**ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ
ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ ΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ**

**Διδακτορική διατριβή
υποβληθείσα στο Τμήμα Χημικών Μηχανικών
του Πανεπιστημίου Πατρών**

**Υπό
ΕΛΕΝΗ Χ. ΚΟΥΤΡΟΥΛΗ**

**Για την απόκτηση του τίτλου του
Διδάκτορα του Πανεπιστημίου Πατρών**

Πάτρα Φεβρουάριος 2008

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής & Τεχνολογίας Περιβάλλοντος του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών. Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωσή της και συγκεκριμένα:

τον Καθηγητή του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Γεράσιμο Λυμπεράτο για τη συνεχή επιστημονική καθοδήγηση και την αμέριστη υποστήριξή του σε όλη τη διάρκειά της,

τον Καθηγητή του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Κων/νο Κράβαρη, τον Καθηγητή του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Κων/νο Χρυσικόπουλο, τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Φυσικών Πόρων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Δημήτριο Βαγενά, τον Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Ιωάννη Κούκο, τον Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Μιχαήλ Κορνάρο και τον Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών κ. Κων/νο Αγγελόπουλο για την ευγένεια και την προθυμία τους να συμμετάσχουν στην Εξεταστική Επιτροπή,

τους διδάκτορες Ιωάννη Σκιαδά και Χαρίκλεια Γαβαλά για τη συμβολή τους στην περάτωση της παρούσας διατριβής, καθώς και όλους τους συνεργαζόμενους φοιτητές και ερευνητές του Εργαστηρίου Βιοχημικής Μηχανικής & Τεχνολογίας Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Πατρών για την ευχάριστη συνεργασία μας.

Τέλος θα ήθελα θερμά να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τα αδέρφια μου και τον Παναγιώτη για την αμέριστη ηθική τους συμπαράσταση που μου έδειξαν όλα αυτά τα χρόνια.

Περίληψη

Τα απόβλητα των ελαιοτριβείων αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα περιβαλλοντικά προβλήματα της Μεσογείου, λόγω της άκριτης διάθεσης τους. Είναι χαρακτηριστικό ότι, περίπου το 95% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου παράγεται από μικρές, οικογενειακές επιχειρήσεις Μεσογειακών χωρών.

Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η βιοτεχνολογική αξιοποίηση των αποβλήτων των ελαιοτριβείων για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου. Ειδικότερα, μελετήθηκε η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου σε μεσόφιλες συνθήκες από το ημιστερέο υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp) και από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW) με χρήση μικτής αναερόβιας καλλιέργειας μικροοργανισμών. Τα απόβλητα αραιώθηκαν με νερό βρύσης σε αναλογία όγκων 1:4 αντίστοιχα, ώστε να καταστεί δυνατή η βιολογική επεξεργασία τους.

Πειράματα σε αντιδραστήρες τύπου CSTR κατέδειξαν ότι, η συνεχής μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου είναι εφικτή τόσο από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) όσο και από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4). Η απόδοση της συνεχούς διεργασίας σε υδρογόνο από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) προσδιορίστηκε μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση ($4 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ γλυκόζης που καταναλώθηκε) πιθανότατα λόγω της αρνητικής επίδρασης της μερικής πίεσης του υδρογόνου.

Στα πλαίσια αξιοποίησης των πειραματικών αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής το μαθηματικό μοντέλο αναερόβιας χώνευσης ADM1 τροποποιήθηκε κατάλληλα, ώστε να καταστεί δυνατή η περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου. Αρχικά, όλες οι κρίσιμες παράμετροι του μοντέλου προσδιορίστηκαν από τα πειραματικά δεδομένα της συνεχούς αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), ενώ πειράματα διαλείποντος έργου πραγματοποιήθηκαν για την επαλήθευσή τους. Προκειμένου να εξεταστεί η εγκυρότητα του τροποποιημένου μοντέλου και η δυνατότητα αξιόπιστης περιγραφής της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από απόβλητα ελαιοτριβείων, το μοντέλο χρησιμοποιήθηκε για την περιγραφή της αναερόβιας επεξεργασίας του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου.

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν και εφαρμόστηκαν μέθοδοι προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (φυσικοχημικές μέθοδοι και ενζυμική υδρόλυση) με κύριο στόχο την αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του, ενώ

στις περιπτώσεις που αυτό επιτεύχθηκε, διερευνήθηκε η επίδραση τους στην απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο. Η προσπάθεια αυτή βασίστηκε στο συμπέρασμα που προέκυψε από πειράματα διαλείποντος έργου, σύμφωνα με τα οποία, οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες συνεισέφεραν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου με την εκατοστιαία κατά βάρος περιεκτικότητα τους να αντιστοιχεί περίπου στο 50% της περιεκτικότητας του αποβλήτου σε ολικούς υδατάνθρακες.

Μεταξύ των φυσικοχημικών μεθόδων που εφαρμόστηκαν (προσθήκη αλκαλικού μέσου, οξονισμός, επεξεργασία με ατμό) ως βέλτιστη μέθοδος επιλέχθηκε η επεξεργασία με ατμό (1 bar, 121°C) για 60 min, καθώς οδήγησε στο μεγαλύτερο ποσοστό αύξησης των διαλυτών υδατανθράκων (περίπου 26% επί της αρχικής τους συγκέντρωσης), με το μικρότερο δυνατό οικονομικό κόστος, αυξάνοντας την απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο περίπου κατά 45% (εκφρασμένη ως mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν).

Τα εμπορικά διαλύματα ενζύμων Celluclast 1.5L (διάλυμα ενδο-β-γλυκανάσης) και Novozyme 188 (διάλυμα β-γλυκοσιδάσης) χρησιμοποιήθηκαν για την ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4). Συμπερασματικά, πειράματα διαλείποντος έργου κατέδειξαν ότι, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) καθίσταται βέλτιστη με την προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L σε συγκέντρωση 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και σε αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (S/X) ίση με 1 σε διεργασία ενός σταδίου.

Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση της συνεχούς διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) στον αντιδραστήρα τύπου CSTR.

Abstract

Olive mill wastes constitute one of the most important environmental problems of the Mediterranean region, because of their thoughtless disposal. It is characteristic that, approximately 95% of the world's olive oil production is derived from small, family enterprises which are mainly located in Mediterranean countries.

The biotechnological exploitation of olive mill wastes for anaerobic hydrogen production was the aim of this thesis. In particular, the possibility of hydrogen production from semi-solid residue derived from a two-phase centrifugation process (olive pulp) and olive mill wastewater derived from a three-phase centrifugation process (OMW) was examined with mixed anaerobic cultures under mesophilic conditions. The wastes were previously diluted with tap water (1:4), in order to be susceptible to biological treatment.

Various experiments in CSTR type reactors showed that, the continuous mesophilic anaerobic hydrogen production is feasible from diluted olive pulp (1:4) and diluted OMW (1:4) as well. The yield of hydrogen production from diluted olive pulp (1:4) was lower than the maximum theoretical yield (4 mol H₂/mol consumed glucose) probably due to the negative effect of partial pressure of hydrogen.

The anaerobic digestion model No 1 (ADM1) was properly modified in order to describe the anaerobic hydrogen production. All the model's critical parameters were determined by fitting the experimental data of continuous anaerobic hydrogen production from diluted olive pulp (1:4), while batch experiments were conducted for their verification. In order to examine the validity and the reliability of the modified model for the description of anaerobic hydrogen production from various types of olive mill wastes, it was also tested in the case of diluted OMW (1:4) anaerobic treatment.

Pretreatment methods of diluted olive pulp (1:4) were developed and evaluated (physicochemical methods and enzyme hydrolysis) targeting to the increase of soluble carbohydrates available concentration, while in the cases where this was achieved, the effect on hydrogen yield was investigated. This attempt was based on the conclusion derived from batch experiments, which indicated that, the non-soluble carbohydrates contribute to anaerobic hydrogen production only to a very small extent, with their concentration corresponding approximately to 50% of waste content in total carbohydrates.

Among the physicochemical methods that were applied (addition of alkaline solution, ozonation, treatment with steam), the treatment with steam (1 bar, 121°C) for 60 min was selected as the optimum method, because the achieved increase in soluble carbohydrates concentration was the highest (about 26%) with the least economic cost. The potential of anaerobic hydrogen production was increased approximately 45% (expressed as mL H₂/g soluble carbohydrates consumed).

Two commercial enzyme solutions, Celluclast 1.5L (endo-β-glucanase) and Novozyme 188 (β-glucosidase), were used for the enzymatic hydrolysis of diluted olive pulp (1:4). Conclusively, the potential of anaerobic hydrogen production from diluted olive pulp (1:4) was optimum with the addition of Celluclast 1.5L (50 FPU/g non soluble carbohydrates from substrate) and substrate/mixed culture volume ratio (S/X) equal to 1 in one stage process (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

Finally, enzyme (Celluclast 1.5L) was added into the CSTR-type reactor in order to determine the effect in the potential of anaerobic hydrogen production from diluted olive pulp (1:4).

Περιεχόμενα

1. Διαχείριση αποβλήτων ελαιοτριβείων	1
1.1. Εισαγωγή	1
1.2. Συστήματα εξαγωγής ελαιολάδου και παραγόμενα απόβλητα.....	3
1.2.1. Υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων και μέθοδοι επεξεργασίας τους.....	8
1.2.2. Στερεά απόβλητα ελαιοτριβείων και μέθοδοι επεξεργασίας τους.....	18
2. Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας.....	22
2.1. Εισαγωγή	22
2.2. Ιστορικά στοιχεία.....	23
2.3. Φυσικές και χημικές ιδιότητες υδρογόνου.....	24
2.4. Διεργασίες παραγωγής υδρογόνου	30
2.4.1. Παραγωγή υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα	30
2.4.2. Παραγωγή υδρογόνου από νερό	32
2.4.3. Παραγωγή υδρογόνου από βιομάζα.....	37
2.5. Η οικονομία του υδρογόνου	40
2.5.1. Διανομή υδρογόνου	41
2.5.2. Αποθήκευση υδρογόνου	41
2.5.3. Χρήσεις υδρογόνου.....	44
3. Αναερόβια παραγωγή υδρογόνου	46
3.1. Εισαγωγή	46
3.2. Τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης.....	49
3.3. Ανάσχεση της μεθανογένεσης με στόχο την παραγωγή υδρογόνου	52
3.4. Αναερόβιος μεταβολισμός οργανικής ύλης για παραγωγή υδρογόνου	54
3.4.1. Υδρόλυση στην αναερόβια χώνευση	56
3.4.2. Οξεογένεση στην αναερόβια χώνευση	61
3.4.2.1. Ζύμωση σακχάρων και προϊόντα.....	61
3.4.2.2. Ζύμωση αμινοξέων και προϊόντα	73
3.4.2.3. Ζύμωση λιπών και προϊόντα.....	75
3.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.....	77
3.5.1. Θρεπτικά συστατικά και παρεμποδιστές	77
3.5.2. Λειτουργικές παράμετροι	78
3.5.3. Μερική πίεση υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα	81
3.6. Βιοαντιδραστήρες για την επεξεργασία υγρών και στερεών αποβλήτων με στόχο την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.....	83
3.7. Αξιοποίηση των προϊόντων της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου	85
4. Ενζυμική υδρόλυση λιγνοκυτταρινούχων υλικών	91
4.1. Εισαγωγή	91
4.2. Δομή λιγνοκυτταρινούχων υλικών	91
4.2.1. Κυτταρίνη	92
4.2.2. Ημικυτταρίνη	94
4.2.3. Λιγνίνη	94

4.3. Μέθοδοι προεπεξεργασίας λιγνοκυτταρινούχων υλικών	96
4.4. Ενζυμική υδρόλυση λιγνοκυτταρινούχων υλικών	97
4.4.1. Γενικά περί ενζύμων	97
4.4.2. Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης	100
4.4.2.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης	103
4.4.3. Ενζυμική υδρόλυση ημικυτταρίνης και λιγνίνης.....	106
5. Μαθηματική μοντελοποίηση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου.....	108
5.1. Εισαγωγή	108
5.2. Μαθηματικά μοντέλα για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής μεθανίου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου	108
5.2.1. Το μαθηματικό μοντέλο του Mosey και οι τροποποιήσεις του	109
5.2.2. Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1).....	112
5.3. Το τροποποιημένο μαθηματικό μοντέλο ADM1 για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου.....	118
6. Υλικά και μέθοδοι.....	120
6.1. Εισαγωγή	120
6.2. Αναλυτικές μέθοδοι	120
6.2.1. Μέτρηση pH	120
6.2.2. Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών.....	120
6.2.3. Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου.....	121
6.2.4. Προσδιορισμός υδατανθράκων.....	122
6.2.5. Προσδιορισμός πτητικών λιπαρών οξέων και αλκοολών.....	122
6.2.6. Προσδιορισμός γαλακτικού οξέος.....	123
6.2.7. Μέτρηση παροχής και σύστασης παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο	123
6.3. Υλικά	124
6.4. Πειραματικές διατάξεις.....	127
6.5. Μαθηματικό πακέτο λογισμικού AQUASIM 2.0.....	129
7. Μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων	130
7.1. Εισαγωγή	130
7.2. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων.....	130
7.3. Συνεχής αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων.....	132
7.4. Επίδραση της μερικής πίεσης του υδρογόνου στην αναερόβια παραγωγή του από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων	144
7.4.1. Επίδραση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου	145
7.4.2. Επίδραση της αρχικής μερικής πίεσης του υδρογόνου.....	147
7.5. Περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1.....	149

7.5.1. Προσδιορισμός των κινητικών σταθερών κατανάλωσης διαλυτών υδατανθράκων.....	152
7.5.2. Προσδιορισμός των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής μεταβολικών προϊόντων από σάκχαρα στο μη τροποποιημένο μοντέλο ADM1	156
7.5.3. Προσδιορισμός των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα στο τροποποιημένο μοντέλο ADM1	161
7.5.4. Επαλήθευση του τροποποιημένου μοντέλου ADM1	169
8. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από προεπεξεργασμένο ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων	177
8.1. Εισαγωγή	177
8.2. Φυσικοχημικές μέθοδοι προεπεξεργασίας.....	178
8.2.1. Προεπεξεργασία με αλκαλικό μέσο.....	178
8.2.2. Προεπεξεργασία με αέριο όζον	179
8.2.3. Προεπεξεργασία με ατμό	181
8.2.3.1. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) προεπεξεργασμένο με ατμό	184
8.3. Ενζυμική υδρόλυση	186
8.3.1. Απελευθέρωση σακχάρων κατά την ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4)	186
8.3.2. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων	190
8.3.2.1. Επίδραση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών.....	192
8.3.2.2. Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).....	197
8.3.3. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από την εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR με χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων.....	207
8.3.4. Επίδραση κυτταρινολυτικών ενζύμων στην απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).....	208
9. Μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων	213
9.1. Εισαγωγή	213
9.2. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων	213
9.3. Συνεχής αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων.....	216
9.4. Περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων με εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1	223
9.5. Σύγκριση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από απόβλητα διφασικών και τριφασικών ελαιοτριβείων	231
10. Συμπεράσματα.....	233

Πίνακας Σχημάτων

Σχήμα 1.1. Κοινοτικοί ελαιώνες (1999/2000) [www.eds-destatis.de].....	2
Σχήμα 1.2. Σχηματική απεικόνιση ελαιόκαρπου.....	2
Σχήμα 1.3. Παραγωγή ελαιόλαδου σε διεθνές επίπεδο (2003).....	3
Σχήμα 1.4. Διάγραμμα ροής για παραδοσιακά, διφασικά και τριφασικά ελαιοτριβεία.....	6
Σχήμα 1.5. Οριζόντιος φυγοκεντρικός διαχωριστήρας τριών φάσεων.....	6
Σχήμα 1.6. Διαδικασίες παραλαβής ελαιόλαδου σε αρκετές Ευρωπαϊκές χώρες	8
Σχήμα 2.1. Περιεκτικότητες καυσίμων σε άνθρακα και υδρογόνο.	23
Σχήμα 2.2. (α) Φλόγες από κύλινδρο υδρογόνου που έχει αναφλεγεί και (β) φλόγες από ανάφλεξη βενζίνης.....	29
Σχήμα 2.3. Άμεση βιοφωτόλυση νερού για παραγωγή υδρογόνου.	36
Σχήμα 2.4. Έμμεση βιοφωτόλυση νερού για παραγωγή υδρογόνου.	37
Σχήμα 2.5. Φωτεινή ζύμωση οργανικών οξέων για παραγωγή υδρογόνου.....	40
Σχήμα 2.6. Ο κύκλος του υδρογόνου.....	40
Σχήμα 2.7. Αποθήκευση υδρογόνου σε συστοιχία μονοφλοιϊκών νανοσωλήνων άνθρακα.	43
Σχήμα 2.8. Κύρια μέρη κυψελίδας καυσίμου PEM.....	45
Σχήμα 3.1. Δομή και σύνθεση τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP).	48
Σχήμα 3.2. Δομή συνενζύμων NAD^+ και NADP^+	48
Σχήμα 3.3. Αναερόβια χώνευση.	49
Σχήμα 3.4. Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα από οργανική ύλη.	50
Σχήμα 3.5. Γραφική αναπαράσταση της θερμοδυναμικής εφικτότητας αρκετών αντιδράσεων από τη μερική πίεση του υδρογόνου.....	52
Σχήμα 3.6. Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή υδρογόνου από οργανική ύλη.....	56
Σχήμα 3.7. Δομή αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης.	59
Σχήμα 3.8. Τυπικοί δισακχαρίτες και τα αντίστοιχα μονομερή τους.	59
Σχήμα 3.9. Τα 20 συνήθη αμινοξέα των πρωτεϊνών.	60
Σχήμα 3.10. Μεταβολικό δίκτυο Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ή γλυκόλυση. ...	63
Σχήμα 3.11. Μεταβολικό δίκτυο Entner-Doudoroff (ED).....	63
Σχήμα 3.12. Μεταβολικό δίκτυο φωσφορικών πεντοζών.	64
Σχήμα 3.13. Οξειδωση πυροσταφυλικού οξέος προς (α) ακετύλο-CoA και (β) ακεταλδεΐδη.....	64
Σχήμα 3.14. Παραγωγή γαλακτικού οξέος από γλυκόζη μέσω του ομοζυμωτικού δικτύου (homofermentative pathway).	65

Σχήμα 3.15. Παραγωγή γαλακτικού οξέος από γλυκόζη μέσω του ετεροζυμωτικού δικτύου (heterofermentative pathway).....	66
Σχήμα 3.16. Παραγωγή γαλακτικού οξέος από γλυκόζη μέσω του δικτύου bifidum.	67
Σχήμα 3.17. Βιοχημικό δίκτυο καταβολισμού της γλυκόζης προς αιθανόλη.....	68
Σχήμα 3.18. Βιοχημικό δίκτυο καταβολισμού της γλυκόζης προς βουτυρικό οξύ.	69
Σχήμα 3.19. Βιοχημικό δίκτυο καταβολισμού της γλυκόζης προς οξικό οξύ.	70
Σχήμα 3.20. Παραγωγή υδρογόνου από πυροσταφυλικό οξύ μέσω των ενζυμικών συστημάτων PFL και PFOR.	72
Σχήμα 3.21. Αντιπροσωπευτικά βιοχημικά δίκτυα αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου [Tanisho <i>et al.</i> , 1998].....	72
Σχήμα 3.22. Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs για την οξείδωση του NADH προς NAD ⁺ και H ₂ , ως συνάρτηση της μερικής πίεσης του υδρογόνου.	72
Σχήμα 3.23. Τα σημαντικότερα προϊόντα από τη ζύμωση των σακχάρων.	73
Σχήμα 3.24. Αντίδραση τρανσαμίνωσης.	74
Σχήμα 3.25. Αντίδραση οξειδωτικής απαμίνωσης.	74
Σχήμα 3.26. Συνολική αντίδραση τρανσαμίνωσης ακολουθούμενη από απαμίνωση.	74
Σχήμα 3.27. Αντίδραση φωσφορυλίωσης της γλυκερόλης.	75
Σχήμα 3.28. Μηχανισμός β-οξείδωσης ενός λιπαρού οξέος.	76
Σχήμα 3.29. Μικροβιακή κυψελίδα καυσίμου (MFC) δυο θαλάμων.....	87
Σχήμα 3.30. Παραγωγή υδρογόνου και ηλεκτρικής ενέργειας μέσω του αντιδραστήρα BEAMR.	88
Σχήμα 4.1. Δομή λιγνοκυτταρινούχου υλικού.....	92
Σχήμα 4.2. Μοριακή δομή κυτταρίνης.	93
Σχήμα 4.3. Μονοκλινή (I _β) και τρικλινή (I _α) δομή κυτταρίνης I.....	94
Σχήμα 4.4. Οι τρεις πρόδρομες ενώσεις καθώς και οι τρεις βασικοί δεσμοί που συνθέτουν το μόριο της λιγνίνης.	95
Σχήμα 4.5. (α) Πρότυπο κλειδί-κλειδαριά, (β) Πρότυπο επαγόμενης προσαρμογής (E=ένζυμο, S=υπόστρωμα, ES=σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος).	99
Σχήμα 4.6. Σχηματική παράσταση των μηχανισμών δημιουργίας στρεβλώσεως ή τάσεως στο υπόστρωμα.	99
Σχήμα 4.7. Συνεργιστική δράση ενδο-γλυκανασών τύπου I και II.	101
Σχήμα 4.8. Δομή κυτταρινάσης.	101
Σχήμα 4.9. Προτεινόμενος μηχανισμός ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης.	102
Σχήμα 4.10. Διάγραμμα μεταβολής του αρχικού ρυθμού (v ₀) μιας ενζυμικής αντιδράσεως σε σχέση με τη συγκέντρωση του υποστρώματος.	105
Σχήμα 5.1. Το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής της γλυκόζης προς μεθάνιο, σύμφωνα με το μοντέλο του Mosey (1983).....	110

Σχήμα 5.2. Το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής της γλυκόζης προς μεθάνιο, σύμφωνα με το μοντέλο του Costello (1991).	112
Σχήμα 5.3. Το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων προς μεθάνιο, σύμφωνα με το μοντέλο ADM1.	114
Σχήμα 6.1. Ο αναερόβιος αντιδραστήρας παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR.....	128
Σχήμα 7.1. Η παραγόμενη ποσότητα υδρογόνου τόσο από το διαλυτό όσο και από το αδιάλυτο κλάσμα υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).	132
Σχήμα 7.2. Το προφίλ του pH του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του σε μόνιμη κατάσταση.....	135
Σχήμα 7.3. Η συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων του επεξεργασμένου αποβλήτου κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	135
Σχήμα 7.4. Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου και βιοαερίου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.....	136
Σχήμα 7.5. Παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.....	136
Σχήμα 7.6. Η απόδοση σε υδρογόνο ως συνάρτηση του υδραυλικού χρόνου παραμονής (HRT) και οι αντίστοιχοι ρυθμοί παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).	138
Σχήμα 7.7. Κατανομή των τριών κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων που παράγονται από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου σε μόνιμη κατάσταση.....	139
Σχήμα 7.8. Κατανομή μεταβολικών προϊόντων που παράγονται από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου σε μόνιμη κατάσταση.	140
Σχήμα 7.9. Σύγκριση πειραματικά και θεωρητικά προσδιοριζόμενου COD κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	141
Σχήμα 7.10. Η επίδραση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).....	146
Σχήμα 7.11. Συσχέτιση της απόδοσης σε παραγόμενο υδρογόνο με την τελική μερική πίεσή του, βάσει των συνεχών και ασυνεχών πειραμάτων της παρούσας διατριβής.	147
Σχήμα 7.12. Η επίδραση της αρχικής μερικής πίεσης υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).....	148
Σχήμα 7.13. Κατανάλωση διαλυτών υδατανθράκων αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με και χωρίς προσθήκη αζώτου.	154
Σχήμα 7.14. Παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με και χωρίς προσθήκη αζώτου.	155
Σχήμα 7.15. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα της υπολειμματικής συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).....	156

Σχήμα 7.16. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 τόσο για κοινή όσο και για διαφορετική κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος και βουτυρικού οξέος, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.	159
Σχήμα 7.17. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 τόσο για κοινή όσο και για διαφορετική κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.	161
Σχήμα 7.18. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	163
Σχήμα 7.19. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και αιθανόλης, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	166
Σχήμα 7.20. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) για διαφορετική κατανομή προϊόντων, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.....	168
Σχήμα 7.21. Κατανάλωση υδρογόνου από τον μικροβιακό πληθυσμό της αναερόβιας καλλιέργειας.....	168
Σχήμα 7.22. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 για το pH και τα πειραματικά δεδομένα, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	169
Σχήμα 7.23. Η πρόβλεψη του μοντέλου και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου για την επιβεβαίωση των κινητικών σταθερών $k_{m\_su} = 53.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ και $K_{S\_su} = 0.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$	171
Σχήμα 7.24. Η πρόβλεψη του μοντέλου και τα πειραματικά δεδομένα για την επιβεβαίωση των κινητικών σταθερών $k_{m\_su} = 53.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ και $K_{S\_su} = 0.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$, με διαφορετική αρχική τιμή για την παράμετρο X_{su} (αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $3.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$).....	172
Σχήμα 7.25. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα δεδομένα του πειράματος διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $1.3 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$	173
Σχήμα 7.26. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα δεδομένα του πειράματος διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $2.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$	173
Σχήμα 7.27. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα δεδομένα του πειράματος διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $3.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$	174
Σχήμα 7.28. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για την αιθανόλη και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου.....	174

Σχήμα 7.29. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου.	175
Σχήμα 7.30. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για το γαλακτικό οξύ και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου.....	176
Σχήμα 8.1. Αλκαλική προεπεξεργασία αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).	179
Σχήμα 8.2. Προεπεξεργασία αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με αέριο όζον (15 g O ₃ /m ³).	180
Σχήμα 8.3. Προεπεξεργασία αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό (1 bar, 121°C).	181
Σχήμα 8.4. Επίδραση της προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό (1 bar, 121°C, 60 min) στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.	185
Σχήμα 8.5. Τα κυριότερα πτητικά λιπαρά οξέα που παράγονται στο στάδιο της οξεογένεσης, κατά την αναερόβια επεξεργασία τόσο του προεπεξεργασμένου με ατμό όσο και του μη προεπεξεργασμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).	185
Σχήμα 8.6. Το ποσοστό αύξησης της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) κατά την ενζυμική υδρόλυσή του είτε με μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο με Celluclast 1.5L.	188
Σχήμα 8.7. Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ως συνάρτηση του χρόνου είτε με μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο με Celluclast 1.5L, για 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων.....	189
Σχήμα 8.8. Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) στο αρχικό χρονικό διάστημα της διεργασίας, ως συνάρτηση του χρόνου, με χρήση μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, για 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων.	189
Σχήμα 8.9. Σύγκριση της απόδοσης της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αποστειρωμένο ή μη αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση του κυτταρινολυτικού ενζύμου Celluclast, σε συγκέντρωση 50 FPU/ g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος.....	191
Σχήμα 8.10. Διεργασία ενός σταδίου (50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος): Επίδραση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση είτε μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L. .	195
Σχήμα 8.11. Συσχέτιση της απόδοσης της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 (3/1) με την αναλογία όγκου προστιθέμενων ενζύμων ανά όγκο μαγιάς μικροοργανισμών.....	195
Σχήμα 8.12. Διεργασία ενός σταδίου (50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος): Παραγωγή κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ως συνάρτηση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (α) χωρίς προσθήκη ενζύμων, (β) με	

προσθήκη μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 (3/1), (γ) με προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L.	196
Σχήμα 8.13. Διεργασία ενός σταδίου: Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με αναλογία όγκων S/X=1.	198
Σχήμα 8.14. Διεργασία ενός σταδίου: Παραγωγή κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L για αναλογία όγκων S/X=1.	199
Σχήμα 8.15. Διεργασία ενός σταδίου: Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L που αντιστοιχεί στο σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων, στην απόδοση της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με αναλογία όγκων S/X=1.	200
Σχήμα 8.16. Διεργασία ενός σταδίου: Παραγωγή κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L, που αντιστοιχεί στο σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων, για αναλογία όγκων S/X=1.	201
Σχήμα 8.17. Διεργασία ενός σταδίου: Η προστιθέμενη ποσότητα ενζύμου ανά όγκο μαγιάς μικροοργανισμών, όταν η συγκέντρωση του ενζύμου Celluclast 1.5L υπολογίζεται είτε από τους αδιάλυτους υδατάνθρακες του υποστρώματος είτε από το σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων.	201
Σχήμα 8.18. Διεργασία δυο σταδίων: Το ποσοστό αύξησης της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) κατά την ενζυμική υδρόλυση του με Celluclast 1.5L σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.	203
Σχήμα 8.19. Σύγκριση της απόδοσης σε υδρογόνο μεταξύ της διεργασίας δυο σταδίων και ενός σταδίου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε συγκεντρώσεις του ενζύμου Celluclast 1.5L από 0-100 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και σε αναλογία όγκων S/X=1.	204
Σχήμα 8.20. Κατανάλωση διαλυτών υδατανθράκων και παραγωγή υδρογόνου συναρτήσει του χρόνου σε μια διεργασία ενός σταδίου με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και αναλογία όγκων S/X=1.	206
Σχήμα 8.21. Παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων συναρτήσει του χρόνου σε μια διεργασία ενός σταδίου με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και αναλογία όγκων S/X=1.	206
Σχήμα 8.22. Η απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από την εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR (HPT=14.5 h) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L.	208
Σχήμα 8.23. Η ποσοστιαία περιεκτικότητα του παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο, όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος)	211
Σχήμα 8.24. Ο ρυθμός παραγωγής βιοαερίου και υδρογόνου όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος).	211

Σχήμα 9.1. Κατανομή των κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) που παράγονται από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) στο στάδιο της οξεογένεσης, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR σε μόνιμη κατάσταση.....	221
Σχήμα 9.2. Σύγκριση πειραματικά και θεωρητικά προσδιοριζόμενου COD κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.	221
Σχήμα 9.3. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα της υπολειμματικής συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).	226
Σχήμα 9.4. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και αιθανόλης, θεωρώντας κοινή κατανομή προϊόντων, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).	228
Σχήμα 9.5. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) θεωρώντας κοινή κατανομή μεταβολικών προϊόντων από τη ζύμωση των σακχάρων.....	229
Σχήμα 9.6. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 για το pH και τα πειραματικά δεδομένα, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.	230
Σχήμα 9.7. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, κατά την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).	230

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1.1. Σύσταση ελαιόκαρπου.....	2
Πίνακας 1.2. Ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των διαδικασιών παραγωγής ελαιόλαδου.....	8
Πίνακας 1.3. Χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων.....	10
Πίνακας 1.4. Περιεκτικότητα υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων σε ανόργανα στοιχεία.....	11
Πίνακας 1.5. Χαρακτηριστικά στερεών αποβλήτων ελαιοτριβείων.....	19
Πίνακας 2.1. Πυκνότητες υγρών και αερίων καυσίμων.....	26
Πίνακας 2.2. Ενεργειακό περιεχόμενο καυσίμων ανά μονάδα βάρους (25°C, 1 atm).....	26
Πίνακας 2.3. Ενεργειακή πυκνότητα καυσίμων.....	27
Πίνακας 2.4. Σημείο ανάφλεξης, θερμοκρασία αυτανάφλεξης και όρια ανάφλεξης καυσίμων στον αέρα (σε ατμοσφαιρική θερμοκρασία).....	28
Πίνακας 2.5. Σύγκριση βασικών ιδιοτήτων υδρογόνου με άλλα συμβατικά καύσιμα.....	29
Πίνακας 2.6. Βασικές ιδιότητες ενζύμων νιτρογενάσης και υδρογενάσης.....	35
Πίνακας 2.7. Απαιτούμενη παροχή υδρογόνου για τη λειτουργία κυψελίδων καυσίμου τύπου PEM.....	45
Πίνακας 3.1. Δυναμικά αναγωγής ορισμένων οξειδοαναγωγικών ζευγών.....	47
Πίνακας 3.2. Σημαντικότερες αντιδράσεις κατά την αναερόβια χώνευση της γλυκόζης.....	51
Πίνακας 3.3. Τα κυριότερα υδρολυτικά ένζυμα.....	57
Πίνακας 3.4. Αμινοξέα που λαμβάνουν μέρος σε αντιδράσεις Stickland καθώς και τα προϊόντα που προκύπτουν από την οξείδωση ή την αναγωγή τους.....	75
Πίνακας 5.1. Οι βιοχημικές αντιδράσεις (ρυθμοί και στοιχειομετρικοί συντελεστές) που περιγράφουν το μοντέλο ADM1.....	116
Πίνακας 6.1. Χαρακτηριστικά ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου.....	125
Πίνακας 6.2. Περιεκτικότητα ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου σε ιχνοστοιχεία και βαρέα μέταλλα.....	126
Πίνακας 6.3. Χαρακτηριστικά ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου αραιωμένο 1:4 με νερό βρύσης.....	126
Πίνακας 7.1. Θεωρητική συνεισφορά αδιάλυτων υδατανθράκων στην παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).....	132
Πίνακας 7.2. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	134
Πίνακας 7.3. Τα μεταβολικά προϊόντα κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα τύπου CSTR.....	134

Πίνακας 7.4. Παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα τύπου CSTR σε μόνιμη κατάσταση.....	134
Πίνακας 7.5. Τα χαρακτηριστικά της μόνιμης κατάστασης για $HRT=14.5$ h πριν τη μείωση του HRT και μετά την επαναφορά του στην ίδια τιμή.....	137
Πίνακας 7.6. Επίδραση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην απόδοση παραγωγής υδρογόνου.	143
Πίνακας 7.7. Παραγωγή υδρογόνου και μεταβολικών προϊόντων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) στον αντιδραστήρα τύπου CSTR υπό περιοδική και συνεχή ανάδευση ($HRT=7.5$ h).....	144
Πίνακας 7.8. Ο επιπλέον χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών (t_{res}) στον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) τύπου CSTR.	151
Πίνακας 7.9. Οργανικά συστατικά αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ως δεδομένα εισόδου κατά την εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1.	151
Πίνακας 7.10. Κινητικές σταθερές κατανάλωσης σακχάρων.....	156
Πίνακας 7.11. Αντιδράσεις αναερόβιας ζύμωσης σακχάρων, όπως περιγράφονται στο μαθηματικό μοντέλο ADM1.....	157
Πίνακας 7.12. Στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής μεταβολικών προϊόντων από σάκχαρα, σύμφωνα με τις αντιδράσεις του πίνακα 7.11.	157
Πίνακας 7.13. Οι βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$ θεωρώντας τόσο κοινή όσο και διαφορετική κατανομή των μεταβολικών προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων για τους τρεις υπό μελέτη υδραυλικούς χρόνους παραμονής.....	158
Πίνακας 7.14. Οι βιοχημικές αντιδράσεις (ρυθμοί και συντελεστές) που περιγράφουν την παραγωγή υδρογόνου στο μοντέλο ADM1.....	160
Πίνακας 7.15. Οι τροποποιημένοι συντελεστές που συνδέουν την κατανάλωση των σακχάρων με την παραγωγή μεταβολικών προϊόντων.	162
Πίνακας 7.16. Η τιμή του στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής γαλακτικού οξέος από σάκχαρα κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από σάκχαρα.....	163
Πίνακας 7.17. Οι βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα, λαμβάνοντας υπόψη την παραγωγή αιθανόλης και γαλακτικού οξέος κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).	164
Πίνακας 7.18. Η τιμή του τροποποιημένου στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση.	167
Πίνακας 7.19. Η αρχική συγκέντρωση της βιομάζας, που καταναλώνει σάκχαρα (X_{su}), στα πειράματα διαλείποντος έργου που πραγματοποιήθηκαν για την επαλήθευση του τροποποιημένου μοντέλου ADM1.	170
Πίνακας 8.1. Επίδραση της προεπεξεργασίας με ατμό (1 bar, 121°C για 60 min) στην αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του ελαιοπολτού με διαφορετικό υδατικό περιεχόμενο.	182

Πίνακας 8.2. Επίδραση της προεπεξεργασίας με ατμό (1 bar, 121°C για 60 min) στην περιεκτικότητα σε διαλυτούς υδατάνθρακες της εκροής του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).	183
Πίνακας 8.3. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα κατά την αποκατάσταση των μόνιμων καταστάσεων για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος).	212
Πίνακας 8.4. Τα παραγόμενα μεταβολικά προϊόντα όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος).	212
Πίνακας 9.1. Απόδοση σε υδρογόνο όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιείται απόβλητο OMW αραιωμένο ή μη.	215
Πίνακας 9.2. Τα χαρακτηριστικά του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) για την τροφοδοσία του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου.	218
Πίνακας 9.3. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.....	218
Πίνακας 9.4. Τα μεταβολικά προϊόντα κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα τύπου CSTR.	219
Πίνακας 9.5. Παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα τύπου CSTR σε μόνιμη κατάσταση.....	219
Πίνακας 9.6. Διεργασία ενός σταδίου (50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, S/X=1): Επίδραση της προσθήκης ενζύμου στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).	223
Πίνακας 9.7. Οργανικά συστατικά αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) ως δεδομένα εισόδου για την εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1.	225
Πίνακας 9.8. Ο επιπλέον χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών (tres) στον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).....	225
Πίνακας 9.9. Σύγκριση της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) και αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε αντιδραστήρα τύπου CSTR.	232

Κεφάλαιο

1. Διαχείριση αποβλήτων ελαιοτριβείων

1.1. Εισαγωγή

Η καταγωγή του ελαιόδενδρου χάνεται στα βάθη του χρόνου, στους θρύλους και στις παραδόσεις των λαών γύρω από τη Μεσόγειο. Οι πρώτες καλλιέργειες χρονολογούνται από το 6000 π.Χ. στην περιοχή της Συρίας. Από τον 11ο αιώνα π.Χ. η καλλιέργεια του ελαιόδενδρου είχε διαδοθεί σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου, ενώ εισήχθη στην Ισπανία κατά τη διάρκεια της περιόδου της θαλάσσιας κυριαρχίας των Φοινίκων (1050 π.Χ.). Με την ανακάλυψη της Αμερικής (1492 μ.Χ.), η καλλιέργεια του ελαιόδενδρου διαδόθηκε πέρα από τη Μεσόγειο. Ελαιόδενδρα καλλιεργούνται πλέον στην Καλιφόρνια, στην Αργεντινή, στην Αυστραλία, στη Νότια Αφρική κ.α..

Το ελαιόδενδρο (*Olea europaea* L.) είναι ένα πολύμορφο, αειθαλές, μέσου μεγέθους δένδρο, έχει μικρά, λογχοειδή, πράσινα φύλλα με ομαλές άκρες και έναν μικρό μίσχο και ευδοκιμεί στα μεσογειακά κλίματα με θερμά, ξηρά καλοκαίρια και ήπιους χειμώνες (Σχήμα 1.1). Γενικά, η καλλιέργεια των ελαιόδενδρων απαιτεί χρόνο, καθώς η πρώτη μεγάλη συγκομιδή αναμένεται μετά από 8-10 έτη, με εξαίρεση αρκετές ποικιλίες, των οποίων η συγκομιδή των καρπών αναμένεται μετά από 4-6 έτη.

Ο καρπός του ελαιόδενδρου είναι σαρκώδης δρύπη και αποτελείται από το περικάρπιο και το ενδοκάρπιο (Σχήμα 1.2). Το περικάρπιο αποτελείται από το επικάρπιο (φλούδα) και το μεσοκάρπιο (σάρκα) και αντιστοιχεί στο 70-80% του συνολικού βάρους του καρπού [Bianchi, 2003]. Το ενδοκάρπιο, που περιέχει το ενδοσπέρμιο, αντιστοιχεί στο 18-22% του συνολικού βάρους του καρπού [Bianchi, 2003]. Η μέση χημική σύσταση του ελαιόκαρπου φαίνεται στον πίνακα 1.1 [Improlive, 2000]. Το ελαιόδενδρο ανθίζει την άνοιξη και η ωρίμανση των καρπών

του διαρκεί αρκετούς μήνες, ανάλογα με το γεωγραφικό πλάτος της καλλιεργήσιμης περιοχής, την ποικιλία, την ηλικία του ελαιόδενδρου, τη διαθεσιμότητα του νερού, τη θερμοκρασία, το φως, τη μέθοδο καλλιέργειας και τη χρήση λιπασμάτων. Το βάρος του καρπού αυξάνεται μέχρι τον Οκτώβριο-Νοέμβριο και στη συνέχεια μειώνεται, λόγω μείωσης της υγρασίας του. Η συσσώρευση του ελαίου ξεκινάει στα τέλη Ιουλίου και μεγιστοποιείται στη διάρκεια του φθινοπώρου και του χειμώνα. Το ελαιόδενδρο εναλλάσσει την παραγωγή των καρπών του, με κύρια χαρακτηριστικά τη μακροζωία και τη διατήρηση της παραγωγικότητας του για πολλά χρόνια.

