

Η ημιποσοτική αυτή μέθοδος χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αναερόβιων μικροοργανισμών που προκαλούν διάβρωση, και συγκεκριμένα των βακτηρίων αναγωγής θείου (SRB). Το υπό εξέταση δείγμα - υδατική φάση - προστίθεται σ' ένα γυάλινο φιαλίδιο που περιέχει κατάλληλο θρεπτικό υλικό, επωάζεται για περίπου 5 ημέρες και εξετάζεται καθημερινά. Μετά το πέρας των 5 ημερών, η ύπαρξη των μικροοργανισμών εκτιμάται από το βαθμό και την έκταση στην αλλαγή του χρώματος που έχει καλύψει το φιαλίδιο με τη βοήθεια συγκριτικού διαγράμματος. Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως cfu/ml. Η μέθοδος προορίζεται αποκλειστικά για τον εντοπισμό των SRB βακτηρίων και το δοκίμιο απαιτεί ειδική απόρριψη μετά το πέρας της μέτρησης. Η έκταση της επιμόλυνσης καθορίζεται ως εξής:

Πίνακας 3-3: Έκταση επιμόλυνσης με την μέθοδο *Sig - SRB*.

<i>Έκταση Επιμόλυνσης</i>	<i>cfu/ml</i>
Ελαφριά	10 - 100
Μέση	$10^3 - 10^4$
Υψηλή	$10^5 - 10^6$

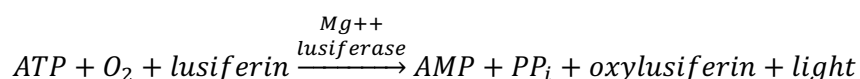
3.1.1.4 Προσδιορισμός της *Τρι-φωσφορικής Αδενοσίνης (ATP)*

Στη μέθοδο αυτή ακολουθείται σε κάθε περίπτωση ένα πρωτόκολλο αναφορικά με την δέσμευση, την εκχύλιση και την ποσοτικοποίηση του περιεχόμενου ATP ώστε να εκτιμηθεί το επίπεδο της μικροβιακής δραστηριότητας. Η δοκιμή έχει τη δυνατότητα να ανιχνεύει τη μεταβολική δραστηριότητα βακτηρίων, μυκήτων καθώς και αναερόβιων οργανισμών. Στα συστήματα καυσίμων αυτό πραγματοποιείται σύμφωνα με τις παρακάτω πρότυπες μεθόδους:

- ASTM D7463 - 08: Standard Test Method for Adenosine Triphosphate (ATP) Content of Microorganisms in Fuel, Fuel/Water Mixtures and Fuel Associated Water
- ASTM D7687 - 11 Standard Test Method for Measurement of Cellular Adenosine Triphosphate in Fuel, Fuel/Water Mixtures, and Fuel-Associated Water with Sample Concentration by Filtration

Το δεύτερο πρωτόκολλο αναφέρεται και ως μέθοδος ATP 2ης γενιάς. Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο μεθόδων συνίσταται τόσο στη διαδικασία εκχύλισης του ATP όσο και κυρίως στο είδος του ATP που μπορεί άμεσα να προσδιοριστεί. Η πρώτη μέθοδος μετράει το ολικό ATP (total ATP) ενώ η δεύτερη ποσοτικοποιεί το κυτταρικό ATP (cellular ATP -cATP) το οποίο θεωρείται ως ενδεικτικό των μεταβολικά ενεργών μικροοργανισμών. Επιπλέον, η μέθοδος 2ης γενιάς έχει τη δυνατότητα ανίχνευσης του ATP και σε δείγματα καυσίμων όπου τυχόν υφιστάμενες ποσότητες νερού δεν διαχωρίζονται άμεσα (π.χ. σε μίγματα αιθανόλης - βενζίνης με συγκέντρωση αιθανόλης $\geq 5\%$ v/v.)

Παρά τις όποιες διαφορές στο επιμέρους πρωτόκολλο, και στις δύο μεθόδους η βασική αρχή λειτουργίας συνίσταται στην εκχύλιση του ATP από το προς εξέταση δείγμα με χρήση ειδικών αντιδραστηρίων και στη συνέχεια η ανάμιξη του εκχυλίσματος με το ένζυμο luciferase/luciferine το οποίο αντιδρά με το ATP και έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή φωτός σύμφωνα με τη βιοχημική αντίδραση η οποία απαντάται και στη φύση (βλ. πυγολαμπίδες):



Το ποσό του φωτός που εκπέμπεται μετράται σε μονάδες RLU (Relative Light Units) με τη βοήθεια μετρητή φωταύγειας (luminometer). Οι μεγαλύτερες ενδείξεις εκπεμπόμενου φωτός είναι ενδεικτικές του ισχυρότερου μικροβιακού φορτίου. Στη μέθοδο 1ης γενιάς τα αποτελέσματα δίνονται κυρίως σε μονάδες RLU/L ή RLU/ml (1 RLU ισούται περίπου με 5×10^{15} g ATP). Αντιθέτως, στα συστήματα δεύτερης γενιάς το αποτέλεσμα εκφράζεται απευθείας ως συγκέντρωση του κυτταρικού ATP, ήτοι ως pgATP/ml, είτε Log_{10} [pgATP/ml] ή ME/ml (Microbial Equivalents) για διευκόλυνση στη σύγκριση με τις κλασσικές μεθόδους καλλιέργειας.

Η μέτρηση του ATP θεωρείται πλέον μια αρκετά αξιόπιστη μέθοδος της μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων ειδικότερα μετά την εμφάνιση της μεθόδου 2ης γενιάς. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι αφενός η ταχύτητα της κάθε μέτρησης (10-15 λεπτά) και το γεγονός ότι δεν απαιτείται ιδιαίτερη μεταχείριση των απορριπτόμενων δοκιμίων. Στα μειονεκτήματα της μεθόδου συγκαταλέγεται το υψηλότερο κόστος - λόγω κυρίως της ανάγκης προμήθειας μετρητή φωταύγειας - καθώς και η μεγαλύτερη ποσότητα δείγματος καυσίμου που

απαιτείται ($\geq 500\text{ml}$). Το τελευταίο πάντως έχει επιλυθεί στη μέθοδο 2ης γενιάς όπου απαιτούνται ποσότητες $\leq 20\text{ml}$. Τέλος, τα ζητήματα που αφορούν τη μη δυνατότητα εντοπισμού των αδρανών μικροβίων (dormant microbes) και του μη διαχωρισμού μεταξύ βακτηρίων και μυκήτων, σύντομα φαίνεται ότι θα διευθετηθούν (Passman, et al., 2013). Αναφορικά με τη ερμηνεία των αποτελεσμάτων δίνονται οι παρακάτω γενικές συμβουλευτικές κατευθύνσεις:

1η γενιάς ATP (εφαρμόσιμα κυρίως σε καύσιμα αεροπορίας - IATA)

Πίνακας 3-4: Ερμηνεία αποτελεσμάτων (RLU/L).

<i>Εξεταζόμενο δείγμα</i>	<i>Αμελητέα επιμόλωση (RLU/L)</i>	<i>Μέση επιμόλωση (RLU/L)</i>	<i>Υψηλή επιμόλωση (RLU/L)</i>
Φάση καυσίμου	< 1000	1000 – 5000	> 5000

2η γενιάς ATP (καύσιμα με κιν. ιξώδες $\leq 75 \text{ mm}^2/\text{s}$)

Πίνακας 3-5: Ερμηνεία αποτελεσμάτων (pg ATP/ml).

<i>Εξεταζόμενο δείγμα</i>	<i>Καλός έλεγχος (pg cATP/ml)</i>	<i>Προληπτική δράση (pg cATP/ml)</i>	<i>Διορθωτική δράση (pg cATP/ml)</i>
Υδατική φάση	< 100	100-1000	> 1.000
Φάση καυσίμου	< 6	6 – 30	> 30

3.1.2 Συγκριτική αξιολόγηση μεθόδων ανίχνευσης μικροβιακής δραστηριότητας

Με βάση κάποια αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα προσδιορισμού του μικροβιακού φορτίου σε προβληματικά, κατά κύριο λόγο, εμπορικά δείγματα καυσίμων από την ελληνική εφοδιαστική αλυσίδα, επιχειρείται στην ενότητα αυτή μια συνοπτική συγκριτική αξιολόγηση των μεθόδων ανίχνευσης που αναλύθηκαν παραπάνω.

Οι προαναφερθείσες τεχνικές ανίχνευσης αξιολογήθηκαν εξετάζοντας ένα εμπορικό δείγμα καυσίμου, στο οποίο υπήρχαν ισχυρές ενδείξεις για την παρουσία και ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου. Το δείγμα προέρχεται από προβληματική δεξαμενή πρατηρίου, στην οποία είχε συσσωρευτεί ποσότητα νερού, γεγονός το οποίο και αποτέλεσε πρόσφορο έδαφος για ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου. Οι προσδιορισμοί πραγματοποιήθηκαν στην υδατική φάση

και τα αποτελέσματα των μεθόδων παρουσιάζονται στον Πίνακα 3-6 καθώς και στο διάγραμμα του Σχήματος 3-1.

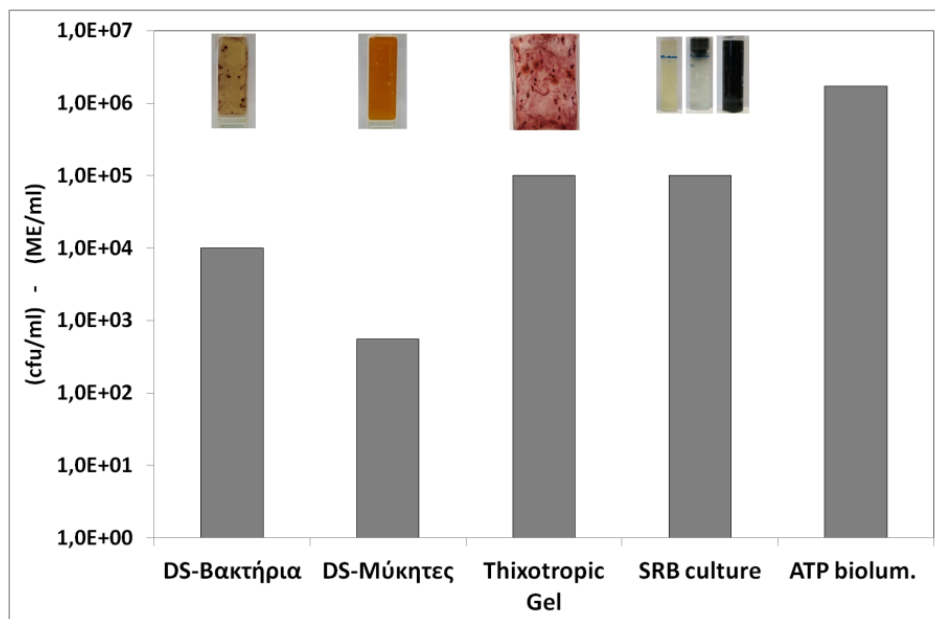
Με βάση τα αποτελέσματα είναι προφανές ότι με όλες τις τεχνικές αποδεικνύεται ότι το αντίστοιχο σύστημα από το οποίο συνελέγη το δείγμα είναι επιμολυσμένο και χρήζει την ανάληψη δράσεων για τον περιορισμό του μικροβιακού φορτίου. Εντούτοις, οι πληροφορίες που συνάγονται από τις επιμέρους μεθόδους θα πρέπει να μεταφράζονται με βάση τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της κάθε μίας καθώς στις περιπτώσεις εκείνες όπου υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία στο είδος των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται, ο συνδυασμός κάποιων τεχνικών είναι ωφέλιμος για την εξεύρεση της βέλτιστης μεθόδου αντιμετώπισης.

Πίνακας 3-6: Αποτελέσματα των τεσσάρων μεθόδων ανίχνευσης μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση επιμολυσμένου δείγματος καυσίμου ντήζελ (D1.2)

Μέθοδος	Dip Slides (cfu/ml)		Thixotropic Gel Culture (cfu/ml)	SRB Test (cfu/ml)	ATP bioluminescence (pg c _{ATP} /ml)
<i>Παρατηρήσεις</i>	Βακτήρια	Μύκητες	10 ⁵	10 ⁵	1730 (1.7x10 ⁶ ME/ml)
	10 ⁴	10 ² -10 ³			
	<i>Ελαφριά- Μέση επιμόλυνση</i>	<i>Ελαφριά- Μέση επιμόλυνση</i>	<i>Μέτρια Μόλυνση</i>	<i>Υψηλή Μόλυνση SRB</i>	<i>Διορθωτική Δράση</i>

Η σύγκριση αυτή καταδεικνύει την συμπληρωματικότητα που χαρακτηρίζει, κυρίως, τις διάφορες τεχνικές καλλιέργειας ώστε να αποτυπωθεί και να κατηγοριοποιηθεί η έκταση της μικροβιακής επιμόλυνσης. Η μέθοδος dip slide διαχωρίζει τα αποτελέσματα σε αερόβια βακτήρια και μύκητες δίνοντας επιμέρους αποτελέσματα, ενώ από την άλλη μεριά η τεχνική του θιξοτροπικού υποστρώματος που δίνει το συνολικό επίπεδο των αερόβιων μικροοργανισμών παρουσιάζει ένα συγκριτικά υψηλότερο αποτέλεσμα το οποίο όμως είναι λογικό εφόσον εκληφθεί ως συγκεντρωτικό της δραστηριότητας των επιμέρους μικροοργανισμών. Καμία από τις δύο αυτές μεθόδους όμως δεν δύναται να ανιχνεύσει την παρουσία των αναερόβιων SRB βακτηρίων και η αντίστοιχη δοκιμή θα πρέπει να εκτελείται ειδικά στις περιπτώσεις εκείνες όπου υπάρχει δυνατότητα εμφάνισης MIC. Η τεχνική της βιοφωταύγειας ATP (2ης γενιάς) δίνει συγκριτικά τη μεγαλύτερη τιμή, καθώς μπορεί να ανιχνεύσει τη μεταβολική δραστηριότητα μεγάλου εύρους μικροοργανισμών (αερόβιων και αναερόβιων) συνεπώς με ορθή χρήση της μεθόδου είναι δυνατή η αποτίμηση της συνολικής επιβάρυνσης ενός καυσίμου. Εντούτοις δεν μπορεί να δώσει στοιχεία αναφορικά με το είδος

των μικροοργανισμών που έχουν αναπτυχθεί τα οποία σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να είναι επιθυμητά.



Σχήμα 3-1: Σύγκριση αποτελεσμάτων μικροβιακής δραστηριότητας σε υδατική φάση επιμολυσμένου καυσίμου με χρήση διαφορετικών τεχνικών ανίχνευσης.

Συμπερασματικά, υφίστανται αρκετές διαθέσιμες τεχνικές που δύναται να εφαρμοστούν στα συστήματα καυσίμων και βιοκαυσίμων. Σε αντίθεση, πάντως, με τους περισσότερους οργανοληπτικούς, φυσικούς και χημικούς ελέγχους, δεν υπάρχουν γενικώς αποδεκτά κριτήρια για τα όρια της μικροβιακής μόλυνσης παρά μόνο - σε κάποιες περιπτώσεις - σχετικές υποδείξεις που συνιστούν την ανάληψη κάποιας δράσης. Μολονότι τόσο για τα πετρελαϊκά καύσιμα όσο και για τα ανανεώσιμα υποκατάστατα αυτών υπάρχουν διεθνή πρότυπα προδιαγραφών, σε κανένα από αυτά δεν υιοθετείται κάποια από τις παραπάνω μεθόδους, ούτε κάποια ανώτερα ή κατώτερα αποδεκτά όρια. Αναφορικά με το κατά πόσον είναι δόκιμο να υπάρξει κάποια προδιαγραφή αναφορικά με το επίπεδο της αποδεκτής μικροβιακής επιμόλυνσης, η άποψη που έχει κατατεθεί είναι πως ένα τέτοιο όριο προδιαγραφής δεν θα μπορούσε να είναι ρεαλιστικό, καθώς η ανάπτυξη μικροοργανισμών - παρότι επηρεάζεται άμεσα από το καύσιμο - είναι ιδιότητα της εφοδιαστικής αλυσίδας και όχι του καυσίμου. Επιπλέον η ποικιλομορφία των μικροβιακών πληθυσμών καθώς και ο συμπληρωματικός χαρακτήρα πολλών από τις μεθόδους είναι παράγοντες που αποτρέπουν την υιοθέτηση συγκεκριμένης μεθόδου ανίχνευσης στα διεθνή πρότυπα. Συνεπώς, επαφίεται στον εκάστοτε αναλυτή/χειριστή, να επιλέξει τις κατάλληλες εκείνες μεθόδους για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου βασιζόμενος τόσο στο είδος και τη φύση του εξεταζομένου συστήματος, καθώς και να αξιολογήσει τα αποτελέσματα ώστε να προτείνει την ανάληψη της καταλληλότερης σε κάθε περίπτωση δράσης.

Στον Πίνακα 3-7 που ακολουθεί παρατίθεται μια συνοπτική παρουσίαση και σύγκριση των διαφόρων χαρακτηριστικών των μεθόδων ανίχνευσης μικροβιακού φορτίου στα συστήματα καυσίμων που εφαρμόστηκαν. Τα στοιχεία που παρατίθενται αποτελούν συγκερασμό των τεχνικών προδιαγραφών και της εμπειρίας που αποκτήθηκε μέσω των μετρήσεων και της ενασχόλησης με τις συγκεκριμένες μεθόδους.

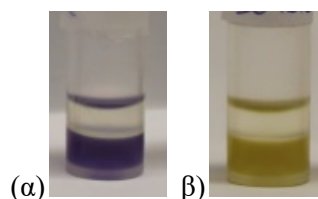
Πίνακας 3-7: Συνοπτική παρουσίαση των μεθόδων ανίχνευσης της μικροβιακής δραστηριότητας σε συστήματα καυσίμων

	<i>Dip-Slide</i>	<i>Thixotropic Gel</i>	<i>Sig SRB</i>	<i>ATP 1ης γενιάς</i>	<i>ATP 2ης γενιάς</i>
Πρότυπη μέθοδος	-	ASTM D7978 / IP613	-	ASTM D7463	ASTM D7687
Τρόπος μέτρησης	Ημι-ποσοτικός	Ποσοτικός / Ημι-ποσοτικός	Ημι-ποσοτικός	Ποσοτικός	Ποσοτικός
Μέθοδος ανίχνευσης	Καλλιέργεια	Καλλιέργεια	Καλλιέργεια	Βιοφωταύγεια ATP	Βιοφωταύγεια ATP
Φάση εξέτασης	Υδατική φάση	Καύσιμο + Υδατική φάση	Υδατική φάση	Καύσιμο + Υδατική φάση	Καύσιμο + Υδατική φάση
Ανιχνεύσιμοι μικροοργανισμοί	Αερόβια βακτήρια / μύκητες	Αερόβιοι μικροοργανισμοί	Αναερόβια βακτήρια (SRBs)	Ολικό ATP βακτηρίων/μυκήτων	Κυτταρικό ATP βακτηρίων/μυκήτων
Δυνατότητα διάκρισης μεταξύ βακτηρίων & μυκήτων	Ναι	Όχι	n/a	Όχι	Σε πιλοτικό στάδιο
Μονάδες αποτελέσματος	cfu /ml	cfu /L - cfu /ml	cfu /ml	RLU/L - RLU/ml	pgATP/ml
Προτεινόμενος όγκος δείγματος	~ 20 ml	0.25-0.5 ml (φάση καυσίμου) 0.01-0.1 ml (υδατική φάση)	~ 2 ml	500-1000 ml (φάση καυσίμου) ≥ 10 ml (υδατική φάση)	10-20 ml (φάση καυσίμου) 1-5 ml (υδατική φάση)
Χρόνος προετοιμασίας	< 5 λεπτά	5 λεπτά	< 5 λεπτά	15 λεπτά	10 λεπτά (+ 1 ώρα πριν από κάθε σειρά μετρήσεων)
Χρόνος μέτρησης	1-5 ημέρες	4 ημέρες	5+ ημέρες	1 λεπτό	1 λεπτό
Απαιτούμενος εξοπλισμός	Θάλαμος επώασης	Θάλαμος επώασης	Θάλαμος επώασης	Μετρητής φωταύγειας	Μετρητής φωταύγειας
Ειδική απόρριψη δοκιμίων	Ναι	Ναι	Ναι	Όχι	Όχι
Σχετικό κόστος / ανά μέτρηση	1	3	2	5 ^(*)	4 ^(*)
Σχόλια	Απλή & οικονομική μέθοδος ημι-ποσοτικού προσδιορισμού των επίπεδων αερόβιων βακτηρίων & μυκήτων. Προϋποθέτει ύπαρξη σαφώς διαχωρισμένης υδατικής φάσης στο δείγμα.	Απλή στην εκτέλεση προτυποποιημένη μέθοδος ποσοτικού ή ημι-ποσοτικού προσδιορισμού των επίπεδων αερόβιων μικροοργανισμών. Δυνατότητα εξέτασης τόσο στη φάση καυσίμου όσο και στην υδατική φάση. Η μέθοδος είναι προαιρετικά ποσοτική αλλά μόνο μέχρι το μέσο επίπεδο επιμόλυνσης. Δεν διακρίνει τα είδη των μικροοργανισμών.	Απλή & σχετικά οικονομική μέθοδος ημι-ποσοτικού προσδιορισμού των επίπεδων αναερόβιων βακτηρίων αναγωγής θείου. Προϋποθέτει ύπαρξη σαφώς διαχωρισμένης υδατικής φάσης στο δείγμα. Αρκετά χρονοβόρα μέθοδος.	Άμεση και σχετικά εύκολη στην εκτέλεση προτυποποιημένη μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού της μικροβιακής δραστηριότητας χωρίς διάκριση μεταξύ των μικροοργανισμών. Δυνατότητα εξέτασης τόσο στη φάση καυσίμου όσο και στην υδατική φάση. Απαιτεί μεγάλη ποσότητα δείγματος. Αρκετά υψηλό κόστος μέτρησης.	Προτυποποιημένη μέθοδος άμεσου ποσοτικού προσδιορισμού της μικροβιακής δραστηριότητας χωρίς διάκριση μεταξύ των μικροοργανισμών. Δυνατότητα εξέτασης τόσο στη φάση καυσίμου όσο και στην υδατική φάση. Καλή ευαισθησία σε χαμηλά επίπεδα μόλυνσης. Σχετικά υψηλό κόστος μέτρησης. Απαιτεί καθημερινή βαθμονόμηση του ενζύμου.

3.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, έγινε προσπάθεια ανίχνευσης της παρουσίας προσθέτων στα συμβατικά καύσιμα και τα βιοκαύσιμα που μπορούν να δρουν ανασταλτικά στην ανάπτυξη των μικροβίων σε συστήματα καυσίμων.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε αναπτύσσοντας μια μεθοδολογία, όπως αναλύεται παρακάτω, με τη χρήση έτοιμων εμπορικών δοκιμίων που περιέχουν ένα υπόστρωμα σε μορφή gel και το οποίο απαρτίζεται από άγαρ, θρεπτικά συστατικά και σπόρια του στελέχους *Bacillus stearotherophilus* που είναι ένα gram-θετικό βακτήριο (βάκιλος). Επίσης στο υπόστρωμα αυτό έχει ενσωματωθεί και ένας δείκτης, ο οποίος μεταβάλλει το χρώμα του από μώβ σε κίτρινο όταν λάβει χώρα η ανάπτυξη του βακίλου. Στη μέθοδο αυτή μικρή ποσότητα από το υπό εξέταση δείγμα προστίθεται μέσα στο δοκίμιο και το σύστημα επωάζεται σε ειδική συσκευή για 3,5 στους 64°C. Μετά το πέρας της περιόδου επώασης γίνεται οπτική αξιολόγηση του δοκιμίου και εάν το χρώμα έχει μείνει αμετάβλητο, το δείγμα θεωρείται ότι περιέχει επαρκή ποσότητα αντιμικροβιακής ουσίας ή ουσίας που δρα ανασταλτικά στην ανάπτυξη του βακίλου (Εικόνα 3-1).

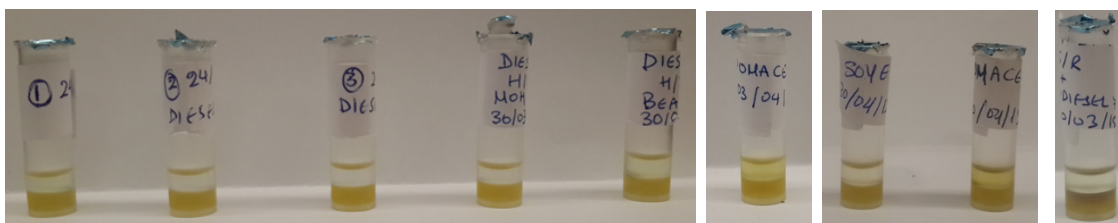


Εικόνα 3-1: Τυπικά αποτελέσματα μεθόδου ανίχνευσης αντιμικροβιακών/ανασταλτικών ουσιών σε συστήματα καυσίμων: (α) Παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακίλου, (β) Μη ανασταλτική δράση.

3.2.1.1 Αξιολόγηση μεθοδολογίας ανίχνευσης ουσιών με βιοκτόνο-ανασταλτική δράση

Σε πρώτο στάδιο έγινε έλεγχος της αξιοπιστίας και επαλήθευση της εγκυρότητας των αποτελεσμάτων της μεθόδου. Αυτό έγινε εξετάζοντας αφενός μεν διάφορα διυλιστηριακά δείγματα καυσίμου ντήζελ κίνησης και εργαστηριακά βιοντήζελ (FAME) και αφετέρου δε εμπορικά προϊόντα που όταν προστίθενται στα καύσιμα παρεμποδίζουν την μικροβιακή δραστηριότητα (βιοκτόνα). Με αυτό το τρόπο έγινε ένας προκαταρκτική αξιολόγηση της μεθοδολογίας, ώστε τα αποτελέσματα που θα ακολουθήσουν να κρίνονται ως αξιόπιστα.

Αρχικά εξετάστηκαν τρία βιοντήζελ (BD1-3) που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο και πέντε διυλιστηριακά καύσιμα βάσης ντήζελ κίνησης (AD1-5) που προέρχονται από διαφορετικές διεργασίες ή/και διαφορετικές μονάδες παραγωγής, τα οποία δεν περιέχουν πρόσθετα και αναμένεται να μην εμφανίζουν ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη μικροβίων. Επίσης, παρασκευάστηκε ένα μίγμα B7 ενός καυσίμου βάσης με ένα από τα εργαστηριακά βιοντήζελ (7% v/v). Τα αποτελέσματα της εξέτασης εμφανίζονται στην Εικόνα 3-2.



Εικόνα 3-2: Επαλήθευση της μη αντιμικροβιακής δράσης πέντε συμβατικών διυλιστηριακών καυσίμων βάσης ντήζελ κίνησης (AD1-5), τριών εργαστηριακών βιοντήζελ (BD1-3) και ενός μίγματος B7.

Όπως παρατηρείται από τις παραπάνω εικόνες, τα πέντε καύσιμα βάσης, τα τρία βιοντήζελ καθώς και το μίγμα B7 δεν παρεμποδίζουν την δράση του βακίλου. Επισημαίνεται ότι τα καύσιμα βάσης που εξετάστηκαν, από ποιοτικής σκοπιάς, αντιστοιχούν στο σύνολο σχεδόν των καυσίμων ντήζελ κίνησης που παράγονται από τα ελληνικά διυλιστήρια. Επίσης, τα εργαστηρικά βιοντήζελ ικανοποιούν σε μεγάλο βαθμό το πρότυπο EN14214 που αφορά στους μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων και δεν περιέχουν πρόσθετα.

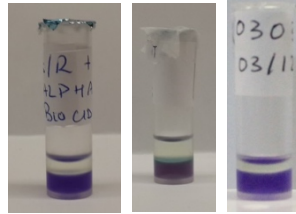
Εν συνεχεία έγινε η προσθήκη των εμπορικών βιοκτόνων, των οποίων οι δραστικές ουσίες αναφέρονται στον Πίνακα 3-8, στα διυλιστηριακά καύσιμα βάσης σε διάφορες περιεκτικότητες που προτείνεται από τον εκάστοτε προμηθευτή της εμπορικής ουσίας.

Πίνακας 3-8: Δραστικές ουσίες των εμπορικών βιοκτόνων.

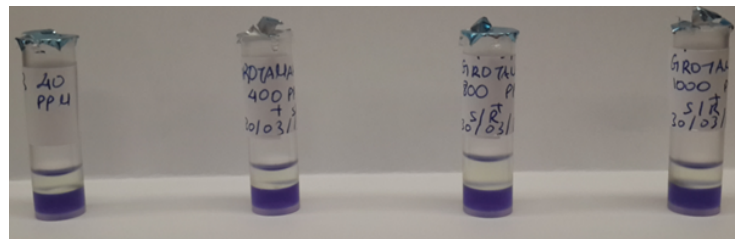
Εμπορική Ουσία	BC 1	BC 2	BC 3	BC 4
Δραστικές Ουσίες	based on iso thiazolins	methoxymethyl-ethoxy propanol, aliphatic diamine, cyclic amines.	Trimethyl-1,3,5-triazine1,3,5 (2H,4H,6)-triethanol	3,3'-Methylenebis [5-methyl-oxazolidine]

Εξετάστηκαν συνολικά τέσσερα εμπορικά βιοκτόνα (BC1, BC2, BC3 & BC4) στην ανώτατη δοσολογία (shock treatment) που προτείνεται από τον παρασκευαστή των προϊόντων αυτών. Το ένα εμπορικό προϊόν εξετάστηκε και σε άλλες τρεις περιεκτικότητες που προτείνονται από τον προμηθευτή (prophylactic and decontamination dosing). Και τα τέσσερα προϊόντα φάνηκε να παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του βακίλου (σε όλες τις περιεκτικότητες), όπως ήταν αναμενόμενο.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στις Εικόνες 3-3 και 3-4.



Εικόνα 3-3: Εξέταση των τριών εμπορικών ανασταλτικών στην μικροβιακή ανάπτυξη ουσιών έπειτα από την προσθήκη τους σε διυλιστηριακό καύσιμο βάσης στην ανώτατη συνιστώμενη περιεκτικότητα.



Εικόνα 3-4: Εξέταση της προσθήκης της εμπορικής ουσίας BC4 σε διυλιστηριακό καύσιμο βάσης σε τέσσερις συνιστώμενες περιεκτικότητες (50, 250, 500 και 1000 ppm).

Συνεπώς, συνάγεται από τις παραπάνω μετρήσεις ότι η συγκεκριμένη μεθοδολογία μπορεί να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα αναφορικά με την ανίχνευση προσθέτων/ουσιών με ανασταλτική-βιοκτόνο δράση στα συστήματα καυσίμων. Περαιτέρω μπορεί να εφαρμοστεί και για τον προσδιορισμό της ελάχιστης συγκέντρωσης που μπορεί να καταστείλει τη μικροβιακή δραστηριότητα. Επίσης, αποδεικνύεται ότι τα εμπορικά καύσιμα στα αρχικά στάδια της παραγωγής τους δεν περιέχουν κάποια συστατικά τα οποία να δρουν ανασταλτικά στην ανάπτυξη μικροοργανισμών. Αυτό είναι σημαντικό για τη μελέτη που επακολούθησε διότι οποιοδήποτε θετικό αποτέλεσμα αποδίδεται στην προσθήκη ανασταλτικών ουσιών με βιοκτόνο ή/και βιοστατική επίδραση σε μεταγενέστερα στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας.

Η μεθοδολογία αυτή εφαρμόστηκε τόσο κατά τη φάση της καταγραφής της κατάστασης στην ελληνική εφοδιαστική αλυσίδα, όσο και κατά τη πειραματική διερεύνηση διαφόρων ουσιών που θα μπορούσαν να αναβαθμίσουν τη μικροβιακή σταθερότητα των ανανεώσιμων καυσίμων. Με βάση αυτή τη μεθοδολογία στην περίπτωση αυτή ήταν δυνατός και ο καθορισμός του εύρους της ενεργής συγκέντρωσης των επιμέρους ουσιών. Η μέθοδος κρίθηκε κατάλληλη για εφαρμογή σε καύσιμα ντίζελ/βιοντίζελ, ενώ δεν είχε ικανοποιητικά αποτελέσματα σε ελαφρύτερα καύσιμα (π.χ. βενζίνες) καθώς η θερμοκρασία επώασης είχε ως αποτέλεσμα την εξάτμιση μεγάλου μέρους του δείγματος.

4. Συγκριτική αξιολόγηση της μικροβιακής σταθερότητας εναλλακτικών και ανανεώσιμων καυσίμων ντήζελ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανάπτυξη και χρήση ανανεώσιμων καυσίμων είναι ολοένα αυξανόμενη εξαιτίας των περιβαλλοντικών και ενεργειακών κινητήριων δυνάμεων. Η ανάγκη για “καθαρότερα” καύσιμα, με μειωμένες εκπομπές ρύπων, άλλα και η προσπάθεια απεξάρτησης από τα συμβατικά ορυκτά καύσιμα, ανοίγει το δρόμο για την ανάπτυξη και εξέλιξη νέων, είτε ανανεώσιμων ή συνθετικών καυσίμων ντήζελ (*Nigam, et al., 2011*). Σύμφωνα με τις ευρωπαϊκές οδηγίες, οι στόχοι που έχουν τεθεί για το 2020 στον τομέα των μεταφορών, υπαγορεύουν το ποσοστό που προέρχεται από ανανεώσιμη μορφή ενέργειας να είναι τουλάχιστον ίσο με 10% και η μείωση του ποσοστού άνθρακα να ανέρχεται στο 6% (*EU, 2009*).

Το βιοντήζελ (μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων - FAME) ήταν το πρώτο ανανεώσιμο και εμπορικά διαθέσιμο καύσιμο που χρησιμοποιήθηκε ως υποκατάστατο του πετρελαίου. Στην Ευρώπη, η χρήση του χρονολογείται από τις αρχές της δεκαετίας του 2000, ενώ σήμερα, η προσθήκη του στο εμπορικό πετρέλαιο κίνησης τέθηκε ως υποχρεωτική σε συγκεντρώσεις έως και 7% κ.ό. (*EN 590:2013*). Ωστόσο, η καθολική του χρήση το καθιστά ως ένα από τα πιο διαδεδομένα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς. Το βιοντήζελ δεν έχει ίδια σύσταση με το ντήζελ κίνησης, αφού αποτελείται από μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων αντί υδρογονανθράκων. Η σύστασή του προσφέρει ορισμένα πλεονεκτήματα, όπως εξαιρετική λιπαντική ικανότητα, χαμηλή συγκέντρωση αρωματικών και αυξημένη βιοαποικοδόμηση (*Knothe, et al., 2017*), αλλά μια σειρά αδυναμιών που έχουν επισημανθεί κατά τη χρήση του.

Ενδεικτικά, η χαμηλή σταθερότητα τόσο κατά την αποθήκευση όσο και στην οξειδωση, καθώς επίσης και στις ιδιότητες ψυχρής ροής, αποτελούν μερικές από αυτές που έχουν προσδιοριστεί και έχουν εξεταστεί λεπτομερώς (*Serrano, 2014; Yaakob, 2014; Lanjekar, 2016; Knothe, et al., 2017*). Ωστόσο, το ζήτημα που εγκυμονεί σοβαρούς κινδύνους στη λειτουργία και στην υποδομή της εφοδιαστικής αλυσίδας του ντήζελ κίνησης είναι αυτό της βιο-υποβάθμισης. Παρόλο που η ικανότητα των μικροοργανισμών να αναπτύσσονται στα μεσαία κλάσματα του πετρελαίου είχε καταγραφεί (*Gaylarde, et al., 1999; Bento, et al., 2001; Passman, 2003; Hill, et al., 2008*), έπειτα από την προσθήκη του FAME παρατηρήθηκε μια αύξηση των συμπτωμάτων μικροβιακής επιμόλυνσης που συσχετίστηκε με φραγή φίλτρων, σχηματισμού βιοφίλμ και υποβάθμισης των καυσίμων (*Hill, et al., 2009; Dodos, et al., 2012; Passman, 2013*). Μια σειρά μελετών (βλ. Κεφάλαιο 8^ο) επέδειξαν ότι το βιοντήζελ είναι περισσότερο επιρρεπές στην ανάπτυξη

μικροβιακού φορτίου και η παρουσία του στο καύσιμο ντήζελ οδηγεί στην μείωση της μικροβιακής σταθερότητας των τελικών μιγμάτων (Schleicher, 2009; Lee; Bücker F., 2011; Sørensen, 2011; Dodos, et al., 2012; Soriano, 2015; Passman, 2013). Η τάση αυτή παρατηρήθηκε όχι μόνο στα καύσιμα των χερσαίων μεταφορών αλλά και σε αυτά των θαλάσσιων (Hill, et al., 2015).

Λόγο των παραπάνω περιοριστικών παραγόντων, τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς, τα οποία θεωρούνται κι αυτά ανανεώσιμα, κερδίζουν ολοένα περισσότερο έδαφος. Πολλά από αυτά είναι πλήρως συμβατά με το συμβατικό καύσιμο ντήζελ λόγω της χημικής τους σύστασης, η οποία βασίζεται στη χημεία των υδρογονανθράκων, και για αυτό το λόγο συχνά αποκαλούνται ως ανανεώσιμα καύσιμα ντήζελ (Knothe, 2010). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα καύσιμα HVO και BTL. Το HVO παράγεται κυρίως από την υδρογόνωση φυτικών ελαίων και μετατροπή των ενδιάμεσων προϊόντων σε παραφίνες (No, 2014). Αυτή η τεχνική είναι και μια εναλλακτική διαδικασία της μετεστεροποίησης, η οποία χρησιμοποιείται για την παραγωγή βιοκαυσίμων (Aatola H., 2008). Η μετατροπή της βιομάζας σε υγρό προϊόν επιτυγχάνεται με ποικίλες διαδικασίες έχοντας ως αρχική ύλη την βιομάζα με στόχο την παραγωγή του ανανεώσιμου καυσίμου BTL. Παρόλο που στηρίζεται στη γενική ιδέα μετατροπής xTL, το καύσιμο BTL πρακτικά θεωρείται ανανεώσιμο και προκύπτει από αεριοποιημένη βιομάζα μέσω της διεργασίας σύνθεσης Fischer-Tropsch (Ail, et al., 2016). Η παραγωγή του στηρίζεται σε τρία στάδια: αεριοποίηση οργανικής ή ανθρακικής ύλης, κατεργασία του παραγόμενου syngas και μετατροπή του σε υδρογονάνθρακες μέσω της Fischer-Tropsch (Kim, et al., 2016). Μολονότι το καύσιμο HVO είναι πλέον εμπορικά διαθέσιμο, η παραγωγή του BLT, βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο και πιλοτικό στάδιο (Ail, et al., 2016; Neste Corporation, 2016). Εκτός από τα παραπάνω ανανεώσιμα υποκατάστατα, υπάρχουν διαθέσιμα κι άλλα συνθετικά καύσιμα ντήζελ, όπως το GTL. Παρόμοια με το BTL, κι αυτό προκύπτει μέσω της διαδικασίας Fischer-Tropsch με πρώτη ύλη το φυσικό αέριο. Το GTL συνήθως αναμειγνύεται με το συμβατικό πετρέλαιο κίνησης για να αναβαθμίσει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του και να προκύψουν υψηλής ποιότητας καύσιμα (Sajjad, et al., 2014; Shell Global Solutions).

Τα προαναφερθέντα εναλλακτικά καύσιμα (HVO, BTL, GTL) είναι σχεδόν άχρωμα και άοσμα και αποτελούνται κυρίως, από ευθείες αλλά και διακλαδισμένες παραφινικές αλυσίδες, στην περίπτωση που εφαρμόζεται η διεργασία της ισομερίωσης. Οι προδιαγραφές τους καθορίζονται βάσει του ευρωπαϊκού προτύπου EN 15940. Συγκριτικά με το FAME, έχουν καλύτερη σταθερότητα και καλύτερες ιδιότητες ψυχρής ροής. Επιπλέον, λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας σε αρωματικά, οξυγόνο, και θείο έχουν μεγαλύτερο αριθμό κετανίου και κατ' επέκταση λιγότερες εκπομπές. Η μειωμένη λιπαντική τους ικανότητα αποτελεί ένα από τα πλέον βασικά τους μειονεκτήματα (Hartikka, et al., 2012; Sajjad, et al., 2014; de Goede, et al., 2015; Rimkus, et al., 2015). Με γνώμονα τα παραπάνω, η σταδιακή εισαγωγή των δεύτερης

γενιάς βιοκαυσίμων καθώς και των συνθετικών ντήζελ επιτάσσει την μελέτη της μικροβιακής τους σταθερότητας, καθώς οι έως τώρα ερευνητικές εργασίες είναι περιορισμένες.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνήσει την συμπεριφορά των ανανεώσιμων και συνθετικών καυσίμων, τα οποία δύνανται να υποκαταστήσουν ή και να αντικαταστήσουν πλήρως το πετρελαϊκό ντήζελ, έναντι του πολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής, χρησιμοποιήθηκαν τρία FAME διαφορετικής σύστασης και μια σειρά παραφινικών καυσίμων (HVO, BTL, GTL) των οποίων αξιολογήθηκε η συμπεριφορά τους παρουσία ενεργού μικροβιακού φορτίου και συγκρίθηκε με αυτή του συμβατικού πετρελαϊκού ντήζελ κίνησης.

4.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

4.2.1 Καύσιμα Βάσης

4.2.1.1 Μεθυλεστέρες των λιπαρών Οξέων

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά είδη μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων από σογιέλαιο (SBOME), φοινικέλαιο (PALME) και υπολείμματα μαγειρικών ελαίων (UCOME). Η σύνθεση των μεθυλεστέρων που προέκυψαν από το σογιέλαιο και το φοινικέλαιο πραγματοποιήθηκε εργαστηριακά μέσω αλκαλικής μετεστεροποίησης ενώ το βιοντήζελ από τα μαγειρικά έλαια προμηθεύτηκε από ένα εγχώριο παραγωγό (ELIN BIOKAYΣΙΜΑ Α.Ε.) άνευ βελτιωτικών προσθέτων.

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραπάνω βιοντήζελ εξετάστηκαν βάσει των απαιτήσεων και των πρότυπων μεθόδων που ορίζει το Ευρωπαϊκό Πρότυπο EN 14214:2012 και παρατίθεται στον Πίνακα 4-1. Η πλειοψηφία των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των εξεταζόμενων βιοκαυσίμων πληρούν τις αντίστοιχες προδιαγραφές. Εξαιρέση αυτών αποτελεί η οξειδωτική σταθερότητα των ακόρεστων μεθυλεστέρων SBOME και UCOME και του σημείου απόφραξης ψυχρού φίλτρου του PALME.

Οι αποκλίσεις αυτές ήταν αναμενόμενες και οφείλονται στη χημική σύσταση (Πίνακας 4-2) των συγκεκριμένων βιοντήζελ, η οποία προσδιορίστηκε μέσω της αέριας χρωματογραφίας από τη συσκευή DANİ Master GC σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο EN14103. Σύμφωνα με τον Πίνακα 4-2, οι μεθυλεστέρες από σογιέλαιο απαρτίζονται από λινελαϊκό οξύ (C18:2) σε μεγάλο ποσοστό ενώ το PALME από παλμιτικό (C16:0) και ολεϊκό οξύ (C18:1). Το βιοντήζελ από τα υπολείμματα των μαγειρικών ελαίων περιέχει σχεδόν εξίσου ελαϊκό και λινολεϊκό οξύ ενώ ανιχνεύθηκε και σημαντικό ποσοστό λινολεϊκού οξέος (C18:3).

Πίνακας 4-1: Ποιοτικές παράμετροι των εξεταζόμενων FAMES.

Ιδιότητα	Μονάδες	SBOME	PALME	UCOME	EN14214 Όρια	Πρότυπη Μέθοδος
Περιεκτικότητα σε εστέρες	% m/m	98.5	96.7	97.5	Ελάχ. 96.5	EN 14103
Πυκνότητα @ 15°C	kg/m ³	885.3	876.6	879.5	860-900	EN ISO 12185
Κιν. Ιξώδες @ 40°C	mm ² /s	4.242	4.571	4.342	3.50-5.00	EN ISO 3104
Οξειδωτική Σταθερότητα (110°C)	h	3.5	17.4	2.2	min 8	EN 14112
Οξειδωτική Σταθερότητα (RSSOT)	min	20	50	8	-	ASTM D7545
Περιεκτικότητα σε εστέρες λινολενικού οξέους	% m/m	5.27	0.19	0.29	max 12.0	EN 14103
Νερό	mg/kg	450	330	110	max 500	EN ISO 12937
Αριθμός οξύτητας	mg KOH/g	0.21	0.15	0.20	max 0.50	EN 14104
Περιεχόμενο θείου	mg/kg	6.5	2.5	5.1	max 10.0	EN ISO 20846
CFPP	°C	-2	13	4	Αναφορά	IP 309
Διάβρωση χάλκινου ελάσματος	κλάση	1a	1a	1a	Κλάση 1	EN ISO 2160
Μονογλυκερίδια	% m/m	0.32	0.22	0.31	max 0.70	EN 14105
Διγλυκερίδια	% m/m	0.05	0.02	0.13	max 0.20	EN 14105
Τριγλυκερίδια	% m/m	0.04	0.19	0.09	max 0.20	EN 14105
Ελεύθερη γλυκερόλη	% m/m	<0.02	< 0.02	<0.01	max 0.02	EN 14106
Συνολική γλυκερόλη	% m/m	0.11	0.10	0.09	max 0.25	EN 14105

Πίνακας 4-2: Σύσταση λιπαρών οξέων των εξεταζόμενων FAMES.

Προφίλ λιπαρών οξέων		% κ.β.		
		SBOME	PALME	UCOME
Παλμιτικό	C16:0	10.75	39.36	15.08
Παλμιτολεϊκό	C16:1	0.11	0.26	1.12
Στεατικό	C18:0	4.10	4.28	5.95
Ολεϊκό	C18:1	26.10	42.84	35.95
Λινελαϊκό	C18:2	50.53	10.39	37.49
Λινολενικό	C18:3	5.27	0.19	0.57
Αραχιδονικό	C20:0	0.45	0.39	0.36
Γαδελαιϊκό	C20:1	0.27	0.17	0.28

4.2.1.2 Ανανεώσιμα και συνθετικοί παραφινικοί υδρογονάνθρακες

Τρεις τύποι εναλλακτικών παραφινικών ντήζελ – δύο ανανεώσιμα και ένα συνθετικό – χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Οι ιδιότητες τους παρατίθενται στον Πίνακα 4-3 και προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προτύπου EN 15940.

Υδρογονωμένα Φυτικά Έλαια (HVO)

Το HVO είναι ένα ανανεώσιμο καύσιμο που απαρτίζεται από παραφινικούς υδρογονάνθρακες. Το καύσιμο ήταν εμπορικά διαθέσιμο χωρίς να περιέχει βελτιωτικά πρόσθετα και προμηθεύτηκε από την εταιρεία Neste

Oil Corporation, Finland. Όλες οι ιδιότητες του ακολουθούν τα αντίστοιχα όρια των προδιαγραφών. Η απουσία προσθέτου για τη βελτίωση των τριβολογικών ιδιοτήτων του είναι εμφανής, καθώς λόγω της παραφινικής, μη πολικής φύσης του η εγγενής λιπαντική ικανότητά του είναι μειωμένη.

Συνθετικό Υγρό καύσιμα από Βιομάζα (Biomass to Liquid fuel – BTL)

Το BTL πρόκειται για ένα πιλοτικής κλίμακας ανανεώσιμο συνθετικό καύσιμο μέσω της διαδικασίας Fischer-Tropsch. Μολονότι οι τιμές του κινηματικού ιξώδους και της πυκνότητας είναι εντός των προδιαγραφών του EN15940, είναι μεγαλύτερες από αυτές των HVO και GTL. Η ιδιότητα του σημείου απόφραξης ψυχρού φίλτρου δεν είναι αντίστοιχη με των υπολοίπων παραφινικών καυσίμων, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν έχει λάβει χώρα το στάδιο της ισομερίωσης.

Συνθετικό Υγρό καύσιμο από Φυσικό Αέριο (Gas to Liquid fuel - GTL)

Το GTL ήταν, επίσης, εμπορικά διαθέσιμο συνθετικό καύσιμο που προμηθεύτηκε από ελληνική πετρελαϊκή εταιρεία. Η σύνθεσή του προέρχεται από φυσικό αέριο μέσω της διαδικασίας Fischer-Tropsch. Παρόμοια με το HVO, έχει υψηλό αριθμό κετανίου, πολύ καλές ψυχρές ιδιότητες και μειωμένη λιπαντική ικανότητα.

Πίνακας 4-3: Φυσικοχημικές ιδιότητες των ανανεώσιμων και εναλλακτικών παραφινικών καυσίμων.

Ιδιότητα	Μονάδες	HVO	BTL	GTL	EN 15940 Όρια	Πρότυπη Μέθοδος
Κιν. Ιξώδες @ 40°C	mm ² /s	2.919	3.506	2.387	2.00-4.50	ISO 3104
Πυκνότητα @ 15°C	kg/m ³	779.6	785.1	776.7	765-800	ISO 3675
Περιεχόμενο θείου	mg/ kg	1.9	2	1	Μέγ. 5.0	EN ISO 20846
Σημείο Ανάφλεξης	°C	79	70	67	Ελάχ. 55	ISO 2719
Οξειδωτική Σταθερότητα (RSSOT)	min	65	63	67	-	EN16091/ ASTM D 7545
Περιεκτικότητα σε μεθυλεστέρες	% v/v	<0.05	<0.05	<0.05	Μέγ.7	ASTM D7963
Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου	°C	-17	0	-27	Αναφορά	IP 309
Περιεκτικότητα σε νερό	mg/ kg	19	18	14	Μέγ.200	EN ISO 12937
Τέφρα	mass %	0.001	0.001	0.001	Μέγ.0.010	ISO 6245
Λιπαντική Ικανότητα	μm	635	-	640	max 460	ISO 12156-1
Διάβρωση Χάλκινου Ελάσματος	-	1a	1a	1a	1	EN ISO 2160
Αριθμός Κετανίου	-	75.7	-	70.2	min 70	ASTM D7170:2016

4.2.1.3 Συμβατικό ντήζελ κίνησης

Ένα συμβατικό ντήζελ κίνησης πολύ χαμηλού θείου (ULSD) προμηθεύτηκε από ένα τοπικό ελληνικό διυλιστήριο (Ελληνικά Πετρέλαια Α.Ε.) και αποτελεί ένα αντιπροσωπευτικό συμβατικό πετρελαϊκό ντήζελ κίνησης. Είναι προϊόν ατμοσφαιρικής απόσταξης από την μονάδα υδρογονοαποθείωσης και δεν περιέχει πρόσθετα και βιοντήζελ. Οι φυσικοχημικές του ιδιότητες παρουσιάζονται στον Πίνακα 4-4 και ικανοποιούν τις προδιαγραφές που ορίζει το πρότυπο EN 590, με εξαίρεση της λιπαντικής ικανότητας που είναι άνω του ανώτατου ορίου.

Πίνακας 4-4: Φυσικοχημικές ιδιότητες του συμβατικού ντήζελ κίνησης (ULSD)

Ιδιότητα	Μονάδες	ULSD	EN 590 Limits	Πρότυπη Μέθοδος
Ποκνότητα @ 15°C	kg/m ³	834.9	820.0-845.0	EN ISO 3675
Κιν. Ιξώδες @ 40°C	mm ² /s	2.921	2.00-4.50	EN ISO 3104
Περιεχόμενο θείο	mg/kg	6.9	Μέγ. 10.0	EN ISO 20846
Σημείο Ανάφλεξης	°C	62	Ελάχ. 55	EN ISO 2719
Περιεκτικότητα σε νερό	mg/kg	30	Μέγ. 200	EN ISO 12937
Απόσταξη				
Ανάκτηση στους 250°C	% v/v	30.0	<65	EN ISO 3405
Ανάκτηση στους 350 °C		93.7	>85	
95% v/v Ανάκτηση	°C	355.8	Μέγ. 360	
Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου	°C	-4	Αναφορά	EN 116
Δείκτης Κετανίου	-	54.4	Ελάχ. 46	EN ISO 4264
Αριθμός Κετανίου	-	52.6	Ελάχ. 51	ASTM D7170
Λιπαντική Ικανότητα	µm	520	Μέγ. 460	EN ISO 12156-1
Διάβρωση Χάλκινου Ελάσματος	Rating	1a	1	EN ISO 2160
Πολυαρωματικά	% m/m	4.3	8	EN 12916
Οξειδωτική Σταθερότητα (RSSOT)	min	141	-	EN16091/ASTM D7545

4.2.2 Μεθοδολογία

Για την εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας των τριών βιοντήζελ, των ανανεώσιμων συνθετικών ντήζελ καθώς και του συμβατικού ντήζελ κίνησης ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία.

4.2.2.1 Προκαταρκτική εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας

Στο πρώτο μέρος της μελέτης πραγματοποιήθηκε μια αρχική εξέταση με σκοπό την ανίχνευση της πιθανής ανασταλτικής δράσης των εξεταζόμενων καυσίμων έναντι των μικροοργανισμών. Αυτό έγινε μέσω των μεθόδων ανίχνευσης ουσιών με αντιμικροβιακή δράση (Biocide Rapide™), Thixotropic Gel Culture (ECHA Microbiology, UK) και προσδιορισμού της Τρι-φωσφορικής Αδενοσίνης (ATP) που αναλύθηκαν στο Κεφάλαιο 3.

4.2.2.2 Μικροβιακή Σταθερότητα σε Προσομοιασμένους Επιμολυσμένους Μικρόκοσμους

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης, εξετάστηκε η συμπεριφορά των καυσίμων έναντι ενεργού μικροβιακού φορτίου σε εργαστηριακής κλίμακας μικρόκοσμους που προσομοιάζουν συστήματα σύντομης διάρκειας αποθήκευσης και τις συνθήκες της εφοδιαστικής αλυσίδας του ντήζελ/ βιοντήζελ. Οι μικρόκοσμοι που δημιουργήθηκαν απαρτίζονταν από το καθένα εξεταζόμενο καύσιμο εις διπλούν και με επιμολυσμένη υδατική φάση (σε αναλογία καυσίμου: υδατικής φάσης ίση με 10:2). Δηλαδή, ο κάθε μικρόκοσμος περιείχε 1000 ml καυσίμου και 200 ml υδατικής φάσης και αποθηκεύτηκε σε γυάλινο αποστειρωμένο δοχείο για 15 ημέρες.

Η επιμολυσμένη υδατική φάση προετοιμάστηκε βάσει της ASTM E1259 (*ASTM E1259, 2018*). Όγκος των 5 ml φιλτραρισμένης φάσης καυσίμου προστέθηκε σε 100 ml θρεπτικού υποστρώματος Bushnell-Haas σε αποστειρωμένη φιάλη και επιμολύνθηκε με 5 ml υδατικής φάσης από επιμολυσμένη δεξαμενή ντήζελ κίνησης πρατηρίου υγρών καυσίμων. Ακολούθησε επώαση του παραπάνω στους 29°C, 200 rpm για 7 ημέρες. Η μικροβιακό φορτίο προσδιορίστηκε βάσει της μεθόδου ASTM D7687-11 (*ASTM D7687-11, 2011*).

Οι αλλαγές στον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών στους εξεταζόμενους μικρόκοσμους προσδιορίστηκαν με την συλλογή και ανάλυση δειγμάτων από την υδατική φάση μετά από 15 ημέρες του χρόνου αποθήκευσης. Η ενεργή μικροβιακή δραστηριότητα εκτιμήθηκε βάσει της μεθόδου προσδιορισμού της τριφωσφορικής αδενοσίνης, καθώς και οι αερόβιοι μικροοργανισμοί μέσω καλλιέργειας.

4.2.2.3 Προσδιορισμός Ποιοτικών Παραμέτρων

Στο τέλος της αποθήκευσης, εξετάστηκε η οξειδωτική σταθερότητα των εξεταζόμενων καυσίμων των εργαστηριακών μικρόκοσμων και συγκρίθηκε με την αρχική. Τα πειράματα έλαβαν χώρα στην συσκευή PetroOxy, Petrotest βάσει της μεθόδου ASTM D7545. Επιπλέον, προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα των φάσεων καυσίμου σε νερό βάσει της EN ISO 12937 στην συσκευή Metrohm 831 KF coulometer.








4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.3.1 Προκαταρκτική εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας

Τα αποτελέσματα της προκαταρκτικής εξέτασης των εξεταζόμενων καυσίμων αναφορικά με την επίδρασή τους έναντι του πολλαπλασιασμό του *Bacillus stearothermophilus* παρουσιάζονται στον Πίνακα 4-5. Οι εικόνες από τις αμπούλες κατά το τέλος της εξέτασης παρατίθενται, επίσης. Το σύμβολο "+" υποδηλώνει την ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη του βακίλου ενώ το σύμβολο "-" σημαίνει ότι το εξεταζόμενο

δείγμα είναι είτε μη ικανό να αποτρέψει τον πολλαπλασιασμό του βακτηρίου είτε μπορεί και να συνεισφέρει σε αυτόν. Από την προκαταρκτική εξέταση μπορεί να προκύψουν πολύ χρήσιμες παρατηρήσεις. Συγκεκριμένα, μια ένδειξη για την ύπαρξη ουσίας με ανασταλτική δράση στην σύσταση του υπό εξέταση δείγματος, καθώς επίσης και μια πρώτη εικόνα για τη συμπεριφορά του υπό εξέταση δείγματος έναντι του πολλαπλασιασμού ενός βακτηρίου είναι μερικά από τα χρήσιμα αποτελέσματα της προκαταρκτικής αυτής μελέτης. Ιδιαίτερα ενδιαφέροντα παρουσιάζονται τα δεδομένα που προκύπτουν από την εξέταση των HVO, BTL and GTL, τα οποία εξετάζονται για πρώτη φορά.

Πίνακας 4-5: Αποτελέσματα προκαταρκτικής εξέτασης

SBOME	PALME	UCOME	HVO	GTL	BTL	ULSD
-	-	+	-	-	-	-
						

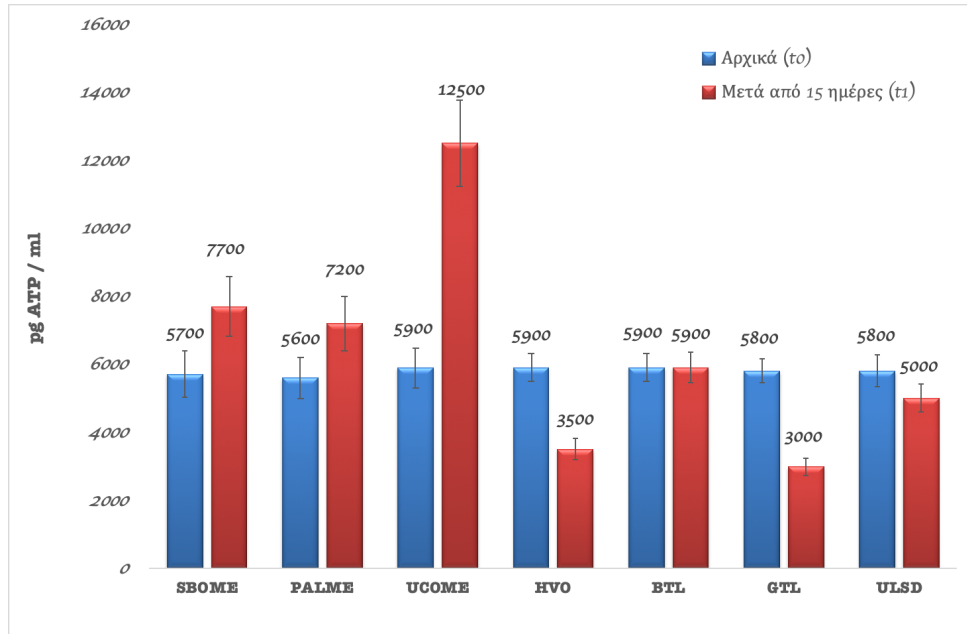
Αρχικά, τα τρία FAMES επωάστηκαν και, όπως ήταν αναμενόμενο, στις περιπτώσεις των SBOME και PALME παρατηρήθηκε ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, στο UCOME δεν παρατηρήθηκε αλλαγή του χρώματος, καθώς η σύστασή του ή η παρουσία ενδεχομένως κάποιας ουσίας είχαν αρνητική επίδραση στον πολλαπλασιασμό του βακίλου. Σύμφωνα με την προαναφερθείσα έρευνα, οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων εμφανίζονται να είναι ευνοϊκά υποστρώματα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και ως εκ τούτου αναμενόταν και τα τρία εξεταζόμενα βιοντήζελ να επιδρούν θετικά στον πολλαπλασιασμό του βακίλου. Η εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας του UCOME σε προσομοιασμένους μικρόκοσμους θα ήταν πολύ χρήσιμη έτσι ώστε να διερευνηθεί εάν θα παρατηρηθεί παρόμοια συμπεριφορά. Όσον αφορά τα υπόλοιπα προς εξέταση καύσιμα, τα ανανεώσιμα καύσιμα, HVO και BTL, όπως και το GTL, δεν ήταν ικανά υποστρώματα έτσι ώστε να περιορίσουν την ανάπτυξη του βακίλου, το οποίο υποδηλώνει την επιρρέπεια όλων των παραφινικών καυσίμων έναντι της μικροβιακής επιμόλυνσης. Τέλος, το συμβατικό ντήζελ κίνησης βρέθηκε, επίσης, μη ικανό να αποτρέψει την δραστηριότητα του εξεταζόμενου μικροοργανισμού κατά τη διάρκεια του χρόνου επώασης.

4.3.2 Μικροβιακή σταθερότητα σε προσομοιασμένους επιμολυσμένους μικρόκοσμους

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης, έγινε προσπάθεια εκτίμησης της μικροβιακής σταθερότητας των ανανεώσιμων και εναλλακτικών καυσίμων ελέγχοντας την εξέλιξη του μικροβιακού φορτίου της υδατικής φάσης των προσομοιασμένων εργαστηριακής κλίμακας μικρόκοσμων. Οι μικρόκοσμοι αποθηκεύτηκαν για 15 ημέρες και τα αποτελέσματα περιγράφονται παρακάτω.

4.3.2.1 Προσδιορισμός της Τριφωσφορικής Αδενοσίνης

Τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP των εξεταζόμενων υδατικών φάσεων των μικρόκοσμων κατά τη διάρκεια των 15 ημερών παρουσιάζονται στο Σχήμα 4-1.






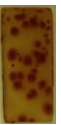
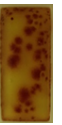
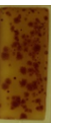








Σχήμα 4-1: Προσδιορισμός της συγκέντρωσης ATP στην υδατική φάση των εξεταζόμενων μικρόκοσμων .

Στην αρχή της αποθήκευσης (t0), αμέσως μετά την προετοιμασία των μικρόκοσμων, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του ATP στην υδατική φάση του εκάστοτε μικρόκοσμου και βρέθηκε περίπου ίση με 6000 pg ATP/ml, με τις τιμές να διακυμαίνονται μεταξύ των 5600 και 5900 pg ATP/ml. Έπειτα από δύο εβδομάδες (t1) παρατηρήθηκε σημαντική διακύμανση στις τιμές της ATP, οι οποίες είναι ενδεικτικές για τη διαφορετική απόκριση του εκάστοτε μικρόκοσμου και ανάλογη αντίστοιχα με το είδος του καυσίμου. Συγκεκριμένα, οι μικρόκοσμοι που περιείχαν FAME αποδείχθηκαν περισσότερο επιρρεπείς στον μικροβιακό πολλαπλασιασμό εν συγκρίσει με τους υπόλοιπους, καθώς η αύξηση του μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση ήταν εμφανής κατά το τέλος του χρόνου αποθήκευσης. Στους SBOME και PALME μικρόκοσμους η αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας ήταν σχεδόν στα ίδια πλαίσια παρόλο που οι τελευταίοι εμφάνισαν μικρότερη τάση. Το ποσοστό αύξησης βρέθηκε ίσο με 35% και 29%, αντίστοιχα. Σαφώς μεγαλύτερη επιμόλυνση ανιχνεύθηκε στην υδατική φάση των μικρόκοσμων του UCOME, καθώς η αύξηση της συγκέντρωσης ATP ήταν τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη σε σχέση με την αρχική.

Αντιθέτως, στις υδατικές φάσεις των υπολοίπων πλην των FAME μικρόκοσμων παρατηρήθηκαν σημάδια αναστολής ή στατικής συμπεριφοράς έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης. Όσον αφορά τα ανανεώσιμα καύσιμα ντήζελ, το αρχικό φορτίο μειώθηκε κατά 41% στην περίπτωση του HVO, ενώ καμία διαφορά δεν

καταγράφηκε στους BTL μικρόκοσμους. Το εναλλακτικό καύσιμο ντήζελ, GTL, είχε, επίσης, αρνητικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών αφού παρατηρήθηκε μείωση της ATP συγκέντρωσης κατά 50%. Μικρότερη μείωση (14%), η οποία δεν αξιολογείται ως σημαντική διαφορά, καταγράφηκε στην περίπτωση της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων που αντιστοιχούν στο συμβατικού ντήζελ κίνησης.

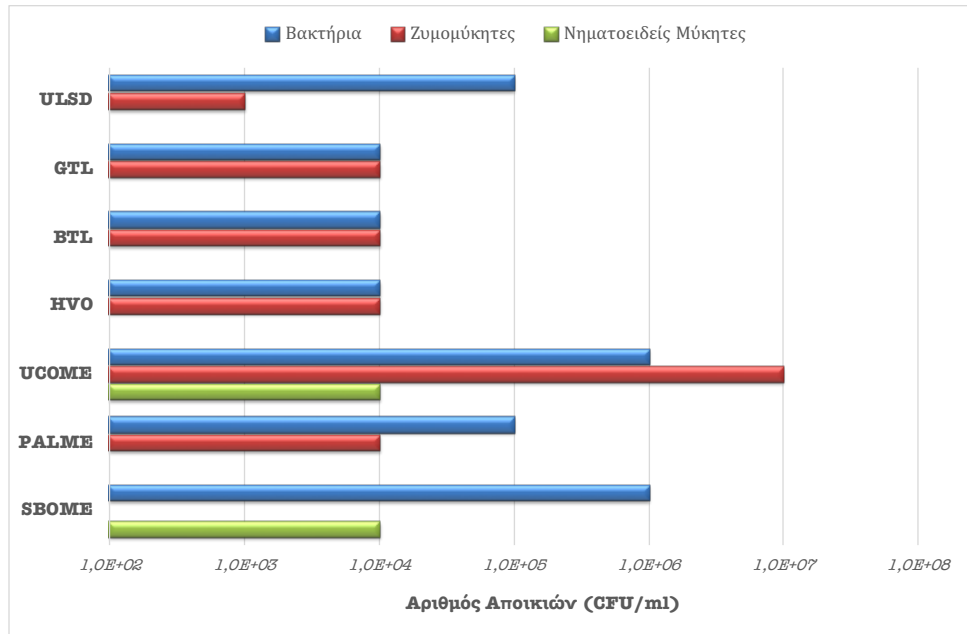
Πίνακας 4-6: Μικροβιακή δραστηριότητα στην υδατική φάση των μικρόκοσμων μετά από 15 ημέρες αποθήκευσης – Εμφάνιση των θρεπτικών υποστρωμάτων έπειτα από επώαση στους 28°C για 5 ημέρες.

Μικρόκοσμοι	SBOME	PALME	UCOME	HVO	BTL	GTL	ULSD
Βακτήρια							
Ζυμομύκητες/ Νηματοειδείς Μύκητες							

4.3.2.2 Επώαση και καταμέτρηση CFU

Η μέθοδος επώασης χρησιμοποιήθηκε σε δείγματα που ελήφθησαν από την υδατική φάση του εκάστοτε μικρόκοσμου στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, δηλαδή μετά από 15 ημέρες. Εκτός από τη δυνατότητα προσδιορισμού των αερόβιων μικροοργανισμών, από την μέθοδο καλλιέργειας είναι, επίσης, δυνατό να γίνει διάκριση αυτών σε βακτήρια (bacteria), ζυμομύκητες (yeasts) και νηματοειδείς μύκητες. Τα αποτελέσματα για κάθε μικρόκοσμο έπειτα από την επώαση παρουσιάζονται στο Σχήμα 4-2 και στον Πίνακα 4-6.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την μέθοδο της καλλιέργειας είναι σε συμφωνία σε μεγάλο βαθμό με αυτά που προέκυψαν από την μέθοδο προσδιορισμού της τριφωσφορικής αδενοσίνης. Τα μεγαλύτερα επίπεδα επιμόλυνσης παρατηρήθηκαν στους μικρόκοσμους με FAME εν συγκρίσει με αυτούς που περιείχαν τα υπόλοιπα υπό εξέταση καύσιμα. Η μικροβιακή δραστηριότητα στους τελευταίους βρέθηκε να είναι παρόμοια ενώ ανιχνεύθηκαν μόνο βακτήρια και ζυμομύκητες. Απόκλιση στα παραπάνω ευρήματα παρατηρήθηκε στην περίπτωση του ULSD, όπου στους αντίστοιχους μικρόκοσμους καταγράφηκε μεγαλύτερος αριθμός βακτηρίων ενώ απαριθμήθηκαν λιγότερες αποικίες ζυμομυκήτων.



Σχήμα 4-2: Αριθμός αποικιών βακτηρίων και μυκήτων στην υδατική φάση των εξεταζόμενων μικρόκοσμων.

Μεταξύ των μικρόκοσμων με FAME, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών ήταν μεγαλύτερη στην περίπτωση του SBOME έναντι αυτή του PALME. Παρόλ' αυτά, μόνο στην περίπτωση των SBOME μικρόκοσμων δεν ανιχνεύθηκαν ζυμομύκητες. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι περισσότερες αλλά και όλων των ειδών οι αποικίες καταγραφίκαν στην περίπτωση των μικρόκοσμων που περιείχαν μεθυλεστέρες από υπολείμματα μαγειρικών ελαίων (UCOME). Τέλος, οι νηματοειδείς μύκητες αναπτύχθηκαν μόνο στους μικρόκοσμους SBOME και UCOME.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις παραπάνω μεθόδους είναι εμφανές ότι οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων, ή αλλιώς τα βιοντήζελ, αποτελούν ένα πιο ευνοϊκό περιβάλλον για την μικροβιακή ανάπτυξη εν συγκρίσει με τα καύσιμα που αποτελούνται από υδρογονάνθρακες – ανανεώσιμους και μη. Η υψηλότερη επιρρέπεια του FAME και των μιγμάτων του έναντι του πολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών έχει καταγραφεί και σε προηγούμενες μελέτες. Ωστόσο, στην παρούσα εργασία οι μεταβολές του μικροβιακού φορτίου που παρατηρήθηκαν στην υδατική φάση των FAME μικρόκοσμων μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετική σύσταση των λιπαρών οξέων του εκάστοτε FAME (Cazarolli, *et al.*, 2014). Εστιάζοντας στην συσχέτιση της σύστασης των μεθυλεστέρων και της μικροβιακής σταθερότητας, τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι ο υψηλότερος βαθμός ακορεστότητας στο μόριο του εστέρα ενδέχεται να δρα ευεργετικά στην μικροβιακή ανάπτυξη. Οι μεθυλεστέρες από σογιέλαιο (SBOME) και ειδικά αυτών από υπολείμματα μαγειρικών ελαίων (UCOME) επέδειξαν μεγαλύτερη επιδεκτικότητα έναντι της μικροβιακής επιμόλυνσης σε σχέση με τους μεθυλεστέρες του φοινικελαίου (PALME). Εκτός

από αυτό, ήταν και τα μοναδικά καύσιμα στα οποία ανιχνεύθηκαν αποικίες νηματοειδών μυκήτων. Αντιθέτως, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως το παλμιτικό οξύ που είναι ένα από τα κύρια συστατικά του PALME, φαίνεται να συνεισφέρει σε μικρότερο βαθμό στον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών.

Στο σημείο αυτό είναι επίσης ενδιαφέρον να σημειωθεί η αντίθεση που εμφανίστηκε στην συμπεριφορά του UCOME κατά την εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προκαταρκτικής μελέτης, παρόλο που αυτό το δείγμα ήταν ικανό να αναστείλει την ανάπτυξη βακίλου *stearothermophilus*, οι προσομοιασμένοι επιμολυσμένοι μικρόκοσμοι που περιείχαν το καύσιμο UCOME επέδειξαν την μεγαλύτερη επιβάρυνση που μεταφράστηκε σε τιμές συγκέντρωσης ATP καθώς επίσης και από το γεγονός ότι ήταν οι μόνοι τύποι μικρόκοσμων που η υδατική τους φάση υποστήριξε την ανάπτυξη όλων των ειδών αερόβιων μικροοργανισμών – βακτήρια, νηματοειδείς μύκητες και ζυμομύκητες. Επιπλέον, η παρούσα περίπτωση υποδεικνύει ότι περαιτέρω έρευνα όσον αφορά των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της οργανικής και της υποκείμενης επιμολυσμένης υδατικής φάσης – ειδικά σε τέτοιου είδους δείγματα – θα ήταν χρήσιμη ώστε να κατανοηθούν οι συνθήκες που ενδεχομένως οδηγούν σε φαινομενικά αντικρουόμενα αποτελέσματα. Από τα παραπάνω προκύπτει η αναγκαιότητα συνδυασμού των μετρήσεων της προκαταρκτικής έρευνας με αυτές των προσομοιασμένων μικρόκοσμων για την αξιολόγηση της μικροβιακής σταθερότητας του εκάστοτε καυσίμου.

Τα ανανεώσιμα και συνθετικά καύσιμα αποτελούνται κυρίως από παραφινικούς υδρογονάνθρακες με σχεδόν μηδενικό ποσοστό σε αρωματικές ενώσεις και περιεχόμενο θείο. Παρόμοια με το συμβατικό ντήζελ κίνησης, τα καύσιμα αυτά δεν αναμενόταν να περιορίζουν την δραστηριότητα των μικροοργανισμών, σύμφωνα με τα ευρήματα της προκαταρκτικής μελέτης. Ωστόσο, αυτά τα είδη καυσίμων ενδεχομένως να μην ευνοούν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών και η μικροβιακή τους σταθερότητα φαίνεται να είναι ανάλογη αυτής του συμβατικού ντήζελ κίνησης και καλύτερη από των FAMES. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συγκέντρωση ATP όπως αυτή προσδιορίστηκε στην υδατική φάση των μικρόκοσμων HVO και GTL επέδειξε την επιβράδυνση του μικροβιακού φορτίου. Μια πιθανή εξήγηση αυτού του φαινομένου είναι η επίδραση των ισο-παραφινών που περιέχονται στα δύο προαναφερθέντα καύσιμα. Σε μια πρόσφατη μελέτη (*de Azambuja, et al., 2017*) προτείνεται ότι οι διακλαδώσεις στο μόριο του καυσίμου έχει επίδραση στη βιοδιαθεσιμότητά του και συχνά καθυστερεί την διαδικασία της βιοαποικοδόμησης. Τα εμπορικά διαθέσιμα καύσιμα, HVO και GTL, υπόκεινται συνήθως ισομερίωση ώστε να βελτιωθούν ορισμένες ποιοτικές τους παράμετροι, όπως οι ιδιότητες ψυχρής ροής (*Neste Corporation, 2016; Shell Global Solutions*). Η διεργασία της ισομερίωσης έχει λάβει χώρα και στα καύσιμα HVO και GTL που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη εάν ληφθεί υπόψη ότι οι τιμές της ιδιότητας CFPP βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερες με αυτή του καυσίμου BTL.