Σχήμα 1.1. Κοινοτικοί ελαιώνες (1999/2000) [www.eds-destatis.de].

Σχήμα 1.2. Σχηματική απεικόνιση ελαιόκαρπου.

Πίνακας 1.1. Σύσταση ελαιόκαρπου.

Συστατικά	Μεσοκάρπιο (%)	Ενδοκάρπιο (%)	Ενδοσπέρμιο (%)
Νερό	50-60	9.3	30
Έλαιο	15-30	0.7	27.3
Αζωτούχες ενώσεις	2-5	3.4	10.2
Σάκχαρα	3-7.5	41	26.6
Κυτταρίνη	3-6	38	1.9
Ανόργανη ύλη	1-2	4.1	1.5
Πολυφαινόλες	2-2.25	0.1	0.5-1
Άλλα συστατικά	-	3.4	24

1.2. Συστήματα εξαγωγής ελαιόλαδου και παραγόμενα απόβλητα

Η παραγωγή ελαιόλαδου αποτελεί σημαντικό γεωργικό και διατροφικό τομέα στην Ευρώπη. Είναι χαρακτηριστικό ότι, περίπου 95% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου παράγεται από μικρές, οικογενειακής μορφής επιχειρήσεις στην περιοχή της Μεσογείου [Aktas *et al.*, 2001]. Εκτιμάται ότι παγκοσμίως υπάρχουν περίπου 25000 ελαιοτριβεία, εκ των οποίων 2200 ελαιοτριβεία βρίσκονται στην Ελλάδα [www.fao.org].

Η Ισπανία κατέχει την πρώτη θέση στην παγκόσμια παραγωγή ελαιόλαδου (42%), ενώ τη δεύτερη θέση κατέχει η Ιταλία (20%). Η Ελλάδα είναι ο τρίτος μεγαλύτερος παραγωγός κατέχοντας το 13% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου. Άλλες χώρες που παράγουν σημαντικά ποσά ελαιόλαδου είναι η Συρία, η Τουρκία, η Τυνησία η Λιβύη, το Μαρόκο, η Αργεντινή, οι ΗΠΑ κ.ά. (Σχήμα 1.3) [www.fao.org].

Σχήμα 1.3. Παραγωγή ελαιόλαδου σε διεθνές επίπεδο (2003).

Η διαδικασία παραγωγής ελαιόλαδου περιλαμβάνει διάφορα στάδια, όπως αποφύλλωση, πλύσιμο και άλεση του ελαιόκαρπου, μάλαξη της ελαιόπαστας και εξαγωγή του ελαιόλαδου από την ελαιόπαστα. Τα στάδια αυτά περιγράφονται συνοπτικά στη συνέχεια.

Αποφύλλωση και πλύσιμο του ελαιόκαρπου

Όταν ο καρπός φτάνει στο ελαιοτριβείο, περιέχει φύλλα και ξένα υλικά (σκόνη, χώμα, πέτρες κ.ά.) που πρέπει να απομακρυνθούν πριν την εξαγωγή του ελαιόλαδου. Αρχικά, λαμβάνει χώρα η αποφύλλωση, η οποία θεωρείται επιβεβλημένη καθώς η παρουσία των φύλλων προσδίδει στο ελαιόλαδο πικρή γεύση (λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε ελευρωπαΐνη, 90 mg/g ξηρού βάρους). Στη

συνέχεια, οι καρποί πλένονται με νερό, προκειμένου να απομακρυνθούν τα ξένα υλικά.

Άλεση του ελαιόκαρπου

Η άλεση του ελαιόκαρπου λαμβάνει χώρα σε σύγχρονους μεταλλικούς σπαστήρες με αντίθετα περιστρεφόμενους δίσκους, οι οποίοι περιστρέφουν τον καρπό με μεγάλη ταχύτητα μέσα σε ένα διάτρητο τύμπανο. Στους παραδοσιακούς πέτρινους ελαιόμυλους, οι καρποί συνθλίβονταν χωρίς υπερβολική μηχανική πίεση και χωρίς τον κίνδυνο υπερθέρμανσης της ελαιόπαστας και επιμόλυνσης της από ίχνη μετάλλων. Τα πλεονεκτήματα των μεταλλικών σπαστήρων είναι η συνεχής λειτουργία, η μεγάλη απόδοση, το μικρό κόστος και μέγεθος, ενώ η γρήγορη φθορά των εξαρτημάτων άλεσης αποτελεί σοβαρό μειονέκτημά τους.

Η άλεση του ελαιόκαρπου στοχεύει στη διάρρηξη των κυττάρων του μεσοκαρπίου, ώστε να διευκολυνθεί η εξαγωγή του ελαίου και να σχηματιστούν μεγαλύτερες σταγόνες, οι οποίες μπορούν να διαχωριστούν ευκολότερα στα επόμενα στάδια επεξεργασίας. Ωστόσο, κατά την άλεση του ελαιόκαρπου οι σταγόνες ελαίου που ελευθερώνονται, σχηματίζουν με τις πρωτεΐνες γαλάκτωμα. Επίσης, απαιτείται προσοχή ώστε η θερμοκρασία της ελαιόπαστας να μην αυξηθεί πάρα πολύ και ο θρυμματισμός του καρπού να μην είναι υπερβολικός, γιατί τότε μπορεί να γίνει αιτία για πικρή γεύση στο ελαιόλαδο.

Μάλαξη της ελαιόπαστας

Μετά την άλεση του ελαιόκαρπου ακολουθεί η μάλαξη της ελαιόπαστας, σε ειδικές ημι-κυλινδρικές ή ημι-σφαιρικές δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα με διπλά τοιχώματα, μέσα στα οποία κυκλοφορεί θερμό νερό (30-35°C) για τη θέρμανση της ελαιόπαστας, διευκολύνοντας την εξαγωγή του ελαιόλαδου. Η ανάμειξη επιτυγχάνεται με περιστρεφόμενο έλικα, ο οποίος φέρει μικρό αριθμό πτερυγίων και περιστρέφεται με αργό ρυθμό. Η θέρμανση σε υψηλότερες θερμοκρασίες (άνω των 35°C) μπορεί να οδηγεί στην εξαγωγή μεγαλύτερης ποσότητας ελαιόλαδου, καθώς μειώνεται το ιξώδες της ελαιόπαστας, έχει όμως δυσμενή επίπτωση στην ποιότητα του (απώλεια πτητικών ουσιών, αύξηση οξύτητας, υποβάθμιση χρώματος). Τέλος, ο χρόνος μάλαξης δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 20-30 min.

Στόχος του σταδίου μάλαξης είναι η διάσπαση του γαλακτώματος, που σχηματίστηκε κατά την άλεση και η συνένωση των μικρών ελαιοσταγονιδίων σε

μεγαλύτερες σταγόνες, ώστε να διευκολυνθεί ο διαχωρισμός τους από τα υπόλοιπα συστατικά της ελαιόπαστας.

Εξαγωγή ελαιόλαδου

Η εξαγωγή του ελαιόλαδου από την ελαιόπαστα μπορεί να λάβει χώρα είτε με πίεση είτε με φυγοκέντριση της ελαιόπαστας. Τα φυγοκεντρικά συστήματα διακρίνονται σε δύο και τριών φάσεων (Σχήμα 1.4) [Vlyssides *et al.*, 1998].

Από τα πανάρχαια χρόνια μέχρι πρόσφατα, η πίεση της ελαιόπαστας υπήρξε ο μοναδικός τρόπος για την εξαγωγή του ελαιόλαδου. Στα παραδοσιακά ελαιοτριβεία η ελαιόπαστα, μετά τη μάλαξη, τοποθετείται σε ελαιοδιαφράγματα όπου συμπιέζεται και τελικά διαχωρίζεται στη χυμώδη φάση (ελαιόλαδο, φυτικά υγρά και στερεά που διαφεύγουν από τα ελαιοδιαφράγματα) και στη στερεή φάση (ελαιοπυρήνας). Η χρήση παλινδρομικού κόσκινου συγκρατεί τα στερεά που βρίσκονται στη χυμώδη φάση, ενώ ο διαχωρισμός του ελαιόλαδου από τα φυτικά υγρά ολοκληρώνεται με τη χρήση κάθετου φυγοκεντρικού ελαιοδιαχωριστήρα. Παρόλο που η παραδοσιακή διαδικασία θεωρείται απαρχαιωμένη, εξακολουθεί να εφαρμόζεται σε αρκετές χώρες, μεταξύ των οποίων είναι και η Ελλάδα (Σχήμα 1.6) [Roig *et al.*, 2006].

Η τριφασική φυγοκεντρική διαδικασία, που αντικατέστησε την παραδοσιακή διαδικασία από τη δεκαετία του 1970, χρησιμοποιείται σήμερα ευρέως για την εξαγωγή του ελαιόλαδου (Σχήμα 1.6) [Roig *et al.*, 2006]. Στα ελαιοτριβεία τριών φάσεων η ελαιόπαστα, αφού αραιωθεί με την απαραίτητη ποσότητα θερμού νερού, οδηγείται σε έναν οριζόντιο φυγοκεντρικό διαχωριστήρα τριών φάσεων (Σχήμα 1.5), όπου λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός της σε τρία κλάσματα: ένα στερεό κλάσμα (περιεκτικότητα σε υγρασία 40-45%), ένα υγρό κλάσμα που αποτελείται κυρίως από το ελαιόλαδο και μέρος των φυτικών υγρών και ένα δεύτερο υγρό κλάσμα που αποτελείται κυρίως από φυτικά υγρά και μέρος ελαιόλαδου. Στη συνέχεια, ο διαχωρισμός του ελαιόλαδου από τα φυτικά υγρά και πιθανότητα από πολύ μικρά τεμαχίδια στερεών λαμβάνει χώρα σε κάθετους φυγοκεντρικούς ελαιοδιαχωριστήρες.

Ένα σημαντικό μειονέκτημα της τριφασικής διαδικασίας παραγωγής ελαιόλαδου είναι η αύξηση των ποσοτήτων των υγρών αποβλήτων που παράγονται, λόγω της αυξημένης κατανάλωσης νερού, συγκριτικά με την παραδοσιακή διαδικασία (1.25-1.75 φορές μεγαλύτερη κατανάλωση νερού) [Vlyssides *et al.*, 2004].

ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΑ

ΔΙΦΑΣΙΚΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΑ

ΤΡΙΦΑΣΙΚΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΑ

Σχήμα 1.4. Διάγραμμα ροής για παραδοσιακά, διφασικά και τριφασικά ελαιοτριβεία.

Σχήμα 1.5. Οριζόντιος φυγοκεντρικός διαχωριστήρας τριών φάσεων.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1990 αρκετές εταιρείες προώθησαν νέους τύπους οριζόντιων φυγοκεντρικών διαχωριστήρων, οι οποίοι μπορούν να διαχωρίσουν την ελαιούχο φάση από την ελαιόπαστα χωρίς την προσθήκη νερού, κατά τη διαδικασία

εξαγωγής του ελαιόλαδου (Σχήμα 1.4). Αυτό το σύστημα εξαγωγής ελαιόλαδου χαρακτηρίστηκε ως ‘οικολογικό’, λόγω της μειωμένης κατανάλωσης νερού και ενέργειας και ως ‘δυο φάσεων’ καθώς παράγονται δυο κλάσματα: ένα στερεό κλάσμα με αυξημένη υγρασία (55-70%) και ένα υγρό κλάσμα (ελαιόλαδο). Ωστόσο, μία μικρή ποσότητα υγρών αποβλήτων παράγεται από το νερό που προστίθεται στο φυγοκεντρικό ελαιοδιαχωριστήρα για το διαχωρισμό του ελαιόλαδου από τα φυτικά υγρά καθώς και από το νερό που χρησιμοποιήθηκε για το πλύσιμο του ελαιόκαρπου. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, στα διφασικά συστήματα οι ποσότητες των υγρών αποβλήτων που παράγονται, έχουν μειωθεί περίπου κατά 75% συγκριτικά με τα τριφασικά συστήματα [Roig *et al.*, 2006].

Στην Ισπανία το νέο διφασικό σύστημα εξαγωγής ελαιόλαδου αντικατέστησε πάρα πολύ γρήγορα το τριφασικό σύστημα. Αυτό όμως δεν συνέβη και στις άλλες ελαιοπαραγωγικές χώρες, πιθανότατα λόγω αδυναμίας διαχείρισης του νέου ημιστερεού αποβλήτου που παράγεται σε τεράστιες ποσότητες. Στην Ευρώπη, εκτός από την Ισπανία, μόνο η Κροατία χρησιμοποιεί σε μεγάλο ποσοστό τα διφασικά συστήματα για την εξαγωγή του ελαιόλαδου (Σχήμα 1.6) [Roig *et al.*, 2006].

Τα διφασικά συστήματα εξαγωγής ελαιόλαδου πλεονεκτούν έναντι των τριφασικών συστημάτων στα εξής σημεία: (α) η ποσότητα του ελαιόλαδου που παράγεται είναι μεγαλύτερη, καθώς δεν προστίθεται νερό για την αραίωση της ελαιόπαστας, οπότε αποφεύγεται ο σχηματισμός γαλακτώματος ελαίου/ύδατος, (β) η ποιότητα του ελαιόλαδου είναι καλύτερη λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης του σε φυσικά αντιοξειδωτικά (πολυφαινόλες), που το καθιστούν σταθερότερο κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του, (γ) η μειωμένη κατανάλωση νερού και η παραγωγή μίας μικρής ποσότητας υγρών αποβλήτων, (δ) το χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας του καθώς και οι μειωμένες απαιτήσεις σε ενέργεια. Το σοβαρότερο μειονέκτημα της διφασικής διαδικασίας είναι ότι ο ελαιοπυρήνας που προκύπτει, έχει αυξημένη υγρασία, υψηλές συγκεντρώσεις σε σάκχαρα και στερεά, οπότε καθίσταται δύσκολος ο χειρισμός, η μεταφορά και η επεξεργασία του. Στον πίνακα 1.2 φαίνονται τα κυριότερα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά για κάθε μια από τις προαναφερθείσες διαδικασίες παραγωγής ελαιόλαδου [Improlive, 2000].

Πίνακας 1.2. Ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των διαδικασιών παραγωγής ελαιόλαδου.

Είσοδος			Έξοδος	
Παραδοσιακά ελαιοτριβεία	Ελαιόκαρπος	1000kg	Ελαιόλαδο	~200kg
	Νερό για πλύσιμο	0.1-0.12m ³	Στερεά απόβλητα	~400kg
	Ενέργεια	40-63kWh	Υγρά απόβλητα	0.4-0.6m ³
Τριών φάσεων ελαιοτριβεία	Ελαιόκαρπος	1000kg	Ελαιόλαδο	~200kg
	Νερό για πλύσιμο	0.1-0.12m ³	Στερεά απόβλητα	500-600kg
	Νερό για φυγοκέντριση	0.5-1m ³	Υγρά απόβλητα	1-1.2m ³
	Ενέργεια	90-117kWh		
Δύο φάσεων ελαιοτριβεία	Ελαιόκαρπος	1000kg	Ελαιόλαδο	~200kg
	Νερό για πλύσιμο	0.1-0.12m ³	Στερεά απόβλητα	800-950kg
	Ενέργεια	<90-117kWh	Υγρά απόβλητα	0.085-0.110m ³

Σχήμα 1.6. Διαδικασίες παραλαβής ελαιόλαδου σε αρκετές Ευρωπαϊκές χώρες

1.2.1. Υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων και μέθοδοι επεξεργασίας τους

Τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων, λόγω της ιδιότυπης χημικής τους σύστασης, θεωρούνται από τα πλέον βεβαρημένα αγροτοβιομηχανικά απόβλητα με δυσμενείς επιπτώσεις για το περιβάλλον. Σύμφωνα με τον Aktas και τους συνεργάτες του (2001), το εποχιακό ρυπαντικό φορτίο των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων,

αν θεωρηθεί ότι, από 1 ton ελαιόκαρπου παράγονται 0.8 ton υγρών αποβλήτων συγκέντρωσης 80 g COD/L, αντιστοιχεί (ως προς το COD) στο ετήσιο ρυπαντικό φορτίο 22 εκατομμυρίων ατόμων.

Τα φυτικά υγρά του ελαιόκαρπου, το νερό που προστίθεται στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του, αδιάλυτα οργανικά τεμαχίδια υπό μορφή αιωρήματος καθώς και γαλακτοποιημένα σταγονίδια ελαίου συνθέτουν τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων. Τα χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων (ποσοτικά και ποιοτικά) ποικίλουν και εξαρτώνται άμεσα από την ποικιλία του ελαιόδενδρου, τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής, το στάδιο ωρίμανσης του ελαιόκαρπου, την εποχή συγκομιδής, το χρόνο παραμονής του ελαιόκαρπου στο ελαιοτριβείο και τη διαδικασία παραλαβής του ελαιόλαδου [Paraskeva & Diamadopoulos, 2006].

Τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων χαρακτηρίζονται από σκούρο χρώμα (κόκκινο προς καφέ-μαύρο) είναι όξινα ($\text{pH}=3-6$), θολά, χαρακτηριστικής οσμής, υψηλού οργανικού ρυπαντικού φορτίου, χαμηλής βιοαποδομησιμότητας (λόγος $\text{COD/BOD}_5=2.5-5$), υψηλής ηλεκτρικής αγωγιμότητας, πλούσια σε οργανικά και ανόργανα συστατικά [Azbar *et al.*, 2004; Borja *et al.*, 2006].

Τα κυριότερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων από παραδοσιακά και τριών φάσεων ελαιοτριβεία φαίνονται στον Πίνακα 1.3 [Vlyssides *et al.*, 2004]. Είναι προφανές ότι, τα υγρά απόβλητα των παραδοσιακών ελαιοτριβείων χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερες τιμές των κυριότερων ποιοτικών παραμέτρων, καθώς δεν λαμβάνει χώρα αραίωση της ελαιόπαστας για την εξαγωγή του ελαιόλαδου. Επίσης, η περιεκτικότητα των αποβλήτων σε άζωτο είναι σχετικά μικρή, ενώ μικρό μόνο ποσοστό του περιεχόμενου αζώτου είναι πρωτεϊνικής φύσεως.

Το πιο σημαντικό μέρος του οργανικού κλάσματος των υγρών αποβλήτων καταλαμβάνουν τα σάκχαρα (μέχρι και 60% επί του συνολικού ξηρού βάρους) με κυριότερα, φρουκτόζη, μαυνόζη, γλυκόζη, σακχαρόζη και μερικές πεντόζες [Borja *et al.*, 2006]. Η περιεκτικότητα του ελαιόκαρπου σε σάκχαρα και φαινολικές ενώσεις μειώνεται κατά την ωρίμανση του, με αποτέλεσμα η συγκέντρωσή τους στα υγρά απόβλητα να ακολουθεί την ίδια πορεία μείωσης.

Οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στα υγρά απόβλητα, στις οποίες οφείλονται κυρίως οι χαρακτηριστικές φυτοτοξικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες τους, μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο ομάδες. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από απλές φαινολικές ενώσεις, ταννίνες (φαινολικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους) και φλαβονοειδή (φαινολικές ενώσεις το πολύ 15 ατόμων άνθρακα). Τα κυριότερα

φλαβονοειδή που έχουν ανιχνευθεί στα υγρά απόβλητα είναι η απεγινίνη, η λουτεολίνη και η κερκετίνη [Servili *et al.*, 1999]. Τα κυριότερα φαινολικά οξέα που έχουν ανιχνευθεί είναι το συριγγικό οξύ, *p*-υδροξύφαινυλοξικό οξύ, βανιλλικό οξύ, βερατρικό οξύ, καφφεϊκό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, κουμαρικό οξύ και κινναμικό οξύ [Balice & Cera, 1984]. Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από πολυφαινόλες, πολυμερείς ενώσεις καστανόμαυρου χρώματος, οι οποίες έχουν προκύψει από τον πολυμερισμό και την αυτοοξειδωση των φαινολικών ενώσεων της πρώτης ομάδας. Το χρώμα των υγρών αποβλήτων εξαρτάται από την αναλογία μεταξύ των φαινολικών ενώσεων των δυο ομάδων [Bořja *et al.*, 2006].

Τα μη φαινολικά οργανικά οξέα (τρυγικό οξύ, οξαλικό οξύ, μηλικό οξύ, γαλακτικό οξύ, φουμαρικό οξύ, κιτρικό οξύ κ.ά.) καθώς και τα λιπαρά οξέα μακριάς αλυσίδας (λινελαϊκό οξύ, ελαϊκό οξύ, λινολενικό οξύ κ.ά.) αποτελούν ένα σημαντικό μέρος του οργανικού κλάσματος των υγρών αποβλήτων, ιδιαίτερα από πλευράς φυτοτοξικότητας και αντιμικροβιακής δράσης.

Πίνακας 1.3. Χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων ελαιотριβείων.

Παράμετροι	Παραδοσιακά ελαιотριβεία	Ελαιотριβεία τριών φάσεων
TS (g/L)	99.70 ± 28.85	63.5 ± 24.4
TSS (g/L)	4.51 ± 3.27	2.8 ± 2.2
TVS (g/L)	87.20 ± 27.57	57.37 ± 21.96
Στάχτη (g/L)	9.69 ± 2.58	6.13 ± 2.44
TOC (g/L)	64.11 ± 10.79	39.82 ± 6.47
Ολικό άζωτο κατά Kjeldahl (g/L)	1.15 ± 0.21	0.76 ± 0.13
Ολικός φωσφόρος ως P ₂ O ₅ (g/L)	0.87 ± 0.14	0.53 ± 0.084
pH	4.50 ± 0.60	4.8 ± 0.8
BOD ₅ (g/L)	68.71 ± 12.64	45.5 ± 8.2
COD (g/L)	158.18 ± 32.63	92.5 ± 17.5
Πυκνότητα (g/cm ³)	1.05 ± 0.06	1.048 ± 0.033
Αγωγιμότητα (mmhos/cm)	18 ± 5	12 ± 4
Ολικά σάκχαρα (g/L)	25.86 ± 8.3	16.06 ± 5.92
Λίπη και έλαια (g/L)	2.80 ± 1.03	1.64 ± 0.64
Πολυαλκοόλες (g/L)	4.75 ± 1.77	3.19 ± 1.22
Γλυκερόλη (g/L)	0.10 ± 0.04	0.062 ± 0.023
Ολικές πρωτεΐνες (g/L)	28.3 ± 9.95	17.91 ± 6.88
Οργανικά οξέα (g/L)	4.88 ± 2.41	3.21 ± 1.23
Φαινολικές ενώσεις (g/L)	17.15 ± 4.55	10.65 ± 4.08
Φαινολικά οξέα (g/L)	0.48 ± 0.18	0.28 ± 0.1
Ταννίνες (g/L)	6.74 ± 2.94	4.01 ± 1.54
Πηκτίνες (g/L)	3.25 ± 1.42	2.15 ± 0.76

Η περιεκτικότητα των υγρών αποβλήτων σε διάφορα κατιόντα και ανιόντα δίνεται στον πίνακα 1.4 [Arienzo & Capasso, 2000]. Η συγκέντρωση του καλίου είναι αισθητά υψηλότερη ακόμα και από το άθροισμα των συγκεντρώσεων όλων των άλλων ανόργανων στοιχείων, ενώ σημαντικές είναι και οι συγκεντρώσεις μαγνησίου, ασβεστίου, φωσφόρου, νατρίου (ανόργανα συστατικά υψηλής θρεπτικής αξίας) καθώς και χλωρίου.

Πίνακας 1.4. Περιεκτικότητα υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων σε ανόργανα στοιχεία.

Κατιόντα	Κατιόντα (g/L)		Ανιόντα	Ανιόντα (g/L)	
	Παραδοσιακά ελαιοτριβεία	Ελαιοτριβεία τριών φάσεων		Παραδοσιακά ελαιοτριβεία	Ελαιοτριβεία τριών φάσεων
K ⁺	17.10 ± 0.31	9.80 ± 0.12	Cl ⁻	1.63 ± 0.06	1.3 ± 0.02
Mg ²⁺	2.72 ± 0.13	1.65 ± 0.11	H ₂ PO ₄ ⁻	1.07 ± 0.06	0.85 ± 0.04
Ca ²⁺	2.24 ± 0.14	1.35 ± 0.10	F ⁻	0.57 ± 0.01	0.53 ± 0.01
Na ⁺	0.40 ± 0.17	0.162 ± 0.08	SO ₄ ⁻	0.53 ± 0.05	0.42 ± 0.02
Fe ²⁺	0.129 ± 0.05	0.033 ± 0.01	NO ₃ ⁻	0.023 ± 0.01	0.011 ± 0.01
Zn ²⁺	0.063 ± 0.001	0.0301 ± 0.001			
Mn ²⁺	0.0147 ± 0.001	0.0091 ± 0.001			
Cu ²⁺	0.0086 ± 0.001	0.0098 ± 0.001			

Κανείς δεν μπορεί να αμφισβητήσει ότι τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων είναι ένα υδατικό φυτικό εκχύλισμα υψηλού οργανικού ρυπαντικού φορτίου, η άκριτη διάθεση του οποίου μπορεί να έχει σοβαρές περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων μπορεί να θεωρηθεί αποδοτική όταν λαμβάνει χώρα μείωση του οργανικού και ανόργανου περιεχομένου καθώς και του όγκου των αποβλήτων, με ταυτόχρονη οικονομική λειτουργία των μονάδων επεξεργασίας. Αρκετές τεχνολογίες έχουν αναπτυχθεί, λόγω της ποικιλομορφίας των συστατικών των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων, για την εξάλειψη ή την ελαχιστοποίηση των δυσμενών επιδράσεων στο περιβάλλον. Η πιο συνηθισμένη πρακτική που εφαρμόζεται για τα απόβλητα αυτά είναι η ανεξέλεγκτη διάθεση τους στο έδαφος, σε ποτάμια, σε θάλασσες κ.α.. Αυτοί οι τρόποι διάθεσης εκτός από τα προφανή σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα, δημιουργούν και προβλήματα στη διαβίωση των κατοίκων των γύρω περιοχών, λόγω των δυσάρεστων οσμών που αναδύονται και των εντόμων που συγκεντρώνονται στις συγκεκριμένες περιοχές.

Πιο συγκεκριμένα, η διάθεση στο έδαφος ανεπεξέργαστων υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων προκαλεί μεταβολή στις φυσικοχημικές του ιδιότητες, όπως αύξηση

της αγωγιμότητας, αύξηση της περιεκτικότητας σε K, Mg, Na, αύξηση του οργανικού άνθρακα και του ολικού αζώτου ενώ το pH παραμένει πρακτικά αμετάβλητο [Paredes *et al.*, 1987]. Επίσης, ασκούν μια επιλεκτική δράση στους μικροοργανισμούς του εδάφους ευνοώντας την ανάπτυξη εκείνων των ειδών ή στελεχών που έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τα συστατικά του. Ο Paredes και οι συνεργάτες του (1987) παρατήρησαν μείωση στον αριθμό των σποριογόνων βακτηρίων, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στον κύκλο της οργανικής ουσίας στη φύση, λόγω της ικανότητας τους να διασπούν σύνθετα οργανικά μόρια. Τέλος, σχετικά με την επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων στα φυτά, λόγω της αυξημένης περιεκτικότητάς τους σε θρεπτικά συστατικά και οργανικά συστατικά αποκτούν υψηλή λιπαντική αξία, ενώ η αυξημένη αλατότητα, ο υψηλός λόγος C/N και η παρουσία συστατικών με φυτοτοξική δράση (πολυφαινόλες, λιπαρά οξέα) έχουν δυσμενή επίπτωση στη βλάστηση των φυτών.

Παρακάτω θα γίνει μια σύντομη αναφορά στις μεθόδους επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων.

Φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας

Απλές φυσικές μέθοδοι, όπως η αραίωση, η ιζηματοποίηση, η επίπλευση, η φυγοκέντριση και η διήθηση, έχουν εφαρμοστεί για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων. Όμως, καμία από αυτές τις μεθόδους, εάν εφαρμοστεί μόνη της, δεν είναι ικανή να μειώσει το οργανικό φορτίο και την τοξικότητα των υγρών αποβλήτων σε επίπεδα επιτρεπτά για την ασφαλή διάθεση τους στο περιβάλλον. Σύμφωνα με την Ισπανική νομοθεσία, τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων θα πρέπει να πληρούν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά για την ασφαλή διάθεση τους στο περιβάλλον και συγκεκριμένα για τη διάθεση τους στο έδαφος: (α) pH=6-9, (β) TSS<600 mg/L, (γ) BOD₅<2000 mg/L, (δ) COD<2500 mg/L, (ε) διάθεση στο έδαφος 30 m³/εκτάριο κάθε 7 ημέρες.

Η αραίωση συνήθως εφαρμόζεται, πριν από τις βιολογικές μεθόδους επεξεργασίας, με στόχο την ελάττωση της τοξικότητας των αποβλήτων. Οι υπόλοιπες μέθοδοι έχουν σαν στόχο τη δημιουργία θρόμβων και στη συνέχεια την απομάκρυνση τους από το υγρό κλάσμα, ώστε να μειωθεί το οργανικό κλάσμα των αποβλήτων. Δυστυχώς, αυτό δεν μπορεί να επιτευχθεί απόλυτα, εξαιτίας της λεπτά κατανεμημένης και μερικώς γαλακτοποιημένης φύσης των σωματιδίων που αιωρούνται. Επίσης, η εφαρμογή τους παρουσιάζει πολλά προβλήματα, λόγω των

μεγάλων ποσοτήτων ιζήματος που παράγονται, το οποίο πρέπει να επεξεργαστεί περαιτέρω για να διατεθεί με ασφάλεια στο περιβάλλον. Για παράδειγμα, μελέτες έδειξαν ότι η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων με φυγοκέντριση οδήγησε σε μείωση του COD μόλις κατά 21% και μείωση του BOD κατά 15% [Al-Malah *et al.*, 2000].

Στην κατηγορία των φυσικών μεθόδων επεξεργασίας ανήκει η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων με μεμβράνες. Η δομή και τα χαρακτηριστικά της μεμβράνης καθορίζουν τη φύση του διαχωρισμού, καθώς η διαπερατότητα εξαρτάται από το μέγεθος των μορίων και των πόρων των μεμβρανών. Ο διαχωρισμός με μεμβράνες διακρίνεται (το μέγεθος των πόρων φθίνει) σε: μικροδιήθηση, υπερδιήθηση, νανοδιήθηση και αντίστροφη ώσμωση. Η τεχνολογία των μεμβρανών χρησιμοποιείται για τη συμπύκνωση, τον καθαρισμό και την κλασματοποίηση υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων και είναι αποτελεσματική για την ανάκτηση και την επαναχρησιμοποίηση υποπροϊόντων αξίας (π.χ. πολυφαινόλες) και νερού, ενώ το συμπύκνωμα μπορεί να αποτεφρωθεί. Ωστόσο, ένα στάδιο προ-φιλτραρίσματος είναι απαραίτητο ώστε να αφαιρεθούν τα μεγάλα αιωρούμενα στερεά σωματίδια, καθώς δημιουργούνται προβλήματα στην ομαλή λειτουργία των μεμβρανών (π.χ. φράξιμο των πόρων).

Σύμφωνα με τον Paraskeva και τους συνεργάτες του (2007), η υπερδιήθηση σε συνδυασμό με τη νανοδιήθηση και/ή την αντίστροφη ώσμωση αποδείχθηκε ως μια ιδιαίτερα αποτελεσματική μέθοδος επεξεργασίας και κλασματοποίησης των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων. Το τελικό υγρό προϊόν θεωρήθηκε κατάλληλο για άρδευση, λόγω της μικρής περιεκτικότητας του σε οργανικά συστατικά, ιόντα και φαινολικές ενώσεις (μείωση περίπου 95%).

Θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας

Η καύση και η πυρόλυση των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων αποτελούν τις πιο διαδεδομένες θερμικές μεθόδους επεξεργασίας. Τα πλεονεκτήματα από την εφαρμογή τους είναι η μείωση του όγκου των αποβλήτων και η ανάκτηση ενέργειας. Ωστόσο, τα μειονεκτήματά τους είναι το υψηλό κόστος καθώς και η πιθανή εκπομπή αέριων τοξικών ρύπων στην ατμόσφαιρα.

Η εξάτμιση και η απόσταξη ανήκουν στις θερμικές μεθόδους επεξεργασίας, οι οποίες συμπυκνώνουν το οργανικό και ανόργανο περιεχόμενο των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων. Η ενέργεια για την εξάτμιση προέρχεται από θερμότητα καύσης ή από

φυσική πηγή (π.χ. ήλιος). Τα στερεά υπολείμματα που προκύπτουν έχουν υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο, οπότε χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Ο Potoglou και οι συνεργάτες του (2004) έδειξαν ότι, η εξάτμιση και η απόσταξη των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων με χρήση ηλιακής ακτινοβολίας οδηγεί σε μείωση του COD κατά περίπου 80%.

Οι λίμνες εξάτμισης είναι απλές εφαρμογές, χαμηλού κόστους, αλλά υπάρχει κίνδυνος ρύπανσης του υπόγειου υδροφόρου ορίζοντα εάν η μόνωση της λεκάνης δεν είναι κατάλληλη ή υπάρξει κάποια διαρροή. Κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η έντονη δυσοσμία που αναδύεται από τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων, η οποία γίνεται αντιληπτή σε μεγάλη απόσταση. Μετά την εξάτμιση των υγρών αποβλήτων, τα στερεά που απομένουν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως λίπασμα αλλά και να επεξεργαστούν περαιτέρω με κομποστοποίηση [Paredes *et al.*, 2002].

Φυσικοχημικές μέθοδοι επεξεργασίας

Η κροκίδωση, η προσρόφηση, η οξείδωση, οι προηγμένες τεχνικές οξείδωσης, η υγρή οξείδωση, η οξείδωση Fenton και η ηλεκτροχημική οξείδωση αποτελούν τις βασικότερες φυσικοχημικές μεθόδους που εφαρμόζονται για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων.

Η κροκίδωση αφορά στη χημική αποσταθεροποίηση κολλοειδών σωματιδίων εξαιτίας της προσθήκης κατάλληλων ηλεκτρολυτών, οι οποίοι μειώνουν το φορτίο των σωματιδίων, με αποτέλεσμα να μειώνονται οι ηλεκτροστατικές απωστικές δυνάμεις και τα κολλοειδή σωματίδια να σχηματίζουν μεγαλύτερα συσσωματώματα, τα οποία καθιζάνουν. Συχνά η προσθήκη ενός κροκιδωτικού μέσου για να προάγει τη συσσωμάτωση είναι απαραίτητη (π.χ. FeCl_3 , AlCl_3 , FeSO_4 , Ca(OH)_2). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων με 6 g AlCl_3/L οδηγεί σε μείωση του COD κατά 94% και των φαινολικών ενώσεων κατά 91% [Sarika *et al.*, 2005].

Η προσρόφηση αφορά στη φυσική σύνδεση των διαλυμένων ουσιών των υγρών αποβλήτων στην επιφάνεια πορωδών στερεών. Συνήθως, ως παράγοντας προσρόφησης χρησιμοποιείται ενεργός άνθρακας. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η προσρόφηση σε ενεργό άνθρακα, αφού έχει προηγηθεί κροκίδωση, οδήγησε σε μείωση του COD των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων κατά 30% [Kestioglou *et al.*, 2005].

Η οξείδωση μπορεί να οδηγήσει όχι μόνο στη διάσπαση τοξικών ουσιών που περιέχονται στα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων αλλά και στη σχεδόν πλήρη ανοργανοποίηση τους. Το όζον, ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσο, αντιδρά με ενώσεις που περιέχουν αρωματικούς δακτυλίους και διπλούς δεσμούς. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η μικρή μείωση του COD (18-20%) που παρατηρήθηκε μετά από 2 h οζονισμού υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων αρχικής συγκέντρωσης 10 g COD/L, ίσως οφείλεται στη διάσπαση των μεγάλων οργανικών ενώσεων σε μικρότερες, ενώ παρατηρήθηκε αποχρωματισμός και σχεδόν ολοκληρωτική απομάκρυνση των φαινολικών ενώσεων [Benitez *et al.*, 1999].

Οι προηγμένες τεχνικές οξείδωσης περιλαμβάνουν τη δημιουργία και τη δράση ριζών υδροξυλίου, οι οποίες δημιουργούνται από μια πηγή οξυγόνου και μια πηγή ενέργειας, είναι ασταθείς αλλά ιδιαίτερα δραστικές. Η πηγή μοριακού οξυγόνου είναι συνήθως το όζον (O_3) ή το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), ενώ η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) ή η ηλιακή ακτινοβολία είναι η πηγή ενέργειας. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η επεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων με O_3/UV και H_2O_2/UV στις βέλτιστες τιμές του pH (7 και 2, αντίστοιχα) οδήγησε σε μείωση του COD και των φαινολικών ενώσεων κατά 99%, για 5 h οζονισμού με 535 mg O_3/L και 750-1000 mg H_2O_2/L [Aktas *et al.*, 2001].

Η διεργασία της οξείδωσης στην οποία χρησιμοποιείται οξυγόνο σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης είναι γνωστή ως υγρή οξείδωση. Η υγρή οξείδωση με ή χωρίς τη χρήση καταλύτη μπορεί να προάγει την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων ή να οδηγήσει στη σχεδόν πλήρη ανοργανοποίηση τους. Υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων αραιωμένα 1:10 με αστικά απόβλητα σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης (180°C, 7MPa) υφίστανται μείωση του COD κατά 30% και μείωση των φαινολικών ενώσεων κατά 80% [Rivas *et al.*, 2001].

Η οξείδωση Fenton, η οποία συνδυάζει χημική οξείδωση και συσσωμάτωση με χρήση H_2O_2 και προσθήκη $FeSO_4$, αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη τεχνολογία. Παράμετροι όπως η συγκέντρωση των ιόντων δισθενούς ή τρισθενούς σιδήρου, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου, το pH και ο χρόνος αντίδρασης έχουν πρωταρχική σημασία για τη διεργασία. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, πλήρη απομάκρυνση φαινολικών ενώσεων και μείωση του COD κατά 40-60% παρατηρήθηκε όταν υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων επεξεργαστήκαν με 2-3 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O/L$ και 3 ml H_2O_2 (60% w/w) για 2 h περίπου [Vlyssides *et al.*, 2003 & 2004b].

Η ηλεκτροχημική οξείδωση των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων (Ti/Ta/Pt/Ir ως ηλεκτρόδιο ανόδου) οδηγεί στη σχεδόν πλήρη απομάκρυνση των φαινολικών ενώσεων, χωρίς όμως να επιτυγχάνεται υψηλή απομάκρυνση του COD. Ωστόσο, η ηλεκτροχημική οξείδωση υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων, με ηλεκτρόδιο ανόδου Ti/Ta/Pt/Ir και βέλτιστη αλατότητα 3 % κ.ο. NaCl, οδήγησε σε μείωση του COD κατά 71% ύστερα από 8 h αντίδρασης [Giannes *et al.*, 2003].

Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

Οι βιολογικές διεργασίες για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων θεωρούνται φιλικές προς το περιβάλλον, αξιόπιστες και σε αρκετές περιπτώσεις οικονομικά βιώσιμες λύσεις. Ωστόσο, οι βιολογικές μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή στην επιλογή και στον εγκλιματισμό των μικροοργανισμών, λόγω της αντιμικροβιακής δράσης που παρουσιάζουν τα συγκεκριμένα απόβλητα έναντι ορισμένων μικροβιακών ειδών. Στην συνέχεια, θα γίνει μια σύντομη αναφορά στις βιολογικές μεθόδους που έχουν εφαρμοστεί για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων.

Η υψηλή περιεκτικότητα των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων σε ανόργανα άλατα αλλά κυρίως σε αφομοιώσιμες πηγές άνθρακα τα καθιστούν πρόσφορο υπόστρωμα για την ανάπτυξη ποικίλων αερόβιων μικροοργανισμών, όπως οι μύκητες *Pleurotus Ostreatus*, *Basilus Pumilus* και οι ζύμες *Yarrowia lipolytica* κ.ά. Η απομάκρυνση του οργανικού φορτίου λαμβάνει χώρα μέσω οξειδωτικών μικροβιακών διεργασιών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η αερόβια επεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου οδήγησε σε μείωση του COD κατά 58-68% για απόβλητα με 65-98 g COD/L και μείωση του COD κατά 81-84% για απόβλητα με 22 g COD/L, ενώ και στις δυο περιπτώσεις παρατηρήθηκε μείωση των φαινολικών ενώσεων κατά 90% [Benitez *et al.*, 1997b & 1999].

Η αναερόβια χώνευση είναι μια πολύπλοκη βιοχημική διεργασία, κατά την οποία το οργανικό υλικό αποδομείται κυρίως προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, ενώ είναι δυνατή τόσο η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου όσο και η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου [Eroglu *et al.*, 2004]. Η αραίωση του αποβλήτου, η προσθήκη θρεπτικών συστατικών και η ρύθμιση της αλκαλικότητας θεωρούνται ως αναγκαίες δράσεις για την ομαλή λειτουργία ενός αναερόβιου

αντιδραστήρα. Αρκετοί ερευνητές έχουν μελετήσει την επίδραση της αραίωσης των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων όχι μόνο με νερό αλλά και με άλλα υγρά απόβλητα (όπως απόβλητα από χοιροστάσια, κοπριά, οικιακά υγρά απόβλητα, υγρά απόβλητα από σφαγεία κ.ά.) στην αναερόβια χώνευση [Marques *et al.*, 1998; Angelidaki & Ahning, 1997]. Το επιπρόσθετο υγρό ρεύμα αποβλήτων εξασφαλίζει τα επιθυμητά επίπεδα pH και αλκαλικότητας και σε αρκετές περιπτώσεις τα θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για την αναερόβια χώνευση. Σε πολλές περιπτώσεις, έχειδειχθεί ότι, η αναερόβια συγχώνευση υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων με άλλα υγρά απόβλητα είναι πιο οικονομική και αποτελεσματική από την αναερόβια επεξεργασία κάθε ρεύματος ξεχωριστά. Ωστόσο, πολλές φορές είναι απαραίτητη η προεπεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων ώστε να μειωθεί το υψηλό οργανικό φορτίο και το κλάσμα των ενώσεων (όπως πολυφαινόλες και λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας) που δρουν παρεμποδιστικά για τους αναερόβιους μικροοργανισμούς.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι μέθοδοι που έχουν εφαρμοστεί για την προεπεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων είναι η προσθήκη αλάτων ασβεστίου, η διήθηση, η φυγοκέντριση, η ιζηματοποίηση, ο οζονισμός και η αερόβια βιολογική προεπεξεργασία. Ο Filidei και οι συνεργάτες του (2003) μελέτησαν την επίδραση της προσθήκης CaCO_3 στην απομάκρυνση του οργανικού υλικού από υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων. Έδειξαν ότι με διήθηση του προεπεξεργασμένου αποβλήτου απομακρύνεται περίπου το 60% του οργανικού υλικού, ενώ η αναερόβια χώνευση που ακολουθεί οδηγεί σε επιπλέον μείωση κατά 89%. Ο Benitez και οι συνεργάτες του (1997a) έδειξαν ότι, κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων προεπεξεργασμένα με αέριο όζον αυξήθηκε σημαντικά το ποσοστό απομάκρυνσης του COD και η απόδοση σε μεθάνιο. Σύμφωνα με τον Borja και τους συνεργάτες του (1995), η αερόβια επεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων με τους μικροοργανισμούς *Geotrichum candidum*, *Azotobacter chroococum* και *Aspergillus terreus* οδήγησε σε μείωση του COD κατά 63.3, 74.5, 74% αντίστοιχα και μείωση των φαινολικών ενώσεων κατά 65.6, 90, 94.3% αντίστοιχα, ενώ η μετέπειτα αναερόβια χώνευση του προεπεξεργασμένου αποβλήτου οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε μεθάνιο.

Τα πλεονεκτήματα της αναερόβιας χώνευσης είναι οι ελάχιστες απαιτήσεις σε ενέργεια, η μικρή απόδοση σε μικροβιακή μάζα και η συνεχής έκλυση αερίου μίγματος, το οποίο είναι ενεργειακά αξιοποιήσιμο. Ωστόσο, τα μειονεκτήματα είναι

το υψηλό κόστος εγκατάστασης της μονάδας, ο μεγάλος χρόνος παραμονής του αποβλήτου στον αντιδραστήρα (με τελικά προϊόντα μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα), η πρόκληση δυσάρεστων και ανεπιθύμητων οσμών, η ανάγκη για προεπεξεργασία του αποβλήτου και τέλος η ανάγκη για επιπλέον επεξεργασία του τελικού υγρού προϊόντος.

Κομποστοποίηση είναι η ελεγχόμενη αερόβια βιολογική επεξεργασία στερεών αποβλήτων μέσω ενός θερμόφιλου σταδίου, κατά το οποίο εκλύεται θερμότητα λόγω των εξώθερμων αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα. Με την ολοκλήρωση της θερμόφιλης φάσης και της φάσης ωρίμανσης προκύπτει ένα σταθεροποιημένο οργανοχουμικό προϊόν, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό. Τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέσο ρύθμισης της υγρασίας (αντί του νερού) κατά την διάρκεια κομποστοποίησης διαφόρων στερεών οργανικών υπολειμμάτων [Paredes *et al.*, 2003].

Τέλος, τα υγρά απόβλητα των ελαιοτριβείων περιέχουν πολύτιμα συστατικά, όπως φαινολικές και αντιοξειδωτικές ενώσεις, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτες ύλες στη βιομηχανία παραγωγής φαρμάκων και καλλυντικών. Οι πιο σημαντικές και με μεγάλη εμπορική αξία αντιοξειδωτικές ενώσεις είναι η υδροξυ-τυροσόλη, η τυροσόλη και η ελευρωπαΐνη.

1.2.2. Στερεά απόβλητα ελαιοτριβείων και μέθοδοι επεξεργασίας τους

Στερεά απόβλητα παράγονται τόσο κατά την παραδοσιακή όσο και κατά την τριφασική και τη διφασική διαδικασία παραγωγής ελαιόλαδου (Σχήμα 1.4). Τα χαρακτηριστικά των στερεών αποβλήτων των ελαιοτριβείων φαίνονται στον πίνακα 1.5 [Vlyssides & Iaconidou, 2003].

Συνήθως, το στερεό απόβλητο από τα ελαιοτριβεία τριών φάσεων, μετά από ξήρανση, μπορεί να επεξεργαστεί με οργανικούς διαλύτες για την εξαγωγή δευτερογενούς ελαιόλαδου. Ωστόσο, η επεξεργασία του ημι-στερεού υπολείμματος των ελαιοτριβείων δυο φάσεων με παρόμοιο τρόπο καθίσταται σχεδόν αδύνατη, καθώς το υλικό παρουσιάζει την τάση να κολλά στην εσωτερική επιφάνεια του κλίβανου, εμποδίζοντας τη ροή του αερίου ρεύματος και αυξάνοντας τον κίνδυνο έκρηξης [Arjona *et al.*, 1999]. Επιπλέον, λόγω της αυξημένης υγρασίας του ημι-στερεού αποβλήτου απαιτούνται τεράστια ποσά ενέργειας για την ξήρανση του, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά το κόστος επεξεργασίας του, ενώ οι υψηλές

θερμοκρασίες πιθανότατα μεταβάλλουν τη σύσταση του υλικού υποβαθμίζοντας την ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου. Ως εκ τούτου, τον Ιούλιο του 2001, βενζοπυρένια, γνωστές καρκινογόνες ουσίες, ανιχνεύθηκαν σε δευτερογενή ελαιόλαδα (από το ημι-στερεό υπόλειμμα των ελαιοτριβείων δυο φάσεων). Αυτό το γεγονός προκάλεσε μεγάλη ανησυχία στην Ισπανία οπότε το Υπουργείο Υγείας αποφάσισε να αποσύρει προσωρινά από την αγορά το ελαιόλαδο αυτού του τύπου. Τελικά, μια νέα νομοθεσία, η οποία θέσπιζε ως μέγιστη επιτρεπτή συγκέντρωση βενζοπυρενίων τα 5 $\mu\text{g/kg}$ ελαιόλαδου, τέθηκε σε ισχύ με αποτέλεσμα την επανακυκλοφορία του δευτερογενούς ελαιόλαδου στην αγορά [BOE, 2001].

Μετά την εξαγωγή του δευτερογενούς ελαιόλαδου, το στερεό απόβλητο που απομένει, χρησιμοποιείται για την παραγωγή θερμικής ή ηλεκτρικής ενέργειας μέσω της καύσης. Αυτή η μέθοδος επεξεργασίας εφαρμόζεται σε πάρα πολλά ελαιοτριβεία, λόγω της υψηλής θερμογόνου δύναμης του στερεού αποβλήτου (400 kcal/kg), παρόλο που το συνολικό ενεργειακό κέρδος είναι χαμηλό, αφού ένα μέρος της παραγόμενης ενέργειας από την καύση χρησιμοποιείται για τη ξήρανση του στερεού αποβλήτου [Azbar *et al.*, 2004; Roig *et al.*, 2006].

Πίνακας 1.5. Χαρακτηριστικά στερεών αποβλήτων ελαιοτριβείων.

Παράμετροι	Παραδοσιακά ελαιοτριβεία	Ελαιοτριβεία τριών φάσεων	Ελαιοτριβεία δύο φάσεων
Υγρασία (%)	27.2 $\pm$ 1.05	50.23 $\pm$ 1.94	56.80 $\pm$ 2.19
Λίπη και έλαια (%)	8.72 $\pm$ 3.25	3.89 $\pm$ 1.45	4.65 $\pm$ 1.74
Πρωτεΐνες (%)	4.77 $\pm$ 0.02	3.43 $\pm$ 0.02	2.87 $\pm$ 0.01
Ολικά σάκχαρα (%)	1.38 $\pm$ 0.02	0.99 $\pm$ 0.01	0.83 $\pm$ 0.01
Κυτταρίνη (%)	24.1 $\pm$ 0.28	17.37 $\pm$ 0.20	14.54 $\pm$ 0.17
Ημικυτταρίνη (%)	11.0 $\pm$ 0.61	7.92 $\pm$ 0.44	6.63 $\pm$ 0.37
Τέφρα (%)	2.36 $\pm$ 0.15	1.70 $\pm$ 0.11	1.42 $\pm$ 0.09
Λιγνίνη (%)	14.1 $\pm$ 0.29	10.21 $\pm$ 0.21	8.54 $\pm$ 0.18
Ολικό άζωτο κατά Kjeldahl (%)	0.71 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.01
Ολικός φωσφόρος ως P ₂ O ₅ (%)	0.07 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01
Φαινολικές ενώσεις (%)	1.14 $\pm$ 0.06	0.33 $\pm$ 0.04	2.43 $\pm$ 0.15
K ως K ₂ O (%)	0.54 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.03	0.32 $\pm$ 0.03
Ca ως CaO (%)	0.61 $\pm$ 0.06	0.44 $\pm$ 0.04	0.37 $\pm$ 0.04
Ολικός άνθρακας (%)	429 $\pm$ 3.42	29.03 $\pm$ 2.32	25.37 $\pm$ 2.03
C/N	60.7 $\pm$ 5.35	57.17 $\pm$ 5.03	59.68 $\pm$ 5.25
C/P	588.7 $\pm$ 51.25	552.9 $\pm$ 48.20	577.2 $\pm$ 50.31

Πλέον, το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει επικεντρωθεί στην επεξεργασία των στερεών αποβλήτων από τα ελαιοτριβεία δυο φάσεων, καθώς πρόκειται για απόβλητο που παράγεται σε τεράστιες ποσότητες με υψηλό ρυπαντικό φορτίο (Πίνακας 1.5). Για παράδειγμα, στην Ισπανία, όπου σχεδόν το 90% των ελαιοτριβείων είναι δύο φάσεων, παράγονται κάθε χρόνο περίπου 4000000 ton στερεών αποβλήτων [IOOC, 2004].

Στη συνέχεια, θα γίνει μια σύντομη αναφορά στις μεθόδους επεξεργασίας των στερεών αποβλήτων των ελαιοτριβείων δυο φάσεων.

Το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων, ενώ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό σε παρακείμενα χωράφια, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε Κ και της χαμηλής φυτοτοξικότητας του, δίνοντας λύση στο πρόβλημα της μεταφοράς και επεξεργασίας του, διαταράσσει τον κύκλο του αζώτου στο έδαφος λόγω του υψηλού λόγου C/N [Thompson & Nogales, 1999]. Η λύση δόθηκε από τον Ordonez και τους συνεργάτες του (1999), οι οποίοι πρότειναν την προσθήκη λιπασμάτων πλούσιων σε άζωτο, παράλληλα με την χρήση του ημι-στερεού υπολείμματος των διφασικών ελαιοτριβείων.

Οι Tekin και Dalgic (2000) μελέτησαν την αναερόβια χώνευση των στερεών αποβλήτων των τριφασικών ελαιοτριβείων με στόχο την παραγωγή βιοαερίου (75-80% μεθάνιο), ενώ ο Borja και οι συνεργάτες του (2003) μελέτησαν την αναερόβια χώνευση του ημι-στερεού υπολείμματος των διφασικών ελαιοτριβείων τονίζοντας την παρεμποδιστική δράση της υψηλής συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Επίσης, καθίσταται πλέον δυνατή η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων [Gavala *et al.*, 2005; Koutrouli *et al.*, 2006].

Αρκετοί ερευνητές έχουν μελετήσει την ταυτόχρονη κομποστοποίηση των στερεών αποβλήτων διφασικών ελαιοτριβείων με άλλα αγροτοβιομηχανικά απόβλητα. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε υγρασία θεωρείται απαραίτητη η προσθήκη, πριν την κομποστοποίηση, διάφορων μέσων που στοχεύουν στη ρύθμιση της υγρασίας, όπως άχυρο, βαμβάκι, πριονίδι κ.ά. [Madejon *et al.*, 1998; Cegarra *et al.*, 2000; Filippi *et al.*, 2002]. Το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων προστίθεται μόνο μια φορά στην αρχή της διεργασίας, σε αντίθεση με τα υγρά απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων που προστίθενται συχνά στη διάρκεια της θερμόφιλης φάσης. Το τελικό προϊόν της κομποστοποίησης, είναι ένα εξαιρετικά σταθεροποιημένο οργανοχουμικό προϊόν, το οποίο διακρίνεται για τη μη φυτοτοξική του δράση και την υψηλή περιεκτικότητά του σε θρεπτικά συστατικά.

Ωστόσο, η κομποστοποίηση των στερεών αποβλήτων των διφασικών ελαιοτριβείων καθίσταται δύσκολη λόγω της δημιουργίας επιλεκτικών διόδων διέλευσης του αέρα, γεγονός που καθιστά πιθανή την κατά τόπους ξήρανση του υλικού.

Το ημι-στερεό υπόλειμμα από τα διφασικά ελαιοτριβεία έχει προταθεί από αρκετούς ερευνητές ως ένα φθηνό υπόστρωμα για την παραγωγή πολύτιμων προϊόντων. Για παράδειγμα, έχει προταθεί η εκχύλιση πηκτινών που μέχρι πρόσφατα παράγονταν από το ξηρό υπόλοιπο των μήλων και από τη φλούδα διάφορων εσπεριδοειδών [Cardoso *et al.*, 2003]. Επίσης, φαινολικές ενώσεις με αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιυπερτασικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (όπως υδροξυ-τυροσόλη, τυροσόλη, ελευρωπαΐνη, καφεϊκό οξύ) μπορούν να εκχυλιστούν από το ημι-στερεό υπόλειμμα των ελαιοτριβείων δυο φάσεων [Fernandez-Bolanos *et al.*, 2002; Boucid *et al.*, 2005]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν αρκετές προσπάθειες αξιοποίησης του συγκεκριμένου αποβλήτου, όπως η χρήση του ως προσροφητικό υλικό βαρέων μετάλλων για την επεξεργασία υδατικών διαλυμάτων, λόγω του μεγάλου αριθμού πιθανών ενεργών θέσεων προσρόφησης [Pagnanelli *et al.*, 2002; Martinez-Garcia, *et al.*, 2006] καθώς και η εφαρμογή του στο έδαφος για τη ρόφηση φυτοφαρμάκων και εντομοκτόνων, ώστε να αποφευχθεί ο κίνδυνος ρύπανσης του υπόγειου υδροφόρου ορίζοντα [Albarrañ *et al.*, 2004; Cox *et al.*, 2004].

Επίσης, στην κατηγορία των στερεών αποβλήτων, που παράγονται κατά την παραγωγή του ελαιόλαδου, ανήκουν τα φύλλα και τα κλαδιά που προκύπτουν στο στάδιο της αποφύλλωσης. Τα στερεά αυτά απόβλητα δεν προκαλούν ιδιαίτερα προβλήματα, καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφές και ως καύσιμες πρώτες ύλες για την παραγωγή ενέργειας. Ιδιαίτερα, τα φύλλα του ελαιόδενδρου είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές ενώσεις με διουρητικές και αντιυπερτασικές ιδιότητες.

Κεφάλαιο

2. Το υδρογόνο ως φορέας ενέργειας

2.1. Εισαγωγή

Κατά τα πρώιμα στάδια της ανθρώπινης δραστηριότητας η κάλυψη των ενεργειακών αναγκών γινόταν αποκλειστικά με εκμετάλλευση της βιομάζας (ύλη με βιολογική (οργανική) προέλευση). Στα τέλη του 18ου αιώνα με την ανακάλυψη της ατμομηχανής δημιουργήθηκε η ανάγκη εύρεσης ενέργειας υπό τη μορφή γαιάνθρακα. Η χρήση του γαιάνθρακα συνοδεύτηκε μεταγενέστερα με την εκμετάλλευση των αποθεμάτων σε πετρέλαιο και σε φυσικό αέριο, όλα καύσιμα μεγάλης περιεκτικότητας σε άνθρακα. Οι συνεχώς αυξανόμενες ενεργειακές απαιτήσεις, λόγω της παγκόσμιας αύξησης του πληθυσμού και των τεχνολογικών επιτευγμάτων, επιταχύνουν τους ρυθμούς εξάντλησης των ορυκτών καυσίμων. Επιπλέον, κατά την καύση τους παράγονται τοξικά αέρια και αέρια που συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου και την όξινη βροχή (όπως CO₂, CO, οξείδια του αζώτου κ.ά.).

Στα πλαίσια της συμφωνίας του Κυότο (1997), βιομηχανικά ανεπτυγμένα κράτη δεσμεύτηκαν να μειώσουν τις εκπομπές των αερίων του θερμοκηπίου κατά 5% μέχρι το 2010, σε σύγκριση με τα επίπεδα του 1990. Η λύση θα δοθεί από την αξιοποίηση των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας. Η βιομάζα αποτελεί μια ανεξάντλητη και φιλική προς το περιβάλλον πηγή ενέργειας, η οποία είναι δυνατόν να συμβάλει σε σημαντικό βαθμό στην ενεργειακή επάρκεια, αντικαθιστώντας τα συνεχώς εξαντλούμενα αποθέματα των ορυκτών καυσίμων (πετρέλαιο, φυσικό αέριο κ.ά.).

Ιστορικά παρατηρείται μια πορεία από καύσιμα υψηλής περιεκτικότητας σε άνθρακα σε καύσιμα υψηλότερης περιεκτικότητας σε υδρογόνο, καθώς επίσης από στερεά σε υγρά και στη συνέχεια σε αέρια καύσιμα (Σχήμα 2.1). Βασιζόμενοι στα προαναφερθέντα, το αέριο υδρογόνο, που μπορεί να παραχθεί μετά από κατάλληλη

επεξεργασία της βιομάζας και ιδιαίτερα των αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων, δύναται να αποτελέσει ένα μελλοντικό φορέα ενέργειας, απαλλαγμένο από ενώσεις του άνθρακα.

Σχήμα 2.1. Περιεκτικότητες καυσίμων σε άνθρακα και υδρογόνο.

2.2. Ιστορικά στοιχεία

Το υδρογόνο ανακαλύφθηκε από τον Άγγλο χημικό Henry Cavendish (1766) και αρχικά χαρακτηρίστηκε ως ‘εύφλεκτος αέρας’. Το όνομα του στοιχείου δόθηκε από το Γάλλο χημικό Antoine Lavoisier (1788) και ετυμολογικά προέρχεται από τις λέξεις της αρχαίας ελληνικής γλώσσας ‘ύδωρ’ και ‘γεννώ’.

Η πρώτη πρακτική χρήση του υδρογόνου ήταν για την ανύψωση αερόστατων από το Γάλλο φυσικό Jacques Alexander Cesar Charles (1783). Το 1923 ο Σκοτσέζος ερευνητής Haldane J.B.S. αναφέρει σε δημοσίευσή του ότι, το υδρογόνο θα είναι το καύσιμο του μέλλοντος, καθώς ανεμόμυλοι θα παράγουν ηλεκτρική ενέργεια και θα διασπούν το νερό ηλεκτρολυτικά σε υδρογόνο και οξυγόνο.

Σημαντική έρευνα (1920-1930) για τη χρήση του υδρογόνου στις μεταφορές έκανε ο Γερμανός μηχανικός Rudolf Erren, ο οποίος μετέτρεψε πλήθος κινητήρων ώστε να χρησιμοποιούν υδρογόνο, με εφαρμογές σε αυτοκίνητα, φορτηγά ή τρένα. Το 1937, ύστερα από δέκα επιτυχείς υπερατλαντικές πτήσεις από τη Γερμανία στις ΗΠΑ, το αεροσκάφος Hindenburg εφοδιασμένο με αέριο υδρογόνο εξερράγη, καθώς προσγειωνόταν στο New Jersey. Πρόσφατες έρευνες (1997) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, η φωτιά δεν προκλήθηκε από το υδρογόνο αλλά από το συνδυασμό του στατικού ηλεκτρισμού (λόγω κακοκαιρίας) και των εύφλεκτων υλικών κατασκευής του. Το 1959, ο μηχανικός Francis T. Bacon κατασκεύασε ένα σύστημα κυψελίδων καυσίμων υδρογόνου, με το οποίο παρήγαγε ηλεκτρική ισχύ 5 kW. Την

ίδια χρονιά, ο Harry Karl Ihrig κατασκεύασε το πρώτο τροφοδοτούμενο όχημα από κυψελίδες καυσίμων υδρογόνου, ιπποδύναμης 20 hp.

Στις ημέρες μας, η Εθνική Υπηρεσία Αεροναυτικής και Διαστήματος (NASA) είναι ο μεγαλύτερος παγκόσμιος χρήστης υγρού υδρογόνου. Το υδρογόνο χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία σε μεγάλο ποσοστό για την παρασκευή αμμωνίας, μεθανόλης, βενζίνης κ.ά.. Επιπλέον πολλές βιομηχανίες παγκοσμίως παράγουν υδρογόνο, όπως επίσης και οχήματα εξοπλισμένα με κυψελίδες καυσίμων που τροφοδοτούνται με υδρογόνο. Η επιστημονική έρευνα και τα σχετικά με το υδρογόνο τεχνολογικά επιτεύγματα εγγυώνται ένα ελπιδοφόρο μέλλον.

Προκειμένου να μελετηθεί το υδρογόνο ως καύσιμο, πρέπει να υπάρχει καλή γνώση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του. Παρακάτω, αναφέρονται συνοπτικά μερικές από τις βασικές ιδιότητες του.

2.3. Φυσικές και χημικές ιδιότητες υδρογόνου

Το υδρογόνο είναι το πιο απλό στοιχείο και κατέχει την πρώτη θέση στον περιοδικό πίνακα. Κάθε άτομο υδρογόνου αποτελείται από ένα πρωτόνιο και ένα ηλεκτρόνιο. Ωστόσο υπάρχουν και δύο άλλες, σπανιότερα απαντώμενες μορφές του, γνωστές ως ισότοπα. Το ισότοπο δευτέριο αποτελείται από ένα πρωτόνιο, ένα νετρόνιο και ένα ηλεκτρόνιο και χρησιμοποιείται σε πλήθος επιστημονικών εφαρμογών, ενώ το ραδιενεργό ισότοπο τρίτιο αποτελείται από ένα πρωτόνιο, δύο νετρόνια και ένα ηλεκτρόνιο. Το υδρογόνο ως μόριο είναι διατομικό και διακρίνεται σε όρθο-υδρογόνο (όταν τα δυο πρωτόνια έχουν την ίδια ιδιοστροφορμή) και σε πάρα-υδρογόνο (όταν τα δυο πρωτόνια έχουν διαφορετική ιδιοστροφορμή). Σε θερμοκρασία δωματίου, πάνω από το 75% του υδρογόνου, είναι όρθο-υδρογόνο.

Η καλύτερη κατανόηση των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων του υδρογόνου ως καύσιμο, επιβάλλει τη σύγκρισή του με άλλα συμβατικά καύσιμα που χρησιμοποιούνται κατά κόρο στον τεχνολογικό πολιτισμό μας. Όλα τα καύσιμα υδρογονανθράκων είναι μοριακοί συνδυασμοί ατόμων άνθρακα και υδρογόνου. Το μεθάνιο, ο απλούστερος όλων των υδρογονανθράκων, είναι το κύριο συστατικό του φυσικού αερίου. Άλλα συστατικά του φυσικού αερίου είναι οι υδρογονάνθρακες αιθάνιο, προπάνιο, βουτάνιο, πεντάνιο καθώς επίσης και κάποιες προσμίξεις. Η βενζίνη είναι ένα μίγμα διαφόρων υδρογονανθράκων, με κύριο συστατικό το επτάνιο. Οι ελαφρύτεροι υδρογονάνθρακες (αριθμός ατόμων $C \leq 5$) είναι αέρια σε

ατμοσφαιρικές συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας, ενώ αντίθετα, οι βαρύτεροι υδρογονάνθρακες (αριθμός ατόμων C από 5 έως 18) είναι υγρά, με το ιξώδες τους να αυξάνεται με το μοριακό βάρος. Άλλα γνωστά καύσιμα είναι οι αλκοόλες μεθανόλη και αιθανόλη.

Φυσικές ιδιότητες του υδρογόνου

Με εξαίρεση το ήλιο, το υδρογόνο έχει το χαμηλότερο σημείο βρασμού (20 K ή -253°C) και πήξεως (14 K ή -259°C). Γενικά, ένα αέριο μπορεί να μετατραπεί σε υγρό και στη συνέχεια σε στερεό με συνεχή μείωση της θερμοκρασίας του. Ωστόσο, αύξηση της πίεσής έχει ως αποτέλεσμα ένα αέριο να υγροποιηθεί ή/και να στερεοποιηθεί σε θερμοκρασία υψηλότερη από αυτήν που απαιτείται. Ειδικότερα, το υδρογόνο σε ατμοσφαιρική πίεση και σε θερμοκρασίες χαμηλότερες του σημείου βρασμού του είναι υγρό, σε θερμοκρασίες χαμηλότερες του σημείου πήξεώς του είναι στερεό, ενώ σε θερμοκρασία δωματίου είναι αέριο.

Το σημείο βρασμού ενός αερίου καυσίμου είναι μια κρίσιμη παράμετρος, αφού καθορίζει τη θερμοκρασία στην οποία πρέπει να ψυχθεί, προκειμένου να αποθηκευτεί και να χρησιμοποιηθεί ως υγρό. Σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, καύσιμα που είναι αέρια, δύσκολα μπορούν να αποθηκευτούν και να μεταφερθούν, δεδομένου ότι πρέπει να αποθηκευτούν σε υψηλής πίεσης φιάλες αερίου ή ως υγρά σε κρυογενικές δεξαμενές (θερμοκρασίες κάτω από 200 K).

Το υδρογόνο έχει το μικρότερο ατομικό βάρος και συνεπώς πολύ μικρή πυκνότητα τόσο ως αέριο όσο και ως υγρό (Πίνακας 2.1). Αέρια ή υγρά με σχετική πυκνότητα μεγαλύτερη ή μικρότερη από 1 είναι βαρύτερα ή ελαφρύτερα του αέρα ή του νερού, αντίστοιχα. Για τον προσδιορισμό της σχετικής πυκνότητας των αερίων ως ουσία αναφοράς θεωρείται ο αέρας με πυκνότητα 1.203 kg/m^3 , ενώ για τον προσδιορισμό της σχετικής πυκνότητας των υγρών θεωρείται το νερό με πυκνότητα 1000 kg/m^3 . Επομένως, το αέριο υδρογόνο είναι ελαφρύτερο του αέρα (με σχετική πυκνότητα 0.0696) και το υγρό υδρογόνο είναι ελαφρύτερο του νερού (με σχετική πυκνότητα 0.0708).

Το υδρογόνο δεν γίνεται άμεσα αντιληπτό, καθώς είναι άοσμο, άχρωμο και άγευστο. Είναι μη τοξικό αλλά μπορεί να δράσει ως ασφυξιογόνο σε κλειστούς χώρους εκτοπίζοντας το οξυγόνο του αέρα. Αυτό δεν μπορεί να συμβεί σε ανοιχτούς χώρους, ακόμα και όταν οι διαρροές υδρογόνου είναι μεγάλες, λόγω της μεγάλης

άνωσης και της εξαιρετικά γρήγορης διάχυσης του στον αέρα (συντελεστής διαχυτότητας υδρογόνου στον ατμοσφαιρικό αέρα: $0.61 \text{ cm}^2/\text{s}$).

Πίνακας 2.1. Πυκνότητες υγρών και αερίων καυσίμων.

	Πυκνότητα αερίου (20°C , 1 atm)	Πυκνότητα υγρού (κανονικό σημείο βρασμού, 1 atm)
Υδρογόνο	0.08376 kg/m^3	70.8 kg/m^3
Μεθάνιο	0.65 kg/m^3	422.8 kg/m^3
Βενζίνη	4.4 kg/m^3	700 kg/m^3

Χημικές ιδιότητες του υδρογόνου

Κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα όλων των καυσίμων είναι η ικανότητα τους να αντιδρούν, παράγοντας ενέργεια, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ωφέλιμου έργου. Πιο συγκεκριμένα, κάθε καύσιμο μπορεί να απελευθερώσει ένα ποσό ενέργειας κατά την πλήρη καύση του. Το ενεργειακό περιεχόμενο του καυσίμου χαρακτηρίζεται από δυο τιμές, την υψηλή (Higher Heating Value, HHV) και τη χαμηλή (Lower Heating Value, LHV) θερμαντική αξία του. Η υψηλή θερμαντική αξία του καυσίμου (HHV) αναφέρεται στην ολική ενέργεια που απελευθερώνεται κατά την καύση του καυσίμου, ενώ η χαμηλή θερμαντική αξία του καυσίμου (LHV) προκύπτει αφαιρώντας από την ολική ενέργεια την ενέργεια συμπύκνωσης, καθώς τα παραγόμενα αέρια μπορούν να συμπυκνωθούν. Επομένως, η διαφορά μεταξύ των HHV και LHV είναι η θερμότητα εξάτμισης και εκφράζει το ποσό ενέργειας που απαιτείται για τη μετατροπή ενός υγρού καυσίμου σε αέριο καύσιμο.

Όπως φαίνεται στον πίνακα 2.2, το υδρογόνο έχει το υψηλότερο ενεργειακό περιεχόμενο ανά μονάδα βάρους συγκριτικά με τα άλλα καύσιμα, το οποίο είναι περίπου 2.5 φορές υψηλότερο από το ποσό ενέργειας που απελευθερώνεται κατά την καύση των κοινών υδρογονανθράκων (βενζίνη, πετρέλαιο, μεθάνιο, προπάνιο, κ.λ.π.).

Πίνακας 2.2. Ενεργειακό περιεχόμενο καυσίμων ανά μονάδα βάρους (25°C , 1 atm).

	HHV (kJ/g)	LHV (kJ/g)
Υδρογόνο	141.86	119.93
Μεθάνιο	55.53	50.02
Προπάνιο	50.36	45.6
Βενζίνη	47.5	44.5
Πετρέλαιο	44.8	42.5
Μεθανόλη	19.96	18.05

Η ενεργειακή πυκνότητα εκφράζει το ποσό ενέργειας ανά μονάδα όγκου, που απελευθερώνεται κατά την καύση ενός καυσίμου και προκύπτει από το γινόμενο του LHV (kJ/g) με την πυκνότητα του καυσίμου (kg/m³). Όπως φαίνεται στον πίνακα 2.3, το υδρογόνο έχει χαμηλή ενεργειακή πυκνότητα, ενώ υδρογονάνθρακες αυξημένης πολυπλοκότητας (με όλο και περισσότερα άτομα υδρογόνου ανά μόριο) έχουν αυξημένη ενεργειακή πυκνότητα.

Πίνακας 2.3. Ενεργειακή πυκνότητα καυσίμων.

	Ενεργειακή πυκνότητα (kJ/m³)
Υδρογόνο	10,050 (αέριο, 1atm, 15°C) 1,825,000 (αέριο, 204 atm, 15°C) 4,500,000 (αέριο, 680 atm, 15°C) 8,491,000 (υγρό)
Μεθάνιο	32,560 (αέριο, 1atm, 15°C) 6,860,300 (αέριο, 204 atm, 15°C) 20,920,400 (υγρό)
Προπάνιο	86,670 (αέριο, 1atm, 15°C) 23,488,800 (υγρό)
Βενζίνη	31,150,000 (υγρό)
Πετρέλαιο	31,435,800 (υγρό)
Μεθανόλη	15,800,100 (υγρό)

Ως σημείο ανάφλεξης ενός καυσίμου (flash point) ορίζεται η θερμοκρασία πάνω από την οποία παράγονται ατμοί, ικανοί να σχηματίσουν στην επιφάνεια του καυσίμου ένα μίγμα αναφλέξιμο με τον αέρα. Το σημείο ανάφλεξης είναι πάντα μικρότερο από το σημείο βρασμού. Για καύσιμα που είναι αέρια στις ατμοσφαιρικές συνθήκες (υδρογόνο, μεθάνιο κ.ά.) το σημείο ανάφλεξης είναι πολύ μικρότερο από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος και δεν έχει πρακτική σημασία, καθώς τα καύσιμα είναι ήδη στην αέρια φάση. Αντίθετα, για καύσιμα που είναι υγρά (βενζίνη, μεθανόλη κ.ά.) το σημείο ανάφλεξης προσδιορίζει τη θερμοκρασία του χαμηλότερου ορίου ανάφλεξης. Ως χαμηλότερο όριο ανάφλεξης ενός αερίου (Lower Flammability Limit, LFL) ορίζεται η μικρότερη συγκέντρωση του αερίου που θα μπορέσει να συντηρήσει την καύση του όταν αναμειχθεί με τον αέρα, ενώ ως υψηλότερο όριο ανάφλεξης

(Upper Flammability Limit, UFL) ορίζεται η μεγαλύτερη συγκέντρωση του αερίου που θα μπορέσει να συντηρήσει την καύση του όταν αναμειχθεί με τον αέρα. Κάτω από το LFL δεν υπάρχουν αρκετά καύσιμα για να συντηρήσουν την καύση, ενώ πάνω από το UFL δεν υπάρχει αρκετό οξυγόνο για να συντηρήσει την καύση. Μεταξύ αυτών των δύο ορίων είναι η εύφλεκτη περιοχή, στην οποία το αέριο καύσιμο και ο αέρας έχουν τις σωστές αναλογίες για να καούν όταν αναφλεγούν. Ωστόσο, τα όρια ανάφλεξης δεν πρέπει να συγχέονται με τα εκρηκτικά όρια. Το υδρογόνο σε ατμοσφαιρική πίεση είναι εύφλεκτο για ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων του στον αέρα (4-75% κ.ο.) και εκρηκτικό για συγκεντρώσεις του στον αέρα από 15-59% κ.ο.

Η θερμοκρασία αυτανάφλεξης (autoignition temperature) είναι η ελάχιστη θερμοκρασία που απαιτείται για να αρχίσει η καύση ενός μίγματος καυσίμου απουσία πηγής ανάφλεξης (π.χ. σπινθήρες, φλόγες). Με άλλα λόγια, το καύσιμο θερμαίνεται μέχρι να ξεσπάσει φλόγα. Κάθε καύσιμο έχει μια μοναδική θερμοκρασία αυτανάφλεξης. Για το υδρογόνο, η θερμοκρασία αυτανάφλεξης είναι σχετικά υψηλή (858 K), με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η ανάφλεξη ενός μίγματος υδρογόνου/αέρα χωρίς κάποια πρόσθετη πηγή ανάφλεξης.

Η ενέργεια ανάφλεξης (ignition energy) είναι το ποσό της εξωτερικής ενέργειας που απαιτείται, προκειμένου να αναφλεγεί ένα μίγμα καυσίμου. Η ενέργεια που παρέχεται από τις εξωτερικές πηγές ανάφλεξης (π.χ. σπινθήρες, φλόγες) θα πρέπει να θερμάνει το καύσιμο σε τέτοιο βαθμό που η θερμοκρασία του να είναι υψηλότερη από τη θερμοκρασία ανάφλεξης του. Η ενέργεια που απαιτείται για την ανάφλεξη του υδρογόνου είναι πάρα πολύ μικρή (0.02 mJ), γεγονός που το καθιστά ένα εύκολα αναφλέξιμο καύσιμο.

Πίνακας 2.4. Σημείο ανάφλεξης, θερμοκρασία αυτανάφλεξης και όρια ανάφλεξης καυσίμων στον αέρα (σε ατμοσφαιρική θερμοκρασία).

	Σημείο ανάφλεξης (K)	Θερμοκρασία αυτανάφλεξης (K)	Όρια ανάφλεξης στον αέρα (% κ.ο., 25°C)
Υδρογόνο	<20	858	4-75
Μεθάνιο	85	813	5.3-15
Προπάνιο	169	763	2.2-9.6
Βενζίνη	~230	503-753	1-7.6
Μεθανόλη	284	658	6-36.5

Τέλος, οι φλόγες υδρογόνου, με χρώμα ανοικτό μπλε, είναι σχεδόν αόρατες στο φως της ημέρας, λόγω της απουσίας αιθάλης. Συνεπώς, είναι δύσκολο να εντοπιστεί η φλόγα του, δύναται όμως να προστεθούν ορισμένα χημικά (π.χ. θείο), ώστε να γίνεται αντιληπτή η παρουσία της. Επίσης, η χαμηλή εκπεμπτικότητα της φλόγας του υδρογόνου, αποτρέπει τον κίνδυνο να αναφλεγούν παρακείμενα αντικείμενα. Η μεγάλη ταχύτητα με την οποία η φλόγα του υδρογόνου ταξιδεύει μέσω του μίγματος της καύσης (2.65-3.25 m/s) έχει ως συνέπεια οι πυρκαγιές που προκαλούνται από το υδρογόνο να έχουν μικρή διάρκεια, σε αντίθεση με τις πυρκαγιές μεθανίου, βενζίνης κ.ά.. Επίσης, οι πυρκαγιές υδρογόνου είναι κάθετες και ιδιαίτερα περιορισμένες λόγω της άνωσης και της μεγάλης διαχυτότητας του. Για παράδειγμα, όταν ένας κύλινδρος υδρογόνου αυτοκινήτου αναφλεγεί η πυρκαγιά καίει μακριά από το αυτοκίνητο σε αντίθεση με την πυρκαγιά που προκαλείται από βενζίνη (Σχήμα 2.2).

Σχήμα 2.2. (α) Φλόγες από κύλινδρο υδρογόνου που έχει αναφλεγεί και (β) φλόγες από ανάφλεξη βενζίνης.

Στον πίνακα 2.5 συγκρίνονται οι βασικές ιδιότητες του υδρογόνου ως καύσιμο με τα πιο κοινά συμβατικά καύσιμα.

Πίνακας 2.5. Σύγκριση βασικών ιδιοτήτων υδρογόνου με άλλα συμβατικά καύσιμα.