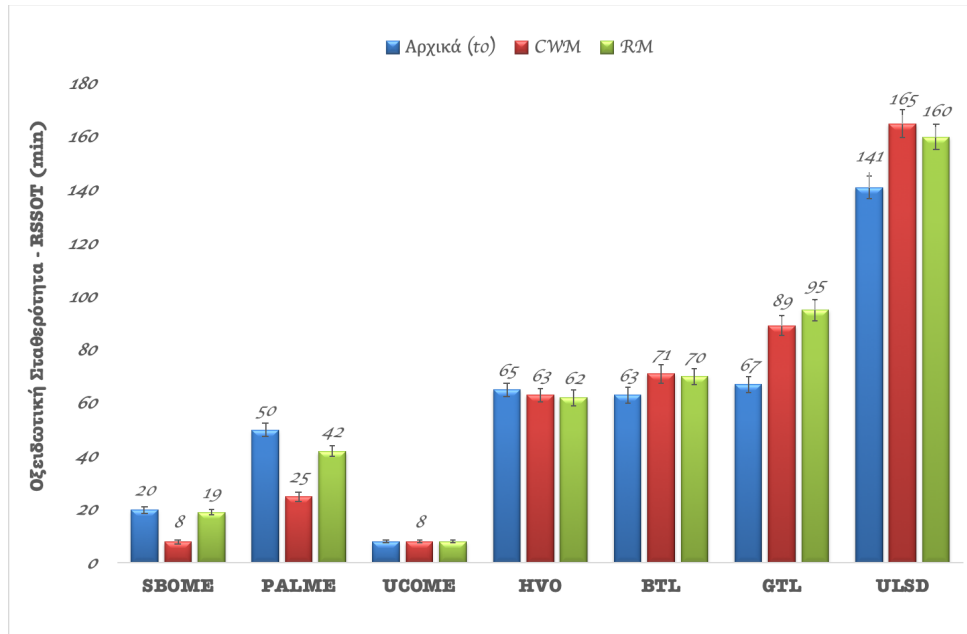
4.3.3 Προσδιορισμός Ποιοτικών Παραμέτρων

Με το πέρας της αποθήκευσης προσδιορίστηκαν η οξειδωτική σταθερότητα και η περιεκτικότητα σε νερό της φάσης καυσίμων των μικρόκοσμων και οι τιμές αυτών συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες αρχικές. Ο στόχος ήταν η εξέταση των μεταβολών στις παραμέτρους αυτές κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και υπό την επίδραση της επιμολυσμένης υδατικής φάσης. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται στα Σχήματα 4-3 και 4-4, αντίστοιχα.

4.3.3.1 Οξειδωτική Σταθερότητα

Η οξειδωτική σταθερότητα των FAMES εξαρτάται κυρίως από τα πρωτογενή συστατικά σύνθεσης (έλαια) και από την σύσταση των λιπαρών οξέων (Kumar, 2017). Ειδικότερα, ότι η διαδικασία γήρανσης είναι ανάλογη των δι-αλλυλικών ομάδων που συναντώνται στα λιπαρά οξέα (Knothe, 2002). Σε αυτό το πλαίσιο, ο αρχικός χρόνος επαγωγής του POME ήταν αισθητά υψηλότερος εν συγκρίσει με τα SBOME και UCOME εξαιτίας του υψηλού ποσοστού σε παλμιτικό οξύ. Το UCOME είχε πολύ χαμηλή οξειδωτική σταθερότητα – πολύ κοντά στο όριο ανίχνευσης της μεθόδου – πιθανότατα λόγω της κακής ποιότητας της πρώτης συνθετικής ύλης. Καλύτερη συμπεριφορά έναντι της οξείδωσης επέδειξαν τα παραφινικά καύσιμα (HVO, BTL, GTL) εν συγκρίσει με τα εξεταζόμενα FAMES εξαιτίας της δομής τους και της παραφινικής τους φύσης κάτι που έχει καταγραφεί, επίσης, και σε άλλες μελέτες (Bezergianni, et al., 2013; de Goede, et al., 2015). Οι τιμές του χρόνου επαγωγής των παραφινικών καυσίμων βρέθηκε να είναι παρόμοια σε όλες τις περιπτώσεις ενώ συμβατικό ντήζελ κίνησης ήταν το πιο σταθερό μεταξύ των εξεταζόμενων καυσίμων.

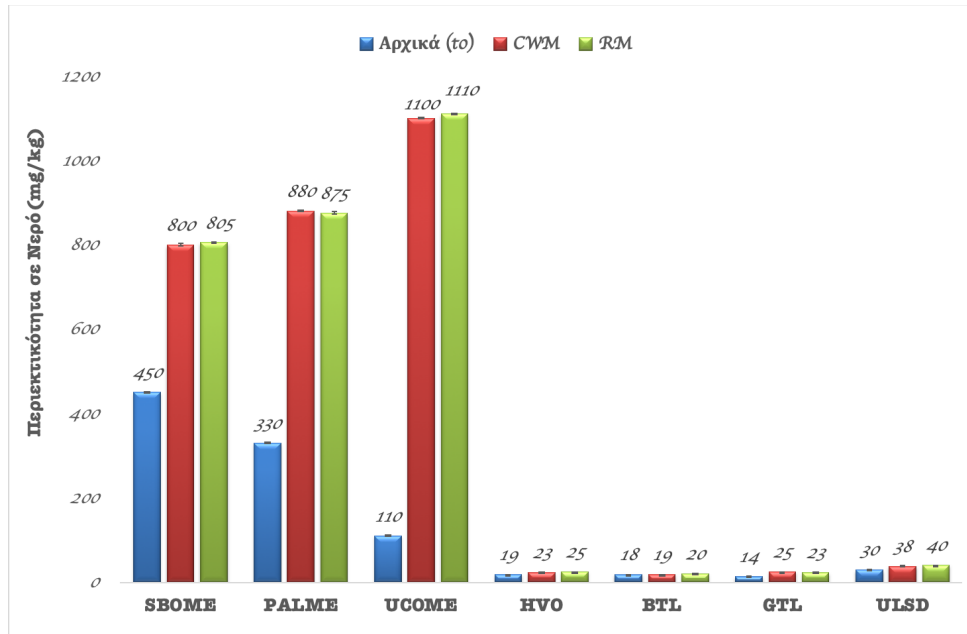
Έπειτα από 15 ημέρες αποθήκευσης, η επίδραση στην οξειδωτική σταθερότητα των βιοντήζελ είναι εμφανής. Ο χρόνος επαγωγής μειώθηκε σημαντικά κατά 60% και 50 % στις περιπτώσεις των SBOME και PALME, αντίστοιχα. Ειδικότερα, η σταθερότητα του SBOME βρέθηκε ίση με αυτή του UCOME. Απεναντίας, στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, αντίστοιχη ή και καλύτερη συμπεριφορά παρατηρήθηκε στην οξειδωτική σταθερότητα των εναλλακτικών του ντήζελ καύσιμα, όπως HVO, BTL, GTL, καθώς, επίσης, και του συμβατικού ντήζελ κίνησης. Παρόμοια αποτελέσματα είχαν παρατηρηθεί και είχαν καταγραφεί στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας σε προγενέστερες μελέτες (Hartikka, et al., 2013; Tsesmeli, et al., 2017).



Σχήμα 4-3: Οξειδωτική σταθερότητα των εξεταζόμενων καυσίμων έπειτα από 15 ημέρες αποθήκευσης και επιμόλυνσης.

4.3.3.2 Περιεκτικότητα σε Νερό

Ο υγροσκοπικός χαρακτήρας των FAMEs ευθύνεται για την αυξημένη τάση τους να συγκρατούν την υγρασία και για αυτό το λόγο το ανώτατο όριο βάσει του EN14214 (500 mg/kg) είναι υψηλότερο από αυτό που ορίζει το EN590 (200 mg/kg). Σε προηγούμενη μελέτη, είχε παρατηρηθεί ότι όταν το περιεχόμενο νερό του καυσίμου ήταν κάτω από 100 mg/kg, το μικροβιακό φορτίο του αντίστοιχου επιμολυσμένου μικρόκοσμου ήταν χαμηλό (Williams, et al., 2015). Αρχικά, το ποσοστό υγρασίας στα εξεταζόμενα βιοντήζελ ήταν κάτω του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου. Ωστόσο, έπειτα από 15 ημέρες παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι καταγράφηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ των αρχικών και τελικών τιμών, δηλαδή το περιεχόμενο νερό στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας βρέθηκε να είναι υψηλότερο σε καύσιμα που αρχικά είχαν χαμηλότερη περιεκτικότητα. Το UCOME παρουσίασε την μεγαλύτερη μεταβολή αφού αυξήθηκε κατά 900% και η τελική συγκέντρωση ήταν μεγαλύτερη του 0,1% κ.β. Όσον αφορά τα παραφινικά ανανεώσιμα και συνθετικά καύσιμα ντήζελ, η συμπεριφορά τους ήταν παρόμοια με αυτή του συμβατικού ντήζελ κίνησης. Σε όλες τις περιπτώσεις η αρχική συγκέντρωση του νερού ήταν κάτω από 30 mg/kg και δεν επηρεάστηκε από την παρουσία της υδατικής φάσης των επιμολυσμένων μικρόκοσμων καθόλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης.



Σχήμα 4-4: Περιεκτικότητα σε νερό των εξεταζόμενων καυσίμων έπειτα από 15 ημέρες αποθήκευσης και επιμόλυνσης.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας των εναλλακτικών και ανανεώσιμων υποκατάστατων του πετρελαϊκού ντήζελ, βρέθηκε ότι οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων είναι περισσότερο επιρρεπείς στην μικροβιακή επιμόλυνση εν συγκρίσει με το συμβατικό ντήζελ κίνησης και των εξεταζόμενων εναλλακτικών και συνθετικών καυσίμων. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι ο πολλαπλασιασμός των μικροοργανισμών ενισχύεται όσο αυξάνεται η ακορεστότητα στα μόρια των εστέρων. Η χημική σύσταση του καυσίμου φαίνεται να παίζει, επίσης, ρόλο στο τύπο των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στην υδατική φάση. Αντιθέτως, όσον αφορά τα ανανεώσιμα καύσιμα, HVO και BTL, καθώς και το συνθετικό GTL, επέδειξαν τουλάχιστον ισάξια συμπεριφορά με αυτή του συμβατικού ντήζελ έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης. Τέλος, τα παραφινικά καύσιμα, τα οποία έχουν υποστεί ισομερίωση, φαίνεται να μην είναι υποστηρικτικά στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών εξαιτίας της επίδρασης των ισο-παραφινών.

5. Μελέτη της επίδρασης της βιοαιθανόλης και άλλων αλκοολών στο μικροβιακό φορτίο της αμόλυβδης βενζίνης

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε αντίθεση με τα μέσα κλάσματα του πετρελαίου και το βιοντήζελ, η βιβλιογραφία που αφορά στα θέματα μικροβιακής ανάπτυξης στη βενζίνη είναι σχετικά περιορισμένη. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι τα ελαφρά κλάσματα πετρελαίου - όπως η βενζίνη- θεωρούνταν ως μη ευνοϊκά υποστρώματα στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, υποστηρίζεται ότι οι αλυσίδες των υδρογονανθράκων C₅-C₁₂ που απαρτίζουν τη βενζίνη, εμφάνιζαν ανασταλτική δράση έναντι του μικροβιακού φορτίου. Ωστόσο, ο ισχυρισμός αυτός αγνοούσε το γεγονός ότι για πολλά χρόνια στη βενζίνη περιέχονταν ουσίες μολύβδου, οι οποίες είναι γνωστές για τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες (Passman, 2013; Lewis, 1985; Hill, et al., 1995). Καθώς τα επίπεδα του μολύβδου (TEL) μειώνονταν με τα χρόνια, άρχισαν να καταγράφονται ζητήματα μικροβιακής ανάπτυξης και στη βενζίνη (Passman, et al., 2001; Marchal, et al., 2003; Zhiping, et al., 2007).

Οι αλκοόλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικά ανάμιξης της βενζίνης σε διάφορες συγκεντρώσεις και η χρήση αυτών των οξυγονούχων βαίνει αυξανόμενη με έμφαση στην αιθανόλη (EtOH). Ειδικότερα, η βιο-αιθανόλη (bioethanol), προερχόμενη είτε από λιγνοκυτταρινούχο βιομάζα είτε από ενεργειακές καλλιέργειες, έχει αναδειχθεί ως ένα βιώσιμο υποκατάστατο της βενζίνης καθώς θεωρείται ανανεώσιμη και καθαρή μορφή ενέργειας (Thangavelu, et al., 2016). Η βιο-αιθανόλη έχει ήδη εισαχθεί στην παγκόσμια αγορά των καυσίμων και η χρήση της έχει αυξηθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία (Kyriakides, et al., 2013; Weaver, et al., 2009). Σύμφωνα με το ευρωπαϊκό πρότυπο EN228 επιτρέπεται η ανάμειξη της αμόλυβδη βενζίνης με (βιο-) αιθανόλη σε ποσοστό μέχρι 10% v/v (EN 228, 2012). Επίσης, σε ορισμένες ευρωπαϊκές χώρες στην αγορά υπάρχει και το καύσιμο E85 (85% v/v αιθανόλη και 15% v/v βενζίνη) σύμφωνα με τις προδιαγραφές του προτύπου EN15293 (WG, 2012). Η βιοαιθανόλη είναι ένα καύσιμο που χρησιμοποιείται ευρέως στη Βραζιλία και στις Η.Π.Α. Στη Βραζιλία, η χρήση των E27 μιγμάτων αιθανόλης-βενζίνης έχει προταθεί πρόσφατα για χρήση σε κανονικά οχήματα, ενώ διαθέσιμο είναι και το καύσιμο E100 (100% αιθανόλη) του οποίου η χρήση προβλέπεται για τα λεγόμενα οχήματα ευέλικτου καυσίμου (flexible-fuel cars) (IRENA, 2015). Στις Η.Π.Α., τα καύσιμα που είναι διαθέσιμα στην αγορά είναι τα E10, E15 και E85, από τα οποία το E10 χρησιμοποιείται ευρέως, το E15 αρχίζει να εισάγεται σταδιακά ενώ η χρήση του E85 είναι ακόμη περιορισμένη (Biomass Research

and Development Board, 2013; Renewables Fuels Association, 2009). Άλλες αλκοόλες, όπως η ισοπροπανόλη (IPA) και η τριτοταγής-βουτανόλη (TBA), μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις ευρωπαϊκές χώρες βάσει του προτύπου EN228 σε συγκεντρώσεις έως 12% v/v και 15% v/v, αντίστοιχα (EN 228, 2012).

Καθώς οι αλκοόλες είναι γνωστές για τις αντισηπτικές τους ιδιότητες, επικρατεί η αντίληψη ότι τα μίγματα αλκοόλης-βενζίνης είναι ανεπηρέαστα από την μικροβιακή επιμόλυνση. Μια σειρά από μελέτες έχουν δείξει ότι τα μίγματα βενζίνης με αιθανόλη και βουτανόλη επιδεικνύουν ανασταλτική δράση έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας (Mariano, et al., 2009; Passman, et al., 2009). Ωστόσο, άλλες μελέτες παρουσιάζουν τα αντίθετα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, έχει καταγραφεί βιο-υποβάθμιση σε μίγματα αιθανόλης-βενζίνης τόσο σε υπόγειες δεξαμενές αποθήκευσης όσο και σε προσομοιώσεις εργαστηριακών μικρόκοσμων, όπου ανιχνεύθηκε μικροβιακή ανάπτυξη στην υδατική φάση (Passman, 2013; Passman, et al., 2009). Ως εκ τούτου, είναι σαφές ότι απαιτείται περαιτέρω μελέτη έτσι ώστε να εκτιμηθεί η επίδραση της βιοαιθανόλης και άλλων αλκοολών στην μικροβιακή ανάπτυξη στο καύσιμο της αμόλυβδης βενζίνης.

Σύμφωνα με τα προαναφερθείσα, ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι η εκτίμηση της επίδρασης της βιοαιθανόλης (EtOH) και άλλων τύπων αλκοολών (IPA, TBA) στην μικροβιακή ανάπτυξη δύο διαφορετικών τύπων αμόλυβδης βενζίνης, προετοιμάζοντας και ελέγχοντας επιμολυσμένους και μη μικρόκοσμους για τη χρονική περίοδο του ενός μηνός.

5.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.2.1 Καύσιμα Βάσης

5.2.1.1 Δείγματα Βενζίνης

Σε αυτή την έρευνα χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές κατηγορίες αμόλυβδης βενζίνης. Βάσει της ονοματολογίας και των προδιαγραφών που ορίζονται από την Ευρωπαϊκή αγορά, το πρώτο είδος βενζίνης που χρησιμοποιήθηκε χαρακτηρίζεται ως απλή αμόλυβδη βενζίνη (U95), *standard unleaded gasoline*, ενώ στη δεύτερη περίπτωση πρόκειται για μια αμόλυβδη βενζίνη υψηλού αριθμού οκτανίων που αναφέρεται ως *super unleaded gasoline* (SU). Τα παραπάνω καύσιμα ήταν έτοιμα προς διακίνηση διυλιστηριακά προϊόντα, δεν περιείχαν αλκοόλη καθώς και κανένα βελτιωτικό πρόσθετο. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των δύο δειγμάτων βενζίνης, καθώς και οι πρότυπες μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό αυτών, παρατίθενται στον Πίνακα 5-1. Όσον αφορά τον αριθμό οκτανίου, η απλή αμόλυβδη βενζίνη (U) είναι 95 οκτανίων (90 AKI) ενώ η υψηλότερης ποιότητας βενζίνη (SU) 100 οκτανίων (94 AKI). Οι βασικές διαφορές των δύο υπό εξέταση καυσίμων παρατηρούνται στην περιεκτικότητά τους στο είδος των υδρογονανθράκων (λιγότερα αρωματικά και κορεσμένα, καθώς και υψηλότερο ποσοστό ολεφινών στην

SU) και στο περιεχόμενο οξυγόνο (υψηλότερο στην SU εξαιτίας της παρουσίας αυξημένων επιπέδων MTBE/ μεθυλο-τερτ-βουτυλαιθέρα). Το υψηλότερο ποσοστό σε ολεφίνες στην SU αμόλυβδη βενζίνη ενδέχεται να αποτελεί έναν από τους λόγους που δικαιολογεί τη χαμηλότερη οξειδωτική της σταθερότητα, όπως προσδιορίστηκε από την RSSOT μέθοδο (Pereira, et al., 2006; Zanier, 1998). Επιπλέον, στο δείγμα της SU βενζίνης ανιχνεύθηκε υψηλότερο ποσοστό υγρασίας.

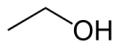


Πίνακας 5-1: Φυσικοχημικές ιδιότητες των δύο δειγμάτων αμόλυβδης βενζίνης που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την έρευνα.

Ιδιότητα	U	SU	Όρια EN228	Μέθοδος
Πυκνότητα, (kg/m³, 15 °C)	737.0	741.7	720-775	EN ISO 3675
Περιεχόμενο Θείο (mg/kg)	7.2	7.2	10 Μεγ.	EN ISO 20846
Υγρασία, (mg/kg)	105	383	-	EN 12937
% Εξάτμισης στους 70 °C, (% v/v)	47	42	22-50	EN ISO 3405
% Εξάτμισης στους 100 °C (% v/v)	69	67	46-71	EN ISO 3405
% Εξάτμισης στους 150 °C (% v/v)	90	91	Ελαχ. 75	EN ISO 3405
Τελικό σημείο απόσταξης FBP, (°C)	196	189	Μεγ. 210	EN ISO 3405
Υπόλειμμα απόσταξης, (%V/V)	1.2	1.2	Μεγ. 2	EN ISO 3405
DVPE, (kPa)	78.4	78.8	50- 80	
Διάβρωση χαλκού (3h στους 50 °C)	1a	1a	Κλάση 1	EN 2160
RON	95.0	100.0	Ελαχ. 95.0	EN ISO 5164
MON	85.5	87.0	Ελαχ. 85.0	EN ISO 5163
AKI	90.25	93.50	-	-
Περιεκτικότητα μολύβδου, (mg/l)	0.001	0.001	Μεγ. 5.0	EN 237
Οξειδωτική σταθερότητα - RSSOT, (min)	65	32	-	ASTM D7525
Περιεχόμενα Κομμωδία, (mg/100 ml)	2.0	2.0	Μεγ. 5.0	EN ISO 6246
Εμφάνιση		Καθαρή & Διαυγής		-
Τύπος Υδρογονανθράκων, (% v/v)				EN15553
- Ολεφίνες	13.0	19.5	Μεγ. 18.0	EN ISO 22854
-Αρωματικά	28.6	22.5	Μεγ. 35.0	
- Κορεσμένα	55.5	46.5	-	
Βενζόλιο, (% v/v)	0.67	1.00	Μεγ. 1.00	EN 238
Οξυγόνο, (% m/m)	0.6	2.2	Μεγ. 3.7	EN 1601

5.2.1.2 Αλκοόλες

Οι αλκοόλες που χρησιμοποιήθηκαν ως συστατικά ανάμιξης στα δείγματα της αμόλυβδης βενζίνης αναφέρονται στον Πίνακα 5-2. Η αιθανόλη (EtOH), ισοπροπανόλη (IPA) και τριτοταγής-βουτυλική αλκοόλη (TBA) αναφέρονται ως αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αλκοολών που χρησιμοποιούνται στη βενζίνη ως οξυγονούχα ή/και εναλλακτικά καύσιμα. Η αιθανόλη ήταν βιολογικής προέλευσης (βιοαιθανόλη) εμπορικά διαθέσιμη αλκοόλη σύμφωνα με τις προδιαγραφές που ορίζει το πρότυπο EN 15376, ενώ οι IPA και TBA ήταν υψηλής καθαρότητας αντιδραστήρια. Στον Πίνακα 5-3 παρουσιάζονται μερικές από τις βασικές ποιοτικές παραμέτρους τους.

Πίνακας 5-2: Χαρακτηριστικά των αλκοολών.

Ονοματολογία	Προέλευση	Χημικός Τύπος	Χημική Δομή	Αναλογία ανάμιξης με U και SU	
Αιθανόλη (EtOH)	Βιοκαύσιμο βάσει του EN 15376	C ₂ H ₆ O	 Πρωτοταγής αλκοόλη	5% v/v 10% v/v 27% v/v 85% v/v	E5 E10 E27 E85
2-Προπανόλη (IPA)	Υψηλής καθαρότητας αντιδραστήριο	C ₃ H ₈ O	 Δευτεροταγής αλκοόλη	12% v/v	IPA12
Τερτ-Βουτυλική Αλκοόλη (TBA)	Υψηλής καθαρότητας αντιδραστήριο	C ₄ H ₁₀ O	 Τριτοταγής αλκοόλη	15% v/v	TBA15

Πίνακας 5-3: Βασικές ποιοτικές παράμετροι των αλκοολών.

Ιδιότητα	EtOH	IPA	TBA
Καθαρότητα (% m/m)	> 99	99.8	99.5
Ποκνότητα, (kg/m³, 15 °C)	789	785	780
Περιεχόμενο Θείου (mg/kg)	2.6	<0.5	<0.5
Υγρασία, (mg/kg)	0.2	0.1	0.3
Σημείο βρασμού, (°C)	79	82	83
Περιεκτικότητα σε μεθανόλη, (% m/m)	0.3	0.05	0.02
Μη-πτητικά, (% m/m)	<0.01	<0.01	<0.1

Πίνακας 5-4: Χαρακτηριστικά των μιγμάτων αλκοολών - βενζίνης U.

Ιδιότητα	Μονάδες	U - Μίγματα					
		E5	E10	E27	E85	IPA 12	TBA 15
RON	-	95.1	98.7	98.5	99	91	94.1
MON	-	85.3	87.1	86.8	88.2	83.6	80.8
EtOH		4.98	9.75	26.9	84.85	0	0
IPA	(%v/v)	0	0	0	0	11.96	0
TBA		0	0	0	0	0	14.98
MTBE		1.92	1.68	0	0	1.68	1.29
O₂	(%m/m)	2.25	3.99	9.53	29.5	3.73	3.61
Ολεφίνες		12.4	11.7	9.6	1.97	11.5	11.05
Κορεσμένα	(%v/v)	52.7	50.1	45.2	8.4	48.8	47.2
Αρωματικά		26.1	24.8	21.9	4.3	25.1	24.3
Βενζόλιο		0.64	0.61	0.51	0.11	0.59	0.57

Οι τρεις τύποι αλκοολών αναμίχθηκαν ξεχωριστά με το κάθε καύσιμο βάσης (U και SU) σε διάφορες περιεκτικότητες. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις ανάμιξης των αλκοολών, αρχικά επιλέχθηκαν οι μέγιστες

επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις, όπως αυτές ορίζονται από το Ευρωπαϊκό πρότυπο EN228, ήτοι 10% v/v EtOH (E10), 12% v/v IPA (IPA12) και 15% v/v TBA (TBA15). Επιπλέον, η βιοαιθανόλη αναμίχθηκε σε συγκεντρώσεις των 5% v/v (E5), 27% v/v (E27) και 85% v/v (E85) με βάση τα εμπορικά δεδομένα των διαθέσιμων μιγμάτων αιθανόλης-βενζίνης, όπως αναφέρθηκαν στην Εισαγωγή του παρόντος Κεφαλαίου. Το E5 είναι ένα κοινώς εμπορικά διαθέσιμο καύσιμο περιέχοντας χαμηλό ποσοστό αιθανόλης, ειδικά στις δυτικές ευρωπαϊκές χώρες. Το E27, όπως προτάθηκε πρόσφατα για χρήση, αναφέρεται ως το καύσιμο με την μέγιστη περιεκτικότητα σε αιθανόλη και χρησιμοποιείται στη Βραζιλία σε συμβατικά οχήματα. Τέλος, το E85 είναι η μέγιστης περιεκτικότητας σε αιθανόλη βενζίνη που απαντάται στις Η.Π.Α και σε ορισμένες ευρωπαϊκές χώρες και χρησιμοποιείται σε οχήματα ευέλικτου καυσίμου. Προσδιορίστηκαν τα βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά των μιγμάτων που παρασκευάστηκαν και παρουσιάζονται στους Πίνακες 5-4 και 5-5.

Πίνακας 5-5: Χαρακτηριστικά των μιγμάτων αλκοολών - βενζίνης SU.

Ιδιότητα	Μονάδες	SU - Μίγματα					
		E5	E10	E27	E85	IPA 12	TBA 15
<i>RON</i>		100.5	102.2	103	108.3	102	97.7
<i>MON</i>		86.8	87.8	86.8	93.3	88.3	87.3
<i>EtOH</i>		4.91	9.81	26.84	84.67	0	0
<i>IPA</i>	(%v/v)	0	0	0	0	11.95	0
<i>TBA</i>		0	0	0	0	0	14.92
<i>MTBE</i>		10.5	9.1	8.1	1.5	8.9	8.7
<i>O₂</i>	(%m/m)	3.82	5.54	11	30.5	5.2	5.1
<i>Ολεφίνες</i>		18.5	17.5	14.5	3.2	17.2	16.6
<i>Κορεσμένα</i>	(%v/v)	44.2	41.8	33.7	7.1	40.8	39.5
<i>Αρωματικά</i>		21.3	20.2	16.7	3.5	19.8	19.2
<i>Βενζόλιο</i>		0.96	0.91	0.63	0.15	0.9	0.89

5.2.2 Μεθοδολογία

Η μελέτη της επίδρασης των αλκοολών όσον αφορά την ανάπτυξη της μικροβιακής δραστηριότητας σε δείγματα μιγμάτων αλκοολών- αμόλυβδης βενζίνης βασίστηκε σε μεθοδολογία δημιουργίας εργαστηριακών μικρόκοσμων. Προετοιμάστηκαν τρεις σειρές μικρόκοσμων – αποτελούμενες από τα προαναφερθείσα μίγματα, καθώς και από τα δύο δείγματα καυσίμων βάσης- τα οποία περιγράφονται ενδελεχώς παρακάτω.

1. Μικρόκοσμοι με την προσθήκη επιμολυσμένου νερού (CWM)

Τα δείγματα "εμβολιάστηκαν" με 10% v/v από επιμολυσμένο νερό (CW) – όπως προσδιορίζεται στην πρότυπη μέθοδο ASTM E1259 (ASTM E1259, 2018)- προερχόμενο από την υδατική φάση ενός μικροβιακά επιμολυσμένου εμπορικού δείγμα που συλλέχθηκε από τη δεξαμενή ενός πρατηρίου υγρών καυσίμων. Πριν τον εμβολιασμό (t0) έγινε διήθηση της κάτω φάσης (επιμολυσμένο νερό) και προσδιορίστηκε το μικροβιακό φορτίο σε μονάδες συγκέντρωσης ATP. Αυτού του είδους οι μικρόκοσμοι αποτελούσαν τους κύριους μικρόκοσμους για την ανίχνευση των αλλαγών στην μικροβιακή δραστηριότητα της υδατικής φάσης λόγω της παρουσίας των αλκοολών.

2. Μικρόκοσμοι με την προσθήκη απεσταγμένου νερού (DWM)

Σε αυτή την σειρά των μικρόκοσμων, 10% v/v από μη επιμολυσμένο υπερκάθαρο νερό (DW) προστέθηκε στα δείγματα καυσίμων. Χρησιμοποιήθηκε νερό τύπου II βάσει της ASTM D1193. Αυτοί οι μικρόκοσμοι χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση της συμπεριφοράς των δειγμάτων με την παρουσία μη επιμολυσμένης υδατικής φάσης.

3. Μικρόκοσμοι χωρίς την προσθήκη νερού (RM)

Αυτή η σειρά μικρόκοσμων αποτελούν τους μη επιμολυσμένους, “ξηρούς” μικροκόσμους, δηλαδή χωρίς την προσθήκη νερού. Χρησιμοποιήθηκαν ως αναφορά, και συγκεκριμένα για την σύγκριση τυχόντων διαφορών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση δειγμάτων.

Στους CWM και DWM μικρόκοσμους, η ποσότητα του σκοπίμως προστιθέμενου νερού (είτε επιμολυσμένου είτε υπερκάθαρο) ήταν επαρκής, ώστε να προκαλέσει το διαχωρισμό των φάσεων σε όλα τα δείγματα εκτός των E85 (Letcher, et al., 1986; de Oliveira, et al., 2000). Στα τελευταία, το ποσοστό 10% του προστιθέμενου νερού δεν ήταν ικανό για το διαχωρισμό των φάσεων και ως εκ τούτου, κατά τη διάρκεια του πειράματος, παρέμεινε διαλυμένο στη φάση καυσίμου. Ο κάθε μικρόκοσμος προετοιμάστηκε σε αποστειρωμένο γυάλινο δοχείο 1L και αποθηκεύτηκε για 4 εβδομάδες σε ιδανικές συνθήκες. Κάθε δοχείο πληρώθηκε με 600ml καυσίμου και 60 ml νερού είτε επιμολυσμένου (CW) είτε υπερκάθαρο (DW) στους αντίστοιχους μικρόκοσμους. Οι RM μικρόκοσμοι πληρώθηκαν με μόνο 600 ml καύσιμου. Οι μικρόκοσμοι ήταν προστατευμένοι από το φως και από την άμεση επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Η θερμοκρασία αποθήκευσης ήταν μεταξύ των 15-20°C και η σχετική υγρασία ήταν <45%. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, δηλαδή μετά από 3 μέρες (t1), 1 εβδομάδα (t2) και έναν μήνα (t3) της αποθήκευσης, λαμβάνονταν τρία διαδοχικά δείγματα των 1.0 ml κυρίως από την υδατική φάση των CWM και DWM μικρόκοσμων για τον έλεγχο της μικροβιακής δραστηριότητας. Στους E85 μικρόκοσμους η δειγματοληψία έγινε από την ενιαία φάση καυσίμου-νερού (λαμβάνονταν 10 ml για κάθε δείγμα). Δεν

έγινε αναπλήρωση του όγκου των δειγμάτων που αφαιρούνταν σε κάθε δειγματοληψία, καθώς κάθε δειγματοληψία δεν επηρέαζε τον συνολικό όγκο του δείγματος περισσότερο από 5% (ASTM E1259, 2018). Δείγματα από τη φάση καυσίμου λαμβάνονταν για τον έλεγχο της μικροβιακής δραστηριότητας όταν κρινόταν απαραίτητο. Η αποστείρωση και η καθαρότητα του εργαστηριακού εξοπλισμού που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα έρευνα διασφαλίστηκε ακολουθώντας τις διαδικασίες που υποδεικνύει η πρότυπη μέθοδος ASTM D5245.

5.2.3 Έλεγχος Μικροβιακού Φορτίου

Η μικροβιακή δραστηριότητα ελέγχθηκε με τη διεξαγωγή προσδιορισμού της βιοφωταύγειας ATP σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο ASTM D7687.

5.2.4 Προσδιορισμός Ποιοτικών Παραμέτρων

Με το πέρας της περιόδου αποθήκευσης των 4 εβδομάδων, τα CWM και DWM δείγματα εξετάστηκαν και συγκρίθηκαν ως προς τα αντίστοιχα RM, έτσι ώστε να προσδιοριστούν πιθανές αλλαγές στα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά λόγω της μικροβιακής ανάπτυξης ή/ και της παρουσίας νερού. Η εκτίμηση περιελάμβανε τον καθορισμό των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων, όπως η περιεκτικότητα σε θείο, σε αλκοόλη και οξυγόνο.

5.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.3.1 Μελέτη Εξέλιξης Μικροβιακού Φορτίου

Πριν την έναρξη της περιόδου αποθήκευσης (t_0), όλα τα προετοιμασμένα δείγματα μιγμάτων αλκοόλης-αμόλυβδης βενζίνης, καθώς και τα καύσιμα βάσης αμόλυβδης βενζίνης (U, SU), εξετάστηκαν ως προς το αρχικό τους μικροβιακό φορτίο προσδιορίζοντας την συγκέντρωση ATP. Επιπλέον, εξετάστηκαν, αντιστοίχως, και το επιμολυσμένο και υπερκάθαρο νερό, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στους CWM και DWM μικρόκοσμους, αντίστοιχα. Όπως αναμένεται, μηδενικό ή αμελητέο μικροβιακό φορτίο ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα καυσίμων τη δεδομένη χρονική στιγμή. Το ίδιο ισχύει και για στην περίπτωση του απεσταγμένου νερού. Υψηλά επίπεδα μικροβιακής επιβάρυνσης προσδιορίστηκαν στην επιμολυσμένη υδατική φάση, όπου η συγκέντρωση ATP βρέθηκε να είναι ίση με 3600 pg ATP/ml.

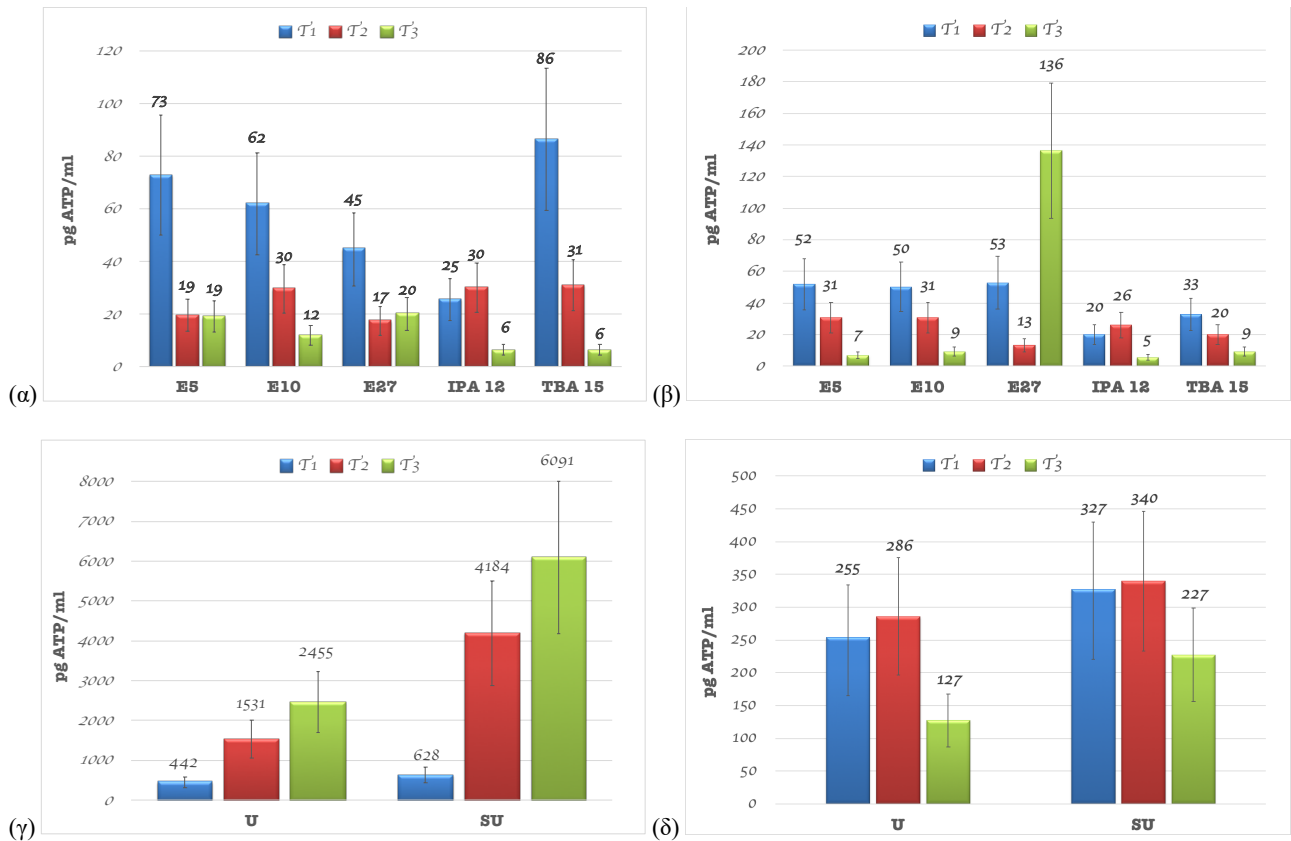
5.3.1.1 CWM Μικρόκοσμοι

Στο Σχήμα 5-1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP στις υδατικές φάσεις των επιμολυσμένων μικρόκοσμων. Τα δεδομένα δείχνουν την εξέλιξη της μικροβιακής

δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης. Αρχικά, είναι εμφανές ότι μερικές μέρες μετά την προσθήκη επιμολυσμένης υδατικής φάσης, δηλαδή την t1, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών στην υδατική φάση περιορίστηκε σημαντικά. Συγκεκριμένα, μετά από τρεις ημέρες επώασης η συγκέντρωση του ATP στην υδατική φάση των καυσίμων βάσης U και SU βρέθηκε να είναι λιγότερο από 1000 pg ATP/ml, ενώ στα μίγματα αλκοόλης-αμόλυβδης βενζίνης, με εξαίρεση των E85 μιγμάτων, το μικροβιακό φορτίο της υδατικής φάσης τους μειώθηκε σημαντικά με τις τιμές του ATP να είναι κάτω των 100 pg ATP/ml. Παρατηρείται ότι στην περίπτωση των U-μιγμάτων E5-27 την χρονική στιγμή t1, η συγκέντρωση του ATP μειώνεται αναλογικά με το ποσοστό της περιεχόμενης αιθανόλης στη φάση καυσίμου των μιγμάτων. Παρόμοια αποτελέσματα καταγράφονται και σε ανάλογη μελέτη (*Passman, et al., 2009*).

Αντιθέτως, στις κάτω φάσεις των SU-μιγμάτων E5-27 σημειώθηκαν παρόμοια επίπεδα μικροβιακής επιβάρυνσης. Ασχέτως από το τύπο του καυσίμου, έπειτα από τρεις ημέρες επώασης, τα μίγματα IPA12 παρουσίασαν την καλύτερη ανασταλτική δράση έναντι όλων των υπολοίπων μιγμάτων αλκοόλης-βενζίνης. Παρόλο που δεν υπάρχει διαθέσιμη βιβλιογραφία σχετική με την επίδραση των αλκοολών μεγαλύτερου μοριακού βάρους, είναι γνωστό ότι η IPA θεωρείται σχετικά περισσότερο αποτελεσματική στην αποστείρωση επιφανειών εναντίον των βακτηρίων εν συγκρίσει με την αιθανόλη (*McDonnell, et al., 1999*). Η συμπεριφορά των μιγμάτων TBA15 τη χρονική στιγμή t1 ήταν διαφορετική μεταξύ των καυσίμων βάσης U και SU. Στην περίπτωση της SU η συγκέντρωση ATP στην υδατική φάση βρέθηκε να είναι σε αρκετά χαμηλά επίπεδα, ενώ το μικροβιακό επίπεδο στην περίπτωση της U εμφάνισε την υψηλότερη συγκέντρωση.

Κατά την υπόλοιπη περίοδο της επώασης, σημειώθηκε σημαντική διαφοροποίηση στη σχετική συμπεριφορά των δειγμάτων που απαρτίζονταν από αλκοόλη και αμόλυβδη βενζίνη έναντι αυτών που δεν περιείχαν αλκοόλη. Η παρουσία αλκοόλης στη φάση καυσίμου - ακόμα και σε συγκέντρωση των 5 % v/v - ανέστειλε την μικροβιακή δραστηριότητα στην πλειοψηφία των διαχωρισμένων υδατικών φάσεων των E5, E10, IPA12 και TBA15 τη χρονική στιγμή t2, και εν τέλει, στο τέλος της τέταρτης εβδομάδας (t3) ανιχνεύθηκε πολύ χαμηλό έως και αμελητέο μικροβιακό φορτίο. Μάλιστα, η συγκέντρωση ATP που αντικατοπτρίζει την μικροβιακή επιμόλυνση ήταν πολύ κοντά ή χαμηλότερη της ευαισθησίας της μεθόδου.



Σχήμα 5-1: Μικροβιακό φορτίο στους επιμολυσμένους CWM μικρόκοσμοις (α) U-Μίγματα, (β) SU-Μίγματα, (γ) καύσιμα βάσης, (δ) E85 μίγματα (διαλυμένο νερό στη φάση καυσίμου).

Στη βιβλιογραφία γίνεται αναφορά σχετικά με τον περιορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας στην υδατική φάση που βρίσκεται κάτω από μίγματα αιθανόλης-βενζίνης έως 20% v/v σε αιθανόλη (E20) και έχει αποδειχθεί ότι η μεταφορά της αιθανόλης από τη φάση καυσίμου στην υδατική φάση παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτό (Passman, et al., 2009). Το φαινόμενο του διαχωρισμού της αιθανόλης στις δύο φάσεις (φάση καυσίμου και υδατική) μελετήθηκε στην παρούσα έρευνα και συζητείται εκτενέστερα παρακάτω. Από την άλλη μεριά, η συμπεριφορά των E27 μιγμάτων φαίνεται να αποκλίνει από τη γενική τάση, όταν εξετάζονται στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης (t3). Συγκεκριμένα, στα E27-U μίγματα παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση του μικροβιακού φορτίου αλλά σημαντική αύξηση καταγράφεται στα μίγματα E27-SU, όπου οι τιμές της συγκέντρωσης ATP φαίνεται να είναι άνω των 100 pg/ml παρόλο που τη t2 η μικροβιακή δραστηριότητα έδειξε σημαντική μείωση (13 pg/ml). Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι παρόμοια συμπεριφορά ανιχνεύθηκε, επίσης, στους αντίστοιχους DWM μικρόκοσμοις. Στην παρούσα φάση δεν υπάρχει ξεκάθαρη εξήγηση για ποιο λόγο παρατηρείται αυτό το φαινόμενο αλλά φαίνεται ότι ενδεχομένως να οφείλεται σε κάποιες από τις ιδιότητες ή/ και στην σύνθεση της SU βενζίνης όταν αναμιγνύεται με την αιθανόλη σε αυτή την περιεκτικότητα. Περαιτέρω έρευνα επί του θέματος μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες.

Όσον αφορά τα αμιγή καύσιμα βάσης (U και SU), παρά την ανασταλτική δράση που εμφανίστηκε κατά την αρχή της επώασης (t1), οι βενζίνες που δεν περιείχαν αλκοόλη εμφάνισαν μειωμένη ικανότητα στο να μειώσουν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών στην υδατική φάση κατά τη διάρκεια της επώασης. Οι μικροβιακές αποικίες σταδιακά αναπτύχθηκαν εκ νέου και σημαντικό μικροβιακό φορτίο ανιχνεύθηκε στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας. Ειδικότερα, την χρονική στιγμή t3 υψηλή μικροβιακή επιμόλυνση επανανιχνεύθηκε στο μίγμα SU, καθώς η τελική μετρούμενη συγκέντρωση ATP ήταν περίπου ίση με 6000 pg ATP/ml, συγκέντρωση πολύ υψηλότερη από το αρχικό φορτίο την t0. Είναι εμφανές ότι η καθαρή βενζίνη SU προσφέρει πιο πρόσφορο περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς εν συγκρίσει με την U. Το χαμηλότερο ποσοστό σε αρωματικά σε συνδυασμό με το υψηλά επίπεδα του περιεχόμενου οξυγόνου στο δείγμα SU είναι πιθανό να αποτελεί ένα λόγο που καθιστά την SU περισσότερο ιδανικό υπόστρωμα για την μικροβιακή ανάπτυξη. Το παραπάνω γεγονός παρατηρήθηκε, επίσης, σε δημοσιευμένη έρευνα σχετικά με την μελέτη της μικροβιακής ανάπτυξης στη βενζίνη, όπου η ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε βενζίνη υψηλότερων οκτανίων ήταν μεγαλύτερη εν συγκρίσει αυτής σε βενζίνη χαμηλότερων οκτανίων (*Zhiping, et al., 2007*).

Επιπλέον, το παρόν δείγμα SU περιέχει υψηλότερο ποσοστό MTBE (11% v/v) έναντι του δείγματος βενζίνης U (2% v/v) – σχεδόν κατά 6 φορές μεγαλύτερο. Σε αυτό το εύρος συγκεντρώσεων, έχει παρατηρηθεί ότι όσο αυξάνεται το περιεχόμενο MTBE στη βενζίνη, τόσο αυξάνεται και η πιθανότητα διέγερσης της βακτηριακής δραστηριότητας (*Hill, et al., 1995*). Με το τέλος της πειραματικής διαδικασίας, το ποσοστό του MTBE στην SU μειώθηκε περισσότερο του 40% ενώ στην περίπτωση της U σχεδόν κατά 25%. Έχει καταγραφεί από προηγούμενη ανάλογη δημοσιευμένη μελέτη ότι η μείωση του περιεχόμενου MTBE σε μία βενζίνη που αρχικά περιείχε 12% v/v ήταν 80% μετά από αποθήκευση τριών μηνών. Η εν λόγω μείωση αποδόθηκε στην απομάκρυνση του MTBE από την φάση καυσίμου λόγω μικροβιακής δράσης (*Passman, et al., 2001*). Παρ' όλα αυτά, αξίζει να σημειωθεί ότι η φάση καυσίμου δεν είχε επηρεαστεί σημαντικά από την μικροβιακή δραστηριότητα που ελάμβανε χώρα στην υδατική φάση τουλάχιστον για το εξεταζόμενο χρονικό διάστημα του ενός μηνός. Η συγκέντρωση του ATP προσδιορίστηκε στο τέλος της επώασης στη φάση καυσίμου των U και SU δειγμάτων και τα αποτελέσματα έδειξαν χαμηλά επίπεδα επιμόλυνσης (< 10 pg ATP/ml). Σε γενικές γραμμές η μικροβιακή δραστηριότητα που ανιχνεύτηκε στις υδατικές φάσεις των βενζινών απουσία αλκοόλης καθώς και οι χαμηλές τιμές συγκέντρωσης του ATP στη φάση καυσίμου συμφωνούν με τα δεδομένα που έχουν καταγραφεί αναφορικά με πραγματικά περιστατικά στην ελληνική εφοδιαστική αλυσίδα.

Όσον αφορά τους μικρόκοσμους E85, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η επιμολυσμένη υδατική φάση παρέμεινε διαλυμένη στη φάση καυσίμου, σχηματίζοντας μια ενιαία φάση (υδατική και οργανική φάση), από την οποία λαμβάνονταν κάθε φορά και τα δείγματα για τον προσδιορισμό του ATP. Παρά το υψηλό

ποσοστό βιοαιθανόλης, η συγκέντρωση του ATP δεν μειώθηκε παρόμοια με τα υπόλοιπα δείγματα μίγμάτων βιοαιθανόλης - βενζίνης. Κατά τη διάρκεια της περιόδου εξέτασης τα U μίγματα έδειξαν καλύτερη συμπεριφορά εν συγκρίσει των SU. Την t1 στο δείγμα E85-SU το μικροβιακό φορτίο βρέθηκε να είναι ίσο με 327 pg ATP/ml, το οποίο πρακτικά σημαίνει, ότι η μικροβιακή δραστηριότητα διατηρήθηκε σχεδόν στα αρχικά επίπεδα αν ληφθεί υπόψη ότι το εξεταζόμενο δείγμα αποτελείται από 10% επιμολυσμένης υδατικής φάσης και 90% οργανικής φάσης, Αντίθετα, στο δείγμα E85-U ανιχνεύθηκε 20% περίπου μικρότερη μικροβιακή δραστηριότητα έναντι της αρχικής. Μετά το πέρας των τεσσάρων εβδομάδων αποθήκευσης, η μικροβιακή δραστηριότητα παρουσίασε σημάδια αναστολής, εντούτοις η ανάκτηση από τους μικρόκοσμους αντιπροσώπευε άνω του 35% του αρχικού μικροβιακού φορτίου. Βάσει των παραπάνω, συμπεραίνεται ότι στα μίγματα E85 όπου η συγκέντρωση του νερού είναι κάτω του ορίου για να προκαλέσει διαχωρισμό των φάσεων, η μικροβιακή δραστηριότητα δεν ενισχύεται μεν αλλά και από την άλλη παρατηρείται αδυναμία σημαντικής μείωσης των ενεργών πληθυσμών τουλάχιστον στο χρονικό διάστημα που πραγματοποιήθηκε η παρούσα μελέτη. Η παραπάνω παρατήρηση έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης δειγμάτων βενζίνης –αιθανόλης, όπου δεν υπήρχε διαχωρισμός της υδατικής φάσης από την οργανική. Αξίζει, βέβαια, να σημειωθεί ότι τα εν λόγω δείγματα περιείχαν αιθανόλη μέχρι 20% και είχε προστεθεί σε αυτά μικρότερο ποσοστό νερού (0,5% v/v), έτσι ώστε να αποφευχθεί ο διαχωρισμός των δύο φάσεων (*Passman, et al., 2009*).

5.3.1.2 DWM μικρόκοσμοι

Παρόμοια με τους επιμολυσμένους μικρόκοσμους, οι μετρήσεις για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP διεξήχθησαν σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα t1, t2, και t3 στην υδατική φάση των μικροκόσμων, όπου είχε γίνει προσθήκη 10% v/v υπερκάθαρου νερού. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στο Σχήμα 5-2. Έπειτα από τρεις ημέρες αποθήκευσης (t1) παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της βιομάζας στην υδατική φάση. Σε όλες τις περιπτώσεις οι συγκεντρώσεις βρέθηκαν να είναι μικρότερες των 20 pg ATP/ml, συγκέντρωση τουλάχιστον διπλάσια από την αρχική. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρήθηκε στην υδατική φάση των δειγμάτων που περιείχαν TBA. Ειδικότερα, οι τιμές ήταν 6 και 7 φορές μεγαλύτερες για τις περιπτώσεις των δειγμάτων TBA15-U και TBA15-SU, αντίστοιχα. Εν συγκρίσει με τα αποτελέσματα των CWM μικροκόσμων την t1, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση του μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση στην περίπτωση του TBA15-U ήταν η μέγιστη ενώ δεν ήταν έμφανες το ίδιο στην περίπτωση του TBA15-SU μικρόκοσμου.

Τα καύσιμα βάσης U και SU, άνευ αλκοόλης, εμφανίζονται να ευνοούν την μικροβιακή δραστηριότητα την t1, επίσης. Οι συγκεντρώσεις ATP ήταν υψηλότερες από αυτές που ανιχνεύθηκαν στα μίγματα βενζίνης με αιθανόλη και IPA αλλά ήταν χαμηλότερες στα μίγματα με TBA. Τη t2, δηλαδή μετά από μια εβδομάδα αποθήκευσης, υπήρξε μια διαφοροποίηση στις συγκεντρώσεις του ATP στις περιπτώσεις όπου υπήρχε

διαχωρισμός των δύο φάσεων. Σε ορισμένους μικρόκοσμους παρατηρήθηκε μια αύξηση ενώ άλλοι οδηγήθηκαν σε μείωση. Απότομη μείωση ήταν εμφανής στα μίγματα που περιείχαν TBA. Εν τέλει, με το πέρας της τέταρτης εβδομάδας αποτυπώθηκε μείωση του μικροβιακού φορτίου σε όλες τις περιπτώσεις εκτός από τα δείγματα E27. Στην υδατική φάση των E27-U οι συγκεντρώσεις του ATP παρέμειναν ίδιες καθόλη τη διάρκεια της μελέτης ενώ στα E27-SU ανιχνεύθηκε σημαντική μικροβιακή ανάπτυξη. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στα αντίστοιχα δείγματα των CWM μικροκόσμων. Όσον αφορά τα E85 δείγματα, παρόλο που την t2 παρατηρήθηκε μέγιστο της συγκέντρωσης ATP, τελικά στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας το μικροβιακό φορτίο ήταν αμελητέο.

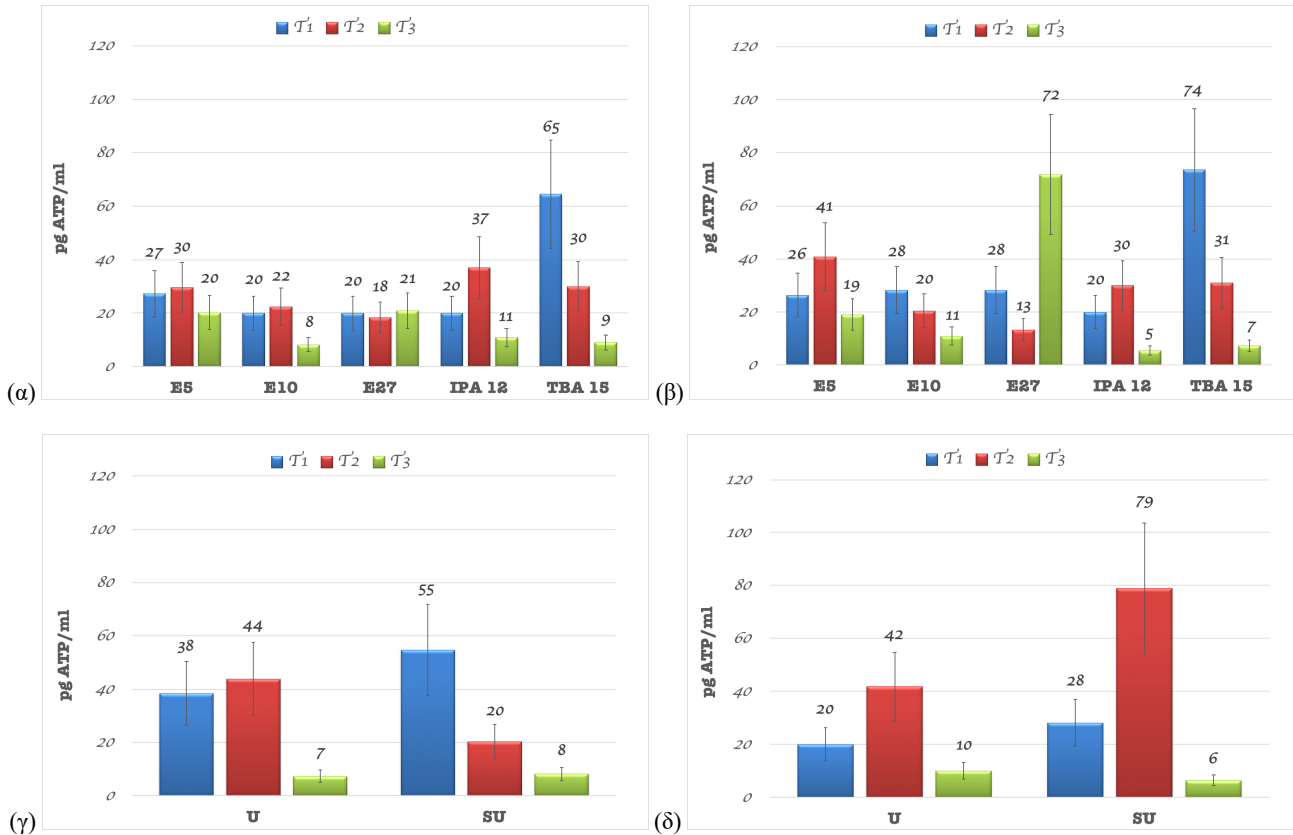
Συμπερασματικά, σε όλους τους εξεταζόμενους DW μικρόκοσμους εμφανίστηκε μια μικρή μικροβιακή ανάπτυξη που διατηρήθηκε μέχρι την πρώτη εβδομάδα αποθήκευσης. Παρ' όλα αυτά, όλες οι συγκεντρώσεις του μικροβιακού φορτίου βρέθηκαν να είναι κάτω του ορίου των 100 pg ATP/ml, το οποίο υποδηλώνει αξιόλογη μικροβιακή δραστηριότητα. Από την άλλη μεριά, μετά από ένα μήνα επώασης, η μικροβιακή ανάπτυξη σε όλες τις περιπτώσεις πλην των E27 μειώθηκε, όπως αποτυπώνεται από τις συγκεντρώσεις του ATP. Τα δεδομένα που προέκυψαν από αυτή την σειρά των μικροκόσμων δεν υποστηρίζουν ένα σαφές συμπέρασμα σχετικά με την επίδραση των αλκοολών στην μικροβιακή ανάπτυξη που λαμβάνει χώρα σε υδατική φάση, η οποία δεν είναι αρχικά μικροβιακά επιβαρυνόμενη.

5.3.2 Προσδιορισμός Μεταβολής ποιοτικών παραμέτρων

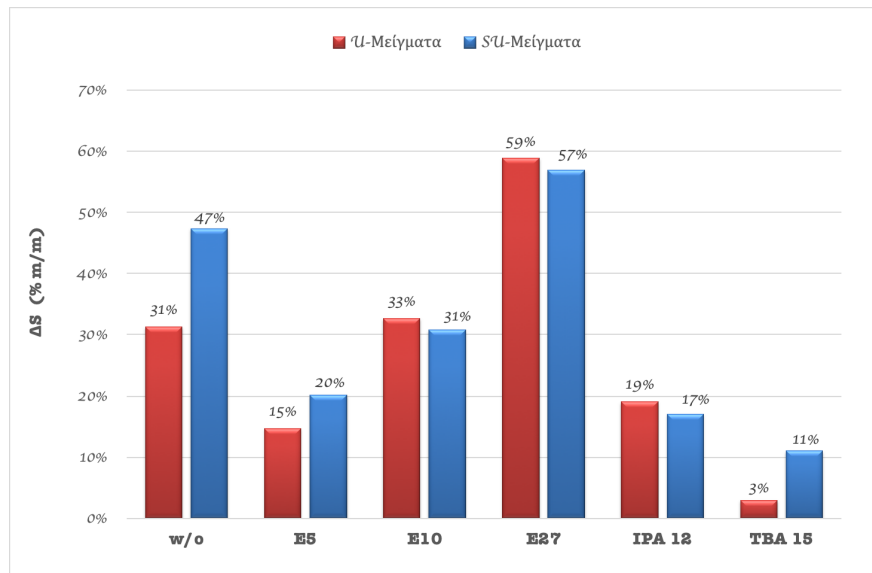
5.3.2.1 Περιεκτικότητα σε θείο

Στο τέλος της αποθήκευσης παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις σχετικά με την περιεκτικότητα σε θείο. Ο προσδιορισμός σε θείο αφορά στις υδατικές φάσεις, καθώς και στις φάσεις καυσίμου των μικρόκοσμων. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τις αρχικές τιμές του περιεχόμενου θείου στο επιμολυσμένο νερό καθώς και στα μίγματα βενζίνης - αλκοόλης. Στο Σχήμα 5-3 απεικονίζεται η συγκέντρωση σε θείο στην επιμολυσμένη υδατική φάση των CWM που, όπως φαίνεται, μειώθηκε σημαντικά στην περίοδο των 4 εβδομάδων. Αρχικά, το περιεχόμενο θείο ανερχόταν στα 2350 mg/kg. Στα μίγματα αιθανόλης – βενζίνης, η μείωση του θείου εμφανίζεται να είναι ανάλογη με το ποσοστό της αιθανόλης στη φάση καυσίμου. Από την άλλη, το επί τοις εκατό ποσοστό μείωσης είναι μικρότερο στις περιπτώσεις των μιγμάτων που περιέχουν IPA και TBA. Επίσης, η συγκέντρωση του θείου μειώθηκε και στις περιπτώσεις των μικροκόσμων απουσία αλκοολών παρόλο που το μικροβιακό φορτίο ήταν υψηλό.

Κεφάλαιο 5^ο – Μελέτη επίδρασης της βιοαιθανόλης και άλλων αλκοολών στο μικροβιακό φορτίο της αμόλυβδης βενζίνης

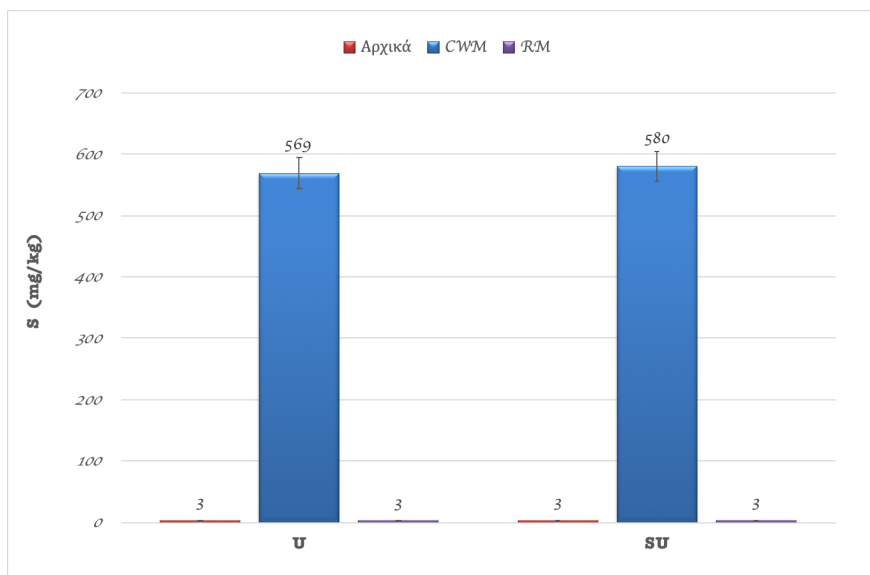


Σχήμα 5-2: Μικροβιακό φορτίο στους DWM μικρόκοσμοις (α) U-Μίγματα, (β) SU-Μίγματα, (γ) καύσιμα βάσης, (δ) E85 μίγματα (διαλυμένο νερό στη φάση καυσίμου).



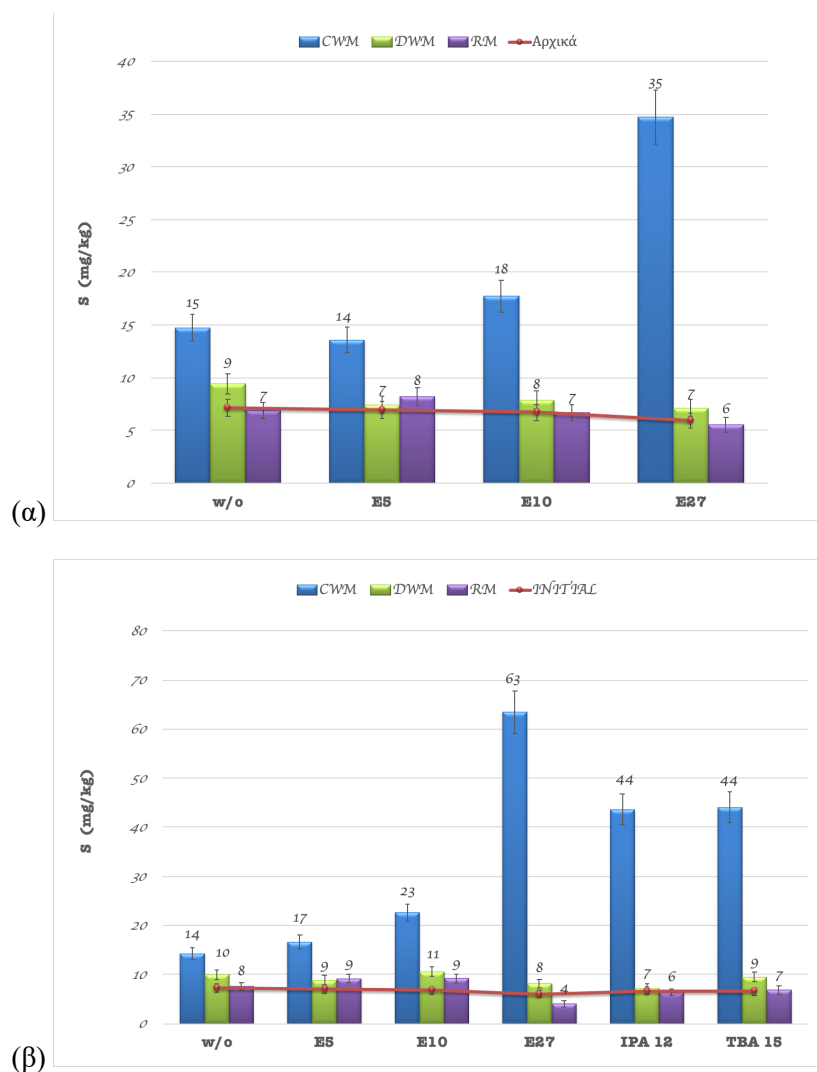
Σχήμα 5-3: Ποσοστό μείωσης θείου στην υδατική φάση των επιμολυσμένων CWM μικρόκοσμοις.

Στα E85 (Σχήμα 5-4) η περιεκτικότητα σε θείο της ενιαίας φάσης και στις δύο περιπτώσεις ήταν 570-580 mg/kg, η οποία θεωρείται ως υψηλή, αν ληφθεί υπόψη ότι αντιπροσωπεύει όλη την ενιαία φάση καυσίμου.



Σχήμα 5-4: Συγκέντρωση θείου στους E85 μικρόκοσμοις με το πέρας των 4 εβδομάδων αποθήκευσης.

Οι διαφοροποιήσεις στο περιεχόμενο θείου της φάσης καυσίμου αποτυπώνονται στο Σχήμα 5-5. Οι DWM και RM μικρόκοσμοι έδειξαν αμελητέα διαφοροποίηση στο θείο σε σχέση με το αρχικό ποσοστό, το οποίο παρατηρείται και στα E85 δείγματα. Από την άλλη, στους CWM μικρόκοσμοις, η αύξηση του θείου είναι εμφανής, με τη μέγιστη τιμή να παρατηρείται στα E27, IPA και TBA μίγματα. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης μπορεί να μεταφέρονται θειούχες ενώσεις από την υδατική στην οργανική φάση. Από τα δεδομένα προκύπτει ότι ανεξάρτητα από το μικροβιακό φορτίο που λαμβάνει χώρα στην υδατική φάση, η παρουσία βιομάζας στην υδατική φάση προκαλεί την αύξηση του θείου στη φάση καυσίμου. Παρόμοια, η μείωση του θείου στην υδατική φάση των CW μικρόκοσμων που αφορούν τα μίγματα με αλκόολη δικαιολογούνται από τις διαφοροποιήσεις του όγκου της υδατικής φάσης που προκαλείται λόγω της μεταφοράς μέρους των αλκοολών από τη φάση καυσίμου.



Σχήμα 5-5: Περιεχόμενο θείο στη φάση καυσίμου των (α) U-μυγμάτων και (β) SU-μυγμάτων των διαφορετικών μικρόκοσμων στο τέλος της 4ης εβδομάδας αποθήκευσης.

5.3.2.2 Συγκέντρωση Αλκοολών

Η περιεκτικότητα σε αλκοόλη προσδιορίστηκε στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης στη φάση καυσίμου αυτών των μικρόκοσμων με παρουσία νερού. Υποστηρίζεται ότι σε όλες τις περιπτώσεις όπου υπάρχει διαχωρισμός της υδατικής από την οργανική φάση που αποτελείται από μίγμα αλκοολών και βενζίνης, μέρος της αλκοόλης μεταφέρεται στην υδατική φάση (Passman, et al., 2009; Letcher, et al., 1986). Η ανάλυση των υπό εξέταση δειγμάτων καυσίμου φαίνεται να επιβεβαιώνει αυτή την υπόθεση αλλά και ο τύπος της αλκοόλης που χρησιμοποιήθηκε πιθανώς, να παίζει ρόλο ως ένα βαθμό. Το ποσοστό απώλειας της αλκοόλης από τη φάση καυσίμου, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5-6, μπορεί να αποδοθεί στην μεταφορά της στην υδατική φάση λόγω της υδρόφιλης φύσης της.

Το φαινόμενο είναι περισσότερο εμφανές στα μίγματα με την αιθανόλη, καθώς το περιεχόμενο ποσοστό αιθανόλης στη φάση καυσίμου μειώθηκε μέχρι 75% ή και περισσότερο σε όλες τις περιπτώσεις. Οι μικρόκοσμοι που περιέχουν IPA έδειξαν σημαντικά μικρότερο ποσοστό απώλειας της αλκοόλης, ενώ η μείωση αντίστοιχα του TBA βρέθηκε να είναι περιορισμένη. Παρόμοιες μετρήσεις διεξήχθησαν, επίσης, στην σειρά RM, δηλαδή αυτών των μικρόκοσμων απουσία νερού, και η αντίστοιχη απώλεια αλκοόλης βρέθηκε να είναι λιγότερη από 10% σε όλες τις περιπτώσεις.

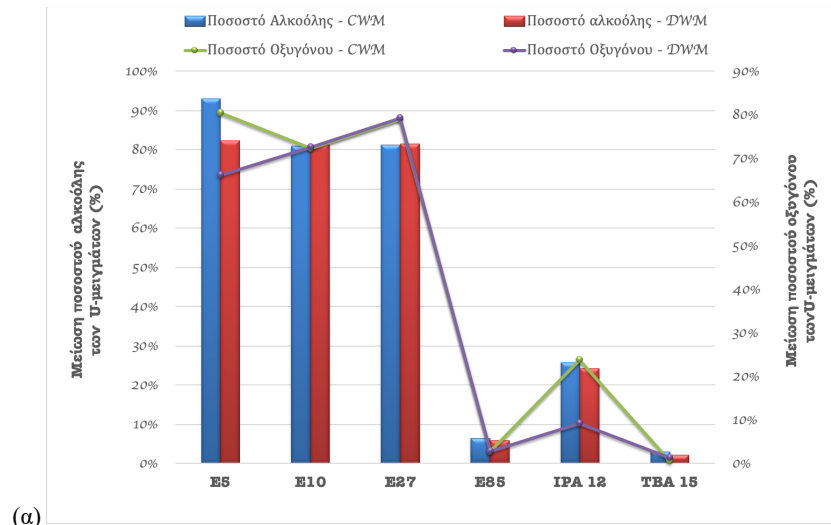
Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στις περιπτώσεις των μονο-φασικών E85 δειγμάτων. Η απώλεια της αλκοόλης από τη φάση καυσίμου αποτυπώθηκε και στα φάσματα υπερούθρου (FTIR) που ελήφθησαν στις φάσεις καυσίμου στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης και μετά από σύγκριση με τα αρχικά φάσματα ειδικά στις κορυφές μεταξύ των κυματαριθμών $3300-3400\text{cm}^{-1}$ που είναι χαρακτηριστικές των αλκοολών (Σχήμα 5-7).

Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η θεωρία της συνδιαλυτοποίησης των αλκοολών στις δύο φάσεις, εκτιμήθηκε εμμέσως το ποσοστό της αλκοόλης στην υδατική φάση που υπήρχε κάτω από το εκάστοτε μίγμα μετρώντας την πυκνότητα. Οι διαφοροποιήσεις στις τιμές της πυκνότητας - Πίνακας 5-6 - αποδίδονται σε μεγάλο βαθμό στη μεταφορά ποσότητας των αλκοολών από τη φάση καυσίμου στην αντίστοιχη υδατική (*de Oliveira , et al., 2000*).

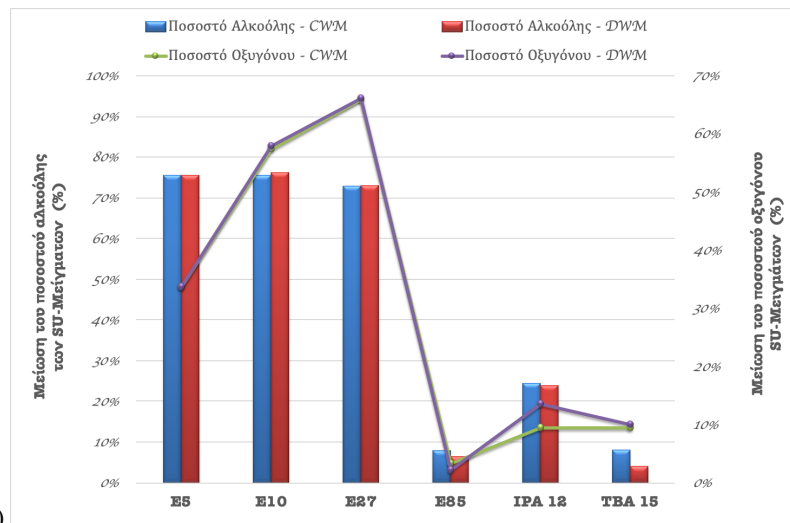
Βάσει αυτών των τιμών πυκνότητας και σε δεδομένα της διαθέσιμης βιβλιογραφίας (*Letcher, et al., 1986; de Oliveira , et al., 2000; Stepheson, 1992; Heermann, et al., 1998; Chu, et al., 1962; Kipkemboi, et al., 1994; Lee, 2008*) όσον αφορά τις ιδιότητες και την αμοιβαία διαλυτότητα των δυαδικών μιγμάτων αλκοόλης - νερού καθώς και των τριαδικών συστημάτων βενζίνης – αλκοόλης - νερού, εκτιμήθηκε το ποσοστό της αλκοόλης, εκφρασμένο ως μολαρικό κλάσμα, που μεταφέρθηκε στην υδατική φάση και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 5-7.