	Υδρογόνο	Φυσικό αέριο	Βενζίνη
Θερμοκρασία αυτανάφλεξης (K)	858	813	503-753
Όρια ανάφλεξης στον αέρα (% κ.ο.)	4-75	5.3-15	1-7.6
Όρια έκρηξης στον αέρα (% κ.ο.)	15-59	1.1-3.3	5.7-14
Ενέργεια ανάφλεξης στον αέρα (mJ)	0.02	0.29	0.2
Ταχύτητα φλόγας στον αέρα (cm/s)	265-325	40	40
Συντελεστής διάχυσης στον αέρα (cm ² /s στους 25°C, 1 atm)	0.61	0.16	0.05
Εκπομπές C (kg C/kg καυσίμου)	0	0.46	0.86

2.4. Διεργασίες παραγωγής υδρογόνου

Η τεχνολογία του υδρογόνου μπορεί να συμβάλει στη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου και στη βελτίωση της ποιότητας του ατμοσφαιρικού αέρα, φαινόμενα που έχουν προκληθεί από τη γενικευμένη και αλόγιστη χρήση των συμβατικών καυσίμων, καθώς κατά την αντίδραση του με οξυγόνο παράγεται θερμότητα με μοναδικά υποπροϊόντα υδρατμούς και καθαρό νερό.

Αξίζει να σημειωθεί ότι, το υδρογόνο είναι ένας δευτερογενής ενεργειακός φορέας αφού για την παραγωγή του απαιτείται ενέργεια. Ως εκ τούτου, για να εκτιμηθεί η περιβαλλοντική διάσταση του υδρογόνου, πρέπει να ληφθεί υπόψη ο πλήρης κύκλος παραγωγής και χρήσης του. Ποικίλες τεχνολογίες παραγωγής υδρογόνου έχουν αναπτυχθεί, οι περισσότερες, όμως από τις οποίες, έχουν ως αποτέλεσμα την εκπομπή θερμοκηπιακών αερίων (π.χ. CO₂).

Σύμφωνα με τους Das και Veziroglu (2001), υδρογόνο μπορεί να παραχθεί κυρίως από ορυκτά καύσιμα, βιομάζα και νερό. Οι διεργασίες παραγωγής υδρογόνου διακρίνονται σε θερμοχημικές, ηλεκτροχημικές και βιολογικές. Οι θερμοχημικές και οι ηλεκτροχημικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου απαιτούν ενέργεια και δεν είναι πάντα φιλικές προς το περιβάλλον. Αντίθετα, οι βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου, οι οποίες λαμβάνουν χώρα συνήθως σε θερμοκρασία και πίεση περιβάλλοντος, απαιτούν λιγότερη ενέργεια. Αυτές οι διεργασίες είναι όχι μόνο φιλικές προς το περιβάλλον, αλλά βασίζονται στη δυνατότητα χρήσης ως πρώτων υλών ανανεώσιμους και ανεξάντλητους ενεργειακούς πόρους (π.χ. βιομάζα, απόβλητα κ.ά.).

2.4.1. Παραγωγή υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα

Περίπου 95% από το υδρογόνο που παράγεται σήμερα, προέρχεται από ορυκτά καύσιμα. Οι μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για την παραγωγή υδρογόνου από τα ορυκτά καύσιμα είναι οι ακόλουθες.

- **Παραγωγή υδρογόνου από φυσικό αέριο**

Αναμόρφωση με ατμό του φυσικού αερίου

Το κύριο μέρος της αναμόρφωσης με ατμό του φυσικού αερίου περιλαμβάνει την ενδόθερμη μετατροπή του μεθανίου σε υδρογόνο και μονοξείδιο του άνθρακα (εξίσωση 2.1). Η απαιτούμενη ενέργεια για την αντίδραση παρέχεται από την καύση

κλάσματος της τροφοδοσίας του φυσικού αερίου (έως 25%). Ο αντιδραστήρας λειτουργεί σε περιοχές πίεσης 3-25 bar και θερμοκρασίας 700-850°C, με το μεθάνιο και τον ατμό να αντιδρούν στους πόρους του καταλύτη. Ωστόσο, το μονοξείδιο του άνθρακα που παράγεται μπορεί να μετατραπεί περαιτέρω σε διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο, μέσω της αντίδρασης water-gas shift σε θερμοκρασίες μικρότερες των 600°C (εξίσωση 2.2).

Μερική οξείδωση του φυσικού αερίου

Κατά τη μερική οξείδωση του φυσικού αερίου λαμβάνει χώρα η μερική καύση του μεθανίου, η οποία οδηγεί σε μίγμα υδρογόνου και μονοξειδίου του άνθρακα (εξίσωση 2.4). Όπως προαναφέρθηκε, το παραγόμενο μονοξείδιο του άνθρακα μετατρέπεται σε υδρογόνο μέσω της αντίδρασης water-gas shift (εξίσωση 2.2).

Θερμική αναμόρφωση του φυσικού αερίου

Η θερμική αναμόρφωση του φυσικού αερίου συνδυάζει την αναμόρφωση με ατμό και τη μερική οξείδωση του φυσικού αερίου, με τη συνολική αντίδραση να είναι εξώθερμη. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε περιοχές θερμοκρασίας 950-1100°C και πίεσης μέχρι 100 bar. Και στην περίπτωση αυτή, το μονοξείδιο του άνθρακα που παράγεται, μετατρέπεται σε υδρογόνο μέσω της αντίδρασης water-gas shift (εξίσωση 2.2).

• Παραγωγή υδρογόνου από υδρογονάνθρακες (C_nH_m , $5 < n < 18$)

Οι μέθοδοι παραγωγής υδρογόνου από τους υδρογονάνθρακες είναι ίδιες με τις μεθόδους παραγωγής από το φυσικό αέριο.

• Παραγωγή υδρογόνου από γαιάνθρακα

Το υδρογόνο μπορεί να παραχθεί από το γαιάνθρακα μέσω της διεργασίας της αεριοποίησης (εξίσωση 2.10). Οι υψηλές θερμοκρασίες της διεργασίας μεγιστοποιούν τη μετατροπή του γαιάνθρακα σε αέριο υδρογόνο, αποφεύγοντας το σχηματισμό σημαντικών ποσοτήτων τέφρας, πίσσας κ.ά.. Μια χαρακτηριστική αντίδραση δίνεται από την εξίσωση 2.9, όπου ο γαιάνθρακας μετατρέπεται σε μονοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο και στη συνέχεια το παραγόμενο μονοξείδιο του άνθρακα μετατρέπεται σε υδρογόνο μέσω της αντίδρασης water-gas shift (εξίσωση 2.2).

Η ταχεία εξάντληση των ορυκτών καυσίμων, εξαιτίας της αύξησης της κατά κεφαλή παγκόσμιας κατανάλωσης ενέργειας, δεν καθιστά εφικτή και βιώσιμη την παραγωγή υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα. Επιπλέον, οι σημαντικές ποσότητες του διοξειδίου του άνθρακα που παράγεται, σχεδόν από όλες τις διεργασίες παραγωγής υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα, αποτελεί τελικά την περιβαλλοντική αδυναμία αυτών των μεθόδων. Επομένως, η ανάπτυξη μιας βιώσιμης διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από ορυκτά καύσιμα με μηδενικές εκπομπές ρύπων απαιτεί την αποτελεσματική δέσμευση και αποθήκευση του παραγόμενου διοξειδίου του άνθρακα (decarbonisation).

2.4.2. Παραγωγή υδρογόνου από νερό

Σύμφωνα με τον Ιούλιο Βερν, το νερό είναι η καύσιμη ύλη του μέλλοντος γιατί το υδρογόνο και το οξυγόνο, από τα οποία συντίθεται, αν χρησιμοποιηθούν ξεχωριστά μπορούν να προσφέρουν μια ανεξάντλητη πηγή θερμότητας και φωτός [Το Νησί του Μυστηρίου, 1874]. Το υδρογόνο μπορεί να παραχθεί από τη διάσπαση του νερού μέσω διάφορων διεργασιών, οι οποίες περιγράφονται συνοπτικά στη συνέχεια.

- **Ηλεκτρόλυση του νερού**

Η ηλεκτρόλυση του νερού είναι μια διεργασία κατά την οποία το νερό διασπάται σε υδρογόνο και οξυγόνο με την παροχή ηλεκτρικού ρεύματος (εξίσωση 2.13). Κατά την ηλεκτρόλυση, στην άνοδο το νερό οξειδώνεται προς οξυγόνο και ιόντα υδρογόνου, ενώ στην κάθοδο τα ιόντα υδρογόνου ανάγονται προς υδρογόνο. Οι αντιδράσεις αυτές περιγράφονται από τις ακόλουθες εξισώσεις:

Το βασικό πλεονέκτημα αυτής της διεργασίας είναι η παραγωγή υδρογόνου υψηλής καθαρότητας. Ωστόσο, αποτελεί ακριβή μέθοδο εξαιτίας του κόστους παραγωγής του ηλεκτρικού ρεύματος που απαιτείται, το οποίο μπορεί να μειωθεί σημαντικά όταν παράγεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας (ηλιακή ενέργεια, αιολική ενέργεια κ.ά.). Σήμερα, ένα μικρό μόνο ποσοστό υδρογόνου παράγεται κατά αυτόν τον τρόπο σε εφαρμογές κυρίως όπου χρειάζεται μικρός όγκος καθαρού υδρογόνου.

- **Φωτοηλεκτρόλυση (φωτόλυση) του νερού**

Η φωτοηλεκτρόλυση του νερού αποτελεί μια διεργασία όπου το νερό διασπάται σε υδρογόνο και οξυγόνο μέσω του φωτός. Πιο συγκεκριμένα, φωτοβολταϊκά συστήματα συνδεδεμένα σε σειρά με το ηλεκτρολυτικό στοιχείο παράγουν αρκετή τάση για το διαχωρισμό του νερού στα συστατικά του στοιχεία

- **Θερμόλυση (θερμική διάσπαση) του νερού**

Κατά τη θερμόλυση του νερού λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός του προς μοριακό υδρογόνο και οξυγόνο σε υψηλές θερμοκρασίες (περίπου 3000°C), όπου μόλις 10% του νερού διασπάται ενώ το υπόλοιπο 90% ανακυκλώνεται. Αρκετές διεργασίες έχουν αναπτυχθεί για τη θερμική διάσπαση του νερού, οι οποίες στοχεύουν στη μείωση της απαιτούμενης θερμοκρασίας υλοποίησής τους και ως εκ τούτου στη μείωση του λειτουργικού κόστους των διεργασιών αυτών. Μια τέτοια διεργασία είναι η θερμοχημική διάσπαση του νερού, μέσω θερμικά καταλυόμενων χημικών αντιδράσεων (εξισώσεις 2.14, 2.15, 2.16 και 2.17).

• Βιοφωτόλυση του νερού

Όπως όλες οι βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου, έτσι και η βιοφωτόλυση του νερού ελέγχεται από ένζυμα παραγωγής υδρογόνου, γνωστά ως υδρογενάσες και νιτρογενάσες [Hallenbeck & Benemann, 2002].

Πιο συγκεκριμένα, οι νιτρογενάσες είναι πρωτεϊνικά συστήματα δυο συστατικών (MoFe-πρωτεΐνη και Fe-πρωτεΐνη) και χρησιμοποιούν MgATP και ηλεκτρόνια (που προέρχονται από την ανηγμένη φερρεδοξίνη) ($2\text{ATP}/\text{e}^-$) για να ανάγουν διάφορα υποστρώματα. Οι νιτρογενάσες, απουσία αζώτου, ανάγουν τα πρωτόνια προς μοριακό υδρογόνο σύμφωνα με την αντίδραση [Ni *et al.*, 2006]:

Οι υδρογενάσες διακρίνονται σε υδρογενάσες λήψης και αμφίδρομες υδρογενάσες [Ni *et al.*, 2006]. Οι υδρογενάσες λήψης δρουν ως καταλύτης στην αντίδραση κατανάλωσης υδρογόνου:

Οι αμφίδρομες υδρογενάσες έχουν τη δυνατότητα να καταλύουν την αντίδραση παραγωγής καθώς και την αντίδραση κατανάλωσης υδρογόνου:

Στον πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται οι κυριότερες ιδιότητες των ενζύμων νιτρογενάσης και υδρογενάσης [Lin *et al.*, 2005].

Πίνακας 2.6. Βασικές ιδιότητες ενζύμων νιτρογενάσης και υδρογενάσης.

	Νιτρογενάση	Υδρογενάση
Υπόστρωμα	ATP, H ⁺ ή N ₂ , ηλεκτρόνια	H ⁺ , H ₂
Προϊόντα	H ₂ ή NH ₄ ⁺	ATP, H ⁺ , H ₂ , ηλεκτρόνια
Αριθμός πρωτεϊνών	Δύο (Mo-Fe και Fe)	Μία
Συστατικά	Mo, Fe	Ni, Fe, S
Βέλτιστη θερμοκρασία	30°C	55°C, 70°C
Βέλτιστη τιμή pH	7.1-7.3	6.5-7.5
Παρεμποδιστές	N ₂ , NH ₄ ⁺ , O ₂ , υψηλός λόγος C/N	Co, EDTA, O ₂ , οργανικά συστατικά, H ₂ στην υγρή φάση
Εκκινητές	φως	H ₂ , απουσία οργανικών συστατικών

Το υδρογόνο μπορεί να παραχθεί από το νερό μέσω διάφορων βιολογικών διεργασιών, οι οποίες περιγράφονται συνοπτικά στη συνέχεια.

Άμεση βιοφωτόλυση του νερού

Φωτοαυτότροφοι μικροοργανισμοί (φύκη και κυανοβακτήρια) διασπούν το νερό προς υδρογόνο και οξυγόνο, μετατρέποντας την ηλιακή ενέργεια που απορροφούν σε χημική υπό τη μορφή υδρογόνου, σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:

Γενικά, κατά τη φωτοσύνθεση το φως απορροφάται από δυο φωτοσυνθετικά συστήματα που λειτουργούν σε σειρά: το φωτοσύστημα II (PSII) όπου το νερό διασπάται απελευθερώνοντας οξυγόνο και το φωτοσύστημα I (PSI) όπου παράγονται αναγωγικά μέσα για την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα. Κατά τη διεργασία της βιοφωτόλυσης, δυο φωτόνια (ένα για κάθε φωτοσύστημα) χρησιμοποιούνται για κάθε ηλεκτρόνιο που προέρχεται από το νερό και τα οποία χρησιμοποιούνται είτε για την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα (μέσω του PSI) είτε για το σχηματισμό υδρογόνου (μέσω της υδρογενάσης). Στα πράσινα φυτά, λαμβάνει χώρα μόνο η αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα, λόγω έλλειψης της υδρογενάσης. Αντίθετα, μικροφύκη και κυανοβακτήρια έχουν την ικανότητα να παράγουν το ένζυμο της υδρογενάσης και κατά συνέπεια, να παράγουν υδρογόνο. Μειονέκτημα αυτής της διεργασίας είναι ότι, η υδρογενάση το ένζυμο που ευθύνεται για την παραγωγή υδρογόνου, παρεμποδίζεται από το οξυγόνο που παράγεται [Das & Veziroglu, 2001].

Όπως φαίνεται στο σχήμα 2.3 κατά την άμεση βιοφωτόλυση του νερού, παράγονται ηλεκτρόνια από το νερό (όταν το φωτοσύστημα II απορροφά ηλιακή ενέργεια) και μεταφέρονται (χρησιμοποιώντας την ενέργεια που έχει απορροφήσει το φωτοσύστημα I) στο ένζυμο που καταλύει την αντίδραση παραγωγής υδρογόνου (υδρογενάση), μέσω της φερρεδοξίνης που δρα ως μεταφορέας ηλεκτρονίων, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή υδρογόνου και οξυγόνου.

Το κόστος παραγωγής υδρογόνου κατά την άμεση βιοφωτόλυση του νερού, σύμφωνα με τον Benemann (1998), εκτιμήθηκε ίσο με 20 \$US/GJ υποθέτοντας πάγιο κόστος 60 \$US/m² και ικανότητα μετατροπής ηλιακής ενέργειας περίπου 10%.

Σχήμα 2.3. Άμεση βιοφωτόλυση νερού για παραγωγή υδρογόνου.

Έμμεση βιοφωτόλυση νερού

Κατά τη διεργασία της έμμεσης βιοφωτόλυσης του νερού, προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα προβλήματα από την παρουσία του οξυγόνου, οι αντιδράσεις παραγωγής υδρογόνου και οξυγόνου λαμβάνουν χώρα σε δυο διαφορετικά στάδια, τα οποία συνδέονται μέσω της δέσμευσης και παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα (Σχήμα 2.4) [Hallenbeck & Benemann, 2002]. Στο πρώτο στάδιο, μέσω της φωτοσύνθεσης, το διοξείδιο του άνθρακα δεσμεύεται και αποθηκεύεται ως βιομάζα πλούσια σε υδατάνθρακες, ενώ στο δεύτερο στάδιο οι υδατάνθρακες ζυμώνονται αναερόβια παράγοντας υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα.

Σε μια τυπική έμμεση βιοφωτόλυση νερού, κυανοβακτήρια παράγουν υδρογόνο σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις [Levin *et al.*, 2004]:

Σύμφωνα με τους Hallenbeck και Benemann (2002) το κόστος παραγωγής υδρογόνου μέσω της έμμεσης βιοφωτόλυσης του νερού κυμαίνεται στα 10 \$US/GJ.

Σχήμα 2.4. Έμμεση βιοφωτόλυση νερού για παραγωγή υδρογόνου.

• Βιολογική αντίδραση water-gas shift

Φωτοσυνθετικά βακτήρια (π.χ. *Rhodospirillum rubrum*) οξειδώνουν το μονοξείδιο του άνθρακα (μοναδική πηγή άνθρακα) προς διοξείδιο του άνθρακα, παράγοντας ταυτόχρονα υδρογόνο, μέσω του ενζύμου της υδρογενάσης [Levin *et al.*, 2004].

2.4.3. Παραγωγή υδρογόνου από βιομάζα

Η βιομάζα, μια ανεξάντλητη και φιλική προς το περιβάλλον πηγή ενέργειας, μπορεί να συμβάλει σημαντικά στην ενεργειακή επάρκεια, αντικαθιστώντας τα συνεχώς εξαντλούμενα αποθέματα ορυκτών καυσίμων (πετρέλαιο, άνθρακας, φυσικό αέριο κ.ά.). Γενικά, ως βιομάζα ορίζεται η ύλη που έχει βιολογική (οργανική) προέλευση. Πρακτικά, στον όρο βιομάζα εμπεριέχεται οποιοδήποτε υλικό προέρχεται άμεσα ή έμμεσα από το φυτικό κόσμο.

Σύμφωνα με τον Ni και τους συνεργάτες του (2006), οι διεργασίες παραγωγής υδρογόνου από βιομάζα μπορούν να διακριθούν σε θερμοχημικές (καύση, ρευστοποίηση, πυρόλυση και αεριοποίηση) και βιολογικές (φωτεινή και σκοτεινή ζύμωση).

• Θερμοχημικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου από βιομάζα

Από τις θερμοχημικές διεργασίες, η καύση και η ρευστοποίηση (θέρμανση στους 525-600 K και σε πίεση 5-20 MPa απουσία αέρα) δεν θεωρούνται ελκυστικές τεχνολογίες για την παραγωγή υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, τα υποπροϊόντα της

καύσης είναι επιβλαβείς ρύποι, ενώ τα μειονεκτήματα της ρευστοποίησης της βιομάζας είναι η χαμηλή απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο και η δυσκολία να επιτευχθούν οι επιθυμητές συνθήκες λειτουργίας. Αντίθετα, η πυρόλυση και η αεριοποίηση της βιομάζας αποτελούν τεχνολογίες με ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον για την παραγωγή υδρογόνου.

Πυρόλυση βιομάζας

Κατά την πυρόλυση, η βιομάζα θερμαίνεται απουσία οξυγόνου στους 650-800K και σε πίεση 0.1-0.5 MPa. Η πυρόλυση διακρίνεται σε αργή και γρήγορη. Το κύριο προϊόν της αργής πυρόλυσης είναι ο ξυλάνθρακας, ενώ κατά τη γρήγορη ή ακαριαία πυρόλυση η βιομάζα μετατρέπεται σε ένα υγρό έλαιο, σε ένα στερεό υπόλειμμα πλούσιο σε άνθρακα και σε ένα αέριο μείγμα πλούσιο σε υδρογόνο και υδρογονάνθρακες. Επομένως, υδρογόνο παράγεται άμεσα κατά τη γρήγορη ή ακαριαία πυρόλυση της βιομάζας (εξίσωση 2.25). Το μεθάνιο και οι ατμοί των υδρογονανθράκων που παράγονται, αναμορφώνονται με ατμό με στόχο την επιπλέον παραγωγή υδρογόνου (εξίσωση 2.26). Προκειμένου να αυξηθεί ακόμα περισσότερο η απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο, λαμβάνει χώρα η αντίδραση water-gas shift (εξίσωση 2.2).

Τα υγρής μορφής προϊόντα μπορούν να διαχωριστούν σε χρήσιμες χημικές ουσίες και καύσιμα με κατάλληλη επεξεργασία, συμπεριλαμβανομένου και του υδρογόνου.

Σύμφωνα με τους Padro και Putsche (1999) το κόστος παραγωγής υδρογόνου από την πυρόλυση της βιομάζας κυμαίνεται μεταξύ 8.86-15.52 \$US/GJ.

Αεριοποίηση βιομάζας

Κατά την αεριοποίηση, η βιομάζα θερμαίνεται σε υψηλές θερμοκρασίες (>1000 K) παρουσία περιορισμένων ποσοτήτων οξυγόνου και μετατρέπεται σε ένα μείγμα αερίων και σε ένα στερεό υπόλειμμα πλούσιο σε άνθρακα, το οποίο μετατρέπεται τελικά σε H_2 , CO , CO_2 και CH_4 . Τα αέρια που παράγονται, αναμορφώνονται με ατμό με στόχο την περαιτέρω παραγωγή υδρογόνου. Η απόδοση

της διεργασίας μπορεί να βελτιωθεί μέσω της αντίδρασης water-gas shift (εξίσωση 2.2). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η αεριοποίηση της βιομάζας για την παραγωγή υδρογόνου μπορεί να εφαρμοστεί μόνο στην περίπτωση που η περιεκτικότητα της βιομάζας σε υγρασία είναι μικρότερη από 35% κ.β. [Demirbas, 2002].

Η παραγωγή υδρογόνου από βιομάζα μέσω των θερμοχημικών διεργασιών έχειδειχθεί ότι, είναι μια οικονομικά ελκυστική και εφικτή επιλογή [Ni *et al.*, 2006]. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι, το υδρογόνο παράγεται μαζί με άλλα αέρια, οπότε απαιτείται ο διαχωρισμός και ο καθαρισμός του. Διάφορες μέθοδοι, όπως η συλλογή και η αποθήκευση του διοξειδίου του άνθρακα, η ξήρανση και ο διαχωρισμός με μεμβράνες, έχουν αναπτυχθεί επιτυχώς για την παραλαβή του υδρογόνου σε υψηλές τιμές καθαρότητας.

- **Βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου από βιομάζα**

Πολλοί μικροοργανισμοί μπορούν να παράγουν υδρογόνο από βιομάζα, είτε μέσω της χρήσης της χημικής ενέργειας που περιέχεται σε αυτή και μόνο (ετεροτροφική ζύμωση) είτε μέσω της επιπρόσθετης χρήσης της ηλιακής ενέργειας (φωτοετεροτροφική ζύμωση) [Benemann, 1996]. Όλες οι βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου από βιομάζα ελέγχονται από ένζυμα, γνωστά ως υδρογενάσες και νιτρογενάσες, τα οποία καταλύουν την αντίδραση παραγωγής υδρογόνου.

Οι βιολογικές διεργασίες παραγωγής υδρογόνου από βιομάζα περιγράφονται συνοπτικά στη συνέχεια.

Φωτεινή ζύμωση βιομάζας

Κατά τη διεργασία της φωτεινής ζύμωσης, φωτοετεροτροφικά βακτήρια, υπό αναερόβιες συνθήκες, μετατρέπουν βιομάζα πλούσια σε οργανικά οξέα (δότες ηλεκτρονίων) σε υδρογόνο (μέσω της νιτρογενάσης) και CO₂ (Σχήμα 2.5). Ωστόσο, τα μεγάλα ποσά ενέργειας που απαιτούνται για τη δράση των νιτρογενασών (υψηλές θερμοκρασίες), η χαμηλή απόδοση μετατροπής της ηλιακής ενέργειας και η ανάγκη για χρήση αναερόβιων φωτοβιοαντιδραστήρων μεγάλων διαστάσεων περιορίζουν σημαντικά την εφαρμογή της φωτεινής ζύμωσης για την παραγωγή υδρογόνου [Hallenbeck & Benemann, 2002].

Σχήμα 2.5. Φωτεινή ζύμωση οργανικών οξέων για παραγωγή υδρογόνου.

Σκοτεινή ζύμωση βιομάζας

Κατά τη σκοτεινή ζύμωση, αναερόβια βακτήρια παράγουν υδρογόνο από υποστρώματα πλούσια κυρίως σε υδατάνθρακες. Στο κεφαλαίο που ακολουθεί, θα μελετηθεί εκτενώς η σκοτεινή ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου από βιομάζα, η οποία άλλωστε αποτελεί το κύριο αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

2.5. Η οικονομία του υδρογόνου

Με τον όρο ‘οικονομία υδρογόνου’ χαρακτηρίζεται η υποδομή για την κάλυψη ενεργειακών αναγκών βασισμένη στο υδρογόνο και περιλαμβάνει την παραγωγή, την αποθήκευση, τη διανομή και τη χρήση του. Επιπλέον, αν η παραγωγή του υδρογόνου βασιστεί σε ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, οι παραπάνω διαδικασίες αποτελούν μέρη μιας καθαρής από ρύπους, κυκλικής διαδικασίας, γνωστή ως κύκλος του υδρογόνου.

Σχήμα 2.6. Ο κύκλος του υδρογόνου.

2.5.1. Διανομή υδρογόνου

Ένας από τους παράγοντες που δρα περιοριστικά στην ανάπτυξη και στην εδραίωση της οικονομίας του υδρογόνου είναι η παρούσα υποδομή των δικτύων διανομής και ανεφοδιασμού, η οποία είναι προσαρμοσμένη στα σύγχρονα συμβατικά καύσιμα (κυρίως υγρά), οπότε τουλάχιστον προς το παρόν, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διανομή υδρογόνου, λόγω της υψηλής επικινδυνότητάς του. Οι συνθήκες εξ άλλου που το υδρογόνο βρίσκεται σε υγρή μορφή θέτουν υψηλά τεχνικά εμπόδια. Επίσης, η υπάρχουσα υποδομή για την εκμετάλλευση του φυσικού αερίου δεν θεωρείται κατάλληλη, λόγω των πολύ υψηλών πιέσεων που απαιτούνται για τη διαχείριση του υδρογόνου ως αέριο (πολύ μικρή τιμή πυκνότητας).

Επομένως, μια καινοτόμος υποδομή θα πρέπει να αναπτυχθεί για τη διανομή του υδρογόνου. Υπάρχουν αρκετές διαφορετικές προσεγγίσεις για τη μορφή του δικτύου διανομής του υδρογόνου, ωστόσο θα αναφερθούν δύο βασικές αλλά διαφορετικής νοοτροπίας προσεγγίσεις. Η πρώτη προσέγγιση έχει μορφή παρόμοια με αυτή των σημερινών δικτύων διανομής ηλεκτρικής ενέργειας. Πολλές μονάδες παραγωγής υδρογόνου ικανές να παράγουν μεγάλες ποσότητες υδρογόνου θα είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με κατάλληλους αγωγούς. Στη συνέχεια, κέντρα ελέγχου διανομής θα αναλαμβάνουν τον ανεφοδιασμό μικρότερων σταθμών με υδρογόνο. Η δεύτερη προσέγγιση είναι αποκεντρωμένη σε αντίθεση με την πρώτη. Το υδρογόνο σε αυτή την περίπτωση παράγεται όχι μόνο τοπικά στα κέντρα ανεφοδιασμών αλλά και κατ' ευθείαν στο σημείο ζήτησης. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της δεύτερης προσέγγισης ως προς την πρώτη είναι η ανεξαρτησία που αυτή προσφέρει, αφού η δυσλειτουργία σε κάποιο σημείο του δικτύου δε θα επηρεάσει την ομαλή λειτουργία σε άλλα.

2.5.2. Αποθήκευση υδρογόνου

Οι προσπάθειες για την εύρεση τρόπων αποθήκευσης του υδρογόνου στοχεύουν στη μείωση του τεράστιου όγκου που καταλαμβάνει το αέριο υδρογόνο σε συνθήκες δωματίου. Για παράδειγμα, 1 kg υδρογόνου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ατμοσφαιρική πίεση καταλαμβάνει περίπου 12 m³. Η λύση σε αυτό το πρόβλημα μπορεί να δοθεί με την αύξηση της πυκνότητας του υδρογόνου, είτε αυξάνοντας την πίεση είτε μειώνοντας τη θερμοκρασία είτε, τέλος, μειώνοντας την άπωση μεταξύ

των μορίων, καθώς αυτό αντιδρά με κάποιο υλικό. Επίσης πολύ σημαντικό κριτήριο είναι κατά πόσο η διαδικασία της αποθήκευσης είναι αντιστρέψιμη.

Στη συνέχεια αναφέρονται μερικές από τις πιο διαδομένες μεθόδους αποθήκευσης του υδρογόνου.

Αποθήκευση υδρογόνου σαν αέριο ή υγρό

Το πιο κοινό σύστημα αποθήκευσης αερίου υδρογόνου είναι οι φιάλες υψηλής πίεσης (300-700 atm). Τα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι η χαμηλή πυκνότητα του υδρογόνου και οι υψηλές πιέσεις που απαιτούνται. Το φαινόμενο της προκαλούμενης από το υδρογόνο ευθραυστότητας της φιάλης (hydrogen induced embrittlement) πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη κατά την κατασκευή φιαλών με προορισμό την αποθήκευση αερίου υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, το υδρογόνο διαχέεται μέσω των πόρων του στερεού και συγκεντρώνεται σε χώρους όπου υπάρχουν ατέλειες στη κρυσταλλική δομή. Στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται ανοξείδωτα υλικά, το υδρογόνο αντιδρά με τις προσμίξεις του υλικού και σχηματίζει κάποιο υδρίδιο, το οποίο παραμένει στο χώρο όπου σχηματίζεται και αυξανόμενο σε συγκέντρωση ασκεί πιέσεις στον περιβάλλοντα όγκο του στερεού. Αυτές οι πιέσεις από ένα όριο και πάνω, ανάλογα το υλικό, μπορούν να προκαλέσουν τη θραύση του. Μέχρι το σημείο θραύσης το φαινόμενο είναι αντιστρεπτό, σε περίπτωση που το υδρογόνο απομακρυνθεί. Σήμερα, οι περισσότερες φιάλες είναι κατασκευασμένες από κράματα χαλκού ή αλουμινίου, ενώ για την ενίσχυση της ανθεκτικότητας των φιαλών στις υψηλές πιέσεις χρησιμοποιούνται στρώματα νανοσωλήνων άνθρακα.

Το υδρογόνο αποθηκεύεται ως υγρό σε κρυογενικές δεξαμενές (θερμοκρασία χαμηλότερη των 200 K). Το μειονέκτημα της μεθόδου είναι τα μεγάλα ποσά ενέργειας που απαιτούνται για την υγροποίηση του υδρογόνου, με τη θερμική μόνωση της δεξαμενής να παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην εφαρμοσιμότητα της.

Αποθήκευση υδρογόνου σε υδρίδια μετάλλων και νανοσωλήνες άνθρακα

Τα υδρίδια μετάλλων, ειδικοί συνδυασμοί από μεταλλικά κράματα, έχουν την ικανότητα να προσροφούν το υδρογόνο, το οποίο απελευθερώνουν αργότερα σε θερμοκρασία δωματίου ή συνηθέστερα σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Καθώς το μοριακό υδρογόνο πλησιάζει στην επιφάνεια του μετάλλου, διασπάται στα δύο άτομα που το αποτελούν, μια διαδικασία που διαφορετικά θα απαιτούσε θερμοκρασίες της τάξεως των 3500°C για να επιτευχθεί. Στη συνέχεια, τα άτομα του υδρογόνου

εισχωρούν στο εσωτερικό του μετάλλου και καταλαμβάνουν ενδοπλεγματικές θέσεις. Τόσο η διαδικασία της προσρόφησης όσο και η εκρόφιση ή αποδέσμευση του υδρογόνου, εξαρτώνται άμεσα από τη θερμοκρασία και την πίεση που βρίσκεται το σύστημα. Μέταλλα στο ρόλο του προσροφητή μπορεί να είναι κάποιο από τα Mg, Al, La, Ti, Zr, Fe, Ni, Pd, Cu κ.ά.. Ο χρόνος ζωής ενός τέτοιου συστήματος εξαρτάται από την καθαρότητα του υδρογόνου, γιατί εκτός από υδρογόνο προσροφώνται και διάφορες προσμίξεις, οι οποίες καταλαμβάνουν θέσεις στο μεταλλικό πλέγμα μειώνοντας ταυτόχρονα τις διαθέσιμες θέσεις για το υδρογόνο.

Τέλος, το υδρογόνο μπορεί να αποθηκευτεί και σε νανοσωλήνες άνθρακα. Οι νανοσωλήνες άνθρακα (ανακαλυφθήκαν το 1991 από τον Sumio Iijima) είναι ομόκεντροι κύλινδροι γραφίτη, κλειστοί σε κάθε άκρο με πενταμελείς δακτυλίους. Οι νανοσωλήνες μπορεί να είναι πολυφλοιϊκοί με ένα κεντρικό σωλήνα να περιβάλλεται από ένα ή περισσότερα στρώματα γραφίτη ή μονοφλοιϊκοί όπου υπάρχει μόνο ένας σωλήνας και καθόλου επιπλέον στρώματα γραφίτη. Όταν οι νανοσωλήνες ομαδοποιούνται έχουμε τις λεγόμενες δέσμες νανοσωλήνων. Η αποθήκευση του υδρογόνου στους νανοσωλήνες άνθρακα γίνεται είτε με φυσική είτε με χημική προσρόφιση. Στην πρώτη περίπτωση, το υδρογόνο διατηρεί τη μοριακή δομή του και ‘προσδένεται’ στην επιφάνεια με δυνάμεις Van Der Waals. Στη δεύτερη περίπτωση, το ατομικό υδρογόνο δημιουργεί χημικούς δεσμούς με τους άνθρακες των νανοσωλήνων. Ωστόσο, είναι δύσκολο να καθοριστεί πότε το υδρογόνο προσροφάται αποκλειστικά φυσικά ή λαμβάνουν χώρα και χημικές διεργασίες.

Σχήμα 2.7. Αποθήκευση υδρογόνου σε συστοιχία μονοφλοιϊκών νανοσωλήνων άνθρακα.

2.5.3. Χρήσεις υδρογόνου

Η προοπτική αντικατάστασης των αερίων και υγρών καυσίμων με υδρογόνο στους τομείς ηλεκτροπαραγωγής, θέρμανσης και μεταφορών εξετάζεται σε παγκόσμιο επίπεδο. Η μετάβαση στην οικονομία του υδρογόνου θα είναι μία πολύπλοκη, δαπανηρή και χρονοβόρος διαδικασία. Επί του παρόντος, το υδρογόνο έχει κυρίως βιομηχανική χρήση, με τη βιομηχανία αμμωνίας να καταναλώνει το 50% του παραγόμενου υδρογόνου και τα διυλιστήρια το 37%. Επίσης, σημαντικές ποσότητες υδρογόνου καταναλώνονται από τη βιομηχανία τροφίμων (υδρογόνωση ελαίων). Ωστόσο, ο βασικός ενεργειακός χρήστης του υδρογόνου είναι η διαστημική βιομηχανία.

Σημαντικές προσπάθειες γίνονται, κυρίως στα ιδιαίτερα ανεπτυγμένα κράτη, για τη μετατροπή της προσαρμοσμένης στα συμβατικά καύσιμα υποδομής σε υποδομή με βάση το υδρογόνο. Ενδεικτικά, η Ισλανδία, προσβλέπει σε μία υποδομή πλήρως βασισμένη στο υδρογόνο μέχρι το 2030-2040, ενώ μέχρι το 2030 στόχος του υπουργείου οικονομίας των Η.Π.Α. είναι η αντικατάσταση του 10% της ενεργειακής κατανάλωσης από ενέργεια υδρογόνου. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, σύμφωνα με οδηγία (Μάιος 2003, L 123) είναι πλέον επιβεβλημένη η χρήση των βιοκαυσίμων (μεταξύ των οποίων και το υδρογόνο) στον τομέα των μεταφορών.

Οι κυψελίδες καυσίμου, η λειτουργία των οποίων βασίζεται στην αντίστροφη ηλεκτρόλυση, αναλαμβάνουν τη μετατροπή του υδρογόνου σε ηλεκτρική ενέργεια. Πιο συγκεκριμένα, μετατρέπουν υδρογόνο και οξυγόνο σε νερό, παράγοντας ταυτόχρονα θερμότητα και ηλεκτρική ενέργεια (συνεχές ηλεκτρικό ρεύμα). Η πρώτη κυψελίδα κατασκευάστηκε από τον Sir William Grove (1845). Ωστόσο, η συστηματική έρευνα άρχισε μόλις τη δεκαετία του 1960, όταν η Εθνική Υπηρεσία Αεροναυτικής και Διαστήματος (NASA) χρησιμοποίησε κυψελίδες καυσίμου στο διαστημικά σκάφη Gemini και Apollo.

Οι κυψελίδες καυσίμου μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τον τύπο του ηλεκτρολύτη που χρησιμοποιούν, με πιο γνωστή την κυψελίδα καυσίμου με μεμβράνη ανταλλαγής πρωτονίων (PEM). Πιο συγκεκριμένα, μία κυψελίδα καυσίμου PEM αποτελείται από δύο ηλεκτρόδια, τα οποία διαχωρίζονται από μία μεμβράνη, η οποία δρα ως ηλεκτρολύτης (Σχήμα 2.8). Μεταξύ αυτής της πολυμερικής μεμβράνης και των ηλεκτροδίων υπάρχει ένα στρώμα καταλύτη, το οποίο συνήθως αποτελείται από ένα πολύ λεπτό στρώμα λευκόχρυσου πάνω σε επιφάνεια άνθρακα. Το

ηλεκτρόδιο ανόδου της κυψέλης τροφοδοτείται με υδρογόνο, το οποίο ερχόμενο σε επαφή με τον καταλύτη διασπάται σε ιόντα υδρογόνου και ηλεκτρόνια. Στη συνέχεια, τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται μέσω ενός εξωτερικού ηλεκτρικού κυκλώματος (αφού η μεμβράνη αποτρέπει τη διέλευση τους μέσω αυτής) προς το ηλεκτρόδιο της καθόδου παράγοντας ηλεκτρική ενέργεια. Τα ιόντα υδρογόνου διαπερνούν τη μεμβράνη και αντιδρούν με το οξυγόνο, που τροφοδοτεί την κάθοδο, παράγοντας νερό. Οι αντιδράσεις αυτές περιγράφονται από τις ακόλουθες εξισώσεις:

Μία απλή κυψελίδα καυσίμου παράγει περίπου 0.7 V, όταν θεωρητικά μπορούν να παραχθούν 1.23 V σε θερμοκρασία δωματίου με παροχή καθαρού οξυγόνου. Οπότε, προκειμένου να παραχθούν μεγαλύτερες και πρακτικά αξιοποιήσιμες τάσεις, περισσότερες κυψελίδες χρησιμοποιούνται σε σειρά.

Στον πίνακα που ακολουθεί, δίνεται η ελάχιστη παροχή υδρογόνου που απαιτείται για τη συνεχή λειτουργία μιας κυψελίδας καυσίμου τύπου PEM [Levin *et al.*, 2004].

Πίνακας 2.7. Απαιτούμενη παροχή υδρογόνου για τη λειτουργία κυψελίδων καυσίμου τύπου PEM.

PEM (kW)	Απαιτούμενη παροχή υδρογόνου (mol/h)
1	23.9
1.5	35.9
2.5	59.9
5	119.7

Σχήμα 2.8. Κύρια μέρη κυψελίδας καυσίμου PEM.

Κεφάλαιο

3. Αναερόβια παραγωγή υδρογόνου

3.1. Εισαγωγή

Η αναερόβια χώνευση αποτελεί μια από τις βασικότερες και πιο παραδοσιακές μεθόδους επεξεργασίας (σταθεροποίησης) της βιολογικής ιλύος, που παράγεται κατά την πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια επεξεργασία αστικών αποβλήτων. Ωστόσο, για περισσότερες από δυο δεκαετίες η αναερόβια χώνευση έχει εφαρμοστεί με επιτυχία για την επεξεργασία υγρών και στερεών αποβλήτων υψηλού οργανικού ρυπαντικού φορτίου [Li & Fang, 2007].

Η αναερόβια χώνευση είναι μια πολύπλοκη βιολογική διεργασία, κατά την οποία οργανική ύλη καταβολίζεται από αυστηρά αναερόβιους ή προαιρετικά αναερόβιους μικροοργανισμούς στο σκοτάδι απουσία εξωτερικών αποδεκτών ηλεκτρονίων (π.χ. οξυγόνο, νιτρικά ιόντα, θειικά ιόντα), παράγοντας κυρίως μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα (εξίσωση 3.1). Η αναερόβια χώνευση λαμβάνει χώρα σε πολλά αναερόβια οικοσυστήματα (ιζήματα, έλη, στομάχι βοοειδών κ.ά.) και μπορεί να περιγραφεί από τη συνολική αντίδραση:

Ένα από τα πλεονεκτήματα της αναερόβιας χώνευσης, εκτός από τη σταθεροποίηση της βιολογικής ιλύος, είναι η ανάκτηση χρήσιμων προϊόντων, όπως αλκοολών, πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) και ενέργειας υπό τη μορφή υδρογόνου και μεθανίου [Hwang *et al.*, 2004]. Η ανάκτηση ενέργειας έχει εστιαστεί στο μεθάνιο, το τελικό προϊόν της αναερόβιας χώνευσης (εξίσωση 3.1), παρόλο που η παραγωγή και η χρήση του παρουσιάζει αρκετά προβλήματα (π.χ. συνεισφορά στο φαινόμενο του θερμοκηπίου κ.ά.). Αντίθετα, το υδρογόνο, του οποίου η παραγωγή μέσω της

αναερόβιας χώνευσης έχει προταθεί και αναπτυχθεί επιτυχώς από αρκετούς ερευνητές, θεωρείται ιδανικότερο καύσιμο με πάρα πολλά πλεονεκτήματα, όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο [Zoetemeyer *et al.*, 1982; Nandi & Sengupta, 1998; Li & Fang, 2007].

Κατά την αναερόβια χώνευση, το υπόστρωμα οξειδώνεται μερικώς και επομένως απελευθερώνεται ένα μικρό μόνο μέρος της διαθέσιμης ενέργειας του, που είναι απαραίτητη για τις λειτουργίες του κυττάρου. Όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά στο αναγωγικό δυναμικό μεταξύ του δότη και του δέκτη ηλεκτρονίων, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσό ενέργειας που απελευθερώνεται (Πίνακας 3.1). Η ενέργεια αυτή αποθηκεύεται σε μόρια τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) με τη μορφή φωσφορικών δεσμών υψηλής ενέργειας, οι οποίοι όταν υδρολύονται σε διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και όξινο φωσφορικό ιόν HPO_4^{2-} (P_i), απελευθερώνουν μεγάλη ποσότητα ενέργειας (Σχήμα 3.1). Επομένως, η συνολική διαδικασία παραγωγής ενέργειας και χρήσης της από τους οργανισμούς βασίζεται στην αντίδραση $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$. Στην αναερόβια χώνευση, το μόριο της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) παράγεται μέσω μιας διεργασίας που ονομάζεται φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος. Πιο συγκεκριμένα, κατά την αναερόβια αποδόμηση ενός οργανικού υποστρώματος σχηματίζονται ενώσεις, οι οποίες περιέχουν φωσφορικούς δεσμούς υψηλής ενέργειας. Περαιτέρω μεταβολισμός αυτών των ενδιάμεσων ενώσεων οδηγεί στη μεταφορά φωσφορικής ομάδας στο ADP και συνεπώς στο σχηματισμό του ATP [Gottschalk, 1986].

Πίνακας 3.1. Δυναμικά αναγωγής ορισμένων οξειδοαναγωγικών ζευγών.

Οξειδοαναγωγικό ζεύγος	E'_0 (V) για pH = 7
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2$	-0.420
φερρεδοξίνη (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \rightarrow$ φερρεδοξίνη (Fe^{2+})	-0.400
$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	-0.320
$\text{SO}_4^{2-} + 10\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 4\text{H}_2\text{O}$	-0.220
ακεταλδευδη + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ αιθανολη	-0.197
πυροσταφυλικό ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ γαλακτικό ²⁻	-0.185
$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{FADH}_2$	-0.180
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	+0.421
$\text{NO}_2^- + 8\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow \text{NH}_4^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	+0.440
$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	+0.815

Σχήμα 3.1. Δομή και σύνθεση τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, κατά την αναερόβια χώνευση λαμβάνει χώρα η βιολογική οξείδωση οργανικών υποστρωμάτων, η οποία ισοδυναμεί με την απώλεια ατόμων υδρογόνου και συνεπώς με την απώλεια ηλεκτρονίων. Οι κυριότεροι δέκτες ηλεκτρονίων, είναι το συνένζυμο NAD^+ (νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο) με ανηγμένη μορφή NADH και το συνένζυμο NADP^+ (φωσφορικό-νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο) με ανηγμένη μορφή NADPH (Σχήμα 3.2). Το συνένζυμο NAD^+ συμμετέχει σε καταβολικές αντιδράσεις όπου απελευθερώνεται ενέργεια, ενώ το συνένζυμο NADP^+ σε αναβολικές αντιδράσεις. Ένας άλλος σημαντικός μεταφορέας ηλεκτρονίων είναι η φερρεδοξίνη.

Σχήμα 3.2. Δομή συνενζύμων NAD^+ και NADP^+ .

Η αναερόβια χώνευση μπορεί να είναι τόσο απλή, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.3 [Muller, 2001]. Το υπόστρωμα οξειδώνεται προς ένα οργανικό ενδιάμεσο προϊόν, το οποίο ανάγεται στα τελικά προϊόντα. Ως οξειδωτικό μέσο δρα το NAD^+ και ως αναγωγικό μέσο το NADH . Μέρος της ενέργειας που απελευθερώνεται κατά την οξείδωση, αποθηκεύεται στα παραγόμενα μόρια του ATP (φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος).

Σχήμα 3.3. Αναερόβια χώνευση.

3.2. Τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης

Κατά την αναερόβια χώνευση η οργανική ύλη μετατρέπεται κυρίως σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω μιας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων, οι οποίες λαμβάνουν χώρα από διακριτές ομάδες αναερόβιων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κυρίως τρεις σημαντικές ομάδες μικροοργανισμών έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί και θεωρείται ότι, παίζουν σημαντικό ρόλο στη διεργασία της αναερόβιας βιοαποδόμησης της οργανικής ύλης, η οποία λαμβάνει χώρα σε τέσσερα στάδια [Ahrling, 2003; Largus *et al.*, 2004]. Σύμφωνα με το σχήμα 3.4, τα υδρολυτικά βακτήρια (1α) υδρολύουν τις πολυμερείς οργανικές ενώσεις προς μονομερή ή ολιγομερή, τα οποία στη συνέχεια, κατά το στάδιο της οξεογένεσης/ζύμωσης, μεταβολίζονται από τα ζυμωτικά βακτήρια (1β) σε πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες κ.ά., με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Στο στάδιο της οξικογένεσης, συντελείται η μετατροπή των ανώτερων πτητικών λιπαρών οξέων καθώς και των αλκοολών σε οξικό οξύ με ταυτόχρονη

παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα από τα υποχρεωτικά οξικογόνα βακτήρια παραγωγής υδρογόνου (2α). Επίσης, ομοοξικογόνα βακτήρια (2β) παράγουν οξικό οξύ από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα. Τέλος, κατά το τέταρτο στάδιο της αναερόβιας ζύμωσης, τη μεθανογένεση, μεθάνιο παράγεται είτε από οξικό οξύ μέσω των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων (3α) είτε από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω των μεθανογόνων βακτηρίων που χρησιμοποιούν το υδρογόνο για να ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα προς μεθάνιο (3β). Είναι γνωστό ότι περίπου το 65-70% του παραγόμενου μεθανίου προέρχεται από τα οξικολυτικά μεθανογόνα βακτήρια. Το γεγονός αυτό καθιστά το οξικό οξύ ως το σπουδαιότερο υπόστρωμα των μεθανογόνων κατά την αναερόβια χώνευση.

Σχήμα 3.4. Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα από οργανική ύλη.

Στον πίνακα 3.2 παρατίθενται οι κυριότερες αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την αναερόβια χώνευση της γλυκόζης [Van Andel & Breure, 1984]. Η οξείδωση των προϊόντων της οξεογένεσης (προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, αιθανόλη) προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι θερμοδυναμικά μη επιτρεπτή, εκτός εάν η μερική πίεση του υδρογόνου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα. Η θερμοδυναμική εφικτότητα της οξείδωσης ορισμένων οργανικών ενώσεων ως συνάρτηση της μερικής πίεσης του υδρογόνου απεικονίζεται στο σχήμα 3.5 [Harper & Pohland, 1986]. Είναι φανερό ότι, η οξείδωση του προπιονικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι εφικτή μόνο

όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μικρότερη από 10^{-4} atm (1), ενώ η οξείδωση του βουτυρικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο λαμβάνει χώρα μόνο όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μικρότερη από 10^{-3} atm (2). Η οξείδωση της αιθανόλης και του γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι αδύνατη όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι σχεδόν 1 atm (3 και 4 αντίστοιχα).

Ωστόσο, σε έναν αναερόβιο βιοαντιδραστήρα παραγωγής μεθανίου, η μερική πίεση του υδρογόνου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα, λόγω της δράσης των μεθανογόνων βακτηρίων που είναι χρήστες υδρογόνου, με αποτέλεσμα να είναι θερμοδυναμικά εφικτές οι αντιδράσεις οξείδωσης των προϊόντων της οξεογένεσης. Η σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών που αποδομούν τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα βακτήρια που παράγουν μεθάνιο από υδρογόνο χαρακτηρίζεται ως ‘συντροφική’ και το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως η μεταξύ μικροβιακών ειδών μεταφορά υδρογόνου (interspecies hydrogen transfer).

Αντίθετα, σε αναερόβιους βιοαντιδραστήρες παραγωγής υδρογόνου, όπου η μερική πίεση του υδρογόνου καθίσταται αρκετά μεγαλύτερη από τις απαγορευτικές τιμές του σχήματος 3.5 και η δράση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο (όπως υδρογονοχρηστικά μεθανογόνα βακτήρια, ομοοξικογόνα βακτήρια και βακτήρια που ανάγουν τα θειϊκά ιόντα) καταστέλλεται, η οξείδωση των προϊόντων της οξεογένεσης και η παραγωγή μεθανίου καθίσταται μη αυθόρμητη με βάση τη θερμοδυναμική.

Πίνακας 3.2. Σημαντικότερες αντιδράσεις κατά την αναερόβια χώνευση της γλυκόζης.

Αντιδράσεις	ΔG° (kJ/mol)
<i>Οξεογένεση</i>	
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	-206
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$	-255
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3COOH + CH_3CH_2COOH + CO_2 + H_2$	-283
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$	-226
<i>Οξικογένεση</i>	
$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2$	+76
$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$	+48
$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COOH + 2H_2$	+9
<i>Μεθανογένεση</i>	
$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-136
$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$	-31

Σχήμα 3.5. Γραφική αναπαράσταση της θερμοδυναμικής εφικτότητας αρκετών αντιδράσεων από τη μερική πίεση του υδρογόνου.

3.3. Ανάσχεση της μεθανογένεσης με στόχο την παραγωγή υδρογόνου

Η βιολογική παραγωγή υδρογόνου, μέσω της αναερόβιας επεξεργασίας βιοαποδομήσιμων οργανικών αποβλήτων, έχει πολλά κοινά σημεία με την παραγωγή μεθανίου, καθώς το υδρογόνο αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν της αναερόβιας χώνευσης, αφού παράγεται κατά το στάδιο της οξογένεσης (Σχήμα 3.4). Για αυτό, έχει προταθεί και αναπτυχθεί με επιτυχία η αναερόβια επεξεργασία δυο σταδίων σε σειρά, όπου η οξογένεση και η μεθανογένεση λαμβάνουν χώρα ξεχωριστά για την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου, αντίστοιχα [Benemann *et al.*, 2004; Ting *et al.*, 2004; Gavala *et al.*, 2005; Ueno *et al.*, 2007].

Τα ζυμωτικά βακτήρια που έχουν την ικανότητα να παράγουν υδρογόνο, μπορεί να είναι αυστηρά αναερόβια (*Clostridia*, *Methanobacteria* κ.α.), προαιρετικά αναερόβια (*Enterobacteria* κ.α.) ακόμα και αερόβια βακτήρια (*Alcaligenes*, *Bacillus* κ.α.) υπό ανοξικές συνθήκες [Nandi & Sengupta, 1998].

Συχνά, μικτές καλλιέργειες αντί καθαρών καλλιεργειών χρησιμοποιούνται για την αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, καθώς μπορούν να μεταβολίσουν μια μεγάλη ποικιλία από υποστρώματα σε μη άσηπτες συνθήκες, καθιστώντας τη λειτουργία του βιοαντιδραστήρα ευκολότερη σε επίπεδο χειρισμών και οικονομικότερη [Valdez-Vazquez *et al.*, 2005]. Ωστόσο, το υδρογόνο που παράγεται από μικτές καλλιέργειες υπό αναερόβιες συνθήκες, συχνά καταναλώνεται από άλλα βακτήρια, που το χρησιμοποιούν για το μεταβολισμό τους. Κατά συνέπεια η μικτή αναερόβια καλλιέργεια πρέπει να υποστεί κατάλληλη

επεξεργασία, ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο η μη επιθυμητή διεργασία της κατανάλωσης του παραγόμενου υδρογόνου από τα βακτήρια αυτά. Η επιτυχία των μεθόδων προεπεξεργασίας της μικτής αναερόβιας καλλιέργειας βασίζεται στην ικανότητα των βακτηρίων που παράγουν υδρογόνο να σχηματίζουν σπόρους (κυρίως *Clostridia*), όταν βρεθούν σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (όπως έλλειψη θρεπτικών, αύξηση θερμοκρασίας, ξήρανση, ακτινοβολία κ.ά.), σε αντίθεση με την πλειοψηφία των βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο (μεθανογόνα βακτήρια που είναι χρήστες υδρογόνου, ομοοξικογόνα βακτήρια και βακτήρια που ανάγουν τα θειικά ιόντα) [Brock *et al.*, 1994, Mizuno *et al.*, 2000]. Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι, οι μικτές καλλιέργειες που προέρχονται από αναερόβια λάσπη και ιζήματα, αποτελούνται κυρίως από αναερόβια βακτήρια του γένους *Clostridia* [Hawkes *et al.*, 2002]. Η θέρμανση, η όξινη ή βασική επεξεργασία, ο αερισμός, η χρήση χημικών και η χρήση ηλεκτρικού ρεύματος είναι οι πιο γνωστές και αποτελεσματικές μέθοδοι προεπεξεργασίας.

Η θερμική επεξεργασία μιας μικτής αναερόβιας καλλιέργειας αποτελεί την πιο συνηθισμένη μέθοδο προεπεξεργασίας [Lay *et al.*, 1999]. Η θερμοκρασία κυμαίνεται από 75°C μέχρι 121°C και η διάρκεια επεξεργασίας από 15 min μέχρι 2 h [Lay *et al.*, 1999; Chang *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003a]. Συνήθως επιλέγεται θερμική επεξεργασία στους 100°C για 15 min. Ωστόσο, η θερμική επεξεργασία δεν μπορεί να αναστείλει τη δράση όλων των βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο. Ο Oh και οι συνεργάτες του (2003) παρατήρησαν ότι, κάποια ομοοξικογόνα βακτήρια ίσως επιβιώνουν μετά από τη θερμική επεξεργασία αναερόβιας μικτής καλλιέργειας, καθώς διαπίστωσαν παραγωγή οξικού οξέος και μείωση της παραγωγής υδρογόνου.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αναερόβια μετατροπή της οργανικής ύλης προς μεθάνιο λαμβάνει χώρα για ουδέτερες τιμές του pH. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο ρυθμός παραγωγής μεθανίου μειώνεται απότομα ή και σταματά για pH κάτω από 6.3 ή πάνω από 7.8 [Chen *et al.*, 2002]. Συνεπώς, ρύθμιση του pH σε τιμές μικρότερες ή μεγαλύτερες του 7, παρεμποδίζει τη δράση των μεθανογόνων, αρκετοί από τους οποίους καταναλώνουν υδρογόνο, χωρίς όμως να περιορίζεται η δράση των ζυμωτικών μικροοργανισμών παραγωγής υδρογόνου.

Οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί είναι αυστηρά αναερόβιοι και ιδιαίτερα ευαίσθητοι όταν εκτίθενται σε αρκετές ουσίες. Επομένως, η δράση των μεθανογόνων μπορεί να ανασταλεί με απλό αερισμό ή με την προσθήκη τοξικών ουσιών. Για παράδειγμα, ο Ueno και οι συνεργάτες του (1995, 1996) αναφέρουν ότι λάσπη

προερχόμενη από λιπασματοποίηση ύστερα από έντονο αερισμό παρήγαγε αναερόβια, από απόβλητο πλούσιο σε κυτταρίνη, 330-340 mL H₂/g εξόζης, ενώ δεν παρήγαγε καθόλου μεθάνιο. Οι χημικές ουσίες που συνήθως χρησιμοποιούνται για να αναστείλουν τη δράση των μεθανογόνων είναι το βρωμιούχο άλας του αιθανοσουλφονικού οξέος (2-Bromoethanesulfonate, BES) το ακετυλένιο και το χλωροφόρμιο [Sparling *et al.*, 1997; Liang *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2003]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, έχει αναφερθεί ότι η χρήση BES σε συγκεντρώσεις μέχρι 25 mM [Sparling *et al.*, 1997] ή 100 mM [Wang *et al.*, 2003a] είναι αποτελεσματική για την παραγωγή υδρογόνου, καθίσταται όμως οικονομικά ασύμφορη για λειτουργία σε μεγάλη κλίμακα.

Σύμφωνα με τον Roychowdhury (2000) η επεξεργασία μικτής αναερόβιας καλλιέργειας με ηλεκτρικό ρεύμα χαμηλής τάσης (3-4.5 V) μπορεί να διαχωρίσει τα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο από εκείνα που καταναλώνουν υδρογόνο, με αποτέλεσμα να ενισχύεται η απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου καθώς αποφεύγεται η παραγωγή μεθανίου.

Τέλος, η δράση των μεθανογόνων βακτηρίων μπορεί να ανασταλεί όταν ο χρόνος παραμονής των στερεών (SRT), σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου συνεχούς λειτουργίας (CSTR), είναι μικρότερος (8-12 h για απλά υποστρώματα) από τον ελάχιστο χρόνο που απαιτείται για την ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων, καθώς τα ζυμωτικά βακτήρια αναπτύσσονται πιο γρήγορα από τα μεθανογόνα βακτήρια [Hawkes *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004]. Χαρακτηριστικά, ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ($\mu_{\max}$) για τα μεθανογόνα βακτήρια κυμαίνεται στις 0.3 d⁻¹, ενώ για τα οξεογόνα βακτήρια στις 1.5 d⁻¹.

3.4. Αναερόβιος μεταβολισμός οργανικής ύλης για παραγωγή υδρογόνου

Τα σημαντικότερα κριτήρια για το χαρακτηρισμό ενός τύπου οργανικής ύλης ως κατάλληλου για την παραγωγή υδρογόνου είναι η διαθεσιμότητα, το κόστος, η περιεκτικότητα κυρίως σε υδατάνθρακες και η βιοαποδομησιμότητά της [Karpdan & Kargi, 2006]. Πολλοί τύποι οργανικών ενώσεων, από πολυμερή μέχρι μονομερή σάκχαρα, λίπη και πρωτεΐνες, μπορούν να αποτελέσουν υποστρώματα για την παραγωγή υδρογόνου [Classen *et al.*, 1999]. Ωστόσο, πειράματα διαλείποντος έργου με υπόστρωμα υγρά ή στερεά απόβλητα κατέδειξαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου είναι πιο αποδοτική όταν το απόβλητο είναι πλούσιο σε υδατάνθρακες σε αντίθεση με

απόβλητα που είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και λίπη [Noike & Mizuno, 2000; Okamoto *et al.*, 2000; Lay *et al.*, 2003]. Τα απλά σάκχαρα (όπως γλυκόζη, σακχαρόζη, λακτόζη) παρόλο που είναι εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις αποτελούν ακριβές πρώτες ύλες. Επομένως, η παραγωγή υδρογόνου μέσω της αναερόβιας ζύμωσης καθίσταται ιδιαίτερα ελκυστική όταν, εκτός από μικτές καλλιέργειες, ως υποστρώματα χρησιμοποιούνται απόβλητα (υγρά ή στερεά), καθώς παράγεται ενέργεια χωρίς μεγάλο οικονομικό κόστος με σημαντικά οφέλη για το περιβάλλον (βιοτεχνολογική επεξεργασία αποβλήτων). Τα απόβλητα που χρησιμοποιούνται κυρίως ως υποστρώματα για την παραγωγή υδρογόνου συνοψίζονται στα ακόλουθα:

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

Πολλά γεωργικά απόβλητα, αγροτοβιομηχανικά απόβλητα (όπως απόβλητα ελαιοτριβείων, τυροκομείων κ.ά.), απόβλητα βιομηχανίας τροφίμων περιέχουν πολυμερή υδατανθράκων, όπως άμυλο ή/και κυτταρίνη, η σύνθετη δομή των οποίων επηρεάζει δυσμενώς τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Το άμυλο, που περιέχεται στα απόβλητα, μέσω της όξινης ή της ενζυμικής υδρόλυσης από εξωκυτταρικά ένζυμα (αμυλάσες), μετατρέπεται σε γλυκόζη, μαλτόζη και άλλα ολιγομερή και στη συνέχεια μέσω της αναερόβιας ζύμωσης προς υδρογόνο και πτητικά λιπαρά οξέα. Τα απόβλητα που ανήκουν στην κατηγορία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών, απαιτούν περαιτέρω προεπεξεργασία, ώστε να είναι κατάλληλα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου (λεπτομέρειες στο κεφάλαιο 4).

- *Περίσσεια ιλύος από μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων*

Η περίσσεια ιλύος από μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, με υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, έχει προταθεί από αρκετούς ερευνητές ως υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου, παρά τη χαμηλή απόδοσή της, αφού πρώτα επεξεργαστεί κατάλληλα ώστε να ανασταλεί η δράση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο [Wang *et al.*, 2003a, 2003b και 2004; Ting & Lee, in press].

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το υδρογόνο κατά την αναερόβια χώνευση της οργανικής ύλης παράγεται στο στάδιο της οξεογένεσης. Επομένως, για να θεωρηθεί

επιτυχής η βιολογική παραγωγή υδρογόνου από αναερόβια μικτή καλλιέργεια, οι μικροοργανισμοί που καταναλώνουν υδρογόνο θα πρέπει να παρεμποδιστούν. Έχοντας εξασφαλίσει ότι η δράση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών έχει ανασταλεί, η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή υδρογόνου περιλαμβάνει τα ακόλουθα δυο στάδια (Σχήμα 3.6):

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

Σχήμα 3.6. Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή υδρογόνου από οργανική ύλη.

3.4.1. Υδρόλυση στην αναερόβια χώνευση

Οι μικροοργανισμοί δεν μπορούν να μεταβολίσουν απευθείας τη σύνθετη διαλυτή ή αδιάλυτη οργανική ύλη, καθώς η κυτταρική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη για τέτοιου είδους υλικά. Πρέπει να προηγηθεί υδρόλυση των σύνθετων οργανικών ενώσεων προς διαλυτά πολυμερή και στη συνέχεια προς διμερή ή μονομερή, τα οποία μπορούν πλέον να εισαχθούν στο κύτταρο με τη δράση ειδικών ενζύμων (περμεάσες) και να μεταβολιστούν. Η υδρόλυση λαμβάνει χώρα με τη δράση μιας ειδικής κατηγορίας ενζύμων (υδρολάσες), τα οποία δρουν είτε εξωκυτταρικά (όπως στην περίπτωση των βιοπολυμερών) είτε ενδοκυτταρικά (όπως στην περίπτωση των μικρών διμερών).

Η οργανική ύλη των αποβλήτων έχει συνήθως τη μορφή πολύπλοκων ενώσεων (μακρομόρια) και μπορεί να διακριθεί σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη. Τα ένζυμα (λεπτομέρειες στο κεφάλαιο 4) με βάση την κατηγορία των ενώσεων που υδρολύουν μπορούν να ταξινομηθούν όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 3.3. Τα κυριότερα υδρολυτικά ένζυμα.

Ένζυμο	Υπόστρωμα	Προϊόν υδρόλυσης
<i>Υδρολάσες υδατανθράκων</i>		
φρουκτοσιδάση	σακχαρόζη	φρουκτόζη + γλυκόζη
α-γλυκοσιδάση	μαλτόζη	γλυκόζη
β-γλυκοσιδάση	κελλοβιόζη	γλυκόζη
β-γαλακτοσιδάση	λακτόζη	γαλακτόζη + γλυκόζη
αμυλάσες	άμυλο	μαλτόζη
κυτταρινάση	κυτταρίνη	κελλοβιόζη
<i>Υδρολάσες αζωτούχων ενώσεων</i>		
ενδοπεπτιδάσες	μέσο πρωτεϊνών	πεπτίδια
εξωπεπτιδάσες	άκρα πρωτεϊνών	αμινοξέα
απαμινάσες	αμινοξέα	NH ₃ + οργανικά οξέα
<i>Εστεράσες</i>		
λιπάσες	γλυκερίδια (λίπη)	γλυκερόλη + λιπαρά οξέα

α) Υδρόλυση υδατανθράκων

Οι υδατάνθρακες (πολυσακχαρίτες) έχουν γενικό εμπειρικό τύπο C_nH_{2n}O_n και περιλαμβάνουν ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον τρία άτομα άνθρακα. Οι υδατάνθρακες βιοσυντίθενται από τα φυτά μέσω της φωτοσύνθεσης, μιας περίπλοκης διαδικασίας κατά την οποία το ηλιακό φως προσφέρει την απαραίτητη ενέργεια για τη μετατροπή του CO₂ σε γλυκόζη (εξίσωση 3.2). Στη συνέχεια, πολλά μόρια γλυκόζης συνδέονται με χημικούς δεσμούς, σχηματίζοντας μεγαλύτερα μόρια τα οποία αποθηκεύονται με τη μορφή κυτταρίνης ή αμύλου. Έτσι, οι υδατάνθρακες είναι κατά κάποιο τρόπο οι ενδιάμεσες χημικές ενώσεις, μέσω της βιοσύνθεσης των οποίων, η ηλιακή ενέργεια αποθηκεύεται και αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας όταν μεταβολίζεται από τους ζωντανούς οργανισμούς.

Οι πλέον διαδεδομένοι πολυσακχαρίτες που απαντώνται στα απόβλητα είναι η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και το άμυλο. Η κυτταρίνη, ένα γραμμικό ομοπολυμερές,

αποτελείται από μονομερή D-γλυκόζης, συνδεδεμένα με β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η ημικυτταρίνη είναι ένα διακλαδισμένο συμπολυμερές, αποτελούμενο από πεντόζες (D-ξυλόζη, L-αραβινόζη), εξόζες (D-μαννόζη, D-γλυκόζη, D-γαλακτόζη) και ουρονικά οξέα. Για την υδρόλυση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης στα μονομερή τους, θα αναφερθούμε με περισσότερες λεπτομέρειες στο κεφάλαιο 4.

Το άμυλο είναι ένα πολυμερές της γλυκόζης, στο οποίο οι μονοσακχαριτικές μονάδες συνδέονται με α -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Το άμυλο μπορεί να διαχωριστεί σε δυο κλάσματα: σε αυτό που είναι αδιάλυτο στο νερό και ονομάζεται αμυλόζη και σε αυτό που είναι διαλυτό και ονομάζεται αμυλοπηκτίνη (Σχήμα 3.7). Η αμυλόζη, που αντιστοιχεί στο 10-20% περίπου του βάρους του αμύλου, αποτελείται από εκατοντάδες μόρια α -D-γλυκόζης ενωμένα με α -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η αμυλοπηκτίνη, που αποτελεί το υπόλοιπο 80-90% του αμύλου, έχει πιο περίπλοκη δομή από την αμυλόζη καθώς παρουσιάζει διακλαδώσεις περίπου κάθε 20-30 μόρια γλυκόζης, τα οποία συνδέονται με α -1,6-γλυκοζιτικούς δεσμούς.

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

Σχήμα 3.7. Δομή αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης.

Σχήμα 3.8. Τυπικοί δισακχαρίτες και τα αντίστοιχα μονομερή τους.

β) Υδρόλυση πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από αμινοξέα, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με αμιδικούς (πεπτιδικούς) δεσμούς. Οι δεσμοί αυτοί αναπτύσσονται ανάμεσα στην αμινομάδα ($-NH_2$) του ενός αμινοξέος και την καρβοξυλομάδα ($-COOH$) κάποιου άλλου αμινοξέος, σχηματίζοντας μια επιμήκη μακριά αλυσίδα. Για λόγους ταξινόμησης, αλυσίδες με λιγότερα από 50 αμινοξέα ονομάζονται συχνά ως πεπτίδια, ενώ ο όρος πρωτεΐνες χρησιμοποιείται για τις μεγαλύτερες αλυσίδες.

Οι πρωτεΐνες υδρολύονται από εξωκυτταρικά ένζυμα, τις πρωτεάσες, σε πολυπεπτίδια και αμινοξέα. Οι πρωτεάσες, ένζυμα που διασπούν τους πεπτιδικούς

δεσμούς, διακρίνονται σε εξωπρωτεάσες και ενδοπρωτεάσες ανάλογα με τη θέση των πεπτιδικών δεσμών που διασπούν στην πρωτεϊνική αλυσίδα (στα άκρα ή στο μέσο της αλυσίδας, αντίστοιχα). Τα αμινοξέα που συνήθως απαντώνται στις πρωτεΐνες φαίνονται στο σχήμα 3.9.

Όνομα	Δομή	Συντομογραφίες	Όνομα	Δομή	Συντομογραφίες
Γλυκίνη		Gly G	Κυστεΐνη		Cys C
Αλανίνη		Ala A	Μεθειονίνη		Met M
Βαλίνη		Val V	Λυσίνη		Lys K
Λευκίνη		Leu L	Αργινίνη		Arg R
Ισολευκίνη		Ile I	Ιστιδίνη		His H
Φαινυλαλανίνη		Phe F	Θρυπτοφάνη		Trp W
Προλίνη		Pro P	Ασπαρτικό οξύ		Asp D
Σερίνη		Ser S	Γλουταμικό οξύ		Glu E
Θρεονίνη		Thr T	Ασπαραγίνη		Asn N
Τυροσίνη		Tyr Y	Γλουταμίνη		Gln Q

Σχήμα 3.9. Τα 20 συνήθη αμινοξέα των πρωτεϊνών.

γ) Υδρόλυση λιπιδίων

Τα λιπίδια και ειδικότερα οι εστέρες της γλυκερόλης και των λιπαρών οξέων, υδρολύονται από τις λιπάσες, ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη διάσπαση των εστερικών δεσμών. Το αποτέλεσμα της υδρόλυσης είναι η απελευθέρωση γλυκερόλης και ανώτερων λιπαρών οξέων, που δεν είναι απαραίτητο να είναι τα ίδια. Τα λιπίδια ταξινομούνται σε δυο γενικές κατηγορίες: σε αυτά που περιέχουν εστερομάδες και μπορούν να υδρολυθούν (όπως λίπη) και σε αυτά που δεν περιέχουν εστερομάδες και δεν υδρολύονται.

3.4.2. Οξεογένεση στην αναερόβια χώνευση

Κατά το στάδιο της οξεογένεσης/ζύμωσης διαλυτό οργανικό υλικό βιοαποδομείται προς απλούστερες οργανικές ενώσεις, κυρίως προς πτητικά λιπαρά οξέα και αλκοόλες με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Στη συνέχεια, περιγράφεται η οξεογένεση από διάφορες οργανικές ενώσεις (όπως σάκχαρα, αμινοξέα, λιπαρά οξέα) με τους υδατάνθρακες (σάκχαρα) να αποτελούν την κυριότερη πηγή άνθρακα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου [Classen *et al.*, 1999; Lay *et al.*, 2003].

3.4.2.1. Ζύμωση σακχάρων και προϊόντα

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

Η βιοαποδόμηση της γλυκόζης μέσω διάφορων μεταβολικών δικτύων έχει μελετηθεί εκτενώς, καθώς αποτελεί ένα από τα βασικότερα στοιχεία του κυτταρικού μεταβολισμού. Το πιο σύνηθες μεταβολικό δίκτυο είναι το δίκτυο Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) γνωστό και ως γλυκόλυση. Σε κάποιες ζυμώσεις η γλυκόζη βιοαποδομείται μέσω του δικτύου των φωσφορικών πεντοζών ή και μέσω του δικτύου Entner-Doudoroff (ED). Η ζύμωση άλλων σακχάρων εκτός της γλυκόζης περιλαμβάνει την ενζυμική μετατροπή τους είτε σε γλυκόζη είτε σε άλλες ενδιάμεσες ενώσεις των παραπάνω δικτύων. Ο σχηματισμός του υδρογόνου συνεισφέρει έμμεσα στην αξιοποίηση των παραγόμενων ηλεκτρονίων, που μεταφέρονται μέσω της ανηγμένης μορφής των συνενζύμων NAD^+ ή NADP^+ (Σχήμα 3.2).

Μεταβολικό δίκτυο Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ή γλυκόλυση

Η γλυκόλυση είναι μια ακολουθία από δέκα ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις, μέσω των οποίων η γλυκόζη διασπάται σε δυο ισοδύναμα μόρια πυροσταφυλικού οξέος (Σχήμα 3.10). Αρχικά, η γλυκόζη φωσφορυλιώνεται από το ATP προς 1,6-διφωσφορική φρουκτόζη, η οποία διασπάται, από το ένζυμο αλδολάση, σε δύο τμήματα τριών ατόμων άνθρακα (3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη και διυδροξυ-φωσφορική ακετόνη). Η 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη συνεχίζει στο επόμενο στάδιο της γλυκόλυσης, ενώ η διυδροξυ-φωσφορική ακετόνη ισομερίζεται πρώτα, από το

ένζυμο ισομεράση της φωσφορικής τριόζης. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός δυο μορίων 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης, τα οποία οξειδώνονται και φωσφορυλιώνονται προς 1,3-διφωσφογλυκερικό οξύ καταλήγοντας τελικά σε πυροσταφυλικό οξύ.

Το τελικό αποτέλεσμα της γλυκόλυσης, με καθαρό ενεργειακό κέρδος για κάθε μόριο γλυκόζης δυο μόρια ATP και δυο μόρια NADH, θα μπορούσε συνοπτικά να αποδοθεί με την παρακάτω εξίσωση:

Μεταβολικό δίκτυο Entner-Doudoroff (ED)

Αρχικά, η γλυκόζη φωσφορυλιώνεται από το ATP οπότε προκύπτει η 6-φωσφορική γλυκόζη, η οποία μετατρέπεται σε 2-κετο-3δεοξυ-6-φωσφογλυκονικό οξύ (Σχήμα 3.11). Στη συνέχεια, το οξύ αυτό διασπάται σε πυροσταφυλικό οξύ και 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη. Το τελευταίο αυτό προϊόν οξειδώνεται επίσης σε πυροσταφυλικό οξύ μέσα από το μεταβολικό δίκτυο της γλυκόλυσης. Τελικά, το καθαρό ενεργειακό κέρδος για κάθε μόριο γλυκόζης είναι ένα μόριο ATP και ένα μόριο NADH και NADPH.

Μεταβολικό δίκτυο φωσφορικών πεντοζών

Ένα άλλο μεταβολικό δίκτυο που έχει βρεθεί ότι είναι ενεργό στην αναερόβια ζύμωση είναι το δίκτυο των φωσφορικών πεντοζών (Σχήμα 3.12). Πρόκειται για μια κυκλική διαδικασία στην οποία οι φωσφορικές εξόζες (η γλυκόζη φωσφορυλιώνεται από το ATP οπότε σχηματίζεται η 6-φωσφορική γλυκόζη) μικραίνουν κατά ένα άτομο άνθρακα με αποβολή ενός μορίου διοξειδίου του άνθρακα και ενός υδρογόνου. Η προκύπτουσα φωσφορική πεντόζη ξαναμετατρέπεται σε φωσφορική εξόζη και φωσφορική γλυκεραλδεΐδη (ενδιάμεσο προϊόν της γλυκόλυσης) μέσα από διάφορες αντιδράσεις ανακατατάξεως. Τελικά, το καθαρό ενεργειακό κέρδος για κάθε μόριο γλυκόζης είναι τέσσερα μόρια ATP, τρία μόρια NADH και δύο μόρια NADPH.

Σχήμα 3.10. Μεταβολικό δίκτυο Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ή γλυκόλυση.

Σχήμα 3.11. Μεταβολικό δίκτυο Entner-Doudoroff (ED).

Σχήμα 3.12. Μεταβολικό δίκτυο φωσφορικών πεντοζών.

Προϊόντα από τη ζύμωση των σακχάρων

Το πυροσταφυλικό οξύ, που βρίσκεται στο κέντρο του ενδιαμέσου μεταβολισμού των σακχάρων και είναι απαραίτητο για τη σύνθεση πολλών μεταβολιτών, μπορεί να οξειδωθεί ακόμα περαιτέρω με τη βοήθεια ειδικών ενζύμων (Σχήμα 3.13). Κοινό σημείο σε όλες αυτές τις οξειδωτικές πορείες είναι ο σχηματισμός του ακετύλο-CoA, πρόδρομη ένωση για ένα μεγάλο αριθμό βιοσυνθέσεων (Σχήμα 3.13α), με εξαίρεση την αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος προς ακεταλδεΐδη (Σχήμα 3.13β). Το υδρογόνο που αποσπάται κατά την οξείδωση του πυροσταφυλικού οξέος προς ακετύλο-CoA, μεταφέρεται είτε σε ένα μόριο NADH είτε σε ένα μόριο φερρεδοξίνης, ενώ ταυτόχρονα παράγεται διοξείδιο του άνθρακα.

Σχήμα 3.13. Οξείδωση πυροσταφυλικού οξέος προς (α) ακετύλο-CoA και (β) ακεταλδεΐδη.

Γαλακτικό οξύ

Το γαλακτικό οξύ είναι ένα πολύ κοινό τελικό προϊόν των βακτηριακών ζυμώσεων. Μερικά γένη βακτηρίων (όπως *Lactobacillus*, *Sporolactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*) γνωστά ως βακτήρια του γαλακτικού οξέος, παράγουν γαλακτικό οξύ από γλυκόζη, με βάση ένα από τα ακόλουθα δίκτυα [Gottschalk, 1986].

- *Ομοζυμωτικό δίκτυο (homofermentative pathway)*

Τα ομοζυμωτικά βακτήρια αφομοιώνουν τη γλυκόζη, η οποία μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω του μεταβολικού δικτύου της γλυκόλυσης (EMP) και στη συνέχεια σε γαλακτικό οξύ μέσω του ενζύμου αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος, με απόδοση 2 mol ATP/mol γλυκόζης (Σχήμα 3.14). Είναι φανερό από το σχήμα ότι, κατά την ομοζυμωτική μετατροπή της γλυκόζης σε γαλακτικό οξύ δεν παράγεται υδρογόνο, καθώς το πυροσταφυλικό οξύ δρα ως δέκτης των ηλεκτρονίων που παράγονται κατά την οξείδωση του NADH προς NAD⁺.

Σχήμα 3.14. Παραγωγή γαλακτικού οξέος από γλυκόζη μέσω του ομοζυμωτικού δικτύου (homofermentative pathway).

- *Ετεροζυμωτικό δίκτυο (heterofermentative pathway)*

Τα ετεροζυμωτικά βακτήρια αφομοιώνουν τη γλυκόζη, η οποία μετατρέπεται σε 5-φωσφορική ριβουλόζη μέσω του δικτύου των φωσφορικών πεντοζών. Στη συνέχεια, ο επιμερισμός της 5-φωσφορικής ριβουλόζης οδηγεί στην 5-φωσφορική ξυλουλόζη, η οποία μετατρέπεται σε 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη και ακετυλοφωσφορικό οξύ, μέσω του ενζύμου φωσφοκετολάση (phosphoketolase). Το ακετυλο-

φωσφορικό οξύ μετατρέπεται σε αιθανόλη και η 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη σε γαλακτικό οξύ μέσω του ομοζυμωτικού δικτύου (Σχήμα 3.15). Η καθαρή απόδοση σε ATP είναι 1 mol/mol γλυκόζης, ενώ δεν παράγεται υδρογόνο.