Είναι εμφανές ότι το μολαρικό κλάσμα της αιθανόλης στην υδατική φάση είναι ανάλογο της αρχικής συγκεντρώσεως της αιθανόλης στη φάση καυσίμου. Το ποσοστό της αιθανόλης στην υδατική φάση κυμαινόταν μεταξύ 40% και 62% με το μεγαλύτερο ποσοστό να καταγράφεται στα E27 μίγματα. Στις περιπτώσεις των IPA12 και ειδικά των TBA15, η “μετανάστευση” της αλκοόλης στις υδατικές φάσεις φαίνεται να γίνεται σε σημαντικά μικρότερα επίπεδα εν συγκρίσει με την αιθανόλη. Οι τιμές αυτές είναι σε συμφωνία με την προαναφερθείσα τάση όσον αφορά το ποσοστό απώλειας αλκοόλης από τη φάση καυσίμου.

Κεφάλαιο 5^ο – Μελέτη επίδρασης της βιοαιθανόλης και άλλων αλκοολών στο μικροβιακό φορτίο της αμόλυβδης βενζίνης

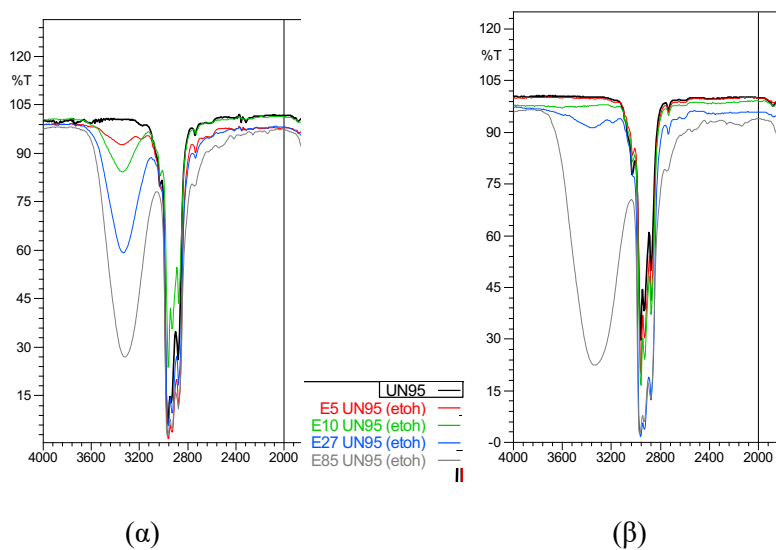


(α)



(β)

Σχήμα 5-6: Ποσοστό μείωσης αλκοόλης στα (α) U-μίγματα, (β) SU-μίγματα, φάση καυσίμου στους CWM και DWM μικρόκοσμοις.



Σχήμα 5-7: Σύγκριση φασμάτων FTIR της φάσης καυσίμου των E5-E85 μιγμάτων με παρουσία υδατικής φάσης (α) πριν και (β) μετά την περίοδο αποθήκευσης.

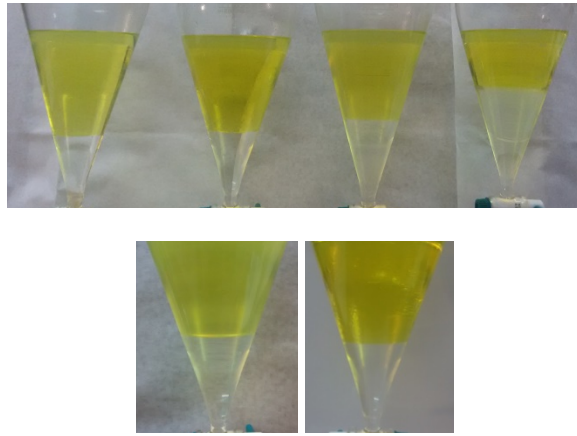
Πίνακας 5-6: Πυκνότητα υδατικής φάσης των μικροκόσμων που αποτελούνται από μίγματα U & SU με την εκάστοτε αλκοόλη.

Μίγματα	Πυκνότητα Υδατικής Φάσης (g/ml)	
	U-Μίγματα	SU- Μίγματα
E0	0.998	0.998
E5	0.960	0.967
E10	0.944	0.953
E27	0.880	0.902
IPA12	0.966	0.970
TBA15	0.981	0.976

Πίνακας 5-7: Ποσοστό αλκοόλης υδατικής φάσεως στους μικρόκοσμος που αποτελούνται από μίγματα U & SU με την εκάστοτε αλκοόλη.

Μίγματα	Μολαρικό κλάσμα αιθανόλης στην υδατική φάση	
	U- Μίγματα	SU- Μίγματα
E5	0.44	0.40
E10	0.50	0.47
E27	0.62	0.61
IPA12	0.24	0.21
TBA15	0.03	0.05

Επιπλέον, οι διαφοροποιήσεις του ποσοστού της αλκοόλης επιβεβαιώνονται και από απλή παρατήρηση των διαφορών όγκου της υδατικής φάσης, όπως παρουσιάζονται στις παρακάτω αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες (Εικόνα 5-1).



Εικόνα 5-1: Οπτική παρατήρηση των διαφοροποιήσεων όγκου στην υδατική φάση των E0, E5, E10 και E27 μιγμάτων (πάνω, από αριστερά στα δεξιά), και των IPA12 και TBA15 μιγμάτων (κάτω, από αριστερά στα δεξιά).

Ειδικά για τα δείγματα που αποτελούνται από μίγματα βενζίνης με αιθανόλη, τα υψηλότερα ποσοστά αιθανόλης στη φάση καυσίμου συνοδεύονται με αντίστοιχη αύξηση όγκου της υδατικής φάσης. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας του γεγονότος ότι η αιθανόλη είναι περισσότερο διαλυτή στο νερό από ότι στη βενζίνη, ενώ αντιθέτως η προπανόλη και η βουτανόλη εμφανίζουν μεγαλύτερη διαλυτότητα στη βενζίνη έναντι του νερού. Ως εκ τούτου, η σύνθεση της υδατικής φάσης, για τα μίγματα αλκοόλη – βενζίνη - νερό, θα είναι πλουσιότερη σε νερό όσο μεγαλύτερος είναι και ο αριθμός των ανθράκων της αλκοόλης (*de Oliveira , et al., 2000; Lee, 2008*).

Από τα παραπάνω, παρατηρείται ότι στους CWM μικροκόσμους υπάρχει μία ισχυρή αντίστροφη συσχέτιση ($R^2: 0.96$) του ποσοστού της αιθανόλης στην υδατική φάση και της συγκεντρώσεως ATP την t1, αλλά αυτό ήταν εμφανές μόνο στα U- μίγματα. Παρόμοια τάση εμφανίζεται και στη βιβλιογραφία και αφορά μίγματα αιθανόλης- βενζίνης, με συγκέντρωση αιθανόλης έως 20% v/v, όταν υπήρχε επίσης διαχωρισμένη υδατική φάση (*Passman, et al., 2009*).

Η μεταφορά της αλκοόλης στη υδατική φάση ενδεχομένως να παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματική μείωση της μικροβιακής δραστηριότητας που λαμβάνει χώρα στην υδατική φάση των CWM μικροκόσμων εν συγκρίσει με τους μικρόκοσμους απουσία αλκοόλης. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι η αιθανόλη, ειδικά, έχει, αν όχι βιοκτόνο, τουλάχιστον βιοστατική δράση σε συγκεντρώσεις >15% (*Passman, et al., 2009*). Παρόλ' αυτά, στους μικροκόσμους E27, ειδικά στην περίπτωση των SU μιγμάτων, η επίδραση της αιθανόλης, παρά το μεγάλο ποσοστό στην υδατική φάση, δεν συνάδει με τα παραπάνω και

αυτό αντικατοπτρίζεται από τις υψηλές συγκεντρώσεις ATP που παρατηρούνται στο τέλος της αποθήκευσης. Σε κάθε περίπτωση, στην παρούσα μελέτη αποδεικνύεται ότι οι αλκοόλες IPA και TBA – τουλάχιστον στις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις- φαίνεται να έχουν παρόμοια βιοστατική/ βιοκτόνο δράση στην υδατική φάση, παρόλο που η διάλυσή τους στην υδατική φάση είναι γενικά σε χαμηλότερα επίπεδα έναντι της αιθανόλης.

Η συνδιάλυση των αλκοολών στη φάση νερού ενδέχεται να συμβάλλει ως ένα βαθμό και στις σχετικές διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται στο περιεχόμενο θείου της επιμολυσμένης υδατικής φάσεως, αφού μεταβάλλεται η σύνθεσή της. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι όσο αυξάνεται το ποσοστό της αιθανόλης σε ένα τριαδικό σύστημα βενζίνη- αιθανόλη-νερό, τόσο αυξάνεται και το ποσό της βενζίνης που διαλύεται στην υδατική φάση και αντίστοιχα το ποσοστό του νερού που διαλύεται στην οργανική φάση (*de Oliveira , et al., 2000*). Αυτό δικαιολογεί τα υψηλά ποσοστά θείου που παρατηρήθηκαν στη φάση καυσίμου των E27 μικρόκοσμων. Επίσης, μια ερώτηση που μπορεί να τεθεί είναι εάν το αυξημένο ποσό βενζίνης που “μεταναστεύει” από την οργανική στην υδατική φάση στην περίπτωση των μιγμάτων E27-SU αποτελεί ένα λόγο που παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση ATP την t3, λαμβάνοντας υπόψιν ότι η καθαρή SU είναι περισσότερο επιρρεπής. Η παραπάνω υπόθεση απαιτεί φυσικά περαιτέρω έρευνα. Το υψηλό ποσοστό θείου στη φάση καυσίμου των μικροκόσμων που περιέχουν τις αλκοόλες IPA και TBA μπορεί να εξηγηθεί μερικώς από τις μεταβολές της αμοιβαίας διαλυτότητας όσον αφορά στα τριαδικά συστήματα βενζίνη-νερό-ισοπροπανόλη και βενζίνη-νερό-τριτοταγής βουτανόλη, αντίστοιχα (*Stepheson, 1992*).

Σύμφωνα με τα παραπάνω ευρήματα προκύπτει ότι η μικροβιακή δραστηριότητα στην υδατική φάση των μικροκόσμων απουσία αλκοολών στην οργανική τους φάση δεν αντιμετωπίστηκε αποτελεσματικά. Παρά την αρχική μείωση, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης ανιχνεύθηκαν υψηλά επίπεδα μικροβιακής επιμόλυνσης ειδικά στην περίπτωση της SU βενζίνης. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με τα περιστατικά που έχουν εμφανιστεί στην ελληνική εφοδιαστική αλυσίδα, καθώς η βενζίνη της ελληνικής αγοράς δεν περιέχει έως τώρα βιοαιθανόλη.

Από την άλλη μεριά, με την ανάμιξη των βενζινών με EtOH, IPA και TBA εμφανίζεται σημαντική μείωση του μικροβιακού φορτίου της υδατικής φάσης, ειδικά στην περίπτωση των μιγμάτων με IPA, όπου η δράση είναι περισσότερο ταχεία. Τα E27 μίγματα, ειδικά στην περίπτωση της SU, έδειξαν μια περίεργη συμπεριφορά και στους δύο μικρόκοσμους (CW και DW), καθώς καταγράφηκαν υψηλές συγκεντρώσεις μικροβιακού φορτίου στο τέλος της αποθήκευσης παρόλο που στην αρχή της πρώτης εβδομάδας τα αποτελέσματα έδειχναν αντίθετη συμπεριφορά. Επιπλέον, τα μίγματα E27 με τη βενζίνη U επέδειξαν μια σταθερότητα έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας από την πρώτη εβδομάδα έως το τέλος της εξεταζόμενης περιόδου. Προτείνεται περαιτέρω διερεύνηση αυτών των μιγμάτων χρησιμοποιώντας διαφορετικά είδη βενζινών έτσι ώστε να εξεταστεί εάν η σύνθεση του εκάστοτε είδους βενζίνης παίζει

ρόλο σε αυτή την συμπεριφορά. Σε αυτούς τους μικρόκοσμους το νερό που προστέθηκε ήταν αρκετό ώστε να προκαλέσει διαχωρισμό των δύο φάσεων και κατ' επέκταση της συνδιαλυτοποίηση των εν λόγω αλκοολών στις δύο φάσεις. Η “μετανάστευση” της EtOH βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη (>40%) εν συγκρίσει με αυτή της IPA (\approx 20-25%) ή της TBA (\approx 3,5%). Η συνδιαλυτοποίηση των αλκοολών στις δύο φάσεις οδήγησε αφενός στην μείωση του ποσοστού της αλκοόλης στη φάση καυσίμου αλλά αφετέρου και στην σταδιακή μείωση των επιπέδων του μικροβιακού φορτίου της υδατικής φάσης σε όλες τις περιπτώσεις εκτός των E27 μικρόκοσμων, καθώς οι παραπάνω αλκοόλες φέρονται να έχουν βιοστατική ή βιοκτόνο δράση. Όσον αφορά τους E85 μικρόκοσμους, όπου δεν υπήρξε διαχωρισμός των δύο φάσεων, παρατηρήθηκε ότι τα εν λόγω μίγματα δεν αποτελούν μεν υποστρώματα που ευνοούν την μικροβιακή δραστηριότητα αλλά ήταν μη ικανά δε στο να την αναστείλουν τουλάχιστον κατά τη χρονική διάρκεια της παρούσας μελέτης. Σε αυτού του είδους τα καύσιμα, όπως τα E85, που περιέχουν υψηλά ποσοστά αιθανόλης και απουσία διαχωρισμένης υδατικής φάσης, οι κατάλληλες πρακτικές παρακολούθησης και housekeeping θα πρέπει να προσαρμόζονται στη φύση αυτών των συστημάτων. Λόγω των αλληλεπιδράσεων της οργανικής και της υδατικής φάσης στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους παρατηρήθηκε αύξηση της περιεκτικότητας σε θείο στη φάση καυσίμου αλλά και μείωση αυτού, αντίστοιχα, στην υδατική φάση. Η ποιότητα των E85 καυσίμων επηρεάστηκε δραματικά όσον αφορά την συγκέντρωση του θείου.

Εν συντομία, σε αυτή την μελέτη παρατηρήθηκε σε γενικές γραμμές αναστολή της μικροβιακής δραστηριότητας στην υδατική φάση μικροκόσμων που περιέχουν μίγματα αμόλυβδης βενζίνης με διάφορες αλκοόλες, όπως EtOH, IPA και TBA, αν και σε μερικές περιπτώσεις ανιχνεύθηκε μικροβιακό φορτίο περιορισμένης έντασης και χρονικής διάρκειας σε μη επιμολυσμένους μικρόκοσμους. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας φαίνονται να είναι υποστηρικτικά αντίστοιχων μελετών που αφορούν στην ανασταλτική δράση των μιγμάτων της αμόλυβδης βενζίνης με αλκοόλες στην μικροβιακή δραστηριότητα.

6. Αξιολόγηση της σταθερότητας μιγμάτων ντήζελ – βιοντήζελ - βουτανόλης

6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προσθήκη βιοκαυσίμων στα συμβατικά καύσιμα προσελκύει όλο και περισσότερο ενδιαφέρον, καθώς είναι απαίτηση διεθνών οδηγιών για τη μείωση εκπομπής ρύπων. Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες παγκοσμίως προκειμένου να μειωθεί η εξάρτηση από τα συμβατικά καύσιμα πετρελαίου για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας καθώς και στα συστήματα μεταφοράς. Για τους λόγους αυτούς, υπάρχει συνεχές ενδιαφέρον για την εισαγωγή εναλλακτικών και ανανεώσιμων καυσίμων για τον έλεγχο των εκπομπών, ώστε να ικανοποιούνται οι αντίστοιχες απαιτήσεις.

Μεταξύ των προτεινόμενων βιοκαυσίμων, το βιοντήζελ θεωρείται το πιο διαδεδομένο και χρησιμοποιείται ευρέως στη μεταφορές. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, παρά τα περιβαλλοντικά οφέλη, λόγω της σύνθεσής του, το FAME είναι πιο επιρρεπές στην οξειδωση (Knothe, 2007; Karavalakis, et al., 2010) και στην βιοαποικοδόμηση από τους μικροοργανισμούς σε σύγκριση με το συμβατικό ντήζελ (Pasqualino, et al., 2006; Zhang, et al., 1998).

Από την άλλη πλευρά, οι αλκοόλες θεωρούνται, επίσης, εναλλακτικά υποκατάστατα του πετρελαϊκού ντήζελ. Σύμφωνα με προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες, έχει αναφερθεί ότι η αιθανόλη και η βουτανόλη, οι οποίες θεωρούνται ως βιο-αλκοόλες, καθώς δύνανται να προέρχονται από βιομάζα, συμβάλλουν θετικά στην μείωση των ρύπων (Lapuerta, et al., 2009; Rakopoulos, et al., 2010; Lapuerta, et al., 2008). Λόγω του γεγονότος ότι η βιο-βουτανόλη επιδεικνύει καλύτερες ικανότητες ανάμειξης με το συμβατικό πετρέλαιο θεωρείται καταλληλότερη σε σύγκριση με την αιθανόλη (Sukjit, et al., 2012; Lapuerta, et al., 2010). Επιπλέον, η βουτανόλη είναι λιγότερο βιοαποικοδομήσιμη από το βιοντήζελ και το ντήζελ, καθώς θεωρείται εξαιρετικά τοξική για τους μικροοργανισμούς λόγω των καταστροφικών επιπτώσεών τους στις κυτταρική τους μεμβράνη (Mariano, et al., 2010). Λαμβάνοντας υπόψη το τελευταίο, η παρουσία βουτανόλης σε μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ μπορεί να είναι καθοριστική σε ζητήματα που αφορούν την μικροβιακή ανάπτυξη και λαμβάνει χώρα λόγω του βιοντήζελ, που θεωρείται ευνοϊκό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Στην παρούσα μελέτη η βουτανόλη αναμίχθηκε σε συγκεντρώσεις 5 και 10% κ.ό. με συμβατικό πετρέλαιο κίνησης και βιοντήζελ εμπορικά διαθέσιμο. Βασικά χαρακτηριστικά ποιότητας, όπως η οξειδωτική σταθερότητα και η λιπαντική ικανότητα προσδιορίστηκαν, επίσης. Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα που σχετίζονται με την μικροβιακή

και οξειδωτική σταθερότητα μιγμάτων βουτανόλης – ντήζελ - βιοντήζελ είναι ελλιπή, στη μελέτη αυτή διερευνήθηκε εάν η βουτανόλη μπορεί να αναβαθμίσει τόσο την οξειδωτική όσο και την μικροβιακή σταθερότητα των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ.

6.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

6.2.1 Καύσιμα Βάσης

6.2.1.1 Συμβατικό Πετρελαϊκό Ντήζελ Κίνησης (ULSD)

Σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιήθηκε ντήζελ κίνησης, με πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε θείο (ULSD), ως καύσιμο βάσης των τελικών μιγμάτων με FAME και βουτανόλη. Το δείγμα καυσίμου ULSD είναι προϊόν ατμοσφαιρικής απόσταξης από τοπικό διωλιστήριο, από την μονάδα υδρογονοκατεργασίας, δεν περιέχει πρόσθετα και FAME. Οι ιδιότητες του καυσίμου μαζί με τις πρότυπες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό τους, παρατίθενται στον Πίνακα 6-1. Εκτός από τη λιπαντική ικανότητα, οι τιμές των υπόλοιπων ιδιοτήτων είναι εντός των ορίων που ορίζει το πρότυπο EN 590 (EN 590:2013).

Πίνακας 6-1: Ιδιότητες πετρελαϊκού ντήζελ κίνησης (ULSD).

Ιδιότητα	Μονάδες	Τιμές	EN 590 Όρια	Πρότυπες Μέθοδοι
Πυκνότητα @ 15°C	kg/m ³	825.2	820.0-845.0	EN ISO 3675
Κινηματικό Ιξώδες @ 40°C	mm ² /s	2.593	2.00-4.50	EN ISO 3104
Περιεχόμενο Θείο	mg/kg	8.0	Μέγ. 8.0	EN ISO 20846
Σημείο Ανάφλεξης	°C	67	Ελάχ. 55	EN ISO 2719
Περιεκτικότητα σε Νερό Απόσταξη	mg/kg	60	Μέγ. 200	EN ISO 12937
Ανάκτηση στους 250 °C	% v/v	34.3	<65	EN ISO 3405
Ανάκτηση στους 350 °C		94.4	>85	
95% v/v ανάκτηση	°C	352.2	Μέγ. 360	
CFPP	°C	-7	5	EN 116
Δείκτης Κετανίου	-	56.8	Ελάχ. 46	EN ISO 4264
Αριθμός Κετανίου	-	53.3	Ελάχ. 51	ASTM D7170
Λιπαντική Ικανότητα	μm	598	Μέγ. 460	EN ISO 12156-1
Διάβρωση Χάλκινου Ελάσματος (3 h @ 50 °C)	Κλάση	1a	1	EN ISO 2160

6.2.1.2 Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME)

Σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιήθηκε ένα εμπορικά διαθέσιμο FAME που ελήφθη από ελληνική εταιρεία παραγωγής βιοντήζελ. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες και το προφίλ του FAME προσδιορίστηκαν σύμφωνα με το πρότυπο EN14214 (EN 14214:2014) και παρουσιάζονται στους Πίνακες 6-2 και 6-3, αντίστοιχα.

Πίνακας 6-2: Φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος FAME.

Ιδιότητα	Μονάδες	FAME	EN 14214 Όρια	Πρότυπη Μέθοδος
Περιεκτικότητα σε εστέρες	% m/m	98.4	min 96.5	EN 14103
Πυκνότητα @ 15°C	kg/m ³	884.9	860-900	EN ISO 12185
Κιν. Ιξώδες @ 40°C	mm ² /s	4.194	3.50-5.00	EN ISO 3104
Περιεχόμενο θείο	mg /kg	4.2	max 10.0	EN ISO 20846
Οξειδωτική Σταθερότητα	h	16.1	min 8	EN 14112
Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου (CFPP)	°C	-2	5	EN 116
Περιεκτικότητα σε Εστέρες Λινολενικού Οξέους	% m/m	6.26	max 12.0	EN 14103
Περιεκτικότητα σε Νερό	mg/kg	270	max 500	EN ISO 12937
Αριθμός Οξύτητας	mg KOH/g	0.39	max 0.50	EN 14104
Μονογλυκερίδια	% m/m	0.07	max 0.70	EN 14105
Διγλυκερίδια	% m/m	0.112	max 0.20	EN 14105
Τριγλυκερίδια	% m/m	0.066	max 0.20	EN 14105
Ελεύθερη γλυκερόλη	% m/m	0.0007	max 0.02	EN 14106
Συνολική γλυκερόλη	% m/m	0.049	max 0.25	EN 14105

Πίνακας 6-3: Προφίλ λιπαρών οξέων του εξεταζόμενου FAME.

Προφίλ Λιπαρών Οξέων	% κ.β.	
Παλμιτικό	C16:0	10.51
Παλμιτολεϊκό	C16:1	0.13
Στεατικό	C18:0	4.81
Ολεϊκό	C18:1	25.17
Λινελαϊκό	C18:2	50.54
Λινολενικό	C18:3	6.26
Αραχιδονικό	C20:0	0.42
Γαδελαιϊκό	C20:1	0.25

6.2.1.3 Βουτανόλη

Η βουτανόλη ελήφθη από την Acros Organics με τα εξής χαρακτηριστικά: καθαρότητα > 99.4% κ.β., πυκνότητα: 810.0 kg/m³, και με περιεκτικότητα σε νερό έως και 0.1% κ.ό. και χρησιμοποιήθηκε ως συστατικό ανάμειξης για τα τελικά παρασκευασμένα μίγματα με FAME και ULSD σε συγκεντρώσεις 5 και 10% κ.ό.

6.2.2 Μεθοδολογία

Το καύσιμο βάσης ULSD αναμίχθηκε με ένα εμπορικό FAME και βουτανόλη σε συγκεντρώσεις μέχρι 20% κ.ό. και 10% κ.ό., αντίστοιχα. Τα μίγματα που παρασκευάστηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 6-4. Οι βασικές ιδιότητες ποιότητας όπως πυκνότητα, ιξώδες, περιεκτικότητα σε θείο, CFPP και περιεκτικότητα σε νερό των μιγμάτων, προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους που προτείνονται από το

πρότυπο EN 590. Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν για να αξιολογηθούν τυχόν αλλαγές στις αντίστοιχες ιδιότητες του βασικού καυσίμου (ULSD) λόγω εισαγωγής των FAME και βουτανόλη. Επίσης, προσδιορίστηκαν η οξειδωτική σταθερότητα και η λιπαντική ικανότητα των τελικών μιγμάτων.

Επιπλέον, αξιολογήθηκε η ανασταλτική επίδραση της βουτανόλης έναντι του πολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών στα τριαδικά μίγματα και συγκρίθηκε αντιστοίχως με την μικροβιακή σταθερότητα των μιγμάτων ULSD και FAME - B7 και B20. Αρχικά, τα τριαδικά μίγματα εξετάστηκαν αναφορικά με την ικανότητά τους να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό ενός συγκεκριμένου μικροοργανισμού ενώ στη δεύτερη φάση της μελέτης προετοιμάστηκαν εις διπλούν προσομοιασμένοι εργαστηριακοί μικρόκοσμοι που περιείχαν επιμολυσμένη υδατική φάση γνωστού μικροβιακού φορτίου. Η επιμολυσμένη υδατική φάση παρασκευάστηκε σύμφωνα με το πρότυπο ASTM E1259 (*ASTM E1259, 2018*) από νερό του ελήφθησε από τον πυθμένα δεξαμενής ντήζελ κίνησης πρατηρίου υγρών καυσίμων. Κάθε μικρόκοσμος αποτελείται από 500 ml φάσης καυσίμου και 50 ml της μολυσμένης υδατικής φάσης και αποθηκεύτηκε σε αποστειρωμένο γυάλινο δοχείο για 1 εβδομάδα υπό σταθερές συνθήκες. Οι δειγματοληψίες για την εξέταση της εξέλιξης του μικροβιακού φορτίου πραγματοποιήθηκαν από την υδατική φάση του εκάστοτε μικρόκοσμου σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, ήτοι μετά από 3 ημέρες και στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης. Ο προσδιορισμός της μικροβιακής δραστηριότητας διενεργήθηκε σύμφωνα με το πρότυπο ASTM D7687-11 (*ASTM D7687-11, 2011*).

Πίνακας 6-4: Σύνθεση των υπό εξέταση μιγμάτων καυσίμων.

Σύνθεση των Μιγμάτων	ULSD (% κ.ό.)	FAME (% κ.ό.)	Βουτανόλη (% κ.ό.)
B7	93	7	-
B20	80	20	-
Bu5	95	-	5
Bu10	90	-	10
B7Bu5	88	7	5
B7Bu10	83	7	10
B20Bu5	75	20	5
B20Bu10	70	20	10

6.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.3.1 Σταθερότητα Ανάμειξης

Αρχικά, εξετάστηκε η σταθερότητα ανάμειξης των εξεταζόμενων μιγμάτων με βουτανόλη σε συγκεντρώσεις των 5 και 10% κ.ό. Τα μίγματα δεν επέδειξαν τάση για διαχωρισμό, κάτι το οποίο είναι σε

συμφωνία με προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες (Chotwichien, et al., 2009; Lapuerta, et al., 2010; Sukjit, et al., 2012). Συνεπώς, τα εξεταζόμενα μίγματα παρουσίασαν καλή σταθερότητα και δεν υπήρξε ανάγκη προσθήκης σταθεροποιητικού προσθέτου.

6.3.2 Ιδιότητες των μιγμάτων

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 6-5, η προσθήκη των FAME και βουτανόλης επηρέασε ελαφρώς την πυκνότητα, το κινηματικό ιξώδες και την περιεκτικότητα σε θείο ενώ οι τιμές CFPP παρέμειναν ανεπηρέαστες. Παρά το γεγονός ότι οι αλκοόλες έχουν καλή συμπεριφορά στις χαμηλές θερμοκρασίες, σε αυτή την περίπτωση δεν παρατηρήθηκε ταπείνωση της ιδιότητας CFPP με την εισαγωγή της βουτανόλης τουλάχιστον στις συγκεντρώσεις 5 και 10% κ.ό. Οι (Lapuerta, et al., 2010) παρατήρησαν ότι η προσθήκη των αλκοολών δεν μειώνει το CFPP, αν η περιεκτικότητά της δεν ξεπερνάει τον μισό όγκο του δείγματος, ενώ ο A. Atmanli (Atmanli, 2016) υποστήριξε ότι η εισαγωγή βουτανόλης κατά 20% κ.ό. σε μείγμα ντήζελ/βιοντήζελ (40%v/v ντήζελ - 40%v/v βιοντήζελ) βελτίωσε τις ψυχρές ιδιότητες των μιγμάτων.

Πίνακας 6-5: Βασικές ιδιότητες ποιότητας των μιγμάτων ULSD/FAME /βουτανόλης.

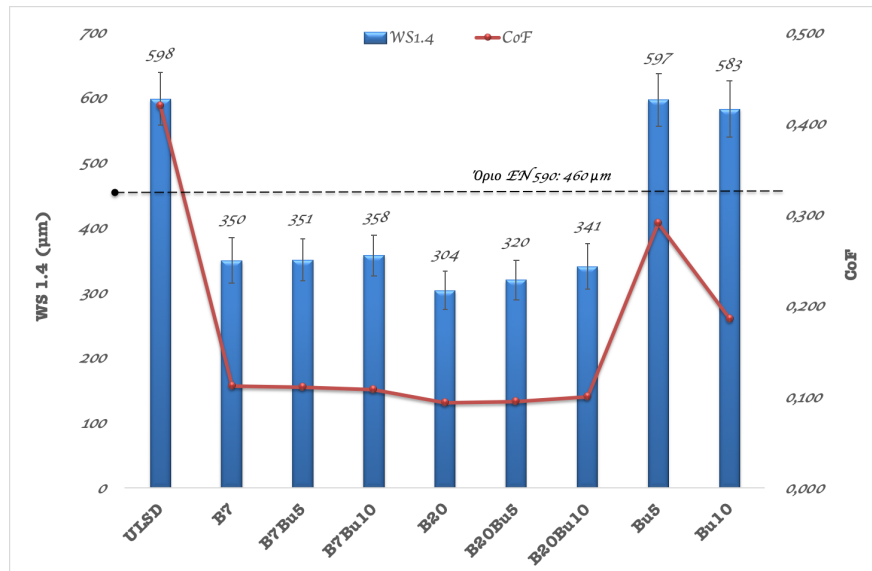
Ιδιότητα	Πυκνότητα (kg/m ³)	Κιν. Ιξώδες (mm ² /s)	Περιεχόμενο Θείο (mg/kg)	CFPP (°C)
B7	829.5	2.668	7.7	-8
B20	836.9	2.816	7.2	-7
Bu5	824.2	2.409	7.6	-7
Bu10	823.1	2.332	7.2	-7
B7Bu5	828.1	2.488	7.4	-7
B7Bu10	827.4	2.422	7.0	-6
B20Bu5	834.8	2.549	7.1	-6
B20Bu10	835.6	2.631	6.4	-8

6.3.3 Λιπαντική Ικανότητα

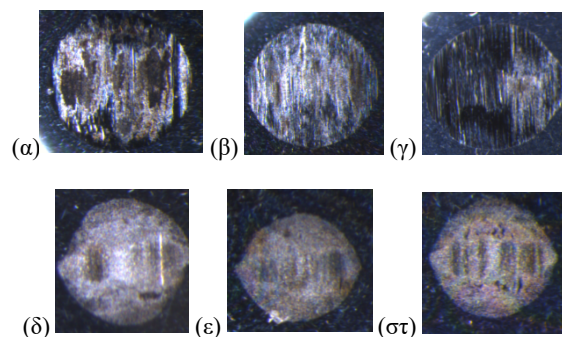
Μια άλλη σημαντική ιδιότητα των υπό εξέταση μιγμάτων είναι η λιπαντική ικανότητα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο Σχήμα 6-1, η βουτανόλη δεν μπορεί να ενισχύσει τις λιπαντικές ιδιότητες του ULSD, καθώς οι τιμές των μέσων διαμέτρων φθοράς των μιγμάτων μόνο με βουτανόλη - Bu5 και Bu10 - βρέθηκαν υψηλότερες από το ανώτερο όριο που ορίζει το EN590, ήτοι τα 460 μm. Με

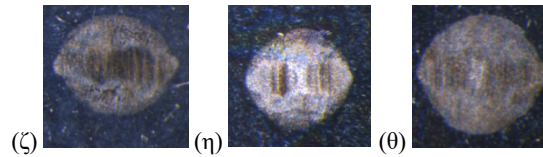
βάση και τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών (Lapuerta, et al., 2010; Wadumesthrige, et al., 2010) , γενικά η προσθήκη της βουτανόλης στο πετρελαικό ντήζελ κίνησης είχε ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση της λιπαντικής του ικανότητας. Ωστόσο, όταν η υποκατάσταση του ντήζελ από τη βουτανόλη περιορίζεται στο 25% κ.ό., η λιπαντική ικανότητα του μίγματος ικανοποιεί την ελάχιστη απαίτηση του πρότυπου EN 590.

Αντιθέτως, η εισαγωγή του FAME συνείσφερε άνω του 40% στη βελτίωση των λιπαντικών ιδιοτήτων όλων των εξεταζόμενων μιγμάτων αντισταθμίζοντας την αρνητική επίδραση της βουτανόλης και του ULSD. Όλα τα μίγματα που περιέχουν FAME σε συγκεντρώσεις 7 και 20% κ.ό. πληρούν την αντίστοιχη προδιαγραφή του προτύπου EN 590. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η λιπαντική ικανότητα ενισχύεται αυξάνοντας την περιεκτικότητα του FAME στα τριαδικά μίγματα ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση της βουτανόλης, όπως επαληθεύεται και από προηγούμενη μελέτη (Anastopoulos, et al., 2001). Στην Εικόνα 6-1 απεικονίζονται οι φθορές στο τέλος των δοκιμών βάσει της μεθόδου ISO 12156-1.



Σχήμα 6-1: Λιπαντική ικανότητα των υπό εξέταση καυσίμων και μιγμάτων.



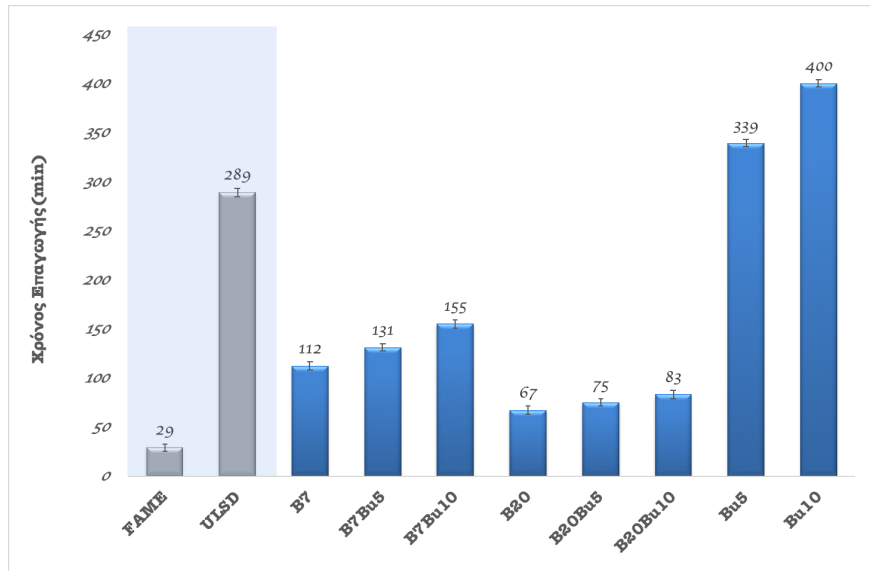


Εικόνα 6-1: Απεικόνιση της φθοράς των εξεταζόμενων καυσίμων και μιγμάτων βάσει της μεθόδου ISO 12156-1, όπως ελήφθησαν από το μικροσκόπιο: (α) ULSD, (β) Bu5, (γ) Bu10, (δ) B7 (ε) B7Bu5, (στ) B7Bu10, (ζ) B20, (η) B20Bu5, (θ) B20Bu10.

6.3.4 Οξειδωτική σταθερότητα

Οι μετρήσεις για τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με την μέθοδο RSSOT και παρουσιάζονται στο Σχήμα 6-2. Σε όλες τις περιπτώσεις η βουτανόλη αναστέλλει την υποβάθμιση λόγω της διαδικασίας οξείδωσης. Συγκεκριμένα, ο χρόνος επαγωγής αυξήθηκε σχεδόν κατά 17 και 38% στα μίγματα Bu5 και Bu10, αντίστοιχα, σε σχέση με αυτό του καυσίμου βάσης. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε, επίσης, στα μίγματα B7Bu5 και B7Bu10 εν συγκρίσει, αντίστοιχα, με το μείγμα B7. Τα μίγματα B20 βρέθηκαν να είναι πιο επιρρεπή στην οξείδωση από ότι τα B7, όπου το ίδιο φαινόμενο παρατηρήθηκε και στα τριαδικά μίγματα με βουτανόλη, η οποία δεν κατάφερε να ανακάμψει την αρνητική επίδραση του FAME. Ο χρόνος επαγωγής του B20 βρέθηκε να είναι κατά 77% χαμηλότερος σε σύγκριση με αυτό του αρχικού καυσίμου ενώ παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στα B20 τριαδικά μίγματα.

Η μείωση του χρόνου επαγωγής (DIP%) που καταγράφηκε στο εκάστοτε μείγμα λόγω της προσθήκης του FAME και υπολογίστηκε βάσει της αρχικής οξειδωτικής σταθερότητας του πετρελαϊκού καυσίμου ντήζελ κίνησης παρουσιάζεται στον Πίνακα 6-6. Η ποσοστιαία μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας προσδιορίστηκε, επίσης, στα μίγματα B7Bu5, B20Bu5 και B7Bu10, B20Bu10, και συγκρίθηκε με αυτή των αντίστοιχων δυαδικών μιγμάτων Bu5 και Bu10. Γενικότερα παρατηρήθηκε ότι το FAME επιταχύνει την οξειδωτική διαδικασία και μάλιστα η υψηλότερη περιεκτικότητα FAME συνοδεύεται από χαμηλότερες περιόδους επαγωγής ανεξάρτητα της περιεκτικότητας σε αλκοόλη. Αυτά τα ευρήματα βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχα διαθέσιμων ερευνών (Knothe, 2007; Karavalakis, et al., 2010) όσον αφορά στην υποβάθμιση της οξειδωτικής σταθερότητας των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ.



Σχήμα 6-2: Οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων και των καθαρών καυσίμων σύμφωνα με την RSSOT μέθοδο.

Πίνακας 6-6: Ποσοστιαία μείωση του χρόνου επαγωγής (% ΔIP) των τριαδικών μιγμάτων εν συγκρίσει αυτού των ULSD και των μιγμάτων Bu5, Bu10.

Μίγματα	ΔIP _{ULSD} (%)	ΔIP _{Bu5} (%)	ΔIP _{Bu10} (%)
B7	61	-	-
B7Bu5	55	61	-
B7Bu10	46	-	61
B20	77	-	-
B20Bu5	74	78	-
B20Bu10	71	-	79











6.3.5 Μικροβιακή Σταθερότητα

6.3.5.1 Προκαταρκτική εξέταση της μικροβιακής σταθερότητας

Τα αποτελέσματα από την προκαταρκτική εξέταση για την ανασταλτική δράση της βουτανόλης έναντι του πολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών παρουσιάζονται στον Πίνακα 6-7. Για κάθε μέτρηση αντιστοιχεί μια εικόνα που απεικονίζει το χρώμα της αμπούλας κατά το πέρας της επώασης. Το σύμβολο "+" υποδηλώνει την ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη του βακίλου, ενώ το σύμβολο "-" υποδηλώνει ότι το εξεταζόμενο δείγμα δεν είναι ικανό να καταστείλει την ανάπτυξη του βακτηρίου. Αρχικά, επώαστηκαν τα αμιγή καύσιμα, FAME και ULSD, όπου και στα δυο η ανάπτυξη του βακίλου δεν περιορίστηκε. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι οποιαδήποτε αλλαγή παρατηρηθεί στα τριαδικά μίγματα, θα αποδοθεί στην παρουσία της βουτανόλης. Όπως αναμενόταν, όλα τα μίγματα ντήζελ / βιοντήζελ δεν αποδείχθηκαν περιοριστικά υποστρώματα στην βακτηριακή ανάπτυξη ενώ όλα τα τριαδικά μίγματα που περιείχαν

βουτανόλη ήταν σε θέση να την αναστείλουν. Θα πρέπει, επίσης, να σημειωθεί ότι η αντιμικροβιακή δράση της εξεταζόμενης αλκοόλης φαίνεται να είναι ανεπηρέαστη από το διαφορετική περιεκτικότητα ανάμιξης του FAME.

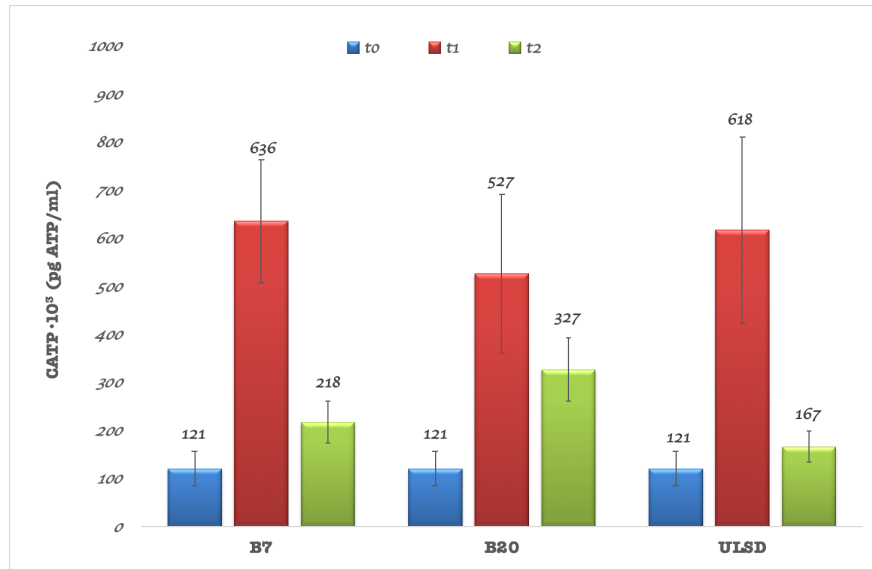
Πίνακας 6-7: Αρχικός έλεγχος της αντιμικροβιακής δράσης των μιγμάτων n-βουτανόλης.

Καύσιμα		Μίγματα		
		Βουτανόλη		
% κ.ό.		0	5	10
FAME 	0	ULSD	Bu5	Bu10
		-	+	+
				
	7	B7	B7Bu5	B7Bu10
		-	+	+
				
	20	B20	B20Bu5	B20Bu10
		-	+	+
				

6.3.5.2 Μικροβιακή Σταθερότητα σε Προσομοιασμένους Επιμολυσμένους Μικρόκοσμους

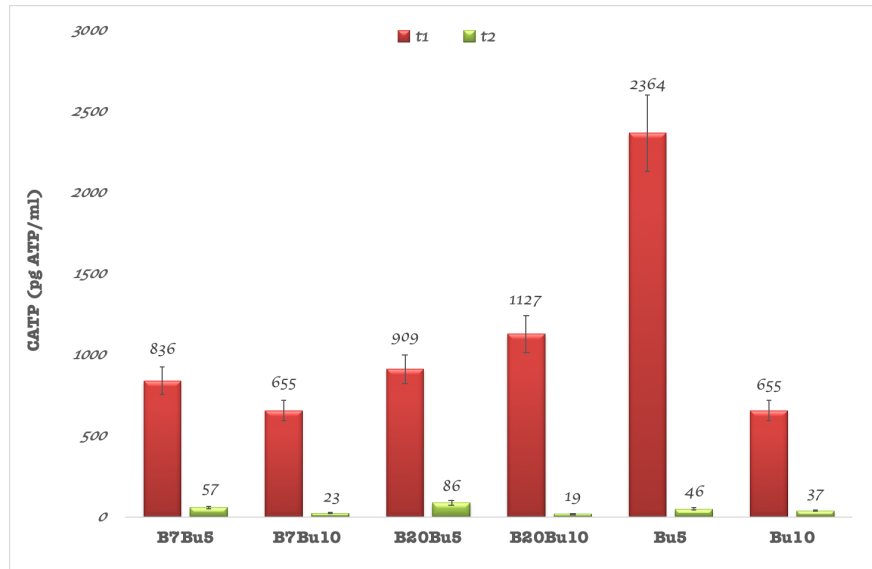
Στο δεύτερο μέρος της παρούσας μελέτης, εξετάστηκε κατά πόσο βουτανόλη είναι ικανή να περιορίσει τον πολλαπλασιασμό του ενεργού μικροβιακού φορτίου της υδατικής φάσης επιμολυσμένων μικρόκοσμων. Η δράση της έναντι στην μικροβιακή δραστηριότητα συγκρίθηκε με αυτή του αμιγούς καυσίμου βάσης (ULSD), καθώς των μιγμάτων του με FAME, B7 και B20. Στην αρχή της περιόδου αποθήκευσης (t0) η συγκέντρωση ATP του αρχικού μικροβιακού φορτίου, ακριβώς πριν την επιμόλυνση των υπό εξέταση καυσίμων, βρέθηκε ίση με 121091 pg ATP/ml.

Η εξέλιξη της μικροβιακής ανάπτυξης στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους των B7, B20 και ULSD απεικονίζεται στο Σχήμα 6-3. Στη t1 (μετά από τρεις ημέρες) η συγκέντρωση ATP της υδατικής φάσης στους B7 μικρόκοσμους ήταν 3 φορές μεγαλύτερη, ενώ στο B20 και το ULSD η αύξηση ήταν ακόμη υψηλότερη, και το ενεργό μικροβιακό φορτίο βρέθηκε να είναι περίπου 4 και 5 φορές, αντίστοιχα, μεγαλύτερο από το αρχικό. Στη t3 η μικροβιακή δραστηριότητα βρέθηκε μικρότερη σε όλες τις περιπτώσεις σε σχέση με αυτή που ανιχνεύτηκε μετά από τις 3 ημέρες επώασης (t2), ειδικότερα στην περίπτωση του ULSD. Τελικά, στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, το μικροβιακό φορτίο βρέθηκε να είναι διπλάσιο και τριπλάσιο στα μίγματα B7 και B20, αντίστοιχα, ενώ εν τέλει παρόμοιο βρέθηκε στην περίπτωση του ULSD. Όπως αναμενόταν, το FAME φέρεται ως ένα ευνοϊκό υπόστρωμα για τους μικροοργανισμούς και ενθαρρύνει τη ανάπτυξη τους, όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες (Dodds, et al., 2013; Dodds, et al., 2012; Schleicher, 2009).



Σχήμα 6-3: Συγκέντρωση ATP ($c_{ATP} \times 10^3$) της υδατικής φάσης των επιμολυσμένων μικρόκοσμων B7, B20 και ULSD.

Τα αποτελέσματα της εξέλιξης του μικροβιακού φορτίου των τριαδικών μιγμάτων απεικονίζονται στο Σχήμα 6-4. Είναι εμφανές ότι η παρουσία της βουτανόλης συνέβαλε στην καταστολή της μικροβιακής δραστηριότητας στην υδατική φάση όλων των ειδών των μικρόκοσμων. Σύμφωνα με το Σχήμα 6-4, το μικροβιακό φορτίο μόλις κατά την τρίτη μέρα της επώασης έχει περιοριστεί αποτελεσματικά σε σχέση με το αρχικό ενώ και μετά από μία εβδομάδα αποθήκευσης η μικροβιακή δραστηριότητα που ανιχνεύθηκε θεωρείται αμελητέα σε όλες τις περιπτώσεις. Η βουτανόλη πιθανόν δημιουργεί ένα τοξικό περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς, και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό τους ανεξάρτητα από την παρουσία του FAME, που θεωρείται ευνοϊκότερο και λιγότερο τοξικό υπόστρωμα (Zhang, *et al.*, 1998; Pasqualino, *et al.*, 2006). Παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά την ικανότητα της βουτανόλης να περιορίσει τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών παρατηρήθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο σε μίγματα βενζίνης με τριτοταγή βουτανόλη (TBA). Σε αυτά τα μίγματα, η TBA επέδειξε ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι του μικροβιακού πολλαπλασιασμού έπειτα από 3 και 7 ημέρες της επώασης (Dodos, *et al.*, 2017).



Σχήμα 6-4: Συγκέντρωση ATP (c_{ATP}) της υδατικής φάσης των επιμολυσμένων μικρόκοσμων των τριαδικών μιγμάτων.

Επιπλέον, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, είναι σύμφωνα και με τα αποτελέσματα μελέτης που σχετίζεται με τη βιοαποικοδομησιμότητα των μιγμάτων βουτανόλης/ντήζελ συγκρινόμενη με αυτή των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ. Στη μελέτη αυτή, οι Mariano κλπ. υποστήριξε ότι η παρουσία βουτανόλης στο ντήζελ κίνησης σε συγκεντρώσεις από 5 έως 20% έχει αρνητική επίπτωση στη βιοαποικοδόμησή του σε αντίθεση με το μείγμα B20 ντήζελ/βιοντήζελ που ήταν εύκολα βιοαποικοδομήσιμο (Mariano, *et al.*, 2010).

Συνολικά, η παρουσία της βουτανόλης στις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις κατέδειξε ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι του μικροβιακού πολλαπλασιασμού όλων των επιμολυσμένων μικρόκοσμων. Η μικροβιακή δραστηριότητα στις υδατικές φάσεις των μιγμάτων που περιείχαν τη βουτανόλη ουσιαστικά καταστέλλεται μόλις μετά από 3 ημέρες αποθήκευσης, και σχεδόν εξαλείφεται στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης (1 εβδομάδα) ανεξάρτητα από το περιεχόμενο ποσοστό FAME. Όπως αναμενόταν, τα μίγματα B7 και B20 βρέθηκαν πιο ευάλωτα στην ανάπτυξη μικροβίων σε σύγκριση με τα μίγματα βουτανόλης – ντήζελ κίνησης.

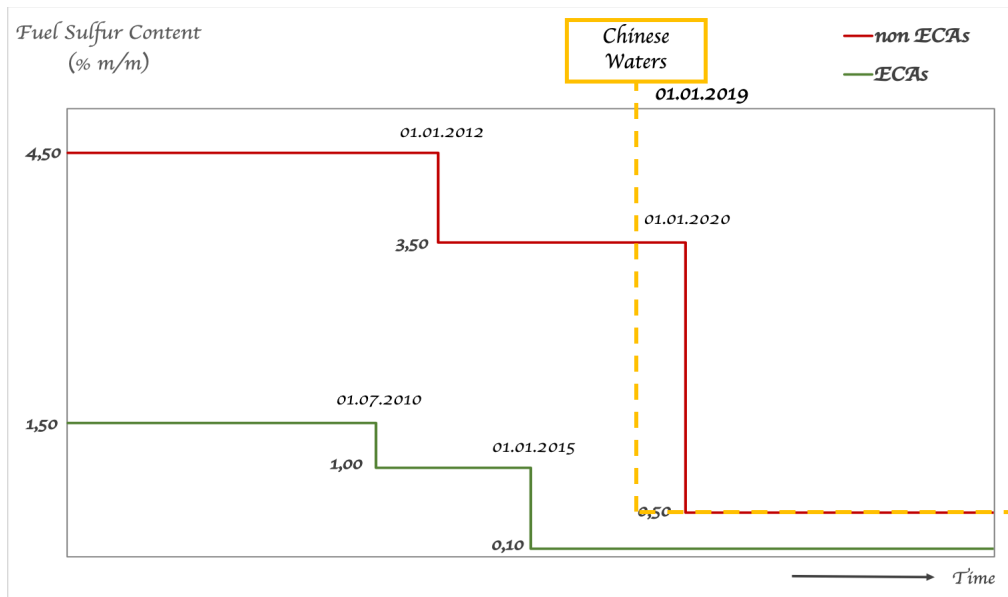
7. Επίπτωση προσθήκης ανανεώσιμων υποκατάστατων στη σταθερότητα των ναυτιλιακών καυσίμων

7.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι θαλάσσιες μεταφορές παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στο διεθνές εμπόριο, καθώς η ναυτιλία μεταφέρει το 90% των παγκοσμίως παραγόμενων προϊόντων, λόγω των χαμηλών ναύλων της. Όμως παρόλα τα οικονομικά πλεονεκτήματά της, δεν παύει να αποτελεί μία συνεχώς αυξανόμενη πηγή εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου. Συγκεκριμένα, οι εκπομπές ρύπων από τα θαλάσσια μέσα μεταφοράς, οι οποίοι ανέρχονται στους ένα δισεκατομμύριο τόνους CO₂ ετησίως, συντελούν κατά 2.5% επί της παγκοσμίως παραγομένης ποσότητας αερίων θερμοκηπίου. Μάλιστα, οι εκπομπές ρύπων των πλοίων αναμένεται να παρουσιάσουν αύξηση σε ποσοστό από 50% έως και 250% έως το 2050, σε αντιστοιχία με τις προσδοκίες της οικονομικής και βιομηχανικής ανάπτυξης παγκοσμίως (Smith, et al., 2015).

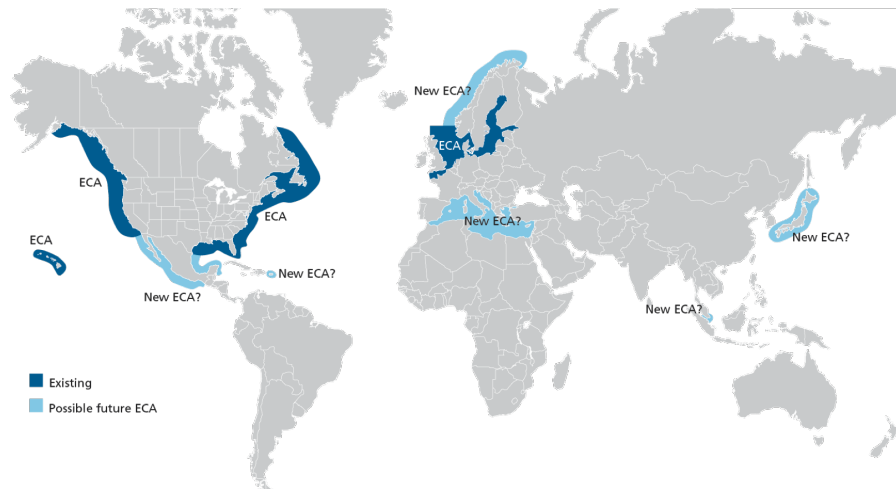
Γίνεται, λοιπόν, αντιληπτό γιατί ένας από τους σημαντικότερους στόχους τόσο του Διεθνούς Οργανισμού Ναυτιλίας (IMO) όσο και της Ε.Ε. για την ναυτιλία είναι ο περιορισμός των εκπομπών. Ήδη απ το 1960, ο IMO εργάζεται πάνω στο θέμα της μείωσης των βλαβερών επιπτώσεων της ναυτιλίας. Το Παράρτημα VI της σύμβασης MARPOL για την αντιμετώπιση της ατμοσφαιρικής ρύπανσης από την ναυτιλία, εγκρίθηκε το 1997 και τέθηκε σε εφαρμογή στις 19 Μαΐου 2005 (*Annex, V. I. of MARPOL 73/78, 1997*). Μία αναθεωρημένη έκδοση του παραρτήματος VI με ενισχυμένες απαιτήσεις εγκρίθηκε τον Οκτώβριο του 2008 και τέθηκε σε ισχύ την 1η Ιουλίου 2010 (*Revised Marpol Annex VI, 2008*).

Οι κυριότερες αλλαγές στο παράρτημα VI της σύμβασης MARPOL είχαν ως στόχο την προοδευτική μείωση σε παγκόσμιο επίπεδο των εκπομπών SO_x, NO_x καθώς και την καθιέρωση περιοχών ελέγχου των εκπομπών (Emission Control Areas) για την περαιτέρω μείωση των εκπομπών των εν λόγω ατμοσφαιρικών ρύπων σε καθορισμένες θαλάσσιες περιοχές. Προς αυτήν την κατεύθυνση των ολοένα και πιο αυστηρών ελέγχων στις εκπομπές, κατά τη διάρκεια της συνόδου MEPC 70 (Marine Environment Protection Committee) του Διεθνούς Ναυτιλιακού Οργανισμού, αποφασίστηκε να οριστεί η 1η Ιανουαρίου του 2020 ως ημερομηνία καθολικής εφαρμογής της χρήσης πετρελαίου με περιεκτικότητα σε θείο 0,5% κατά μάζα ως καύσιμο από 3,5 % που ισχύει σήμερα, για όλα τα πλοία που θα ταξιδεύουν σε θαλάσσιες περιοχές εκτός των περιοχών ECAs. Στις περιοχές ECAs, θα συνεχίσει να εφαρμόζεται το όριο των 0.10% κατά μάζα που ισχύει από την 1η Ιανουαρίου 2015. Η εξέλιξη των επιτρεπόμενων ορίων περιεκτικότητας σε θείο των ναυτιλιακών καυσίμων σύμφωνα με MARPOL Annex VI παρουσιάζεται στην Εικόνα 7-1.



Εικόνα 7-1: Επιτρεπόμενα όρια θείου σύμφωνα με το VI Παράρτημα της MARPOL.

Μέχρι τώρα υπάρχουν τέσσερις εγκεκριμένες περιοχές ECAs και περιλαμβάνουν την Βαλτική θάλασσα, την Βόρειο θάλασσα, μια ζώνη 200 ναυτικών μιλίων από τις ανατολικές και δυτικές ακτές των ΗΠΑ και του Καναδά (συμπεριλαμβανομένης της Χαβάης, της πλωτής οδού Σεν Λόρενς και της περιοχής των μεγάλων λιμνών) καθώς την περιοχή της Καραϊβικής θάλασσας που ανήκει στις ΗΠΑ όπως φαίνεται στην Εικόνα 7-2.



Εικόνα 7-2: Εγκεκριμένες περιοχές ECAs (DNV Report, Joint Industry Project, 2013).

Η σημαντική αυτή μείωση της περιεκτικότητας σε θείο των καυσίμων των πλοίων, από το παγκοσμίως καθορισμένο όριο των 3.5% m/m, αποτελεί ένα σημαντικό ορόσημο που δημιουργεί όμως και σημαντικά προβλήματα στην ναυτιλιακή βιομηχανία. Το υψηλής περιεκτικότητας σε θείο πετρέλαιο που είναι ευρέως

διαθέσιμο και παρουσιάζει το πλεονέκτημα της χαμηλής τιμής, θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί, αλλά θα πρέπει να συνδυάζεται με την χρήση ενός συστήματος καθαρισμού των καυσαερίων (exhaust gas cleaning systems) γνωστά και ως scrubbers. Είναι μία λύση που εμπεριέχει υψηλό κόστος εγκατάστασης (κυμαινόμενο μεταξύ 3 και 10 εκατομμυρίων δολαρίων, αναλόγως μεγέθους και τύπου πλοίου) και αμφίβολη προοπτική απόσβεσης του κόστους για ένα μέσης προς προχωρημένης ηλικίας πλοίο. Αντίθετα, μολονότι πετρέλαιο χαμηλής περιεκτικότητας σε θείο (LSMGO) καθώς και άλλοι τύποι καύσιμου θα παρέχονται στην αγορά, το κόστος τους θα είναι υψηλό και η διαθεσιμότητα τους ανά την υφήλιο περιορισμένη. Δεδομένου, ότι η αύξηση της παραγωγής ναυτιλιακού πετρελαίου χαμηλής περιεκτικότητας σε θείο θα καθυστερήσει, λόγω της μη ύπαρξης ακόμα των κατάλληλων διυλιστηριακών εγκαταστάσεων, εξετάζεται η προσθήκη βιοκαυσίμων (π.χ. βιοντήζελ) ή και άλλων εναλλακτικών καυσίμων που περιέχουν χαμηλό θείο στα ήδη υπάρχοντα καύσιμα ναυτιλίας. Σκοπός, η προσφορά στην αγορά ενός καυσίμου, με ανταγωνιστική τιμή, που θα εναρμονίζεται με τις απαιτήσεις των νέων κανονισμών.

Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων γνωστοί και ως FAME (Fatty Acid Methyl Esters) είναι το πιο κοινό χρησιμοποιούμενο εναλλακτικό υποκατάστατο στο τομέα της αυτοκίνησης ως σημαντικό συστατικό του συμβατικού ντήζελ. Το FAME, μέχρι και πρόσφατα, δεν θεωρούνταν ως αναμίξιμο συστατικό στα ναυτιλιακά καύσιμα. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με το ISO 8217:2010/2012 τα ναυτιλιακά καύσιμα δεν έπρεπε να περιέχουν βιοντήζελ περισσότερο από “de minimis levels”, δηλαδή λιγότερο από 0,1 % κ.ό. Όμως λόγω της αύξησης της ζήτησης για ναυτιλιακά καύσιμα με περιεχόμενο θείο όχι πάνω από 0,1 % κ.β. λόγω ρυθμιστικών απαιτήσεων, η έκτη έκδοση του ISO 8217 η οποία τέθηκε σε εφαρμογή από τις αρχές του 2017, περιλαμβάνει πρόσθετες διευκρινίσεις για διάφορους τύπους ναυτιλιακών καυσίμων που περιέχουν FAME μέχρι 7% κ.ό. (DF grades –Distillate FAME). Εξαιρούμενης της προσθήκης FAME έως 7% κ.ό. οι νέοι τύποι ναυτιλιακών καυσίμων DFA, DFZ, DFB είναι ακριβώς ίδιοι με τα κοινά ναυτιλιακά καύσιμα DMA, DMZ, DMB ως προς τις υπόλοιπες παραμέτρους. Επιπλέον, εκτός από το βιοντήζελ, η νέα έκδοση ISO αναφέρεται και στη χρήση εναλλακτικών καυσίμων, όπως τα HVO και GTL.

Σύμφωνα με την 6^η έκδοση ISO 8217 σχετικά με την εισαγωγή του βιοντήζελ στα ναυτιλιακά αποστάγματα και λαμβάνοντας υπόψη τα προβλήματα που προκύπτουν από την υποκατάσταση του συμβατικού ντήζελ με βιοντήζελ, κρίνεται σκόπιμο να μελετηθεί η επίδραση της προσθήκης 7% v/v του βιοντήζελ στις ιδιότητες και στη σταθερότητα των ναυτιλιακών καυσίμων. Από την μέχρι τώρα εμπειρία, η προσθήκη FAME στο ντήζελ επηρεάζει την μικροβιακή σταθερότητα του καυσίμου καθώς έχουν αναφερθεί πολλά περιστατικά μικροβιακής επιμόλυνσης. Συγκεκριμένα, βάσει προηγούμενης μελέτης τα ναυτιλιακά καύσιμα που περιέχουν FAME είναι πιο πιθανό να περιέχουν ζώντες μικροοργανισμούς εν συγκρίσει αυτών απουσία FAME (Hill, et al., 2015).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ναυτιλία έρχεται αντιμέτωπη με νέες προκλήσεις μετά την εισαγωγή των εναλλακτικών και ανανεώσιμων καυσίμων και κρίνεται ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα η διερεύνηση της επίδρασης αυτών στις ιδιότητες και στη σταθερότητα των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων. Στην παρούσα έρευνα αξιολογήθηκε η σταθερότητα - μικροβιακή και οξειδωτική - δύο συμβατικών ναυτιλιακών αποσταγμάτων έπειτα από την ανάμιξή τους με ανανεώσιμα υποκατάστατα – FAME, HVO, GTL – σε συνθήκες αποθήκευσης 7 εβδομάδων. Εξετάστηκαν, επίσης, βασικές ποιοτικές παράμετροι των καυσίμων και των μιγμάτων αυτών με τα ανανεώσιμα υποκατάστατα.

7.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

7.2.1 Συμβατικά Καύσιμα βάσης

Σε αυτήν την μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ως καύσιμα βάσης δύο ναυτιλιακά gasoils (MGO) τα οποία προμηθεύτηκαν από τοπικά διυλιστήρια. Οι βασικές φυσικοχημικές τους ιδιότητες, καθώς επίσης και οι πρότυπες μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό τους, παρουσιάζονται στον Πίνακα 7-1.

Τα καύσιμα βάσης BF₁ και BF₂ είναι δύο ναυτιλιακά αποστάγματα, τα οποία είναι έτοιμα προς εμπορική διάθεση και ως εκ τούτου οι ιδιότητές του ακολουθούν τις προδιαγραφές που προστάζει το ISO 8217. Τα δύο εν λόγω καύσιμα βάσης, τα οποία είναι αντιπροσωπευτικά της αγοράς, επελέγησαν γιατί διαφέρουν σημαντικά ως προς δύο βασικές ιδιότητες, ήτοι η οξειδωτική σταθερότητα και οι ιδιότητες ψυχρής ροής και γι αυτό το λόγο είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα η σύγκριση της μεταβολής της σταθερότητάς τους και των ιδιοτήτων τους έπειτα από την προσθήκη των εναλλακτικών καυσίμων. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 7-1, το καύσιμο βάσης BF₁ χαρακτηρίζεται ως ιδιαίτερα σταθερό έναντι της οξείδωσης εν αντιθέσει του καυσίμου βάσης BF₂, το οποίο με την σειρά του διαθέτει πολύ καλές ψυχρές ιδιότητες.

Πίνακας 7-1: Ιδιότητες καυσίμων βάσης.

Ιδιότητα	Μονάδες	ISO 8217		Πρότυπες Μέθοδοι	
		BF1	BF2		Όρια
<i>Κινηματικό Ιξώδες @40°C</i>	<i>mm²/s</i>	3.893	3.616	Ελάχ. 2.000 Μέγ. 6.000	ISO 3104
<i>Πυκνότητα @15°C</i>	<i>kg/m³</i>	838.6	845.5	Μέγ. 890	ISO 3675
<i>Δείκτης Κετανίου</i>	-	54	54	Ελάχ. 40	ISO 4264
<i>Θείο</i>	<i>mass %</i>	0.076	0.075	Μέγ. 1.00	ASTM D4294
<i>Σημείο Ανάφλεξης</i>	<i>°C</i>	64.5	64.0	Ελάχ. 60	ISO 2719
<i>Οξειδωτική Σταθερότητα @160°C</i>	<i>min</i>	767	94	-	ASTM D 7545
<i>Μεθυλεστέρες Λιπαρών Οξέων</i>	<i>% v/v</i>	<0.05		Μέγ. 7	ASTM D7963
<i>Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου</i>	<i>°C</i>	3	-11	Αναφορά	IP 309
<i>Σημείο Ροής</i>	<i>°C</i>	2	-16	Μέγ. 0	ISO 3016
<i>Όψη</i>	-	Διαυγές	Διαυγές	Διαυγές	Οπτική Αξιολόγηση
<i>Νερό</i>	<i>volume %</i>	0.004	0.005	-	ASTM D4377
<i>Τέφρα</i>	<i>mass %</i>	0.001	0.001	Μέγ. 0.010	ISO 6245
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	<i>mg KOH/g</i>	0.04	0.05	Μέγ. 0.5	ASTM D974
<i>Λιπαντική Ικανότητα (WS 1.4)</i>	<i>μm</i>	354	450	Μέγ. 520	ISO 12156-1

7.2.2 Ανανεώσιμα Υποκατάστατα

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν συνολικά τέσσερα βιοντήζελ (FAME), εκ των οποίων τα δύο είναι εμπορικά διαθέσιμα ενώ τα άλλα δύο παρασκευάστηκαν εργαστηριακά, καθώς και δύο εναλλακτικά καύσιμα του ντήζελ κίνησης, ήτοι τα HVO και GTL. Οι ποιοτικές παράμετροι των ανανεώσιμων υποκατάστατων προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους που ορίζονται από τα αντίστοιχα ευρωπαϊκά πρότυπα (EN).

7.2.2.1 Βιοντήζελ

Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων, FAME 1 και FAME 2, είναι εμπορικά διαθέσιμα βιοντήζελ, τα οποία προμηθεύτηκαν από δύο μονάδες παραγωγής βιοντήζελ που βρίσκονται στην ελληνική επικράτεια. Τα δύο βιοντήζελ διαφέρουν ως προς τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες και την σύστασή τους. Ειδικότερα, το FAME 2 δεν περιέχει καθόλου βελτιωτικά πρόσθετα της οξειδωτικής σταθερότητας και γι αυτό το λόγο δεν καλύπτει την αντίστοιχη προδιαγραφή εν αντιθέσει με το FAME 1, το οποίο χαρακτηρίζεται από πολύ καλή οξειδωτική σταθερότητα.

Τα FAME 3 και FAME 4 παρήχθησαν στο εργαστήριο από αλκαλική μετεστεροποίηση (Παράρτημα Ι) σογιέλαιου και φοινικέλαιου, αντίστοιχα, παρουσία μεθοξειδίου του νατρίου ως καταλύτη. Τα προϊόντα εξευγενίστηκαν και οι φυσικοχημικές ιδιότητες των παραχθέντων βιοκαυσίμων προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις αντίστοιχες πρότυπες μεθόδους του EN 14214. Στον Πίνακα 7-3 παρουσιάζεται η σύσταση των παραγόμενων μεθυλεστερων των λιπαρών οξέων. Η οξειδωτική σταθερότητα του FAME 3 είναι κάτω από την ελάχιστη επιτρεπόμενη τιμή που ορίζει το EN 14214, εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν περιέχει κάποιο αντιοξειδωτικό πρόσθετο ενώ το FAME 4 παρά την απουσία αντιοξειδωτικού προσθέτου η σταθερότητά του είναι υψηλή. Στους Πίνακες 7-2 και 7-3 παρουσιάζονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες και το προφίλ των λιπαρών οξέων, αντίστοιχα, όλων των βιοντήζελ που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την εργασία.

Πίνακας 7-2: Φυσικοχημικές ιδιότητες των βιοντήζελ που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Ιδιότητα	Μονάδες	FAME 1	FAME 2	FAME 3	FAME 4	EN14214	Μέθοδος
Κινηματικό ιξώδες @40°C	mm ² /s	4.194	4.342	4.242	4.571	Μέγ. 5.00	ISO 3104
Πυκνότητα @15°C	kg/m ³	884.9	879.5	885.3	876.6	Μέγ. 900	ISO 3675
Θείο	mg/ kg	4.2	5.1	6.5	2.5	Μέγ. 10.0	EN ISO 20846
Σημείο ανάφλεξης	°C	>101	115	>101	>101	Ελάχ. 101	ISO 2719
Οξειδωτική σταθερότητα@ 110°C	h	16.1	2.2	3.49	17.4	Ελάχ. 8.0	EN 14112
FAME	% m/m	98.4	97.5	97.5	96.7	Ελάχ. 96.5	EN 14103
C.F.P.P.	°C	-2	4	-2	13	-	IP 309
Νερό	mg/ kg	270	106.5	456	330	500	ASTM D4377
Αριθμός οξύτητας	mg KOH/g	0.39	0.20	0.21	0.15	Μέγ.0.50	EN 14104
Λινολενικό οξύ		6.26	0.29	5.27	0.19	Μέγ.12.0	EN 14103
Μονογλυκερίδια		0.07	0.07	0.32	0.22	Μέγ. 0.70	EN 14105
Διγλυκερίδια	% m/m	0.112	0.11	0.05	0.02	Μέγ. 0.20	EN 14105
Τριγλυκερίδια		0.066	0.07	0.04	0.20	Μέγ. 0.20	EN 14105
Ελεύθερη γλυκερόλη		<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	Μέγ. 0.02	EN 14105
Ολική γλυκερόλη		0.049	0.05	0.11	0.10	Μέγ. 0.25	EN 14105

Πίνακας 7-3: Προφίλ λιπαρών οξέων των βιοντήζελ.

Λιπαρά Οξέα		Περιεκτικότητα %			
		FAME 1	FAME 2	FAME 3	FAME 4
Παλμιτικό	C16:0	10.51	15.08	10.75	39.36
Παλμιτολεϊκό	C16:1	0.13	1.12	0.11	0.26
Στεατικό	C18:0	4.81	5.95	4.10	4.28
Ολεϊκό	C18:1	25.17	35.95	26.10	42.84
Λινελαϊκό	C18:2	50.54	37.49	50.53	10.39
Λινολενικό	C18:3	6.26	0.57	5.27	0.19
Αραχιδονικό	C20:0	0.42	0.36	0.45	0.39
Γαδελαϊκό	C20:1	0.25	0.28	0.27	0.17

7.2.2.2 Εναλλακτικά και Ανανεώσιμα Υποκατάστατα

Εκτός των προαναφερθέντων βιοκαυσίμων στην μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν και δυο άλλα εναλλακτικά καύσιμα, το HVO και το GTL. Το HVO που είναι εμπορικά διαθέσιμο, αποκτήθηκε από την εταιρία Neste Oil Corporation (Φιλανδία) ενώ το GTL από την εταιρία Revoil A.E. (Ελλάδα). Στον Πίνακα 7-4, παρουσιάζονται οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες μαζί με τις αντίστοιχες πρότυπες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό τους, βάσει του προτύπου EN 15940.

Πίνακας 7-4. Φυσικοχημικές ιδιότητες των καυσίμων HVO και GTL.

Ιδιότητα	Μονάδες	HVO	GTL	EN 15940:2016 όρια	Πρότυπη μέθοδος
Κινηματικό ιξώδες @40°C	mm ² /s	2.919	2.387	Ελάχ. 2.000 Μέγ. 4.500	ISO 3104
Πυκνότητα @15°C	kg/m ³	779.6	776.7	Ελάχ. 765 Μέγ. 800	ISO 3675
Αριθμός κετανίου	-	75.7	70.2	-	ASTM D 7170
Θείο	mg/ kg	1.9	1	Μέγ. 5.0	EN ISO 20846
Σημείο Ανάφλεξης	°C	79	67	Ελάχ. 55	ISO 2719
Οξειδωτική σταθερότητα @ 140°C FAME	min	65	67	-	ASTM D 7545
Σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου	% v/v	<0.05	<0.05	Μέγ. 7	ASTM D7963
Νερό	°C	-17	-27	Αναφορά	IP 309
Τέφρα	mg/ kg	19	14	Μέγ. 200	EN ISO 12937
Λιπαντική ικανότητα (WSD 1,4) στους 60°C	mass %	0.001	0.001	Μέγ. 0.010	ISO 6245
Διάβρωση χάλκινου ελάσματος	μm	635	639	Μέγ. 460	ISO 12156-1
	rating	1A	1A	Κλάση 1	EN ISO 2160

7.2.3 Μεθοδολογία

Στην παρούσα έρευνα εξετάστηκε η επίδραση στις ιδιότητες και τη σταθερότητα – οξειδωτική και μικροβιακή – τριών συμβατικών ναυτιλιακών αποσταγμάτων έπειτα από την προθήκη ανανεώσιμων και εναλλακτικών καυσίμων σε αναλογία 7% κ.ό.

Στο πρώτο μέρος της παρούσας εργασίας, τα τέσσερα διαφορετικά FAME καθώς και τα δύο εναλλακτικά καύσιμα – HVO, GTL – αναμίχθηκαν με τα ναυτιλιακά αποστάγματα (BF1 και BF2) σε αναλογία 7% κ.ό. Φυσικοχημικές παράμετροι, όπως πυκνότητα, ιξώδες, περιεχόμενο θείο και ψυχρές ιδιότητες των μιγμάτων προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τις αντίστοιχες μεθόδους που αναφέρονται στο διεθνές πρότυπο ISO 8217. Η οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων προσδιορίστηκε βάσει της μεθόδου ASTM D7545 στους 160 °C. Επιλέχθηκε υψηλότερη θερμοκρασία για τις μετρήσεις της οξειδωτικής σταθερότητας σε σύγκριση με αυτές που χρησιμοποιούνται για το ντήζελ κίνησης (140 °C), έτσι ώστε να κρατηθεί ο χρόνος επαγωγής σε λογικά χρονικά πλαίσια ,καθώς τα ναυτιλιακά gasoil συνήθως έχουν υψηλότερη σταθερότητα σε σχέση με

το ντήζελ κίνησης. Η μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας δεν πραγματοποιήθηκε βάσει της προτεινόμενης μεθόδου ASTM D2274/ISO 12205 που ορίζει το ISO 8217, καθώς η μέθοδος ASTM D7545 χρησιμοποιείται ευρέως σε μίγματα βιοκαυσίμων και ειδικότερα στα μίγματα καυσίμων ντήζελ κίνησης/βιοντήζελ των επίγειων μεταφορών. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι η μέθοδος ASTM D2274/ISO 12205 δεν έχει τη δυνατότητα να δώσει ακριβή και αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα στην περίπτωση που το καύσιμο περιέχει βιοντήζελ. Τέλος, η μέθοδος EN 15751, η οποία, επίσης, εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο στα μίγματα και όχι σε καθαρά πετρελαϊκά προϊόντα, το οποίο αποτελεί και το κύριο μειονεκτήματα έναντι της μεθόδου RSSOT, η οποία μπορεί να δώσει μια ακριβή εκτίμηση της επίπτωσης του βιοντήζελ και άλλων εναλλακτικών καυσίμων στην οξειδωτική σταθερότητα αυτών.

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας, τα δύο εμπορικά βιοντήζελ (FAME1 & FAME2) και τα δύο εναλλακτικά του πετρελαϊκού ντήζελ καύσιμα αναμίχθηκαν με τα δύο ναυτιλιακά καύσιμα βάσης (BF₁ & BF₂). Προσδιορίστηκαν, επίσης, οι βασικές φυσικοχημικές ιδιότητες των μιγμάτων σύμφωνα με τις μεθόδους που ορίζονται από το ISO 8217. Τα υπό εξέταση μίγματα επιμολύνθηκαν με υδατική φάση γνωστού μικροβιακού φορτίου και αποθηκεύτηκαν για χρονικό διάστημα πέντε (5) εβδομάδων σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (T=28-29°C) απουσία φωτός. Τα αποθηκευμένα δείγματα διακρίθηκαν σε δύο σειρές. Η πρώτη σειρά αποτελεί τα επιμολυσμένα δείγματα (CM), τα οποία αποτελούνται από 100 ml φάση καυσίμου και 20ml υδατικής φάσης, και η δεύτερη σειρά αποτελεί τα δείγματα αναφοράς (RM), τα οποία αποτελούνται από την αντίστοιχη με την CM σειρά φάση καυσίμου απουσία υδατικής φάσης. Η εξέλιξη του μικροβιακού φορτίου εξετάστηκε τόσο στην φάση καυσίμου όσο και στην υδατική των CM δειγμάτων μετά από πέντε (5) εβδομάδες αποθήκευσης βάσει της μεθόδου ASTM D7687-11. Η συγκέντρωση του ATP στην υδατική φάση του κάθε μικρόκοσμου μετρήθηκε στην αρχή (t₀), μετά από τρεις εβδομάδες (t₁) και στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης (t₂). Τρία διαδοχικά δείγματα των 5 ml ή των 10 ml αφαιρέθηκαν απ την υδατική φάση και την φάση καυσίμου, για κάθε μέτρηση και ο μέσος όρος αυτών αναφέρθηκε ως τελικό αποτέλεσμα. Με το πέρας του χρόνου αποθήκευσης προσδιορίστηκε η μεταβολή της οξειδωτικής σταθερότητας όλων των αποθηκευμένων δειγμάτων βάσει της μεθόδου ASTM D7545 (RSSOT), καθώς και ο αριθμός οξύτητας βάσει του EN 14104.

7.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.3.1 Ιδιότητες Μιγμάτων

Στην παρούσα έρευνα έξι εναλλακτικά καύσιμα (4 FAMES, HVO, GTL) προστέθηκαν σε αναλογία 7% κ.ό. στα δύο καύσιμα βάσης (BF1 και BF2). Τα μίγματα (Πίνακας 7-5) που προέκυψαν εξετάστηκαν ως προς τις βασικές ποιοτικές τους παραμέτρους σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους που ορίζονται από το ISO 8217, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση των ανανεώσιμων και εναλλακτικών υποκατάστατων στις ιδιότητες του ναυτιλιακού αποστάγματος.

Πίνακας 7-5: Σύσταση των μιγμάτων που παρασκευάστηκαν για την μελέτη της οξειδωτικής και μικροβιακής σταθερότητας.

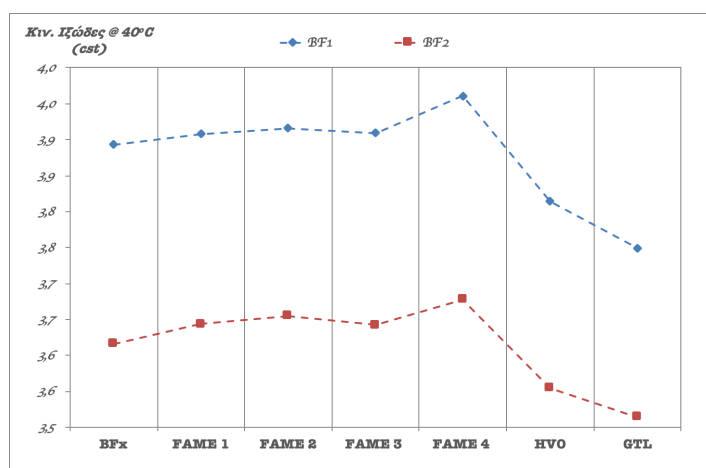
Μίγματα	BF₁ (% v/v)	BF₂ (% v/v)	FAME1 (% v/v)	FAME2 (% v/v)	HVO (% v/v)	GTL (% v/v)
BF₁	100	-	-	-	-	-
BF₁B₁7	93	-	7	-	-	-
BF₁B₂7	93	-	-	7	-	-
BF₁HVO7	93	-	-	-	7	-
BF₁GTL7	93	-	-	-	-	7
BF₂	-	100	-	-	-	-
BF₂B₁7	-	93	7	-	-	-
BF₂B₂7	-	93	-	7	-	-
BF₂HVO7	-	93	-	-	7	-
BF₂GTL7	-	93	-	-	-	7

Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκαν η πυκνότητα, το κινηματικό ιξώδες, οι ιδιότητες ψυχρής ροής (σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου και σημείο ροής), περιεκτικότητα σε θείο, λιπαντική ικανότητα καθώς και οξειδωτική σταθερότητα.

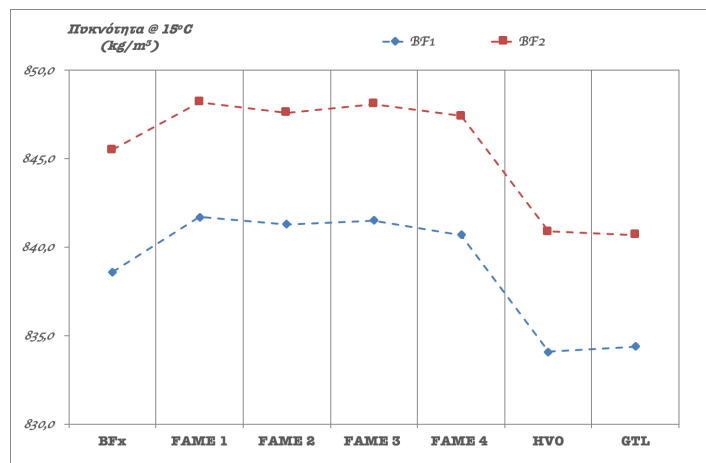
Στον Σχήματα 7-1, 7-2 και 7-3 παρατίθενται βασικές ιδιότητες, όπως πυκνότητα, κινηματικό ιξώδες και ο αριθμός οξύτητας. Στους Πίνακες 7-6 και 7-7, παρατίθενται, επίσης, και η περιεκτικότητα σε θείο και οι ψυχρές ιδιότητες των υπό εξέταση μιγμάτων. Στο Σχήμα 7-3, παρουσιάζεται και η μεταβολή της οξειδωτικής σταθερότητας του εκάστοτε καυσίμου βάσης έπειτα από την εισαγωγή των εναλλακτικών και ανανεώσιμων υπό εξέταση καυσίμων. Σημειώνεται ότι σε όλους τους παρακάτω Πίνακες και Σχήματα,

αναφέρονται, επίσης, και οι ιδιότητες των καυσίμων βάσης, έτσι ώστε να είναι εμφανής η οποιαδήποτε μεταβολή των ιδιοτήτων που οφείλονται στην υποκατάστασή τους από τα εναλλακτικά καύσιμα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρείται μια μικρή αύξηση στις τιμές της πυκνότητας και του κινηματικού ιξώδους των μιγμάτων που περιέχουν FAME εν συγκρίσει με αυτές του καυσίμου βάσης, ενώ μικρή μείωση αυτών καταγράφεται στις περιπτώσεις των HVO και GTL. Μολονότι τις διαφορές που παρατηρούνται, οι τιμές της πυκνότητας και του κινηματικού ιξώδους είναι εντός των αντίστοιχων επιτρεπτών ορίων που ορίζει το ISO 8217. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι αναμενόμενα αν ληφθεί υπ' όψιν ότι όλα τα FAMES, εν αντιθέσει με τα HVO και GTL, έχουν υψηλότερη πυκνότητα και ιξώδες από το ναυτιλιακό καύσιμο βάσης.



Σχήμα 7-1: Μεταβολή του κινηματικού ιξώδους των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων BF1 και BF2 από την υποκατάστασή τους από τα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα.



Σχήμα 7-2: Μεταβολή της πυκνότητας των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων BF1 και BF2 από την υποκατάστασή τους από τα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα.

Ταυτόχρονα παρατηρείται σε όλες τις περιπτώσεις μικρή μείωση της τάξεως του 7% στο περιεχόμενο θείου ενώ οι ψυχρές ιδιότητες του καυσίμου βάσης παρέμειναν ανεπηρέαστες από την προσθήκη των ανανεώσιμων υποκατάστατων τουλάχιστον στην εξεταζόμενη περιεκτικότητα ανάμιξης.

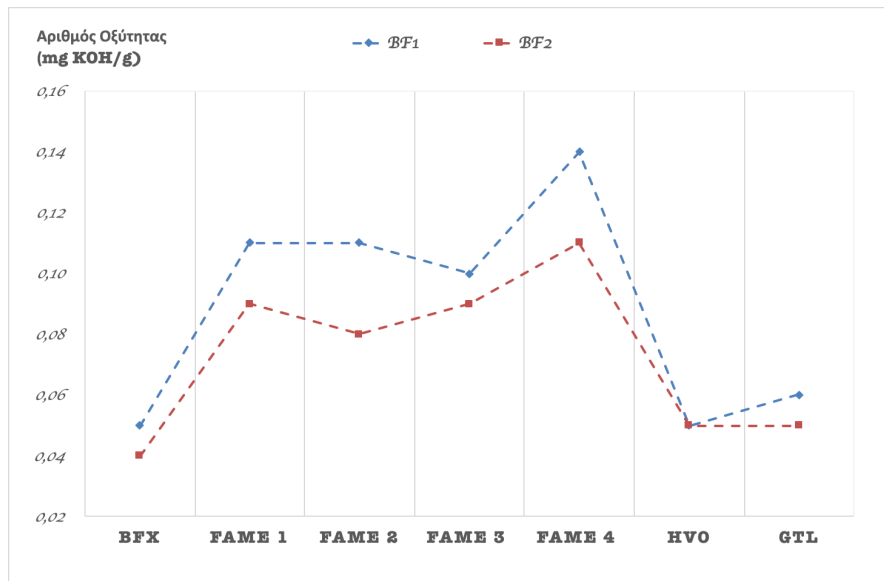
Πίνακας 7-6. Ιδιότητες μιγμάτων του καυσίμου βάσης BF1.

Μίγματα	Θείο (% ppm)	C.F.P.P (°C)	Σημείο Ροής (°C)
FAME 1	723	3	2
FAME 2	719	3	2
FAME 3	721	3	2
FAME 4	732	3	2
HVO	713	3	2
GTL	709	3	2
BF1	775	3	2

Πίνακας 7-7. Ιδιότητες μιγμάτων του καυσίμου βάσης BF2.

Μίγματα	Θείο (% ppm)	C.F.P.P (°C)	Σημείο Ροής (°C)
FAME 1	703	3	2
FAME 2	705	3	2
FAME 3	698	3	2
FAME 4	704	3	2
HVO	695	3	2
GTL	695	3	2
BF2	745	3	2

Ο αριθμός οξύτητας αποτελεί μία από τις βασικές παραμέτρους που αναφέρεται στο ISO 8217 και πρακτικά εκφράζει την πιθανή διάβρωση που μπορεί να προκληθεί από το καύσιμο. Ως ανώτερη επιτρεπτή τιμή για τον αριθμό οξύτητας ορίζεται η 0.5 mg KOH/g. Στο Σχήμα 7-3, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του αριθμού οξύτητας των μιγμάτων σε αντιπαραβολή με αυτούς των καυσίμων βάσης. Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα, ο αριθμός οξύτητας αυξήθηκε σημαντικά στην περίπτωση όλων των B7 μιγμάτων ενώ διατηρήθηκε στις ίδιες τιμές σχεδόν στα μίγματα με τα HVO και GTL. Αξίζει να σημειωθεί δε ότι όλα τα μίγματα ικανοποιούν το όριο που ορίζει το ISO 8217.

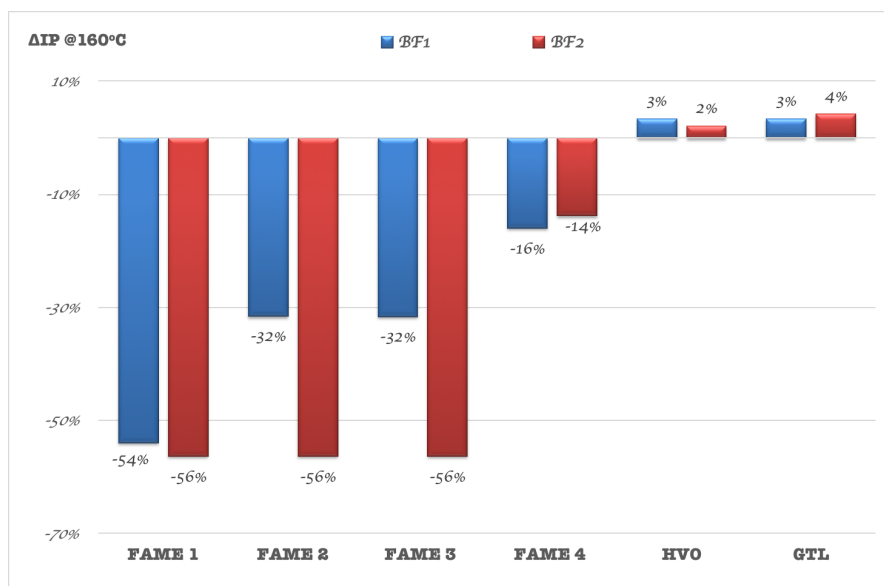


Σχήμα 7-3: Μεταβολή του αριθμού οξύτητας των συμβατικών ναυτιλιακών καυσίμων BF1 και BF2 από την υποκατάστασή τους από τα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα.

Τέλος, η οξειδωτική σταθερότητα είναι, επίσης, μία από τις ιδιότητες που εξετάστηκε στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Σύμφωνα με πλήθος δημοσιευμένων μελετών και αναφορών, η προσθήκη του βιοντήζελ στο πετρελαϊκό ντήζελ κίνησης έχει κατά κύριο λόγο αρνητική επίδραση στην οξειδωτική σταθερότητα του καυσίμου βάσης και μάλιστα η οξειδωτική του υποβάθμιση εξαρτάται και από το είδος του εκάστοτε βιοντήζελ. Έως τώρα τουλάχιστον δεν υπάρχουν δημοσιευμένες εργασίες σχετικά με την επίδραση των διαφόρων τύπων μεθυλεστέρων στην οξειδωτική σταθερότητα των ναυτιλιακών αποσταγμάτων. Σύμφωνα με τα παραπάνω και με αφορμή τις αλλαγές που ορίζονται από την πρόσφατη έκδοση του ISO 8217, κρίνεται σκόπιμο να διερευνηθεί η επίδραση των ανανεώσιμων υποκατάστατων στην οξειδωτική σταθερότητα των ναυτιλιακών καυσίμων.

Στο Σχήμα 7-4, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μεταβολής της οξειδωτικής σταθερότητας των μιγμάτων, όπως προσδιορίστηκαν με την μέθοδο ASTM D7545. Παρατηρείται ότι η επίδραση των ανανεώσιμων και εναλλακτικών υποκατάστατων φαίνεται να είναι σχεδόν ίδια ανεξάρτητα από την

οξειδωτική σταθερότητα των καυσίμων βάσης. Όπως φαίνεται, όλα τα μίγματα B7 οδηγούν στην υποβάθμιση της οξειδωτικής σταθερότητας του καυσίμου βάσης ενώ, αντίθετα, στην περίπτωση των HVO και GTL παρατηρείται ενίσχυση. Ειδικότερα, το μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης παρατηρείται στην περίπτωση του FAME 3 έναντι του FAME 4, το οποίο παρουσιάζει την μεγαλύτερη σταθερότητα μεταξύ των τεσσάρων βιοντήζελ. Αυτό δικαιολογείται από την υψηλή περιεκτικότητα του FAME 4 σε κορεσμένα (C16:0) και μονοακόρεστα (C18:1) λιπαρά οξέα ενώ αντίθετα η υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα (C18:2) καθιστά το FAME3 περισσότερο επιρρεπές στην οξείδωση. Συνεπώς, η χημική σύσταση του εκάστοτε βιοντήζελ που καθορίζεται από την πρώτη ύλη του, παίζει σημαντικό ρόλο στην οξειδωτική σταθερότητα του τελικού μίγματος. Τα μίγματα με HVO και GTL, τα οποία αποτελούνται κατά κύριο λόγο από παραφινικούς υδρογονάνθρακες ευθείας ή διακλαδισμένης αλυσίδας, φαίνεται να παρουσιάζουν υψηλότερη αντοχή έναντι της οξείδωσης από τα αντίστοιχα B7 μίγματα.



Σχήμα 7-4. Μεταβολή του χρόνου επαγωγής των BF1 και BF2 λόγω της προσθήκης των ανανεώσιμων και εναλλακτικών καυσίμων - RSSOT μέθοδος (160°C).

7.3.2 Μικροβιακή Σταθερότητα

7.3.2.1 Υδατική Φάση

Στα Σχήματα 7-5 και 7-6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανάπτυξη του μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση των μιγμάτων των δύο ναυτιλιακών καυσίμων βάσης. Όπως φαίνεται από τα εν λόγω Σχήματα, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης παρουσιάστηκε αύξηση του μικροβιακού φορτίου σε όλα τα μίγματα, με την μεγαλύτερη αύξηση να παρατηρείται στην περίπτωση των μιγμάτων με FAME (B7)

ενώ τα μίγματα των HVO και GTL, καθώς και τα καθαρά καύσιμα βάσης, εμφανίζονται συγκριτικά ως λιγότερο ευνοϊκά υποστρώματα της μικροβιακής ανάπτυξης.

Όσον αφορά τα μίγματα με το BF₁, η συγκέντρωση ATP αυξήθηκε περίπου κατά 4,5 και 5 φορές σε σχέση με την αρχική στα B7 μίγματα με τα FAME1 και FAME2, αντίστοιχα. Μικρότερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται στα μίγματα με HVO και GTL ενώ η μικροβιακή ανάπτυξη στην περίπτωση του καυσίμου βάσης, BF₁, διατηρήθηκε στα ίδια σχεδόν επίπεδα.

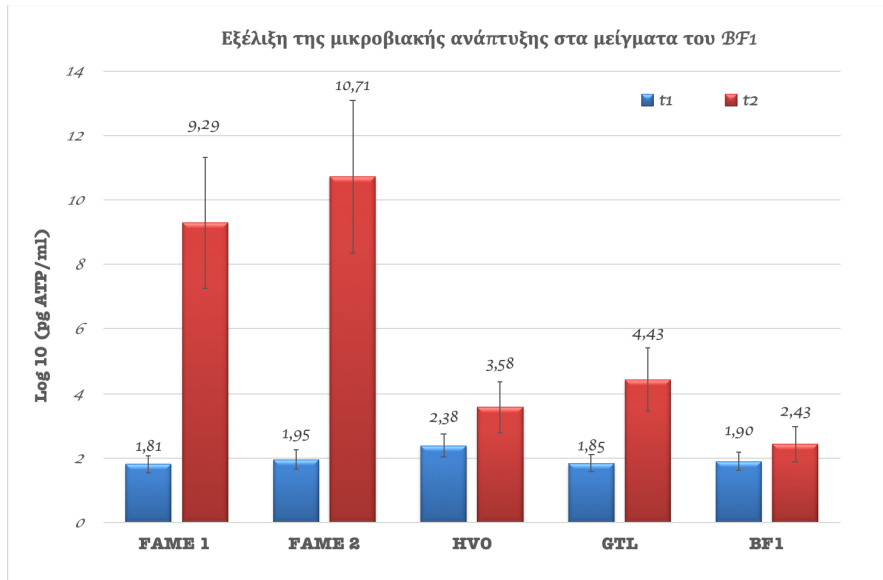
Σύμφωνα με το Σχήμα 7-6, σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις των μιγμάτων του BF₂ παρατηρείται μεγαλύτερη αύξηση της συγκέντρωσης ATP σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μίγματα του καυσίμου βάσης BF₁. Αντίστοιχα με τα αποτελέσματα των μιγμάτων με το καύσιμο βάσης BF₁, τα B7 μίγματα ενισχύουν περισσότερο την μικροβιακή ανάπτυξη ενώ περισσότερο ανασταλτικά υποστρώματα έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας εμφανίζονται, επίσης, τα μίγματα με HVO και GTL. Σημαντική διαφοροποίηση της εξέλιξης της μικροβιακής δραστηριότητας καταγράφεται μεταξύ των δύο καυσίμων βάσης, όπου το BF₂ εμφανίζεται ως επιδεκτικότερο στην μικροβιακή επιμόλυνση.

Με βάση τα παραπάνω, παρατηρείται ότι η παρουσία FAME στα MGO δημιουργεί ένα ευνοϊκότερο περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς και ως εκ τούτου ο πολλαπλασιασμός τους ήταν ευκολότερος και ταχύτερος. Από την άλλη πλευρά, αν και η μικροβιακή δραστηριότητα ήταν πιο περιορισμένη, το MGO και τα μίγματα του με HVO και GTL δεν βρέθηκαν να είναι ανασταλτικά υποστρώματα στον πολλαπλασιασμό μικροβίων, αλλά παρέχουν λιγότερο ευνοϊκές συνθήκες σε σύγκριση με το FAME.

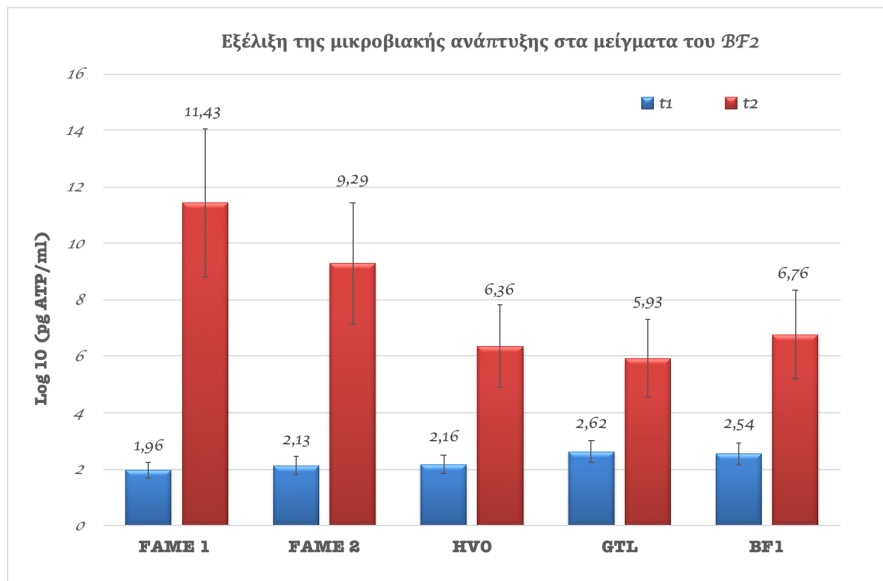
7.3.2.2 Φάση καυσίμου

Πριν από την αποθήκευση των δειγμάτων, η συγκέντρωση του ATP εξετάστηκε στις επιμέρους φάσεις καυσίμων όλων των αποθηκευμένων μιγμάτων. Σε όλες τις περιπτώσεις η συγκέντρωση του ATP βρέθηκε να είναι σε πολύ χαμηλά επίπεδα και συγκεκριμένα ήταν περίπου ίση με $[ATP]_{\text{Φάσης καυσίμου}} = 4 \text{ pg ATP/ml}$.

Η συγκέντρωση ATP αξιολογήθηκε, επίσης, στη φάση καυσίμου των επιμολυσμένων αποθηκευμένων δειγμάτων (CM) στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης. Όπως φαίνεται από Σχήματα 7-7 και 7-8, η προσθήκη FAME οδηγεί σε δραστική αύξηση της μικροβιακής ανάπτυξης, με την επίδραση του FAME1 να είναι ισχυρότερη και στα δύο καύσιμα βάσης έναντι του FAME2. Σημαντική αλλά ταυτόχρονα μικρότερη αύξηση σε σχέση με τα B7 μίγματα παρατηρείται, επίσης, και στα μίγματα με HVO και GTL, με το ποσοστό επίδρασης των δύο εναλλακτικών καυσίμων να διαφοροποιείται μεταξύ των δύο καυσίμων βάσης. Τέλος, σημαντική αύξηση της μικροβιακής ανάπτυξης παρατηρήθηκε και στα καθαρά καύσιμα βάσης, BF₁ και BF₂.

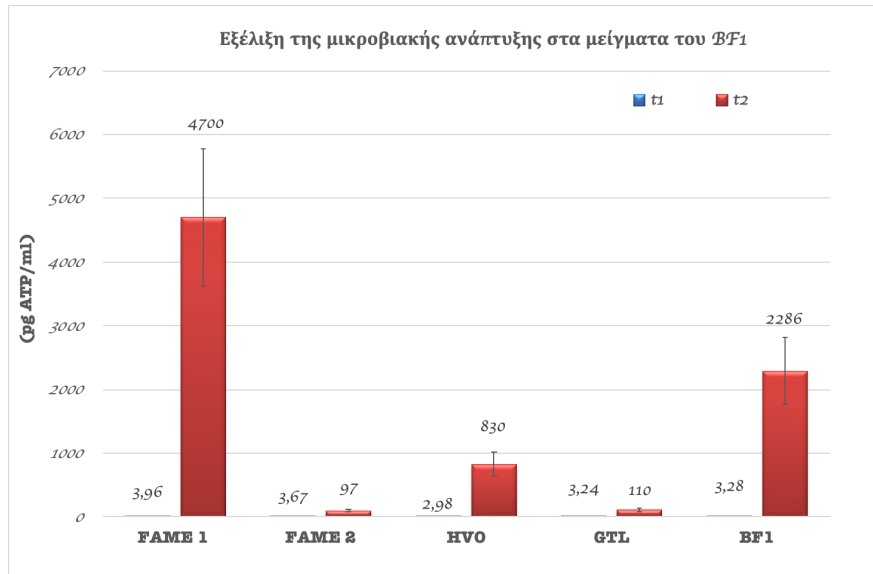


Σχήμα 7-5: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων (CM) BF₁.

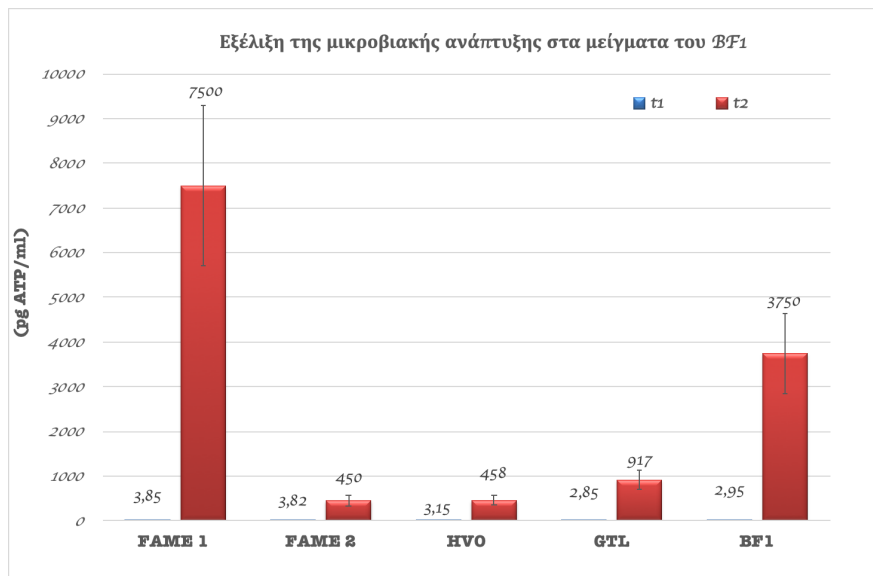


Σχήμα 7-6: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων (CM) BF₂.

Βάσει των αποτελεσμάτων από τα Σχήματα 7-5 έως 7-8, η αύξηση του μικροβιακού φορτίου τόσο στην υδατική όσο και στη φάση καυσίμου των δειγμάτων B7 και των καυσίμων βάσης - BF₁ και BF₂ - ακολουθεί παρόμοια συμπεριφορά. Αντίθετα, τα επίπεδα της μικροβιακής ανάπτυξης στην περίπτωση των μιγμάτων HVO και GTL εμφανίζουν αντίθετη συμπεριφορά στην υδατική και στη φάση καυσίμου.



Σχήμα 7-7: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στη φάση καυσίμου των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων BF1.









Σχήμα 7-8: Εξέλιξη μικροβιακού φορτίου στη φάση καυσίμου των αποθηκευμένων επιμολυσμένων δειγμάτων BF2.

Η ιδιαίτερως μικρή αύξηση του μικροβιακού φορτίου στην περίπτωση των μιγμάτων με το FAME 2 εν συγκρίσει με αυτή που καταγράφεται στα μίγματα με FAME 1 προκάλεσε το ενδιαφέρον για την περαιτέρω εξέταση τόσο των καυσίμων βάσης όσο και των ανανεώσιμων και εναλλακτικών καυσίμων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα. Ειδικότερα, η περαιτέρω εξέταση περιλαμβάνει την ανίχνευση ανασταλτικών ουσιών έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης που πιθανόν να περιέχονται. Η προσθήκη ανασταλτικών ουσιών (π.χ. βιοκτόνα) στα βιοντήζελ ή πετρελαϊκά προϊόντα που διατίθενται για εμπορική

χρήση αποτελεί συχνή πρακτική (αν και αμφιλεγόμενη σε σχέση με το ισχύον θεσμικό πλαίσιο) με στόχο την αποφυγή της επιμόλυνσης αυτών από μικροοργανισμούς. Για την ανίχνευση αυτών των ουσιών στα καύσιμα που εξετάστηκαν στο πλαίσιο αυτής της εργασίας χρησιμοποιήθηκε ένα εμπορικό κιτ, το οποίο περιγράφεται εκτενώς στο Κεφάλαιο 3.

Με βάση τα παραπάνω, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7-8. Όπως φαίνεται, σε όλα τα καύσιμα, εκτός από το FAME 2, παρατηρείται αλλαγή του χρώματος σε κίτρινο, το οποίο πρακτικά σημαίνει ότι στα καύσιμα δεν περιέχεται ουσία που αναστέλλει την ανάπτυξη του βακίλου. Αντιθέτως, στο FAME 2 το χρώμα διατηρήθηκε εξαιτίας ενδεχομένως της παρουσίας ουσίας που παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού. Η παραπάνω παρατήρηση δικαιολογεί το γεγονός ότι τα επίπεδα της επιμόλυνσης των φάσεων καύσιμου των δειγμάτων που περιέχουν το FAME 2 είναι σε χαμηλότερα επίπεδα εν συγκρίσει αυτών με το FAME 1 παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις που καταγράφονται στις υδατικές φάσεις των αντίστοιχων δειγμάτων.

Πίνακας 7-8: Αποτελέσματα ανίχνευσης βιοκτόνου ουσίας στα εξεταζόμενα καύσιμα βάσει του εμπορικού κιτ.

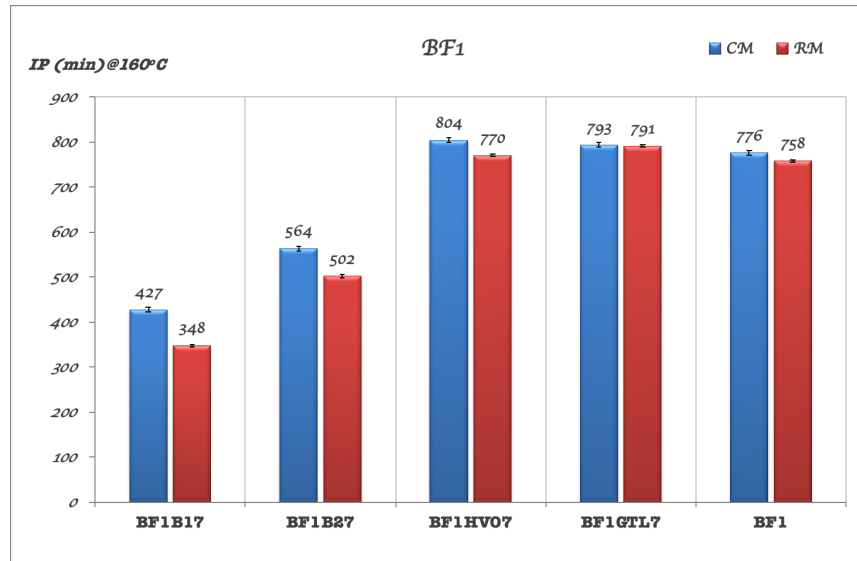
	Καύσιμα					
	BF ₁	BF ₂	FAME1	FAME2	HVO	GTL
Ανίχνευση βιοκτόνου ουσίας	-	-	-	+	-	-
						

“+”: Παρουσία βιοκτόνου/ ανασταλτικής στην μικροβιακή δράση ουσίας.

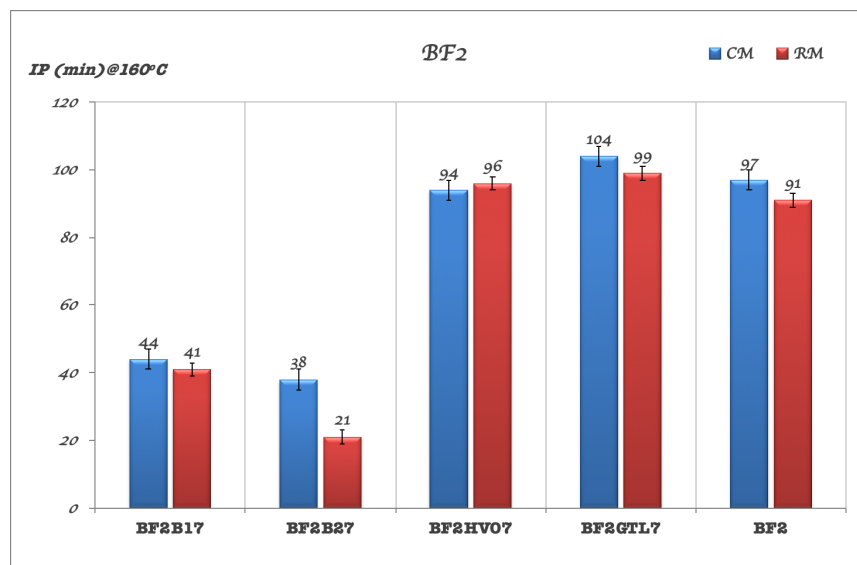
“-”: Απουσία βιοκτόνου/ ανασταλτικής στην μικροβιακή δράση ουσίας.

7.3.3 Οξειδωτική Σταθερότητα

Στα Σχήματα 7-9 και 7-10 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της οξειδωτικής σταθερότητας των αποθηκευμένων CM και RM δειγμάτων, όπως προσδιορίστηκε με την μέθοδο ASTM D7545, στο πέρας του χρόνου αποθήκευσης, δηλαδή των πέντε εβδομάδων. Σε γενικές γραμμές παρατηρείται ότι η εισαγωγή των εναλλακτικών παραφινικών καυσίμων - HVO και GTL - στα δύο ναυτιλιακά gasoils δεν επηρέασε την οξειδωτική σταθερότητά τους εν αντιθέσει με τα δύο εμπορικά καύσιμα βιοντήζελ.



Σχήμα 7-9: Οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων BF₁ στο πέρας της αποθήκευσης.



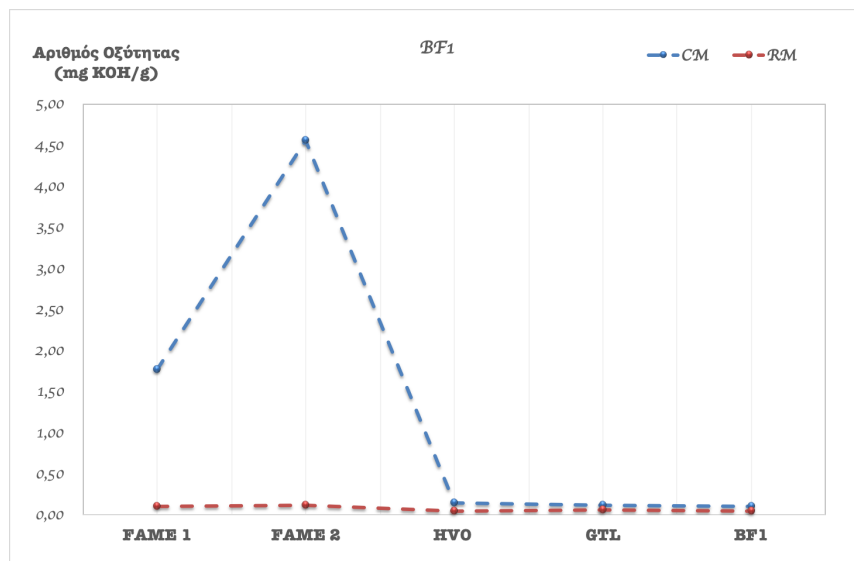
Σχήμα 7-10: Οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων BF₂ στο πέρας της αποθήκευσης.

Το FAME 1 συντέλεσε στην κατά 45-55% μείωση του χρόνου επαγωγής και των δύο ναυτιλιακών αποσταγμάτων ενώ διαφορετική συμπεριφορά παρουσιάστηκε στην περίπτωση των μιγμάτων με τους μεθυλεστέρες των χρησιμοποιημένων μαγειρικών ελαίων (FAME 2). Τέλος, σε όλες τις περιπτώσεις η ύπαρξη της επιμολυσμένης υδατικής φάσης δεν φαίνεται να συμβάλλει σημαντικά στην σταθερότητα των τελικών μιγμάτων. Βάσει των παραπάνω αποτελεσμάτων, κρίνεται ενδιαφέρουσα η μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας των CM και RM δειγμάτων αφού αποθηκευτούν σε μεγαλύτερο των πέντε

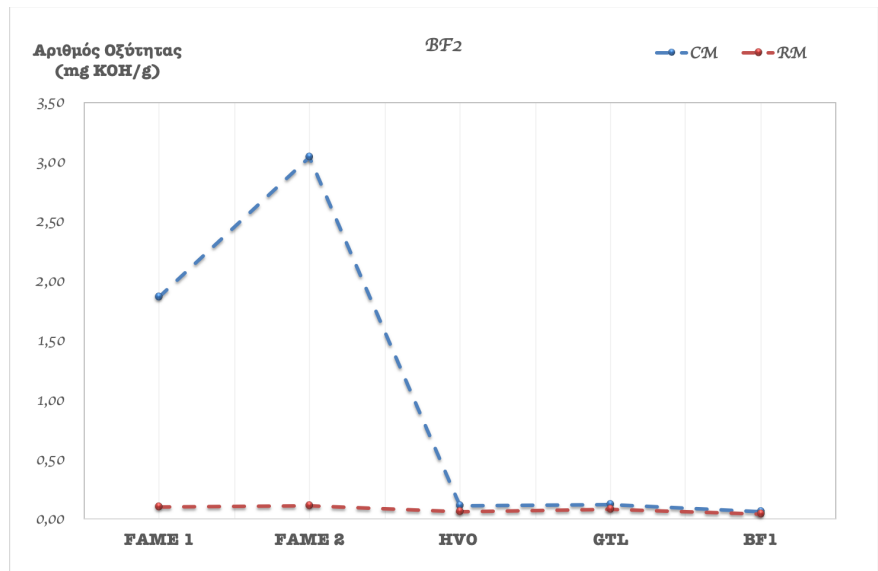
εβδομάδων χρονικό διάστημα, ώστε να γίνει περισσότερο φανερή η επίδραση του εκάστοτε υποκαταστάτη. Επίσης, θα μπορούσε να διερευνηθεί και η επίδραση της τελικής περιεκτικότητας σε νερό στη φάση καυσίμου στις μετρήσεις της οξειδωτικής σταθερότητας.

7.3.4 Αριθμός Οξύτητας

Στο τέλος της αποθήκευσης προσδιορίστηκε, επίσης, και ο αριθμός οξύτητας του εκάστοτε μίγματος και των αμιγών καυσίμων βάσης έτσι ώστε να παρατηρηθούν πιθανές μεταβολές. Σύμφωνα με τα Σχήματα 7-11 και 7-12, ο αριθμός οξύτητας παρέμεινε αμετάβλητος σε όλους τους μικρόκοσμους αναφοράς (RM). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους των HVO, GTL καθώς και των αμιγών καυσίμων βάσης. Η παρουσία του βιοντήζελ σε συνδυασμό με την παρουσία επιμολυσμένης υδατικής φάσης οδηγεί στη ραγδαία αύξηση του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των αντίστοιχων μικρόκοσμων και ιδιαίτερα στη περίπτωση των μιγμάτων με FAME 2. Μάλιστα οι τιμές του αριθμού οξύτητας με το πέρασμα της αποθήκευσης στα μίγματα με τα FAME 1 και FAME 2 δεν ικανοποιούν την αντίστοιχη προδιαγραφή που προβλέπει το ISO 8217.



Σχήμα 7-11: Αριθμός οξύτητας των εξεταζόμενων μιγμάτων του BF_1 κατά την επιμόλυνση μετά την αποθήκευση.



Σχήμα 7-12: Αριθμός οξύτητας των εξεταζόμενων μιγμάτων του BF₂ κατά την επιμόλυνση μετά την αποθήκευση.

Συμπερασματικά, από τα ευρήματα της παρούσας έρευνας, αναφορικά με την μελέτη της μικροβιακής σταθερότητας, παρατηρείται ότι η παρουσία FAME στα ναυτιλιακά καύσιμα βάσης δημιουργεί ένα ευνοϊκότερο περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς και ως εκ τούτου ο πολλαπλασιασμός τους ήταν ευκολότερος και ταχύτερος. Από την άλλη πλευρά, αν και η μικροβιακή δραστηριότητα ήταν πιο περιορισμένη, τα ναυτιλιακά gasoils και τα μίγματά τους με HVO και GTL δεν βρέθηκαν να είναι ανασταλτικά υποστρώματα για τον μικροβιακό πολλαπλασιασμό, αλλά παρέχουν λιγότερο ευνοϊκές συνθήκες σε σύγκριση με τα FAMES. Συγκεκριμένα, διαφοροποιήσεις στο μικροβιακό φορτίο παρατηρήθηκαν μεταξύ και των δύο καυσίμων βάσης, οι οποίες ενδεχομένως να οφείλονται στη διαφορετική σύσταση των δύο ναυτιλιακών καυσίμων. Τέλος, η παρουσία ουσίας ανασταλτικής προς την μικροβιακή ανάπτυξη στο εμπορικό FAME 2, μολονότι συντέλεσε στο να περιορίσει την μικροβιακή δραστηριότητα στη φάση καύσιμου των αντίστοιχων επιμολυσμένων δειγμάτων, η συγκέντρωση ATP στις αντίστοιχες υδατικές φάσεις διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα. Η παραπάνω παρατήρηση επιβεβαιώνει τον ισχυρισμό ότι η χρήση βιοκτόνων ή ανασταλτικών ουσιών έναντι των μικροοργανισμών από μόνη της δεν συμβάλλει στην ορθή και αποτελεσματική αντιμετώπιση του φαινομένου.

8. Επίδραση βιοκτόνου ουσίας στην μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ και μίγματος B7 υπό συνθήκες μακράς αποθήκευσης

8.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τις σύγχρονες περιβαλλοντικές τάσεις στον τομέα των οδικών μεταφορών, τις ευρωπαϊκές οδηγίες και τα πρότυπα ποιότητας καυσίμων, πραγματοποιείται προσθήκη βιοκαυσίμων στα καύσιμα των επίγειων μεταφορών. Ειδικότερα, βάσει του ευρωπαϊκού προτύπου EN 590 προβλέπεται η προσθήκη βιοντήζελ (FAME – Fatty Acid Methyl Esters) στο ντήζελ κίνησης σε ποσοστό έως 7% κ.ό. Εκτός από τα αναγνωρισμένα περιβαλλοντικά οφέλη του βιοντήζελ, όπως οι μειωμένες εκπομπές σωματιδίων και αερίων που συνεισφέρουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου, το σχεδόν μηδενικό ποσοστό θείου και πτητικών αρωματικών ενώσεων, το βιοντήζελ έχει, επίσης, χαμηλή τοξικότητα και είναι περισσότερο βιοαποικοδομήσιμο σε σχέση με τα συμβατικά ορυκτά καύσιμα (Mariano, et al., 2008; Demirbas, 2009; Sharma, et al., 2008).

Όπως θα αναφερθεί και στα επόμενα Κεφάλαια, το βιοντήζελ λόγω της χημικής του δομής είναι ιδιαίτερα επιρρεπές στην τόσο οξειδωτική όσο και στην μικροβιακή υποβάθμιση και η μικροβιακή επιμόλυνση των συστημάτων καυσίμων ντήζελ/ βιοντήζελ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους αποτελεί φλέγον ζήτημα (Bento, et al., 2005; Bento, et al., 2001; Bento, et al., 1996). Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, είναι πιθανή η εμφάνιση αλλαγών στις φυσικοχημικές ιδιότητες τόσο του βιοντήζελ όσο και των δυαδικών μιγμάτων του με ντήζελ κίνησης που οδηγούν σε αύξηση της οξύτητας, φαινόμενα διάβρωσης και σχηματισμό επικαθίσεων (Passman, et al., 2005). Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο Κεφάλαιο 1, πολλοί παράγοντες, όπως η παρουσία νερού στους πυθμένες των δεξαμενών αποθήκευσης, συντελούν στην ενίσχυση του φαινομένου της μικροβιακής επιμόλυνσης και οδηγούν σε φραγή σωληνώσεων και φίλτρων, διάβρωση των δεξαμενών και ποιοτική υποβάθμιση των καυσίμων (Bento, et al., 2005; Bento, et al., 2001; Bento, et al., 1996). Ακόμη και η ύπαρξη μιας μικρής συκέντρωσης νερού της τάξης του 1% είναι επαρκής για τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών, βακτηρίων και μυκήτων, καθώς επίσης και για την ανάπτυξη βιομάζας στη διεπιφάνεια του καυσίμου και του νερού (Gaylarde, et al., 1999; Chesneau, 2003).

Η υψηλή βιοαποικοδομησιμότητα του βιοντήζελ αποτελεί ένα αδιαμφισβήτητα περιβαλλοντικό πλεονέκτημα για την βιοαποκατάσταση μολυσμένων υδάτων και εδαφών και ταυτόχρονα ένα από τα μεγαλύτερα μειονεκτήματα που οδηγεί στην υποβάθμιση της ποιότητας του ως καύσιμο. Η

βιοποικοδόμηση τόσο του βιοντήζελ όσο και του ντήζελ κίνησης έχει αποτελέσει αντικείμενο πληθώρας μελετών. Συγκεκριμένα, ο Zhang (*Zhang, et al., 1998*) σύγκρινε την αποικοδομησιμότητα μεθυλεστέρων ελαιοκράμβης και σογιελαίου με συμβατικό πετρέλαιο ντήζελ σε προσομοιασμένους μικρόκοσμους παρουσία υδατικής φάσης. Σύμφωνα με τα ευρήματα της παραπάνω μελέτης, ο ρυθμός παραγωγής CO₂ ήταν τέσσερις φορές μεγαλύτερος στην περίπτωση των μεθυλεστέρων σε σχέση με αυτού του ντήζελ ενώ καταγράφηκε εντός δύο ημερών 100% βιοαποικοδόμηση των μεθυλεστέρων της ελαιοκράμβης έναντι μόλις του 16% του ντήζελ. Παρόμοια μελέτη (*Bücker F., 2011*) σε μίγματα ντήζελ βιοντήζελ (B0, B5, B10, B20, B100) έδειξε ότι η συσσώρευση βιομάζας έπειτα από επώαση 60 ημερών, είναι ανάλογη με την περιεκτικότητα του βιοντήζελ σε αυτά. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία και με άλλες ανάλογες έρευνες (*Pasqualino, et al., 2006; Sørensen, 2011; Dodos, et al., 2012; Schleicher, 2009*). Επίσης, σύμφωνα με ανάλογη μελέτη (*Chao, et al., 2010*), η βιουποβάθμιση του βιοντήζελ ήταν η πρωταρχική αιτία φραγής φίλτρων σε ένα επιβατηγό. Παρομοίως, σύμφωνα με τα ευρήματα πρόσφατης μελέτης (*Bücker F., 2017*), η αύξηση του μικροβιακού φορτίου, εκφρασμένη σε σχηματισμό βιομάζας, προσομοιασμένων επιμολυσμένων μικρόκοσμων μιγμάτων βιοντήζελ/ ντήζελ (B0, B5, B10, B50, B100) ήταν ανάλογη της περιεκτικότητας σε βιοντήζελ και έπειτα από 60 ημέρες επώασης αυτή να καταγράφεται έως και 83% σε σχέση αυτή του συμβατικού ντήζελ. Η βιομάζα που προκύπτει από την ανάπτυξη των μικροοργανισμών ευθύνεται για τις επικαθίσεις στις δεξαμενές αποθήκευσης και κατ' επέκταση στις ανεπιθύμητες συνέπειες, όπως φραγή φίλτρων και διάβρωση (*Passman, 2003; Fatima M. Bento, 2001*). Σύμφωνα με την πλειονότητα των μελετών υποστηρίζεται έντονα ότι τα μίγματα του βιοντήζελ είναι περισσότερο επιρρεπή στην μικροβιακή ανάπτυξη σε σχέση με το συμβατικό πετρέλαιο κίνησης. Ως εκ τούτου, εξαιτίας της ολοένα αυξανόμενης χρήσης και εισαγωγής του βιοντήζελ και νέων υποκατάστατων, τα προβλήματα που θα σχετίζονται με την μικροβιακή επιμόλυνση είναι αναπόφευκτα και χρήζουν άμεσης αντιμετώπισης.

Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 1, οι δύο πρωταρχικοί παράγοντες αντιμετώπισης της μικροβιακής επιμόλυνσης είναι η πρόληψη και η αποκατάσταση. Η πιο κοινή πρακτική είναι η χρήση διαφόρων βιοκτόνων ουσιών παρόλο που πολλοί ερευνητές βέβαια (*Hill, 1995; Chesneau, 2003*) έχουν προτείνει ότι σε αρκετά μικροβιακά επιβαρυμένα συστήματα, ο καθαρισμός με φυσικές μέθοδοι πρέπει να προηγείται πριν τη χρήση βιοκτόνου. Σύμφωνα με τον Passman (*Passman, 2013*) επειδή οι μικροβιακοί πληθυσμοί που συναντώνται στα συστήματα καυσίμων χαρακτηρίζονται από ποικιλομορφία, τα βιοκτόνα θα πρέπει να παρουσιάζουν ευρύ πεδίο εφαρμογής, ώστε να δύναται είτε να αποτρέψει την επιμόλυνση του συστήματος είτε και να την αντιμετωπίσει αποτελεσματικά τα ήδη μικροβιακά επιβαρυμένα συστήματα. Η αποτελεσματικότητα διαφόρων διαθέσιμων για τα συστήματα καυσίμων βιοκτόνων έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών. Ο Toler (*Passman, 2003*) μελέτησε τη χρήση της 2,2-βρωμονιτρο-

1,3-διόλης (BNPD), μιας υδατοδιαλυτής ουσίας, δηλαδή με υψηλό συντελεστή διαλυτοποίησης (K_p) σε συστήματα νερού-καυσίμου, τόσο στη φάση καυσίμου όσο και στην υδατική των υπό εξέταση συστημάτων και παρατήρησε ότι σε όλες τις περιπτώσεις το 94% της ουσίας διαλυτοποιήθηκε μόνο στην υδατική φάση. Παρόλο που αυτό αναφέρθηκε ως πλεονέκτημα από αυτόν, άλλοι ερευνητές (Geva, et al., 1992; Robbins J. & Levy R., 2004) υποστήριζαν ότι παρά το γεγονός ότι η διαλυτοποίηση ενός βιοκτόνου στην υδατική φάση είναι επιθυμητή, οι βέλτιστες τιμές του K_p είναι μεταξύ του 0.5 και 80. Η χρήση υδατοδιαλυτών βιοκτόνων ($K_p > 100$) φαίνεται να είναι μια αποτελεσματική και οικονομική στρατηγική για την αντιμετώπιση της μόλυνσης, καθώς είναι καθολικά αποδεκτό ότι η μικροβιακή ανάπτυξη λαμβάνει χώρα στην υδατική φάση και η ποσότητα που απαιτείται είναι σαφώς μικρότερη. Ωστόσο, ένα προϊόν που είναι αδιάλυτο στη φάση καυσίμου, η οποία καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος του όγκου μιας δεξαμενής, δε διαθέτει τους απαραίτητους μηχανισμούς διάχυσης, ώστε να καταλήξει στη ζώνη του βιοφίλμ (διεπιφάνεια υδατικής και φάσης καυσίμου) και έως τον πυθμένα της δεξαμενής, όπου συσσωρεύεται το νερό. Από την άλλη μεριά, οι Robbins και Levy (Robbins J. & Levy R., 2004) ανέφεραν 10 βιοκτόνα που είναι δραστικά τόσο στην υδατική όσο και στη φάση καυσίμου, με τιμές K_p που επιτρέπουν τη διάχυσή τους στο καύσιμο και τη διαλυτοποίησή τους στο νερό έτσι ώστε να παρέχουν επαρκή αντιμικροβιακή δράση. Πολλοί ερευνητές (Chesneau, 2003; Passman, et al., 2007; Geva, et al., 1992; Keene, et al., 2011) μελέτησαν την προσθήκη της 4-(2-nitrobutyl)morpholine (NMEND) σε διάφορα είδη καυσίμων και παρατήρησαν ότι η δράση της πιθανόν παρεμποδίστηκε από αλληλεπίδραση αυτής με το καύσιμο.

Πρέπει να σημειωθεί ότι μόνο δύο κατηγορίες αντιμικροβιακών προϊόντων (MIT/CMIT και MBO) είναι αποδεκτές σύμφωνα με τις προδιαγραφές που ορίζονται από τις ένοπλες δυνάμεις των Ηνωμένων Πολιτειών. Η χρήση των παραπάνω κατηγοριών που στηρίζονται στη χημεία των isothiazolines (MIT/CMIT) και των oxazolidines (MBO) προβλέπεται, επίσης, (με εξαίρεση τη γερμανική νομοθεσία) και από την ευρωπαϊκές οδηγίες (Directive 98/8/EC) (Zimmer, et al., 2013). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα συγκριτικών μελετών όσον αφορά τη δράση των δύο αντιμικροβιακών προϊόντων MIT/CMIT και MBO, και οι δύο βιοκτόνες ουσίες αναστέλλουν αποτελεσματικά την μικροβιακή ανάπτυξη. Ειδικότερα, έπειτα από την προσθήκη των δύο προϊόντων σε μίγμα B7 (7% κ.ό. βιοντήζελ σε συμβατικό ντήζελ κίνησης) παρατηρήθηκε ότι το MBO κατάφερε να αναστείλλει την ανάπτυξη γρηγορότερα έναντι του MIT/CMIT σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις τόσο στη φάση καυσίμου όσο και στην υδατική (Siegert, et al., 2013). Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και σε ανάλογη μελέτη, όπου εξετάστηκε η δράση τους σε αμόλυβδη βενζίνη και ντήζελ κίνησης (Passman, et al., 2007). Εν αντιθέσει, σύμφωνα με μια τρίτη μελέτη (Zimmer, et al., 2013), όπου εξετάστηκε η δράση των δύο βιοκτόνων ουσιών σε μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ (B0, B7, B10 και B100), παρατηρήθηκε ότι το MIT/CMIT επέδειξε καλύτερη αντιμικροβιακή συμπεριφορά, μειώνοντας σε μεγαλύτερο βαθμό το σχηματισμό βιομάζας σε σχέση με το MBO. Παρόλ'

αυτά, οι ερευνητές αναγνώρισαν ότι το MBO είναι φιλικότερο προς το περιβάλλον προϊόν έναντι του MIT/CMIT, λόγω της μεγαλύτερης βιοαποικοδομησιμότητάς του.

Βάσει των παραπάνω, στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης εξετάστηκε η δράση του MBO στην εξέλιξη του μικροβιακού φορτίου, εκφρασμένου σε φορτίο αιωρούμενων αδιάλυτων σωματιδίων, σε συνθήκες μακράς αποθήκευσης των έξι μηνών. Για την διεξαγωγή της μελέτης, το αντιμικροβιακό προϊόν εφαρμόστηκε σε δείγματα βιοντήζελ και B7 σε δύο συγκεντρώσεις σε διαφορετικές χρονικές στιγμές του χρόνου αποθήκευσης. Βασικές ποιοτικές παράμετροι του καυσίμου που δύνανται να επηρεάζονται από την μικροβιακή επιμόλυνση, όπως οξύτητα και οξειδωτική σταθερότητα, μελετήθηκαν, επίσης.

8.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

8.2.1.1 Καύσιμα Βάσης

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιείται ως καύσιμο βάσης συμβατικό ντήζελ κίνησης πολύ χαμηλού θείου (ULSD) τοπικό διυλιστήριο της Ελληνικά Πετρέλαια Α.Ε.. Οι κύριες ιδιότητες του συμβατικού ντήζελ παρουσιάζονται στον Πίνακα 8-1.

Πίνακας 8-1: Βασικές ιδιότητες του συμβατικού ντήζελ αναφοράς.

Ιδιότητα	Μονάδες	Τιμή	Πρότυπη Μέθοδος
<i>Πυκνότητα 15 °C</i>	kg/m ³	827.5	EN ISO 12185
<i>Κινηματικό ιξώδες στους 40°C</i>	mm ² /s	2.646	EN ISO 3104
<i>Αριθμός Κετανίου</i>	-	53.3	ASTM D7170
<i>Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου</i>	°C	-7	EN 116
<i>Απόσταξη</i>			
<i>Ανάκτηση στους 250 °C</i>	(% κ.ό.)	34.3	
<i>Ανάκτηση στους 350 °C</i>	(% κ.ό.)	94.4	EN ISO 3405
<i>Ανάκτηση στο 95% κ.ό.</i>	°C	352.2	
<i>Σημείο Ανάφλεξης</i>	°C	67.0	EN ISO 2719
<i>Περιεκτικότητα σε Θείο</i>	mg/kg	7.2	EN ISO 20846 - EN ISO 20884
<i>Αιωρούμενα Σωματίδια</i>	mg/kg	8	EN 12662

Ως ανανεώσιμα υποκατάστατα του συμβατικού ντήζελ στα πλαίσια της μελέτης αυτής έχουν χρησιμοποιηθεί μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (FAME). Το FAME που χρησιμοποιήθηκε είναι εμπορικά διαθέσιμο, από τη μονάδα παραγωγής της εταιρίας GF Energy A.B.E.E., και οι ιδιότητες αυτού,

όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 8-2, είναι εντός των αντίστοιχων προδιαγραφών που θέτει το πρότυπο EN 14214. Επίσης, η σύσταση σε λιπαρά οξέα του υπό εξέταση βιοντήζελ εξετάστηκε βάσει της EN 14103 μεθόδου.

Πίνακας 8-2: Ιδιότητες του FAME αναφοράς.

Ιδιότητα	Μονάδες	Τιμή	Όρια EN 14214	Πρότυπη Μέθοδος
Ποκνότητα 15°C	kg/m ³	884.9	860 - 900	EN ISO 3675 - EN ISO 12185
Κινηματικό ιξώδες στους 40°C	mm ² /s	4.194	3.50-5.00	EN ISO 3104
Αριθμός Κετανίου	-	43.1	51 ελάχ.	ASTM D7170
Σημείο Ανάφλεξης	°C	>101	101 ελάχ.	EN ISO 2719 - EN ISO 3679
Περιεκτικότητα σε Θείο	mg/kg	1.8	10.0 μέγ.	EN ISO 20846 - EN ISO 20884
Περιεκτικότητα σε Νερό	mg/kg	183	200 μέγ.	EN ISO 12937
Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου	°C	-2	-	EN 116
Οξειδωτική Σταθερότητα στους 110 °C	h	12.8	8.0 ελάχ.	EN 14112
Περιεκτικότητα σε Εστέρες	% m/m	98.4	96.5 ελάχ.	EN 14103
Αριθμός οξύτητας	mg KOH/g	0.5	0.5 μέγ.	EN 14104
Λινολενικό οξύ	% m/m	6.26	12.0 μέγ.	EN 14103
Μονογλυκερίδια	% m/m	0.07	0.70 μέγ.	EN 14105
Διγλυκερίδια	% m/m	0.112	0.20 μέγ.	EN 14105
Τριγλυκερίδια	% m/m	0.066	0.20 μέγ.	EN 14105
Ελεύθερη γλυκερόλη	% m/m	<0.02	0.02 μέγ.	EN 14105
Ολική Γλυκερόλη	% m/m	0.049	0.25 μέγ.	EN 14105
Αιωρούμενα Σωματίδια	mg/kg	27	24 μέγ.	EN 12662

Πίνακας 8-3: Σύσταση σε λιπαρά οξέα του βιοντήζελ αναφοράς.

Λιπαρά Οξέα	Περιεκτικότητα % m/m	
Παλμιτικό	C16:0	10.51
Παλμιτελαϊκό	C16:1	0.13
Στεατικό	C18:0	4.81
Ελαϊκό	C18:1	25.17
Λινελαϊκό	C18:2	50.54
Λινολενικό	C18:3	6.26
Αραχιδικό	C20:0	0.42
Γαδολεικό	C20:1	0.25

Σύμφωνα με τον Πίνακα 8-2, το FAME εμφανίζει υψηλή οξειδωτική σταθερότητα. Λαμβάνοντας υπόψιν το προφίλ των λιπαρών οξέων του και αντίστοιχης σύστασης βιοντήζελ βάσει βιβλιογραφίας (*Jain, et al., 2013; Jain, et al., 2010*), είναι πιθανό να περιέχει αντιοξειδωτικό πρόσθετο. Η ύπαρξη τέτοιων ουσιών προσδίδει μία αντίσταση στην υποβάθμιση της οξειδωτικής σταθερότητας του καυσίμου κατά την αποθήκευση, σε σχέση με μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων απουσία αυτών. Για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης εξετάστηκε το μείγμα ντήζελ κίνησης με 7% κ.ό. του FAME. Το μείγμα B7 είναι το αντιπροσωπευτικότερο εμπορικό ντήζελ κίνησης που υπάρχει στην ελληνική αγορά και φέρει την μέγιστη συγκέντρωση σε βιοντήζελ βάσει της προδιαγραφής που θέτει το EN 590. Στον Πίνακα 8-4, δίνονται οι βασικότερες ποιοτικές παράμετροι του τελικού μίγματος, καθώς και οι αντίστοιχες μέθοδοι προσδιορισμού τους.

Πίνακας 8-4: Ιδιότητες του B7 αναφοράς.

Ιδιότητα	Μονάδες	Τιμή	Όρια EN 590	Πρότυπη Μέθοδος
Ποκνότητα 15°C	kg/m ³	829.5	820.0-845.0	EN ISO 3675 - EN ISO 12185
Κινηματικό ιξώδες στους 40°C	mm ² /s	2.658	3.50-5.00	EN ISO 3104
Αριθμός Κετανίου	-	52.3	51 ελάχ.	ASTM D7170
Δείκτης Κετανίου	-	56	46.0 ελάχ.	EN ISO 4264
Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου	°C	-8	-5 μέγ	EN 116
Διάβρωση Χάλκινου Ελάσματος (3h στους 50 °C)	Κλάση	Κλάση 1	Κλάση 1 μέγ.	EN ISO 2160
Οξειδωτική Σταθερότητα στους 110 °C	h	51.76	20 ελάχ.	EN 15751
Απόσταξη				
<i>Ανάκτηση στους 250 °C</i>	(% κ.ό.)	35.0	65.0 μέγ.	
<i>Ανάκτηση στους 350 °C</i>	(% κ.ό.)	94.6	85.0 ελάχ.	EN ISO 3405
<i>Ανάκτηση στο 95%</i>	°C	353.8	360.0 μέγ	
Σημείο Ανάφλεξης	°C	68	55 ελάχ	EN ISO 2719
Περιεκτικότητα σε Θείο	mg/kg	6.8	10.0 μέγ.	EN ISO 20846 - EN ISO 20884
Περιεκτικότητα σε Νερό	mg/kg	162	200 μέγ.	EN ISO 12937
Λιπαντική Ικανότητα (WS1.4)	µm	350	460 μέγ.	EN ISO 12156-1
Αιωρούμενα Σωματίδια	mg/kg	10	24	EN 12662

8.2.1.2 Μεθοδολογία

Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση βιοκτόνου ουσίας στην μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ και του μίγματος B7 κατά τη διάρκεια μακράς αποθήκευσης, ήτοι έξι μήνες. Προετοιμάστηκαν τέσσερις σειρές μικρόκοσμων – αποτελούμενες από τα δύο δείγματα καυσίμων (FAME και B7) - οι οποίες περιγράφονται ενδελεχώς παρακάτω.

1. Μικρόκοσμοι με την προσθήκη επιμολυσμένου νερού (CWM)

Τα δείγματα "εμβολιάστηκαν" με 20% v/v από επιμολυσμένο νερό (CW) – όπως προσδιορίζεται στην πρότυπη μέθοδο ASTM E1259 (ASTM E1259, 2018) - προερχόμενο από την υδατική φάση ενός μικροβιακά επιμολυσμένου εμπορικού δείγμα που συλλέχθηκε από τη δεξαμενή ντήζελ κίνησης ενός πρατηρίου υγρών καυσίμων. Πριν τον εμβολιασμό (t0) έγινε διήθηση της κάτω φάσης (επιμολυσμένο νερό) και προσδιορίστηκε το μικροβιακό φορτίο σε μονάδες συγκέντρωσης ATP.

2. Μικρόκοσμοι με την προσθήκη επιμολυσμένου νερού και εμπορικού βιοκτόνου (BTM)

Τα δείγματα αυτά προετοιμάστηκαν με τον ίδιο τρόπο με αυτά των μικρόκοσμων CWM με τη διαφορά ότι στη φάση καυσίμου έγινε προσθήκη του εμπορικού βιοκτόνου MBO σε περιεκτικότητα των 200 ppm. Η συγκέντρωση αυτή θεωρείται ως προληπτική δόση για την αντιμετώπιση της μικροβιακής επιμόλυνσης σε τέτοιου είδους συστήματα καυσίμων.

3. Μικρόκοσμοι με την προσθήκη απεσταγμένου νερού (DWM)

Σε αυτή την σειρά των μικρόκοσμων, 20% v/v από μη επιμολυσμένο υπερκάθαρο νερό (DW) προστέθηκε στα δείγματα καυσίμων. Χρησιμοποιήθηκε νερό τύπου II βάσει της ASTM D1193. Αυτοί οι μικρόκοσμοι χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση της συμπεριφοράς των δειγμάτων με την παρουσία μη επιμολυσμένης υδατικής φάσης.

4. Μικρόκοσμοι χωρίς την προσθήκη νερού (RM)

Αυτή η σειρά μικρόκοσμων αποτελούν τους μη επιμολυσμένους, “ξηρούς” μικροκόσμους, δηλαδή χωρίς την προσθήκη νερού. Χρησιμοποιήθηκαν ως αναφορά, και συγκεκριμένα για την σύγκριση τυχόντων διαφορών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των υπό εξέταση δειγμάτων.

Συνολικά τα δείγματα που εξετάστηκαν ανά καύσιμο παρουσιάζονται στον Πίνακα 8-5.

Πίνακας 8-5: Πλήθος μικρόκοσμων ανά εξεταζόμενο καύσιμο και χρονικό διάστημα αποθήκευσης.

Είδος Μικρόκοσμου	Χρονικό Διάστημα Αποθήκευσης					Διορθωτική Ενέργεια (t180)
	t0	t15	t30	t90	t180	
RM	1	1	1	1	1	1
DWM	1	1	1	1	1	1
CWM	2	2	2	2	2	2
BTM	2	2	2	2	2	-
Σύνολο						34

Τελικώς, για τα καύσιμα FAME και B7 εξετάστηκαν εξήντα οκτώ (68) δείγματα.

Τα παραπάνω δείγματα αποθηκεύτηκαν σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας. Κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης, προσδιορίστηκε το φορτίο των αιωρούμενων αδιάλυτων στερεών – τόσο της υδατικής όσο και της φάσης καυσίμου - σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα μέσω της μεθόδου διήθησης, η οξειδωτική σταθερότητα μέσω της RSSOT μεθόδου και ο αριθμός οξύτητας της φάσης καυσίμου των υπο μελέτη μικρόκοσμων. Οι χρονικές στιγμές προσδιορισμού των ποιοτικών παραμέτρων είναι η αρχή του χρόνου αποθήκευσης (t0), οι 15 ημερολογιακές μέρες (t15), ο ένας ημερολογιακός μήνας (t30), οι τρεις ημερολογιακοί μήνες (t90) και οι έξι ημερολογιακοί μήνες (t180). Στο πέρας της αποθήκευσης, εξετάστηκε και το ενεργό μικροβιακό φορτίο στην υδατική φάση των μικρόκοσμων βάσει της μεθόδου ASTM D 7687-11 και η οξειδωτική σταθερότητα με τη μέθοδο Rancimat.

Τέλος, στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης έγινε προσθήκη ισχυρής συγκέντρωσης του υπό εξέταση βιοκτόνου (100 mg/kg) στους ήδη επιβαρυσμένους μικροβιακά μικρόκοσμους CWM και στους DWM και προσδιορίστηκε μετά από δύο ημέρες το φορτίο των αιωρούμενων σωματιδίων και της ενεργής μικροβιακής δραστηριότητας. Η οξειδωτική σταθερότητα και ο αριθμός οξύτητας εξετάστηκαν, επίσης. Η παραπάνω μελέτη είχε ως στόχο την αξιολόγηση της πρακτικής που ακολουθείται ως επί των πλείστων για την αντιμετώπιση πραγματικών επιμολυσμένων συστημάτων καυσίμων.

Σημειώνεται ότι το υπό εξέταση βιοκτόνο συναντάται σε πλήθος εμπορικών παραλλαγών από τις διάφορες εταιρίες παραγωγής βιοκτόνων (με κωδική ονομασία MBO) και είναι το πλέον πιο αντιπροσωπευτικό. Η δραστική του ουσία είναι η 3,3'-Methylenebis (5-methyloxazolidine - C₉H₁₈N₂O₂). Η χρήση του σε συστήματα καυσίμων παρότι ξεκίνησε σχετικά πρόσφατα - σε σχέση με άλλες μορφές βιοκτόνων - εγκρίνεται από τις ένοπλες δυνάμεις των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής. Κύρια πλεονεκτήματα κατά τη χρήση του MBO είναι η άμεση βιοαποικοδομησιμότητά του, η απουσία περιεχόμενου θείου, βαρέων

μετάλλων αλλά και τοξικών αλογόνων. Τέλος, εκτός από το περιβαλλοντικό προφίλ του MBO σε σύγκριση πάντα με άλλες μορφές βιοκτόνων ουσιών, η παρουσία του εντός του καυσίμου μπορεί να έχει και το ρόλο του σταθεροποιητικού προσθέτου (stabilizer) (Zimmer, et al., 2013).

Οι συνθήκες αποθήκευσης κατά την περίοδο των 6 μηνών, διατηρούνται σταθερές. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα φυλάσσονται σε σκιερό μέρος με ρύθμιση θερμοκρασίας και υγρασίας. Η μέση θερμοκρασία αποθήκευσης τυπικά ρυθμίστηκε στους 20 °C, ενώ η σχετική υγρασία του χώρου βρισκόταν στα επίπεδα του 60% με σχετικά μικρές διακυμάνσεις. Τα δοχεία αποθήκευσης που επιλέχθηκαν για χρήση στην παρούσα μελέτη, ήταν πλαστικά των 250 ml κατάλληλα για την αποθήκευση καυσίμων. Ο αέρας στο άνω μέρος των δοχείων ανανεώνεται με φρέσκο μέσω κατακόρυφων οπών, με στόχο την προσομοίωση των μη αεροστεγών συνθηκών αποθήκευσης που επικρατούν σε πραγματικές εφαρμογές (Berrios, et al., 2011).

8.2.1.3 Μέθοδος Διήθησης

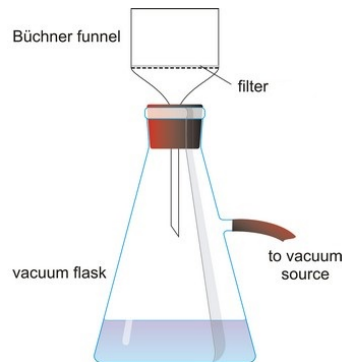
Η τεχνική αυτή βασίζεται στην διήθηση του καυσίμου με φίλτρα μεμβράνης χαμηλού πορώδους (0.8μm), κατάλληλο για την κατακράτηση σωματιδίων. Η διαδικασία αυτή με κατάλληλη προσαρμογή μπορεί να είναι εφαρμόσιμη και σε υδατική φάση. Πλεονέκτημα της μεθόδου μπορεί να θεωρηθεί η ικανότητα ανίχνευσης τόσο ενεργών όσο και αδρανών μικροοργανισμών, οι οποίοι δύνανται να προκαλέσουν φθορές στον μηχανολογικό εξοπλισμό, όπως τη φραγή φίλτρων. Ακόμη, από τη διαδικασία αυτή μπορούν να προσδιοριστούν και τα μη διαλυτά προϊόντα οξείδωσης του βιοντήζελ λόγω της μακράς αποθήκευσής του.