Σχήμα 3.15. Παραγωγή γαλακτικού οξέος από γλυκόζη μέσω του ετεροζυμωτικού δικτύου (heterofermentative pathway).

- *Δίκτυο bifidum (bifidum pathway)*

Βακτήρια που ανήκουν στο γένος *Bifidobacterium bifidum* παράγουν γαλακτικό οξύ ως κύριο προϊόν από τη ζύμωση των σακχάρων. Το βιοχημικό δίκτυο αυτής της ζύμωσης φαίνεται στο σχήμα 3.16, η απόδοση σε ATP (2.5 mol/mol γλυκόζης) είναι υψηλότερη από τα άλλα δυο δίκτυα παραγωγής γαλακτικού οξέος, ενώ και στην περίπτωση αυτή δεν παράγεται υδρογόνο.

Σχήμα 3.16. Παραγωγή γαλακτικού οξέος από γλυκόζη μέσω του δικτύου bifidum.

Επίσης, ένας μεγάλος αριθμός σακχάρων εκτός της γλυκόζης βιοαποδομείται από τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος, όπως φρουκτόζη, γαλακτόζη, μαννόζη, σακχαρόζη και πεντόζες, με τα προϊόντα της ζύμωσης να διαφέρουν ανάλογα με το υπόστρωμα [Gottschalk, 1986].

Αιθανόλη

Η αιθανόλη ως κύριο τελικό προϊόν προέρχεται από τη δράση ζυμών, κυρίως του γένους *Saccharomyces* και ορισμένων βακτηρίων, κυρίως του γένους *Zymomonas*. Η παραγωγή αιθανόλης από γλυκόζη πραγματοποιείται μέσω του δικτύου της γλυκόλυσης (EMP). Το πυροσταφυλικό οξύ που παράγεται δεν μετατρέπεται σε ακέτυλο-CoA αλλά αποκαρβοξυλιώνεται προς ακεταλδεΐδη μέσω ενός ενζύμου (πυροσταφυλική αποκαρβοξυλάση), το οποίο θεωρείται ως το ένζυμο κλειδί για την παραγωγή αιθανόλης [Gottschalk, 1986]. Στη συνέχεια, η ακεταλδεΐδη ανάγεται μέσω του NADH προς αιθανόλη. Ωστόσο, πολλά βακτήρια, όπως βακτήρια του γαλακτικού οξέος, εντεροβακτήρια και *Clostridia*, παράγουν σημαντικές ποσότητες αιθανόλης χωρίς να διαθέτουν αυτό το ένζυμο. Στην περίπτωση αυτή, το ακέτυλο-CoA αποτελεί πρόδρομο της ακεταλδεΐδης καθώς ανάγεται από το ένζυμο

αφυδρογονάση της ακεταλδεΐδης. Όπως φαίνεται στο σχήμα 3.17, ο καταβολισμός της γλυκόζης σε αιθανόλη συνοδεύεται από την παραγωγή 2 mol ATP/mol γλυκόζης, ενώ δεν παράγεται υδρογόνο.

Σχήμα 3.17. Βιοχημικό δίκτυο καταβολισμού της γλυκόζης προς αιθανόλη.

Βουτυρικό οξύ

Η ζύμωση των σακχάρων προς βουτυρικό οξύ παρατηρήθηκε για πρώτη φορά από τον Pasteur (1861). Οι μικροοργανισμοί που παράγουν βουτυρικό οξύ ως κύριο μεταβολικό προϊόν είναι υποχρεωτικά αναερόβιοι και ανήκουν στα γένη *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium* και *Fusobacterium* [Gottschalk, 1986].

Στο σχήμα 3.18 απεικονίζεται το βιοχημικό δίκτυο παραγωγής του βουτυρικού οξέος από γλυκόζη. Πιο συγκεκριμένα, η γλυκόζη μέσω του δικτύου της γλυκόλυσης (EMP) και του ενζυμικού συστήματος PFOR μετατρέπεται σε ακετυλο-CoA, διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο (Σχήμα 3.20). Στη συνέχεια, το ακετυλο-CoA μέσω κατάλληλων ενζύμων μετατρέπεται σε βουτυρικό οξύ με καθαρή απόδοση 3 mol ATP/mol γλυκόζης. Βακτήρια που ανήκουν στο γένος *Clostridium* και παράγουν βουτυρικό οξύ μπορούν να παράγουν επίσης *n*-βουτανόλη και ακετόνη υπό κατάλληλες συνθήκες ($\text{pH} < 5$), σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση [Gottschalk, 1986]:

Σχήμα 3.18. Βιοχημικό δίκτυο καταβολισμού της γλυκόζης προς βουτυρικό οξύ.

Προπιονικό οξύ

Πολλά αναερόβια βακτήρια παράγουν προπιονικό οξύ ως κύριο προϊόν από τη ζύμωση των σακχάρων, με ταυτόχρονη παραγωγή οξικού οξέος και διοξειδίου του άνθρακα, σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:

Επίσης, προπιονικό οξύ παράγεται από το γαλακτικό οξύ σύμφωνα με δύο βιοχημικά δίκτυα: (α) το δίκτυο του ακρυλικού οξέος (acrylate pathway) και (β) το δίκτυο του ηλεκτρικού-προπιονικού οξέος (succinate-propionate pathway) [Gottschalk, 1986]. Ελάχιστοι μικροοργανισμοί παράγουν προπιονικό οξύ σύμφωνα με το δίκτυο του ακρυλικού οξέος με απόδοση 1 mol ATP/3 mol γαλακτικού οξέος ενώ δεν παράγεται υδρογόνο. Αντίθετα, η πλειοψηφία των μικροοργανισμών παράγουν προπιονικό οξύ από γαλακτικό οξύ σύμφωνα με το δίκτυο του ηλεκτρικού-προπιονικού οξέος με απόδοση 1 mol ATP/mol γαλακτικού οξέος και κατανάλωση 1 mol H₂/mol προπιονικού οξέος που παράγεται.

Δίκτυο ακρυλικού οξέος

Δίκτυο ηλεκτρικού-προπιονικού οξέος

Οξικό οξύ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το οξικό οξύ μπορεί να παραχθεί μαζί με άλλα προϊόντα. Πιο συγκεκριμένα, οξικό οξύ παράγεται ταυτόχρονα με γαλακτικό οξύ (όταν η γλυκόζη καταβολίζεται μέσω του δικτύου *bifidum*, σχήμα 3.16) και ταυτόχρονα με προπιονικό οξύ (είτε κατά τον καταβολισμό της γλυκόζης είτε όταν γαλακτικό οξύ καταβολίζεται μέσω του δικτύου του ακρυλικού οξέος), χωρίς όμως να παράγεται υδρογόνο. Επίσης, εξόζες μετατρέπονται από οξικογόνα βακτήρια (π.χ. *C. acetium*) αποκλειστικά και μόνο σε οξικό οξύ με μηδενική παραγωγή υδρογόνου, όπως περιγράφεται από την εξίσωση που ακολουθεί [Gottschalk, 1986]:

Ωστόσο, οξικό οξύ μπορεί να παραχθεί ταυτόχρονα με υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα και απόδοση 4 mol ATP/mol γλυκόζης, όταν η γλυκόζη καταβολίζεται μέσω του δικτύου της γλυκόλυσης (EMP) σε δύο μόρια πυροσταφυλικού οξέος (Σχήμα 3.19).

Σχήμα 3.19. Βιοχημικό δίκτυο καταβολισμού της γλυκόζης προς οξικό οξύ.

Τέλος, ομοοξικογόνα βακτήρια (όπως *C. aceticum*) μπορούν να παράγουν οξικό οξύ από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα (εξίσωση 3.9) μειώνοντας την απόδοση της αναερόβιας ζύμωσης σε υδρογόνο [Hawkes *et al.*, 2007].

Υδρογόνο

Η αναερόβια βιολογική διεργασία παραγωγής υδρογόνου από ζυμωτικά βακτήρια (κυρίως *Clostridia*) απαιτεί την παρουσία του ενζύμου της υδρογενάσης, που καταλύει την πιο απλή χημική αντίδραση παραγωγής υδρογόνου: $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$. Οι υδρογενάσες καταλύουν την οξείδωση του NADH προς NAD^+ και της ανηγμένης φερρεδοξίνης (Fd_{red}) προς οξειδωμένη φερρεδοξίνη (Fd_{ox}), αντιδράσεις αναγκαίες για να πραγματοποιηθεί η γλυκόλυση και να παραχθεί ενέργεια υπό τη μορφή ATP.

Πιο συγκεκριμένα, αναερόβια ζυμωτικά βακτήρια παράγουν υδρογόνο κατά το στάδιο της οξεογένεσης μέσω δυο ενζυμικών συστημάτων, που σχετίζονται άμεσα με την οξείδωση του πυροσταφυλικού οξέος [Muller, 2001]. Σύμφωνα με το πρώτο ενζυμικό σύστημα, το σύστημα PFL (Pyruvate:Formate Lyase system), το πυροσταφυλικό οξύ οξειδώνεται προς ακετυλο-CoA και μυρμηκικό οξύ, με το τελευταίο να διασπάται προς υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω του ενζύμου υδρογονολύση του μυρμηκικού οξέος (Σχήμα 3.20). Το σύστημα PFOR (Pyruvate:Ferredoxin OxidoReductase system) είναι το δεύτερο ενζυμικό σύστημα, σύμφωνα με το οποίο το πυροσταφυλικό οξύ οξειδώνεται προς ακετυλο-CoA, διοξείδιο του άνθρακα και ανηγμένη φερρεδοξίνη, η οποία οξειδώνεται, μέσω του ενζύμου υδρογενάση, προς οξειδωμένη φερρεδοξίνη και υδρογόνο (Σχήμα 3.20). Τα εντερικά βακτήρια παράγουν υδρογόνο από το μυρμηκικό οξύ μέσω του ενζυμικού συστήματος PFL, ενώ τα αυστηρώς αναερόβια βακτήρια (π.χ. *Clostridia*) παράγουν υδρογόνο από την ανηγμένη φερρεδοξίνη μέσω του ενζυμικού συστήματος PFOR [Muller, 2001].

Επίσης, υδρογόνο μπορεί να παραχθεί κατά την οξείδωση του NADH, μέσω του ενζύμου της υδρογενάσης. Ωστόσο, αυτή η καταλυόμενη αντίδραση είναι θερμοδυναμικά εφικτή μόνο όταν η μερική πίεση του υδρογόνου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα ($<10^{-3}$ atm) (Σχήμα 3.22) [Gottschalk, 1986].

Σύστημα PFL (Pyruvate:Formate Lyase system)

Σύστημα PFOR (Pyruvate:Ferredoxin OxidoReductase system)

Σχήμα 3.20. Παραγωγή υδρογόνου από πυροσταφυλικό οξύ μέσω των ενζυμικών συστημάτων PFL και PFOR.

Σχήμα 3.21. Αντιπροσωπευτικά βιοχημικά δίκτυα αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου [Tanisho *et al.*, 1998].

Σχήμα 3.22. Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs για την οξείδωση του NADH προς NAD^+ και H_2 , ως συνάρτηση της μερικής πίεσης του υδρογόνου.

Η ικανότητα που έχουν τα οξεογόνα βακτήρια να προσαρμόζουν τον καταβολισμό τους ανάλογα με τη δυνατότητα τους να οξειδώνουν τα ανηγμένα συνένζυμα (NADH και Fd_{red}) οδηγεί στην παραγωγή ενός μίγματος τελικών προϊόντων (διακλαδωμένο δίκτυο) [Gottschalk, 1986]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η απόδοση της διεργασίας όσον αφορά την παραγωγή υδρογόνου να μειώνεται σημαντικά από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των 4 mol H_2 /mol γλυκόζης, που επιτυγχάνεται κατά την αναερόβια ζύμωση, όταν το οξικό οξύ είναι το μοναδικό τελικό προϊόν της οξεογένεσης [Gottschalk, 1986]:

Ωστόσο, αύξηση της συγκέντρωσης του οξικού οξέος δεν αποτελεί δείκτη για αύξηση της απόδοσης σε υδρογόνο, καθώς όπως προαναφέρθηκε οξικό οξύ παράγεται χωρίς ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου (εξισώσεις 3.8 και 3.9).

Στο σχήμα που ακολουθεί φαίνονται συνοπτικά τα κυριότερα προϊόντα που προκύπτουν από τη ζύμωση του πυροσταφυλικού οξέος.

Σχήμα 3.23. Τα σημαντικότερα προϊόντα από τη ζύμωση των σακχάρων.

3.4.2.2. Ζύμωση αμινοξέων και προϊόντα

Ένας μεγάλος αριθμός αμινοξέων αλλά και άλλων αζωτούχων ενώσεων μπορεί να αποτελέσει πηγή ενέργειας και άνθρακα για τα αναερόβια βακτήρια, που ανήκουν κυρίως στο γένος *Clostridium* [Gottschalk, 1986]. Η ζύμωση των αμινοξέων είναι μια αρκετά πολύπλοκη διεργασία καθώς κάθε ένα από τα 20 διαφορετικά αμινοξέα, διαφορετικής δομής, βιοαποδομείται μέσω κάποιας ιδιαίτερης μεταβολικής διεργασίας.

Τρανσαμίνωση ακολουθούμενη από απαμίνωση

Τα περισσότερα αμινοξέα υφίστανται απώλεια των ατόμων του αζώτου μέσω μιας αντίδρασης τρανσαμίνωσης, κατά την οποία η αμινομάδα ($-\text{NH}_2$) του αμινοξέος ανταλλάσσει τη θέση της με την κετονομάδα του α -κετογλουταρικού ιόντος. Τα προϊόντα είναι ένα νέο α -κέτο οξύ και γλουταμικό ιόν (Σχήμα 3.24). Το γλουταμικό ιόν, το οποίο περιέχει το άτομο αζώτου του αμινοξέος που υπέστη τρανσαμίνωση, υφίσταται στη συνέχεια οξειδωτική απαμίνωση, που οδηγεί σε κατιόν αμμωνίου (NH_4^+) και σε ένα αναγεννημένο α -κετογλουταρικό ιόν (Σχήμα 3.25). Το α -κετο οξύ αποδομούμενο περαιτέρω μπορεί να δώσει πτητικά λιπαρά οξέα. Συνεπώς, τα αμινοξέα μετατρέπονται κυρίως σε οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, άλλα διακλαδωμένα οργανικά οξέα καθώς επίσης σε υδρογόνο, διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία.

Σχήμα 3.24. Αντίδραση τρανσαμίνωσης.

Σχήμα 3.25. Αντίδραση οξειδωτικής απαμίνωσης.

Σχήμα 3.26. Συνολική αντίδραση τρανσαμίνωσης ακολουθούμενη από απαμίνωση.

Αντίδραση Stickland

Αν και αρκετά βακτήρια που ανήκουν στο γένος *Clostridium* αναπτύσσονται μόνο με ένα αμινοξύ στο θρεπτικό τους μέσο, υπάρχουν πολλά βακτήρια που αποδομούν μίγμα αμινοξέων [Gottschalk, 1986]. Πιο συγκεκριμένα, οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα μεταξύ δυο αμινοξέων, όπου το ένα οξειδώνεται και το άλλο ανάγεται. Αυτού του είδους ο μεταβολισμός περιγράφεται από την αντίδραση Stickland. Στον πίνακα 3.4 φαίνονται τα αμινοξέα που λαμβάνουν

μέρος σε αντιδράσεις Stickland, καθώς και τα προϊόντα που προκύπτουν από την οξείδωση ή την αναγωγή τους [Gottschalk, 1986].

Πίνακας 3.4. Αμινοξέα που λαμβάνουν μέρος σε αντιδράσεις Stickland καθώς και τα προϊόντα που προκύπτουν από την οξείδωση ή την αναγωγή τους.

Δότης ηλεκτρονίων		Δέκτης ηλεκτρονίων	
υπόστρωμα	προϊόν	υπόστρωμα	προϊόν
αλανίνη	οξικό οξύ+CO ₂ +NH ₃	γλυκίνη	οξικό οξύ+NH ₃
λευκίνη	3-μεθυλ-βουτυρικό οξύ+CO ₂ +NH ₃	προλίνη	5-αμινοβαλερικό οξύ
ισολευκίνη	2-μεθυλ-βουτυρικό οξύ+CO ₂ +NH ₃	φαινυλαλανίνη	φαινυλ-προπιονικό οξύ+NH ₃
βαλίνη	2-μεθυλ-προπιονικό οξύ+CO ₂ +NH ₃	θρυπτοφάνη	ινδολ-προπιονικό οξύ+NH ₃
φαινυλαλανίνη	φαινυλ-οξικό οξύ+CO ₂ +NH ₃	λευκίνη	4-μεθυλ-βαλερικό οξύ+NH ₃
θρυπτοφάνη	ινδολ-οξικό οξύ+CO ₂ +NH ₃		
ιστιδίνη	γλουταμινικό οξύ+CO ₂ +NH ₃		

3.4.2.3. Ζύμωση λιπών και προϊόντα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η υδρόλυση των λιπιδίων οδηγεί στο σχηματισμό γλυκερόλης και ανώτερων λιπαρών οξέων. Κατά τη διεργασία της ζύμωσης, η γλυκερόλη φωσφορυλιώνεται από το ATP και στη συνέχεια οξειδώνεται προς 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη, η οποία εισέρχεται στην καταβολική διεργασία των υδατανθράκων (Σχήμα 3.27).

Σχήμα 3.27. Αντίδραση φωσφορυλίωσης της γλυκερόλης.

Τα ανώτερα λιπαρά οξέα καταβολίζονται μέσω μιας επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας τεσσάρων ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων, που αποτελούν τη διεργασία της β-οξείδωσης (Σχήμα 3.28). Σε κάθε ολοκλήρωση αυτής της διεργασίας, αποσπάται μια ακετύλο ομάδα από το άκρο της αλυσίδας του λιπαρού οξέος, μέχρι

τελικά να διασπαστεί ολόκληρο το μόριο. Κάθε ακέτυλο ομάδα μπορεί να υποστεί περαιτέρω πολλούς μετασχηματισμούς, ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες και το μικροοργανισμό. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα που παράγονται είναι είτε οξικό οξύ από την οξείδωση ανώτερων λιπαρών οξέων με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα, είτε οξικό οξύ και προπιονικό οξύ από την οξείδωση ανώτερων λιπαρών οξέων με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα.

Ο ρυθμός βιοαποδόμησης των λιπιδίων είναι στις περισσότερες περιπτώσεις αρκετά μικρότερος από το ρυθμό βιοαποδόμησης των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών [Yu & Fang, 2000]. Επιπλέον, η βιοαποδόμηση των ανώτερων λιπαρών οξέων μπορεί να μειωθεί ή να παρεμποδιστεί εντελώς από την υψηλή μερική πίεση υδρογόνου. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η μέγιστη μερική πίεση υδρογόνου, κατά την οποία δεν επηρεάζεται η β -οξείδωση, είναι αρκετά χαμηλή της τάξεως 10^{-4} atm [Zinder & Koch, 1984; Grady *et al.*, 1999]. Επομένως, είναι πλέον κατανοητό ότι, σε αναερόβιους αντιδραστικές παραγωγής υδρογόνου, όπου η μερική πίεση του υδρογόνου καθίσταται αρκετά μεγαλύτερη από τις απαγορευτικές τιμές του σχήματος 3.5 και η δράση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο έχει κατασταλεί, καθίσταται σχεδόν αδύνατη η υδρόλυση των λιπιδίων και ο καταβολισμός των ανώτερων και πτητικών λιπαρών οξέων.

Σχήμα 3.28. Μηχανισμός β -οξείδωσης ενός λιπαρού οξέος.

3.5. Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου

3.5.1. Θρεπτικά συστατικά και παρεμποδιστές

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

Το άζωτο είναι το πιο απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Σύμφωνα με αρκετές μελέτες, η βέλτιστη συγκέντρωση αζώτου κυμαίνεται από 0.1 έως 2 g N/L και ο λόγος C/N από 3.3 έως 130 [Li & Fang, 2007]. Για παράδειγμα, ο Ueno και οι συνεργάτες του (2001a) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου από κυτταρίνη (10 g/L) σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις αζώτου (0.13 και 0.9 g N/L) και αντίστοιχους λόγους C/N 34 και 5. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου (272 mL H₂/g εξόζης) με 0.9 g N/L και λόγο C/N ίσο με 5, ήταν περίπου 100% υψηλότερη από την παραγωγή υδρογόνου (136 mL H₂/g εξόζης) με 0.13 g N/L και λόγο C/N ίσο με 34. Επίσης, οι Lin και Lay (2004a) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου σε τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις σακχαρόζης με 0.9 g N/L και λόγους C/N ίσους με 130, 98, 47 και 40 και παρατήρησαν ότι, η μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο (327 mL H₂/g εξόζης) επιτεύχθηκε για λόγο C/N ίσο με 47.

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

Οι Lin και Lay (2005) μελέτησαν την επίδραση 11 ιχνοστοιχείων στην αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου και κατέληξαν ότι, το μαγνήσιο, το νάτριο, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος είναι τα πιο απαραίτητα ιχνοστοιχεία, με το μαγνήσιο να είναι το πιο σημαντικό από τα τέσσερα. Η μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο, από απόβλητο πλούσιο σε σακχαρόζη, ήταν 233 mL H₂/g εξόζης, για 4.8 mg Mg²⁺/L, 393 mg Na⁺/L, 0.25 mg Zn²⁺/L και 1 mg Fe²⁺/L. Ωστόσο οι μελέτες επικεντρώνονται στην επίδραση του σιδήρου, καθώς η παρουσία του είναι ουσιώδης

για τη δράση του ενζύμου υδρογενάση [Hawkes *et al.*, 2002]. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι, η περιορισμένη συγκέντρωση σε σίδηρο όχι μόνο οδηγεί σε μείωση της παραγωγής σε υδρογόνο αλλά και σε αύξηση της παραγωγής σε αλκοόλες (π.χ. αιθανόλη και βουτανόλη) [Lee *et al.*, 2001] με τη βέλτιστη συγκέντρωση σιδήρου να κυμαίνεται από 10 mg Fe²⁺/L [Liu & Shen, 2004] έως 353 mg Fe²⁺/L [Lee *et al.*, 2004].

Βαρέα μέταλλα (όπως κάδμιο, χρώμιο, ψευδάργυρος, χαλκός, νικέλιο και μόλυβδος) που βρίσκονται κυρίως σε βιομηχανικά αλλά και αστικά απόβλητα είναι ιδιαίτερα παρεμποδιστικά για την αναερόβια χώνευση. Ο Hsieh (2004) διαπίστωσε ότι κατά τη βιολογική παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη, ο ψευδάργυρος (C₅₀ 4.5 mg/L) ήταν ελάχιστα πιο τοξικός από το χαλκό (C₅₀ 6.5 mg/L), τα οποία ήταν πάρα πολύ πιο τοξικά από το χρώμιο (C₅₀ 60 mg/L). Δυο ξεχωριστές μελέτες για την παραγωγή υδρογόνου από απόβλητα τυροκομείου έδειξαν ότι ο χαλκός (C₅₀ 65 mg/L) ήταν πιο τοξικός από τον ψευδάργυρο (C₅₀ 120 mg/L) [Yu & Fang, 2001a] και το χρώμιο (C₅₀ 72 mg/L) ήταν πιο τοξικό από το κάδμιο (C₅₀ 170 mg/L) [Yu & Fang, 2001b].

3.5.2. Λειτουργικές παράμετροι

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κρίσιμες λειτουργικές παράμετροι για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου είναι το pH, η θερμοκρασία και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) [Li & Fang, 2007].

Το pH είναι μια από τις βασικότερες λειτουργικές παραμέτρους καθώς μπορεί να επηρεάσει την ενεργότητα της υδρογενάσης (παρεμπόδιση για χαμηλές τιμές του pH), το δίκτυο μεταβολισμού των υποστρωμάτων, ενώ μπορεί να συμβάλλει στην καταστολή της δράσης των μεθανογόνων βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο [Li & Fang, 2007; Khanal *et al.*, in press].

Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες, το βουτυρικό οξύ και το οξικό οξύ είναι τα κύρια προϊόντα κατά την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου, ενώ οι χαμηλές τιμές του pH φαίνεται να ευνοούν την παραγωγή βουτυρικού οξέος. Η παραγωγή του προπιονικού οξέος αυξάνεται αισθητά για τιμές pH κοντά στο 7 ή και παραπάνω [Li & Fang, 2007]. Οι ερευνητές Fang και Liu (2002) μελέτησαν την κατανομή των προϊόντων για τιμές pH από 4 έως 7 και διαπίστωσαν ότι, το βουτυρικό οξύ ήταν το κυρίαρχο προϊόν (μέχρι 45.6%) για pH μικρότερο ή ίσο του 6,

ενώ το οξικό οξύ ήταν το κυρίαρχο προϊόν (μέχρι 34.1%) για pH μεγαλύτερο ή ίσο του 6.5. Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν ότι, η βέλτιστη τιμή του pH για την παραγωγή υδρογόνου ήταν 5.5 (286 mL H₂/g εξόζης). Επίσης, σύμφωνα με τη μελέτη του ερευνητή Kim και των συνεργατών του (2004), το βουτυρικό οξύ ήταν το κύριο προϊόν για pH=5.5, ενώ η βουτανόλη έγινε το κυρίαρχο προϊόν για pH=4.3.

Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις των πτητικών λιπαρών οξέων (κυρίως οξικού οξέος και βουτυρικού οξέος) μπορεί να περιορίσουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που παράγουν υδρογόνο [Zheng & Yu, 2005]. Οι Van Ginkel και Logan (2005) παρατήρησαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου σταμάτησε, όταν πρόσθεσαν οξικό οξύ και βουτυρικό οξύ, μέχρι η τελική συγκέντρωση τους να γίνει ίση με 50mM και 63mM, αντίστοιχα (pH=5). Πιο συγκεκριμένα, τα πτητικά λιπαρά οξέα μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη μόνο ως αδιάστατα οξέα μειώνοντας το pH στο εσωτερικό του κυττάρου, καθώς διίστανται λόγω της αρχικά υψηλότερης τιμής του ενδοκυτταρικού pH [Gottschalk, 1986]. Για να αποφευχθεί η πτώση του pH στο εσωτερικό του κυττάρου, λόγω της ελεύθερης διείσδυσης των αδιάστατων μορίων των πτητικών λιπαρών οξέων, οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν ενέργεια για να ανταλλάξουν τα πρωτόνια με ιόντα καλίου από το περιβάλλον τους. Αυτό έχει ως συνέπεια τη μείωση της διαθέσιμης ενέργειας για ανάπτυξη και συνεπώς τη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης τους. Όταν το pH στο εσωτερικό του κυττάρου μειώνεται, το κύτταρο παράγει αλκοόλες, σπόρια ή παρεμποδίζεται εντελώς η λειτουργία του [Hawkes *et al.*, 2007]. Αξίζει να αναφερθεί ότι, εάν η τιμή του εξωκυτταρικού pH είναι τέτοια ώστε ένα μεγάλο ποσοστό των πτητικών λιπαρών οξέων έχει διασταθεί, αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ιοντικής ισχύος του διαλύματος και πιθανότατα τη λύση των κυττάρων [Zheng & Yu, 2005].

Η θερμοκρασιακή κλίμακα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου διακρίνεται σε τρεις περιοχές: στη θερμοκρασιακή περιοχή περιβάλλοντος (15-30°C), στη μεσόφιλη (32-39°C) και στη θερμόφιλη (50-64°C) [Li & Fang, 2007]. Τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών έδειξαν ότι, η απόδοση σε υδρογόνο αυξάνει με τη θερμοκρασία. Μια πιθανή εξήγηση που μπορεί να δοθεί είναι ότι η υδρογενάση, το ένζυμο κλειδί για την παραγωγή υδρογόνου, έχει βέλτιστη θερμοκρασία μεταξύ 50°C και 70°C [Koesnandar *et al.*, 1991] και ότι τα οξεογόνα βακτήρια παραγωγής υδρογόνου (κυρίως *Clostridia*) είναι στην πλειοψηφία τους θερμόφιλα βακτήρια [Fang *et al.*, 2002; Liu & Fang, 2002].

Ο Yu και οι συνεργάτες του (2002) έδειξαν ότι, η απόδοση σε υδρογόνο από απόβλητα βιομηχανίας οίνου στους 55°C ήταν 38% υψηλότερη από τους 20°C. Ανάλογο συμπέρασμα προκύπτει και από τη μελέτη του Valdez-Vazquez και των συνεργατών του (2005), οι οποίοι μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου στους 37°C και 55°C και διαπίστωσαν ότι, η απόδοση σε υδρογόνο στους 55°C (437 mL H₂/g εξόζης) ήταν αρκετά υψηλότερη από την απόδοση στους 37°C (201 mL H₂/g εξόζης). Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι, η θερμοκρασία επηρεάζει την κατανομή των μεταβολικών προϊόντων. Ωστόσο, τα συμπεράσματα των ερευνών έρχονται σε σύγκρουση. Σύμφωνα με τη μελέτη του Valdez-Vazquez και των συνεργατών του (2005) το κυρίαρχο προϊόν στους 37°C ήταν το βουτυρικό οξύ, ενώ το κυρίαρχο προϊόν στους 55°C ήταν το οξικό οξύ. Ο Yu και οι συνεργάτες του (2002) ανέφεραν ότι στους 20°C το κύριο προϊόν ήταν το οξικό οξύ, ενώ στους 55°C μειώθηκε η παραγωγή του οξικού οξέος και αυξήθηκε η παραγωγή του βουτυρικού οξέος, του προπιονικού οξέος και της αιθανόλης.

Οι Li και Fang (2007) μελετώντας τα αποτελέσματα αρκετών ερευνών ήταν δύσκολο να καταλήξουν στη βέλτιστη τιμή για τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT) ενός βιοαντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου. Οι βέλτιστες τιμές HRT για την παραγωγή υδρογόνου από γλυκόζη και σακχαρόζη κυμαίνονταν από 3-8 h, με ελάχιστη τιμή 1 h [Chang *et al.*, 2002] και μέγιστη τιμή 13.7 h [Fang & Liu, 2004]. Ωστόσο, για την παραγωγή υδρογόνου από σύνθετα υποστρώματα (όπως άμυλο, απόβλητα ζυθοποιίας κ.α.) απαιτούνται μεγαλύτερες τιμές HRT πιθανότατα λόγω του χαμηλού ρυθμού υδρόλυσης του υποστρώματος. Για παράδειγμα, οι Shin και Yoon (2005) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου από υπολείμματα τροφών για HRT 48 h, 72 h και 120 h και κατέληξαν ότι η μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο επιτεύχθηκε για HRT=120 h.

Πλήθος ερευνητών που μελετούν την παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας CSTR, εφαρμόζουν χαμηλό pH και μικρούς χρόνους HRT οδηγώντας πιθανότατα σε έκπλυση τα αργά αναπτυσσόμενα μεθανογόνα βακτήρια, μειώνοντας ταυτόχρονα το μέγεθος του αντιδραστήρα, το κόστος κατασκευής και λειτουργίας του [Li & Fang, 2007].

3.5.3. Μερική πίεση υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα

Το σημαντικότερο μειονέκτημα της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου από οργανικά υποστρώματα είναι ότι η απόδοση της διεργασίας είναι αρκετά μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των 4 mol H₂/mol γλυκόζης, που επιτυγχάνεται όταν το οξικό οξύ είναι το μοναδικό τελικό προϊόν της οξεογένεσης [Gottschalk, 1986; Hawkes *et al.*, 2007]. Αρκετές προσπάθειες έχουν γίνει για να βελτιωθούν οι λειτουργικές συνθήκες, ώστε να υπερνικηθούν οι θερμοδυναμικοί περιορισμοί της αντίδρασης παραγωγής οξικού οξέος από γλυκόζη [Fabiano *et al.*, 2002]. Η σταθερά ισορροπίας της αντίδρασης παραγωγής οξικού οξέος $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \leftrightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 \uparrow + 4H_2 \uparrow$ (εξ. 3.10)

$$\text{ισούται με } K = \frac{[CH_3COOH]^2[CO_2]^2[H_2]^4}{[C_6H_{12}O_6][H_2O]^2} \quad (\text{εξ. 3.11})$$

Σύμφωνα με την αρχή Le Chatelier, η ισορροπία της αντίδρασης μετατοπίζεται προς τα δεξιά, όταν ένα από τα δύο ή και τα δύο αέρια προϊόντα (υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα) απομακρυνθούν από το σύστημα. Είναι φανερό ότι όσο αυξάνεται η μερική πίεση του υδρογόνου, η ισορροπία μετατοπίζεται προς τα αριστερά, με αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγή υδρογόνου, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται η παραγωγή πιο ανηγμένων προϊόντων, όπως γαλακτικό οξύ, αιθανόλη, βουτανόλη, ακετόνη κ.ά. [Levin *et al.*, 2004]. Επομένως, η μείωση της μερικής πίεσης του υδρογόνου ενισχύει την παραγωγή υδρογόνου.

Γενικά, η αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου από οργανικά υποστρώματα περιορίζεται από τη θερμοδυναμική εφικτότητα της ενζυμικά καταλυόμενης (μέσω της υδρογενάσης) μεταφοράς ηλεκτρονίων από έναν ενδοκυτταρικό δότη ηλεκτρονίων στα πρωτόνια. Δυστυχώς, τα πρωτόνια είναι ασθενείς δέκτες ηλεκτρονίων ($E_o = -420$ mV), οπότε ο δότης ηλεκτρονίων πρέπει να είναι ένα ισχυρό αναγωγικό μέσο. Η φερρεδοξίνη είναι ένα ασθενές αναγωγικό μέσο ($E_o = -400$ mV), αλλά είναι ικανή για την αναγωγή των πρωτονίων προς υδρογόνο, ενώ το NADH έχει ισχυρότερη αναγωγική ικανότητα ($E_o = -320$ mV). Η ικανότητα της ανηγμένης φερρεδοξίνης και του NADH να ανάγουν τα πρωτόνια καθορίζεται από το οξειδοαναγωγικό δυναμικό της συνολικής αντίδρασης, υπό πραγματικές συνθήκες. Η παραγωγή υδρογόνου καθίσταται θερμοδυναμικά μη εφικτή όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μεγαλύτερη από [Largus *et al.*, 2004]:

$$P_{H_2, \max} \leq \exp\left(\frac{2F(E_{H_2}^{\circ'} - E_X^{\circ'})}{RT}\right) \quad (\text{εξ.3.12})$$

όπου $E_X^{\circ'}$ είναι το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του δότη ηλεκτρονίων, F η σταθερά του Faraday, R η παγκόσμια σταθερά των αερίων, T η θερμοκρασία.

Επίσης, το διοξείδιο του άνθρακα επηρεάζει την παραγωγή υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, μικροοργανισμοί παράγουν ηλεκτρικό οξύ και μυρμηκικό οξύ από διοξείδιο του άνθρακα, πυροσταφυλικό οξύ και NADH [Tanisho *et al.*, 1998; Das & Veziroglou, 2001]. Συνεπώς, η απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα αποτρέπει την κατανάλωση του NADH, το οποίο μπορεί να οξειδωθεί ενισχύοντας την παραγωγή υδρογόνου. Επίσης, υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα καταναλώνονται για την παραγωγή οξικού οξέος [Oh *et al.*, 2003]. Επομένως, η απομάκρυνση τόσο του υδρογόνου όσο και του διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να αποτρέψει την οξικογένεση, ενισχύοντας την παραγωγή υδρογόνου.

Η μερική πίεση του υδρογόνου και του διοξειδίου του άνθρακα σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα θα πρέπει να διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα, ώστε να ενισχυθεί η απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με διαφόρους τρόπους, όπως έντονη ανάδευση για να αποφευχθεί ο κορεσμός [Lay, 2000], απαέρωση με αδρανές αέριο (π.χ. άζωτο, αργό) [Mizuno *et al.*, 2000; Hussy *et al.*, 2003 και 2005], χρήση μεμβρανών που είναι διαπερατές από το υδρογόνο [Liang *et al.*, 2002] κ.ά..

Σύμφωνα με τον Lay (2000) η αύξηση της ανάδευσης από 100 σε 700 rpm είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου από άμυλο κατά 130% (από 0.7 σε 1.6 L H₂/L/d). Ο Mizuno και οι συνεργάτες του (2000) αναφέρουν ότι, η απαέρωση με άζωτο σε έναν αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας CSTR οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης από 120 σε 195 mL H₂/g εξόζης. Ανάλογο ήταν το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξαν ο Hussy και οι συνεργάτες του (2003), οι οποίοι διαπίστωσαν αύξηση της απόδοσης από 172 σε 254 mL H₂/g εξόζης. Σε αντίθετα συμπεράσματα κατέληξαν ο Kim και οι συνεργάτες του (2006a), οι οποίοι μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη σε αντιδραστήρα CSTR (20 g COD/L, pH=5.3, HRT=12 h) συγκρίνοντας την επίδραση της απαέρωσης με διοξείδιο του άνθρακα και με άζωτο στην απόδοση της διεργασίας ως προς το υδρογόνο. Οι ερευνητές αυτοί διαπίστωσαν ότι, η απαέρωση με διοξείδιο του άνθρακα ήταν πιο αποτελεσματική, καθώς σύμφωνα με μικροβιακή ανάλυση τα ομοοξικογόνα βακτήρια και τα βακτήρια γαλακτικού οξέος παρεμποδίζονται από την υψηλή μερική

πίεση του διοξειδίου του άνθρακα, ενώ παράλληλα μειώθηκε και το ποσοστό του υποστρώματος που μετατρέπεται σε βιομάζα. Ωστόσο, το μειονέκτημα της απαέρωσης με αδρανές αέριο είναι ότι, η συγκέντρωση του υδρογόνου στο αέριο μίγμα μειώνεται λόγω αραίωσης, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά το κόστος ανάκτησης του υδρογόνου, το οποίο είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί καθώς οι κυψελίδες καυσίμου απαιτούν υδρογόνο υψηλής καθαρότητας (>99%).

Ο Liang και οι συνεργάτες του (2002) εμφάνισαν στο ανάμικτο υγρό του αντιδραστήρα μια μεμβράνη διαπερατή από το υδρογόνο, με στόχο την απομάκρυνση του υδρογόνου από τον αντιδραστήρα, με αποτέλεσμα η απόδοση να αυξηθεί από 110 σε 130 mL H₂/g εξόζης. Ο Logan και οι συνεργάτες του (2002) διατήρησαν την πίεση στο εσωτερικό αντιδραστήρων διαλείποντος έργου σε χαμηλά επίπεδα είτε με συνεχή είτε με διακεκομμένη απελευθέρωση των παραγομένων αερίων και διαπίστωσαν ότι, η συνεχής απελευθέρωση των αερίων, οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε υδρογόνο περίπου κατά 43%. Τέλος, ο Park με τους συνεργάτες του (2005) ελάττωσαν τη μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου, χρησιμοποιώντας KOH ως δεσμευτή και διαπίστωσαν ότι, η απόδοση σε υδρογόνο αυξήθηκε κατά 43% (από 1.4 σε 2 mol H₂/mol γλυκόζης).

3.6. Βιοαντιδραστήρες για την επεξεργασία υγρών και στερεών αποβλήτων με στόχο την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου

Οι Li και Fang (2007) μελετώντας πλήθος ερευνών για την αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρες διαλείποντος έργου, λόγω της απλής λειτουργίας και του καλύτερου ελέγχου τους. Εντούτοις, οι μεγάλης κλίμακας διεργασίες απαιτούν συνεχή παραγωγή για καθαρά πρακτικούς λόγους. Οι αντιδραστήρες που συνήθως χρησιμοποιούνται για τη συνεχή παραγωγή υδρογόνου είναι οι αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας με ανάμιξη (CSTR), οι αντιδραστήρες σταθερής κλίνης (packed-bed), οι αντιδραστήρες ρευστοποιημένης κλίνης (fluidized-bed), οι αντιδραστήρες διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία (sequencing-batch reactors, SBR), τα χαλικοδιυλιστήρια (trickling biofilter) και οι αντιδραστήρες με μεμβράνες (membrane reactors).

Οι αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας με ανάμιξη (CSTR) είναι οι αντιδραστήρες που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για τη συνεχή αναερόβια βιολογική

παραγωγή υδρογόνου [Li & Fang, 2007, Hawkes *et al.*, 2007]. Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται αιωρούμενοι μέσα στο υγρό μέσο και η ομοιογένεια της υγρής φάσης, που επιτυγχάνεται με μηχανική ανάδευση, εξασφαλίζει ότι η εκροή του αντιδραστήρα θα έχει την ίδια σύσταση με το ανάμικτο υγρό, καθώς και ότι ο χρόνος παραμονής των στερεών (και συνεπώς των μικροοργανισμών) θα είναι ίδιος με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της βιομάζας στο ανάμικτο υγρό να διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα.