Στο σημείο αυτό, θα πρέπει να αναφερθεί ότι για το σχεδιασμό της παραπάνω μεθόδου για τις ανάγκες της μελέτης, μελετήθηκαν τα πρότυπα ASTM D 6217 – *Particulate Contamination in Middle Distillate Fuels by Laboratory Filtration*, ASTM D 6974 - *Standard Practice for Enumeration of Viable Bacteria and Fungi in Liquid Fuels- Filtration and Culture Procedures* και EN 12662 - *Determination of contamination in middle distillates*. Η τελευταία μάλιστα αποτελεί την πρότυπη μέθοδο προσδιορισμού των αιωρούμενων σωματιδίων (Total Contamination, mg/kg), όπως ορίζεται από το EN 590. Λαμβάνοντας υπόψιν τις πρακτικές που ακολουθούνται σύμφωνα με τα παραπάνω πρότυπα, έγινε ο σχεδιασμός της διάταξης, η επιλογή του όγκου προς διήθηση αλλά και ο τύπος του φίλτρου που χρησιμοποιήθηκε. Λόγω της μη προτυποποιημένης μορφής της διαδικασίας που ακολουθήθηκε, παρατίθεται αναλυτική παρουσίαση των επιμέρους βημάτων που έγιναν.

Εργαστηριακός εξοπλισμός:

- Χωνί διήθησης πορσελάνης διαμέτρου 47mm (τύπου Buchner)
- Φιάλη διήθησης 500ml
- Παλινδρομική αντλία κενού με ικανότητα μανομετρικού κενού -0,95barg (και μανόμετρο)

- Στεγανοποιητικά πώματα από πολυμερές
- Φίλτρα διήθησης από μεμβράνη nylon διαμέτρου 47mm και ονομαστικού πορώδους 0,8μm
- Διαχωριστική φιάλη 250ml
- Ογκομετρικοί κύλινδροι 100ml και 50ml
- Κανονικό επτάνιο τουλάχιστον 99% καθαρότητας
- 2 - προπανόνη τουλάχιστον 98,5% καθαρότητας
- Φούρνος θερμοκρασιακής ικανότητας άνω των 105 °C
- Τρυβλία petri
- Ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων
- Λαβίδα για την τοποθέτηση των φίλτρων



Σχήμα 8-1: Πειραματική διάταξη διήθησης μικροσωματιδίων.

Πειραματική διαδικασία:

- Το δείγμα εισάγεται στη διαχωριστική φιάλη με σκοπό το διαχωρισμό της υδατικής από τη φάση καυσίμου.
- Τα φίλτρα μεμβράνης τοποθετούνται για ξήρανση εντός τρυβλίων στο φούρνο με θερμοκρασία 105 °C για 20min και έπειτα καταγράφεται η αρχική μάζα τους σε γραμμάρια g (m0).
- Ένα φίλτρο 0.8μm εισάγεται στο χωνί Buchner και εφαρμόζεται κενό.
- Σταδιακά πραγματοποιείται η διήθηση του συνολικού όγκου του δείγματος (υδατική ή φάση καυσίμου).
- Τυχόν σωματίδια προσκολλημένα σε τοιχώματα των σκευών απομακρύνονται και εισάγονται στο χωνί διήθησης με τη βοήθεια μικρών ποσοτήτων καθαρής ακετόνης.
- Για την διήθηση της φάσης καυσίμου μετά το πέρας της διήθησης του δείγματος, χρησιμοποιούνται 30ml καθαρού επτανίου σε 3 δόσεις (των 10ml) για την απομάκρυνση του καυσίμου από το φίλτρο.
- Το κενό εφαρμόζεται για 2 ακόμη λεπτά για την πλήρη ξήρανση του φίλτρου.

- Το φίλτρο τοποθετείται στο τρυβλίο και εντός του φούρνου για 20min, και μετράται η τελική του μάζα (m1) σε g.
- Προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε στερεά σωματίδια από τον τύπο:

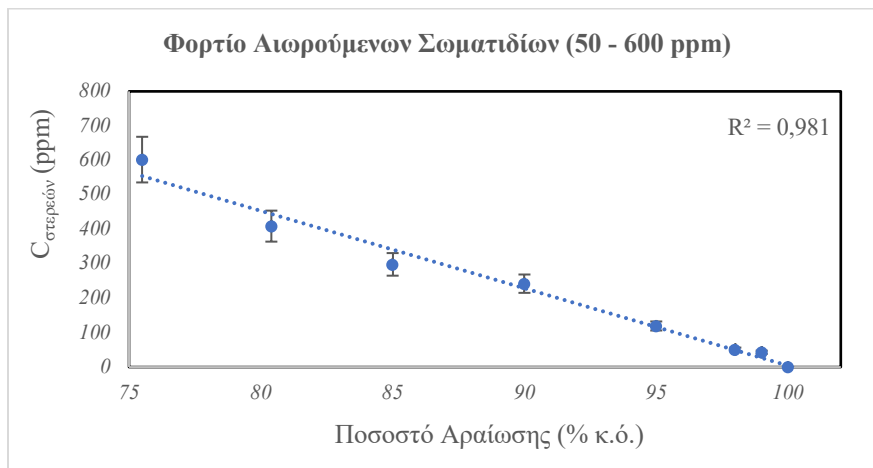
$$\text{Microbial Contamination} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{m1 - m0}{V} * 1E6$$

Όπου V ο όγκος του δείγματος σε ml.

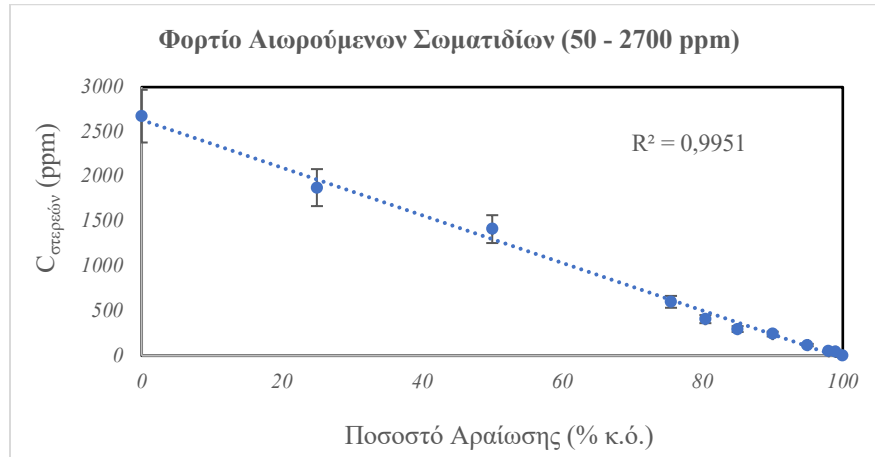
Αξιολόγηση της μεθόδου

Κατά την ανάπτυξη της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν διάφορες δοκιμές για την αξιοπιστία αυτής. Πρώτη δοκιμασία αποτέλεσε η αξιολόγηση κατακράτησης των σωματιδίων του υπό εξέταση δείγματος. Για αυτό το σκοπό πραγματοποιήθηκαν δοκιμές σε διάφορα φορτία και προέκυψε ότι επιτυγχάνεται κατακράτηση μεγαλύτερη του 90% της ενεργής βιολογικής μάζας. Τα παραπάνω ευρήματα επαληθεύτηκαν με την μέθοδο προσδιορισμού της τριφωσφορικής αδενοσίνης. Ακόμη, μελετήθηκε η γραμμικότητα της μεθόδου για διάφορα μικροβιακά φορτία, η οποία παρατηρείται ότι βρίσκεται σε αποδεκτά πλαίσια. Το ευρύς σωματιδιακού φορτίου για το οποίο πραγματοποιήθηκε η μελέτη είναι 50 – 2700 ppm (mg/L). Στα Σχήματα 8-2 και 8-3, αποτυπώνεται η γραμμικότητα της μεθόδου.

Σημειώνεται ότι στον οριζόντιο άξονα βρίσκεται το ποσοστό αραίωσης της πυκνής μικροβιακής φάσης που χρησιμοποιήθηκε για τον παραπάνω σκοπό. Η μικροβιακή αυτή φάση απομονώθηκε από επιμολυσμένη δεξαμενή ντήζελ κίνησης από πρατήριο υγρών καυσίμων στην περιοχή της Αττικής και με αραίωσή της σε διάφορα ποσοστά μελετήθηκε η γραμμικότητα της μεθόδου. Τέλος, ο μικροβιακός αυτός πληθυσμός χρησιμοποιήθηκε και για την επιμόλυνση των μικροκόσμων της παρούσας μελέτης.



Σχήμα 8-2: Ανάλυση γραμμικότητας μεθόδου προσδιορισμού σωματιδίων (50 - 600 ppm).



Σχήμα 8-3: Ανάλυση γραμμικότητας μεθόδου προσδιορισμού σωματιδίων (50 - 2700 ppm).

8.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

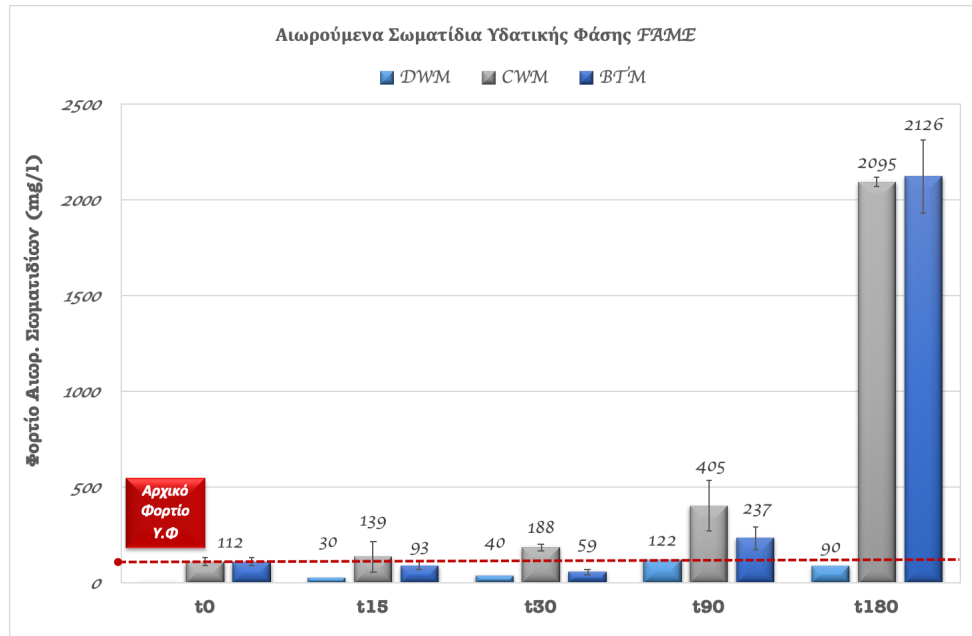
8.3.1 Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (t₀-t₁₈₀)

8.3.1.1 Προσδιορισμός του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων

Όπως αναφέρεται παραπάνω, η υδατική φάση - επιμολυσμένη (CWM, BTM) και μη (DWM) – του εκάστοτε υπό μελέτη μικρόκοσμου διαχωρίζεται από την αντίστοιχη οργανική φάση (καυσίμου) και προσδιορίζεται το φορτίο των σωματιδίων της εκάστοτε φάσης που κατακρατούνται στο μικροφίλτρο (0.8 μm).

Σύμφωνα με το Σχήμα 8-4, παρατηρείται ότι παρουσιάζεται αύξηση του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων σχεδόν σε όλους του μικρόκοσμους με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης. Ο μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης καταγράφεται στην περίπτωση των επιμολυσμένων μικρόκοσμων χωρίς παρουσία βιοκτόνου (CWM), με μία ραγδαία αύξηση να σημειώνεται μετά τις ενενήντα (90) ημέρες αποθήκευσης. Όσον αφορά στους μικρόκοσμους με την προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM), η αύξηση λαμβάνει χώρα με μικρότερους ρυθμούς σε σχέση με αυτή των CWM κατά τις πρώτες χρονικές περιόδους, ενώ στις εκατόν ογδόντα (t₁₈₀) ημέρες το φορτίο φαίνεται να είναι μεγαλύτερο. Με βάση το παραπάνω, υποδηλώνεται ότι πιθανόν η παρουσία του βιοκτόνου σε προληπτική δόση να αναστέλλει τη μικροβιακή δραστηριότητα για περίπου έναν μήνα διατηρώντας το φορτίο σχεδόν στο ίδιο επίπεδο με το αρχικό αλλά πέραν του ενός μηνός, η παρουσία του βιοκτόνου τουλάχιστον στην συγκεκριμένη συγκέντρωση, δεν είναι ικανή να εμποδίσει περαιτέρω την ανάπτυξη. Από την άλλη μεριά, μικρή αλλά σταδιακή αύξηση του φορτίου παρατηρείται και στη μη επιμολυσμένη υδατική φάση των DWM που μετά τις 90 ημέρες εμφανίζεται

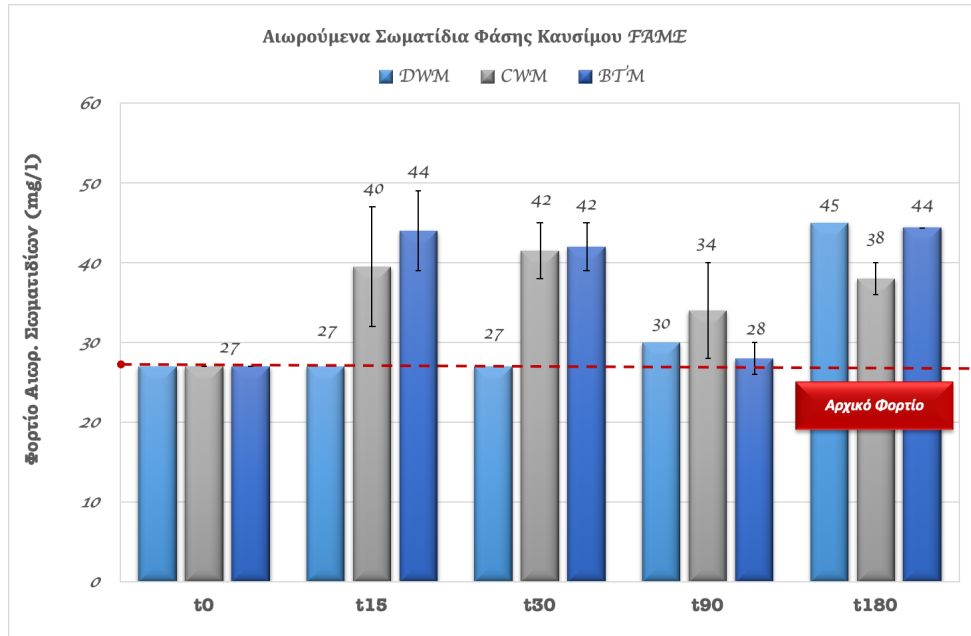
σχεδόν ίσο με το αρχικό φορτίο της επιμολυσμένης υδατικής φάσης, η οποία χρησιμοποιήθηκε για την επιμόλυνση των CWM και BTM. Αυτό πρακτικά υποδηλώνει ότι η παρουσία ακόμη και μη επιμολυσμένης υδατικής φάσης σε σύστημα καυσίμου δύναται να οδηγήσει στην πιθανή ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου.



Σχήμα 8-4: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην υδατική φάση των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

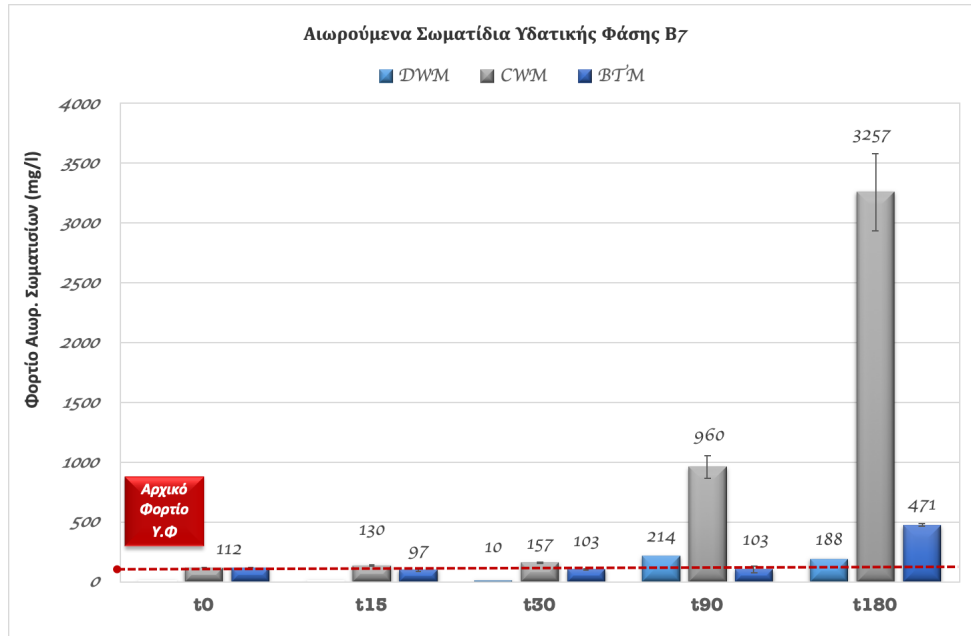
Η εξέλιξη της συγκέντρωσης των σωματιδίων της φάσης καυσίμου που κατακρατήθηκαν από το μικροφίλτρο (Σχήμα 8-5) παρουσιάζει μεν μια αύξηση περίπου 50% από τις πρώτες κιόλας 15 ημέρες αποθήκευσης στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους – CWM και BTM – αλλά μέχρι το πέρας της αποθήκευσης το φορτίο φαίνεται να παραμένει σταθερό. Αντιθέτως, μεγάλη αύξηση παρατηρείται και στο φορτίο της οργανικής φάσης του μη επιμολυσμένου μικροκόσμου (DWM) στο τέλος της αποθήκευσης. Το τελευταίο επαληθεύεται και με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν αντίστοιχα από την υδατική φάση του ίδιου μικρόκοσμου.

Όπως φαίνεται από το Σχήμα 8-5, η μικροβιακή ανάπτυξη της υδατικής φάσης πιθανό να επηρεάζει και την οργανική φάση, αυξάνοντας τη συγκέντρωση αυτής σε σωματίδια που έχει ως συνέπεια την εμφάνιση των ανεπιθύμητων φαινομένων που λαμβάνουν χώρα στο μηχανολογικό εξοπλισμό που απαρτίζουν τα συστήματα καυσίμων.

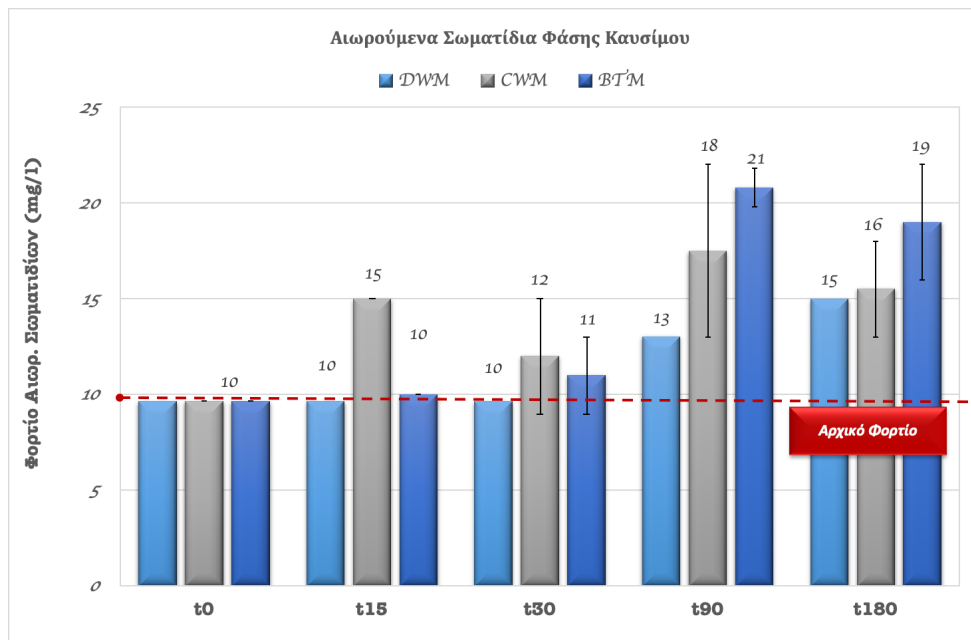


Σχήμα 8-5: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στη φάση καυσίμου των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

Παρόμοια με παραπάνω, ανάλογη μελέτη έγινε και στο μίγμα B7. Σύμφωνα με το Σχήμα 8-6, ο μεγαλύτερος ρυθμός ανάπτυξης του φορτίου καταγράφεται στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους χωρίς βιοκτόνο ειδικά μετά από τις 90 ημέρες, όπως και στην περίπτωση του FAME. Ειδικότερα, στην t₉₀ το φορτίο εμφανίζεται να είναι σχεδόν διπλάσιο από το αντίστοιχο στους CWM του FAME και στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης η συγκέντρωση των σωματιδίων στην υδατική φάση παρουσιάζεται κατά 183% αυξημένη σε σχέση με αυτή του FAME. Από την άλλη μεριά, οι μικρόκοσμοι που περιέχουν την προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM) παρουσίασαν χαμηλή σχετικά συγκέντρωση αδιάλυτων στερεών μέχρι τις ενενήντα (90) ημέρες, ενώ κατά το τέλος της αποθήκευσης το μικροβιακό φορτίο είναι κατά 75% χαμηλότερο από το αντίστοιχο των μικρόκοσμων FAME. Η προληπτική δόση του βιοκτόνου σε συστήματα καυσίμων B7 φαίνεται να είναι δραστικότερη από ότι στο αμιγές βιοντήζελ, το οποίο βάσει βιβλιογραφίας (Zimmer, et al., 2013) είναι επιδεκτικότερο της μικροβιακής ανάπτυξης. Τέλος, στις t₉₀ και t₁₈₀ εμφανίστηκε ανάπτυξη του φορτίου και στις υδατικές φάσεις των μικρόκοσμων με απεσταγμένο νερό (DWM), το οποίο και στις δύο περιπτώσεις ήταν κατά 50% μεγαλύτερο από το αντίστοιχο των μικρόκοσμων που έφεραν ως οργανική φάση καθαρό FAME.



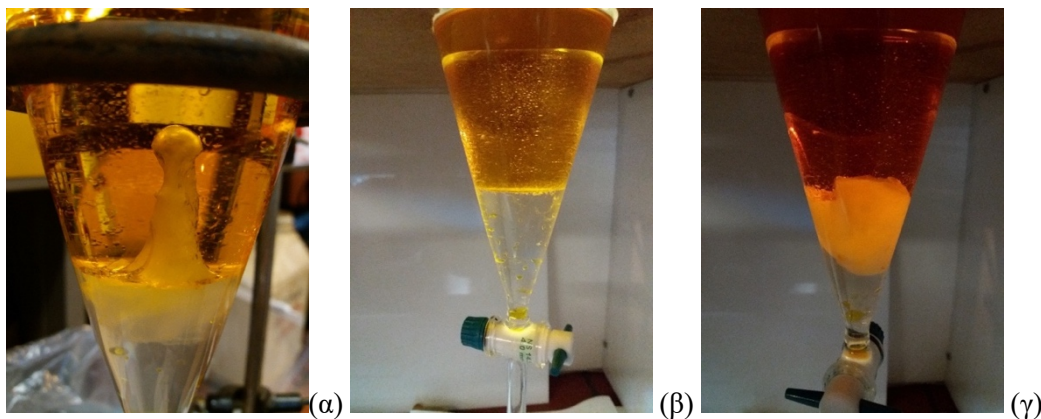
Σχήμα 8-6: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην υδατική φάση των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.



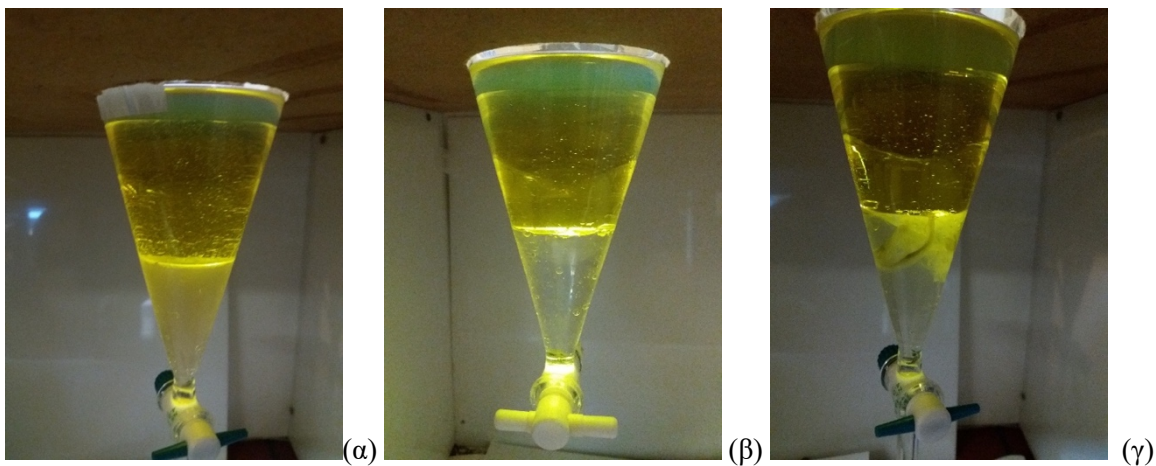
Σχήμα 8-7: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στη φάση καυσίμου των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

Σε γενικές γραμμές, οι φάσεις καυσίμου των μικροβιακά επιμολυσμένων μικρόκοσμων με B7 (CWM) κατακρατούν από τις πρώτες κιόλας 15 ημέρες τα σωματίδια της υδατικής φάσης, με μία ταυτόχρονη

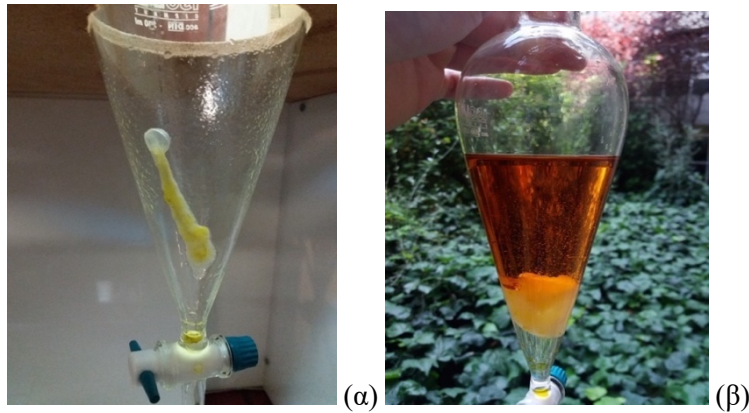
αύξηση της περιεκτικότητας του καυσίμου σε στερεά κατά 50% περίπου της αρχικής τιμής, περί τα 15 ppm. Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των σωματιδίων στη φάση καυσίμου σχεδόν διπλασιάζεται. Όσον αφορά στους μικρόκοσμους με προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM), για μικρό διάστημα αποθήκευσης - μέχρι τριάντα (30) ημέρες - το σωματιδιακό φορτίο του καυσίμου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα και σχεδόν ίσο με το αρχικό. Παρόλα αυτά, στο μετέπειτα διάστημα αποθήκευσης παρατηρείται μία σημαντική αύξηση στο μικροβιακό φορτίο του καυσίμου, η οποία είναι σχεδόν στα ίδια επίπεδα με αυτή των μικρόκοσμων άνευ βιοκτόνου, και επομένως, η προληπτική δόση βιοκτόνου θεωρείται μη ικανή για την οριστική αντιμετώπιση της επιμόλυνσης. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που αφορούν την υδατική φάση του DWM με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης φαίνεται να είναι αντίστοιχα και αυτά της φάσης καυσίμου, της οποίας το φορτίο σταδιακά αυξάνεται και στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης είναι σχεδόν ίσο με το αυτό των επιμολυσμένων μικρόκοσμων.



Εικόνα 8-1: Μικρόκοσμοι με FAME μετά από χρόνο αποθήκευσης 180 ημερών (DWM, CWM και BTM από τα αριστερά προς τα δεξιά αντίστοιχα).



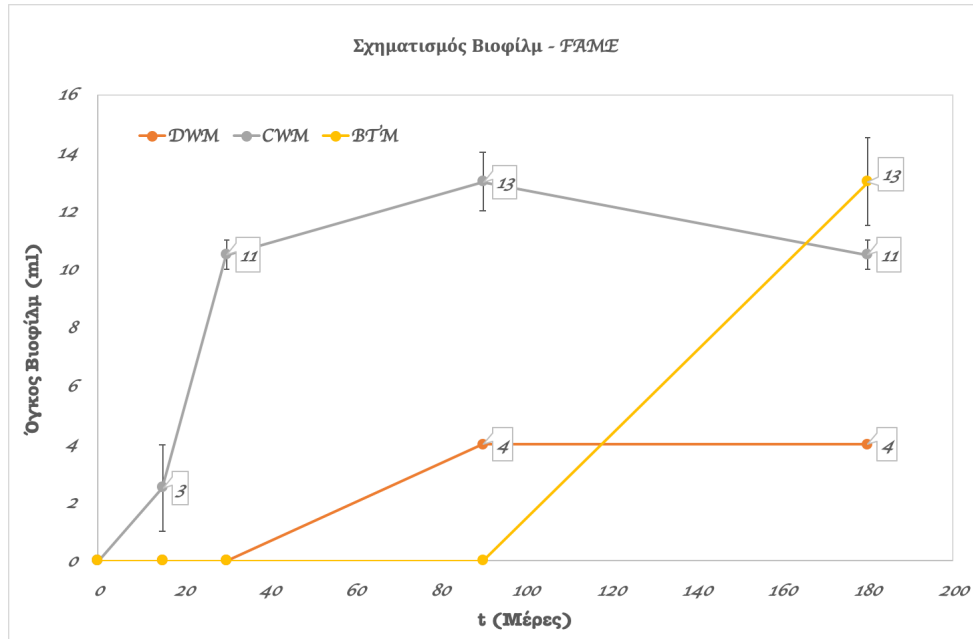
Εικόνα 8-2: Μικρόκοσμοι με B7 μετά από χρόνο αποθήκευσης 180 ημερών (DWM, CWM και BTM από τα αριστερά προς τα δεξιά αντίστοιχα).



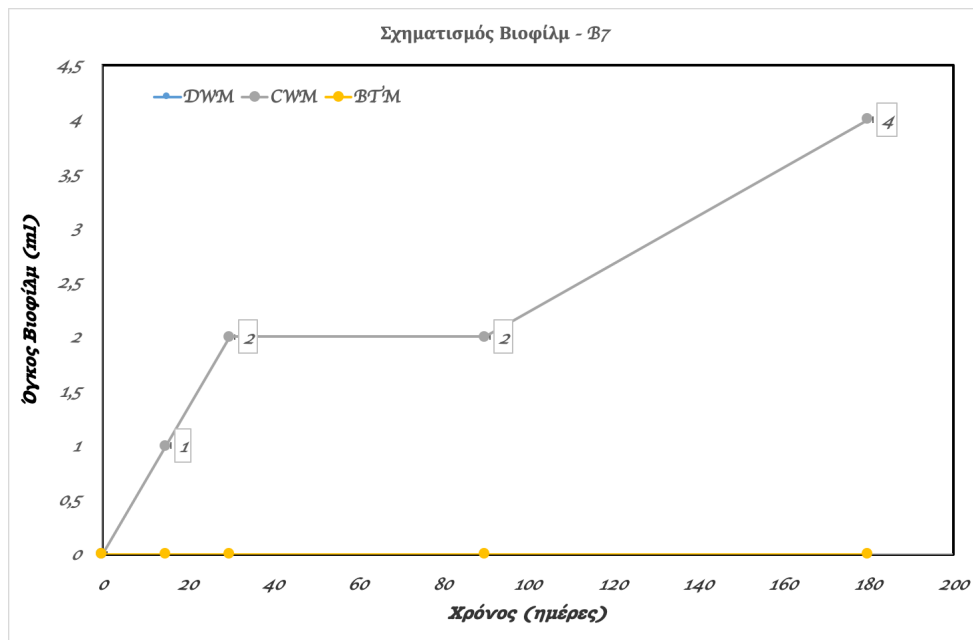
Εικόνα 8-3: Προσκόλληση μικροβιακού συσσωματώματος στα τοιχώματα διαχωριστικής φιάλης (FAME CWM - αριστερά), κατακράτηση υγρασίας εντός της φάσης καυσίμου (FAME BTM - δεξιά).

Ο σχηματισμός βιοφίλμ σε επιμολυσμένα συστήματα καυσίμου αποτελεί έναν κρίσιμο παράγοντα ποιότητας του καυσίμου. Ενώ παραπάνω εξετάζεται η μικροβιακή σταθερότητα των μικρόκοσμων μέσω διήθησης των υδατικών φάσεων χρήσει φίλτρου μεμβράνης πορώδους 0,8 μm , ακολούθως καταμετράται ο όγκος του σχηματιζόμενου βιοφίλμ των μικρόκοσμων πριν γίνει ο διαχωρισμός των δύο φάσεων. Η σημασία του τελευταίου γίνεται φανερή από την κολλοειδή φύση του βιοφίλμ, που θεωρείται άμεσα συνδεδεμένη με την απόφραξη φίλτρων καυσίμου και γενικότερες βλάβες μηχανολογικού εξοπλισμού (εναποθέσεις σε αγωγούς μεταφοράς και δυσκολίες ροής). Τα παραπάνω αποτελέσματα αποτυπώνονται στα Σχήματα 8-8 και 8-9.

Ο σχηματισμός βιοφίλμ βρέθηκε να είναι ευκολότερος στην περίπτωση του FAME σε σχέση με το B7, το οποίο είναι και σε συμφωνία και με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Passman, 2013). Η παρουσία προληπτικής δόσης βιοκτόνου (BTM) ανέστειλε την δημιουργία βιοφίλμ για το πρώτο διάστημα αποθήκευσης (μέχρι ενενήντα ημέρες), χωρίς όμως να μπορέσει να αποτρέψει και τον τελικό σχηματισμό του στις εκατόν ογδόντα (180) ημέρες αποθήκευσης, όπου ο όγκος του βιοφίλμ βρέθηκε στα ίδια επίπεδα με τους επιμολυσμένους μικρόκοσμους (CWM). Στην περίπτωση του B7, ο σχηματισμός του βιοφίλμ έγινε αντιληπτός μόνο για τους επιμολυσμένους μικρόκοσμους (CWM) σε επίπεδα αρκετά χαμηλότερα από αυτά του FAME. Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρούνται και σε παρόμοια έρευνα (Bücker F., 2017), όπου ο σχηματισμός βιοφίλμ ήταν εντονότερος στην περίπτωση του καθαρού βιοντήζελ (B100) σε σχέση με τα μίγματα B5 και B10 σε όλη τη χρονική περίοδο αποθήκευσης. Τέλος, στους μικρόκοσμους με μη επιμολυσμένη υδατική φάση (DWM), δεν ήταν τελικά δυνατή η δημιουργία βιοφίλμ στο εξεταζόμενο διάστημα της παρούσας μελέτης.



Σχήμα 8-8: Εξέλιξη του σχηματισμού βιοφίλμ των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.



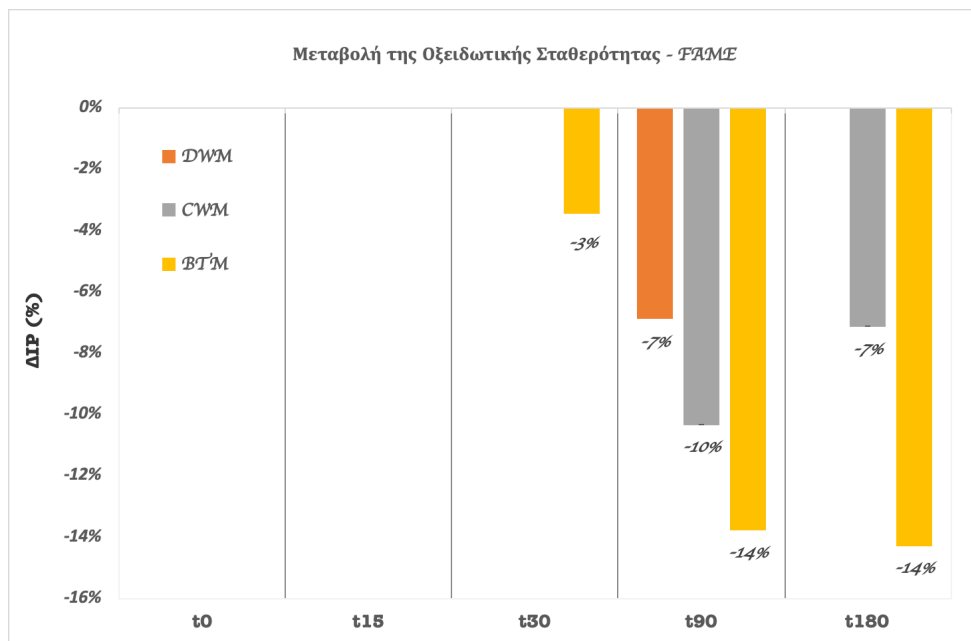
Σχήμα 8-9: Εξέλιξη του σχηματισμού βιοφίλμ των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

8.3.1.2 Οξειδωτική Σταθερότητα

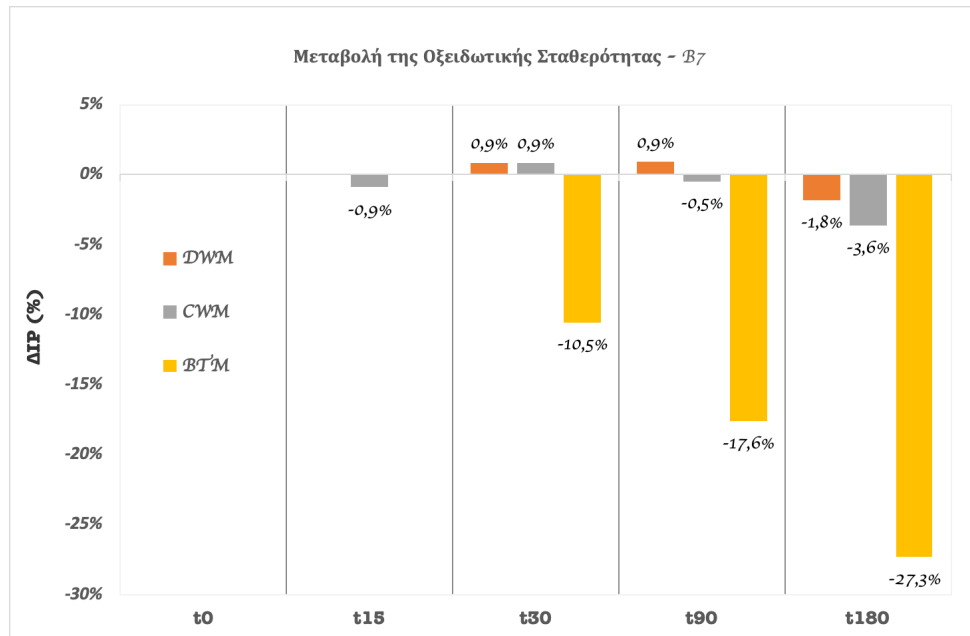
Η οξειδωτική σταθερότητα των μικρόκοσμων παρουσίασε σε γενικές γραμμές πτωτική τάση κατά τη διάρκεια της αποθηκευτικής περιόδου. Η ποιοτική υποβάθμιση λόγω της μικροβιακής επιμόλυνσης, αλλά

και γενικότερα των περιβαλλοντικών συνθηκών, οδήγησε στη μείωση του χρόνου επαγωγής βάσει της RSSOT μεθόδου.

Σύμφωνα με τα ευρήματα των Σχημάτων 8-10 και 8-11, οι χρόνοι επαγωγής της φάσης καυσίμου των επιμολυσμένων FAME μικρόκοσμων παρουσίασαν μεγαλύτερη μείωση σε σχέση με τους αντίστοιχους των B7 ενώ ελάχιστες μεταβολές παρατηρήθηκαν σε όλους τους DWM μικρόκοσμους. Η μεγαλύτερη μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας, σύμφωνα με τη μέθοδο προσδιορισμού RSSOT, εντοπίστηκε στους μικρόκοσμους BTM, όπου στην περίπτωση του FAME παρατηρήθηκε μια μείωση της τάξης του 14% από τις 90 ημέρες ενώ ακόμα μεγαλύτερη (27%), με σταδιακή αύξηση έως το τέλος του χρόνου αποθήκευσης, καταγράφεται στους B7.



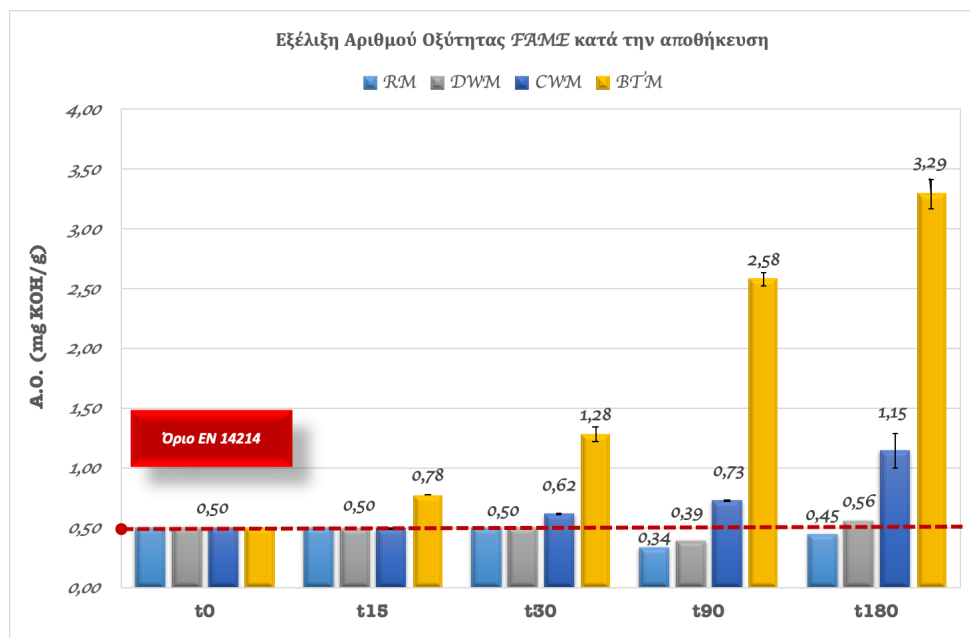
Σχήμα 8-10: Μεταβολή της οξειδωτικής σταθερότητας των FAME μικρόκοσμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με την μέθοδο ASTM D7545. Η μεταβολή του χρόνου επαγωγής προκύπτει από την ποσοστιαία μεταβολή του χρόνου επαγωγής σε σχέση με αυτόν των RM μικρόκοσμων ($\Delta IP(\%) = [(IP_x - IPRM) / IPRM] \times 100$).



Σχήμα 8-11: Μεταβολή της οξειδωτικής σταθερότητας των B7 μικρόκοσμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με την μέθοδο ASTM D7545. Η μεταβολή του χρόνου επαγωγής προκύπτει από την ποσοστιαία μεταβολή του χρόνου επαγωγής σε σχέση με αυτόν των RM μικρόκοσμων ($\Delta IP (\%) = [(IPx - IPRM) / IPRM] \times 100$).

8.3.1.3 Αριθμός Οξύτητας

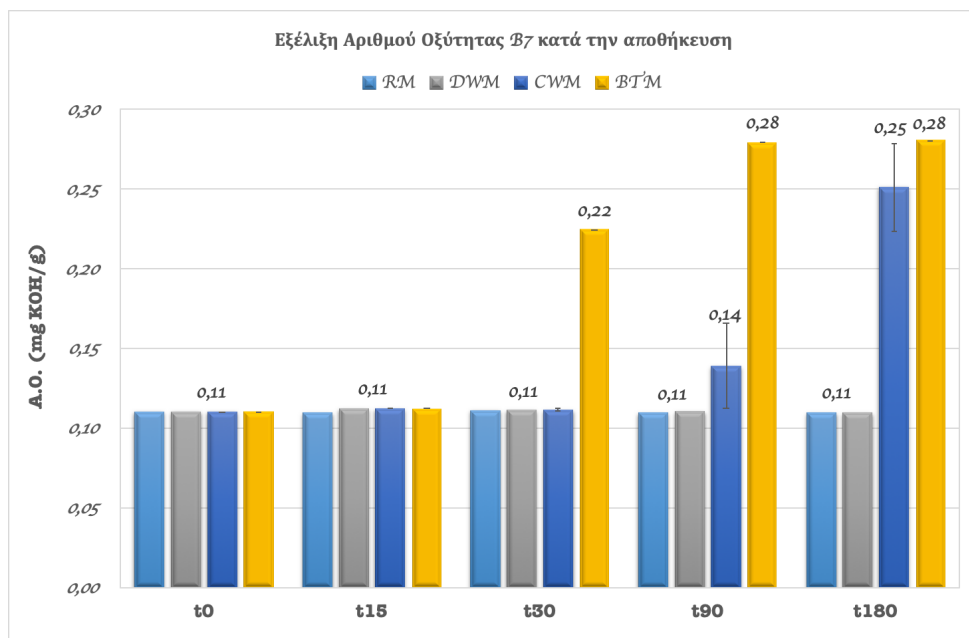
Η αρχική τιμή του αριθμού οξύτητας του εξεταζόμενου FAME ήταν ίση με 0.50 mg KOH/ml, στο ανώτατο όριο δηλαδή που ορίζει το EN 14214. Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, κατά την αποθήκευση του βιοντήζελ αναμένεται αύξηση του αριθμού οξύτητάς του. Παρόλα αυτά, ο αριθμός οξύτητας του καυσίμου αναφοράς (RM) κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των εκατόν ογδόντα (180) ημερών παρέμεινε σχεδόν στα ίδια επίπεδα. Παρόμοια, σχετικά σταθερή παρέμεινε και η οξύτητα των DWM μικρόκοσμων, εμφανίζοντας μόνο μία μικρή αύξηση κατά 10% στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης. Η παρουσία μικροβιακά επιμολυσμένης υδατικής φάσης CWM, είχε ως αποτέλεσμα την σταδιακή αύξηση της οξύτητας. Τελικώς, ο αριθμός οξύτητας των CWM βρέθηκε αυξημένος κατά 230%, οπότε και εκτός της αντίστοιχης προδιαγραφής. Η χρήση προληπτικής δόσης βιοκτόνου προκάλεσε την άμεση αύξηση, από τις πρώτες κιόλας μέρες του χρόνου αποθήκευσης, του αριθμού οξύτητας του καυσίμου, η οποία λάμβανε ολοένα και μεγαλύτερες τιμές κατά το πέρασμα του χρόνου. Η τελική τιμή βρέθηκε να είναι κατά 660% αυξημένη, γεγονός το οποίο σηματοδοτεί υποψίες φθοράς και διάβρωσης του μηχανολογικού εξοπλισμού σε περίπτωση χρήσης του καυσίμου.



Σχήμα 8-12: Εξέλιξη του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

Σε γενικές γραμμές, ο αριθμός οξύτητας στο B7 είναι αρκετά χαμηλότερος σε σχέση με του FAME. Σύμφωνα με το Σχήμα 8-12, η οξύτητα των καυσίμων στους RM και DWM δεν φαίνεται να μην επηρεάστηκαν σε όλη της διάρκεια της αποθήκευσης. Αντιθέτως, στους CWM παρουσιάστηκε μία αύξηση μετά τις ενενήντα (90) ημέρες αποθήκευσης, με την τελική τιμή να βρίσκεται περίπου δύο (2) φορές μεγαλύτερη από την αρχική. Παρόμοια αύξηση παρουσιάζεται και στους BTM, η οποία παρατηρήθηκε από τις τριάντα (30) κιόλας ημέρες.

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι το MBO συνδιαλυτοποιείται και στις δύο φάσεις – οργανική και υδατική - κατά την ισορροπία πιθανό να πραγματοποιείται μεταφορά μάζας μεταξύ των δύο φάσεων. Ως εκ τούτου, μέρος της επιμολυσμένης υδατικής φάσης ενδεχομένως να συναντάται στην οργανική φάση με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού οξύτητας των καυσίμων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η ουσία MBO (Siegert, 2013; de Goede, et al., 2015) είναι περισσότερο διαλυτή σε FAME από ότι στο συμβατικό ντήζελ (άρα και στο B7), οπότε μεγαλύτερο μέρος της επιμολυσμένης υδατικής φάσης μεταφέρεται στη μάζα του καυσίμου και οδηγεί σε περαιτέρω αύξηση του αριθμού οξύτητάς του, το οποίο είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που φαίνονται στα Σχήματα 8-12 και 8-13.



Σχήμα 8-13: Εξέλιξη του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

8.3.2 Τέλος Αποθήκευσης (t₁₈₀)

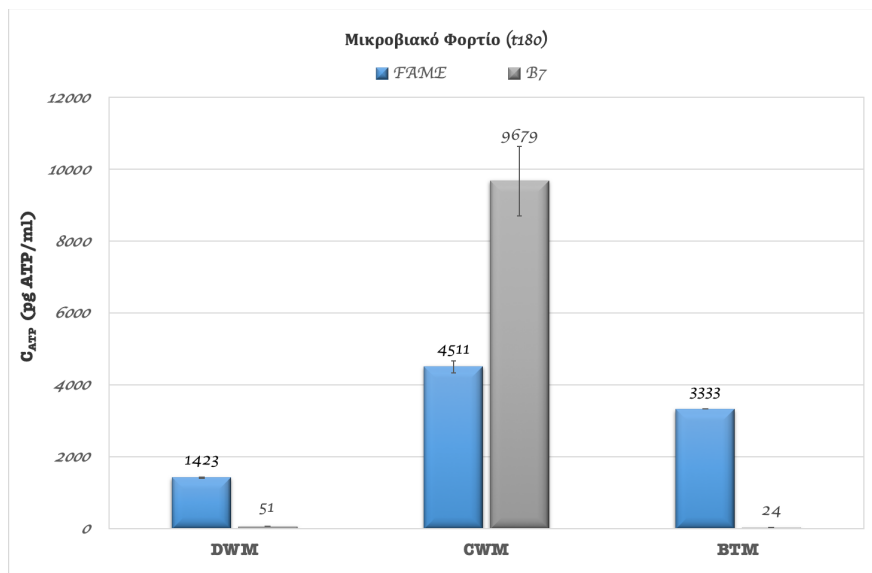
8.3.2.1 Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP)

Παράλληλα με τη μέθοδο διήθησης, πραγματοποιήθηκε και ο προσδιορισμός του μικροβιακού φορτίου της υδατικής φάσης των μικροκόσμων, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης (t₁₈₀) βάσει της μεθόδου προσδιορισμού της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ASTM D7687-11). Με τη μέθοδο αυτή είναι δυνατή η ποσοτικοποίηση της ενεργής μικροβιακής δραστηριότητας τόσο στην υδατική όσο και στη φάση καυσίμου. Από την άλλη, υστερεί της μεθόδου διήθησης ως προς την αδυναμία προσδιορισμού των αδρανών μικροοργανισμών, των οποίων η μάζα παρόλα αυτά μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην εφοδιαστική αλυσίδα του καυσίμου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP στην υδατική φάση των μικροκόσμων που απεικονίζονται στο Σχήμα 8-14 εμφανίζεται μια σχετικά καλή συσχέτιση με τη μέθοδο διηθήσεως. Συγκεκριμένα, στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους χωρίς παρουσία βιοκτόνου (CWM) η μεγαλύτερη συγκέντρωση ενεργής μικροβιακής δραστηριότητας καταγράφεται στην περίπτωση του B7 έναντι του FAME, το οποίο συνάδει και με το φορτίο που καταγράφηκε από τη διήθηση στις 180 ημέρες αποθήκευσης. Ανάλογη τάση παρατηρείται και στην περίπτωση των BTM μικροκόσμων, όπου στο FAME

η βιοκτόνος δράση δεν ήταν ικανή για να εμποδίσει την μικροβιακή δραστηριότητα, και ως εκ τούτου τα προϊόντα αυτής, ενώ η προληπτική δόση του βιοκτόνου στο μίγμα B7 οδήγησε αποτελεσματικά στον περιορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας. Αξιόλογο μικροβιακό φορτίο προσδιορίστηκε δε στην περίπτωση της μη επιμολυσμένης υδατικής φάσης του FAME (DWM) παρόλο που το φορτίο ήταν μικρότερο από αυτό του B7. Αυτό πιθανό να οφείλεται στο γεγονός ότι το FAME στα αρχικά στάδια της μικροβιακής ανάπτυξης αποτελεί ιδανικότερο υπόστρωμα έναντι του B7. Πρέπει να επισημανθεί ότι ο μικροβιακός πληθυσμός που εντοπίστηκε στους DWM πιθανό να διαφέρει από αυτόν που υπάρχει στις επιμολυσμένες φάσεις των CWM και BTM και γι' αυτό το λόγο στην περίπτωση των CWM η ανάπτυξη αυτού ευνοήθηκε περισσότερο από την παρουσία του B7 και λιγότερο από του FAME.

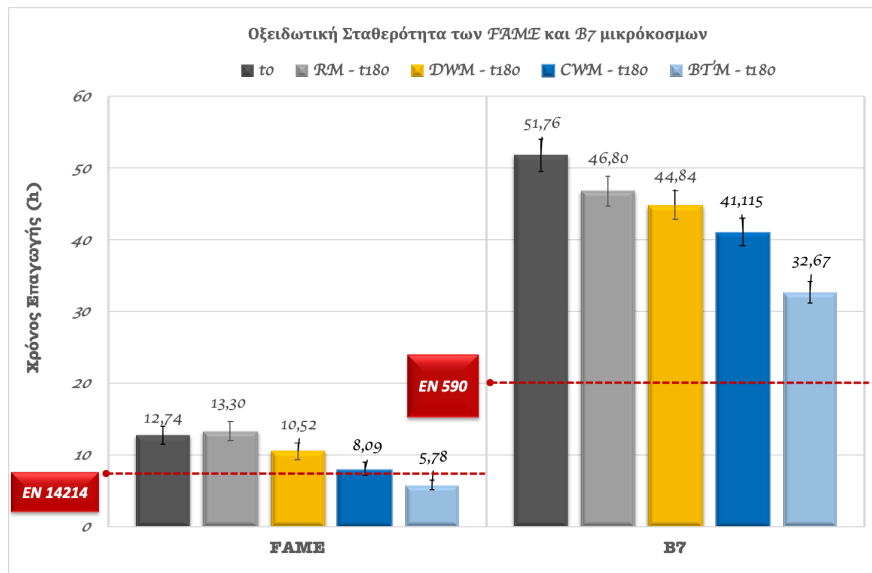
Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την καταγραφή του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στους DWM μικρόκοσμους φαίνεται να είναι σε συμφωνία με την ASTM μέθοδο D7687-11 που επιβεβαιώνει την ύπαρξη ενεργών μικροοργανισμών στην υδατική φάση. Παρόλα αυτά, ενώ το FAME διατηρεί το χαμηλότερο φορτίο σωματιδίων (90 ppm), η μέθοδος ASTM δηλώνει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ATP (1423 pgATP/ml) σε σύγκριση με τους μικρόκοσμους DWM με B7. Με γνώμονα το τελευταίο, μπορεί να διαπιστωθεί ότι ενώ η μέθοδος ATP υποδεικνύει περιορισμένη μικροβιακή δραστηριότητα ενεργών πληθυσμών για το καύσιμο B7, η μέθοδος διήθησης προσμετρά σημαντικές ποσότητες ανενεργών πληθυσμών. Η προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM) βρέθηκε ικανή για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών σε σχετικά χαμηλά επίπεδα στο καύσιμο B7 εν αντιθέσει με την περίπτωση του FAME.



Σχήμα 8-14: Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων κατά το πέρασμα του χρόνου αποθήκευσης.

8.3.2.2 Οξειδωτική Σταθερότητα

Η οξειδωτική σταθερότητα των μικρόκοσμων υπολογίστηκε και με τη μέθοδο Rancimat (EN 15751 – EN 14112) στην αρχή και στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης. Σύμφωνα με το Σχήμα 8-15, το FAME πιθανότατα να περιείχε αντιοξειδωτικό πρόσθετο, οπότε και σύμφωνα με τη μέθοδο Rancimat ο χρόνος επαγωγής του μικρόκοσμου RM παρέμεινε σχετικά αμετάβλητος στο διάστημα των έξι (6) μηνών. Η ύπαρξη υδατικής φάσης απεσταγμένου νερού (DWM) οδήγησε στη μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας και στην ποιοτική υποβάθμιση του FAME που ενδεχομένως να οφείλεται και στην μικροβιακή ανάπτυξη που παρατηρήθηκε στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης. Στους CWM μικρόκοσμους, η ποιοτική υποβάθμιση λόγω της οξείδωσης ήταν εντονότερη, με αποτέλεσμα τη μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας στο όριο της προδιαγραφής (8 h) που ορίζεται από το πρότυπο EN 14214. Η παρουσία του βιοκτόνου στους BTM μικρόκοσμους φαίνεται πως υποβαθμίζει την οξειδωτική σταθερότητα του καυσίμου, θέτοντας το καύσιμο σαφώς εκτός προδιαγραφής. Το τελευταίο είναι σε συμφωνία και με τα αποτελέσματα από τη μέθοδο RSSOT.



Σχήμα 8-15: Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας των αποθηκευμένων μικρόκοσμων με FAME και B7 μετά από 180 ημέρες αποθήκευσης βάσει τις μεθόδους EN 14112 και 15751, αντίστοιχα.

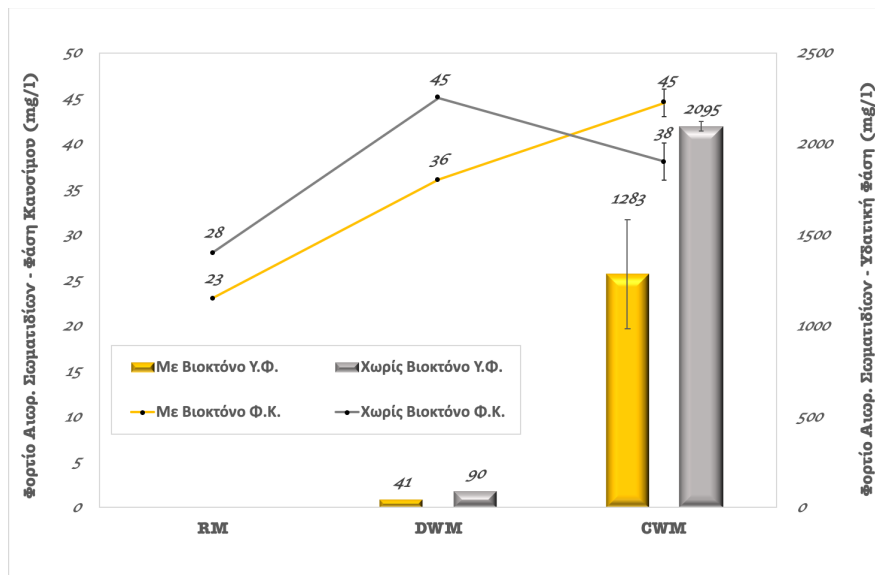
Παρόμοια τάση με αυτή του FAME φαίνεται να παρουσιάζει και το B7. Ειδικότερα, η οξειδωτική σταθερότητα όλων των μικρόκοσμων με B7 μειώθηκε εμφανώς κατά την αποθήκευση, χωρίς βέβαια να βρεθεί κάτω από το όριο των 20 h που ορίζει το πρότυπο EN 590. Η μείωση του μικρόκοσμου αναφοράς RM βρέθηκε στο -9% της αρχικής τιμής, ενώ του μικρόκοσμου DWM στο -13%. Με βάση το τελευταίο, και στην περίπτωση του B7, η σταδιακή ανάπτυξη μικροοργανισμών στο απεσταγμένο νερό πιθανό να συνδέεται με την οξειδωτική υποβάθμιση του καυσίμου. Παρόμοια με τον DWM, μείωση του χρόνου

επαγωγής (-20%) σημειώθηκε και στους μικρόκοσμους με επιμολυσμένη υδατική φάση (CWM). Επιπρόσθετα, παρά τη μερική αδρανοποίηση των μικροοργανισμών που επιτυγχάνει η προληπτική παρουσία βιοκτόνου, καταγράφηκε σημαντική μείωση της τάξης του 37% στο χρόνο επαγωγής.

8.3.3 Διορθωτική Ενέργεια

8.3.3.1 Προσδιορισμός του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων

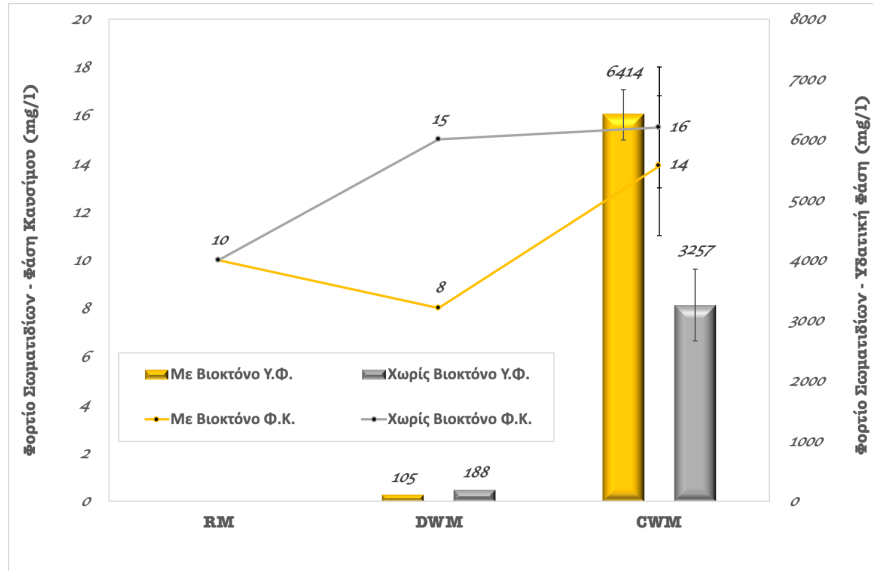
Στην παρούσα παράγραφο, παρουσιάζεται η μικροβιακή σταθερότητα των μικρόκοσμων έπειτα από την προσθήκη υψηλής συγκέντρωσης βιοκτόνου (1000 ppm) την t_{180} ενώ είχαν αποθηκευτεί για έξι μήνες χωρίς να περιέχουν βιοκτόνο ουσία. Παράλληλα, τα αποτελέσματα συγκρίνονται με τα αντίστοιχα που προέκυψαν στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης (t_{180}) από τους μικρόκοσμους που δεν περιείχαν βιοκτόνο (CWM). Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η εξέταση αφενός της συγκέντρωσης των αιωρούμενων σωματιδίων και του ενεργού μικροβιακού φορτίου των επιμολυσμένων μικροκόσμων και αφετέρου η σύγκριση αυτών αντίστοιχα με τους CWM, ώστε να αξιολογηθεί η διορθωτική αυτή ενέργεια, η οποία χρησιμοποιείται επί το πλείστον στην εφοδιαστική αλυσίδα του ντήζελ/βιοντήζελ.



Σχήμα 8-16: Προσδιορισμός του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων, τόσο της υδατικής όσο και της φάσης καυσίμου, στους μικρόκοσμους με FAME κατόπιν διορθωτικής δράσης στο τέλος της αποθήκευσης.

Στο Σχήμα 8-16, παρατηρείται ότι παρά την προσθήκη ισχυρής συγκέντρωσης βιοκτόνου, το φορτίο των σωματιδίων της υδατικής φάσης, αλλά και της φάσης καυσίμου, παρέμειναν σε σχετικά υψηλά επίπεδα, θέτοντας την πρακτική αυτή υπό αμφισβήτηση. Από την άλλη μεριά, το φορτίο των αιωρούμενων σωματιδίων στους μικρόκοσμους με προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM) στις 180 ημέρες αποθήκευσης βρέθηκε κατά 1,6 φορές υψηλότερο από το αντίστοιχο των μικρόκοσμων που εξετάστηκαν κατόπιν

διορθωτικής δράσης, γεγονός που υποδηλώνει για ακόμη μια φορά ότι η προληπτική χρήση βιοκτόνου στην εξεταζόμενη συγκέντρωση στα συστήματα με FAME δεν επαρκεί για την αντιμετώπιση της μικροβιακής δραστηριότητας στην περίοδο των 6 μηνών.



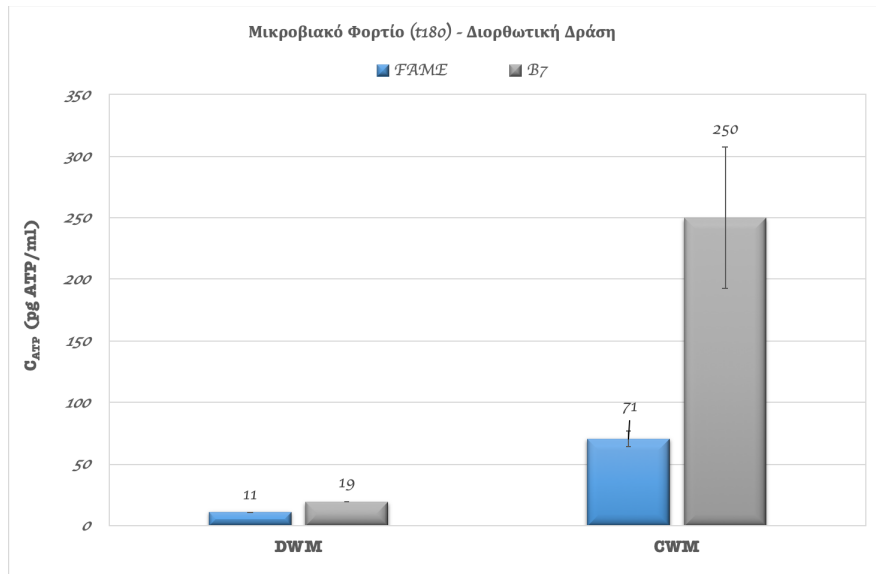
Σχήμα 8-17: Προσδιορισμός του φορτίου των αιώρουμένων σωματιδίων, τόσο της υδατικής όσο και της φάσης καυσίμου, στους μικρόκοσμος με B7 κατόπιν διορθωτικής δράσης στο τέλος της αποθήκευσης.

Στην περίπτωση των B7 μικρόκοσμων παρατηρείται ότι η προσθήκη ισχυρής δόσης βιοκτόνου σε ήδη επιβαρυσμένο μικροβιακό σύστημα δεν επιφέρει καμία αλλαγή και η ενέργεια αυτή καθ' αυτή κρίνεται ιδιαίτερα αναποτελεσματική. Μάλιστα αξίζει να σημειωθεί ότι το φορτίο των αντίστοιχων BTM μικρόκοσμων, όπως αυτό προσδιορίστηκε τη t_{180} , βρέθηκε κατά 13 φορές χαμηλότερο από αυτό όπου έγινε εφαρμογή του βιοκτόνου στην υψηλή συγκέντρωση των 1000 ppm. Αυτό πρακτικά υποδηλώνει ότι για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, η χρήση του βιοκτόνου θα πρέπει να γίνεται προτού αυτή λάβει χώρα και με απώτερο στόχο την πρόληψη αυτής.



Εικόνα 8-4: Μικρόκοσμοι CWM με B7 κατόπιν διορθωτικής δράσης.

8.3.3.2 Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP)



Σχήμα 8-18: Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων κατόπιν διορθωτικής δράσης.

Η εισαγωγή ισχυρής δόσης βιοκτόνου μείωσε σε μεγάλο βαθμό τη συγκέντρωση της τριφωσφορικής αδενοσίνης της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων, η οποία στις περισσότερες περιπτώσεις βρέθηκε μικρότερη σε σχέση με τους μικρόκοσμους απουσία βιοκτόνου (CWM). Παρόλ' αυτά, η προσθήκη βιοκτόνου ακόμα και σε μεγάλη συγκέντρωση των 1000 ppm φαίνεται να μην είναι επαρκής για την καταστολή της ανάπτυξης των ενεργών μικροοργανισμών. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη θεωρία ανάπτυξης των μικροοργανισμών – γενικότερα - οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι εναπομείναντες ενεργοί μικροβιακοί πληθυσμοί βρίσκονται πλέον στο ιδανικό περιβάλλον ανάπτυξης. Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (O. Levenspiel, 2011) η ανάπτυξη των μικροοργανισμών ευνοείται από την απουσία παρεμποδιστών, όπως υψηλή συγκέντρωση των ίδιων.

Λαμβάνοντας υπόψιν τα αποτελέσματα που προέκυψαν τόσο από τη μέθοδο διήθησης όσο και από τη μέθοδο ASTM D7687-11 μετά την εφαρμογή της διορθωτικής ενέργειας, συμπεραίνεται ότι η χρήση βιοκτόνων ως μέθοδο αντιμετώπισης της μικροβιακής επιμόλυνσης αναστέλλει μερικώς την δράση των ενεργών μικροοργανισμών αλλά, παρόλα αυτά, δεν σημειώνεται μείωση των σωματιδίων το οποίο μπορεί να επιφέρει ανεπιθύμητες συνέπειες.

Πίνακας 8-6: Συγκριτικός πίνακας μικροβιακής δραστηριότητας για διαφορετικές εφαρμογές βιοκτόνου στις 180 ημέρες αποθήκευσης.

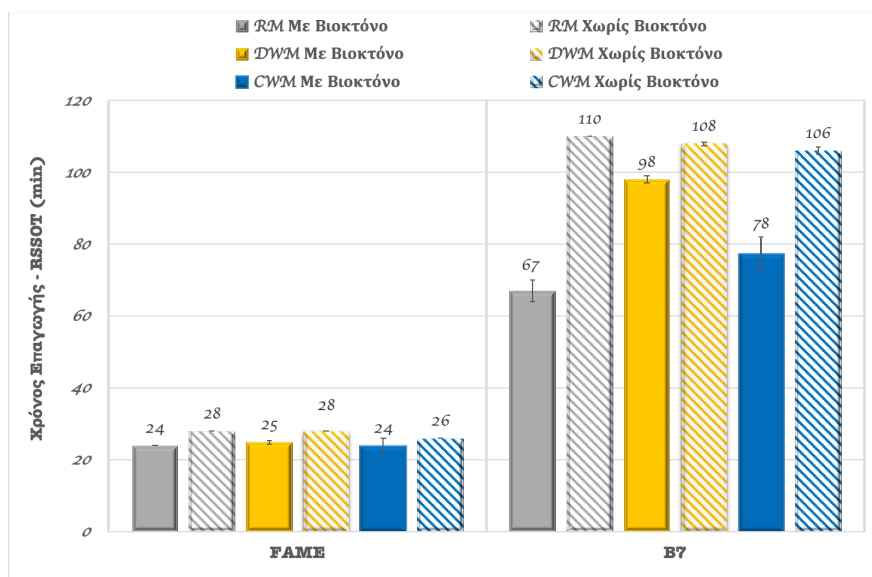
Μικροβιακή Δραστηριότητα C_{ATP} (pg _{ATP} /ml)					
Μικρόκοσμος	<i>CWM</i>		<i>BTM</i>	<i>DWM</i>	
<i>Καύσιμο</i>	Χωρίς	MBO*	MBO*	Χωρίς	MBO*
	MBO*	1000ppm**	200ppm	MBO*	1000ppm**
<i>B7</i>	9679	250	24	51	19
<i>FAME</i>	4511	71	3333	1423	11

*MBO: Βιοκτόνος ουσία

**Διορθωτική Ενέργεια

Σύμφωνα με τον Πίνακα 8-6, στους B7 CWM μικρόκοσμους, η προληπτική δόση βιοκτόνου φαίνεται να περιορίζει τη μικροβιακή ανάπτυξη στους 6 μήνες αποθήκευσης με τη συγκέντρωση του ATP και να τη διατηρεί σε χαμηλά επίπεδα ενώ η διορθωτική ενέργεια που εφαρμόστηκε στο τέλος της αποθήκευσης εμφανίζεται ως λιγότερο αποδοτική αφού η συγκέντρωση του ATP είναι 10 φορές υψηλότερη. Αντίθετα, στους μικρόκοσμους με FAME, η χρήση του βιοκτόνου στη συγκέντρωση των 200 ppm φαίνεται να μην είναι ικανή για τον περιορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας στο τέλος της αποθήκευσης και ίσως απαιτείται υψηλότερη για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση, όπως η εφαρμογή του βιοκτόνου στα 1000 ppm. Όσον αφορά τους μικρόκοσμους B7 DWM, η μικροβιακή δραστηριότητα στην περίοδο αποθήκευσης της παρούσας μελέτης διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα ακόμη και χωρίς τη χρήση βιοκτόνου. Από την άλλη μεριά το FAME, ως ευνοϊκότερο υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών, εμφάνισε αυξημένες συγκεντρώσεις ATP (άνω του ορίου προληπτικής δράσης των 1000 pg ATP/ml), την οποία κατάφερε βέβαια να καταστείλει η προσθήκη της βιοκτόνου ουσίας. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι η παρουσία υδατικής φάσης, έστω και μη επιμολυσμένης, ευνοεί την ανάπτυξη μικροοργανισμών και ως εκ τούτου απαιτείται συστηματική συντήρηση, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα επιμόλυνσης των καυσίμων με νερό.

8.3.3.3 Οξειδωτική Σταθερότητα

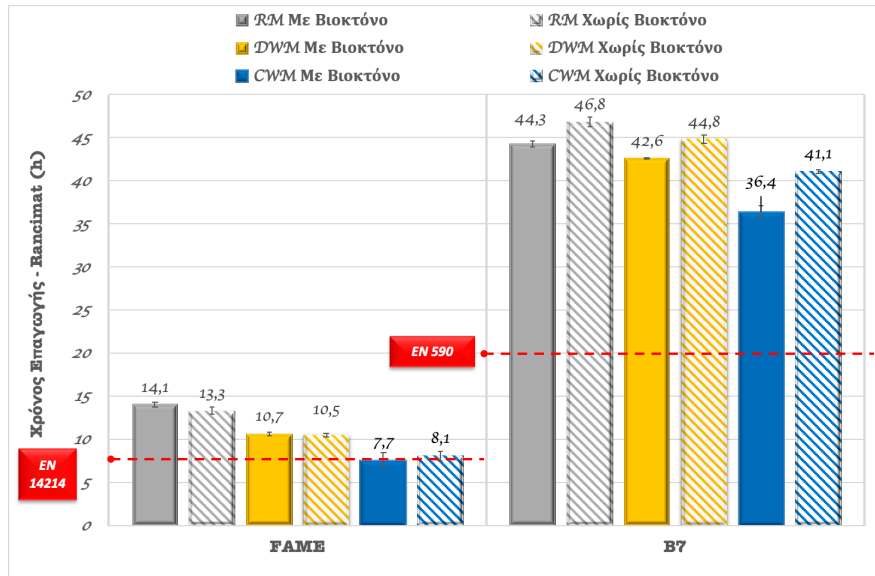


Σχήμα 8-19: Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας κατόπιν διορθωτικής δράσης βάσει της μεθόδου ASTM D7545.

Η διορθωτική δράση προσθήκης βιοκτόνου παρατηρήθηκε ότι προκαλεί τη μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας όλων των τύπων καυσίμου, σύμφωνα με τη μέθοδο RSSOT - PetroOxy Test. Στους μικρόκοσμους με FAME η μέση μείωση του χρόνου επαγωγής βρέθηκε περίπου στο 7% της αρχικής τιμής, ενώ για την περίπτωση του B7 η επίδραση βρέθηκε αυξημένη και ίση με 25%. Μεγαλύτερη μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας παρατηρείται στους RM μικρόκοσμους, η οποία για την περίπτωση του B7 ανήλθε στο -39%, γεγονός που υποδηλώνει ότι η παρουσία του βιοκτόνου συντελεί στην μείωση του χρόνου επαγωγής. Στους υπόλοιπους μικρόκοσμους καταγράφεται μικρότερη ποσοστιαία μείωση που πιθανότατα να οφείλεται στο γεγονός ότι λόγω της συνδιαλυτοποίησης του MBO στην υδατική φάση, η φάση καυσίμου των DWM και CWM να περιέχουν χαμηλότερη συγκέντρωση αυτής σε σχέση με τους RM, στους οποίους απουσιάζει η υδατική φάση.

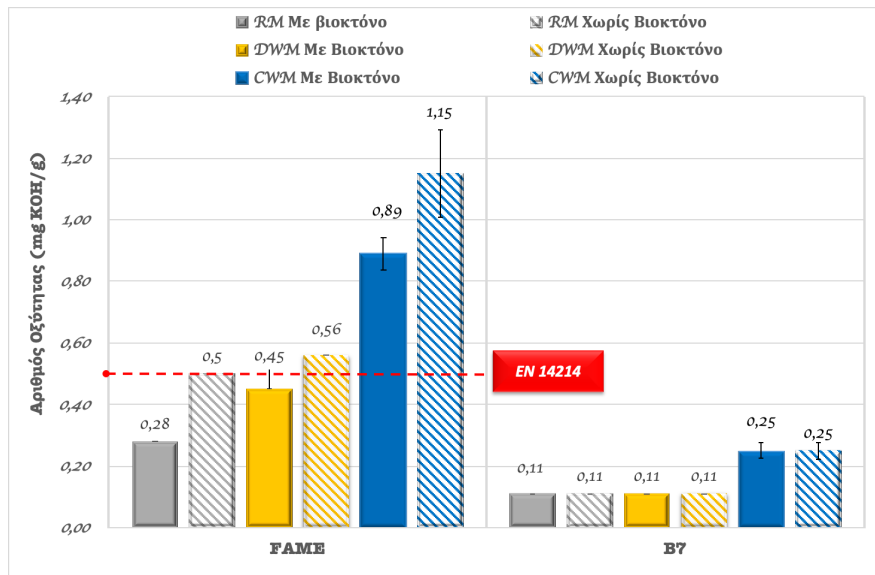
Σε συμφωνία με τη μέθοδο RSSOT, κατά τη μέθοδο Rancimat, η οξειδωτική σταθερότητα των μικρόκοσμων φαίνεται να μειώνεται, επίσης, κατόπιν της διορθωτικής δράσης. Η χρήση βιοκτόνου στους μικρόκοσμους με FAME επιδρά σε μικρότερο βαθμό – σε σχέση με την περίπτωση του B7 - στη μείωση του χρόνου επαγωγής. Η οξειδωτική σταθερότητα του FAME CWM μικρόκοσμου βρέθηκε κάτω του κατώτατου ορίου βάσει του EN 14214, οπότε το καύσιμο τίθεται εκτός προδιαγραφής. Η χρήση ισχυρής δόσης βιοκτόνου φαίνεται να επιδρά σημαντικά στην μείωση του χρόνου επαγωγής και των B7 μικρόκοσμων. Μάλιστα παρατηρήθηκε μείωση της τάξης του 11% στην περίπτωση των μικρόκοσμων με

επιμολυσμένη υδατική φάση (CWM) ενώ μικρότερη μείωση (περίπου 5%) παρατηρήθηκε στους μικρόκοσμους RM και DWM.



Σχήμα 8-20: Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας κατόπιν διορθωτικής δράσης βάσει των μεθόδων EN 14112 και 15751.

8.3.3.4 Αριθμός Οξύτητας



Σχήμα 8-21: Προσδιορισμός του αριθμού οξύτητας της φάσης καυσίμου των μικρόκοσμων κατόπιν διορθωτικής δράσης.

Σύμφωνα με το Σχήμα 8-21, η χρήση ισχυρής δόσης βιοκτόνου (1000 ppm) με στόχο την αντιμετώπιση της επιμόλυνσης, προκάλεσε τη μείωση του αριθμού οξύτητας. Στην περίπτωση του καυσίμου αναφοράς

ενώ η τιμή του αριθμού οξύτητας μετά από έξι (6) μήνες αποθήκευσης βρέθηκε να είναι στο ανώτατο όριο που ορίζει η προδιαγραφή EN 14214, κατόπιν διορθωτικής δράσης σημειώθηκε μείωση της τιμής κατά 45%, θέτοντας το καύσιμο ασφαλώς εντός προδιαγραφής. Αντίστοιχες μειώσεις του αριθμού οξύτητας παρατηρήθηκαν για τις περιπτώσεις των μικρόκοσμων με FAME DWM και CWM. Στο καύσιμο B7 η διορθωτική δράση με χρήση βιοκτόνου φαίνεται να μην έχει επίδραση στον αριθμό οξύτητας.

Συμπερασματικά, σε όλους τους εξεταζόμενους μικρόκοσμους παρατηρήθηκε αύξηση του σωματιδιακού φορτίου της υδατικής φάσης με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης. Ο μεγαλύτερος ρυθμό αύξησης καταγράφεται στην περίπτωση των CWM μικρόκοσμων, ακολουθούν οι μικρόκοσμοι BTM ενώ αξιόλογο φορτίο ανιχνεύθηκε και στους DWM κατά το τέλος της αποθήκευσης παρόλο που δεν περιείχαν επιμολυσμένη υδατική φάση. Από την σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των δύο καυσίμων, το σωματιδιακό φορτίο βρέθηκε να είναι υψηλότερο κατά 50% και 183% στην περίπτωση του B7 έναντι του FAME στις 90 μέρες και στο τέλος της αποθήκευσης, αντίστοιχα. Η παρουσία του βιοκτόνου (BTM) στη συγκέντρωση των 200 ppm στην περίπτωση του B7 φαίνεται ικανή στο να περιορίσει τη μικροβιακή δραστηριότητα έως το τέλος της αποθήκευσης ενώ, αντιθέτως, στην περίπτωση του FAME εμφανίζεται μη επαρκής, αφού τα σωματίδια που κατακρατήθηκαν ήταν σχεδόν στα ίδια επίπεδα με αυτά των CWM μικρόκοσμων. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι πιθανότατα η δραστική συγκέντρωση του βιοκτόνου στα συστήματα με FAME να είναι υψηλότερη των 200 ppm.

Ανάλογα ευρήματα με αυτά της υδατικής φάσης των CWM παρατηρούνται αντίστοιχα και στις φάσεις καυσίμου, όπου από τις πρώτες κιόλας 15 ημέρες το φορτίο των αιωρούμενων σωματιδίων αυξάνεται κατά 50% σε σχέση με το αρχικό. Όσον αφορά στους μικρόκοσμους BTM, στην περίπτωση του B7 το φορτίο αν και διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα έως τις 30 ημέρες αποθήκευσης, στο τέλος της αποθήκευσης φαίνεται να είναι ίσο με αυτό των CWM. Στην περίπτωση του FAME, η παρουσία του βιοκτόνου δεν επηρέασε καθόλου την εξέλιξη αφού καταγράφονται από τις πρώτες κιόλας μέρες τα ίδια επίπεδα σωματιδίων τόσο στους CWM όσο και στους BTM μικρόκοσμους και παραμένουν σχεδόν τα ίδια έως το τέλος της αποθήκευσης. Τέλος, παρατηρείται ότι η παρουσία υδατικής φάσης – επιμολυσμένη και μη – συντελεί στην αύξηση των αδιάλυτων στερεών, αφού στο τέλος της εξεταζόμενης περιόδου αποθήκευσης, το φορτίο των CWM ήταν σχεδόν ίδιο με αυτό των DWM.

Ο σχηματισμός βιοφίλμ στη διεπιφάνεια της οργανικής και υδατικής φάσης παρατηρήθηκε ιδιαίτερα ισχυρός σε όλη τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης στην περίπτωση των επιμολυσμένων μικρόκοσμων με FAME ενώ η παρουσία του βιοκτόνου ανέστειλε τη δημιουργία του στους BTM έως τις 90 ημέρες. Παρόλ' αυτά στο τέλος της αποθήκευσης το βιοφίλμ ήταν το ίδιο και στους δύο τύπους μικρόκοσμων, το οποίο υποδηλώνει πάλι την αδυναμία του βιοκτόνου να αντιμετωπίσει αποτελεσματικά τη μικροβιακή

δραστηριότητα στο FAME. Από την άλλη μεριά, στο B7 ο σχηματισμός του βιοφίλμ παρατηρείται μόνο στους CWM μικρόκοσμους αλλά σαφώς σε μικρότερο βαθμό απ' ότι στην περίπτωση του FAME. Σε συμφωνία με τα προαναφερθέντα αποτελέσματα, στους BTM μικρόκοσμους του B7 δεν παρατηρήθηκε ικανή βιομάζα για τον σχηματισμό βιοφίλμ, γεγονός που υποδηλώνει την αποτελεσματικότητα του βιοκτόνου. Τέλος, και στις δύο περιπτώσεις των DWM μικρόκοσμων απουσιάζει η ύπαρξη βιοφίλμ.

Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, κατά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP των υδατικών φάσεων των μικρόκοσμων, η μεγαλύτερη συγκέντρωση της ενεργής μικροβιακής δραστηριότητας ανιχνεύθηκε στην περίπτωση του B7, το οποίο είναι σε συμφωνία και με το σωματιδιακό φορτίο που καταγράφηκε από τη μέθοδο της διήθησης. Αντίστοιχα αποτελέσματα με αυτά του φορτίου των σωματιδίων ελήφθησαν και στην περίπτωση των BTM μικροκόσμων, όπου στο FAME η βιοκτόνος δράση δεν ήταν ικανή για να εμποδίσει την μικροβιακή δραστηριότητα σε αντίθεση με το B7, όπου σχεδόν δεν καταγράφεται πλέον ενεργός μικροβιακός πληθυσμός. Αξιόλογη δε μικροβιακή δραστηριότητα καταγράφεται στο FAME DWM έναντι του B7 παρόλο που το σωματιδιακό φορτίο ήταν υψηλότερο. Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στο γεγονός ότι το FAME είναι ευνοϊκότερο υπόστρωμα έναντι του B7 στα αρχικά τουλάχιστον στάδια της ανάπτυξης των μικροοργανισμών.

Κατά την αξιολόγηση της διορθωτικής ενέργειας που έλαβε χώρα στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, το φορτίο βρέθηκε να είναι μεγαλύτερο ή σχεδόν το ίδιο στις περιπτώσεις των επιμολυσμένων μικρόκοσμων, το οποίο καθιστά την εξεταζόμενη πρακτική ως μη αποτελεσματική. Ειδικότερα, στην περίπτωση των B7 BTM το φορτίο βρέθηκε να είναι 13 φορές χαμηλότερο έναντι αυτού που προέκυψε έπειτα από την προσθήκη βιοκτόνου σε συγκέντρωση 1000 ppm, γεγονός που υποδηλώνει ότι στα συστήματα B7 είναι προτιμότερη η προληπτική χρήση του βιοκτόνου παρά η προσθήκη του σε ισχυρή συγκέντρωση όταν η επιμόλυνση έχει πλέον λάβει χώρα. Επιπλέον, η ύπαρξη της ισχυρής συγκέντρωσης του εξεταζόμενου βιοκτόνου δεν κατάφερε να διασπάσει το βιοφίλμ που είχε σχηματιστεί στους CWM και των δύο καυσίμων, το οποίο σημαίνει ότι οι ανεπιθύμητες συνέπειες στον μηχανολογικό εξοπλισμό και στα φίλτρα εξακολουθούν να ελλοχεύουν. Το πρόβλημα φαίνεται να μη βρίσκει λύση ούτε στην περίπτωση της φάσης καυσίμου, αφού η συγκέντρωση των αιωρούμενων σωματιδίων είναι σχεδόν ίδια με αυτή των CWM. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα ευρήματα που προέκυψαν έπειτα από τον προσδιορισμό του ATP, όπου στους B7 CWM μικρόκοσμους η προληπτική χρήση βιοκτόνου φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερη της διορθωτικής ενέργειας ενώ αντίθετα στην περίπτωση των FAME επιμολυσμένων μικρόκοσμων η συγκέντρωση των 1000 ppm οδήγησε τελικά στη δραστική αντιμετώπιση του ενεργού μικροβιακού πληθυσμού. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι το μικροβιακό φορτίο που ανιχνεύθηκε στην περίπτωση του DWM αντιμετωπίστηκε επαρκώς έπειτα από την προσθήκη του βιοκτόνου αλλά παρόλ' αυτά δεν παρατηρείται αξιόλογη μείωση στο φορτίο των αιωρούμενων σωματιδίων.

Τέλος, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, παρατηρήθηκε σε γενικές γραμμές σταδιακή μείωση της οξειδωτικής σταθερότητας, όπως προσδιορίστηκε τόσο από την RSOOT όσο και από την μέθοδο Ransimat. Σύμφωνα με τη μέθοδο RSSOT, μείωση στους χρόνους επαγωγής και των δύο εξεταζόμενων καυσίμων σημειώθηκε μετά τις 90 ημέρες αποθήκευσης, με την μεγαλύτερη να καταγράφεται στην περίπτωση των μικρόκοσμων που περιείχαν τη βιοκτόνο ουσία ενώ χαμηλότερη καταγράφηκε στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και από την μέθοδο Ransimat, όπου η υποβάθμιση της οξειδωτικής σταθερότητας φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση των BTM μικρόκοσμων ενώ καταγράφηκαν γενικά μεγαλύτερα ποσοστά μείωσης σε σχέση με αυτά της μεθόδου RSOOT. Από την άλλη μεριά, η μικροβιακή δραστηριότητα στους μικρόκοσμους με FAME και B7 οδήγησε στο διπλασιασμό του αριθμού οξύτητας, θέτοντας μάλιστα το καύσιμο FAME εκτός της αντίστοιχης προδιαγραφής. Για όλους τους τύπους καυσίμων, η προσθήκη του βιοκτόνου φαίνεται να αυξάνει ραγδαία τον αριθμό οξύτητας έως και 7 περίπου φορές της αρχικής τιμής, γεγονός που δηλώνει την ανάγκη για εκτενείς ελέγχους των ποιοτικών παραμέτρων κατά την εφαρμογή των βιοκτόνων προϊόντων.

9. Μελέτη προσθέτων των ντήζελ - βιοντήζελ με ανασταλτική δράση έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης

Α' ΜΕΡΟΣ – ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΠΡΟΣΘΕΤΑ

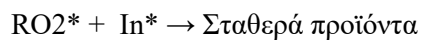
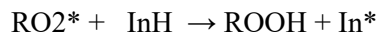
9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί και στα προηγούμενα κεφάλαια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (βιοντήζελ) διαθέτουν διάφορα επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως το υψηλό ποσοστό βιοαποικοδόμησης, τη χαμηλή τοξικότητα και τα όποια οφέλη από τις εκπομπές τόσο στα καυσαέρια όσο και των αερίων που συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου. Από την άλλη μεριά, τα ζητήματα της σταδιακής υποβάθμισης/αποδόμησης του βιοντήζελ κρίνονται ως κύρια μειονεκτήματα του βιοντήζελ.

Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (FAME) είναι περισσότερο επιρρεπής στην οξειδωτική υποβάθμιση σε σύγκριση με το συμβατικό ντήζελ κίνησης κυρίως λόγω της παρουσίας ακόρεστων λιπαρών οξέων στο μόριό τους. Ο ρυθμός οξείδωσης θεωρείται ανάλογος των λεγόμενων δισ-αλλυλικών θέσεων και συνεπώς ένα βιοντήζελ που περιέχει αυξημένη περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) παρουσιάζει μεγαλύτερη επιδεκτικότητα στην οξείδωση σε σχέση με ένα που περιέχει μεγαλύτερη αναλογία μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFA) (Ντόντος, Αθήνα, 2013; Knothe, 2007; Saluja, et al., 2016; Jain, et al., 2010; Knothe, 2002; Knothe, 2007). Η αναστολή των οξειδωτικών δράσεων επιτυγχάνεται συνήθως με την προσθήκη αντιοξειδωτικών ουσιών ούτως ώστε να βελτιωθεί η σταθερότητα του βιοντήζελ κατά την αποθήκευση. Τα αντιοξειδωτικά αυτά συνήθως προστίθενται σε συγκεντρώσεις μέχρι το πολύ 1000-1200 mg/kg (ppm). Γενικά η προστιθέμενη ποσότητα καθώς και η σχετική επίδραση των αντιοξειδωτικών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποιότητα και τη σύσταση του βιοντήζελ. Στη βιβλιογραφία υφίσταται εκτεταμένος αριθμός εργασιών σχετικά με τη δράση διαφόρων αντιοξειδωτικών - κατά κύριο λόγο φαινολικού τύπου - στην οξειδωτική σταθερότητα του βιοντήζελ και των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ (Deligiannis, et al., 2013; Karavalakis, et al., 2010; Karavalakis, et al., 2010; Zhou, et al., 2016; Tang, et al., 2008; Mittelbach, et al., 2003). Επιπλέον, όπως έχει προαναφερθεί, η εφοδιαστική αλυσίδα του ντήζελ/βιοντήζελ αντιμετωπίζει τις νέες προκλήσεις σχετικά με ζητήματα μικροβιακής ανάπτυξης και των συμπτωμάτων που αυτή επιφέρει. Το βιοντήζελ είναι πιο ευπαθές στην ανάπτυξη μικροοργανισμών και τη βιο-υποβάθμιση, ενώ έχει αποδειχθεί ότι η προσθήκη του συμβάλλει στη μειωμένη μικροβιακή

σταθερότητα των τελικών μιγμάτων (Bücker, et al., 2014; Dodos, et al., 2012; Dodos, et al., 2013; Dodos, et al., 2012; Schleicher, 2009; Siegert, 2013; Sørensen, 2011; Soriano, 2015; Chao, et al., 2010).

Τα αντιοξειδωτικά συνήθως κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κλάση περιλαμβάνει τα λεγόμενα πρωτογενή αντιοξειδωτικά (primary antioxidants) τα οποία για να είναι δραστικά θα πρέπει να ανταγωνιστούν το ακόρεστο υπόστρωμα των λιπιδίων το οποίο βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση. Η δεύτερη κλάση των αντιοξειδωτικών περιλαμβάνει ουσίες οι οποίες ανταγωνίζονται το O₂ μέσω ταχέων αντιδράσεων. Η παρεμποδιστική δράση των αντιοξειδωτικών (InH) έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτέλεσμα του τερματισμού των αλυσιδωτών αντιδράσεων με την εισδοχή των υπεροξειδικών ριζών



Κατά κύριο λόγο οι αντιοξειδωτικές ουσίες που προστίθενται στο βιοντήζελ είναι φαινολικού τύπου με πιο συνήθεις τις ουσίες BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene), TBHQ (tert-butyl hydroquinone), PG (propyl gallate), PY (pyrogallol). Γενικά οι φαινολικές ενώσεις βρίσκουν ευρεία εφαρμογή ως αναστολείς της οξείδωσης των λιπιδίων και πλήθος αυτών έχει διερευνηθεί ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση, όπως επί παραδείγματι τα υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκιναμικά οξέα και τα παράγωγά τους (Cuvelier, et al., 1992; Shahidi, et al., 1992). Οι φαινολικού τύπου ενώσεις λειτουργούν ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά τα οποία έχουν τη δυνατότητα να αναχαιτίζουν τις αλυσιδωτές οξειδωτικές αντιδράσεις σχηματισμού ελευθέρων ριζών, συνεισφέροντας ουσιαστικά ένα πιο ασταθές άτομο υδρογόνου (σε σχέση με τα αλλυλικά ή δισαλλυλικά υδρογόνα) από την υδροξυλομάδα του φαινολικού δακτυλίου ενώ ταυτόχρονα μετασχηματίζονται σε σταθερές ελεύθερες ρίζες οι οποίες δεν εκκινούν ή διαδίδουν περαιτέρω οξείδωση των λιπιδίων (Denisov, et al., 2005).

Εκτός της αντιοξειδωτικής τους δράσης, έχει υποστηριχθεί ότι πολλές από αυτές τις φαινολικές ενώσεις διαθέτουν αντιβακτηριδιακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες (Block, 2001). Ειδικότερα σε αρκετές μελέτες έχει διερευνηθεί η δράση των φαινολικών ενώσεων έναντι των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε συστήματα τροφίμων (Raccach, 1984; Gailani, et al., 1984; Sanchez-Maldonado, et al., 2011; Gutierrez-Larrainzar, et al., 2013; Merkl, et al., 2010). Ο μηχανισμός της αντιμικροβιακής δράσης των φαινολικών αντιοξειδωτικών έχει βρεθεί ότι επηρεάζει τη λειτουργία και τη σύσταση της κυτταρικής μεμβράνης καθώς και τη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων στους μικροοργανισμούς (Raccach, 1984).

Με βάση τα παραπάνω, και λαμβάνοντας υπόψη ότι η προσθήκη αντιοξειδωτικών στο βιοντήζελ είναι μια συνήθης πρακτική, η μελέτη προσανατολίστηκε στη διερεύνηση ουσιών που θα μπορούσαν να έχουν διπλή δράση - δηλαδή ταυτόχρονη αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση. Η εξεύρεση και η ανάδειξη

τέτοιων ουσιών θα είναι ιδιαίτερα επωφελής αναφορικά με τη συνολική σταθερότητα του βιοντήζελ έναντι των μηχανισμών υποβάθμισής του.

9.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

9.2.1 Καύσιμα Βάσης

9.2.1.1 Μεθυλεστέρες Λιπαρών Οξέων (Βιοντήζελ)

Για τον έλεγχο της δράσης των παραπάνω ουσιών αξιοποιήθηκαν δυο διαφορετικοί τύποι βιοντήζελ οι οποίοι παρασκευάστηκαν εργαστηριακά σύμφωνα με τη μέθοδο που δίνεται στο Παράρτημα Ι. Ως πρώτες ύλες για την παραγωγή των δυο βιοντήζελ χρησιμοποιήθηκαν το ακατέργαστο πυρηνέλαιο (Pomace Olive Oil - POMO) και το σογιέλαιο (Soybean Oil - SBO). Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων του πυρηνελαίου (POME) και του σογιέλαιου (SBOME) παρουσιάζονται στον Πίνακα 9-1 συγκρινόμενα με τις απαιτήσεις του ευρωπαϊκού προτύπου EN14214.

Η περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα των παραχθέντων βιοντήζελ, όπως αναφέρεται στον Πίνακα 9-2, προσδιορίστηκε σύμφωνα με το πρότυπο EN14103 με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας. Το POME είναι ένα βιοντήζελ πλούσιο σε ελαϊκό οξύ (C18:1), ενώ το SBOME απαρτίζεται κυρίως από λινελαϊκό οξύ (C18:2). Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα λινιλενικού οξέος (C18:3) ανιχνεύθηκαν στο SBOME.

Πίνακας 9-1: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά παραχθέντων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (βιοντήζελ).

Ιδιότητα	Μονάδες	POME	SBOME	Όρια EN14214	Μέθοδος
<i>Περιεκτικότητα σε Εστέρες</i>	% m/m	97.6	98.5	<i>Ελάχ. 96.5</i>	EN14103
<i>Ποκνότητα @ 15°C</i>	kg/m ³	880.3	885.4	<i>860-900</i>	EN ISO12185
<i>Κ. Ιξώδες @ 40°C</i>	mm ² /s	4.808	4.175	<i>3.50-5.00</i>	ASTM D7042
Οξειδωτική Σταθερότητα					
<i>Rancimat (140°C)</i>	h	9.7	3.8	<i>Ελάχ. 8</i>	EN14112
<i>RSSOT (110°C, 700kPa)</i>	min	35	20	-	EN16091
<i>Περιεκτικότητα σε μεθυ-λεστέρες λινολενικού οξέος</i>	% m/m	0.70	5.16	<i>Μέγ. 12.0</i>	EN14103
<i>Περιεκτικότητα σε Νερό</i>	mg/kg	200	180	<i>Μέγ. 500</i>	EN ISO12937
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	mg KOH/g	0.23	0.28	<i>Μέγ. 0.50</i>	EN 14104
<i>Αριθμός Ιωδίου</i>	g I ₂ /100g	83	125	<i>Μέγ. 120</i>	EN 14111
<i>Μono-γλυκερίδια</i>	% m/m	0.31	0.23	<i>Μέγ. 0.70</i>	EN 14105
<i>Δι-γλυκερίδια</i>	% m/m	0.13	0.07	<i>Μέγ. 0.20</i>	EN 14105
<i>Τρι-γλυκερίδια</i>	% m/m	0.09	0.08	<i>Μέγ. 0.20</i>	EN 14105
<i>Ελεύθερη γλυκερόλη</i>	% m/m	<0.01	<0.01	<i>Μέγ. 0.02</i>	EN 14106
<i>Συνολική γλυκερόλη</i>	% m/m	0.09	0.08	<i>Μέγ. 0.25</i>	EN 14105

Πίνακας 9-2: Περιεκτικότητα των βιοντήζελ σε λιπαρά οξέα.

Προφίλ Λιπαρών Οξέων		% κ.β. περιεκτικότητα	
		POME	SBOME
<i>Παλμιτικό</i>	C16:0	10.18	10.29
<i>Παλμιτελαϊκό</i>	C16:1	0.11	0.10
<i>Στεατικό</i>	C18:0	4.26	4.24
<i>Ελαϊκό</i>	C18:1	26.14	24.11
<i>Λινελαϊκό</i>	C18:2	50.77	52.64
<i>Λινολενικό</i>	C18:3	4.80	5.14
<i>Αραχιδικό</i>	C20:0	0.51	0.47
<i>Γαδελαϊκό</i>	C20:1	0.28	0.28
<i>Μπεχενικό</i>	C22:0	0.56	0.54

9.2.1.2 Μείγμα Β7

Με σκοπό να εξεταστεί η επίδραση των επιμέρους προσθέτων στα τελικά μίγματα, τα δυο FAME αναμείχθηκαν με ένα συμβατικό ντήζελ κίνησης πολύ χαμηλής περιεκτικότητας σε θείο (ULSD), σε

συγκέντρωση 7% v/v (B7), ίση με τη μέγιστη επιτρεπόμενη από το ευρωπαϊκό πρότυπο EN590. Το ULSD ση ήταν ένα διυλιστηριακό gasoil ατμοσφαιρικής απόσταξης προερχόμενο από την μονάδα υδρογονοαποθείωσης και δεν περιείχε βελτιωτικά πρόσθετα. Όλα τα B7 μίγματα αναλύθηκαν ως προς τα βασικές ποιοτικές παραμέτρους όπως παρατίθενται στον Πίνακα 9-3.

Πίνακας 9-3: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των μιγμάτων B7 (FAME/ULSD).

Ιδιότητα	Μονάδες	B7 POME	B7 SBOME	Όρια EN590	Μέθοδος
<i>K. Ιξώδες @ 40°C</i>	mm ² /s	2.987	2.939	2.00-4.50	EN 3104
<i>Πυκνότητα @ 15°C</i>	kg/m ³	837.9	838.3	820-845	EN 3675
<i>Περιεκτικότητα σε θείο</i>	mg/kg	7.8	7.7	Μέγ. 10.0	EN 20846
<i>Περιεκτικότητα σε Νερό</i>	mg/kg	80	80	Μέγ. 200	EN 12937
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	mg KOH/g	0.17	0.18	-	ISO 6618
<i>Οξειδωτική Σταθερότητα</i>					
<i>Rancimat (140°C)</i>	h	42.5	23.1	Ελάχ. 20	EN 15751
<i>RSSOT (110°C, 700kPa)</i>	min	109	71	-	EN 16091
<i>Περιεκτικότητα σε FAME</i>	% m/m	7	7	Μέγ. 7.0	EN 14078

9.2.2 Φαινολικά αντιοξειδωτικά

Εξετάστηκαν δέκα διαφορετικοί τύποι φαινολικών αντιοξειδωτικών ενώσεων ως προς την αποτελεσματικότητά τους αναφορικά με τη μικροβιακή σταθερότητα των δυο FAME (POME2 & SBOME2) και των B7 μιγμάτων τους. Τα αντιοξειδωτικά αυτά ήταν εμπορικά διαθέσιμες ουσίες αναλυτικής καθαρότητας και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω επεξεργασία. Η ονοματολογία τους και ορισμένα χαρακτηριστικά τους παρατίθενται στον Πίνακα 9-4. Τα αντιοξειδωτικά BHA, BHT, TBHQ, PY, PG, και TBC είναι συνθετικές ουσίες, ενώ τα MCT, CFA, GA και PCA συνιστούν ουσίες που απαντώνται, επίσης, στη φύση. Όσον αφορά τον αριθμό των υδροξυλομάδων (-OH), τα BHA και BHT έχουν μία ομάδα υδροξυλίου (μονοϋδρικά - μονοφαινόλες), τα PG και PY περιέχουν τρεις ομάδες υδροξυλίου (τρι-υδρική - τριφαινόλες), ενώ τα υπόλοιπα είναι δι-υδρικές φαινολικές ενώσεις (διφαινόλες). Τα αντιοξειδωτικά GA και PCA έχουν τον ίδιο χημικό τύπο, αλλά διαφοροποιούνται ως προς τη θέση των δύο υδροξυλομάδων, όπου στην περίπτωση του GA εντοπίζονται στις θέσεις όρθο / μέτα, ενώ στο PCA στις θέσεις πάρα / μέτα.

Προκειμένου να εξεταστεί η σχετική δραστηριότητα των φαινολικών αντιοξειδωτικών στην μικροβιακή σταθερότητα του FAME και των μιγμάτων B7, η μελέτη διακρίθηκε σε δύο μέρη. Στο πρώτο μέρος της

έρευνας, εκτιμήθηκε η ικανότητα των προσθέτων να ενεργούν ως βακτηριοστατικοί παράγοντες έναντι του gram-θετικού μικροοργανισμού *Bacillus stearothermophilus*, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, επελέγησαν οι ενώσεις που παρουσίασαν την καλύτερη αντιμικροβιακή δράση και στο δεύτερο μέρος, αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα των τελευταίων ως προς την αναστολή της μικροβιακής δραστηριότητας στην υδατική φάση μικροκόσμων εργαστηριακής κλίμακας. Και στα δύο στάδια, διεξήχθησαν μετρήσεις οξειδωτικής σταθερότητας βάσει των προτύπων EN14112 και EN15751 με σκοπό τον προσδιορισμό των μεταβολών της οξειδωτικής υποβάθμισης των καυσίμων έπειτα από την προσθήκη των φαινολικών ενώσεων.

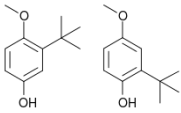
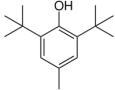
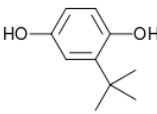
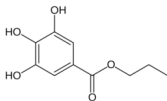
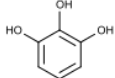
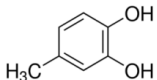
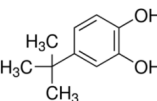
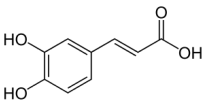
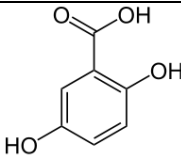
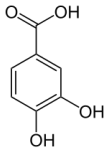
9.2.3 Μεθοδολογία

Η μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης των εξεταζόμενων ουσιών στο βιοντήζελ πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας δυο διακριτές μεθοδολογίες.

1. Αρχική εκτίμηση της ανασταλτικής δράσης των ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις προσθήκης στο βιοντήζελ βάσει της μεθόδου ανίχνευσης που περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 3.
2. Εξέταση της αντιμικροβιακής συμπεριφοράς των ουσιών με τη δημιουργία επιμολυσμένων μικροκόσμων εργαστηριακής κλίμακας και παρακολούθηση για εκτεταμένο χρονικό διάστημα των μεταβολών στη μικροβιακή δραστηριότητα της υδατικής φάσης με τη βοήθεια της τεχνικής της βιοφωταύγειας ATP (*ASTM D7687-11, 2011*). Η επιμόλυνση των μικρόκοσμων έγινε σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο ASTM E1259 (*ASTM E1259, 2018*) με την χρήση μη-χαρακτηρισμένου ως προς τα στελέχη του "εμβολίου" το οποίο προετοιμάστηκε από την κάτω φάση εμπορικού δείγματος καυσίμου ντήζελ με υψηλή μικροβιακή επιβάρυνση.

Η αντιοξειδωτική δράση των εξεταζόμενων ουσιών στο βιοντήζελ αποτιμήθηκε με τη βοήθεια μεθόδων επιταχυνόμενης οξείδωσης. Η οξειδωτική σταθερότητα προσδιορίστηκε ως χρόνος επαγωγής (Induction Period - IP) βάσει των μεθόδων EN 15751, EN14112 και EN 16091 με τις συσκευές Rancimat και Rapid Small Scale Oxidation Test (RSSOT), αντίστοιχα (βλ. Παράρτημα II).

Πίνακας 9-4: Ονοματολογία και χαρακτηριστικά των εξεταζόμενων φαινολικών ενώσεων.

Ονοματολογία	Χημικός τύπος	MB	Χημική δομή	Αριθμός -OH	Καθαρότητα	CAS No / EC No.
Butylated Hydroxyanisole (BHA)	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180.25		1	>96%	88-32-4 246-563-8
Butylated Hydroxytoluene (BHT)	C ₁₃ H ₂₄ O	220.36		1	99%	128-37-0 204-881-4
tert-Butylhydroquinone (TBHQ)	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166.22		2	98%	1948-33-0 217-752-2
Propyl Gallate (PG)	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	212.20		3	98%	121-79-9 204-498-2
Pyrogallol (PY)	C ₆ H ₆ O ₃	126.11		3	98%	87-66-1 201-762-9
4- methyl catechol (MCT)	C ₇ H ₈ O ₂	124.13		2	>98%	452-86-8 207-214-5
4- tert - butyl catechol (TBC)	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166.21		2	>98%	98-29-3 202-653-9
Caffeic acid (CFA)	C ₉ H ₈ O ₄	180.16		2	>99%	331-39-5 206-361-2
Gentisic acid (GA)	C ₇ H ₆ O ₄	154.12		2	99%	490-79-9 207-718-5
Protocatechuic acid (PCA)	C ₇ H ₆ O ₄	154.12		2	97%	99-50-3 202-760-0

9.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

9.3.1 Επίδραση των φαινολικών αντιοξειδωτικών στην οξύτητα

Αρχικά εξετάστηκε η επίπτωση των φαινολικών ενώσεων στην οξύτητα των FAME. Γενικά, οι φαινολικές ενώσεις θεωρούνται ότι παρουσιάζουν ασθενή όξινο χαρακτήρα με τη σχετική οξύτητα να εξαρτάται από τη δομή. Ο αριθμός οξύτητας προσδιορίστηκε στα δυο βιοντήζελ σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο EN14104 πριν και μετά την προσθήκη των ουσιών στα 1000 ppm. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 9-5, με εξαίρεση τα THBQ, MCT και TBC, η παρουσία των φαινολικών ενώσεων στην υψηλότερη συγκέντρωση των 1000 ppm, οδήγησε σε αύξηση στην οξύτητα, όπως έχει παρατηρεί και σε αντίστοιχες μελέτες κάποιων φαινολικών αντιοξειδωτικών (Schober, et al., 2004; Tang, et al., 2009).

Μάλιστα στις περιπτώσεις των PY, PG, GA και PCA οι τιμές βρέθηκαν να είναι πάνω από τη μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή των 0.5 mg KOH/g, όπως ορίζεται στην προδιαγραφή EN14214. Αυτό δύναται να επιλυθεί με προσθήκη αυτών των προσθέτων σε χαμηλότερη περιεκτικότητα, όπου αυτό είναι εφικτό, αλλά εξαρτάται επίσης και από την αρχικό αριθμό οξύτητας του αμιγούς βιοντήζελ.

Πίνακας 9-5: Οξύτητα των δυο βιοντήζελ μετά την προσθήκη των εξεταζόμενων φαινολικών αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 0.1% w/w (1000 ppm).

Αριθμός Οξύτητας (mg KOH/g)											
FAME	-	BHA	BHT	TBHQ	PY	PG	MCT	TBC	CFA	GA	PCA
POME	0.23	0.27	0.28	0.23	0.6	0.51	0.23	0.24	0.40	0.58	0.55
SBOME	0.28	0.36	0.32	0.28	0.82	0.52	0.26	0.25	0.45	0.50	0.68

9.3.2 Προκαταρκτική εξέταση της αντιμικροβιακής και αντιοξειδωτικής δράσης


































9.3.2.1 FAME

Οι φαινολικές ενώσεις προστέθηκαν στο εκάστοτε FAME σε συγκεντρώσεις των 0,1% w/w (1000 ppm), 0,02% w/w (200 ppm) και 0,005% w/w (50 ppm), προκειμένου να προσδιοριστεί η ελάχιστη δραστική συγκέντρωση, όπου επιτυγχάνεται αναστολή της βακτηριακής δραστηριότητας. Παράλληλα εξετάστηκε η ικανότητα των προσθέτων ως προς τη βελτίωση της οξειδωτικής σταθερότητας στις προαναφερθείσες συγκεντρώσεις. Επιπλέον, και τα δύο FAMEs, που περιείχαν εκείνες τις αντιοξειδωτικές ουσίες που



































παρουσίασαν αντιμικροβιακή δράση σε συγκέντρωση των 1000 ppm, αναμίχθηκαν με ULSD σε αναλογία ανάμιξης 7% v/v, προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των προσθέτων και στα καύσιμα B7. Η συγκέντρωση των προσθέτων στα τελικά μίγματα B7 υπολογίστηκε ότι είναι ίση περίπου με 75 ppm.

Τα αποτελέσματα από την αρχική διερεύνηση όσον αφορά την αντιμικροβιακή συμπεριφορά των εξεταζόμενων φαινολικών αντιοξειδωτικών στους δύο τύπους του FAME (POME και SBOME) παρατίθενται στους Πίνακες 9-6 και 9-7, αντίστοιχα. Για κάθε δοκιμή περιλαμβάνεται και η αντίστοιχη εικόνα που απεικονίζει τον τελικό χρωματισμό του δοκιμίου. Το σύμβολο "+" υποδεικνύει ανασταλτικό δράση στην ανάπτυξη του βακίλου, ενώ το σύμβολο «-», σημαίνει ότι το εξεταζόμενο δείγμα εμφανίζει αδυναμία ως προς την καταστολή της βακτηριακής ανάπτυξης. Αρχικά επωάστηκαν τα μη-ενισχυμένα FAMEs (w/o) και, όπως αναμενόταν, και στις δύο περιπτώσεις, παρατηρήθηκε η ικανότητα ανάπτυξης του θερμόφιλου βακίλου. Με βάση αυτό, οποιαδήποτε μεταβολή του παραπάνω αποτελέσματος μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία των φαινολικών ενώσεων.

Πίνακας 9-6: Ικανότητα του POME να αναστείλει την ανάπτυξη του *Bacillus stearotherophilus* με την προσθήκη των φαινολικών αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 50, 200 και 1000 ppm.

	w/o	BHA	BHT	TBHQ	PY	PG	MCT	TBC	CFA	GA	PCA	
POME		50 ppm										
		-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	
												
		200 ppm										
		-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
												
		1000 ppm										
		-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
												

Πίνακας 9-7: Ικανότητα του SBOME να αναστείλει την ανάπτυξη του *Bacillus stearothermophilus* με την προσθήκη των φαινολικών αντιοξειδωτικών σε συγκέντρωση 50, 200 και 1000 ppm.

	w/o	BHA	BHT	TBHQ	PY	PG	MCT	TBC	CF A	GA	PC A	
		50 ppm										
		-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	
												
		200 ppm										
		-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	
SBOME												
		1000 ppm										
		-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
												

Εκ των εξεταζόμενων φαινολικών ενώσεων, οι TBHQ, PG, MCT και TBC αποδείχθηκαν οι πιο αποτελεσματικές όσον αφορά την αντιμικροβιακή δράση τους στα FAME δεδομένου ότι ήταν ικανές να αναστέλλουν την ανάπτυξη του *Bacillus stearothermophilus*, ακόμη και στη χαμηλότερη συγκέντρωση των 50 ppm. Η παρουσία του PY και στους δύο τύπους FAMES κατάφερε να αδρανοποιήσει την ανάπτυξη του βακτηρίου με ελάχιστη δραστική συγκέντρωση αυτή των 200 ppm. Το ίδιο παρατηρείται και για το CFA στο POME, καθώς στην περίπτωση του SBOME η παρουσία του αντιοξειδωτικού ήταν ωφέλιμη μόνο όταν προστέθηκε στην υψηλότερη εξεταζόμενη δόση, δηλαδή των 1000 ppm. Αντίθετα, οι συνθετικές φαινολικές ενώσεις BHA και BHT, μαζί με τις φυσικά απαντώμενες GA και PCA δεν ήταν ικανές να βελτιώσουν την μικροβιακή σταθερότητα των FAME ακόμη και στην μέγιστη συγκέντρωση. Αν και δεν αναφέρεται στα αποτελέσματα, έγινε προσπάθεια εκτίμησης της αντιμικροβιακής δράσης των BHT και BHA και σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (1500 ppm), αλλά η ανάπτυξη του βακίλλου δεν ήταν δυνατό να κατασταλεί.

Με εξαίρεση το CFA, είναι προφανές από τα αποτελέσματα ότι η συμπεριφορά των προσθέτων δεν επηρεάζεται από το είδος του FAME, συνεπώς η δραστηριότητα τους έναντι του gram-θετικού *Bacillus stearothermophilus* δύναται να εξηγηθεί με βάση την σχέση δομής-λειτουργίας. Σε γενικές γραμμές, η αντιμικροβιακή δράση των φαινολικών αντιοξειδωτικών φαίνεται να εξαρτάται από την παρουσία υδροξύλομάδων επί του μορίου, τη διαλυτότητα της ένωσης στα λιπίδια και από το βαθμό στερεοχημικής παρεμπόδισης (Raccach, 1984; Sanchez-Maldonado, et al., 2011). Σε μια πρόσφατη μελέτη εξετάστηκαν οι ουσίες TBHQ και BHT έναντι ενός αριθμού μικροοργανισμών που απομονώθηκαν από επιμολυσμένα

συστήματα ντήζελ και τα αποτελέσματα συμφωνούν με τα αντίστοιχα της εν λόγω μελέτης, δηλαδή ότι μόνο το TBHQ παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση (Beker, et al., 2016). Έχει αναφερθεί ότι το TBHQ - ένα παράγωγο της υδροκινόνης - έχει την ικανότητα να διεισδύει στα gram-θετικά βακτήρια λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα του μορίου που προέρχεται από την ομάδα του τριτοταγούς-βουτυλίου στο φαινολικό δακτύλιο (Gutierrez-Larrainzar, et al., 2013).

Από την άλλη πλευρά, οι ενώσεις BHT και BHA, οι μόνες μονοϋδρικές φαινόλες σε αυτή τη μελέτη, αποδείχθηκε ότι είναι οι λιγότερο ικανές για την ενίσχυση της αντιμικροβιακής σταθερότητας των FAMES παρά την υψηλή ομοιότητα στη δομή ειδικά του BHA με το TBHQ. Αν και ο αριθμός των υδροξυλίων δεν θεωρείται κρίσιμη παράμετρος όσον αφορά την αντιμικροβιακή δράση των φαινολών – εν αντιθέσει με το ρόλο τους στην αντιοξειδωτική τους δράση – φαίνεται να επηρεάζει την διαλυτότητα αυτών των ενώσεων στα λιπίδια. Οι μονοϋδρικές φαινόλες θεωρούνται περισσότερο διαλυτές στα λιπίδια σε σύγκριση με τις δι-ή τρι-υδρικές φαινόλες και τείνουν να προσδένονται περισσότερο στα λιπαρά οξέα μειώνοντας, έτσι, την αντιμικροβιακή τους δραστηριότητα (Raccach, 1984). Λόγω των παραπάνω και δεδομένης της υψηλότερης διαλυτότητας των BHT και BHA στο FAME θα μπορούσε να εξηγηθεί η χαμηλή απόδοση των BHT και BHA ως αντιβακτηριακά στο βιοντήζελ. Επιπλέον, το BHT έχει χαρακτηριστεί ως η λιγότερο αποτελεσματική αντιμικροβιακή ουσία σε μια σειρά μελετών σε τρόφιμα σε σύγκριση με τα BHA, TBHQ ή PG (Gailani, et al., 1984; Gutierrez-Larrainzar, et al., 2013). Προφανώς, αυτό φαίνεται και όταν το BHT χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακό πρόσθετο στο βιοντήζελ και έτσι αυτή η χαμηλή δράση αποδίδεται επίσης στην υψηλότερο βαθμό στερεοχημικής παρεμπόδισης λόγω της παρουσίας των δύο τριτοταγών βουτυλο-ομάδων στις θέσεις 2 και 6 του αρωματικού δακτυλίου (Raccach, 1984; Gutierrez-Larrainzar, et al., 2013).

Οι PY και PG είναι και οι δύο τρι-υδρικές φαινόλες και παράγωγα του γαλλικού οξέος. Στην παρούσα μελέτη, όταν προστίθενται στα FAME, και οι δύο ενώσεις συμβάλουν στην μικροβιακή σταθερότητα έναντι του βακίλου, ωστόσο το πρόσθετο PG αποδείχθηκε να είναι περισσότερο αποτελεσματικό αντιμικροβιακό σε σύγκριση με το PY με βάση τη δραστηριότητά του σε χαμηλή συγκέντρωση. Αν και η ουσία PY έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζει τόσο αντιβακτηριακές όσο και αντιμυκητιακές ιδιότητες, η δραστηριότητά της είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με άλλες παράγωγες ενώσεις και ο αντιμικροβιακός μηχανισμός της δεν είναι επαρκώς καθορισμένος (Block, 2001; Kocaçaliskan, et al., 2006; Lima, et al., 2016; Han, et al., 2017). Η ουσία PG ανήκει στην οικογένεια των ενώσεων των αλκυλεστέρων του γαλλικού οξέος, στις οποίες τα gram-θετικά βακτήρια είναι ευαίσθητα λόγω της ικανότητάς τους να αναστέλλουν το σύστημα αναπνοής των κυτταρικών μεμβρανών, ενώ η αλκυλική αλυσίδα παίζει ρόλο στη λιποφιλικότητα και στη δραστηριότητα της ένωσης (Kubo, et al., 2004).

Τα παράγωγα της πυροκατεχόλης, MCT και TBC, φαίνεται επίσης ότι είναι αποτελεσματικά στην ενίσχυση της αντιμικροβιακής συμπεριφορά του FAME παρόμοια με τα TBHQ και PG. Η πυροκατεχόλη έχει πρόσφατα αξιολογηθεί ως αντιμικροβιακή ουσία στο βιοντίζελ και έχει καταγραφεί ικανοποιητική δραστηριότητα (Santos, et al., 2016). Στην παρούσα μελέτη οι δύο υποκατεστημένες κατεχόλες (μεθυλο και τριτοταγής βουτυλο-) παρουσίασαν πολύ καλή ανασταλτική συμπεριφορά έναντι του *Bacillus stearothermophilus* με την προσθήκη τους στο FAME ακόμη και στη χαμηλότερη εξεταζόμενη συγκέντρωση. Σε γενικές γραμμές, η τοξικότητα των κατεχολών έναντι των μικροοργανισμών είναι γνωστή και έχουν την ικανότητα να δρουν τόσο ως αντιοξειδωτικά όσο και ως προ-οξειδωτικά καταστρέφοντας τα μακρομόρια. Επιπλέον, λόγω της οξειδοαναγωγικής τους δράσεως οι κατεχόλες μπορούν να καταστρέψουν τη λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης (Schweigert, et al., 2001).

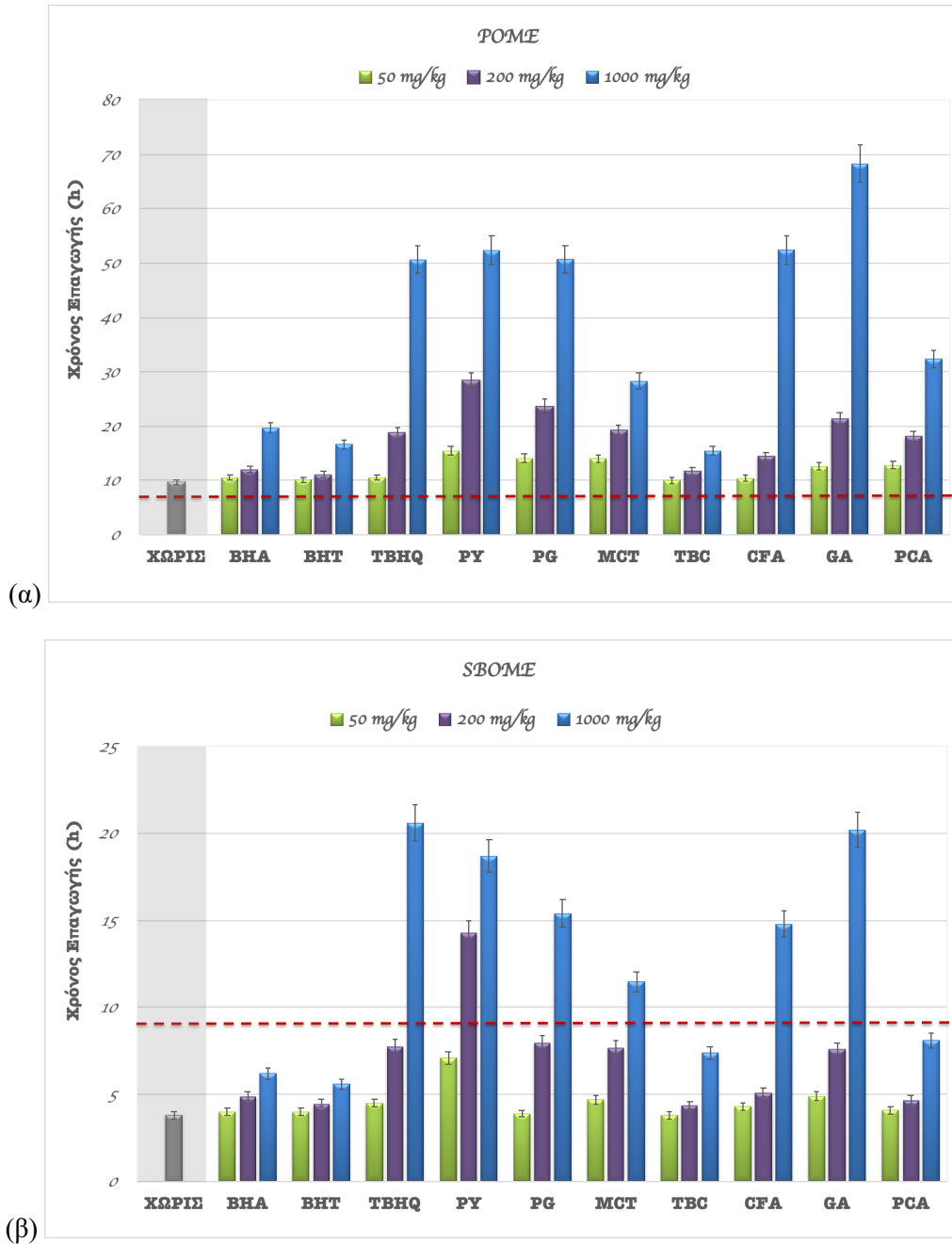
Τα φυσικά φαινολικά οξέα CFA και ειδικά τα GA και PCA δεν φάνηκε να είναι τόσο αποδοτικές αντιμικροβιακές ουσίες στο βιοντίζελ σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πολυϋδρικές φαινολες. Σε γενικές γραμμές, έχει αποδειχθεί ότι τα φαινολικά οξέα είναι συνήθως λιγότερο αποτελεσματικά από τις υπόλοιπες φαινόλες και ιδιαίτερα σε εκείνες τις περιπτώσεις όπου το pH του μέσου είναι υψηλότερο από τις τιμές pKa της καρβοξυλικής ομάδας των φαινολικών οξέων, με αποτέλεσμα την διάσπαση της τελευταίας (Gutiérrez-Larrainzar, et al., 2012). Η αντιμικροβιακή δράση των αδιάστατων φαινολικών οξέων θεωρείται ότι είναι υψηλότερη σε σύγκριση με των αντίστοιχων μη-αδιάστατων επειδή τα πρώτα είναι περισσότερο διαλυτά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Εκτός αυτού, το pH έχει επίσης μια ισχυρή επίδραση στην MIC των φαινολικών οξέων (Sanchez-Maldonado, et al., 2011; Almajano, et al., 2007). Σε αυτή τη μελέτη, το pH των παραγόμενων FAMEs ήταν μεταξύ 6-7, ενώ οι τιμές pKa των εξεταζόμενων φαινολικών οξέων είναι ίσες ή χαμηλότερες του 4.6. Πάντως η σχετικά καλύτερη αντιβακτηριακή συμπεριφορά του CFA πιθανόν να οφείλεται στο διπλό δεσμό της πλευρικής αλυσίδας, η οποία είναι η κύρια διαφορά της δομής των υδροξυβενζοϊκών (GA, PCA) και των υδροξυκινναμικών οξέων (CFA) (Sanchez-Maldonado, et al., 2011).

Για κάθε σειρά των εξεταζόμενων προσθέτων στις συγκεντρώσεις των 1000, 200 και 50 mg/kg, προσδιορίστηκε αντίστοιχα και η επίδραση στην οξειδωτική σταθερότητα των POME και SBOME. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο Σχήμα 9-1. Όσον αφορά τις αρχικές μετρήσεις των μη ενισχυμένων FAME, η περίοδος επαγωγής του POME μετρήθηκε ίση με 9.7h - αρκετά πάνω από το ελάχιστο που θέτει η προδιαγραφή βάσει του EN14214 (8h) -, ενώ σημαντικά χαμηλότερη τιμή (3.8h), κάτω από την ελάχιστη απαίτηση, προσδιορίστηκε στο SBOME. Η αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα του αμιγούς POME οφείλεται στην υψηλότερη περιεκτικότητα σε μονο-ακόρεστα λιπαρά οξέα σε σύγκριση με τον πολύ-ακόρεστο χαρακτήρα του SBOME.

Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών ουσιών είχε θετική επίδραση στην οξειδωτική σταθερότητα και των δύο FAMES. Καθώς το POME είχε αρχικά υψηλό χρόνο επαγωγής σε όλες τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων η οξειδωτική σταθερότητα διατηρείται πάνω από την προδιαγραφή που ορίζει το EN14214. Ωστόσο, ήταν ενδιαφέρον να εξεταστεί η σχετική δραστηριότητα των προσθέτων σε αυτόν τον τύπο FAME που είναι άφθονος σε ελαϊκό οξύ (C18:1). Από την άλλη πλευρά, στο SBOME η συγκέντρωση του κάθε προσθέτου διαδραμάτιζε σημαντικό ρόλο στην επίτευξη ή μη του ορίου της προδιαγραφής.

Στην υψηλότερη συγκέντρωση των 1000 ppm, το φαινολικό οξύ GA αποδείχθηκε ότι είναι το πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό στο POME και έπονται τα TBHQ, PY, PG και CFA, τα οποία είχαν παρόμοιους χρόνους επαγωγής. Στο SBOME, τα παραπάνω πρόσθετα επίσης παρουσίασαν καλή οξειδωτική σταθερότητα στην ίδια συγκέντρωση, αλλά η σειρά δραστηριότητάς τους ήταν κάπως διαφορετική. Συγκεκριμένα, τα TBHQ και GA προκάλεσαν σχεδόν την ίδια ποσοστιαία αύξηση στην οξειδωτική σταθερότητα του SBOME, ενώ ακολουθούν τα PY, PG και CFA, αλλά με τάση μείωσης του χρόνου επαγωγής. Τα PCA και MCT, επέδειξαν επίσης καλή συμπεριφορά έχοντας όμως σημαντικά χαμηλότερους χρόνους επαγωγής. Το πρόσθετο MCT ήταν πιο αποτελεσματικό από το PCA στην περίπτωση του SBOME. Οι μονοϋδρικές φαινόλες BHA και BHT, μαζί με την κατεχόλη TBC, επέδειξαν σχετικά περιορισμένη ικανότητα ενίσχυσης της οξειδωτικής σταθερότητας των FAME. Ειδικότερα, το TBC ήταν το λιγότερο αποδοτικό πρόσθετο στο POME. Στο SBOME η προσθήκη του TBC οδήγησε σε χρόνο επαγωγής ακριβώς κάτω από το όριο της προδιαγραφής ενώ με την παρουσία των BHT και BHA, ακόμη και στα 1000 ppm, τα αποτελέσματα απείχαν αρκετά από την ελάχιστη απαίτηση των 8 ωρών.

Στο εύρος των 50 - 200 ppm, το πρόσθετο PY παρουσιάζεται ως το πιο αποδοτικό αντιοξειδωτικό και στους δύο τύπους FAME, ενώ η σχετική σειρά δραστηριότητας των υπολοίπων προσθέτων είναι διαφορετική σε σύγκριση με αυτή που παρατηρείται στα 1000 ppm. Για παράδειγμα, είναι σαφής η μείωση της αντιοξειδωτικής αποτελεσματικότητας των δύο φαινολικών οξέων GA και CFA, ενώ αντιθέτως η παρουσία του MCT επέφερε μικρότερη επί τοις εκατό μείωση στο χρόνο επαγωγής των FAME εν συγκρίσει με τις υπόλοιπες πολυϋδρικές φαινολικές ενώσεις. Στην συγκέντρωση των 200 ppm, εκτός από το PY, μόνο με την προσθήκη των TBHQ, PG, MCT και GA επιτυγχάνεται η προδιαγραφή των 8h στο SBOME, έστω και σε οριακό σημείο. Παρ' όλα αυτά, κανένα από τα παραπάνω πρόσθετα δεν εμφανίζει παρόμοια δυνατότητα όταν εισάγεται στο SBOME στην μικρότερη συγκέντρωση των 50 ppm.



Σχήμα 9-1: Οξειδωτική σταθερότητα των (α) POME και (β) SBOME έπειτα από την προσθήκη των φαινολικών ενώσεων σε συγκεντρώσεις των 50, 200 and 1000 mg/kg.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης όσον αφορά την οξειδωτικής σταθερότητα φαίνεται να συμφωνούν με ό, τι έχει παρατηρηθεί στην έως τώρα βιβλιογραφία σχετικά με την δραστηκότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών φαινολικού τύπου. Η εισαγωγή μιας δεύτερης ομάδας υδροξυλίου στη θέση όρθο ή πάρα είναι γνωστό ότι αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση ενώ οι τριϋδρικές φαινόλες είναι συνήθως πιο αποδοτικές από τις αντίστοιχες δι-υδρικές (Cuvelier, et al., 1992; Shahidi, et al., 1992). Περαιτέρω, υπάρχει πάντα και

η λεγόμενη υπόθεση του "παράδοξου της πολικότητας" (polar paradox) σύμφωνα με την οποία τα πολικά αντιοξειδωτικά είναι περισσότερο αποτελεσματικά όταν προστίθενται σε μη πολικά μέσα και το αντίθετο (Brand-Williams, et al., 1995). Σε μια σειρά από μελέτες σε βιοντήζελ έχει αποδειχθεί ότι τα PY, PG και TBHQ είναι πιο αποτελεσματικά από ό, τι τα BHT και BHA (Karavalakis, et al., 2010; Zhou, et al., 2016; Mittelbach, et al., 2003; Tang, et al., 2008; Karavalakis, et al., 2010). Από τα παράγωγα της πυροκατεχόλης, το TBC έχει βρεθεί να είναι πιο αποτελεσματικό από ότι το BHT, αλλά δεν ήταν τόσο αποδοτικό όσο το PY σε μελέτη που διεξήχθη σε βιοντήζελ με βάση το ηλιέλαιο και το σογιέλαιο (Deligiannis, et al., 2013). Η αντιοξειδωτική δράση του CFA σε βιοντήζελ από σόγιέλαιο έχει υποστηριχθεί ότι είναι καλύτερη από αυτή του BHT και τουλάχιστον ισοδύναμη με αυτή του TBHQ. Συγκεκριμένα, το CFA εμφανίζεται ως αποδοτικότερο έναντι του BHT και τουλάχιστον το ίδιο αποτελεσματικό με το TBHQ (Santos, et al., 2011; Damasceno, et al., 2013). Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα GA και PCA δεν έχουν αξιολογηθεί σχεδόν καθόλου ως προς την αναστολή της οξειδωσης του βιοντήζελ, ωστόσο έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διεξαγωγή μελετών σε άλλα συστήματα λιπιδίων, από τις οποίες προκύπτει ότι το CFA είναι πιο αποτελεσματικό έναντι του PCA (Natella, et al., 1999), ενώ το GA εμφανίζεται να έχει την καλύτερη απόδοση έναντι των CFA και PCA στο ηλιέλαιο με βάση την μέθοδο Rancimat (Merkl, et al., 2010). Αξίζει να σημειωθεί ότι, παρά την ομοιότητα της δομής των GA και PCA, η αντιοξειδωτική δράση του GA ήταν αρκετά ισχυρότερη από εκείνη του PCA, ειδικά σε μεγάλες συγκεντρώσεις, πιθανώς λόγω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου μεταξύ του καρβοξυλίου και της υδροξυλομάδας στη θέση 2 του μορίου του GA (Hrádková, et al., 2013).

Με βάση τα αποτελέσματα της αντιμικροβιακής και αντιοξειδωτικής δράσης των φαινολικών ενώσεων, στον Πίνακα 9-8 αναφέρεται η ελάχιστη συγκέντρωση των προσθέτων στο εκάστοτε FAME, προκειμένου ταυτόχρονα να επιτευχθεί - ή να διατηρηθεί - η απαίτηση οξειδωτικής σταθερότητας που ορίζεται από το EN14214 και να ανασταλεί η ανάπτυξη του *Bacillus stearotherophilus*.















Πίνακας 9-8: Ελάχιστη απαιτηθείσα συγκέντρωση των εξεταζόμενων φαινολικών ενώσεων ανά FAME για ταυτόχρονη αντιοξειδωτική ($IP \geq 8h$) και αντιμικροβιακή δράση (παρεμπόδιση ανάπτυξης του βακίλου).

Συγκέντρωση στο βιοντήζελ (ppm)										
FAME	BHA	BHT	TBHQ	PY	PG	MCT	TBC	CFA	GA	PCA
POME	>1000	>1000	50	200	50	50	50	200	>1000	>1000
SBOME	>1000	>1000	200	200	200	200	1000	1000	>1000	>1000

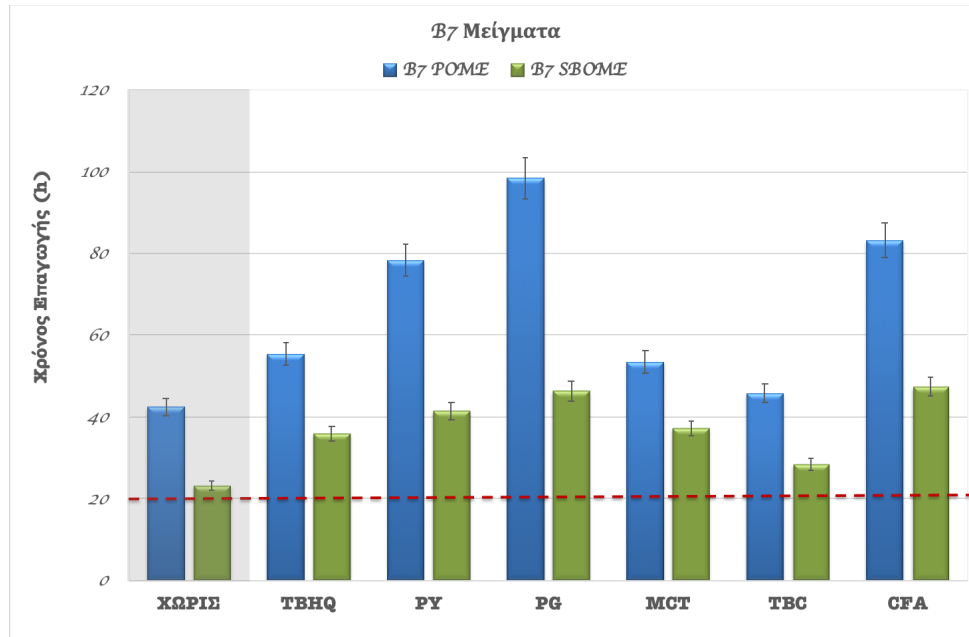
9.3.2.2 Μίγματα B7

Τα δύο FAME που περιείχαν τις ενώσεις εκείνες οι οποίες στην συγκέντρωση των 1000 ppm εμφάνισαν αντιβακτηριακή δράση - δηλαδή τις TBHQ, PY, PG, MCT, TBC και CFA - αναμίχθηκαν με ULSD (σε αναλογία 7% v/v) και αξιολογήθηκε η αντιμικροβιακή δράση αυτών των αντιοξειδωτικών έναντι του *Bacillus stearothermophilus* και στα μίγματα B7 (FAME- ULSD). Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 9-9. Τα αμιγή καύσιμα B7 (w / o) ελέγχθηκαν και πάλι στην αρχή και δεν εμφάνισαν ανασταλτική δράση. Εκ των ενισχυμένων B7 μίγμάτων, αυτά που περιείχαν τις φαινολικές ενώσεις TBHQ, PG, MCT και TBC εμφάνισαν αντιμικροβιακή συμπεριφορά. Αντίθετα, η παρουσία του PY και CFA σε αυτήν την συγκέντρωση δεν στάθηκε επαρκής ώστε να καταστείλει την ανάπτυξη του βακίλου. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η συγκέντρωση των προσθέτων στο τελικό μείγμα B7 ήταν περίπου 75 ppm, τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται να είναι λογικά, καθώς στα αμιγή FAMES τα πρόσθετα PY και CFA ήταν, επίσης, αναποτελεσματικά σε συγκεντρώσεις μικρότερες των 200 ppm.

Πίνακας 9-9: Ικανότητα των B7 μιγμάτων να αναστέλλουν την ανάπτυξη του *Bacillus stearothermophilus* έπειτα από την προσθήκη φαινολικών ενώσεων.

B7 Μίγματα	w/o	TBHQ	PY	PG	MCT	TBC	CFA
<i>1000 mg/kg στο FAME</i>							
B7 POME	-	+	+	+	+	+	+
							
B7 SBOME	-	+	+	+	+	+	+
							

Η αντιοξειδωτική συμπεριφορά των προσθέτων στα B7 μίγματα δίνεται στο Σχήμα 9-2. Η οξειδωτική σταθερότητα των αμιγών μιγμάτων ήταν και στις δύο περιπτώσεις πάνω από το όριο του προτύπου EN590 που είναι οι 20h και έτσι εξετάστηκε η ικανότητα των φαινολικών ενώσεων στο να ενισχύσουν περαιτέρω την αντιοξειδωτική συμπεριφορά. Στα μίγματα POME, η παρουσία του PG προκάλεσε την μεγαλύτερη αύξηση στο χρόνο επαγωγής, με δεύτερο καλλίτερο το CFA. Στην περίπτωση των SBOME μιγμάτων τα PG και CFA έδειξαν παρόμοια ισχυρή δράση. Αναφορικά με τα υπόλοιπα πρόσθετα που εξετάστηκαν η σχετική δραστηριότητα σε όλα τα B7 μίγματα βρέθηκε να ακολουθεί την εξής σειρά PY> TBHQ ≈ MCT> TBC. Παρά το γεγονός ότι το TBHQ ήταν ένα από τα καλύτερα αντιοξειδωτικά στα αμιγή FAME, η αποτελεσματικότητά του ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα μίγματα B7. Αυτή η συμπεριφορά έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη δημοσιευμένη μελέτη (Karavalakis, et al., 2010).



Σχήμα 9-2: Οξειδωτική σταθερότητα των B7 μιγμάτων (προσθήκη των φαινολικών ενώσεων στα FAMES στην συγκέντρωση των 1000 ppm).

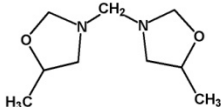
9.3.3 Αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων σε επιμολυσμένους μικρόκοσμους

Κατά το δεύτερο μέρος της μελέτης, διερευνήθηκε η ικανότητα των φαινολικών ενώσεων να περιορίσουν ή και να καταστείλουν υφιστάμενο υψηλό μικροβιακό φορτίο, σε εργαστηριακής κλίμακας επιμολυσμένους μικρόκοσμους που προσομοιάζουν τα συστήματα βραχυπρόθεσμης αποθήκευσης και τις συνθήκες της εφοδιαστικής αλυσίδας των καυσίμων ντήζελ/ βιοντήζελ. Συγκεκριμένα αξιολογήθηκαν οι ενώσεις εκείνες που επέδειξαν ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι του βακίλου στην υψηλότερη συγκέντρωση στο πρώτο μέρος της μελέτης. Λαμβάνοντας υπόψη τα προηγούμενα αποτελέσματα, οι μικρόκοσμοι των FAME περιλαμβάνουν έξι από τα πρόσθετα (ΤΒΗQ, ΡΥ, ΡG, ΜCΤ, ΤΒC & CFA), ενώ στους μικρόκοσμους των B7 (FAME/ULSD) προστέθηκαν τέσσερις φαινόλες, δηλαδή, τα ΤΒΗQ, ΡG, ΜCΤ και ΤΒC. Εξετάστηκε η επίδραση της μέγιστης συγκέντρωσης ήτοι 0,1% w/w (1000 ppm).

Προετοιμάστηκαν εις διπλόν μικρόκοσμοι (CWM) που αποτελούνται από FAME - είτε σκέτο είτε μίγμα αυτού με ULSD σε συγκέντρωση 7% v / v (B7) – το οποίο περιείχε 1000 ppm από το εκάστοτε πρόσθετο. Τη χρονική στιγμή t0 προστέθηκε επιμολυσμένη υδατική φάση - σε αναλογία 10: 1 φάσης καύσιμου προς υδατικής φάσεως - της η οποίας προσδιορίστηκε η μικροβιακή δραστηριότητα και βρέθηκε να είναι ίση με 6.000 pg ATP / ml. Κάθε μικρόκοσμος αποθηκεύτηκε σε αποστειρωμένη φιάλη για χρονικό διάστημα 30 ημερών. Για λόγους σύγκρισης, προετοιμάστηκαν επίσης μικρόκοσμοι, αποτελούμενοι από το εκάστοτε

FAME και το αντίστοιχο μίγμα B7, όπου προστέθηκε ένα εμπορικά διαθέσιμο μικροβιοκτόνο καυσίμων (βλ. Πίνακας 9-10). Οι παραπάνω μικρόκοσμοι εμβολιάστηκαν, επίσης, και αποθηκεύτηκαν το ίδιο χρονικό διάστημα και υπό τις ίδιες συνθήκες περιβάλλοντος και απουσίας φωτός. Η δραστική ουσία του μικροβιοκτόνου είναι 3,3'-μεθυλενο-δισ-[5-μεθυλοξαζολιδίνη] (MBO) και η χρήση της έχει εγκριθεί από τους σχετικούς κανονισμούς της ΕΕ και των ΗΠΑ (Siegert, *et al.*, 2013). Η βιοκτόνος ουσία προστέθηκε στα FAME στην ανώτατη συνιστώμενη συγκέντρωση, ήτοι τα 1000 ppm. Επιπλέον, προετοιμάστηκαν και αποθηκεύτηκαν με παρόμοιο τρόπο μη επιμολυσμένοι μικρόκοσμοι αναφοράς (RM), δηλαδή χωρίς την προσθήκη επιμολυσμένης υδατικής φάσης. Οι μεταβολές στην μικροβιακή ανάπτυξη στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους αξιολογήθηκαν με τη συλλογή και την ανάλυση δειγμάτων από την υδατική φάση σε προκαθορισμένα διαστήματα, δηλαδή μετά από 2, 15 και 30 ημέρες κατά το διάστημα αποθήκευσης.

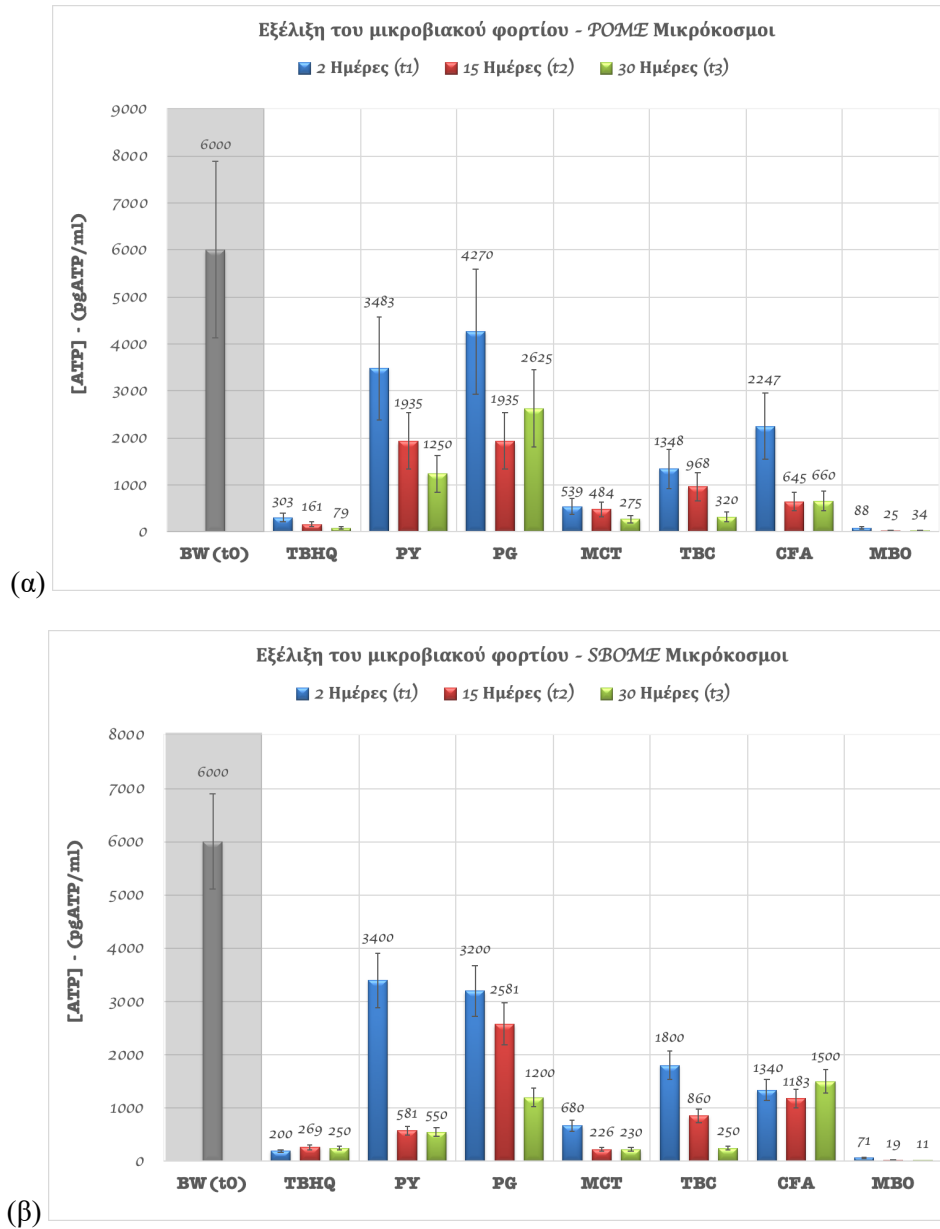
Πίνακας 9-10: Χαρακτηριστικά του εξεταζόμενου εμπορικού βιοκτόνου.