Η εξεύρεση τεχνικών για τη συγκράτηση της βιομάζας σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου οδήγησε στην ανάπτυξη διαφόρων συστημάτων. Η λειτουργία τους βασίζεται στην ικανότητα των μικροοργανισμών να προσκολλώνται σε στερεή επιφάνεια (όπως πολυ(βινυλο)αλκοόλη, ενεργό άνθρακα κ.ά.) σχηματίζοντας μια βιολογική μεμβράνη (biofilm) ή μεταξύ τους σχηματίζοντας συσσωματώματα χαλαρής (flocks) ή πυκνής (granules) δομής. Η πρώτη περίπτωση λαμβάνει χώρα σε αντιδραστήρες με κατάλληλο πληρωτικό υλικό (αντιδραστήρες σταθερής κλίνης ή αναερόβια φίλτρα ανοδικής ή καθοδικής ροής και ρευστοποιημένες κλίνες), ενώ η δεύτερη περίπτωση λαμβάνει χώρα σε αντιδραστήρες που ευνοούν τη συσσωμάτωση των μικροοργανισμών (αντιδραστήρας ανοδικής ροής μέσα από κλίνη ιλύος (UASB) και αντιδραστήρας εναλλασσόμενης ανοδικής και καθοδικής ροής (ABR)). Κατά συνέπεια, ο χρόνος παραμονής της βιομάζας αποσυνδέεται από τον υδραυλικό χρόνο παραμονής, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της να αυξάνεται σημαντικά.

Ο Fang και οι συνεργάτες του (2002a) διαπίστωσαν ότι, η βιομάζα που παράγει υδρογόνο μπορεί να σχηματίσει συσσωματώματα πυκνής δομής σε αντιδραστήρα UASB κατά την επεξεργασία συνθετικού αποβλήτου πλούσιου σε σακχαρόζη (26°C, pH=5.5, HRT=6 h) μετά από 60 d λειτουργίας. Ο σχηματισμός των συσσωματωμάτων αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωση της βιομάζας (μέχρι 20 g/L) και το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου (13 L H₂/L/d).

Συνήθως, σε εργαστηριακή κλίμακα ένας αντιδραστήρας CSTR μεταπίπτει σε αντιδραστήρα ημιδιαλείποντος έργου (fed-batch reactor) [Youn & Shin, 2005; Liu *et al.*, 2006]. Για παράδειγμα, οι Fan και Chen (2004) διαπίστωσαν ότι, η λειτουργία ενός αντιδραστήρα CSTR (HRT=8 h) ως ημιδιαλείποντος έργου, με επαναλαμβανόμενη αντικατάσταση περίπου του 25% του όγκου του αντιδραστήρα με απόβλητο ζυθοποιείου, ήταν εφικτή, αλλά η παραγωγή υδρογόνου παρουσίαζε διακυμάνσεις.

Η λειτουργία των αντιδραστήρων διαλείποντος έργου με περιοδική λειτουργία (SBR) για παραγωγή υδρογόνου απαιτεί τη βελτιστοποίηση του λόγου R/S, όπου R ο χρόνος αντίδρασης και S ο χρόνος καθίζησης. Οι Lin και Jo (2003) διαπίστωσαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα SBR (35°C, pH= 6.7, 82 g σακχαρόζης/L/d, R/S= 5.6) ήταν 1.3 mol H₂/mol εξόζης, συγκρίσιμη με την απόδοση 1.15 mol H₂/mol εξόζης που επιτεύχθηκε σε αντιδραστήρα CSTR παρόμοιας οργανικής φόρτισης [Kyazze *et al.*, 2006].

Τέλος, οι αντιδραστήρες με μεμβράνη (membrane bioreactor, MBR) έχουν θεωρηθεί κατάλληλοι τόσο για την αερόβια όσο και για την αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων. Η λειτουργία τους στηρίζεται στην ύπαρξη μιας μεμβράνης, η οποία δεν είναι διαπερατή από τη βιομάζα. Τα πλεονεκτήματα των αντιδραστήρων με μεμβράνη είναι η αύξηση της συγκέντρωσης βιομάζας και συνεπώς η αύξηση του ρυθμού απομάκρυνσης του οργανικού υποστρώματος, η μείωση του όγκου του αντιδραστήρα εξαιτίας της αύξησης του ρυθμού απομάκρυνσης και απορροή απαλλαγμένη από βιομάζα [Oh *et al.*, 2004a]. Ο κυριότερος περιορισμός αυτής της τεχνολογίας είναι το υψηλό κόστος των μεμβρανών.

Ελάχιστες προσπάθειες έχουν γίνει μέχρι σήμερα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου χρησιμοποιώντας αντιδραστήρες με μεμβράνες (MBR) [Cheng *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004; Oh *et al.*, 2004a]. Ο Noike και οι συνεργάτες του (2003) αναφέρουν ότι, ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (2.6 L H₂/L/d), ο ειδικός ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (0.03 L H₂/g VSS/d) και η απόδοση (117 mL H₂/g εξόζης) σε έναν αντιδραστήρα MBR μπορούν να συγκριθούν με τα αντίστοιχα μεγέθη ενός αντιδραστήρα CSTR (1 L H₂/L/d, 0.42 L H₂/g VSS/d, 131 mL H₂/g εξόζης).

3.7. Αξιοποίηση των προϊόντων της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου κυμαίνεται από 1 έως 2 mol H₂/mol γλυκόζης (μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των 4 mol H₂/mol γλυκόζης), με αποτέλεσμα 80-90% του αρχικού οργανικού υλικού (ως COD) να παραμένει στο απόβλητο με τη μορφή πτητικών λιπαρών οξέων, αλκοολών κ.α. [Oh & Logan, 2005; Li & Fang, 2007].

Η ανάπτυξη ενός δευτέρου σταδίου επεξεργασίας που θα ακολουθεί την αναερόβια ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου είναι πλέον απαραίτητη όχι μόνο για την ανάκτηση επιπλέον ενέργειας αλλά και για την προστασία του περιβάλλοντος,

εξαιτίας του υψηλού υπολειπόμενου οργανικού φορτίου. Στη συνέχεια, θα αναφερθούν συνοπτικά οι κυριότερες διεργασίες που έχουν αναπτυχθεί για την αξιοποίηση των προϊόντων της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου.

Φωτεινή ζύμωση για παραγωγή υδρογόνου

Η διεργασία δυο διαδοχικών σταδίων, σκοτεινής και στη συνέχεια φωτεινής ζύμωσης αποβλήτων με χρήση μικτής καλλιέργειας, θα μπορούσε να ήταν μια αρκετά ελπιδοφόρα μέθοδος παραγωγής υδρογόνου, καθώς η μέγιστη θεωρητική απόδοση της συνολικής διεργασίας είναι 12 mol H₂/mol εξόζης. Πρόκειται για μια διεργασία στην οποία λαμβάνουν μέρος δυο ευδιάκριτες ομάδες ετεροτροφικών βακτηρίων: αρχικά τα αναερόβια ζυμωτικά βακτήρια μετατρέπουν τα σύνθετα οργανικά απόβλητα σε υδρογόνο και πτητικά λιπαρά οξέα κ.α. και στη συνέχεια τα φωτοετεροτροφικά βακτήρια μετατρέπουν τα πτητικά λιπαρά οξέα σε υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα.

Για πρώτη φορά ο Fang και οι συνεργάτες του (2005) έδειξαν ότι, μικτή φωτοετεροτροφική καλλιέργεια μετατρέπει αποτελεσματικά οξικό οξύ και βουτυρικό οξύ σε υδρογόνο, με απόδοση 2.5 mol H₂/mol οξικού οξέος (pH= 8, 800 mg οξικού οξέος/L) και 3.7 mol H₂/mol βουτυρικού οξέος (pH= 9, 1000 mg βουτυρικού οξέος/L). Ο Ταο και οι συνεργάτες του (2007) έδειξαν ότι, κατά την αναερόβια ζύμωση σακχαρόζης παράχθηκαν 3.67 mol H₂/mol σακχαρόζης, ενώ όταν το στάδιο της αναερόβιας ζύμωσης ακολουθήθηκε από το στάδιο της φωτεινής ζύμωσης παράχθηκαν 6.63 mol H₂/mol σακχαρόζης.

Μικροβιακές κυψελίδες καυσίμου για παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας

Οι μικροβιακές κυψελίδες καυσίμου (Microbial Fuel Cells, MFC) αποτελούν μια νέα μέθοδο παραγωγής ηλεκτρισμού, μέσω της άμεσης μετατροπής της οργανικής ύλης σε ηλεκτρική ενέργεια χρησιμοποιώντας βακτήρια [Oh & Logan, 2005]. Οι μικροβιακές κυψελίδες καυσίμου αποτελούνται από δυο ηλεκτρόδια, τα οποία συνήθως βρίσκονται σε δυο διαφορετικούς θαλάμους (Σχήμα 3.29). Οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί οξειδώνουν το οργανικό υλικό στο θάλαμο της ανόδου, σχηματίζοντας βιοφίλμ πάνω στο ηλεκτρόδιο. Τα ηλεκτρόνια που παράγονται, μεταφέρονται άμεσα στο ηλεκτρόδιο της ανόδου και στη συνέχεια μέσω εξωτερικού κυκλώματος στο ηλεκτρόδιο της καθόδου, παράγοντας ηλεκτρικό ρεύμα. Τα πρωτόνια, που παράγονται στο θάλαμο της ανόδου, μεταφέρονται και αυτά στο

ηλεκτρόδιο της καθόδου (μέσω μιας μεμβράνης ανταλλαγής πρωτονίων, PEM), όπου αντιδρούν με το οξυγόνο και τα ηλεκτρόνια παράγοντας νερό. Στο θάλαμο της ανόδου απαιτείται ανάδευση υπό αναερόβιες συνθήκες, ενώ στο θάλαμο της καθόδου απαιτείται αερισμός.

Σχήμα 3.29. Μικροβιακή κυψελίδα καυσίμου (MFC) δυο θαλάμων.

Οι μικροβιακές κυψελίδες καυσίμου έχουν προταθεί ως μια εναλλακτική μέθοδος αξιοποίησης των υγρών προϊόντων της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου. Σύμφωνα με τον Liu και τους συνεργάτες του (2005), μικροβιακές κυψελίδες καυσίμου μπορούν χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από οξικό οξύ και βουτυρικό οξύ. Πιο συγκεκριμένα, έδειξαν ότι, η ηλεκτρική ενέργεια (506 mW/m^2) που παράχθηκε από οξικό οξύ (800 mg/L) ήταν περίπου 66% υψηλότερη από την ηλεκτρική ενέργεια (305 mW/m^2) που παράχθηκε από βουτυρικό οξύ (1000 mg/L). Οι ερευνητές Oh και Logan (2005) έδειξαν ότι, τα τελικά μεταβολικά προϊόντα, από την αναερόβια ζύμωση για την παραγωγή υδρογόνου απόβλητου πλούσιου σε υδατάνθρακες σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας σε μια μικροβιακή κυψελίδα καυσίμου με απομάκρυνση περίπου 95% COD.

Η ηλεκτρόλυση με βιοκαταλύτες (biocatalyzed electrolysis), αποτελεί μια βιολογική διεργασία παραγωγής υδρογόνου, χρησιμοποιώντας ένα ευρύ φάσμα οργανικών αποβλήτων [Liu *et al.*, 2005; Rozendal *et al.*, 2006]. Ειδικότερα, υποστρώματα των οποίων η μετατροπή σε υδρογόνο δεν είναι θερμοδυναμικά εφικτή (π.χ. η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από οξικό οξύ απαιτεί ενέργεια 104.6 kJ/mol), μέσω κατάλληλων μικροοργανισμών που δρουν ως βιοκαταλύτες και την επιβολή ενός αρκετά χαμηλού εξωτερικού ηλεκτρικού δυναμικού, οξειδώνονται παράγοντας ηλεκτρικό ρεύμα και υδρογόνο [Rozendal *et al.*, 2006]. Για παράδειγμα, η παραγωγή υδρογόνου από οξικό οξύ μέσω της παραπάνω διεργασίας απαιτεί την

εξωτερική παροχή μόλις 0.14 V, όταν η παραγωγή υδρογόνου από την ηλεκτρόλυση του νερού απαιτεί 1.6 V. Ο Rozendal και οι συνεργάτες του (2006) έδειξαν ότι, χρησιμοποιώντας έναν τέτοιο αντιδραστήρα, γνωστός ως BEAMR (Bio-Electrochemically Assisted Microbial Reactor) με εξωτερική παροχή 0.5 V παράχθηκαν από οξικό οξύ 470 mA/m² και 0.02 L H₂/L/d. Ο αντιδραστήρας αυτός αποτελεί τροποποίηση των μικροβιακών κυψελίδων καυσίμου, καθώς από τις μικροβιακές κυψελίδες παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα και νερό ενώ από τον αντιδραστήρα BEAMR παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα και υδρογόνο. Σύμφωνα με τους Li και Fang (2007), ο συνδυασμός αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου και στη συνέχεια επεξεργασία των μεταβολικών προϊόντων μέσω του αντιδραστήρα BEAMR θα οδηγήσει στην παραγωγή περίπου 8-9 mol H₂/mol γλυκόζης.

Σχήμα 3.30. Παραγωγή υδρογόνου και ηλεκτρικής ενέργειας μέσω του αντιδραστήρα BEAMR.

Αναερόβια χώνευση δυο σταδίων για την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου

Η αναερόβια χώνευση με στόχο την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου λαμβάνει χώρα σε δυο διαφορετικούς αντιδραστήρες, με το στάδιο της οξεογένεσης να προηγείται της μεθανογένεσης [Benemann *et al.*, 2004; Ting *et al.*, 2004; Gavala *et al.*, 2005; Ueno *et al.*, 2007]. Σε γενικές γραμμές, η αναερόβια χώνευση δυο σταδίων επιδέχεται καλύτερο έλεγχο και μεγαλύτερες οργανικές φορτίσεις με καλύτερες αποδόσεις [Li & Fang, 2007]. Σύμφωνα με τον Ueno και τους συνεργάτες του (2007) κατά την αναερόβια χώνευση δυο σταδίων αποβλήτου χαρτιού

παράχθηκαν περίπου 199 mmol H₂/L/d και 442 mmol CH₄/L/d με ταυτόχρονη απομάκρυνση COD περίπου 80%, ενώ κατά την αναερόβια χώνευση ενός σταδίου παράχθηκαν μόλις 223 mmol CH₄/L/d με απομάκρυνση COD περίπου 86%.

Παραγωγή βιοπολυμερών

Τα βιοπολυμερή έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, καθώς αποτελούν εναλλακτικές λύσεις έναντι των παραδοσιακών πλαστικών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, είναι βιοαποδομήσιμα και μπορούν να παραχθούν από οργανικές πρώτες ύλες. Μεταξύ των βιοαποδομήσιμων πλαστικών, τα PHAs (polyhydroxyalkanoates) και το συμπολυμερές P(HB/HV) (poly β -hydroxybutyrate/ β -hydroxyvalerate) είναι τα πιο ελπιδοφόρα. Μέχρι τώρα, η παραγωγή του P(HB/HV) είναι πιο ακριβή από την παραγωγή των παραδοσιακών πλαστικών από πετρέλαιο, κυρίως λόγω του κόστους αγοράς καθαρών υποστρωμάτων (π.χ. γλυκόζη και προπιονικό οξύ) [Lee, 1996; Salehizadeh & Van Loosdrecht, 2004]. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια μελετάται η χρήση οργανικών αποβλήτων ως εναλλακτικά υποστρώματα για την παραγωγή βιοπολυμερών [Salehizadeh & Van Loosdrecht, 2004].

Ο Dionisi και οι συνεργάτες του (2004) πρότειναν το συνδυασμό ενός αναερόβιου και ενός αερόβιου σταδίου για την παραγωγή βιοπολυμερών από οργανικά απόβλητα. Πιο συγκεκριμένα, κατά την αναερόβια οξεογένεση βιοαποδομήσιμα οργανικά υποστρώματα μετατρέπονται σε μίγμα οργανικών πτητικών λιπαρών οξέων και όχι μόνο, με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου. Στη συνέχεια, σε αντιδραστήρα SBR αερόβια ενεργός ιλύς, σε συνθήκες μεσαίας-υψηλής οργανικής φόρτισης πτητικών λιπαρών οξέων, εμπλουτίζεται σε μικροοργανισμούς με μεγάλη ικανότητα αποθήκευσης βιοπολυμερών. Βακτήρια (όπως *Alcaligenes eutrophus*) πολυμερίζουν κατά το μεταβολισμό τους τα πτητικά λιπαρά οξέα προς βιοπολυμερή, σε συνθήκες μη ισορροπημένης ανάπτυξης, όπως σε συνθήκες έλλειψης αζώτου, φωσφόρου κ.ά. [Doi *et al.*, 1987]. Τέλος, η βιομάζα τυγχάνει περαιτέρω επεξεργασίας για την εξαγωγή των βιοπολυμερών. Σύμφωνα με τη μελέτη του Dionisi και των συνεργατών του (2004) από μίγμα οξικού, προπιονικού και γαλακτικού οξέος (συνολικής συγκέντρωσης 8.5 g COD/L) παράχθηκαν 0.45 g COD PHA/g COD υποστρώματος.

Υδρογονοτροφική απονιτροποίηση πόσιμου νερού

Η ύπαρξη νιτρικών και νιτρώδων ιόντων είναι ίσως το σημαντικότερο πρόβλημα των υπογείων και επιφανειακών νερών. Η αυτότροφη υδρογονοτροφική απονιτροποίηση του πόσιμου νερού είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος που εφαρμόζεται για την επεξεργασία του πόσιμου νερού. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, τα ανώτατα επιτρεπτά όρια είναι 11.3 mg/L και 0.03 mg/L νιτρικού και νιτρώδους αζώτου, αντίστοιχα,. Η βιολογική απονιτροποίηση πραγματοποιείται μέσω καταλλήλων μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν τα νιτρικά ιόντα ως τον τελικό δέκτη ηλεκτρονίων για αναπνοή υπό ανοξικές συνθήκες. Κατά την αυτότροφη υδρογονοτροφική απονιτροποίηση ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιείται το διοξείδιο του άνθρακα και ως δότης ηλεκτρονίων το υδρογόνο [Βασιλειάδου & Βαγενάς, 2007].

Παραγωγή φυτοφαρμάκων και εντομοκτόνων

Αρκετοί ερευνητές έχουν μελετήσει την παραγωγή βιοαποδομήσιμων φυτοφαρμάκων και εντομοκτόνων από πτητικά λιπαρά οξέα μέσω φωτοσυνθετικών βακτηρίων (π.χ. *Rhodobacter sphaeroides*) [Sasaki *et al.*, 1990 και 1993; Tanaka *et al.*, 1994].

Κεφάλαιο

4. Ενζυμική υδρόλυση λιγνοκυτταρινούχων υλικών

4.1. Εισαγωγή

Η βιομάζα, μια ανεξάντλητη και φιλική προς το περιβάλλον πηγή ενέργειας, είναι δυνατό να συμβάλει σημαντικά στην ενεργειακή επάρκεια του τεχνολογικού μας πολιτισμού, αντικαθιστώντας σταδιακά τα συνεχώς εξαντλούμενα αποθέματα των ορυκτών καυσίμων (π.χ. πετρέλαιο, φυσικό αέριο κ.ά.). Οι πηγές βιομάζας που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ενέργειας καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα πρωτογενών και μη υλών. Ειδικότερα, η λιγνοκυτταρινούχος βιομάζα περιλαμβάνει υλικά όπως αγροτοβιομηχανικά απόβλητα, υποπροϊόντα και κατάλοιπα φυτικής, ζωικής, δασικής και αλιευτικής παραγωγής, ενεργειακές καλλιέργειες, αστικά και βιομηχανικά απόβλητα κ.ά..

4.2. Δομή λιγνοκυτταρινούχων υλικών

Κάθε λιγνοκυτταρινούχο υλικό αποτελείται κυρίως από πολυμερή υδατανθράκων (κυτταρίνη και ημικυτταρίνη) και λιγνίνη και σε μικρότερο ποσοστό από εκχυλίσμα συστατικά, όπως οξέα, άλατα και ανόργανες ενώσεις [Wyman, 1994]. Σύμφωνα με τη σχετική βιβλιογραφία, το κυτταρικό τοίχωμα των φυτών αποτελείται από κυτταρίνη σε εκατοστιαία κατά βάρος περιεκτικότητα ίση με 35-50%, ημικυτταρίνη σε ποσοστό 20-35% και λιγνίνη σε ποσοστό 10-25% [Saha, 2004]. Η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη σχηματίζουν ένα σύμπλοκο, του οποίου η διάσπαση είναι καθοριστικής σημασίας, έτσι ώστε να επιτευχθεί αποδοτική υδρόλυση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης προς διαλυτά ζυμώσιμα σάκχαρα (Σχήμα 4.1). Αντίθετα, αυτό δε μπορεί να συμβεί με τη λιγνίνη [McMillan, 1994].

Ειδικότερα, τα μακρομόρια της κυτταρίνης είναι προσανατολισμένα κατά τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίζουν ινώδεις μικροδομές γνωστές ως μικροϊνίδια (microfibrils) με αναλογία 15-40 μακρομόρια ανά μικροϊνίδιο. Στη συνέχεια, μερικά μικροϊνίδια συνδέονται μεταξύ τους και σχηματίζουν τα κυτταρικά ινίδια (fibrils), τα οποία με τη σειρά τους συμπλέκονται με τη βοήθεια των άμορφων μακρομοριακών αλυσίδων των ημικυτταρίνων και της λιγνίνης, οδηγώντας στο σχηματισμό των ινών (fibers).

Σχήμα 4.1. Δομή λιγνοκυτταρινούχου υλικού.

Η υδρόλυση της κυτταρίνης μπορεί να γίνει είτε με χημικό τρόπο, χρησιμοποιώντας οξέα (όξινη υδρόλυση), είτε με τη βοήθεια ενζύμων (ενζυμική υδρόλυση). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το κόστος της ενζυμικής υδρόλυσης είναι σχετικά χαμηλό σε σύγκριση με το κόστος της όξινης υδρόλυσης, γιατί πραγματοποιείται σε ήπιες συνθήκες ($\text{pH} = 4.8$ και θερμοκρασία $45\text{-}50^\circ\text{C}$), ενώ δεν παρατηρούνται προβλήματα διάβρωσης [Duff & Murray, 1996]. Επίσης, η απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης είναι υψηλότερη από την απόδοση της όξινης υδρόλυσης, καθώς τα υδρολυτικά ένζυμα καταλύουν μόνο τις αντιδράσεις υδρόλυσης και όχι τις αντιδράσεις αποδόμησης των σακχάρων [Parisi, 1989]. Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η ενζυμική υδρόλυση του ημι-στερεού υπολείμματος των ελαιοτριβείων δυο φάσεων (ελαιοπολτός ή olive pulp), το οποίο χαρακτηρίζεται ως λιγνοκυτταρινούχο υλικό, με στόχο την αύξηση της απόδοσης της αναερόβιας επεξεργασίας του για την παραγωγή υδρογόνου.

4.2.1. Κυτταρίνη

Η κυτταρίνη είναι ένα γραμμικό ομοπολυμερές αποτελούμενο από μονομερή D-γλυκόζης, συνδεδεμένα με β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς, με μέσο βαθμό πολυμερισμού από 100 έως 20000 [Zhang & Lynd, 2004b]. Κάθε μονομερές

γλυκόζης (δακτύλιος γλυκοπυρανόζης) περιστρέφεται γύρω από τον β-1,4-γλυκοζιτικό δεσμό κατά 180° ως προς το γειτονικό του μονομέρες, με αποτέλεσμα η επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα της κυτταρίνης να είναι ο δισακχαρίτης της κελλοβιόζης και όχι η γλυκόζη. Η διαμόρφωση αυτή σε συνδυασμό με τους δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ: α) του ατόμου του οξυγόνου από το ένα μονομέρες της γλυκόζης και του ατόμου του υδρογόνου από το υδροξύλιο του C3 του γειτονικού μονομερούς της γλυκόζης, και β) των υδροξυλίων του C2 του ενός μονομερούς και C6 του γειτονικού μονομερούς, προσδίδει στην αλυσίδα της κυτταρίνης εξαιρετική αντοχή και σταθερότητα (Σχήμα 4.2).

Σχήμα 4.2. Μοριακή δομή κυτταρίνης.

Η κυτταρίνη έχει ταυτόχρονα υδρόφιλο (λόγω των $-OH$ που προεξέχουν από το δακτύλιο της γλυκοπυρανόζης) και υδρόφοβο (λόγω του δακτυλίου της γλυκοπυρανόζης) χαρακτήρα. Οι δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των δακτυλίων είτε μέσα στην ίδια την αλυσίδα, είτε μεταξύ γειτονικών αλυσίδων, καθώς και οι δεσμοί Van der Waals μεταξύ γειτονικών αλυσίδων, οδηγούν στο σχηματισμό συσσωματωμάτων από αλυσίδες κυτταρίνης (Σχήμα 4.2). Ο βαθμός οργάνωσης στο εσωτερικό μιας αλυσίδας και μεταξύ γειτονικών αλυσίδων κυμαίνεται από περιοχές με υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας, σε περιοχές άμορφες, όπου κυριαρχεί η αταξία. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το ποσοστό της κρυσταλλικής περιοχής της κυτταρίνης κυμαίνεται από 50% έως 90% [Fan & Lee, 1983]. Η ανθεκτικότητα της κυτταρίνης στην ενζυμική υδρόλυση οφείλεται στο μεγάλο βαθμό κρυσταλλικότητας της και στις προσμίξεις της με λιγνίνη και ημικυτταρίνη [Zhang & Lynd, 2004b; Demain *et al.*, 2005]. Συνεπώς, όσο μεγαλύτερη είναι η αναλογία των κρυσταλλικών περιοχών προς

τις άμορφες περιοχές της κυτταρίνης, τόσο μεγαλύτερη αναμένεται να είναι η ανθεκτικότητα της στην ενζυμική προσβολή.

Στη φύση η κυτταρίνη, γνωστή ως κυτταρίνη I, διακρίνεται σε δυο κρυσταλλικές δομές, την τρικλινή κυτταρίνη I_α και τη μονοκλινή κυτταρίνη I_β , οι οποίες διαφέρουν ως προς την κρυσταλλική δομή και τους δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των γειτονικών αλυσίδων (Σχήμα 4.3). Η δομή I_β είναι πιο σταθερή από τη δομή I_α , η οποία έχει χαρακτηριστεί ως πιο ευάλωτη στην ενζυμική υδρόλυση [Atalla & Vanderhalt, 1984; Hayashi *et al.*, 1997].

Σχήμα 4.3. Μονοκλινή (I_β) και τρικλινή (I_α) δομή κυτταρίνης I.

4.2.2. Ημικυτταρίνη

Η ημικυτταρίνη, που περιβάλλει τα ινίδια της κυτταρίνης, είναι ένα διακλαδισμένο ετεροπολυμερές, αποτελούμενο από πεντόζες (D-ξυλόζη, L-αραβινόζη), εξόζες (D-μαννόζη, D-γλυκόζη, D-γαλακτόζη) και ουρονικά οξέα [Saka, 1991]. Η δομή και η σύσταση της ημικυτταρίνης διαφέρει μεταξύ μαλακού και σκληρού ξύλου. Η ημικυτταρίνη στο μαλακό ξύλο (π.χ. έλατο, πεύκο) αποτελείται κυρίως από μαννόζη και γλυκόζη ενώ στο σκληρό ξύλο (π.χ. ιτιά, λεύκα, βελανιδιά) κυρίως από ξυλόζη [Saka, 1991]. Σε αντίθεση με την κυτταρίνη που είναι κρυσταλλική και ανθεκτική στην υδρόλυση, η ημικυτταρίνη υδρολύεται σχετικά εύκολα, λόγω της διακλαδισμένης και άμορφης φύσης της.

4.2.3. Λιγνίνη

Η λιγνίνη είναι ένα τρισδιάστατο διακλαδισμένο, απροσδιόριστο δομικά, υδροφοβικό, αρωματικό πολυμερές. Αποτελείται από τρεις πρόδρομες μονομερείς

ενώσεις τύπου φαινυλο-προπανίου, οι οποίες διαφέρουν στον αριθμό των μεθοξυλομάδων που φέρουν στον αρωματικό τους δακτύλιο (Σχήμα 4.4).

Οι βασικές αυτές ενώσεις (κωνιφερυλική αλκοόλη, σιναπυλική αλκοόλη και *p*-κουμαρυλική αλκοόλη) συνδέονται μεταξύ τους με ανθρακικούς (C-C) και αιθερικούς (C-O-C), σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς (μεταξύ δύο βενζολικών δακτυλίων, δύο πλάγιων αλυσίδων, πλάγιας αλυσίδας και δακτυλίου κ.λ.π.), δημιουργώντας έτσι το ιδιαίτερα πολύπλοκο και πολύ σταθερό μόριο της λιγνίνης (Σχήμα 4.4).

Σχήμα 4.4. Οι τρεις πρόδρομες ενώσεις καθώς και οι τρεις βασικοί δεσμοί που συνθέτουν το μόριο της λιγνίνης.

Η λιγνίνη διακρίνεται σε δυο κατηγορίες, τη γουαϊκυλική λιγνίνη (guaiacyl lignin) και τη γουαϊκυλική-συριγγυλική λιγνίνη (guaiacyl-syringyl lignin). Η γουαϊκυλική λιγνίνη προέρχεται κυρίως από τον πολυμερισμό της κωνιφερυλικής αλκοόλης, ενώ η γουαϊκυλική-συριγγυλική λιγνίνη προκύπτει κυρίως από τον συμπολυμερισμό της κωνιφερυλικής και σιναπυλικής αλκοόλης [Palmqvist *et al.*, 2000]. Η λιγνίνη του μαλακού ξύλου ανήκει στην πρώτη κατηγορία, ενώ η λιγνίνη του σκληρού ξύλου ανήκει στη δεύτερη κατηγορία [Saka, 1991].

Η παρουσία της λιγνίνης προστατεύει την κυτταρίνη, προσδίδοντας της δομική ακαμψία και σταθερότητα. Η απομάκρυνση της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης μπορεί να αποκαλύψει σημεία στην επιφάνεια της κυτταρίνης που είναι ευάλωτα στην ενζυμική υδρόλυση.

4.3. Μέθοδοι προεπεξεργασίας λιγνοκυτταρινούχων υλικών

Για την αποδοτική βιοτεχνολογική αξιοποίηση των λιγνοκυτταρινούχων υλικών, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγικότητα σε υδρογόνο, είναι αναγκαίο να αξιοποιηθούν στο μέγιστο δυνατό βαθμό και τα σάκχαρα των πολυμερών υδατανθράκων (δηλαδή αυτά που εντοπίζονται στα μακρομόρια της κυτταρίνης και ημικυτταρίνης). Με τον τρόπο αυτό, αναμένεται η αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών ζυμώσιμων σακχάρων κατά το στάδιο της υδρόλυσης της κυτταρίνης του λιγνοκυτταρινούχου υλικού και η εκτενέστερη αναερόβια μετατροπή τους προς υδρογόνο.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης είναι το πορώδες του υλικού (προσβάσιμότητα επιφάνειας), η κρυσταλλικότητα των ινών της κυτταρίνης καθώς και η περιεκτικότητα σε λιγνίνη και ημικυτταρίνη [McMillan, 1994]. Η παρουσία της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης δυσχεραίνει την προσέγγιση των υδρολυτικών ενζύμων μειώνοντας συνεπώς την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης. Μέθοδοι προεπεξεργασίας, που στοχεύουν στην απομάκρυνση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης, στη μείωση της κρυσταλλικότητας των ινών της κυτταρίνης και στην αύξηση του πορώδους του υλικού, μπορούν να αυξήσουν σε σημαντικό βαθμό την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης.

Γενικά, οι μέθοδοι προεπεξεργασίας των λιγνοκυτταρινούχων υλικών θα πρέπει: (α) να ενισχύουν το σχηματισμό των σακχάρων ή τη δυνατότητα του επακόλουθου σχηματισμού τους με την ενζυμική υδρόλυση, (β) να ελαχιστοποιούν την απώλεια των υδατανθράκων, (γ) να αποτρέπουν το σχηματισμό παραπροϊόντων που μπορούν να δράσουν παρεμποδιστικά για τις διεργασίες της ενζυμικής υδρόλυσης και της αναερόβιας χώνευσης και (δ) να είναι οικονομικά βιώσιμες [Sun & Cheng, 2002].

Οι μέθοδοι προεπεξεργασίας των λιγνοκυτταρινούχων υλικών διακρίνονται σε φυσικές, φυσικοχημικές, χημικές και βιολογικές [Sun & Cheng, 2002]:

Φυσικές μέθοδοι προεπεξεργασίας: μηχανικός τεμαχισμός και πυρόλυση.

Φυσικοχημικές μέθοδοι προεπεξεργασίας: εκτόνωση με ατμό, εκτόνωση με αμμωνία, εκτόνωση με CO₂.

Χημικές μέθοδοι προεπεξεργασίας: οξονόλυση, υδρόλυση με οξύ (συνήθως H₂SO₄ και HCl), υδρόλυση με βάση (συνήθως NaOH), οξειδωτική απολιγνοποίηση (υπεροξείδωση παρουσία H₂O₂) κ.ά..

Βιολογικές μέθοδοι προεπεξεργασίας: χρήση λιγνολυτικών ειδών μυκήτων για τη βιοαποδόμηση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι μύκητες λευκής σήψης (white rot fungi) είναι πιο αποδοτικοί για τη βιολογική προεπεξεργασία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών, καθώς η δράση τους βασίζεται στην παραγωγή ενζύμων, τα οποία διασπούν τη λιγνίνη και την ημικυτταρίνη [Fan *et al.*, 1987]. Τα πλεονεκτήματα των βιολογικών μεθόδων προεπεξεργασίας είναι οι χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις και οι ήπιες συνθήκες που απαιτούνται για την πραγματοποίησή τους, ενώ το βασικότερο μειονέκτημα τους είναι οι χαμηλοί ρυθμοί υδρόλυσης.

4.4. Ενζυμική υδρόλυση λιγνοκυτταρινούχων υλικών

4.4.1. Γενικά περί ενζύμων

Οι βιοχημικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό των κυττάρων, κάτω από ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας, πίεσεως και pH, συμβατές με τις διεργασίες της ζωής. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω των ενζύμων, τα οποία είναι εξαιρετικά ειδικά και αποτελεσματικοί βιολογικοί καταλύτες. Τα ένζυμα, πρωτεΐνες μεγάλου μοριακού βάρους, αποτελούνται από μακριές, γραμμικές αλυσίδες αμινοξέων, οι οποίες αναδιπλώνονται έτσι ώστε να αποκτήσουν τρισδιάστατη δομή. Η καταστροφή της τρισδιάστατης δομής τους (π.χ. λόγω αύξησης της θερμοκρασίας) οδηγεί συνήθως στην απενεργοποίηση των ενζύμων.

Σε αντίθεση με τους απλούς καταλύτες, τα ένζυμα εκδηλώνουν συνήθως εκλεκτική δράση. Συχνά, ένα ένζυμο καταλύει μια μόνο αντίδραση μιας και μοναδικής ένωσης, η οποία ονομάζεται υπόστρωμα του ενζύμου, ενώ υπάρχουν ένζυμα που εμφανίζουν δραστικότητα σε μια ομάδα υποστρωμάτων. Τα υποστρώματα που μετέχουν στις περισσότερες ενζυμικές αντιδράσεις είναι πολύ μικρά μόρια σε σχέση με το ένζυμο. Επομένως, μόνο μια περιορισμένη περιοχή του ενζύμου, η ενεργή περιοχή (active site), έρχεται σε επαφή ή γειτνίαση με το υπόστρωμα, σχηματίζοντας το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος και λαμβάνει χώρα η αντίδραση.

Τα ένζυμα παρουσιάζουν μεγάλη καταλυτική ενεργότητα (catalytic activity) και εξειδίκευση (specificity). Η ενεργότητα αναφέρεται στην ικανότητα του ενζύμου να επιταχύνει μια βιοχημική αντίδραση, ενώ η εξειδίκευση αναφέρεται στον

περιορισμό της δραστηριότητας του ενζύμου σε υποστρώματα που πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις δομής. Και οι δυο αυτές ιδιότητες πηγάζουν από τη χαρακτηριστική δομή της ενεργής περιοχής του ενζύμου.

Η ενεργή περιοχή ενός ενζύμου αποτελείται από αμινοξέα, τα οποία συμμετέχουν στη σύνδεση και στη μετατροπή του υποστρώματος. Τα αμινοξέα που συνεισφέρουν στις αντιδράσεις μετατροπής του υποστρώματος, αποτελούν τις καταλυτικές ομάδες του ενζύμου. Ο σχηματισμός της ενεργούς περιοχής οφείλεται στη χαρακτηριστική τρισδιάστατη διαμόρφωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Ο αριθμός των αμινοξέων που συμμετέχουν στην ενεργή περιοχή είναι μικρός σε σχέση με τον ολικό αριθμό που περιέχεται στο μόριο του ενζύμου. Τα τελευταία, αν και δε συμμετέχουν άμεσα στην ενζυμική αντίδραση, συνεισφέρουν στη δημιουργία και σταθεροποίηση της χαρακτηριστικής διαμορφώσεως του ενζύμου, απαραίτητης για την καταλυτική του δράση.

Σε μερικά ένζυμα η εξειδίκευση αναφέρεται σε ένα μόνο υπόστρωμα, με αποτέλεσμα να μην εκδηλώνεται δράση ακόμα και με ενώσεις που έχουν παρόμοια δομή με το συγκεκριμένο υπόστρωμα. Τα περισσότερα ένζυμα εμφανίζουν στερεοεξειδίκευση για ορισμένο D- ή L- στερεοϊσομερές ή για ορισμένο cis ή trans γεωμετρικό ισομερές. Τέλος, ορισμένα ένζυμα εμφανίζουν ευρεία εξειδίκευση και δρουν πάνω σε πολλά υποστρώματα, τα οποία παρουσιάζουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά.

Ο Fisher E. (1890) για να ερμηνεύσει την εξειδίκευση των ενζυμικών αντιδράσεων πρότεινε ότι, το υπόστρωμα και το ένζυμο ταιριάζουν όπως το κλειδί με την κλειδαριά (lock-key hypothesis). Η υπόθεση αυτή ισοδυναμεί με την πρόταση ότι, η ενεργή περιοχή του ενζύμου διαθέτει μια χαρακτηριστική και ανένδοτη τρισδιάστατη οργάνωση ατόμων και ομάδων, στην οποία ταιριάζει στερεοδομικά το υπόστρωμα (Σχήμα 4.5α). Βελτίωση της παραπάνω θεωρίας αποτελεί η θεωρία της επαγόμενης προσαρμογής (induced fit) που διατυπώθηκε από τον Koshland D. (1958). Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η ενεργή διαμόρφωση του ενζύμου επάγεται από το υπόστρωμα, δηλαδή η ενεργή περιοχή αποκτά τη χαρακτηριστική τρισδιάστατη οργάνωση με τη σύνδεση του υποστρώματος (Σχήμα 4.5β).

Σχήμα 4.5. (α) Πρότυπο κλειδί-κλειδαριά, (β) Πρότυπο επαγόμενης προσαρμογής (E=ένζυμο, S=υπόστρωμα, ES=σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος).

Η αντιστρεπτή σύνδεση του υποστρώματος στην ενεργή περιοχή του ενζύμου εξασφαλίζεται χάρη σε ιοντικούς δεσμούς, δεσμούς υδρογόνου και δυνάμεις Van der Waals. Οι δυνάμεις συνδέσεως ενζύμου-υποστρώματος μπορούν να προκαλέσουν στρέβλωση (distortion) και τάση (strain) στο μόριο του υποστρώματος, ώστε να το κινητοποιήσουν για αντίδραση. Οι μηχανισμοί που μπορούν να προκαλέσουν στρέβλωση και τάση στο υπόστρωμα απεικονίζονται στο σχήμα 4.6. Η ανένδοτη περιοχή του ενζύμου προκαλεί με έλξη στρέβλωση του υποστρώματος και τάση στο δεσμό που πρόκειται να διασπαστεί (σκιασμένη περιοχή) (Σχήμα 4.6α). Στο σχήμα 4.6β η διαμόρφωση του ενζύμου μεταβάλλεται με τη σύνδεση του υποστρώματος, όπου η νέα διαμόρφωση προκαλεί πλέον στρέβλωση και τάση στο υπόστρωμα, ενώ στο σχήμα 4.6γ η πόλωση ενός δεσμού του υποστρώματος επάγεται από κατάλληλα τοποθετημένες ομάδες ή άτομα της ενεργής περιοχής του ενζύμου.