Όνοματολογία	Χημικός τύπος	MB	Χημική δομή	Καθαρότητα	CAS No / EC No.
3,3'-Methylenebis[5-methylloxazolidine] (MBO)	C ₉ H ₁₈ N ₂ O ₂	186.25		>99%	66204-44-2 266-235-8

Στο τέλος της αποθήκευσης εξετάστηκε η οξειδωτική σταθερότητα των υπό εξέταση καυσίμων τόσο στους επιμολυσμένους όσο και στους μικρόκοσμους αναφοράς και πραγματοποιήθηκε συγκριτική αξιολόγηση αυτής έναντι της αρχικής.

9.3.3.1 Αντιμικροβιακή δράση

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρακολούθηση του μικροβιακού φορτίου κατά το χρονικό διάστημα των 6 εβδομάδων εκφράζονται σε μέσες τιμές του ATP και παρουσιάζονται στα Σχήματα 9-3 και 9-4 για τους επιμολυσμένους μικρόκοσμους (CWM) των FAME και των μιγμάτων B7 αντίστοιχα.



Σχήμα 9-3: Επίδραση των επιλεγμένων φαινολικών ενώσεων (συγκέντρωση 1000 ppm) στην μικροβιακή δραστηριότητα της υδατικής φάσης των CWM μικρόκοσμων (α) POME, (β) SBOME, και σύγκριση με το εμπορικό βιοκτόνο ουσία MBO.

Μετά από 2 ημέρες αποθήκευσης (t2), σε όλους τους FAME μικρόκοσμους, η μετρούμενη συγκέντρωση ATP ήταν χαμηλότερη από την αρχική βιο-επιβάρυνση στην t0, αλλά παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στη συγκριτική μείωση της ενεργούς μικροβιακής μόλυνσης. Όπως ήταν αναμενόμενο, το εμπορικό βιοκτόνο MBO ήταν σε θέση να εξαλείψει ουσιαστικά την μικροβιακή ανάπτυξη, δεδομένου ότι οι τιμές cATP ήταν ακριβώς κάτω από 100 pg ATP/ml. Επιπροσθέτως, η μικροβιακή δραστηριότητα στην υδατική φάση των POME και SBOME μικρόκοσμων μειώθηκε σημαντικά και στις περιπτώσεις των

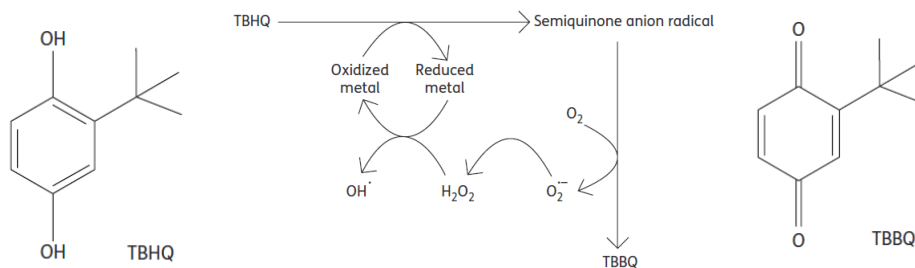
μικρόκοσμων που περιείχαν τις φαινολικές ενώσεις MCT και TBHQ με τις αντίστοιχες τιμές του ATP να είναι πολύ κάτω από 1000 pg/ml. Το TBHQ φαίνεται να είναι το πιο αποδοτικό πρόσθετο και η μόνη εκ των φαινολικών ενώσεων που μπορεί να συγκριθεί με το MBO. Ειδικότερα, το μικροβιακό φορτίο των υδατικών φάσεων στους μικρόκοσμούς POME και SBOME με TBHQ ήταν ίσο με 300 και 200 pg ATP/ml, αντίστοιχα. Μια χαμηλότερη μείωση του μικροβιακού φορτίου παρατηρήθηκε στους μικρόκοσμούς που περιέχουν TBC και CFA, ενώ υψηλό μικροβιακό φορτίο ανακτήθηκε από αυτούς τους μικρόκοσμούς που περιείχαν τις τριϋδρικές φαινόλες PY και PG όπως υποδηλώνουν οι υψηλές συγκεντρώσεις ATP που ανιχνεύθηκαν. Κατά το υπόλοιπο της περιόδου αποθήκευσης, εμφανίστηκε είτε σταθεροποίηση είτε μια περαιτέρω μείωση στην συγκέντρωση του ATP των υδατικών φάσεων. Στο τέλος της περιόδου εξέτασης, η υδροκινόνη (TBHQ) και τα δύο παράγωγα της κατεχόλης (MCT και TBC) εμφάνισαν την καλύτερη ανασταλτική δράση μεταξύ των εξεταζόμενων φαινολικών ενώσεων βάσει των τιμών της συγκέντρωσης ATP. Εκτός αυτού, η δραστηριότητα του καθενός από τα τρία αυτά πρόσθετα ακολουθεί την ίδια τάση ως προς τη χρονική εξέλιξη της καταστολής του βιολογικού φορτίου ανεξάρτητα από τον τύπο του FAME, με το TBC να εμφανίζει πιο αργή δράση. Τα PY, PG και CFA δεν ήταν τόσο αποτελεσματικά έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας. Το PG ήταν το λιγότερο ικανό δεδομένου ότι οι ATP τιμές βρέθηκαν να είναι πάνω από 1000 pg/ml τη χρονική στιγμή t3. Από τη άλλη μεριά με την προσθήκη του CFA ενώ μετά από δύο ημέρες η μείωση του μικροβιακού φορτίου στο SBOME ήταν εμφανώς μεγαλύτερος από ότι στο POME, εντούτοις στον υπόλοιπο χρόνο παρατηρήθηκε παρόμοιο-σταθερό φορτίο στο SBOME, ενώ στο POME υπήρξε επιπλέον μείωση της δραστηριότητας. Υπενθυμίζεται ότι στο πρώτο μέρος της μελέτης το CFA ήταν δραστικό σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις έναντι του βακίλου μόνο όταν προστέθηκε στο POME και η εδώ συμπεριφορά είναι ίσως ενδεικτική αυτής της δράσης του CFA. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι με βάση τις τρέχουσες μετρήσεις ATP, μόνο ο μικρόκοσμος POME που περιείχε TBHQ θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι βρίσκεται υπό καλό έλεγχο (80 pg ATP / ml) την 3. Εν συγκρίσει, η μικροβιακή δραστηριότητα στην κάτω φάση των μικρόκοσμων με MBO ήταν πρακτικά μηδενική με το πέρασ της περιόδου εξέτασης. Με βάση την αντιμικροβιακή συμπεριφορά των φαινολικών ενώσεων στους μικρόκοσμούς των αμιγών βιοντήζελ σε συγκέντρωση 1000 ppm, θα μπορούσε να δειχθεί η εξής σειρά αυξημένης ικανότητας (α) POME: TBHQ > MCT > TBC > CFA > PY > PG, (β) SBOME: TBHQ \approx MCT > TBC > CFA \approx PY > PG.

Στα μικρόκοσμούς B7, τα δύο παράγωγα της κατεχόλης εμφάνισαν την καλύτερη ανασταλτική δράση έναντι του μικροβιακού φορτίου στην υδατική φάση. Το πρόσθετο MCT είναι το πιο αποτελεσματικό με βάση τις μετρήσεις ATP τις χρονικές στιγμές t1 και t3. Ειδικά στους μικρόκοσμούς B7 POME που περιείχαν MCT η μικροβιακή δραστηριότητα στην κάτω φάση μειώθηκε αξιοσημείωτα και την t3 ήταν ίση με 190 pg ATP/ml. Η συγκέντρωση αυτή του ATP μπορεί ευθέως να συγκριθεί με την αντίστοιχη στο

μικρόκοσμο που περιείχε την βιοκτόνο ουσία MBO (120 µg ATP/ml). Σε κάθε περίπτωση, είναι προφανές ότι σε όλους σχεδόν τους μικρόκοσµους, τη t2 παρατηρείται μια αυξανόμενη τάση στην μικροβιακή ανάπτυξη, ακόμη και σε εκείνους που περιέχουν MBO. Αυτή η συμπεριφορά οφείλεται πιθανώς στη σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση των προσθέτων στα τελικά B7 μίγματα σε σύγκριση με τα αμιγή FAMES. Το χαμηλό ποσοστό συγκέντρωσης θα μπορούσε, επίσης, να εξηγήσει την μειωμένη αποτελεσματικότητα των TBHQ στα μίγματα B7. Και στις δύο περιπτώσεις, το PG αποδείχθηκε ότι είναι το λιγότερο αποδοτικό αντιοξειδωτικό όσον αφορά την ικανότητά του να καταστέλλει τη μικροβιακή δραστηριότητα στους μικρόκοσµους. Συγκεκριμένα, κατά το τέλος της περιόδου αποθήκευσης από τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP προκύπτει ότι ήταν δυνατό να ανακτηθεί περισσότερο από το 35% της αρχικής βιο-επιβάρυνσης. Με βάση την αντιμικροβιακή συμπεριφορά των φαινολικών ενώσεων στους μικρόκοσµους των B7 μιγμάτων η σειρά αυξημένης ικανότητας ήταν η εξής: MCT > TBC > TBHQ > PG.

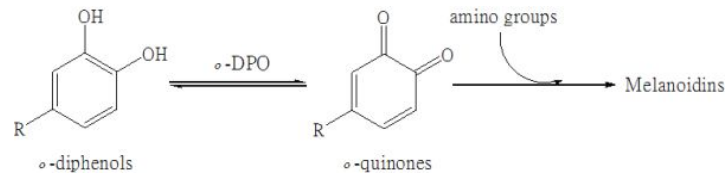
Συνολικά από τις φαινολικές ουσίες που εξετάστηκαν στα πειράματα των επιμολυσμένους μικρόκοσµων, το TBHQ και οι δύο κατεχόλες (MCT, TBC) είχαν την ισχυρότερη δράση έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας, με το TBHQ να αποδεικνύεται καλλίτερο στα αμιγή FAME, ενώ οι κατεχόλες ήταν οι πιο δραστικές στα μίγματα B7. Εντούτοις εκτός μεμονομένων περιστάσεων η αποτελεσματικότητά τους υπολείπεται αυτής του βιοκτόνου το οποίο, όπως αναμενόταν, είχε ταχεία δράση έναντι του μικροβιακού φορτίου και στις δύο σειρές μικροκόσµων. Το MBO ανήκει σε μια κατηγορία δραστικών μικροβιοκτόνων των οποίων η δράση στηρίζεται στην σταδιακή απαλευθέρωση φορµαλδεΰδης ενώ είναι διαλυτό τόσο στη φάση καυσίμου όσο και στην υδατική φάση, αλλά τείνει τελικώς να συγκεντρώνεται στην υδατική φάση. Όσον αφορά τη διαλυτότητα των φαινολικών ενώσεων, το TBHQ θεωρείται το λιγότερο υδατοδιαλυτό από τα πρόσθετα που εξετάστηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης. Το TBHQ, όπως έχει προαναφερθεί θεωρείται ότι διαθέτει αντιμικροβιακές ιδιότητες στα συστήματα λιπιδίων και η αντιβακτηριδιακή του δράση στο βιοντήζελ φάνηκε και στο πρώτο μέρος της μελέτης.

Με βάση πρόσφατες δημοσιεύσεις, η αντιμικροβιακή δράση του TBHQ εμφανίζεται μόνο στην περιπτώσεις εκείνες όπου υπόκειται σε οξείδωση ώστε να σχηματιστεί η τριτοταγής βουτυλοβενζοκινόνη (tert-butylbenzoquinone - TBBQ) σύμφωνα με την αντίδραση:

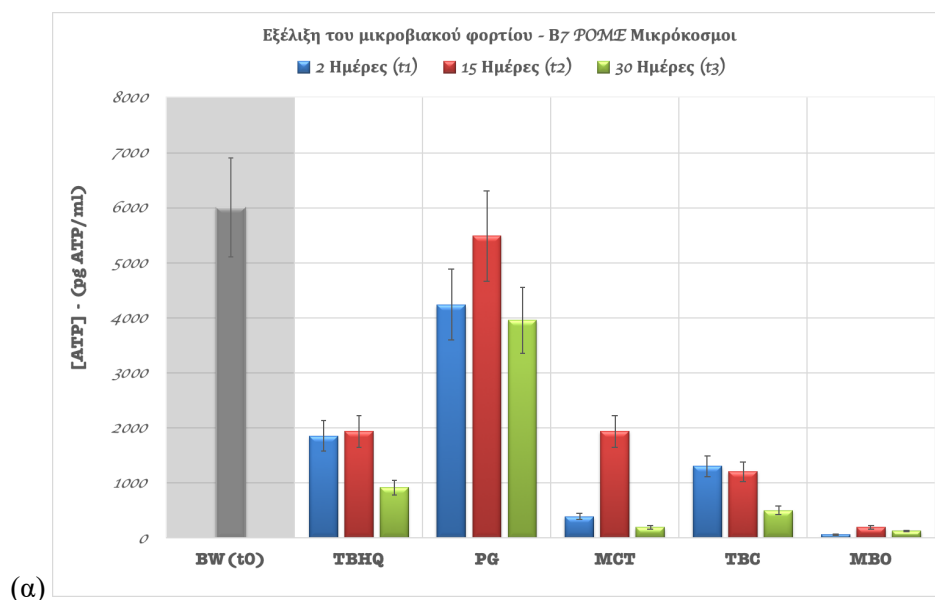


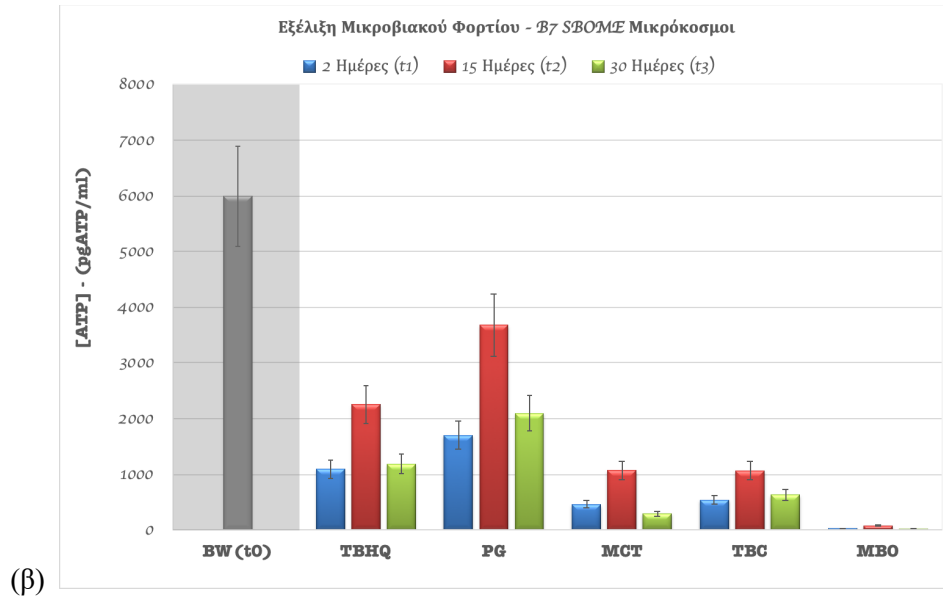
Το TBBQ, ως προϊόν οξείδωσης του TBHQ, υποστηρίζεται ότι αφενός μεν είναι τελικώς υπεύθυνο για την αντιμικροβιακή δράση που αποδίδεται στο TBHQ (Ooi, *et al.*, 2013), ενώ αφετέρου δε θεωρείται ότι είναι ιδιαίτερα δραστικό έναντι του "βιοφιλμ" προκαλώντας την αποδυνάμωση και εξάλειψή τους (Ooi, *et al.*, 2016). Από την οπτική παρατήρηση των μικρόκοσμων φαίνεται να υποστηρίζεται η παραπάνω υπόθεση δεδομένου ότι η εμφάνιση της δι-επιφάνεια καυσίμου / υδατικής φάσης στους μικρόκοσμους των FAME με TBHQ ήταν διαφορετική από εκείνη αυτών των μικρόκοσμων που περιείχαν τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις (Εικόνα 9-1).

Από την άλλη μεριά, ο σκούρος χρωματισμός που είχαν οι υδατικές φάσεις των υπόλοιπων μικρόκοσμων, εκτός αυτών με TBHQ και MBO, αποδίδεται στο γεγονός ότι ο-διφαινόλες (o-diphenols), όπως τα MCT, TBC και CFA με την παρουσία νερού οξειδώνονται προς ο-κινόνες (o-quinones), οι οποίες είναι πολύ δραστικές ενώσεις και πολυμερίζονται - είτε μεταξύ τους είτε με αμινοξέα ή πρωτεΐνες - σε σκουρόχρωμες ενώσεις όπως αποτυπώνεται στη παρακάτω εικόνα (Rouet-Mayer, *et al.*, 1990; Walker, *et al.*, 1998).

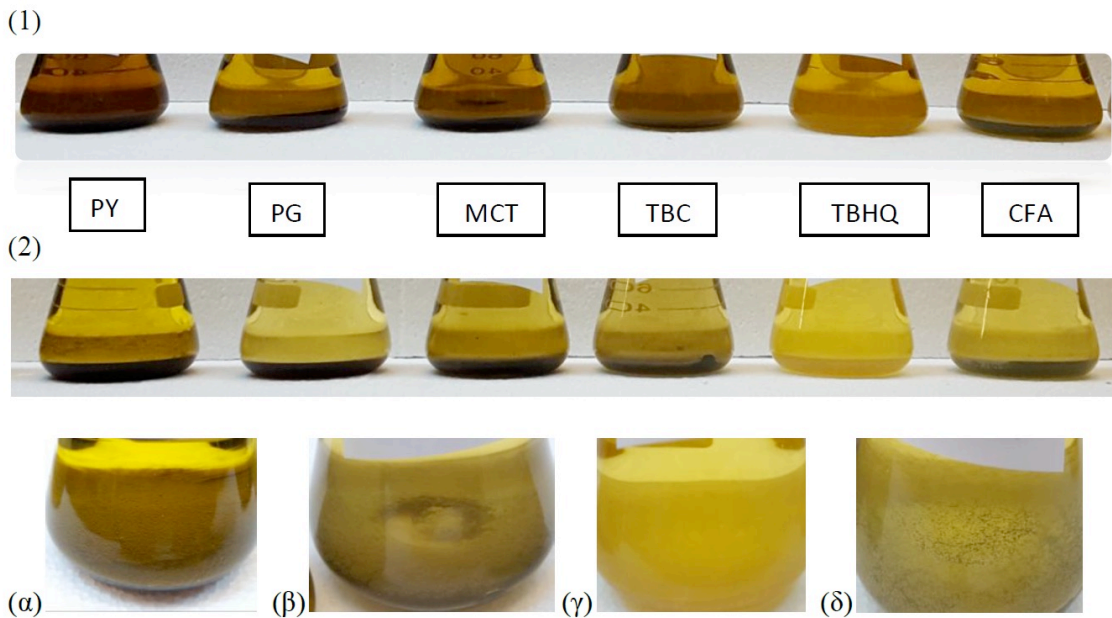


Ομοίως με τις διφαινόλες, οι τριϋδρικές φαινόλες και ιδιαίτερα αυτές που έχουν δομή πυρογαλλόλης (PY, PG), απορροφούν εύκολα το οξυγόνο σχηματίζοντας προϊόντα που έχουν έντονο χρωματισμό (Abrash, *et al.*, 1989; Tauber, 1953).





Σχήμα 9-4: Επίδραση των επιλεγμένων φαινολικών ενώσεων (συγκέντρωση 1000 ppm στο FAME) στην μικροβιακή δραστηριότητα της υδατικής φάσης των CWM μικρόκοσμων (α) B7 (POME / ULSD), (β) B7 (SBOME / ULSD), και σύγκριση με την βιοκτόνο ουσία MBO.



Εικόνα 9-1: Όψη των επιμολυσμένων μικρόκοσμων (1) POME, (2) SBOME παρουσία των φαινολικών προσθέτων. Λεπτομέρειες από τους SBOME μικρόκοσμους παρουσία (α) PY, (β) TBC, (γ) TBHQ και (δ) CFA.

9.3.3.2 Αντιοξειδωτική δράση - σταθερότητα κατά την αποθήκευση

Μετά το πέρας του χρόνου αποθήκευσης, ήτοι με το τέλος των 30 ημερών, προσδιορίστηκε η οξειδωτική σταθερότητα των καυσίμων τόσο από τους επιμολυσμένους (CWM) όσο και από τους μικρόκοσμους αναφοράς (RM). Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών δίνονται στους Πίνακες 9-11 και 9-12 για τα FAME και τα B7 μίγματα αντίστοιχα. Οι όροι In-ΔIP% και Ref-ΔIP% χρησιμοποιούνται για να αναλύσουν την ποσοστιαία μεταβολή του χρόνου επαγωγής σε σχέση με τη t_0 (αρχή του πειράματος) και την ποσοστιαία μεταβολή του χρόνου επαγωγής στους CWM σε σχέση με τους RM την t_3 , αντίστοιχα. Για λόγους σύγκρισης παρατίθενται και οι μετρήσεις στα δείγματα που περιείχαν MBO.

Αρχικά, στους RM μικρόκοσμους - τόσο του POME όσο και του SBOME - παρατηρείται ότι μετά από 30 ημέρες αποθήκευσης, τα δείγματα που περιείχαν αντιοξειδωτικά παρουσιάζουν μικρότερη ποσοστιαία μείωση στην οξειδωτική σταθερότητα (In-ΔIP%) σε σχέση με τα μη ενισχυμένα POME και SBOME. Επίσης οι ποσοστιαίες μεταβολές ήταν μεγαλύτερες στα δείγματα POME σε σχέση με τα SBOME. Τα πρόσθετα PY και MCT έδειξαν την καλλίτερη σταθερότητα στο POME, ενώ στο SBOME παρατηρήθηκε ότι με την παρουσία των TBHQ και TBC οι χρόνοι επαγωγής ήταν υψηλότερη την t_3 . Αυτό υποδηλώνει την αποτελεσματικότητα αυτών των προσθέτων να προσδίδουν σταθερότητα σε βάθος χρόνου στο SBOME, απουσία υγρασίας/υδατικής φάσης. Παρόμοια συμπεριφορά έχει φανεί για το TBHQ σε μια μελέτη 3-μηνιαίας αποθήκευσης βιοντήζελ από σογιέλαιο, παρέχοντας πολύ ικανοποιητική αντιοξειδωτική προστασία καθ' όλη τη διάρκεια (Tang, *et al.*, 2009). Σε όλες τις περιπτώσεις των RM, με την παρουσία των φαινολικών προσθέτων όλα τα δείγματα βρέθηκαν εντός του EN14214 μετά από 1 μήνα καθώς ο χρόνος επαγωγής ήταν άνω των 8 ωρών. Αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι το MBO παρά το γεγονός ότι ουσιαστικά δεν αναβαθμίζει την οξειδωτική σταθερότητα, εντούτοις έδειξε να παρέχει κάποιο επίπεδο σταθερότητας στην αποθήκευση ειδικά στο POME.

Πίνακας 9-11: Προσδιορισμοί και μεταβολές οξειδωτικής σταθερότητας στους RM και CWM μικρόκοσμους των δύο βιονητζέλ, μετά από 30 ημέρες.

Οξειδωτική Σταθερότητα μικρόκοσμων POME						
Πρόσθετο (1000ppm)	Αρχικά (t0)	RM - (Μετά 30ημέρες - t3)		CWM - (Μετά 30ημέρες - t3)		
	IP(h)	IP(h)	In-ΔIP%	IP(h)	In-ΔIP%	Ref-ΔIP%
w/o	9.7	6.8	-30%			
TBHQ	50.6	42.9	-15%	11.4	-77%	-73%
PY	52.4	49.8	-5%	37.1	-29%	-26%
PG	50.7	45.6	-10%	42.9	-15%	-6%
MCT	28.3	26.1	-8%	21.6	-24%	-17%
TBC	15.4	12.2	-21%	1.9	-88%	-84%
CFA	52.5	42.8	-18%	17.3	-67%	-60%
MBO	11.2	10.7	-4%	9	-20%	-16%

Οξειδωτική Σταθερότητα μικρόκοσμων SBOME						
Πρόσθετο (1000ppm)	Αρχικά (t0)	RM - (Μετά 30ημέρες - t3)		CWM - (Μετά 30ημέρες - t3)		
	IP(h)	IP(h)	In-ΔIP%	IP(h)	In-ΔIP%	Ref-ΔIP%
w/o	3.8	3.2	-16%			
TBHQ	20.6	21.2	3%	8.1	-61%	-62%
PY	18.7	16.9	-10%	13.6	-27%	-20%
PG	15.4	15.1	-2%	14.7	-5%	-3%
MCT	11.5	11.1	-3%	9.8	-15%	-12%
TBC	7.4	8.2	11%	0.6	-92%	-93%
CFA	14.8	13.5	-9%	6.0	-59%	-56%
MBO	4.2	3.2	-24%	3.3	-21%	3%

Εξετάζοντας τις μετρήσεις της οξειδωτικής σταθερότητας μετά από 30 ημέρες στους CWM μικρόκοσμους, αρχικά είναι φανερό ότι η παρουσία υδατικής-επιμολυσμένης κάτω φάσης έχει σημαντική επίδραση στην υποβάθμιση του καυσίμου. Οι χρόνοι επαγωγής είναι αρκετά περιορισμένοι σε σχέση τόσο με τις αρχικές μετρήσεις όσο και με τις μετρήσεις των RF την t3. Εξάιρεση αποτελούν οι CWM μικρόκοσμοι στους οποίους είχε προστεθεί το αντιοξειδωτικό PG. Παρά το γεγονός ότι το PG ήταν η ελάχιστη ικανή αντιμικροβιακή ένωση στα πειράματα των μικρόκοσμων, εντούτοις αποδείχθηκε ότι ήταν το περισσότερο ικανό να διατηρήσει τη σταθερότητα του βιονητζέλ υπό την παρουσία υδατικής φάσης. Έχει αναφερθεί ότι γενικά όταν τα αντιοξειδωτικά "καταναλώνονται" κατά τη διεργασία της αυτο-οξείδωσης των λιπιδίων, η

αντιμικροβιακή δραστηριότητα συνήθως χάνεται καθώς δεν είναι διαθέσιμες πλέον οι ελεύθερες υδροξυλομάδες (Raccach, 1984; Tseng, et al., 1995). Από την άλλη μεριά τα TBHQ και MCT που αποδείχθηκαν συγκριτικά οι πιο αποτελεσματικές έναντι της μικροβιακής δραστηριότητας, είχαν μεταξύ τους διαφορετική αντιοξειδωτική συμπεριφορά στους επιμολυσμένους μικρόκοσμούς. Τα δείγματα που περιείχαν TBHQ παρουσίασαν σημαντική πτώση στην οξειδωτική σταθερότητα, ενώ αντιθέτως το MCT είχε τη δεύτερη καλύτερη επίδοση μετά το PG. Σημαντική μείωση στο χρόνο επαγωγής παρατηρήθηκε και στους μικρόκοσμούς με CFA - με το SBOME να αποτυγχάνει στην προδιαγραφή πλέον - , εντούτοις η παρουσία του TBC σε συνδυασμό με την ύπαρξη υδατικής φάσης είχε δραματική επίπτωση στη σταθερότητα και των δυο βιοντήζελ. Το TBC ήταν αρκετά αποτελεσματικό αντιμικροβιακή ουσία, αλλά η μείωση στο χρόνο επαγωγής μετά από 30 ημέρες ήταν της τάξης του 90% και οι τελικές τιμές υποδηλώνουν καύσιμο με σχεδόν μηδενική οξειδωτική σταθερότητα. Όσον αφορά στο MBO και στα δυο FAME οι μετρήσεις καταδεικνύουν μια μέση μείωση της τάξης του 20% στην οξειδωτική σταθερότητα με τις τελικές τιμές το χρόνου επαγωγής να είναι αρκετά χαμηλοί εντούτοις. Συνολικά η σειρά αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των φαινολικών ενώσεων στην οξειδωτική σταθερότητα στους επιμολυσμένους μικρόκοσμούς ήταν PG > MCT > PY > CFA > TBHQ >>TBC.

Για τους μικρόκοσμούς των μιγμάτων B7, αρχικά είναι εμφανές ότι στα δείγματα αναφοράς (RM), λαμβάνοντας υπ' όψιν τη στήλη με τις ποσοστιαίες μεταβολές στον Πίνακα 9-12, η ουσία TBC επιδεικνύει την καλλίτερη συμπεριφορά με μικρή πτώση στο χρόνο επαγωγής μετά από 30 ημέρες και ακολουθεί το TBHQ. Κοιτάζοντας τις απόλυτες τιμές, σίγουρα τα δείγματα με PG έχουν μεγαλύτερη αντίσταση στην οξείδωση, εντούτοις η σχετική μεταβολή μέσα στο διάστημα των 30 ημερών είναι σημαντική. Πάντως σε όλες τις περιπτώσεις - με εξαίρεση το μείγμα B7SBOME - οι χρόνοι επαγωγής ήταν εντός της προδιαγραφής του EN590 (>20h).

Πίνακας 9-12: Προσδιορισμοί και μεταβολές οξειδωτικής σταθερότητας στους RM και CWM μικρόκοσμους των B7 μιγμάτων, μετά από 30 ημέρες.

Οξειδωτική Σταθερότητα μικρόκοσμων B7 POME-ULSD						
Πρόσθετο (1000ppm)	Αρχικά (t0)	RM - (Μετά 30ημέρες - t3)		CWM - (Μετά 30ημέρες - t3)		
	IP(h)	IP(h)	In-ΔIP%	IP(h)	In-ΔIP%	Ref-ΔIP%
TBHQ	55.3	46.7	-16%	27.7	-50%	-41%
PG	98.4	62.5	-36%	38.3	-61%	-39%
MCT	53.4	36.8	-31%	41.5	-22%	13%
TBC	45.7	41.1	-10%	13.1	-71%	-68%
MBO	39.2	35.2	-10%	30.1	-23%	-14%

Οξειδωτική Σταθερότητα μικρόκοσμων B7 SBOME-ULSD						
Πρόσθετο (1000ppm)	Αρχικά (t0)	RM - (Μετά 30ημέρες - t3)		CWM - (Μετά 30ημέρες - t3)		
	IP(h)	IP(h)	In-ΔIP%	IP(h)	In-ΔIP%	Ref-ΔIP%
TBHQ	35.9	29.6	-18%	19.4	-46%	-34%
PG	46.3	33.9	-27%	25.8	-44%	-24%
MCT	37.1	21.5	-42%	24.8	-33%	15%
TBC	28.4	27.0	-5%	5.7	-80%	-79%
MBO	21.0	17.3	-18%	20.3	-3%	17%

Υπό την επίδραση της επιμολυσμένης φάσης νερού στους μικρόκοσμους CWM των B7 μιγμάτων, παρατηρείται ότι τα δείγματα με MCT, όχι μόνο είχαν τη μικρότερη σχετική ποσοστιαία μεταβολή αλλά και τον υψηλότερο χρόνο επαγωγής μετά από 30 ημέρες σε σχέση με τα υπόλοιπα καύσιμα που εξετάστηκαν. Επίσης και στις δυο σειρές χαρακτηριστικό είναι ότι η οξειδωτική σταθερότητα του καυσίμου στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους είναι αυξημένη σε σχέση με την τελική οξειδωτική σταθερότητα των RM (μη επιμολυσμένοι - χωρίς υδατική φάση) μετά από 30 ημέρες. Υπενθυμίζεται ότι το MCT ήταν η αποτελεσματικότερη φαινολική ουσία αναφορικά με την καταστολή του μικροβιακού φορτίου στα μίγματα B7. Το TBHQ είχε μέτρια αντιοξειδωτική δράση και ειδικά στο B7SBOME μικρόκοσμο ο τελικός χρόνος επαγωγής ήταν οριακά εκτός της ελάχιστης απαίτησης των 20h. Τέλος, παρά την ικανοποιητική αντιμικροβιακή δράση του TBC στους CWM μικρόκοσμους, και πάλι στην περίπτωση των B7 μιγμάτων η αποδείχθηκε ανεπαρκής ως αντιοξειδωτικό όταν υπήρχε ταυτόχρονα παρουσία επιμολυσμένης υδατικής φάσης. Μετά από 30 ημέρες οι χρόνοι επαγωγής αυτών των δειγμάτων ήταν τέτοιοι ώστε να χαρακτηρίζονται ως εκτός προδιαγραφής. Τα δείγματα στα οποία είχε προστεθεί το βιοκτόνο MBO σε γενικές γραμμές συγκράτησαν την αρχική σταθερότητα σε ικανοποιητικό επίπεδο.

Συνολικά η σειρά αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των φαινολικών ενώσεων στην οξειδωτική σταθερότητα στους επιμολυσμένους B7 μικρόκοσμους ήταν $MCT > PG \approx TBHQ \gg TBC$.

9.3.3.3 Προφίλ λιπαρών οξέων των επιμολυσμένων μικρόκοσμων (CWM)

Μετά από έναν μήνα επώασης - αποθήκευσης, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τον προσδιορισμό του προφίλ των λιπαρών οξέων στη φάση καυσίμου των επιμολυσμένων μικρόκοσμων των δυο βιοντήζελ.

Οι μετρήσεις διεξήχθησαν με βάση τη μέθοδο EN14103 με την τεχνική της αέρια χρωματογραφίας. Τα αποτελέσματα για τα κυριότερα λιπαρά οξέα δίνονται στον Πίνακα 9-13 και όπως είναι εμφανές δεν παρατηρούνται ουσιαστικές μεταβολές στην περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων σε σύγκριση με τα αρχικά ποσοστά. Παρόμοιες παρατηρήσεις αναφέρθηκαν και σε μια πολύ πρόσφατη δημοσίευση για την επίδραση του TBHQ στη σταθερότητα του βιοντήζελ από σογιέλαιο (Beker, et al., 2016).

Πίνακας 9-13: Προφίλ λιπαρών οξέων στη φάση καυσίμου των ενισχυμένων POME και SBOME μετά από 1 μήνα στους CWM μικρόκοσμους.

% κ.β. περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα μικρόκοσμων CWM - POME										
Προφίλ Λιπαρών Οξέων		w/o (t0)	RM w/o (t3)	TBHQ	PY	PG	CWM (t3)			
							MCT	TBC	CFA	MBO
Παλμιτικό	C16:0	11.03	10.77	10.79	10.99	10.90	n/a	10.78	10.76	11.13
Στεατικό	C18:0	2.70	2.73	2.73	2.71	2.72	n/a	2.73	2.73	2.79
Ελαϊκό	C18:1	72.06	72.33	72.43	72.17	72.28	n/a	72.47	72.35	71.65
Λινελαϊκό	C18:2	10.66	10.47	10.58	10.44	10.46	n/a	10.49	10.56	10.68
Λινολενικό	C18:3	0.60	0.58	0.60	0.60	0.58	n/a	0.59	0.60	0.61

% κ.β. περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα μικρόκοσμων CWM - SBOME										
Προφίλ Λιπαρών Οξέων		w/o (t0)	RM w/o (t3)	TBHQ	PY	PG	CWM (t3)			
							MCT	TBC	CFA	MBO
Παλμιτικό	C16:0	10.18	10.39	10.22	n/a	10.13	10.25	10.26	10.32	10.19
Στεατικό	C18:0	4.26	4.27	4.25	n/a	4.26	4.24	4.26	4.24	4.26
Ελαϊκό	C18:1	26.14	26.53	26.60	n/a	26.57	26.55	26.73	26.57	26.66
Λινελαϊκό	C18:2	50.77	50.25	50.50	n/a	50.39	50.38	50.03	50.43	50.33
Λινολενικό	C18:3	4.80	4.73	4.81	n/a	4.80	4.80	4.69	4.79	4.77

9.3.3.4 Αριθμός Οξύτητας των επιμολυσμένων μικρόκοσμων (CWM)

Μετά από έναν μήνα αποθήκευσης προσδιορίστηκε ο αριθμός οξύτητας στη φάση καυσίμου των επιμολυσμένων μικρόκοσμων των δυο βιοντήζελ σύμφωνα με τη μέθοδο EN14104. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 9-14.

Πίνακας 9-14: Οξύτητα των δυο βιοντήζελ μετά το πέρας των 30 ημερών στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους CWM.

Αριθμός Οξύτητας (mg KOH/g) - CWM (t3)						
Πρόσθετο - 1000 ppm						
FAME	TBHQ	PY	PG	MCT	TBC	CFA
POME	0.24	0.38	0.42	0.28	0.34	0.51
SBOME	0.30	0.51	0.61	0.41	0.38	0.56

Συνολικά, τα δέκα εξεταζόμενα φαινολικά αντιοξειδωτικά - τα περισσότερα από τα οποία βρίσκουν εφαρμογή στο βιοντήζελ - προστέθηκαν σε ένα εύρος συγκεντρώσεων σε δυο διαφορετικούς τύπους FAME (POME & SBOME) και αξιολογήθηκε η ικανότητά τους να αναβαθμίσουν την μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ ταυτόχρονα με την βελτίωση της οξειδωτικής σταθερότητας. Η αντιμικροβιακή συμπεριφορά των φαινολικών ενώσεων εκτιμήθηκε τόσο μέσω της ανασταλτικής τους δράσης έναντι ενός gram-θετικού βακτηρίου, όσο και μέσω της δυνατότητάς τους να καταστείλουν τη έντονη μικροβιακή δραστηριότητα στην υδατική φάση επιμολυσμένων μικρόκοσμων.

Από το σύνολο των εξετασθέντων φαινολικών αντιοξειδωτικών η υδροκινόνη (TBHQ) και οι δύο κατεχόλες (MCT και TBC) αποδείχτηκαν αρκετά αποτελεσματικά και ως αντιμικροβιακά πρόσθετα στο βιοντήζελ και τα μίγματά με ULSD . Επέδειξαν αντιβακτηριδιακή δράση σε ένα εύρος συγκεντρώσεων από 50-1000 ppm ενώ επίσης είχαν πολύ καλή επίδραση έναντι του μικροβιακού φορτίου στους ισχυρά επιμολυσμένους μικρόκοσμους, με το TBHQ να είναι ιδιαίτερα αποδοτικό στα FAME, ενώ οι κατεχόλες είχαν καλλίτερη συμπεριφορά στα μίγματα. Λαμβάνοντας υπ όψιν και την ταυτόχρονη αντιοξειδωτική τους δράση - ιδιαίτερα στους μικρόκοσμους με παρουσία επιμολυσμένης υδατικής φάσης - το MCT δείχνει συνολικά την καλύτερη συμπεριφορά, ακολουθούμενο από το TBHQ και τέλος το TBC το οποίο όμως ήταν ανεπαρκές στο να προσδώσει ικανοποιητική σταθερότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των επιμολυσμένων μικρόκοσμων. Από τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις, τα PY και PG ήταν αρκετά αποτελεσματικά τόσο ως αντιοξειδωτικά - και ιδίως το PG στο FAME - όσο και ως αντιβακτηριακά

πρόσθετα, εντούτοις ήταν λιγότερο ικανά έναντι της ενεργούς μικροβιακής δραστηριότητας στους μικρόκοσμους με το PG να παρουσιάζει συνολικά τη χαμηλότερη επίδοση. Τα φαινολικά οξέα CFA, GA και PCA μολονότι έδειξαν αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση - ειδικότερα τα CFA και GA, οι αντιμικροβιακές τους ιδιότητες στο βιοντήζελ δεν ήταν ικανοποιητικές και μόνο το υδροξυκιναμικό οξύ CFA παρουσίασε ένα μέτριο επίπεδο δραστηριότητας έναντι του βιολογικού φορτίου. Τέλος τα μονο-υδρικά και αρκετά διαδεδομένα αντιοξειδωτικά BHT και BHA δεν είχαν την ικανότητα να βελτιώσουν την μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ.

B' ΜΕΡΟΣ- ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΑ ΠΡΟΣΘΕΤΑ

9.4 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα βελτιωτικά πρόσθετα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, εισάγονται για να αναβαθμίσουν ποιοτικά χαρακτηριστικά των καυσίμων καθώς και τυχόν αστοχίες κατά την διανομή, αποθήκευση, και τελική χρήση τους. Τα πιο συνήθη πρόσθετα που συναντώνται στα καύσιμα, σχετίζονται με την αναβάθμιση της σταθερότητάς τους κατά την αποθήκευση, άλλα και στην προστασία του εξοπλισμού και των εξαρτημάτων τόσο του κινητήρα όσο και της εφοδιαστικής αλυσίδας. Εκτός των αντιοξειδωτικών, που μελετήθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο του παρόντος Κεφαλαίου, πρόσθετα που σχετίζονται με τη βελτίωση του αριθμού κετανίου, την αναβάθμιση των τριβολογικών και ιδιοτήτων ψυχρής ροής, καθώς και για την απενεργοποίηση των μετάλλων και την αναστολή της διάβρωσης, είναι από τις πιο διαδομένες κατηγορίες χημικών προσθέτων που συναντώνται στην αγορά. Οι αναστολείς διάβρωσης χρησιμοποιούνται για την πρόληψη της διάβρωσης των μετάλλων του κινητήρα, που προκαλείται από δραστικές ενώσεις - όπως το στοιχειακό θείο, τις μερκαπτάνες, τα δισουλφίδια και τα καρβοξυλικά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους - που συνήθως υπάρχουν στα μεσαία κλάσματα της απόσταξης. Ομοίως, οι απενεργοποιητές μετάλλων καταστέλλουν την προ-οξειδωτική δραστικότητα των μετάλλων, και ιδιαίτερα του χαλκού, προστατεύοντας έτσι το καύσιμο από τη γήρανση. Τα εκάστοτε χημικά πρόσθετα εισάγονται στα καύσιμα είτε μεμονωμένα για την αναβάθμιση συγκεκριμένων ιδιοτήτων, είτε μπορούν να συνδυαστούν προσφέροντας πολλαπλά οφέλη (*Coordinating Research Council, INC, 2014; Waynick, 2001; Sun, et al., 2017*).

Μετά την προσθήκη του FAME στο πετρέλαιο κίνησης, η ανάγκη χρήσης ορισμένων ουσιών ήταν επιτακτική (*Misra, et al., 2011; Rashedul, et al., 2014*), καθώς το FAME είναι επιρρεπές στην υποβάθμιση έναντι της οξείδωσης, τείνει να σχηματίζει εύκολα κρυστάλλους ενώ και η ποιότητα της καύσης του (αριθμός κετανίου) είναι συνήθως χαμηλότερη συγκρίνοντας την με το συμβατικό πετρέλαιο κίνησης (*Kumar, 2017; Knothe, et al., 2017*). Γι' αυτούς τους λόγους, τα μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ συνήθως περιέχουν ουσίες που βελτιώνουν τις παραπάνω παραμέτρους. Επιπλέον, είναι πιθανόν να χρησιμοποιούνται αναστολείς διάβρωσης και απενεργοποιητές μετάλλων προκειμένου να ενισχυθεί η συμβατότητα του FAME με τα υλικά κατασκευής του κινητήρα αλλά και συνολικά του συστήματος διανομής καυσίμου (*Dodos, et al., 2009; Sarin, 2010*). Αντιθέτως, πρόσθετα για την αναβάθμιση της λιπαντικής ικανότητας, σπάνια πλέον εισάγονται λόγω των εξαιρετικών τριβολογικών ιδιοτήτων του FAME (*Knothe, et al., 2017*).

Όπως έχει αναφερθεί εκτεταμένα στην παρούσα διατριβή, το βιοντήζελ είναι περισσότερο επιρρεπές στον μικροβιακό πολλαπλασιασμό σε σχέση με το συμβατικό πετρέλαιο κίνησης και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ευκολότερη βιοϋποβάθμιση του τελικού προϊόντος. Ένας μεγάλος αριθμός κρουσμάτων που σχετίζεται με την υποβάθμιση των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ λόγω της μικροβιακής επιμόλυνσης υποδεικνύει ότι η εισαγωγή του υποβαθμίζει την μικροβιακή σταθερότητα των τελικών μιγμάτων. Ένας μεγάλος αριθμός πειραματικών μελετών (*Saluja, et al., 2016; Passman, 2013; Dodos, et al., 2013*) υποστηρίζει ότι το FAME ευνοεί την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και για αυτό το λόγο η χρήση των βιοκτόνων είναι πολλές φορές αναπόφευκτη.

Λαμβάνοντας υπόψη τα δημοσιευμένα ευρήματα της μελέτης που περιγράφηκε στην προηγούμενη παράγραφο, όπου παρατηρήθηκε ότι ορισμένα αντιοξειδωτικά πρόσθετα ενδεχομένως να μπορούν να καταστείλουν την ανάπτυξη των μικροβίων (*Dodos, et al., 2017*), είναι ενδιαφέρον να διερευνηθεί, κατά πόσον πρόσθετα εκτός από τα αντιοξειδωτικά, θα μπορούσαν να επιδείξουν παρόμοια ανασταλτική δράση έναντι του μικροβιακού πολλαπλασιασμού. Βάσει των παραπάνω, επιλέχθηκαν πέντε εμπορικοί βελτιωτικοί παράγοντες και προστέθηκαν σε μίγμα B7 σε διάφορες συγκεντρώσεις και αξιολογήθηκε τόσο η απόδοσή τους όσο και η επίδρασή τους στην μικροβιακή σταθερότητα του μίγματος.

9.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

9.5.1 Καύσιμα

9.5.1.1 Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME)

Οι μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (SBOME) ανακτηθήκαν εργαστηριακά από το σογιέλαιο, του οποίου οι ιδιότητες παρουσιάζονται στον Πίνακα 9-15, μέσω αλκαλικής αντίδρασης μετεστεροποίησης, που περιγράφεται στο Παράρτημα I. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παρασκευασθέντος FAME, όπως ορίζονται από το ευρωπαϊκό πρότυπο EN14214, παρατίθενται στον Πίνακα 9-16. Η σύσταση των λιπαρών οξέων προσδιορίστηκε σύμφωνα με το EN14103 και περιγράφεται στον Πίνακα 9-17. Το SBOME αποτελείται κυρίως από λινελαϊκό οξύ, (C18: 2), ενώ το ελαϊκό (C18: 1) και το παλμιτικό οξύ (C16: 0) είναι τα άλλα δύο κύρια λιπαρά οξέα, καθώς και το λινολενικό οξύ (C18: 3) που βρίσκεται στα τυπικά ποσοστά συγκέντρωσης.

Πίνακας 9-15: Ιδιότητες σογιέλαιου.

Ιδιότητα	Μονάδες	SBO	Μέθοδος
<i>Πυκνότητα @ 15°C</i>	kg/m ³	923.2	EN ISO 12185
<i>Κ. Ιξώδες @ 40°C</i>	mm ² /s	32.56	ASTM D7042
<i>Περιεκτικότητα σε Νερό</i>	mg/kg	280	EN ISO 12937
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	mg KOH/g	0.29	EN 14104

Πίνακας 9-16: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των παραχθέντων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (βιοντήζελ).

Ιδιότητα	Μονάδες	SBOME	Όρια EN14214	Μέθοδος
<i>Περιεκτικότητα σε Εστέρες</i>	% m/m	98.4	<i>Ελάχ. 96.5</i>	EN14103
<i>Πυκνότητα @ 15°C</i>	kg/m ³	885.3	<i>860-900</i>	EN ISO 12185
<i>Κ. Ιξώδες @ 40°C</i>	mm ² /s	4.203	<i>3.50-5.00</i>	ASTM D7042
<i>Οξειδωτική Σταθερότητα Rancimat (140°C)</i>	h	3.0	<i>Ελάχ. 8</i>	EN14112
<i>Περιεκτικότητα σε μεθυ-λεστέρες λινολενικού οξέος</i>	% m/m	4.88	<i>Μέγ. 12.0</i>	EN14103
<i>Περιεκτικότητα σε Νερό</i>	mg/kg	170	<i>Μέγ. 500</i>	EN ISO12937
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	mg KOH/g	0.26	<i>Μέγ. 0.50</i>	EN 14104
<i>Αριθμός Ιωδίου</i>	g I ₂ /100g	125	<i>Μέγ. 120</i>	EN 14111
<i>Μono-γλυκερίδια</i>	% m/m	0.24	<i>Μέγ. 0.70</i>	EN 14105
<i>Δι-γλυκερίδια</i>	% m/m	0.08	<i>Μέγ. 0.20</i>	EN 14105
<i>Τρι-γλυκερίδια</i>	% m/m	0.08	<i>Μέγ. 0.20</i>	EN 14105
<i>Ελεύθερη γλυκερόλη</i>	% m/m	<0.01	<i>Μέγ. 0.02</i>	EN 14106
<i>Συνολική γλυκερόλη</i>	% m/m	0.09	<i>Μέγ. 0.25</i>	EN 14105

Πίνακας 9-17: Περιεκτικότητα του βιοντήζελ SBOME σε λιπαρά οξέα.

Προφίλ Λιπαρών Οξέων		% κ.β. περιεκτικότητα SBOME
Παλμιτικό	C16:0	10.21
Παλμιτελαϊκό	C16:1	0.11
Στεατικό	C18:0	4.24
Ελαϊκό	C18:1	26.13
Λινελαϊκό	C18:2	50.68
Λινολενικό	C18:3	4.88
Αραχιδικό	C20:0	0.52
Γαδελαιϊκό	C20:1	0.26
Μπεχενικό	C22:0	0.58

9.5.1.2 Μείγμα B7

Το SBOME αναμίχθηκε με πετρελαϊκό ντήζελ κίνησης χαμηλής περιεκτικότητας σε θείο (ULSD) σε συγκέντρωση 7% κ.ό. (B7) σύμφωνα με EN 590:2013. Το καύσιμο ULSD ήταν προϊόν ατμοσφαιρικής απόσταξης και υδρογονοκατεργασίας απουσία προσθέτων και προμηθεύτηκε από τοπικό διυλιστήριο (ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΤΡΕΛΑΙΑ Α.Ε.). Τόσο το ULSD όσο και το παρασκευασμένο B7 μείγμα, εξετάστηκαν ως προς τα βασικά τους φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, τα οποία παρατίθενται στους Πίνακες 9-18 και 9-19, αντίστοιχα.

9.5.2 Πρόσθετα

Πέντε εμπορικά διαθέσιμα πρόσθετα που χρησιμοποιούνται συνήθως για την αναβάθμιση των ιδιοτήτων και των επιδόσεων του πετρελαίου κίνησης, εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη και παρουσιάζονται στον Πίνακα 9-20. Τα πρόσθετα αυτά δεν έχουν στόχο μόνο να βελτιώσουν τις ιδιότητες του καυσίμου (π.χ. CFPP) αλλά και να προστατεύσουν τα μέρη του κινητήρα ή τις δεξαμενές αποθήκευσης, ώστε η ποιότητα του καυσίμου να μην επηρεαστεί από την παρουσία μετάλλων των επιμέρους εξαρτημάτων και εξοπλισμού, αντίστοιχα. Πρέπει να σημειωθεί πως κανένα από τα προς εξέταση πρόσθετα δεν χρησιμοποιούνται ως αναστολείς του μικροβιακού φορτίου και δεν αναφέρονται στο εμπόριο ως βιοκτόνες ουσίες.

Πίνακας 9-18: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ντήζελ κίνησης (ULSD).

Ιδιότητα	Μονάδες	ULSD	Όρια EN590	Μέθοδος
<i>K. Ιξώδες @ 40°C</i>	mm ² /s	2.605	2.00-4.50	EN 3104
<i>Ποκνότητα @ 15°C</i>	kg/m ³	827.5	820-845	EN 3675
<i>Περιεκτικότητα σε θείο</i>	mg/kg	8.0	Μέγ. 10.0	EN 20846
<i>Περιεκτικότητα σε Νερό</i>	mg/kg	70	Μέγ.200	EN 12937
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	mg KOH/g	0.18	-	ISO 6618
<i>Απόσταξη</i>				
<i>Ανάκτηση στους 250°C</i>	% v/v	35.2	Μέγ. 65	
<i>Ανάκτηση στους 350°C</i>	min	95.1	Ελάχ. 85	EN ISO 3405
<i>95% v/v ανάκτηση στους</i>	°C	352.9	Μέγ. 360	
<i>Αριθμός Κετανίου</i>	-	54	Ελάχ. 51	ASTM D7170
<i>Σημείο Ανάφλεξης</i>	°C	66.0	Ελάχ. 55	EN ISO 2719
<i>Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου</i>	°C	-8	Αναφορά	EN 116

Πίνακας 9-19: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του B7 Μίγματος.

Ιδιότητα	Μονάδες	ULSD	Όρια EN590	Μέθοδος
<i>K. Ιξώδες @ 40°C</i>	mm ² /s	2.668	2.00-4.50	EN 3104
<i>Ποκνότητα @ 15°C</i>	kg/m ³	830.0	820-845	EN 3675
<i>Περιεκτικότητα σε θείο</i>	mg/kg	7.9	Μέγ. 10.0	EN 20846
<i>Περιεκτικότητα σε Νερό</i>	mg/kg	75	Μέγ.200	EN 12937
<i>Αριθμός Οξύτητας</i>	mg KOH/g	0.17	-	ISO 6618
<i>Οξειδωτική Σταθερότητα</i>	h	13.4	Ελάχ. 20	EN 15751
<i>Περιεκτικότητα σε FAME</i>	% v/v	7.0	Μέγ. 7	EN 14078
<i>Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου</i>	°C	-7	Αναφορά	EN 116

Πίνακας 9-20: Χημική σύνθεση των εξεταζόμενων προσθέτων και συνιστώμενη δοσολογία των κατασκευαστών (C).

Βελτιωτικό Πρόσθετο	Χημική Σύσταση			C (ppm)
	Χημική Ουσία	Cas No.	Περιεκτικότητα	
A. Ψυχρής Ροής	Solvent Naphtha	64742-94-5	20-40%	250
	Mesitylene	108-67-8	2.5-5%	
	Ethylbenzene	100-41-4	0.1-0.25%	
	Naphthalene	91-20-3	2.5-5%	
B. Καθολικής δράσης	Hydrodesulfurized kerosene	64742-81-0	70-75%	10000
	2-Ethylhexyl nitrate	27247-96-7	7-10%	
	2-Ethylhexan-1-ol	104-76-7	2-3%	
	Hydrocarbons, C10, aromatics, >1% naphthalene	919-284-0 (EC No.)	1.5-2%	
	Z)-N-Methyl-N-(1-oxo-9-octadecenyl) glycine	110-25-8	0.75-1%	
	Heptadecenyl imidazoline ethanol	95-38-5	1-1.5%	
	Naphthalene	91-20-3	0.1-0.2%	
Γ. Αριθμού Κετανίου	Solvent naphtha (petroleum), heavy arom	64742-94-5	30-60%	4000
	2-ethylhexyl nitrate	27247-96-7	15-30%	
	naphthalene	91-20-3	1-5%	
	1,2,4-trimethylbenzene	95-63-6	1-5%	
	xylene	1330-20-7	1-5%	
	ethylbenzene	100-41-4	1-5%	
Δ. Απενεργοποιητής μετάλλων	1H-Benzotriazole-1-methanamine, N,N-bis(2-ethylhexyl)-ar-methyl-	94270-86-7	75-100%	500
Ε. Αναστολέας διάβρωσης	1-butoxypropan-2-ol	5131-66-8	10-25%	1000
	oleylamine	112-90-3	2.5-10%	
	dicyclohexylamine	101-83-7	2.5-10%	

9.5.3 Μεθοδολογία

Στο πρώτο μέρος της μελέτης, καθένα από τα εξεταζόμενα πρόσθετα εισάγεται μίγμα B7 στην προτεινόμενη από το κατασκευαστή συγκέντρωση, ώστε να αξιολογηθεί η δράση τους στις ιδιότητες του μίγματος. Για αυτό το λόγο εξετάστηκαν οι αντίστοιχες φυσικοχημικές παράμετροι, τις οποίες στοχεύει να αναβαθμίσει το εκάστοτε πρόσθετο. Συγκεκριμένα, προδιορίστηκε το σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου βάσει της μεθόδου EN 116 στο μείγμα B7 που περιέχει το πρόσθετο Α και ο αριθμός κετανίου βάσει της ASTM D7170:2016 στα μίγματα με τα πρόσθετα Β και Γ. Η δράση των προσθέτων Δ και Ε αξιολογήθηκε με βάση την ικανότητά τους να καταστείλουν την προ-οξειδωτική δράση των μετάλλων του χαλκού και του χάλυβα, τα οποία θεωρούνται αντιπροσωπευτικά μέταλλα κατασκευής στα συστήματα διακίνησης και αποθήκευσης των καυσίμων. Η οξειδωτική σταθερότητα των B7 μιγμάτων με τα πρόσθετα Δ και Ε παρουσία των παραπάνω μετάλλων προδιορίστηκε βάσει της μεθόδου EN 15751 και αναφέρθηκε ως χρόνος επαγωγής (Induction Period).

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης, πραγματοποιήθηκε εισαγωγή όλων των προσθέτων σε μίγματα B7 σε διάφορες συγκεντρώσεις των 1000, 500 και 250 ppm, καθώς και στις προτεινόμενες, με σκοπό την εξέταση αυτών ως πιθανών ανασταλτικών παραγόντων της μικροβιακής ανάπτυξης. Επιπλέον, διεξήχθη και μια συγκριτική μελέτη όσον αφορά την επίδραση τους στον μικροβιακό πολλαπλασιασμό με την πάροδο του χρόνου. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν.

9.5.4 Αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης

Η ικανότητα των εξεταζόμενων προσθέτων να καταστέλλουν την μικροβιακή ανάπτυξη αξιολογήθηκε βάσει της μεθόδου ανίχνευσης ανασταλτικών ουσιών που περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 2.

Η τεχνική αυτή επιλέχθηκε λόγω της ταχύτητας αλλά και της ακρίβειας να ανιχνεύει την αντιμικροβιακή ικανότητα των διαφόρων ουσιών. Με βάση και προηγούμενες μελέτες, η τεχνική αυτή, δίνει συγκρίσιμα αποτελέσματα με αυτά που έχουν ληφθεί, από άλλες ποσοτικές μεθόδους, π.χ. την μέθοδο της φωτοβωταύγειας ATP, καθώς και με μεθοδολογίες που προσομοιώνουν πραγματικά μολυσμένα συστήματα καυσίμων (Dodou, et al., 2017; Dodou, et al., 2017). Επιπλέον, έγινε προσπάθεια να τροποποίησης της διαδικασίας, επεκτείνοντας το χρόνο επώασης πέραν του προτεινόμενου καταγράφοντας τη χρονική διάρκεια που απαιτήθηκε μέχρι να παρατηρηθεί η αλλαγή του χρώματος. Η τροποποίηση αυτή με σκοπό την εύρεση μέγιστου χρόνου αναστολής του πολλαπλασιασμού του εξεταζόμενου μικροοργανισμού και να αντιστοιχηθεί στο αντίστοιχο δείγμα και κατ' επέκταση πρόσθετο. Με αυτή την τροποποίηση, είναι δυνατή η λήψη ποσοτικών δεδομένων για κάθε εξεταζόμενο πρόσθετο, καθώς και η

συγκριτική μελέτη των ουσιών, ώστε να αναδειχθεί αυτή που εμφάνισε την βέλτιστη επίδοση έναντι της αναστολής της βακτηριακής ανάπτυξης.

9.5.5 Μέταλλα

Για τον προσδιορισμό της προ-οξειδωτικής δράσης κάθε μετάλλου στην οξειδωτική σταθερότητα των μιγμάτων B7, με πρόσθετα ή χωρίς, η συνολική επιφάνεια του κάθε δοκιμίου αποτελεί σταθερή παράμετρο είναι ίση με $A_m=50 \text{ mm}^2/\text{g}$. Τα δοκίμια των μετάλλων εισήχθησαν στον δοκιμαστικό σωλήνα του Rancimat και εμβαπτίστηκαν πλήρως στο καύσιμο κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Πριν από την εκκίνηση της μέτρησης, η επιφάνεια κάθε μετάλλου γυαλίστηκε με λειαντικό υαλόχαρτο καρβιδίου του πυριτίου (100-grit), καθαρίστηκε με ισοπροπυλική αλκοόλη για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων και ακολούθησε ξήρανση. Τα χαρακτηριστικά των μετάλλων παρατίθενται παρακάτω:

- Διάμετρος 0.511 mm (0.02 in.) (No. 24 American Wire Gauge), καθαρότητας 99.9%
- Δοκίμια από ανθρακούχο χάλυβα, πάχους 1.5 mm, C: 0.10, Si: 0.25 Mn: 1.70

9.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

9.6.1 Αναβάθμιση Ποιοτικών Παραμέτρων

Το κάθε βελτιωτικό πρόσθετο εισήχθη ξεχωριστά στο μείγμα B7 στις προτεινόμενες από τον κατασκευαστή συγκεντρώσεις. Ειδικότερα, τα πρόσθετα Α και Δ εισάγονται σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις, ήτοι 250 και 500 ppm, αντίστοιχα. Αντιθέτως, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις της τάξης των 4000 και 1000 ppm προστίθεται το βελτιωτικό του αριθμού κετανίου και ο αναστολέας διάβρωσης, αντίστοιχα, ενώ η υψηλότερη συγκέντρωση (10000 ppm) καταγράφεται στην περίπτωση του προσθέτου Β που ενισχύει την συνολική επίδοση του ντήζελ κίνησης. Στη συνέχεια, εξετάστηκε η δραστηριότητα του εκάστοτε προσθέτου και η επίδραση του στο αντίστοιχο μείγμα B7. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν, επίσης, και στο μείγμα καυσίμου B7 που δεν περιείχε κανένα πρόσθετο και φέρεται ως δείγμα αναφοράς, ώστε αν παρατηρηθούν τυχόν μεταβολές στις ιδιότητες στα υπόλοιπα δείγματα να αποδοθούν στην παρουσία των προσθέτων.

Ειδικότερα, η προσθήκη του βελτιωτικού Α για την ενίσχυση των ιδιοτήτων ψυχρής ροής είχε ως αποτέλεσμα την ταπείνωση της τιμής του CFPP από τους $-7 \text{ }^\circ \text{C}$ στους $-18 \text{ }^\circ \text{C}$. Η αύξηση του αριθμού κετανίου λόγω της εισαγωγής των προσθέτων Β και Γ που αναφέρονται στο εμπόριο ως βελτιωτικοί παράγοντες της συνολικής επίδοσης του ντήζελ κίνησης και του αριθμού κετανίου, αντίστοιχα, παρουσιάζεται στο Σχήμα 9-5. Σημειώνεται ότι η 2-ethylhexyl nitrate είναι η πιο διαδεδομένη ουσία για

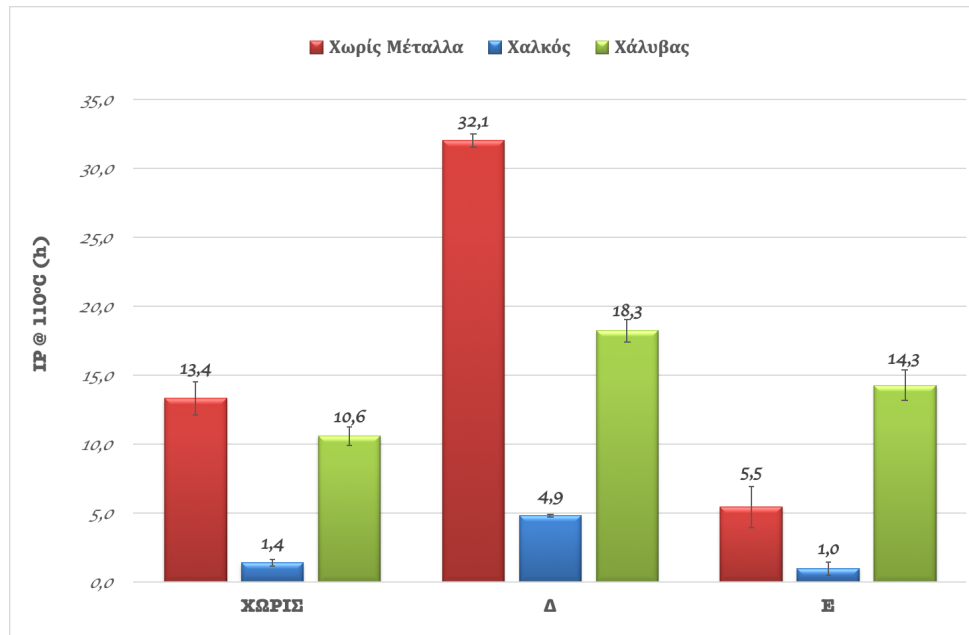
την ενίσχυση της ποιότητας καύσης του ντήζελ και περιέχεται και στα δύο εξεταζόμενα πρόσθετα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ο αριθμός κετανίου αυξήθηκε έως και 6 μονάδες μετά την προσθήκη των βελτιωτικών παραγόντων.



Σχήμα 9-5: Αύξηση του αριθμού κετανίου στα μίγματα Β7 μετά την εισαγωγή των βελτιωτικών προσθέτων Β και Γ.

Ο προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας πραγματοποιήθηκε στα μίγματα Β7 με την προσθήκη των βελτιωτικών Δ και Ε σε συγκεντρώσεις των 500 και 1000 ppm και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 9-6. Σημειώνεται ότι ο χρόνος επαγωγής του μίγματος Β7 απουσία προσθέτων ήταν ίσος με 13.4 h, δηλαδή κάτω του ελάχιστου ορίου που ορίζει το EN 15751 που είναι οι 20 h. Σύμφωνα με το Σχήμα 9-6, η παρουσία του αναστολέα της διάβρωσης (Ε) φαίνεται να υποβάθμισε την σταθερότητα του μίγματος Β7 ενώ, αντιθέτως, το πρόσθετο Δ αύξησε σημαντικά το χρόνο επαγωγής. Το τελευταίο μάλιστα φαίνεται να δρα και ως αντιοξειδωτικό, αφού κατάφερε να αυξήσει το χρόνο επαγωγής σε τέτοιο βαθμό, ώστε εν τέλει να ικανοποιεί και την αντίστοιχη προδιαγραφή. Η αντιοξειδωτική λειτουργία των απενεργοποιητών των μετάλλων αποδίδεται στο γεγονός ότι δεν «εξουδετερώνουν» μόνο την δραστηριότητα των μετάλλων αλλά ταυτόχρονα εμποδίζουν και την οξείδωση των ολεφινών. Παρατηρήθηκε, επίσης, ότι υπό την επίδραση του χαλκού, η οξειδωτική διαδικασία επιταχύνθηκε σημαντικά σε όλα τα μίγματα. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών (Dodou, et al., 2009). Ωστόσο, ο χρόνος επαγωγής υπό την παρουσία του προσθέτου Δ είναι σημαντικά υψηλότερος. Αντιθέτως, ο αναστολέας της διάβρωσης (Ε) συνέειφερε σημαντικά στην αύξηση της σταθερότητας του Β7 υπό την παρουσία του χάλυβα σε σύγκριση με τον απενεργοποιητή μετάλλων (Δ). Αυτό το είδος προσθέτων αποτρέπουν την

διάλυση των μετάλλων στη φάση καυσίμου και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να εμποδίζουν την συμμετοχή των ιόντων των μετάλλων στην διαδικασία της οξειδωσης των υδρογονανθράκων.









Σχήμα 9-6: Επίδραση των προσθέτων Δ και Ε, στην οξειδωτική σταθερότητα μιγμάτων Β7 υπό την παρουσία μετάλλων.

9.6.2 Αντιμικροβιακή Δράση

Αρχικά, η μικροβιακή σταθερότητα των μιγμάτων Β7 έπειτα από την εισαγωγή του εκάστοτε βελτιωτικού προσθέτου στην προτεινόμενη από τον προμηθευτή συγκέντρωση εξετάστηκε και αξιολογήθηκε η ικανότητα των προσθέτων να αναστείλουν την μικροβιακή ανάπτυξη για χρόνο επώασης ίσο με 3.15 h. Στον Πίνακα 9-21, απεικονίζονται τα αντίστοιχα αποτελέσματα. Το σύμβολο "+" υποδηλώνει ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη του βακίλου, ενώ το σύμβολο "-" υποδεικνύει ότι το μείγμα δεν αποτελεί περιοριστικό υπόστρωμα έναντι του βακτηριακού πολλαπλασιασμού.

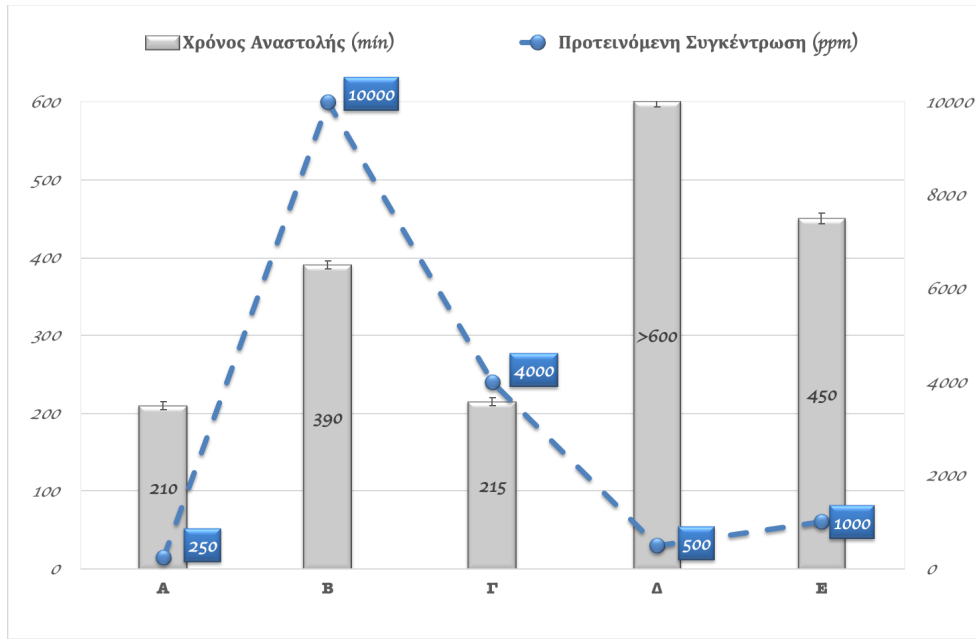
Το αμιγές μείγμα Β7, όπως ήταν αναμενόμενο, φαίνεται να ευνοεί την ανάπτυξη του μικροοργανισμού ενώ αντιθέτως η παρουσία των προσθέτων στην προτεινόμενη δοσολογία αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα αυτής, αφού σε όλες τις περιπτώσεις δεν καταγράφηκε αλλαγή του χρώματος του δοκιμίου.

Πίνακας 9-21: Ικανότητα των μιγμάτων B7 να αναστείλουν την ανάπτυξη του *Bacillus stearothermophilus*.

B7	Πρόσθετο Α	Πρόσθετο Β	Πρόσθετο Γ	Πρόσθετο Δ	Πρόσθετο Ε
-	250 ppm	10000 ppm	4000 ppm	500 ppm	1000 ppm
-	+	+	+	+	+
					

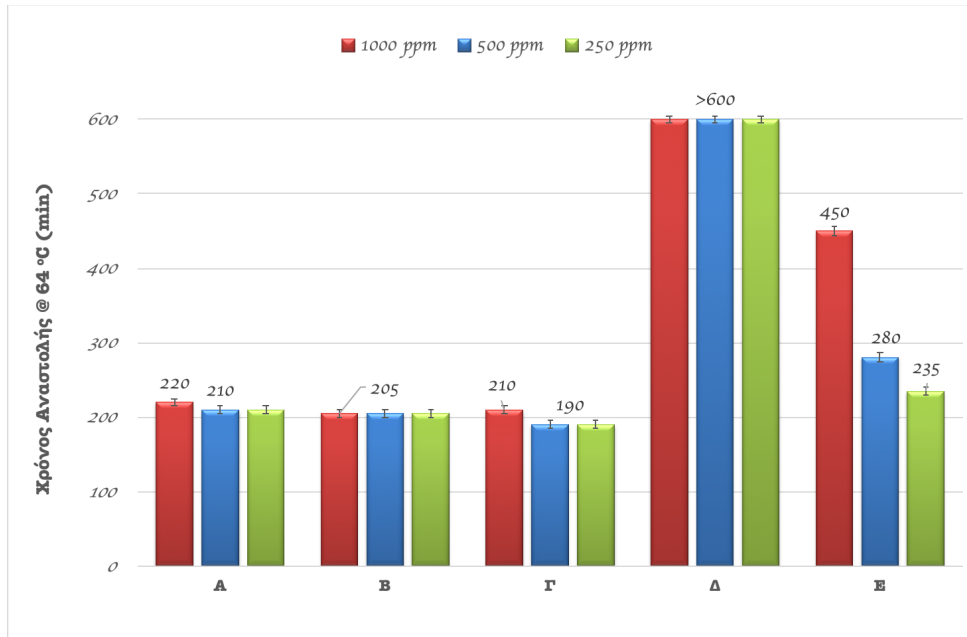
Στα Σχήματα 9-7 και 9-8, παρουσιάζεται η ανασταλτική δράση κάθε προσθέτου, η οποία έχει εκφραστεί ως χρόνος αναστολής σε λεπτά. Αυτός ο χρόνος αναστολής απεικονίζει την συνολική περίοδο στην οποία κάθε βελτιωτικός παράγοντας καθίσταται ικανός να καταστείλει την ανάπτυξη του βακίλου. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο αρχικός χρόνος της έχει ληφθεί υπόψη και έχει ενσωματωθεί στο συνολικό χρόνο του εκάστοτε μίγματος B7.

Οι μετρήσεις που αντιστοιχούν στα δείγματα που περιέχουν τα εξεταζόμενα πρόσθετα στη προτεινόμενη συγκέντρωση παρουσιάζονται στο Σχήμα 9-7. Σύμφωνα με αυτά τα αποτελέσματα, ο απενεργοποιητής μετάλλων (Δ) επέδειξε την υψηλότερη ανασταλτική δράση, καθώς ο μικροοργανισμός δεν κατάφερε να πολλαπλασιαστεί μετά από 10 ώρες επώασης. Η δεύτερη καλύτερη συμπεριφορά παρατηρήθηκε στην περίπτωση του αναστολέα της διάβρωσης (Ε) ενώ σχεδόν διπλάσιος χρόνος αναστολής καταγράφηκε στην περίπτωση του βελτιωτικού προσθέτου Β σε σύγκριση με το αμιγές καύσιμο B7. Από την άλλη μεριά, τα πρόσθετα για την ενίσχυση τόσο των ψυχρών ιδιοτήτων όσο και του αριθμού κετανίου παρουσίασαν την μικρότερη θετική επίδραση στην μικροβιακή σταθερότητα του μίγματος B7, καθώς ο χρόνος που καταφέραν να εμποδίσουν τον πολλαπλασιασμό του βακίλου ήταν λίγο πιο πάνω από το αποδεκτό όριο των 195 λεπτών.



Σχήμα 9-7: Χρόνος αναστολής της ανάπτυξης του βακίλου παρουσία των προσθέτων στο μείγμα B7 στην προτεινόμενη συγκέντρωση.

Οι εξεταζόμενοι βελτιωτικοί παράγοντες προστέθηκαν και σε άλλες συγκεντρώσεις, πέρα της προτεινόμενης, προκειμένου να διερευνηθεί εάν η πιθανή ανασταλτική ικανότητα αυτών σχετίζεται με το ποσοστό ανάμιξης. Οι συγκεντρώσεις που επιλέχθηκαν ήταν τα 1000, 500 και 250 ppm, καθώς θεωρούνται τυπικές κατά την εφαρμογή τους σε συστήματα καυσίμων. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στο Σχήμα 9-8. Σύμφωνα με τα ευρήματα του Σχήματος 9-8, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις, σε σύγκριση με αυτών που αναφέρονται στα προτεινόμενα ποσοστά ανάμιξης, στις περιπτώσεις των προσθέτων Α, Γ και Δ. Αντιθέτως, παρατηρήθηκαν αρκετά μεγάλες μεταβολές στο χρόνο αναστολής των μιγμάτων που περιείχαν τα πρόσθετα Β και Ε. Ειδικότερα, μεταβολή της τάξης του 50% καταγράφηκε στο παράγοντα που στοχεύει στην συνολική αναβάθμιση του ντήζελ όταν εισάγεται σε μικρότερες της συνιστώμενης συγκεντρώσεις. Φαίνεται μάλιστα ότι η δράση του είναι ανεπηρέαστη της συγκέντρωσης όταν αυτή κυμαίνεται από 250 – 1000 ppm. Επίσης, η ανασταλτική δράση του προσθέτου (Ε), το οποίο σχετίζεται με την προστασία των μεταλλικών εξαρτημάτων από τη διάβρωση, φαίνεται να επηρεάζεται από την συγκέντρωση στην οποία εισάγεται, καθώς οι χρόνοι που αντιστοιχούν στις συγκεντρώσεις των 500 και 250 ppm είναι σαφώς μικρότεροι από αυτόν της προτεινόμενης. Αξίζει να σημειωθεί ότι στη περίπτωση του προσθέτου Δ, ακόμα και με το πέρας των 10 h, δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στο χρώμα σε οποιαδήποτε εξεταζόμενη συγκέντρωση, το οποίο πρακτικά σημαίνει ότι το συγκεκριμένο πρόσθετο φαίνεται να έχει ισχυρή επίδραση στην αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης.



Σχήμα 9-8: Ανασταλτική ικανότητα μιγμάτων B7 με τα εξεταζόμενα πρόσθετα σε συγκεντρώσεις 1000, 500 και 250 ppm.

Συμπερασματικά, σε αυτή τη μελέτη, βιοντήζελ από σογιέλαιο αναμίχθηκε με ντήζελ κίνησης χαμηλής περιεκτικότητας σε θείο σε συγκέντρωση 7% κ.ό. και στο μίγμα B7 προστέθηκε μια σειρά βελτιωτικών παραγόντων στην προτεινόμενη συγκέντρωση αλλά και σε περισσότερα ποσοστά ανάμιξης των 250, 500 και 1000 ppm, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση αυτών στην μικροβιακή σταθερότητα του μίγματος B7. Όλα τα πρόσθετα επέδειξαν ανασταλτική δράση έναντι του βακίλου κατά τη διάρκεια της επώασης των 3,15 h και στην προτεινόμενη συγκέντρωση ανάμιξης. Τα μίγματα που περιείχαν τα βελτιωτικά των ιδιοτήτων CFPP και του αριθμού κετανίου περιόρισαν την ανάπτυξη του βακίλου για ακόμη 10 και 15 λεπτά, αντίστοιχα, ενώ υψηλότερη δράση καταγράφηκε στις περιπτώσεις του προσθέτου που στοχεύει στην συνολική ποιοτική αναβάθμιση του ντήζελ, στον αναστολέα διάβρωσης, καθώς και στον απενεργοποιητή μετάλλων. Η εισαγωγή των προσθέτων για την ενίσχυση του CFPP και του αριθμού κετανίου σε διάφορες συγκεντρώσεις πέρα της προτεινόμενης φαίνεται να μην επιφέρει σημαντικές διαφοροποιήσεις στην ανασταλτική δράση αυτών έναντι της μικροβιακής ανάπτυξης ενώ αντίθετα αποτελέσματα προέκυψαν στις περιπτώσεις του ευρείας δράσης βελτιωτικού προσθέτου και του αναστολέα της διάβρωσης, των οποίων η δράση επηρεάστηκε σημαντικά όταν η ανάμιξή τους έγινε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τα μίγματα που περιείχαν τον παράγοντα που οδηγεί στην απενεργοποίηση της οξειδωτικής δράσης των ιόντων των μετάλλων φαίνεται να είναι ισχυρά περιοριστικά υποστρώματα του μικροβιακού φορτίου και η δράση του φαίνεται να είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης ανάμιξης.

10. Συμπεράσματα - Επίλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή επικεντρώθηκε στο ζήτημα της ανάπτυξης μικροοργανισμών στην ενεργειακή εφοδιαστική αλυσίδα των πετρελαϊκών καυσίμων από την υποκατάσταση αυτών με ανανεώσιμες και εναλλακτικές πηγές ενέργειας. Στόχος ήταν αφενός μεν η μελέτη της επίδρασης των βιοκαυσίμων ως πιθανά υποστρώματα των μικροοργανισμών και αφετέρου δε η διερεύνηση πρακτικών που μπορούν να καταστήσουν τα καύσιμα και τα μίγματα αυτών σταθερότερα έναντι του μικροβιακού φορτίου. Στο πρώτο σκέλος εξετάστηκε η ανάπτυξη των μικροοργανισμών στα καύσιμα που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο στις επίγειες – ντήζελ κίνησης και αμόλυβδη βενζίνη – καθώς και στις θαλάσσιες μεταφορές – ναυτιλιακό gasoil – κατόπιν της υποκατάστασης αυτών με ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα, όπως βιοντήζελ, (βιο) – αλκοόλες, υδρογονωμένα φυτικά έλαια (HVO) και xTLs (GTL και BTL). Στο δεύτερο σκέλος η μελέτη επικεντρώθηκε στην αναβάθμιση της μικροβιακής σταθερότητας των μιγμάτων ντήζελ κίνησης και βιοντήζελ για το οποίο υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι ευνοεί την μικροβιακή δραστηριότητα. Ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκε επισκόπηση της κατάστασης που επικρατεί στην ελληνική εφοδιαστική αλυσίδα, όσον αφορά στο πρόβλημα της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, ενώ τέλος επιχειρήθηκε μια συγκριτική αξιολόγηση μεταξύ των επιμέρους τεχνικών – εργαλείων που υφίστανται για τον έλεγχο/παρακολούθηση της μικροβιακής δραστηριότητας στα συστήματα καυσίμων. Συνολικά η μελέτη της επίδρασης των ανανεώσιμων υποκατάστατων όσο και των τρόπων αναβάθμισής τους αναφορικά με την μικροβιακή επιμόλυνση, συνεισφέρει στη βελτιστοποίηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και στην προσαρμογή των συστημάτων διασφάλισης ποιότητας στα νέα δεδομένα προάγοντας την ευρεία αποδοχή των εναλλακτικών προϊόντων.

10.1 ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΥΜΒΑΤΙΚΩΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΕΙΔΩΝ ΑΠΟ ΑΝΑΝΕΩΣΙΜΑ ΚΑΙ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΑ ΚΑΥΣΙΜΑ

Σύγκριση εναλλακτικών και ανανεώσιμων υποκατάστατων με το πετρελαϊκό ντήζελ κίνησης

Από την συγκριτική αξιολόγηση της μικροβιακής σταθερότητας των εναλλακτικών και ανανεώσιμων υποκατάστατων – FAME, GTL, BTL, HVO – με το πετρελαϊκό ντήζελ κίνησης, προέκυψε ότι οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (FAME) βρέθηκαν να είναι περισσότερο επιρρεπείς στην μικροβιακή επιμόλυνση εν συγκρίσει με το συμβατικό ντήζελ κίνησης και των εξεταζόμενων εναλλακτικών και συνθετικών καυσίμων και η μικροβιακή δραστηριότητα μάλιστα εξαρτάται από την ακορεστότητα των μορίων των εστέρων. Ειδικότερα, οι μεθυλεστέρες από σογιέλαιο (SBOME) και ειδικά αυτών από

υπολείμματα μαγειρικών ελαίων (UCOME) επέδειξαν μεγαλύτερη επιδεκτικότητα έναντι της μικροβιακής επιμόλυνσης σε σχέση με τους μεθυλεστέρες του φοινικελαίου (PALME), που προέρχονται κυρίως από κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως το παλμιτικό οξύ. Επίσης, η χημική σύσταση του καυσίμου φαίνεται να παίζει ρόλο στο τύπο των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στην υδατική φάση, το οποίο μπορεί να αποτελέσει ένα ενδιαφέρον θέμα για περαιτέρω μελέτη. Αντιθέτως, όσον αφορά τα ανανεώσιμα καύσιμα, HVO και BTL, καθώς και το συνθετικό GTL, φαίνεται να μην ευνοούν τον περαιτέρω πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών και η μικροβιακή τους σταθερότητα είναι ανάλογη αυτής του συμβατικού ντήζελ κίνησης. Σημειώνεται, μάλιστα, ότι στις περιπτώσεις των HVO και GTL παρατηρήθηκε επιβράδυνση του μικροβιακού φορτίου και μια πιθανή εξήγηση μπορεί να είναι η παρουσία ισο-παραφινών που περιέχονται στα δύο προαναφερθέντα καύσιμα και οι οποίες ενδεχομένως επιδρούν στη βαθμό βιοδιαθεσιμότητας των καυσίμων. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας φαίνεται να είναι ενθαρρυντικά όσον αφορά την μικροβιακή σταθερότητα των νέων εναλλακτικών καυσίμων που δύνανται να υποκαταστήσουν ή και να αντικαταστήσουν το συμβατικό ντήζελ κίνησης. Τέλος, εκτός από την χαμηλότερη δυναμική βιο-υποβάθμισης των εν λόγω καυσίμων, αξίζει να σημειωθεί, επίσης, ότι επιδεικνύουν καλύτερη οξειδωτική σταθερότητα έναντι των μεθυλεστέρων και ως εκ τούτου, τουλάχιστον ως προς τις εξεταζόμενες παραμέτρους, μπορεί να αποτελέσουν υποψήφια υποκατάστατα του ντήζελ κίνησης και του βιοντήζελ που χρησιμοποιούνται έως τώρα κατά κύριο λόγο στις επίγειες μεταφορές.

Υποκατάσταση της Αμόλυβδης Βενζίνης από Αλκοόλες

Σε γενικές γραμμές παρατηρήθηκε αναστολή της μικροβιακής δραστηριότητας στην υδατική φάση μικροκόσμων που περιέχουν μίγματα αμόλυβδης βενζίνης με διάφορες αλκοόλες, όπως EtOH, IPA και TBA. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μικροβιακή δραστηριότητα στην περίπτωση των δειγμάτων της αμόλυβδης βενζίνης εν απουσία αλκοολών δεν παρουσίασε καμία αναστολή, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι η αμόλυβδη βενζίνη μπορεί να αποτελέσει ικανό υποστρώμα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Παρατηρήθηκε ότι στις περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση της αλκοόλης είναι μεταξύ 5-27 % v/v, προσθήκη του επιμολυσμένου νερού προκαλεί διαχωρισμό της οργανικής και υδατικής φάσης με ταυτοχρόνη συνδιαλυτοποίηση των εν λόγω αλκοολών και στις δύο φάσεις. Κατ' επέκταση αυτό οδηγεί στη σταδιακή μείωση των επιπέδων του μικροβιακού φορτίου της υδατικής φάσης σε όλες τις περιπτώσεις εκτός των E27 μικρόκοσμων, καθώς οι παραπάνω αλκοόλες φαίνεται να έχουν τουλάχιστον βιοστατική (αν όχι βιοκτόνο) δράση. Σημειώνεται ότι παρά την αντιμικροβιακή δράση της αιθανόλης στην υδατική φάση, η παρουσία νερού, ιδιαίτερα σε συστήματα καυσίμων αμόλυβδης βενζίνης – αιθανόλης, οδηγεί σε ποιοτική υποβάθμιση των εν λόγω μιγμάτων, καθώς η συνδιαλυτοποίηση της αιθανόλης στην υδατική φάση έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση βασικών παραμέτρων της βενζίνης, όπως ο αριθμός οκτανίων (RON). Για αυτό τον λόγο, κρίνεται απαραίτητος ο κατάλληλος σχεδιασμός των εν λόγω συστημάτων με

τέτοιο τρόπο ώστε να αποφεύγεται η συγκέντρωση νερού που είναι ικανή να προκαλέσει το διαχωρισμό φάσεων. Σε καύσιμα, όπως τα E85, που περιέχουν υψηλά ποσοστά αιθανόλης και απουσία διαχωρισμένης υδατικής φάσης, οι κατάλληλες πρακτικές παρακολούθησης και housekeeping θα πρέπει να προσαρμόζονται στη φύση αυτών των συστημάτων, καθώς παρατηρήθηκε ότι τέτοια μίγματα ενώ δεν αποτελούν υποστρώματα που ευνοούν την περαιτέρω μικροβιακή ανάπτυξη, δεν είναι και ικανά στο να την καταστείλλουν.

Σε συνέχεια αυτής της εργασίας, επιπλέον διερεύνηση θα μπορούσε να διεξαχθεί με εφαρμογή διαφορετικού υλικού εμβολιασμού - π.χ. από την υδατική φάση επιμολυσμένων δεξαμενών αποθήκευσης μιγμάτων βενζίνης-αιθανόλης - με την εξέταση μικροκόσμων μετά από προσθήκη διαφόρων τύπων μη επιμολυσμένου νερού και με μελέτη της μικροβιακής δραστηριότητας με τη βοήθεια τεχνικών καλλιέργειας, ως συμπληρωματικών της μεθόδου βιοφωταύγειας ATP. Το γεγονός ότι έχουν αναφερθεί πραγματικά περιστατικά στα οποία έχει ανιχνευθεί μεταβολική δραστηριότητα μικροοργανισμών σε δεξαμενές με μίγματα αιθανόλης βενζίνης (E10), υποδηλώνει πως ακόμη και υπό την παρουσία αλκοολών υπάρχει η δυναμική εμφάνισης φαινομένων βιο-υποβάθμισης σε αυτά τα συστήματα. Περαιτέρω εξέταση, συνεπώς, θα μπορούσε να παρέχει πολύτιμα στοιχεία για την σε βάθος κατανόηση της βιο-υποβάθμισης των μιγμάτων βενζίνης-αιθανόλης και θα συνεισφέρει στην κατάλληλη προσαρμογή των διαδικασιών εποπτείας και ελέγχου της μικροβιακής ανάπτυξης στην εφοδιαστική αλυσίδα της αμόλυβδη βενζίνη. Η μελέτη αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λαμβάνοντας υπόψιν την πρόσφατη νομοθεσία για την υποχρεωτική προσθήκη βιο-υποκατάστατων – κατά κύριο λόγο βιοαιθανόλης – στην αμόλυβδη βενζίνη που διατίθεται στην ελληνική αγορά.

Υποκατάσταση του Ντήζελ Κίνησης από Βιοντήζελ και Βουτανόλη

Η βουτανόλη δημιουργεί ένα μη “φιλόξενο” περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό τους ανεξάρτητα από την παρουσία του FAME. Η μικροβιακή δραστηριότητα στις υδατικές φάσεις των μιγμάτων που περιείχαν τη βουτανόλη ουσιαστικά καταστέλλεται μόλις μετά από 3 ημέρες αποθήκευσης, και σχεδόν εξαλείφεται στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης (1 εβδομάδα). Όπως αναμενόταν, τα μίγματα B7 και B20 βρέθηκαν πιο ευάλωτα στην ανάπτυξη μικροβίων σε σύγκριση με τα μίγματα βουτανόλης – ντήζελ κίνησης, καθώς οι τιμές των συγκεντρώσεων ATP βρέθηκαν να είναι τουλάχιστον διπλάσιες της αρχικής. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι τα εξεταζόμενα τριαδικά μίγματα επιδεικνύουν υψηλή σταθερότητα, καθώς και ότι δεν παρατηρήθηκαν ιδιαίτερες μεταβολές στις ποιοτικές παραμέτρους τους εν συγκρίσει με αυτές του ντήζελ κίνησης, μπορούν να αποτελέσουν, κατόπιν της κατάλληλης προσαρμογής τους, στους κινητήρες ντήζελ, προσφέροντας εκτός των άλλων υψηλή σταθερότητα έναντι της ανάπτυξης μικροοργανισμών.

Υποκατάσταση Ναυτιλιακών Καυσίμων από Βιοντήζελ, HVO, GTL

Η παρουσία του FAME στα ναυτιλιακά καύσιμα βάσης φαίνεται να δημιουργεί ένα ευνοϊκότερο περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς έναντι των εναλλακτικών καυσίμων HVO και GTL, τα οποία παρόλο που δε βρέθηκαν να είναι ανασταλτικά υποστρώματα της μικροβιακής δραστηριότητας, παρέχουν λιγότερο ευνοϊκές συνθήκες σε σύγκριση με τα FAME. Γενικά παρατηρείται ότι η επίδραση των ανανεώσιμων και εναλλακτικών καυσίμων στη δυνατότητα ανάπτυξης μικροοργανισμών φαίνεται να μη διαφοροποιείται από το είδος του συμβατικού καυσίμου που δύνανται να υποκαταστήσουν (ντήζελ κίνησης ή ναυτιλίας). Εντούτοις, αξιόλογες διαφορές στο μικροβιακό φορτίο καταγράφηκαν μεταξύ των δύο ναυτιλιακών καυσίμων βάσης, οι οποίες ενδεχομένως να οφείλονται στη διαφορετική σύστασή τους, γεγονός που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν όταν εξετάζεται η μικροβιακή σταθερότητα των επιμέρους μιγμάτων.

Όσον αφορά την οξειδωτική σταθερότητα των εν λόγω μιγμάτων φαίνεται να είναι συνάρτηση του είδους του εκάστοτε υποκαταστάτη. Συγκεκριμένα, η παρουσία του FAME οδηγεί στην επιτάχυνση της διαδικασίας της οξείδωσης σε όλες τις περιπτώσεις των μιγμάτων B7 αλλά η χημική σύσταση του εκάστοτε βιοντήζελ που καθορίζεται από την πρώτη ύλη παίζει, επίσης, σημαντικό ρόλο. Αντιθέτως, τα μίγματα με HVO και GTL εμφανίζουν υψηλότερη αντοχή έναντι της οξείδωσης από τα αντίστοιχα B7 και μάλιστα φαίνεται να ενισχύουν ελάχιστα και την αρχική σταθερότητα του καυσίμου βάσης. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογες μεταβολές στη σταθερότητα των επιμολυσμένων μιγμάτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των πέντε εβδομάδων εν αντιθέσει με τον αριθμό οξύτητας που αυξήθηκε σημαντικά στο τέλος της αποθήκευσης στην περίπτωση των μιγμάτων με FAME.

10.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ

Μελέτη Εξέλιξης Αδιάλυτων Στερεών - Επίδραση Βιοκτόνου Ουσίας

Η παρουσία υδατικής φάσης σε συστήματα καυσίμων B7 και FAME οδηγεί στην ποιοτική υποβάθμισή τους έπειτα από σύντομο χρονικό διάστημα και οδηγεί σε ανεπιθύμητα φαινόμενα της εφοδιαστικής αλυσίδας, αφού σε όλους τους εξεταζόμενους μικρόκοσμους παρατηρήθηκε αύξηση του φορτίου των αδιάλυτων στερεών της υδατικής φάσης με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης με τον μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης να καταγράφεται στην περίπτωση των επιμολυσμένων μικρόκοσμων απουσία βιοκτόνου ουσίας ενώ αξιόλογο φορτίο ανιχνεύθηκε και σε αυτούς που περιείχαν βιοκτόνο κατά το τέλος της μακράς αποθήκευσης. Η προσθήκη βιοκτόνου σε συγκέντρωση που χαρακτηρίζεται ως προληπτική, φάνηκε να επιδρά θετικά στην μικροβιακή σταθερότητα του B7 μίγματος, αλλά αποδείχθηκε μη αποτελεσματική στην

περίπτωση του καθαρού βιοντήζελ. Από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής τίθεται υπό αμφισβήτηση η αποτελεσματικότητα της πρακτικής που περιλαμβάνει την προσθήκη βιοκτόνου ενώ η επιμόλυνση έχει ήδη λάβει χώρα, ακόμα και εάν η συγκέντρωση είναι ισχυρή, καθώς το φορτίο των αδιάλυτων στερεών βρέθηκε να είναι μεγαλύτερο ή σχεδόν το ίδιο εν συγκρίσει των περιπτώσεων άνευ βιοκτόνου. Συνεπώς, δε φαίνεται να συνεισφέρει ούτε στο περιορισμό των προβλημάτων που επιφέρει η μικροβιακή επιμόλυνση στα συστήματων καυσίμων (π.χ. φραγή φίλτρων) ούτε στην συνολική αναβάθμισή των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους.

Επίσης, από τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια των έξι μηνών φαίνεται ότι η μέθοδος παρακολούθησης των αδιάλυτων στερεών μέσω τεχνικών διήθησης που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της διδακτορικής διατριβής μπορεί να δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα για το επίπεδο επιβάρυνσης σε μια μικροβιακά επιμολυσμένη υδατική φάση καυσίμου. Ως εκ τούτου, προτείνεται να εφαρμόζεται συμπληρωματικά και σε συνδυασμό με τις μεθόδους ανίχνευσης του ενεργού μικροβιακού πληθυσμού, καθώς μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με το επίπεδο των αδρανών μικροοργανισμών ή αβιοτικών σωματιδίων, τα οποία ενδεχομένως να προκαλέσουν ανεπιθύμητα προβλήματα στα επιμέρους συστήματα της εφοδιαστικής αλυσίδας και δεν είναι δυνατό να ανιχνευθούν από τις ήδη υπάρχουσες μεθόδους ανίχνευσης, όπως αυτή του προσδιορισμού του ATP.

Επίδραση Προσθέτων

Η παρούσα έρευνα δίνει μια σαφή εικόνα όσον αφορά την επίδραση μια σειράς αντιπροσωπευτικών προσθέτων ντήζελ στην μικροβιακή σταθερότητα των μιγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ. Γενικά, από τα αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι συγκεκριμένα πρόσθετα που εισάγονται σε μίγματα ντήζελ/βιοντήζελ με σκοπό την ποιοτική αναβάθμιση αυτών, ενδεχομένως να επιδρούν στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Η υδροκινόνη (TBHQ) και οι δύο κατεχόλες (MCT και TBC) που πρωτίστως μπορούν να προστεθούν στο βιοντήζελ με σκοπό τη βελτίωση της οξειδωτικής σταθερότητας, θα μπορούσαν ταυτόχρονα να παρέχουν και ένα ικανοποιητικό επίπεδο αντιμικροβιακής προστασίας. Οι ουσίες αυτές παρόλο που δεν έχουν απαραίτητα βιοκτόνες ιδιότητες, σίγουρα δεν παρέχουν ευνοϊκό περιβάλλον για τη μικροβιακή δραστηριότητα. Αυτό υποδηλώνει ότι με την κατάλληλη επιλογή του αντιοξειδωτικού παράγοντα είναι δυνατό να αναβαθμιστεί ως ένα σημείο και η μικροβιακή σταθερότητα του βιοντήζελ. Επίσης, όλα τα εμπορικά βελτιωτικά πρόσθετα του ντήζελ κίνησης, επέδειξαν ανασταλτική δράση έναντι ενός gram-θετικού βακτηρίου στην προτεινόμενη συγκέντρωση ανάμιξης, με την ισχυρότερη να εμφανίζεται στην περίπτωση του αναστολέα διάβρωσης και του παράγοντα απενεργοποίησης των ιόντων μετάλλων, του οποίου μάλιστα η δράση φαίνεται να είναι και ανεξάρτητη της συγκέντρωσης ανάμιξης.

Περαιτέρω μελέτη κρίνεται ενδιαφέρουσα όσον αφορά την εξέταση της δραστηριότητας των συγκεκριμένων προσθέτων όταν αυτά εγχύονται ταυτόχρονα, χρησιμοποιώντας διάφορους τύπους FAME και μιγμάτων αυτού με ντήζελ κίνησης (B5, B10, B20), καθώς και αξιολογώντας την ανασταλτική τους δράση σε χαρακτηρισμένους μικροοργανισμούς που έχουν απομονωθεί από συστήματα καυσίμων.

Συνολικά, διαφαίνεται ότι το πρόβλημα της μικροβιακής επιμόλυνσης είναι υπαρκτό και μάλιστα υφίσταται σε ικανή έκταση. Ως εκ τούτου, η ενεργειακή εφοδιαστική αλυσίδα καλείται να αντιμετωπίσει τις νέες προκλήσεις που απορρέουν από την υποκατάσταση ή και αντικατάσταση των έως τώρα συμβατικών πετρελαϊκών προϊόντων με νέα ανανεώσιμα και εναλλακτικά καύσιμα, τα οποία, όπως φαίνεται, άλλοτε δύνανται να ευνοούν και άλλοτε να περιορίζουν την μικροβιακή ανάπτυξη. Η απουσία καθολικού σχεδίου δράσης δυσχεραίνει την ανάληψη ενεργειών, οι οποίες επί του παρόντος περιορίζονται, κυρίως, σε μεμονωμένη πρακτική γνώση και εμπειρία. Όπως φάνηκε, οι υφιστάμενες μέθοδοι ανίχνευσης, καθώς και αυτή που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, μπορούν να δώσουν αξιόπιστα αποτελέσματα, έτσι ώστε να εφαρμόζεται η καταλληλότερη κάθε φορά δράση για την αποτελεσματική αντιμετώπιση του προβλήματος. Συνεπώς, κρίνεται αναγκαία η αναθεώρηση των έως τώρα πρακτικών, και αφού ληφθούν υπόψιν τόσο οι πραγματικές καταγραφές όσο και τα διαθέσιμα ερευνητικά αποτελέσματα, η κατάστρωση ενός κατάλληλου σχεδίου που θα εστιάζει στην πρόληψη και στην αποτελεσματική καταπολέμηση του προβλήματος με γνώμονα τη σταθερότητα, αναβάθμιση και βελτιστοποίηση των ποιοτικών παραμέτρων των καυσίμων.

Βιβλιογραφία

EN 14214:2014. (χ.χ.). Υγρά προϊόντα πετρελαίου - Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME) για κινητήρες ντήζελ και εφαρμογές θέρμανσης - Απαιτήσεις και μέθοδοι δοκιμής.

EN 590:2013. (χ.χ.). Automotive Fuels Diesel Requirements and Test Methods. European Committee for Standardization (CEN).

Aatola H., L. M. (2008). Hydrotreated vegetable oil (HVO) as a renewable diesel fuel: trade off between NO_x, particulate emission, and fuel consumption of a heavy duty engine. *SAE International journal of engines* (1), 1261-1262.

Abrash, H. I., Shih, D., Elias, W., & Malekmehr, F. (1989). A kinetic study of the air oxidation of pyrogallol and purpurogallin. *International journal of chemical kinetics*, 21(6), 465-476.

Affens, W. A., Hazlett, R. N., & DeGuzman, J. D. (1981). The Solubility of Water in Current JP-5 Jet Turbine Fuels. *NRL Memorandum Report* 4609.

Ail, S., & Dasappa, S. (2016). Biomass to liquid transportation fuel via Fischer Tropsch synthesis-Technology review and current scenario. *Renewable and sustainable energy reviews* (58), 267-286.

Almajano, M. P., Carbo, R., Delgado, M. E., & Gordon, M. H. (2007). Effect of pH on the antimicrobial activity and oxidative stability of oil-in-water emulsions containing caffeic acid. *Journal of food science*, 72(5), C258-C263.

Anastopoulos, G., Lois, E., Serdari, A., Zanicos, F., Stournas, S., & Kalligeros, S. (2001). Lubrication properties of low-sulfur diesel fuels in the presence of specific types of fatty acid derivatives. *Energy & Fuels*, 15(1), 106-112.

Anderson, S. D., Clark, A. Q., & Mason, N. C. (2009). Filtration - an attractive route for dirt removal. *Proceedings of the Ninth International Conference on the Stability and Handling of Liquid Fuels*, (σσ. 18-22).

Annex, V. I. of MARPOL 73/78. (1997). *International Convention for the Prevention of Pollution from Ships*. 349-371.

Arnold, D. (1991). Water key to microbe problem. *Marine Propulsion*, 28-29.

ASTM D7687-11. (2011). Standard Test Method for Measurement of Cellular Adenosine Triphosphate in Fuel, Fuel/Water Mixtures, and Fuel-Associated Water with Sample Concentration by Filtration. Στο ASTM International. West Conshohocken, PA.

ASTM E1259. (2018). Standard Practice for Evaluation of Antimicrobials in Liquid Fuels Boiling Below 390°C.

Atmanli, A. (2016). Comparative analyses of diesel-waste oil biodiesel and propanol, n-butanol or 1-pentanol blends in a diesel engine. *Fuel*, 176, 209-215.

Bücker, F., Barbosa, C. S., Quadros, P. D., Bueno, M. K., Fiori, P., & Bento, F. M. (2014). Fuel biodegradation and molecular characterization of microbial biofilms in stored diesel/biodiesel blend B10 and the effect of biocide. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 346-355.

Bücker F., S. N. (2011). Impact of biodiesel on biodeterioration of stored Brazilian diesel oil. *International Biodeterioration & Biodegradation* (65(1)), 172-178.

Bücker F., T. M. (2017). Evaluation of the deteriorogenic microbial community using qPCR, n-alkanes and FAMES biodegradation in diesel, biodiesel and blends (B5, B10, and B50) during storage. *Fuel*.

- Bacha, J., Blondis, L., Freel, J., Hemighaus, G., Hoekman, K., Hogue, N., . . . Sztenderowicz, M. (1998). Diesel Fuels Technical Review. 69.
- Bailey, C. A., & May, M. E. (1979). Evaluation of Microbiological Test Kits for Hydrocarbon Fuel Systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(5), 871-877.
- Beker, S. A., da Silva, Y. P., Bucker, F., Cazarolli, J. C., de Quadros, P. D., Peralba, M. D., & Bento, F. M. (2016). Effect of different concentrations of tert-butylhydroquinone (TBHQ) on microbial growth and chemical stability of soybean biodiesel during simulated storage. *Fuel*, 184, 701-707.
- Bento, F. M., & Gaylarde, C. C. (1996). The production of interfacial emulsions by bacterial isolates from diesel fuels. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38, 31-33.
- Bento, F. M., & Gaylarde, C. C. (2001). Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47(2), 107-112.
- Bento, F. M., Beech, I. B., Gaylarde, C. C., Englert, G. E., & Muller, I. L. (2005). Degradation and corrosive activities of fungi in a diesel-mild-steel aqueous system. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(2), 135-142.
- Berrios, M., Martín, M. A., Chica, A. F., & Martín, A. (2011). Storage effect in the quality of different methyl esters and blends with diesel. *Fuel*.
- Bezergianni, S., & Dimitriadis, A. (2013). Comparison between different types of renewable diesel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*(21), 110-116.
- Biomass Research and Development Board. (2013). National Biofuels Action Plan.
- Block, S. S. (2001). Disinfection, sterilization, and preservation (Phenolic compounds). Lippincott Williams & Wilkins.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cazarolli, J. C., Guzatto, R., Samios, D., Peralba, M., de Siqueira Cavalcanti, E. H., & Bento, F. M. (2014). Susceptibility of linseed, soybean, and olive biodiesel to growth of the deteriorogenic fungus *Pseudallescheria boydii*. *International Biodeterioration & Biodegradation* (95), 364-372.
- Chao, Y., Nan, L., Zhang, T., & Chen, S. (2010). Isolation and Characterization of Bacteria from Engine Sludge Generated from Biodiesel - Diesel Blends. *Fuel*, 89, 3358-3364.
- Chesneau, H. L. (2003). Remediation techniques. In: Passman, F.J. (Ed.), *Manual 47- Fuel and Fuel System Microbiology: Fundamentals, Diagnosis and. Manual 47- Fuel and Fuel System Microbiology: Fundamentals, Diagnosis and Contamination Control*, 24-31.
- Chotwichien, A., Apanee, L., & Samai, J. (2009). Utilization of palm oil alkyl esters as an additive in ethanol–diesel and butanol–diesel blends. *Fuel*, 88(9), 1618-1624.
- Chu, K. Y., & Thompson, A. R. (1962). Densities and Refractive Indices of Alcohol-Water Solutions of n-Propyl, Isopropyl and Methyl Alcohols. *Journal of chemical and engineering data*, 7(3), 358-360.
- Chung, Y. C., Chena, H. C., Shyu, Y. T., & Hua, J. (2000). Temperature and water effects on the biodeterioration for marine fuel oil . *Fuel*, 79, 1525-1532.
- CIC Group. (2007). Commitment to corrosion monitoring year 2006. 166.
- Coordinating Research Council, INC. (2014). CRC Report No. 667, Diesel Fuel Storage and Handling Guide.

- Cuvelier, M. E., Richard, H., & Berset, C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure - activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56(2), 324-325.
- Damasceno, S. S., Santos, N. A., Santos, I. M., Souza, A. L., Souza, A. G., & Queiroz, N. (2013). Caffeic and ferulic acids: an investigation of the effect of antioxidants on the stability of soybean biodiesel during storage. *Fuel*, 107, 641-646.
- de Azambuja, A. O., Bücken, F., de Quadros, P. D., Zhalnina, K., Dias, R., Vacaro, B. B., & Bento, F. M. (2017). Microbial community composition in Brazilian stored diesel fuel of varying sulfur content, using high-throughput sequencing. *Fuel* (189), 340-349.
- de Goede, S., Wilken, C., Ajam, M., Roets, P., Engelbrecht, P., & Woolard, C. (2015). A comparison of the stability performance of blends of paraffinic diesel and petroleum - derived diesel with RME biodiesel using laboratory stability measurement techniques. *Journal of Fuels*.
- de Oliveira, T. M., Barker, J. F., & Chatzis, I. (2000). Gasoline-water-ethanol interactions and fluid properties. *Proceedings of the 2000 Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Groundwater Conference* (σσ. 11-33). Anaheim, California: Ground Water Publishing Company, Westerville, Ohio.
- Deligiannis, A., Anastasakos, A., Anastopoulos, G., Dodos, G. S., & Zannikos, F. (2013). Effectiveness of various phenolic compounds (commercial and non-commercial) on biodiesel oxidation stability. *SAE Technical Paper*, 2013-01-1128.
- Demirbas, A. (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management*, 50, 14-34.
- Denisov, E. T., & Afanas'ev, I. B. (2005). *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology* CRC.
- DNV Report, Joint Industry Project. (2013, January 20). LNG fuel bunkering in Australia: infrastructure and regulations. Public version of partners' internal report, project no. PP033420, report no. CTC_R_2012038.
- Dodos, G. S., & Zannikos, F. (2012). Microbiological contamination in the Greek biodiesel fuel supply chain. *Proceedings of the International Conference for Sustainable Development of Southern Europe*. Thessaloniki, Greece.
- Dodos, G. S., & Zannikos, F. (2013). Microbiological Growth Study of Biodiesel Fuel. *SAE Int. J. Fuels Lubr.*, 6(2), σσ. 419-429.
- Dodos, G. S., Konstantakos, T., Longinos, S., & Zannikos, F. (2012). Effects of microbiological contamination in the quality of biodiesel fuels. *Global Nest Journal*.
- Dodos, G. S., Tsesmeli, C. E., & Zannikos, F. (2017). Evaluation of the antimicrobial activity of synthetic and natural phenolic type antioxidants in biodiesel fuel. *Fuel*, 150-161.
- Dodos, G. S., Tsesmeli, C., Zahos-Siagos, I., Tyrovola, T., Karonis, D., & Zannikos, F. (2017). Evaluation of the stability and ignition quality of diesel-biodiesel-butanol blends. *SAE Technical Paper*, 2017-01-2320.
- Dodos, G. S., Zannikos, F., & Stournas, S. (2009). Effect of metals in the oxidation stability and lubricity of biodiesel fuel. *SAE Technical Paper*, 2009-01-1829.
- EN 228. (2012). *Automotive fuels. Unleaded petrol. Requirements and test methods*.
- EU. (2009). Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009. *Official Journal of the European Union* (52), 16-62.
- Fass, R., Ben-Asher, J., & Shavit, A. B. (1986). Effects of microbial contamination in storage tanks on the long-term stability of jet fuel. *2nd International Conference on Long Term Stabilities of Liquid Fuels*, (σσ. 253-263). San Antonio.

- Final report to the European Commission in the framework of contract. (2012). Assessment of the implementation of a European alternative fuels strategy and possible supportive proposals (Τόμ. TREN/R1/350-2008 LOT3 - MOVE C1/497-1-2011).
- Gailani, M. B., & Fung, D. Y. (1984). Antimicrobial effects of selected antioxidants in laboratory media and in ground pork. *Journal of Food Protections*, 47(6), 428-433.
- Gaylarde, C. C., Bento, F. M., & Kelle, J. (1999). Microbial Contamination of Stored Hydrocarbon Fuels and its Control. *Revista de Microbiologia*.
- Geva, J., Propes, J., Papier, J., Busanni, M., Zehavi, E., & Fass, R. (1992). Effects of stabilizing additives on the susceptibility of diesel fuels to microbial attack. *Proceedings of the Fourth International Conference on Stability and Handling of Liquid Fuels*, (σφ. U.S. Department of Energy, Washington, pp. 139e152.). Orlando, Florida.
- Gu, J. D., Roman, M., Esselman, T., & Mitchell, R. (1998). The role of microbial biofilms in deterioration of space station candidate materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41, 25-33.
- Gutiérrez-Larraínzar, M., Rúa, J., Caro, I., de Castro, C., de Arriaga, D., García-Armesto, M. R., & del Valle, P. (2012). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of natural phenolic compounds against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Food Control*, 26(2), 555-563.
- Gutierrez-Larrainzar, M., Rua, J., de Arriaga, D., de Valle, P., & Garcia-Armesto, M. R. (2013). In vitro assessment of synthetic phenolic antioxidants for inhibition of foodborne *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens*. *Food control*, 30(2), 393-399.
- Han, Y., & Wang, L. (2017). Sodium alginate/carboxymethyl cellulose films containing pyrogallol acid: physical and antibacterial properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4), 1295-1301.
- Hartikka, T., Kiiski, U., Kuronen, M., & Mikkonen, S. (2013). Diesel fuel oxidation stability: a comparative study. *SAE Technical Paper 2013-01-2678*.
- Hartikka, T., Kuronen, M., & Kiiski, U. (2012). Technical performance of HVO (hydrotreated vegetable oil) in diesel engines. *SAE Technical Paper (2012-01-1585)*.
- Heermann, S. E., & Powers, S. E. (1998). Modelling of partitioning of BTEX in water-reformulated gasoline systems containing ethanol. *Journal of CVontaminant Hydrology*, 34(4), 315-341.
- Hill, E. C., & Hill, G. (2008). Microbial contamination and associated corrosion in fuels, during storage, distribution and use. *Advanced Materials Research*, 38, 257-268.
- Hill, C. E., & Hill, G. C. (2008). Microbial contamination and associated corrosion in fuels, during storage, distribution and use. *Advanced Materials Research(38)*, 257-268.
- Hill, E. C. (1995). Safe, acceptable anti-microbial strategies for distillate fuels. *Proceedings of the Fifth International Conference on Stability and Handling of Liquid Fuels*. Rotterdam, The Netherlands.
- Hill, E. C. (1998). Use of Thixotropic Biopolymers as an Alternative to Agar for the Cultivation of Microorganisms on Solid Media. *Polymer Degradation and Stability*, 59.1(3), σφ. 121-128.
- Hill, E. C., & Hill, G. C. (2008). Microbial contamination and associated corrosion in fuels, during storage, distribution and use. *Advanced Materials Research*, 38, 257-268.
- Hill, E. C., & Hill, G. C. (2009). Strategies for resolving problems caused by microbial growth in terminals and retail sites handling biodiesels. *11th International Conference on Stability, Handling and use of liquid fuels*. Prague, Czech Republic.

- Hill, E. C., & Koenig, J. W. (1995). Bacterial contamination of motor gasoline. 5th International Conference on stability and handling of liquid fuels, (σσ. 173-181). US Department of Energy, Washington, DC.
- Hill, G. C. (2015). A Global Survey of the Incidence of FAME and Microbial Contamination in Marine Distillate Fuels. 14th International conference on Stability, Handling and use of liquid fuels. North Carolina, USA.
- Hill, G., O'Malley, L., Williams, G., Livingston, P., & Timothy, W. (2015). A Global Survey of the Incidence of Fame and Microbial Contamination in Marine Distillate Fuels. 14th International Symposium on Stability, Handling and Use of Liquid Fuels.
- Hrádková, I., Merkl, R., Šmidrkal, J., & Kyselka, J. (2013). Antioxidant effect of mono-and dihydroxyphenols in sunflower oil with different levels of naturally present tocopherols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(7), 747-755.
- IATA Aviation Fuel Working Group. (2005). Guidance Material on Microbiological Contamination in Aircraft Fuel Tanks, Int. Air Trans. Ass., Montreal & Geneva. International Air Transport Association.
- IRENA. (2015). Renewable Energy Policy Brief: Brazil.
- Jain, S., & Sharma, M. P. (2010). Stability of biodiesel and its blends: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 667-678.
- Jain, S., & Sharma, M. P. (2013). Effect of metal contents on oxidation stability of biodiesel/diesel blends. *Fuel*.
- Karavalakis, G., & Stournas, S. (2010). Impact of Antioxidant Additives on the Oxidation Stability of Diesel/Biodiesel Blends. *Energy & Fuels*, 24(6), 3682-3686.
- Karavalakis, G., Hilari, D., Givalou, L., karonis, D., & Stournas, S. (2010). Storage stability and ageing effect of biodiesel blends treated with different antioxidants. *Energy*, 36(1), σσ. 369-374.
- Karavalakis, G., Stournas, S., & Karonis, D. (2010). Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends. *Fuel*, 89(9), σσ. 2483-2489.
- Keene, P., & Browne, B. A. (2011). Effective preservation strategies for ultra low sulfur diesel, biodiesel and unleaded gasoline. Eighth International Fuels Colloquium. . Technische Akademie Esslingen, Ostfildern, Germany.
- Kim, Y. D., Yang, C. W., Kim, B. J., Moon, J. H., Jeong, J. Y., & Kim, J. K. (2016). Fischer-tropsch diesel production and evaluation as alternative automotive fuel in pilot-scale integrated biomass-to-liquid process. (180), 301-312.
- Kipkemboi, P. K., & Easteal, A. J. (1994). Densities and viscosities of binary aqueous mixtures of nonelectrolytes: tert-butyl alcohol and tert-butylamine. *Canadian journal of chemistry*, 72(9), 1937-1945.
- Knothe, G. (2002). Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value? 79(9), 847-854.
- Knothe, G. (2010). *The Biodiesel Handbook*. Urbana, Illinois: AOCS Press.
- Knothe, G. (2007). Some Aspects of Biodiesel Oxidative Stability. *Fuel processing Technology*, 88, 669-677.
- Knothe, G. (2010). Biodiesel and renewable diesel: a comparison. *Progress in Energy and Combustion Science*, 36(3), 364-373.
- Knothe, G., & Razon, L. F. (2017). Biodiesel fuels. (58), 36-59.

- Kocaçalışkan, I., Talan, I., & Terzi, I. (2006). Antimicrobial activity of catechol and pyrogallol as allelochemicals. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61(9-10), 639-642.
- Kubo, I., Fujita, K. I., Nihei, K. I., & Nihei, A. (2004). Antibacterial activity of alkyl gallates against *Bacillus subtilis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(5), 1072-1076.
- Kumar, N. (2017). Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. 190, 328-350.
- Kyriakides, A., Dimas, V., Lymperopoulou, E., Karonis, D., & Lois, E. (2013). Evaluation of gasoline - ethanol - water ternary mixtures used as a fuel for an Otto engine. *Fuel*, 108, 208-215.
- Lanjekar, R. D. (2016). A review of the effect of the composition of biodiesel on NOx emission, oxidative stability and cold flow properties. 54, 1401-1411.
- Lapuerta, M., Armas, O., & García-Contreras, R. (2009). Effect of ethanol on blending stability and diesel engine emissions. *Energy & Fuels*, 23(9), 4343-4354.
- Lapuerta, M., Armas, O., & Herreros, J. (2008). Emissions from a diesel-bioethanol blend in an automotive diesel engine. *Fuel*, 87(1), 25-31.
- Lapuerta, M., Garcia-Contreras, R., Campos-Fernánd, J., & Dorado, M. P. (2010). Stability, lubricity, viscosity, and cold-flow properties of alcohol– diesel blends. *Energy & fuels*, 24(8), 4497-4502.
- Lee, J. S. (χ.χ.). An assessment of alternative diesel fuels: microbiological contamination and corrosion under storage conditions. *Biofouling*, 26(6), 623-635.
- Lee, J. S., Ray, R., & Little, B. J. (2009). Microbiological and Corrosivity Characterizations of Biodiesels and Advanced Diesel Fuels. *NACE Corrosion 2009*. Houston.
- Lee, K. Y. (2008). Phase partitioning modeling of ethanol, isopropanol, and methanol with BTEX compounds in water. *Environmental Pollution*, 154(2), 320-329.
- Leily Nurul Komariah, M. S. (2017). Storage tank materials for biodiesel blends; the analysis of fuel property changes. *MATEC Web of Conferences*.
- Letcher, T. M., Heyward, C., Wootton, S., & Shuttleworth, B. (1986). Ternary phase diagrams for gasoline-water- alcohol mixtures. *Fuel*, 65(7), 891-894.
- Lewis, J. (1985). Lead poisoning: a historical perspective. *EPA J.*, 11(15).
- Lima, V. N., Oliveira-Tintino, C. D., Santos, E. S., Morais, L. P., Tintino, S. R., Freitas, T. S., & Coutinho, H. D. (2016). Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microbial Pathogenesis*, 99, 56-61.
- Marchal, R., Penet, S., Solano-Serena, F., & Vandecasteele, J. P. (2003). Gasoline and diesel oil biodegradation. *Oil & Gas Science and Technology*, 58(4), 441-448.
- Mariano, A. P., Tomasele, R. C., Oliveira, L. M., Contieiro, J., & Angeli, D. F. (2008). Biodegradability of diesel and biodiesel blends. *African Journal of Biotechnology*, 7, 1323-1328.
- Mariano, A. P., Tomasella, R. C., Di Martino, C., Maciel Filho, R., Selegium, M. H., Contieiro, J., & de Angelis, D. D. (2009). Aerobic biodegradation of butanol and gasoline blends. *Biomass and Bioenergy*, 33(9), 1175-1181.
- Martin- Sanchez, P. M., Gorbushina, A. A., Kunte, H. J., & Toepel, J. (2016). A novel qPCR protocol for the specific detection and quantification of the fuel-deteriorating fungus *Hormoconis resinae*. *Biofouling*, 32(6), 635-644.

- Martin-Sanchez, P. M., Gorbushina, A. A., & Toepel, J. (2018). Quantification of microbial load in diesel storage tanks using culture and qPCR - based approaches. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126 , 216-223.
- McDonnell, G., & Russell, A. D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12(1), 147-179.
- Merkl, R., Hradkova, I., Filip, V., & Smidrkal, J. (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkyl esters. *Czech J Food Sci*, 28(4), 275-279.
- Misra, R. D., & Murthy, M. S. (2011). Blending of additives with biodiesels to improve the cold flow properties, combustion and emission performance in a compression ignition engine - a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(5), 2413-2422.
- Mittelbach, M., & Schober, S. (2003). The Influence of Antioxidants on the Oxidation Stability of Biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 817-823.
- Miyoshi, M. (1895). Die durchbohrung von membranen durch pilzfäden. *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* , 28, 269-289.
- Natella, F., Nardini, M., Di Felice, M., & Scaccini, C. (1999). Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure– activity relation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(4), 1453-1459.
- Neihof, R., & May, M. (1983). Microbial and particulate contamination in fuel tanks on naval ships. *International Biodeterioration Bulletin*, 19(2), 59-68.
- Neste Corporation. (2016). *Neste Renewable Diesel Handbook*. Neste Proprietary Publication.
- Nigam, S. P., & Singh, A. (2011). Production of liquid biofuels from renewable resources. 37(1), 52-68.
- No, Y. S. (2014). Application of hydrotreated vegetable oil from triglyceride based biomass to CI engines - A review. 115(88-96).
- O. Levenspiel. (2011). *Chemical Reaction Engineering*. Oregon State University: John Wiley & Sons Inc.
- Ooi, N., Chopra, I., Eady, A., Cove, J., Bojar, R., & O'Neill, A. J. (2013). Antibacterial activity and mode of action of tert-butylhydroquinone (TBHQ) and its oxidation product, tert-butylbenzoquinone (TBBQ). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(6), 1297-1304.
- Ooi, N., Eady, E. A., Cove, J. H., & O'Neill, A. J. (2016). Tert-butyl benzoquinone: mechanism of biofilm eradication and potential for use as a topical antibiofilm agent. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(7), 1841-1844.
- Pasqualino, J. C., Montane, D., & Salvado, J. (2006). Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. *Biomass and bioenergy*, 30(10), 874-879.
- Passman, F. (2003). *Fuel and Fuel System Microbiology: Fundamentals, Diagnosis and Contamination Control*. (Manual 47).
- Passman, F. J. (2009). using Adenosine Triphosphate to quantify bioburdens in various liquid fuels. 7th International Fuels Colloquium. Esslingen, Ostfildern, Germany: Technische Akademie.
- Passman, F. J. (2013). Microbial contamination and its control in fuels and fuel systems since 1980 - a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*.
- Passman, F. J., & Dobranic, J. (2005). Relative biodegradability of B-100 biodiesel and conventional low sulfur diesel fuels. *Proceedings of the Ninth International Conference on the Stability and Handling of Liquid Fuels*.

- Passman, F. J., Lewis, R. P., Palmer, J. L., & Reid, H. (2009). Effect of ethanol on microbial proliferation in unleaded gasoline microcosms. 11th International Conference on the Stability and Handling of Liquid Fuels.
- Passman, F. J., Maradukhel, G., & Merks, M. (2013). Recent Advances in the Detection and Quantification of Microbial Contamination in Fuel Systems. Proceedings of the 9th International Colloquium Fuels - Conventional and Future Energy for Automobiles, (σσ. 399-403).
- Passman, F. J., McFarland, B. L., & Hillyer, M. J. (2001). Oxygenated gasoline biodeterioration and its control in laboratory microcosms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47(2), 95-106.
- Pereira, R. C., & Pasa, V. M. (2006). Effect of mono-olefins and diolefins on the stability of automotive gasoline. *Fuel*, 85(12), 1860-1865.
- Raccach, M. (1984). The Antimicrobial Activity of Phenolic Antioxidants in Food: A review. *Journal of Food Safety*, 6(3), 141-170.
- Rakopoulos, D. C., Rakopoulos, C. D., Giakoumis, E. G., Dimaratos, A. M., & Kyritsis, D. C. (2010). Effects of butanol-diesel fuel blends on the performance and emissions of a high-speed DI diesel engine. *Energy Conversion and Management*, 51(10), 1989-1997.
- Rashedul, H. K., Masjuki, H. H., Kalam, M. A., Ashraful, A. M., Rahman, S. A., & Shahir, S. A. (2014). The effect of additives on properties, performance and emission of biodiesel fuelled compression ignition engine. *Energy Conversion and Management*, 88, 348-364.
- Rauch, M. E., Graef, H. W., Rozenzhak, S. M., Jones, S. E., Bleckmann, C. A., Krugel, R. L., & Stone, M. O. (2006). Characterization of microbial contamination in United States Air Force aviation fuel tanks. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(1), 29-36.
- REGULATION (EU) No 528/2012. (2012). BPR Biocidal Products Regulation.
- Rehab Farouk M. Ali, A. M.-A. (2017). Stabilization of Neem Oil Biodiesel with Corn Silk Extract during Long-term Storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS)*.
- Renewables Fuels Association. (2009). E85 Fuel Ethanol Industry Guidelines, Specifications and Procedures. RFA Publication # 090301.
- Revised Marpol Annex VI. (2008). Regulations for the Prevention of Air Pollution from Ships. Resolution MEPC, 176(58).
- Rimkus, A. Ž., Rimkus, A., Žaglinskis, J., Rapalis, P., & Skačkau, P. (2015). Research on the combustion, energy and emission parameters of diesel fuel and a biomass-to-liquid (BTL) fuel blend in a compression-ignition engine. *Energy Conversion and Management*, 106, 1109-1117.
- Robbins J. & Levy R. (2004). A review of the microbiological degradation of fuel. Part One. (177-201).
- Rouet-Mayer, M. A., Ralambosoa, J., & Philippon, J. (1990). Roles of o-quinones and their polymers in the enzymic browning of apples. *Phytochemistry*, 29(2), 435-440.
- Sørensen, G. P. (2011). Microbial growth studies in biodiesel blends. 102(8), 5259-5264.
- Sajjad, H., Masjuki, H. H., Varman, M., Kalam, M. A., Arbab, M. I., Imtenan, S., & Rahman, S. A. (2014). Engine combustion, performance and emission characteristics of gas to liquid (GTL) fuels and its blends with diesel and bio-diesel. 30, 960-986.
- Saluja, R. K., Kumar, V., & Sham, R. (2016). Stability of biodiesel - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 62, 866-881.

- Sanchez-Maldonado, A. F., Schieber, A., & Ganzle, M. G. (2011). Structure-function relationship of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 111(5), 1176-1184.
- Santos, G. A., Vila, M. M., Chaud, M. V., Silva, W. L., de Castro, A. G., de Oliveira Jr, J. M., & Balcão, V. M. (2016). Antimicrobial and antioxidant screening of curcumin and pyrocatechol in the prevention of biodiesel degradation: oxidative stability. *Biofuels*, 7(6), 581-592.
- Santos, N. A., Damasceno, S. S., de Araújo, P. H., Marques, V. C., Rosenhaim, R., Fernandes Jr, V. J., & Souza, A. G. (2011). Caffeic acid: an efficient antioxidant for soybean biodiesel contaminated with metals. *Energy & Fuels*, 25(9), 4190-4194.
- Sarin, A. A. (2010). Synergistic effect of metal deactivator and antioxidant on oxidation stability of metal contaminated *Jatropha* biodiesel. *Energy*, 35(5), 2333-2337.
- Schleicher, T. W.-P. (2009). Microbiological stability of biodiesel–diesel-mixtures. 100(2), 724-730.
- Schober, S., & Mittelbach, M. (2004). The impact of antioxidants on biodiesel oxidation stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(6), 382-389.
- Schweigert, N., Zehnder, A. J., & Eggen, R. I. (2001). Chemical properties of catechols and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals. *Environmental Microbiology*, 3(2), 81-91.
- Serrano, M. O. (2014). Influence of blending vegetable oil methyl esters on biodiesel fuel properties: oxidative stability and cold flow properties. 65, 109-115.
- Shah, P., Wee, C., White, J. M., Sanford, S., & Meier, G. (2010). Experimental Determination and Thermodynamic Modeling of Water Content in Biodiesel Diesel Blends. Renewable Energy Group.
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical reviews in food science & nutrition*, 32(1), 67-103.
- Sharma, Y. C., Singh, B., & Upadhyay, S. N. (2008). Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. *Fuel*, 87, 2355-2373.
- Shell Global Solutions. Shell GTL fuel knowledge guide. The Hague, The Netherlands.
- Siegert, W. (2013). Microbial Contamination in Diesel Fuel - Are New Problems Arising from Biodiesel Blends. *Proceedings of the 9th International Colloquium Fuels - Conventional and Future Energy for Automobiles*, (σσ. 405-415).
- Siegert, W., & Ziegann, Q. (2013). A comparison of three different actives as fuel microbiocides in regards of their bactericidal and fungicidal effect. *10th International Fuels Colloquium*. Esslingen, Ostfildern, Germany: Technische Akademie.
- Smith, T., Jalkanen, J. P., Anderson, B. A., Corbett, J. J., Faber, J., Hanayama, S., & Raucci, C. (2015). Third IMO GHG Study.
- Solana, M. V., & Gaylarde, C. C. (1995). Fungal contamination and growth in various hydrocarbon fuels. *Biodeterioration Biodegradation*, 9, 621-628.
- Soriano, A. U. (2015). Microbiological aspects of biodiesel and biodiesel/diesel blends biodeterioration. 99, 102-114.
- Stephenson, R. M. (1992). Mutual solubilities: water-ketones, water-ethers and water-gasoline-alcohols. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 37(1), 80-95.
- Stranger-Johannessen, M., & Norgaard, E. (1991). Deterioration of anti-corrosive paints by extracellular microbial products. *International Biodeterioration*, 27, 157-162.

- Suflita, J. M., Aktas, D. F., Oldham, A. L., Perez-Ibarra, B. M., & Duncan, K. (2012). Molecular tools to track bacteria responsible for fuel deterioration and microbiologically influenced corrosion. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, 28(9), 1003-1010.
- Sukjit, E., Herreros, J. M., Dearn, K. D., García-Contreras, R., & Tsolakis, A. (2012). The effect of the addition of individual methyl esters on the combustion and emissions of ethanol and butanol-diesel blends. *Energy*, 42(1), 364-374.
- Sun, Z., Yang, S., Qiao, X., & Zhang, Z. (2017). Studies on the impact of isooctyl nitrate on diesel engine combustion process in plateau environment. *SAE Technical Paper*, 2017-01-2290.
- Tang, H., De Guzman, R. C., Ng, K. S., & Salley, S. O. (2009). Effect of antioxidants on the storage stability of soybean-oil-based biodiesel. *Energy & Fuels*, 24(3), 2028-2033.
- Tang, H., Wang, A., Salley, S. O., & Ng, K. S. (2008). The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(4), 373-382.
- Tauber, H. (1953). Oxidation of pyrogallol to purpurogallin by crystalline catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 205(1), 395-400.
- Thangavelu, S. K., Ahmed, A. S., & Ani, F. N. (2016). Review in bioethanol as alternative fuel for spark ignition engines. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 56, 820-835.
- Tseng, H. H., & Tseng, T. C. (1995). Effects of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene and tertiary butylhydroquinone on growth and luteoskyrin production by *Penicillium islandicum*. *Mycopathologia*, 129(2), 73-78.
- Wadumesthrige, K., KY Simon, N., & Steven O. Salley. (2010). Properties of butanol-biodiesel-ULSD ternary mixtures. *SAE International Journal of Fuels and Lubricants*, 3(2), 660-670.
- Walker, J. R., & Ferrar, P. H. (1998). Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 15(1), 457-498.
- Waynick, J. A. (2001). The development and use of metals deactivators in the petroleum industry: a review. *Energy & Fuels*, 15(6), 1325-1340.
- Weaver, J. W., Skaggs, S. A., Spidle, D. L., & Stone, G. C. (2009). Composition and behavior of fuel ethanol. U.S. EPA.
- WG, C. B. (2012). EU Handbook (Τόμ. IEE/09/933/S12.558306). Biofuel Markets.
- Whonchee Lee, Z. L. (2009). Role of sulfate-reducing bacteria in corrosion of mild steel: A review. *Biofouling*.
- Williams, G., O'Malley, L., & Hill, G. (2015). Investigation of relationship between water content in biodiesels and microbial growth and contamination. 14th International Conference on Stability, Handling and use of liquid fuels. North Carolina, USA.
- Yaakob, Z. N. (2014). A review on the oxidation stability of biodiesel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (35), 136-153.
- Zanier, A. (1998). Thermal - oxidative stability of motor gasolines by pressure dsc. *Fuel*, 77(8), 865-870.
- Zhang, X., Peterson, C., Reece, D., Haws, R., & Möller, G. (1998). Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. *Transactions of the ASAE*, 41(5), 1423-1430.
- Zhiping, T., & Ji, Z. (2007). Bacterial contamination of high octane number oxygenated gasoline. 10th International Conference on Stability and Use of Liquid Fuels. Tuscon, Arizona, USA.

Βιβλιογραφία

Zhou, J., Xiong, Y., & Xu, S. (2016). Evaluation of the oxidation stability of biodiesel stabilized with antioxidants using the PetroOXY method. *Fuel*, 184, 808-814.

Zimmer, A., Cazarolli, J., Teixeira, R. M., Viscardi, S. L., Calcavanti, E., Gerbase, A. E., . . . Bento, F. M. (2013). Monitoring of efficacy of antimicrobial products during 60 days storage simulation of diesel (B0), biodiesel (B100) and blends (B7 and B10). *Fuel*, σσ. 153-162.

Ντόντος, Γ. Σ. (Αθήνα, 2013). Επιπτώσεις ανανεώσιμων υποκατάστατων στη λιπαντική ικανότητα, την οξειδωτική συμπεριφορά και το μικροβιακό φορτίο των πετρελαιοειδών (Doctoral dissertation, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ)).

Παραρτήματα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ

Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά Πρώτων Υλών

Πινάκας I.1: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά πρώτων υλών

Ιδιότητα	Μονάδες	Πυρηνέλαιο (POMO)	Σογιέλαιο (SBO)	Μέθοδος
Πυκνότητα @ 15°C	kg/m ³	917.7	923.2	EN ISO 12185
Κ. Ιξώδες @ 40°C	mm ² /s	40.38	32.49	ASTM D 7042
Περιεκτικότητα σε Νερό	mg/kg	300	300	EN ISO 12937
Αριθμός Οξύτητας	mg KOH/g	0.35	0.30	EN 14104
Αριθμός Σαπωνοποίησης	mg KOH/g	194	202	AOAC CD3-25

Παραγωγική Διαδικασία Μεθυλεστέρων των Λιπαρών Οξέων (FAME)

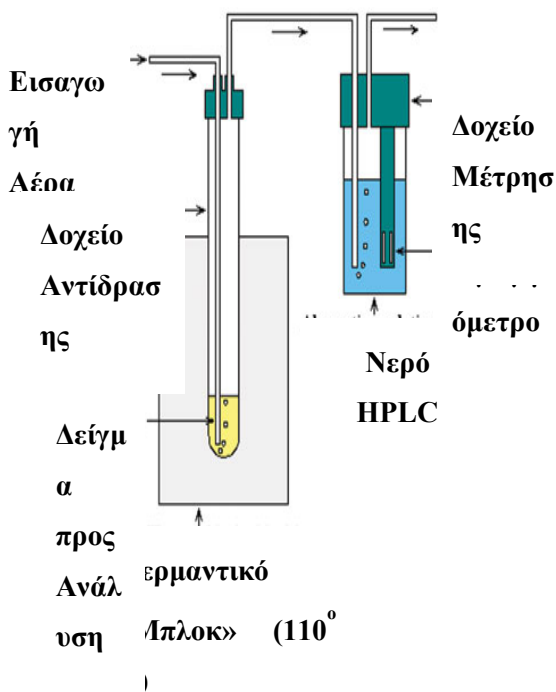
Οι πρώτες ύλες αξιοποιήθηκαν ως είχαν χωρίς περαιτέρω εξευγενισμό καθώς η περιεκτικότητα σε νερό και σε ελεύθερα λιπαρά οξέα ήταν σε ικανοποιητικά επίπεδα. Η παραγωγή των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων πραγματοποιήθηκε μέσω αλκαλικής αντίδρασης μετεστεροποίησης με μοριακή αναλογία μεθανόλης / ελαίου 6:1 και καταλύτη μονοξειδίου του νατρίου (CH₃ONa) σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0.7% και 1%κ.β. ανάλογα με την πρώτη ύλη. Η θερμοκρασία της αντίδρασης ήταν κοντά στο σημείο ζέσης της μεθανόλης (~ 65°C), ενώ ο χρόνος στις 2 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης η υπερκείμενη φάση των μεθυλεστέρων διαχωρίζονταν από τη γλυκερίνη και εξευγενιζόταν μέσω εκπλύσεων με θερμό νερό και με αραιό διάλυμα θεικού οξέος (5%w/w H₂SO₄). Η περίσσεια της μεθανόλης απομακρυνόταν μέσω απόσταξης υπό κενό και τέλος πραγματοποιούνταν ξήρανση των μεθυλεστέρων με άνυδρο θειικό νάτριο (Na₂SO₄).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ

Μέθοδος Rancimat

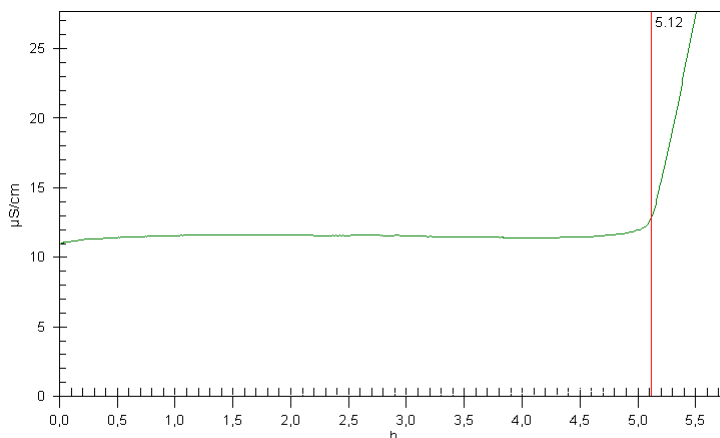
Η μέθοδος επιταχυνόμενης οξείδωσης Rancimat εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας του βιοντήζελ και των μειγμάτων του βιοντήζελ με πετρελαϊκό ντήζελ σύμφωνα με τα ευρωπαϊκά πρότυπα EN14112 και EN15751 αντίστοιχα. Και στις δυο δοκιμαστικές μεθόδους η αρχή λειτουργίας είναι πανομοιότυπη και αναπαριστάται στο Σχήμα Π.1.



Σχήμα Π.1: Αρχή λειτουργίας της μεθόδου προσδιορισμού της οξειδωτικής σταθερότητας Rancimat.

Το προς ανάλυση δείγμα τοποθετείται στο δοχείο αντίδρασης και υπόκειται σε επιταχυνόμενη οξείδωση υπό σταθερή παροχή αέρα στα 10L/h και θερμοκρασία 110°C. Κατά τη διάρκεια των οξειδωτικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα τα πτητικά δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης (κυρίως μυρμηκικό και οξικό οξύ) διοχετεύονται στο δοχείο αντίδρασης το οποίο περιέχει υπερκάθαρο νερό με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η αγωγιμότητα του τελευταίου. Η οξειδωτική σταθερότητα καθορίζεται ως ο Χρόνος Επαγωγής σε ώρες (Induction Period -hours) που παρέρχεται από την έναρξη της δοκιμής μέχρι του χρονικού σημείου όπου παρατηρείται κατακόρυφη αύξηση της αγωγιμότητας. Στο Σχήμα Π.2 δίνεται ένα

τυπικό διάγραμμα που προκύπτει από τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας με τη μέθοδο Rancimat.



Σχήμα Π.2: Τυπικό διάγραμμα του χρόνου επαγωγής από τη συσκευή Rancimat.

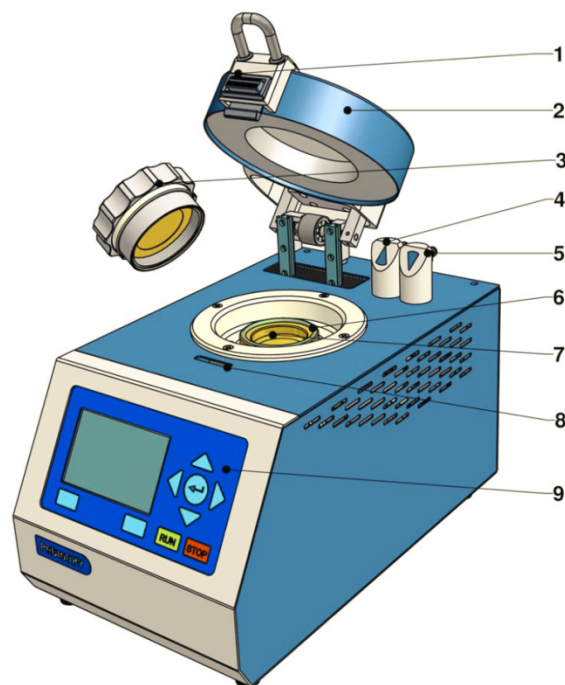
Μεταξύ των προτύπων EN14112 και EN15751 υπάρχουν ορισμένες διαφοροποιήσεις, οι οποίες κυρίως αντισταθμίζουν την υψηλότερη πτητικότητα του πετρελαίου συγκριτικά με το βιοντήζελ. Ο παρακάτω πίνακας συνοψίζει τις κύριες διαφορές.

	EN 14112 (Αμιγές βιοντήζελ)	EN 15751 (Μίγμα πετρελαίου-βιοντήζελ)
Μάζα δείγματος, g	3	7.5
Δοχεία αντίδρασης, mm	150 x 24	250 x 24
Ποσότητα νερού, mL	50	60
Καταγραφή αποτελέσματος	Αυτόματα (2 ^η παράγωγος)	Χειροκίνητα (προσδιορισμός με 2 εφαπτόμενες)
Επαναληψιμότητα (r)	0.09*IP + 0.16	0,22027 + 0.04344*IP

Τα βασικά μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η αδυναμία της - λόγω της αρχής λειτουργίας - να μετρήσει την οξειδωτική σταθερότητα σε πετρελαιοειδή καθώς και τα μη αξιόπιστα αποτελέσματα που δίνει για μείγματα με συγκέντρωση βιοντήζελ μικρότερη από 2% v/v.

Μέθοδος RSSOT (PetroOxy - RapidOxy)

Η ταχεία μέθοδος προσδιορισμού της οξειδωτικής σταθερότητας σε μικρή κλίμακα (Rapid Small Scale Oxidation Test) συνιστά και αυτή μία δοκιμή επιταχυνόμενης οξείδωσης η οποία πραγματοποιείται στη συσκευή PetroOxy σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους EN 16091 και ASTM D 7545. Η συσκευή αναπαριστάται στο Σχήμα Π.3.



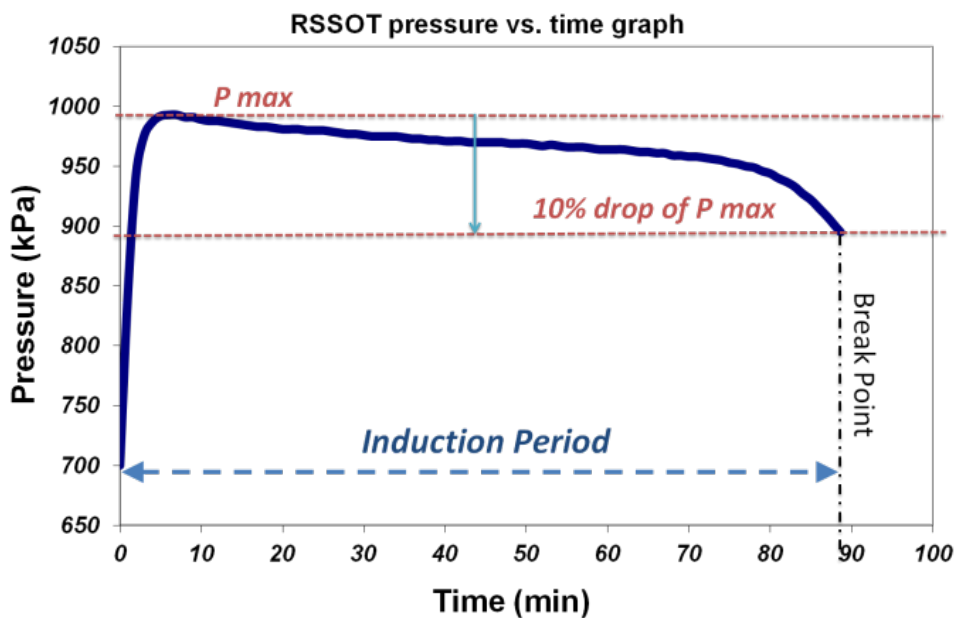
Σχήμα Π.3: Η συσκευή προσδιορισμού της οξειδωτικής σταθερότητας PetroOxy

1. Μηχανισμός ξεκλειδώματος καλύμματος, 2. Προστατευτικό κάλυμμα, 3. Καπάκι θαλάμου πίεσης, 4. Έξοδος οξυγόνου 5. Παροχή οξυγόνου 6. Παρέμβυσμα 7. Υποδοχέας δείγματος, 8. Κλείδωμα ασφαλείας, 9. Οθόνη και πλήκτρα λειτουργίας

Η λειτουργία αυτής της μεθόδου βασίζεται στην αρχή ότι οποιαδήποτε ουσία οξειδώνεται καταναλώνει οξυγόνο ανεξάρτητα από το μηχανισμό που ακολουθείται και τα προϊόντα που παράγονται. Ένα δείγμα 5ml εισάγεται στο θάλαμο πίεσης της συσκευής και η οποία εν συνεχεία πληρώνεται με οξυγόνο σε πίεση 700kPa. Ο θάλαμος θερμαίνεται στους 140°C και η πίεση καταγράφεται συνεχώς. Μόλις η πτώση πίεσης

ξεπεράσει το 10% της μέγιστης τιμής τότε η δοκιμή τερματίζεται και ο χρόνος που έχει παρέλθει συνιστά ουσιαστικά την οξειδωτική σταθερότητα του δείγματος και καταγράφεται ως Χρόνος Επαγωγής σε λεπτά (Induction Period -minutes). Αυτό επομένως δίνει στη μέθοδο RSSOT συγκριτικό πλεονέκτημα σε σχέση με τη συσκευή Rancimat καθώς η πρώτη μπορεί να προσδιορίσει την οξειδωτική σταθερότητα όχι μόνο σε αμιγή βιοντήζελ και μείγματα με συμβατικό ντήζελ αλλά και σε καθαρά πετρελαιοειδή. Επομένως δίνει τη δυνατότητα για άμεση συγκριτική αξιολόγηση της επίδρασης των βιοκαυσίμων. Επιπλέον λόγω των πιο έντονων συνθηκών στις οποίες υποβάλλεται το προς εξέταση δείγμα η δοκιμή είναι σημαντικά γρηγορότερη. Περαιτέρω γίνεται κατανοητό ότι η εφαρμογή της μπορεί να επεκταθεί και σε άλλες ουσίες όπως σε βιολιπαντικά, σε συμβατικά υγρά λιπαντικά και σε γράσσα.

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου συγκαταλέγεται η μη ύπαρξη θεσμοθετημένου ορίου για την οξειδωτική σταθερότητα του βιοντήζελ και των μειγμάτων ντήζελ/βιοντήζελ. Η επαναληψιμότητα (r) έχει προκαταρκτικά οριστεί στα 3.4 λεπτά. Στο Σχήμα II.4 δίνεται ένα τυπικό διάγραμμα που προκύπτει από τον προσδιορισμό της οξειδωτικής σταθερότητας με τη μέθοδο RSSOT.



Σχήμα II.4: Τυπικό διάγραμμα του χρόνου επαγωγής από τη συσκευή RSSOT