Σχήμα 4.6. Σχηματική παράσταση των μηχανισμών δημιουργίας στρεβλώσεως ή τάσεως στο υπόστρωμα.

4.4.2. Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης

Η ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης, συνήθως, καταλύεται από ένζυμα της κατηγορίας των κυτταρινασών (cellulases), τα οποία μπορούν να παραχθούν από βακτήρια και μύκητες. Οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορεί να είναι αερόβιοι ή αναερόβιοι, μεσόφιλοι ή θερμόφιλοι. Βακτήρια με ικανότητα παραγωγής κυτταρινασών ανήκουν στα είδη *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Cellulomonas*, *Bacillus* κ.ά. [Bisaria, 1991]. Οι μύκητες που έχουν αναφερθεί ότι, παράγουν κυτταρινάσες ανήκουν στα είδη *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Schizophyllum* και *Penicillium* [Fan *et al.*, 1987; Duff & Murray, 1996].

Οι κυτταρινάσες αποτελούν ένα πολυσύνθετο ενζυμικό σύστημα, με τουλάχιστον τρεις βασικές ομάδες να εμπλέκονται και να συνεργάζονται στη διεργασία υδρόλυσης της κυτταρίνης: 1) η ενδο-β-γλυκανάση (EG, EC 3.2.1.4), η οποία προσβάλλει περιοχές της κυτταρίνης με χαμηλή κρυσταλλικότητα, υδρολύοντας τους β-1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς και δημιουργώντας ελεύθερα άκρα στην αλυσίδα (αναγωγικά και μη αναγωγικά), 2) η εξω-β-γλυκανάση ή κελλοβιο-υδρολάση (CBH, EC 3.2.1.91), η οποία διασπά περαιτέρω το μόριο της κυτταρίνης, αφαιρώντας μονάδες κελλοβιόζης από τα ελεύθερα μη αναγωγικά άκρα της αλυσίδας της κυτταρίνης και 3) η β-γλυκοσιδάση ή κελλοβιάση (CB, EC 3.2.1.21), η οποία υδρολύει την κελλοβιόζη παράγοντας γλυκόζη. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, στην ομάδα των κυτταρινασών ανήκει και η εξω-γλυκοϋδρολάση (EXG, EC 3.2.1.74), η οποία υδρολύει διαλυτούς κελλο-ολιγοσακχαρίτες προς γλυκόζη [Goyal *et al.*, 1991].

Οι διαδοχικοί β-1,4-γλυκοζιτικοί δεσμοί στο μόριο της κυτταρίνης, διαφέρουν ως προς τη στερεοχημεία τους, λόγω της στροφής κατά 180° των γειτονικών ομάδων γλυκόζης. Έτσι, δυο τύποι ενδο- και εξω-γλυκανασών με διαφορετική στερεοεξειδίκευση απαιτούνται για την υδρόλυση της κυτταρίνης. Το ίδιο ισχύει και στην περίπτωση των β-γλυκοσιδασών και εξω-γλυκοϋδρολασών. Στο σχήμα 4.7 φαίνεται ότι, η διάσπαση της αλυσίδας της κυτταρίνης μπορεί να επιτευχθεί είτε με την ενδο-γλυκανάση τύπου I, είτε με την ενδο-γλυκανάση τύπου II, που υδρολύουν τους γλυκοζιτικούς δεσμούς τύπου I και II, αντίστοιχα.

Σχήμα 4.7. Συνεργιστική δράση ενδο-γλυκανασών τύπου I και II.

Η υδρόλυση της κυτταρίνης από τις κυτταρινάσες είναι μια ετερογενής καταλυτική αντίδραση, αφού το αντιδρόν συστατικό της αντίδρασης είναι αδιάλυτο (κυτταρίνη) και ο καταλύτης διαλυτός (ένζυμα). Επομένως, η κατανόηση και η περιγραφή του μηχανισμού δράσης τους στο στερεό υπόστρωμα, την κυτταρίνη, αποτελεί ζήτημα μεγάλης επιστημονικής και ερευνητικής σπουδαιότητας.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η δομή των κυτταρινασών, που παράγονται από μύκητες, αποτελείται από δυο περιοχές, την καταλυτική περιοχή (Catalytic Domain, CD) και την περιοχή σύνδεσης (Cellulose Binding Domain, CBD) [Henrissat, 1994; Hildén & Johansson, 2004]. Η καταλυτική περιοχή είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση της κυτταρίνης, ενώ η περιοχή σύνδεσης επιτρέπει τη σύνδεση του ενζύμου στην επιφάνεια της κυτταρίνης. Οι δύο περιοχές συνδέονται με ένα πεπτίδιο (Linker), το οποίο εξασφαλίζει το σωστό προσανατολισμό και λειτουργία των δυο περιοχών του ενζύμου (Σχήμα 4.8).

Τα αερόβια κυτταρινολυτικά βακτήρια υδρολύουν την κυτταρίνη με ένα μηχανισμό ανάλογο των ενζύμων που παράγονται από μύκητες. Ωστόσο, στα αναερόβια βακτήρια που μπορούν να υδρολύσουν την κυτταρίνη, οι κυτταρινάσες που παράγονται και εκκρίνονται, συσσωματώνονται και σχηματίζουν ένα σύμπλοκο γνωστό ως κυτταρινόσωμα (cellulosome).

Σχήμα 4.8. Δομή κυτταρινάσης.

Αρκετοί μηχανισμοί έχουν προταθεί για την ενζυμική μετατροπή της κυτταρίνης σε γλυκόζη, λαμβάνοντας υπόψη ότι ο βαθμός οργάνωσης της κυτταρίνης κυμαίνεται από περιοχές υψηλής κρυσταλλικότητας σε περιοχές όπου κυριαρχεί η αταξία. Σύμφωνα με το μηχανισμό (C_1 - C_x), ο οποίος προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Reese και τους συνεργάτες του (1950), η υδρόλυση της κυτταρίνης λαμβάνει χώρα σε δυο βήματα. Αρχικά, η κρυσταλλική κυτταρίνη αποκτά άμορφη ή μεταβατική δομή από τη δράση του ενζύμου C_1 , ενώ στη συνέχεια υδρολύεται περαιτέρω σε διαλυτά προϊόντα, λόγω της δράσης του υδρολυτικού ενζύμου C_x .

Ωστόσο, έχουν διατυπωθεί αρκετές συγκρουόμενες απόψεις για την ισχύ αυτής της υπόθεσης. Σύμφωνα με τον Li και τους συνεργάτες του (1965), το ένζυμο C_1 μπορεί να είναι μη υδρολυτικό, ενώ σύμφωνα με τον Wood (1975) το ένζυμο C_1 μπορεί να είναι ένας ειδικός τύπος υδρολυτικού ενζύμου, το οποίο αδυνατεί να αποπολυμερίσει την κρυσταλλική κυτταρίνη.

Σχήμα 4.9. Προτεινόμενος μηχανισμός ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης.

Γενικά, η ενδο-β-γλυκανάση προσβάλλει τις άμορφες περιοχές της κυτταρίνης, δημιουργώντας ελεύθερα άκρα στη μακρομοριακή αλυσίδα της. Στη συνέχεια, η εξω-β-γλυκανάση προσβάλλει τα ελεύθερα μη αναγωγικά άκρα της αλυσίδας αποσπώντας μονάδες κελλοβιόζης. Τέλος, η β-γλυκοσιδάση υδρολύει την κελλοβιόζη σε γλυκόζη, ενώ σε μερικές περιπτώσεις η εξω-γλυκοϋδρολάση υδρολύει διαλυτούς κελλο-ολιγοσακχαρίτες προς γλυκόζη (Σχήμα 4.9).

4.4.2.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης

Η ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης χαρακτηρίζεται αρχικά από μια πολύ γρήγορη απελευθέρωση διαλυτών σακχάρων, ενώ καθώς η αντίδραση προχωρά ο ρυθμός παραγωγής των σακχάρων μειώνεται (σε συνθήκες διαλείποντος έργου) [Lee & Fan, 1982; Wang & Converse, 1991]. Η πολυπλοκότητα της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης καθιστά δύσκολη την πλήρη περιγραφή του μηχανισμού υδρόλυσης αλλά και τον ποσοτικό προσδιορισμό του ρυθμού υδρόλυσης. Η πολυπλοκότητα αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι, (α) η κυτταρίνη είναι ένα αδιάλυτο και πολύ καλά δομημένο υπόστρωμα και (β) η υδρόλυση διεξάγεται από τη συνεργιστική δράση των κυτταρινασών.

Παράγοντες που σχετίζονται με τα ένζυμα

Ο ρυθμός υδρόλυσης των λιγνοκυτταρινούχων υλικών αυξάνεται μέχρι ενός ορισμένου σημείου, με αύξηση της συγκέντρωσης των κυτταρινασών που λαμβάνουν μέρος στη διεργασία της υδρόλυσης. Ως επί το πλείστον, η αύξηση της συγκέντρωσης των κυτταρινασών επηρεάζει σε μεγαλύτερο βαθμό το χρόνο που απαιτείται για να επιτευχθεί μια ορισμένη απόδοση από τον αρχικό ρυθμό της υδρόλυσης [Sattler *et al.*, 1989]. Σύμφωνα με τεχνοοικονομικές μελέτες, η αύξηση της συγκέντρωσης των ενζύμων αυξάνει σημαντικά το κόστος της υδρόλυσης [Nguyen & Saddler, 1991]. Συνεπώς, θα ήταν επιθυμητή η χρήση ενζύμων μικρής συγκέντρωσης με όσο το δυνατόν υψηλότερη απόδοση στην υδρόλυση και στην παραγωγή γλυκόζης.

Ένας άλλος πολύ σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την υδρόλυση της κυτταρίνης είναι η παρεμπόδιση των ενζύμων από τα προϊόντα, κυρίως από την παραγόμενη κελλοβιόζη και σε μικρότερο βαθμό από τη γλυκόζη. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι ενδο-β-γλυκανάσες και οι κελλοβιο-υδρολάσες παρεμποδίζονται από την κελλοβιόζη, ενώ οι β-γλυκοσιδάσες από τη γλυκόζη [Woodward & Wiseman, 1982]. Οι μέθοδοι που έχουν προταθεί με στόχο τη μείωση της παρεμπόδισης, που προκαλείται από τη συσσώρευση των παραγόμενων σακχάρων, είναι η χρήση ενζύμων υψηλής ενεργότητας, η προσθήκη β-γλυκοσιδάσης και η απομάκρυνση των παραγόμενων σακχάρων κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης με υπερδιήθηση ή ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η παρεμπόδιση από τα προϊόντα μπορεί να είναι είτε ανταγωνιστική είτε μη ανταγωνιστική [Okazaki *et al.*, 1978]. Στην ανταγωνιστική παρεμπόδιση, ο παρεμποδιστής παρουσιάζει ομοιότητες δομής με το υπόστρωμα, συνδέεται αντιστρεπτά στην ενεργή περιοχή του ενζύμου και ανταγωνίζεται με το υπόστρωμα για την ενεργή περιοχή του ενζύμου. Η μη ανταγωνιστική παρεμπόδιση είναι επίσης αντιστρεπτή, αύξηση όμως της συγκέντρωσης του υποστρώματος δεν μπορεί να εξαλείψει την παρεμπόδιση, όπως μπορεί να συμβεί στην ανταγωνιστική παρεμπόδιση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, ο παρεμποδιστής συνενώνεται με το ένζυμο σε μια διαφορετική περιοχή από το υπόστρωμα.

Η ανακύκλωση του ενζύμου, με σκοπό την επαναχρησιμοποίησή του, μπορεί να αυξήσει την απόδοση και το ρυθμό της υδρόλυσης, μειώνοντας σημαντικά το κόστος της διεργασίας. Οι κυτταρινάσες μπορούν να ανακτηθούν κυρίως από το υπερκείμενο υγρό, καθώς επίσης και από τα στερεά υπολείμματα της διεργασίας [Gregg & Saddler, 1996].

Παράγοντες που σχετίζονται με το υπόστρωμα

Η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την απόδοση και τον αρχικό ρυθμό της ενζυμικής υδρόλυσης. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος, αύξηση της συγκέντρωσης οδηγεί συνήθως σε αύξηση της απόδοσης και του αρχικού ρυθμού υδρόλυσης [Cheung & Anderson, 1997]. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις υποστρώματος οδηγούν σε μικρότερες αυξήσεις του αρχικού ρυθμού, ενώ σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις υποστρώματος ο αρχικός ρυθμός καθίσταται σταθερός και ανεξάρτητος της συγκέντρωσης του υποστρώματος (Σχήμα 4.10). Στο σημείο αυτό παρατηρείται κορεσμός του ενζύμου από το υπόστρωμα. Αυτό βέβαια δεν αποκλείει ότι, η υψηλή συγκέντρωση υποστρώματος μπορεί να προκαλέσει παρεμπόδιση και πιθανότατα να οδηγήσει σε μείωση του ρυθμού και της απόδοσης της υδρόλυσης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο βαθμός παρεμπόδισης εξαρτάται από την αναλογία του υποστρώματος προς το ολικό ποσό του ενζύμου [Huang & Penner, 1991].

Σχήμα 4.10. Διάγραμμα μεταβολής του αρχικού ρυθμού (v_0) μιας ενζυμικής αντιδράσεως σε σχέση με τη συγκέντρωση του υποστρώματος.

Τα δομικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης είναι η κρυσταλλικότητα των ινών της, ο βαθμός πολυμερισμού της, το πορώδες του υλικού (διαθεσιμότητα επιφάνειας) καθώς και η περιεκτικότητά σε λιγνίνη [McMillan, 1994].

Η ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης περιλαμβάνει τρία στάδια: 1) την προσρόφηση των κυτταρινασών στην επιφάνεια της κυτταρίνης, 2) τη μετατροπή της κυτταρίνης σε ζυμώσιμα σάκχαρα και 3) την εκρόφηση των κυτταρινασών. Επομένως, η επιφάνεια του υποστρώματος που είναι προσβάσιμη από τα ένζυμα καθορίζει σημαντικά την υδρόλυση της κυτταρίνης, καθώς η προσρόφηση των κυτταρινασών αποτελεί ένα σημαντικό στάδιο στη διεργασία της υδρόλυσης.

Ένα κρυσταλλικό υπόστρωμα είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό στην υδρόλυση, αφού τα μόρια του είναι λιγότερο προσιτά στα ένζυμα, συγκριτικά με ένα υπόστρωμα στο οποίο κυριαρχούν οι άμορφες περιοχές. Συνεπώς, η κρυσταλλικότητα των ινών της κυτταρίνης επηρεάζει αρνητικά την απόδοση της υδρόλυσης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η θετική επίδραση της μειωμένης κρυσταλλικότητας στην υδρόλυση είναι περισσότερο συνέπεια της αύξησης της προσβάσιμης επιφάνειας και λιγότερο της μείωσης του ποσοστού των κρυσταλλικών περιοχών του υποστρώματος [Saddler *et al.*, 1996].

Η λιγνίνη παρεμποδίζει τη διεργασία της υδρόλυσης εμποδίζοντας την πρόσβαση των κυτταρινασών στην κυτταρίνη και δεσμεύοντας αναντιστρεπτά τα υδρολυτικά ένζυμα. Επομένως, η απομάκρυνση της λιγνίνης μπορεί να αυξήσει σε σημαντικό βαθμό την απόδοση της υδρόλυσης της κυτταρίνης [McMillan, 1994]. Επίσης, η χρήση επιφανειοδραστικών (ουσίες με υδρόφιλες και υδρόφοβες ιδιότητες ταυτόχρονα) μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την ενζυμική υδρόλυση των

λιγνοκυτταρινούχων υλικών [Eriksson *et al.*, 2002]. Ένας πιθανός μηχανισμός δράσης είναι ο ακόλουθος: το υδρόφοβο μέρος των επιφανειοδραστικών δεσμεύεται από τη λιγνίνη ενώ το υδρόφιλο μέρος τους αποτρέπει τη μη αντιστρεπτή δέσμευση των κυτταρινασών στη λιγνίνη [Eriksson *et al.*, 2002]. Τα επιφανειοδραστικά που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι οι ουσίες με την εμπορική ονομασία Tween 20, Tween 80, Triton X-100, Triton X-114, SDS κ.ά. [Eriksson *et al.*, 2002].

Παράγοντες που σχετίζονται με τις συνθήκες της αντίδρασης

Οι συνθήκες της αντίδρασης που επηρεάζουν την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυση της κυτταρίνης είναι η θερμοκρασία, το pH και η ανάδευση. Γενικά, η αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ταχύτητας των ενζυμικών αντιδράσεων. Ωστόσο, τα περισσότερα ένζυμα αδρανοποιούνται σε θερμοκρασία 55°C και άνω, λόγω των μεταβολών που παρατηρούνται στη διαμόρφωσή τους. Βέβαια, υπάρχουν και ένζυμα θερμοφίλων βακτηρίων που εξακολουθούν να είναι ενεργά και σε υψηλές θερμοκρασίες (π.χ. 85°C). Επίσης, τα περισσότερα ένζυμα χαρακτηρίζονται από μια βέλτιστη τιμή pH, στην οποία η ενεργότητά τους μεγιστοποιείται.

Τέλος, είναι γενικά αποδεκτό ότι, οι κυτταρινάσες και γενικότερα τα ένζυμα απενεργοποιούνται όταν εκτίθενται στις διατμητικές τάσεις που αναπτύσσονται από την ανάδευση στο χώρο της αντίδρασης. Σύμφωνα με τον Ganesh και τους συνεργάτες του (2000), όταν μόρια κυτταρινασών εκτέθηκαν στις διατμητικές τάσεις που προκλήθηκαν από την αύξηση της ταχύτητας ανάδευσης του υγρού της αντίδρασης, παρατηρήθηκε απενεργοποίηση των ενζύμων, η οποία ίσως οφείλεται στην αλλαγή της διαμόρφωσης της τριτοταγούς δομής των ενζύμων.

4.4.3. Ενζυμική υδρόλυση ημικυτταρίνης και λιγνίνης

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, υπάρχουν διάφορα ένζυμα που υδρολύουν την ημικυτταρίνη, όπως γλουκορονιδάσες, ακετυλεστεράσες, ξυλανάσες, ξυλοσιδάσες, γαλακτομαννανάσες και γλυκομαννανάσες [Duff & Murray, 1996].

Η τυχαία δομή της λιγνίνης και οι ισχυροί δεσμοί μεταξύ των μονομερών της, την καθιστούν εξαιρετικά ανθεκτική στη διαδικασία της μικροβιακής αποικοδόμησης. Ενώ πολλοί μικροοργανισμοί μπορούν να αποδομούν μερικά από τα συστατικά του μορίου της λιγνίνης, μόνον ένας μικρός αριθμός μπορεί να αποδομεί

την εσωτερική δομή της. Οι περισσότεροι από αυτούς τους μικροοργανισμούς είναι μύκητες λευκής σήψης (white rot fungi). Τα ένζυμα που λαμβάνουν μέρος στην αποδόμηση της λιγνίνης και παράγονται από τους μύκητες λευκής σήψης είναι η υπεροξειδάση της λιγνίνης, η υπεροξειδάση του μαγγανίου και η λακκάση.

Κεφάλαιο

5. Μαθηματική μοντελοποίηση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου

5.1. Εισαγωγή

Η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από οργανικά απόβλητα, πλούσια κυρίως σε υδατάνθρακες, αποτελεί μια ιδιαίτερα ελκυστική μέθοδο επεξεργασίας τους, καθώς είναι δυνατή η αποτοξικοποίηση των αποβλήτων και η παραγωγή ενέργειας. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, κατά το στάδιο της οξεογένεσης στην αναερόβια χώνευση, διαλυτό οργανικό υλικό βιοαποδομείται προς απλούστερες οργανικές ενώσεις, κυρίως προς πτητικά λιπαρά οξέα και αλκοόλες με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

Παρόλο που έχουν αναπτυχθεί αρκετά μαθηματικά μοντέλα για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής μεθανίου, ελάχιστα εξειδικεύονται στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου [Mu *et al.*, 2005; Whang *et al.*, 2006]. Μια αξιολόγηση επισκόπηση των συνηθέστερα χρησιμοποιούμενων μαθηματικών μοντέλων για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής μεθανίου, παρατίθεται στη δημοσίευση των Lyberatos και Skiadas (1999).

5.2. Μαθηματικά μοντέλα για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής μεθανίου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου

Από τα μαθηματικά μοντέλα που έχουν αναπτυχθεί για την περιγραφή της αναερόβιας χώνευσης, εκείνα που δίνουν έμφαση στην επίδραση της μερικής πίεσης του υδρογόνου κατά τη βιοαποδόμηση της γλυκόζης προς μεταβολικά προϊόντα

(στάδιο οξεογένεσης) είναι και εκείνα που με κατάλληλες τροποποιήσεις μπορούν να περιγράψουν ικανοποιητικά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.

Στη συνέχεια, περιγράφονται συνοπτικά τα κυριότερα μαθηματικά μοντέλα, που δίνουν έμφαση στην επίδραση της μερικής πίεσης του υδρογόνου κατά την αναερόβια ζύμωση.

5.2.1. Το μαθηματικό μοντέλο του Mosey και οι τροποποιήσεις του

Το μαθηματικό μοντέλο που αναπτύχθηκε από τον Mosey (1983), ήταν το πρώτο που βασίστηκε στη θεώρηση ότι, το υδρογόνο αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα στην παραγωγή των πτητικών λιπαρών οξέων από τη γλυκόζη. Το μοντέλο θεωρεί την ύπαρξη τεσσάρων βακτηριακών ομάδων: (α) τα γρήγορα αναπτυσσόμενα οξεογόνα βακτήρια (ελάχιστος χρόνος διπλασιασμού περίπου 30 min) που ζυμώνουν τη γλυκόζη προς οξικό οξύ, προπιονικό οξύ και βουτυρικό οξύ, (β) τα αργά αναπτυσσόμενα οξικογόνα βακτήρια (ελάχιστος χρόνος διπλασιασμού 1.5-4 d) που μετατρέπουν το βουτυρικό οξύ και το προπιονικό οξύ σε οξικό οξύ, (γ) τα αργά αναπτυσσόμενα μεθανογόνα βακτήρια (ελάχιστος χρόνος διπλασιασμού 2-3 d) που παράγουν μεθάνιο από οξικό οξύ και (δ) τα σχετικά γρήγορα αναπτυσσόμενα μεθανογόνα βακτήρια (ελάχιστος χρόνος διπλασιασμού περίπου 6 h) που παράγουν μεθάνιο από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα.

Η βασική θεώρηση του μοντέλου είναι ότι, η παραγωγή του βουτυρικού οξέος, του προπιονικού οξέος και του οξικού οξέος ρυθμίζεται από τη διαθεσιμότητα του υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, η σχετική διαθεσιμότητα της ανηγμένης μορφής (NADH) και της οξειδωμένης μορφής (NAD⁺) του συνένζυμου νικοτιναμιδο-αδενινιδινουκλεοτιδίου, που εκφράζεται μέσω του λόγου [NADH]/[NAD⁺], ελέγχει το ρυθμό μετατροπής της γλυκόζης και τη σύνθεση του παραγόμενου μίγματος οξέων. Ο λόγος [NADH]/[NAD⁺] θεωρείται συνάρτηση της μερικής πίεσης του υδρογόνου στην αέρια φάση και εκφράζεται σύμφωνα με τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$\frac{[\text{NADH}]}{[\text{NAD}^+]} = 1500 \cdot P_{\text{H}_2} \quad (\text{εξ. 5.1α}) \quad \text{ή}$$

$$\frac{[\text{NADH}]}{[\text{NAD}^+]} = 1.5 \cdot 10^{-3} \cdot H \quad (\text{εξ. 5.1β})$$

όπου P_{H_2} είναι η μερική πίεση του υδρογόνου στην αέρια φάση [= atm] και H είναι η συγκέντρωση του υδρογόνου στην αέρια φάση [= ppmv]. Οι εξισώσεις 5.1α και 5.1β

μπορούν να χρησιμοποιηθούν υπό το πρίσμα των ακόλουθων παραδοχών: (α) η τιμή του pH στο εσωτερικό των βακτηρίων είναι σταθερή και ίση με 7, ανεξάρτητα από την τιμή του pH στο μέσο ανάπτυξης, (β) το υδρογόνο διαχέεται γρήγορα διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης, οπότε η μερική πίεση του υδρογόνου στο εσωτερικό του κυττάρου είναι ίδια με τη μερική πίεση του υδρογόνου στην αέρια φάση του αντιδραστήρα και (γ) το οξειδοαναγωγικό δυναμικό στο εσωτερικό του κυττάρου (εκφράζεται από το λόγο $[NADH]/[NAD^+]$) είναι ίσο με το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του μέσου ανάπτυξης.

Το μαθηματικό μοντέλο του Mosey περιγράφει με μαθηματικές εξισώσεις όλα τα στάδια μετατροπής της γλυκόζης σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, θεωρώντας ότι, τόσο η μετατροπή της γλυκόζης, μέσω του δικτύου EMP, σε μίγμα πτητικών λιπαρών οξέων, όσο και η παραγωγή οξικού οξέος από βουτυρικό οξύ και προπιονικό οξύ ρυθμίζονται από τη μερική πίεση του υδρογόνου. Στο σχήμα 5.1 απεικονίζεται το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής της γλυκόζης προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, όπως περιγράφεται από το μοντέλο του Mosey.

Σχήμα 5.1. Το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής της γλυκόζης προς μεθάνιο, σύμφωνα με το μοντέλο του Mosey (1983).

Σύμφωνα με το μαθηματικό μοντέλο του Mosey, μια αιφνίδια αύξηση στο ρυθμό οργανικής φόρτισης, αναμένεται να προκαλέσει συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων, καθώς τα οξικογόνα βακτήρια αναπτύσσονται με βραδύτερους ρυθμούς από τα οξεογόνα βακτήρια. Η επακόλουθη μείωση του pH από τη συσσώρευση των οξέων, παρεμποδίζει τα μεθανογόνα βακτήρια, που παράγουν μεθάνιο από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η μερική πίεση του υδρογόνου, η οποία προκαλεί περαιτέρω συσσώρευση προπιονικού οξέος και βουτυρικού οξέος.

Αργότερα, ο Pullammanappallil και οι συνεργάτες του (1991) επέκτειναν το μοντέλο του Mosey, περιγράφοντας την παρεμπόδιση των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων από τα αδιάστατα πτητικά λιπαρά οξέα. Στη συνέχεια, ο Costello και οι συνεργάτες του (1991a και 1991b), με βάση το μοντέλο του Mosey, θεώρησαν ότι, η γλυκόζη μετατρέπεται αρχικά σε οξικό οξύ, βουτυρικό οξύ και γαλακτικό οξύ και στη συνέχεια το γαλακτικό οξύ μετατρέπεται σε οξικό οξύ και προπιονικό οξύ από μια άλλη ομάδα μικροοργανισμών (Σχήμα 5.2). Αυτά τα δυο στάδια μετατροπής της γλυκόζης σε μίγμα πτητικών λιπαρών οξέων ρυθμίζονται από τη μερική πίεση του υδρογόνου, όπως επίσης και η μετατροπή του βουτυρικού οξέος και του προπιονικού οξέος προς οξικό οξύ. Η ανάπτυξη όλων των μικροβιακών πληθυσμών παρεμποδίζεται από το pH, ενώ τα οξεογόνα βακτήρια, τα βακτήρια που καταναλώνουν γαλακτικό οξύ και τα οξικογόνα βακτήρια υφίστανται παρεμπόδιση προϊόντος. Στην εργασία της Ruzicka (1991), που αποτελεί επέκταση του μοντέλου του Mosey, θεωρείται ότι, είναι δυνατή η παραγωγή οξέων με περισσότερα από τέσσερα άτομα άνθρακα κατά τη βιοαποδόμηση της γλυκόζης, η οποία ρυθμίζεται από τη μερική πίεση του υδρογόνου.

Τέλος, ο Batstone και οι συνεργάτες του (2000), ανέπτυξαν ένα σύνθετο μαθηματικό μοντέλο, βασισμένο στα μοντέλα των Mosey (1983) και Costello (1991), για να περιγράψουν τη βιοαποδόμηση σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων, που αποτελούνται από υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη, προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα. Τα λίπη, οι πρωτεΐνες και οι υδατάνθρακες υδρολύονται από εξωκυτταρικά ένζυμα προς λιπαρά οξέα μακριάς αλυσίδας, διαλυτές πρωτεΐνες και απλά σάκχαρα, αντίστοιχα. Η βιοαποδόμηση των λιπαρών οξέων μακριάς αλυσίδας, μέσω της β-οξειδωσης, οδηγεί στην παραγωγή οξικού οξέος, ενώ η βιοαποδόμηση των πρωτεϊνών, μέσω των αντιδράσεων Stickland, οδηγεί στην παραγωγή οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και βαλερικού οξέος. Η βιοαποδόμηση των

απλών σακχάρων προς πτητικά λιπαρά οξέα ρυθμίζεται από τη μερική πίεση του υδρογόνου, όπως προτάθηκε από τον Mosey (1983), ενώ ταυτόχρονα παράγεται γαλακτικό οξύ, το οποίο μετατρέπεται σε προπιονικό οξύ και οξικό οξύ, όπως προτάθηκε από τον Costello και τους συνεργάτες του (1991a και 1991b). Στη συνέχεια, τα πτητικά λιπαρά οξέα βιοαποδομοούνται προς οξικό οξύ, υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα, τα οποία μετατρέπονται τελικά σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα από τα μεθανογόνα βακτήρια.

Σχήμα 5.2. Το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής της γλυκόζης προς μεθάνιο, σύμφωνα με το μοντέλο του Costello (1991).

5.2.2. Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1)

Το μαθηματικό μοντέλο ADM1 περιγράφει τις κυριότερες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την αναερόβια χώνευση σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων προς μεθάνιο, διοξείδιο του άνθρακα και αδρανή παραπροϊόντα [IWA, 2002]. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα διακρίνονται σε βιολογικές και φυσικοχημικές.

Το μοντέλο περιλαμβάνει ένα εξωκυτταρικό στάδιο διάσπασης, ένα εξωκυτταρικό στάδιο υδρόλυσης και τρία βιολογικά (ενδοκυτταρικά) στάδια (οξεογένεση, οξικογένεση και μεθανογένεση) (Σχήμα 5.3). Αρχικά λαμβάνει χώρα η

διάσπαση των σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων προς υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λίπη και αδρανή συστατικά (διαλυτά και σωματιδιακά), τα οποία υδρολύονται προς απλά σάκχαρα, αμινοξέα και λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας (LCFA), αντίστοιχα. Στη συνέχεια, τα απλά σάκχαρα και τα αμινοξέα βιοαποδομούνται, από δυο διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών, προς πτητικά λιπαρά οξέα, υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα (στάδιο οξεογένεσης), ενώ τα οξικογόνα βακτήρια μετατρέπουν τα λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ και βαλερικό οξύ προς οξικό οξύ, υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα (στάδιο οξικογένεσης). Κατά το στάδιο της μεθανογένεσης, μεθάνιο παράγεται είτε από οξικό οξύ μέσω των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων, είτε από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω των μεθανογόνων βακτηρίων που χρησιμοποιούν το υδρογόνο για να ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα προς μεθάνιο.

Τα διαλυτά συστατικά (συμβολίζονται με S στο σχήμα 5.3) μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών. Στην ομάδα αυτή ανήκουν τα απλά σάκχαρα, τα αμινοξέα, τα λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας, τα πτητικά λιπαρά οξέα (οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, βαλερικό οξύ), το υδρογόνο και το μεθάνιο. Εκτός από τα οργανικά συστατικά, το μοντέλο περιλαμβάνει ανόργανο άνθρακα (CO_2 και HCO_3^-) και ανόργανο άζωτο (NH_3 και NH_4^+). Τα οργανικά συστατικά και το υδρογόνο εκφράζονται σε μονάδες COD ($\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$), ενώ ο ανόργανος άνθρακας και το ανόργανο άζωτο σε μονάδες μοριακής συγκέντρωσης ($\text{M}=\text{kmole}\cdot\text{m}^{-3}$). Όλα τα είδη που διίστανται (πτητικά λιπαρά οξέα και NH_3) περιγράφονται στο μοντέλο από μεταβλητές, τόσο για τις πρωτονιομένες όσο για τις μη πρωτονιομένες μορφές τους. Το μοντέλο εξασφαλίζει ισοζύγιο φορτίου μεταξύ των κατιόντων και των ανιόντων, συμπεριλαμβανομένων και των H^+ .

Τα σωματιδιακά είδη (συμβολίζονται με X στο σχήμα 5.3) περιλαμβάνουν είτε ενεργή βιομάζα είτε σωματιδιακά συστατικά που αδυνατούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη. Το μοντέλο θεωρεί τις ακόλουθες επτά ομάδες μικροοργανισμών: (1) μικροοργανισμοί που βιοαποδομούν σάκχαρα (X_{su}), (2) μικροοργανισμοί που βιοαποδομούν αμινοξέα (X_{aa}), (3) μικροοργανισμοί που οξειδώνουν λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας (X_{fa}), (4) μικροοργανισμοί που οξειδώνουν βουτυρικό οξύ και βαλερικό οξύ (X_{C4}), (5) μικροοργανισμοί που οξειδώνουν προπιονικό οξύ (X_{pro}), (6) οξικολυτικοί μεθανογόνοι μικροοργανισμοί (X_{ac}) και (7) μεθανογόνοι που είναι χρήστες υδρογόνου (X_{h2}). Τα μη μικροβιακά

σωματιδιακά είδη περιλαμβάνουν σύνθετα οργανικά συστατικά, τα οποία είτε προέρχονται από την τροφοδοσία του αντιδραστήρα είτε από το θάνατο και τη φθορά των μικροβιακών πληθυσμών, καθώς και προϊόντα από τη διάσπαση των σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων, όπως υδατάνθρακες (X_{ch}), πρωτεΐνες (X_{pr}) και λίπη (X_{li}).

Σχήμα 5.3. Το βιοχημικό δίκτυο μετατροπής σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων προς μεθάνιο, σύμφωνα με το μοντέλο ADM1.

Η διάσπαση του σύνθετου οργανικού υποστρώματος και η υδρόλυση των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπών περιγράφονται από κινητικές εκφράσεις πρώτης τάξης. Οι διεργασίες μετατροπής των υποστρωμάτων περιγράφονται από κινητικές εκφράσεις τύπου Monod, ενώ οι διεργασίες ενδογενούς φθοράς περιγράφονται από κινητικές εκφράσεις πρώτης τάξης, ως προς τη συγκέντρωση της βιομάζας.

Επίσης, το μοντέλο περιλαμβάνει εκφράσεις παρεμπόδισης από το pH, το υδρογόνο και την ελεύθερη αμμωνία. Πιο συγκεκριμένα, η παρεμπόδιση από το pH επιβάλλεται σε όλες τις ομάδες των μικροοργανισμών, η παρεμπόδιση από το pH επιβάλλεται στα οξικογόνα βακτήρια και η παρεμπόδιση από την ελεύθερη αμμωνία επιβάλλεται μόνο στα οξικολυτικά μεθανογόνα βακτήρια. Η παρεμπόδιση από το pH περιγράφεται από δυο εμπειρικές εξισώσεις, ενώ η παρεμπόδιση από το υδρογόνο και την ελεύθερη αμμωνία από μη ανταγωνιστικές

εκφράσεις [IWA, 2002]. Τέλος, σε περίπτωση έλλειψης ανόργανου αζώτου (NH_3 και NH_4^+) χρησιμοποιείται κινητική Monod διπλού περιορισμού για το άζωτο, ενώ η κατανάλωση βουτυρικού οξέος και βαλερικού οξέος από την ίδια ομάδα μικροοργανισμών περιγράφεται από εκφράσεις συναγωνισμού. Οι ρυθμοί των επιμέρους βιολογικών διεργασιών και οι αντίστοιχοι στοιχειομετρικοί συντελεστές παρατίθενται στον πίνακα 5.1 [IWA, 2002].

Οι φυσικοχημικές διεργασίες, που συνήθως λαμβάνουν χώρα σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα, είναι οι διεργασίες (α) μεταξύ υγρού-υγρού (π.χ. αντιδράσεις μεταξύ ιόντων), (β) μεταξύ υγρού-αερίου (π.χ. μεταφορά μάζας μεταξύ υγρής-αέριας φάσης για το CO_2 , το CH_4 και το H_2) και (γ) μεταξύ υγρού-στερεού (π.χ. διαλυτοποίηση στερεών).

Πίνακας 5.1. Οι βιοχημικές αντιδράσεις (ρυθμοί και στοιχειομετρικοί συντελεστές) που περιγράφουν το μοντέλο ADM1.

	Συστατικό→ i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Ρυθμός (ρ_i , kgCODm ⁻³ d ⁻¹)
j	Διεργασία ↓	S _{su}	S _{aa}	S _{fa}	S _{va}	S _{bu}	S _{pro}	S _{ac}	S _{h2}	S _{ch4}	S _{IC}	S _{IN}	S _I	
1	Υδρόλυση στερεών												f _{si,xc}	k _{dis} X _c
2	Υδρόλυση υδατανθράκων	1												k _{hyd,ch} X _{ch}
3	Υδρόλυση πρωτεϊνών		1											k _{hyd,pr} X _{pr}
4	Υδρόλυση λιπών	1-f _{fa,li}		f _{fa,li}										k _{hyd,li} X _{li}
5	Κατανάλωση σακχάρων	-1				(1-Y _{su})f _{bu,su}	(1-Y _{su})f _{pro,su}	(1-Y _{su})f _{ac,su}	(1-Y _{su})f _{h2,su}		$-\sum_{i=1-9,11-24} C_i V_{i,5}$	-Y _{su} N _{bac}		$k_{m,su} \frac{S_{su}}{K_s + S_{su}} X_{su} I_1$
6	Κατανάλωση αμινοξέων		-1		(1-Y _{aa})f _{va,aa}	(1-Y _{aa})f _{bu,aa}	(1-Y _{aa})f _{pro,aa}	(1-Y _{aa})f _{ac,aa}	(1-Y _{aa})f _{h2,aa}		$-\sum_{i=1-9,11-24} C_i V_{i,6}$	$\frac{N_{aa}}{Y_{aa} N_{bac}}$		$k_{m,aa} \frac{S_{aa}}{K_s + S_{aa}} X_{aa} I_1$
7	Κατανάλωση LCFA			-1				(1-Y _{fa})0.7	(1-Y _{fa})0.3			-Y _{fa} N _{bac}		$k_{m,fa} \frac{S_{fa}}{K_s + S_{fa}} X_{fa} I_2$
8	Κατανάλωση βαλερικού οξέος				-1		(1-Y _{c4})0.54	(1-Y _{c4})0.31	(1-Y _{c4})0.15			-Y _{c4} N _{bac}		$k_{m,c4} \frac{S_{va}}{K_s + S_{va}} X_{c4} \frac{1}{1 + S_{bu}/S_{va}} I_2$
9	Κατανάλωση βουτυρικού οξέος					-1		(1-Y _{c4})0.8	(1-Y _{c4})0.2			-Y _{c4} N _{bac}		$k_{m,c4} \frac{S_{bu}}{K_s + S_{bu}} X_{c4} \frac{1}{1 + S_{va}/S_{bu}} I_2$
10	Κατανάλωση προπιονικού οξέος						-1	(1-Y _{pro})0.57	1-Y _{pro})0.43		$-\sum_{i=1-9,11-24} C_i V_{i,10}$	-Y _{pro} N _{bac}		$k_{m,pr} \frac{S_{pro}}{K_s + S_{pro}} X_{pro} I_2$
11	Κατανάλωση οξικού οξέος							-1		1-Y _{ac}	$-\sum_{i=1-9,11-24} C_i V_{i,11}$	-Y _{ac} N _{bac}		$k_{m,ac} \frac{S_{ac}}{K_s + S_{ac}} X_{ac} I_3$
12	Κατανάλωση υδρογόνου								-1	1-Y _{h2}	$-\sum_{i=1-9,11-24} C_i V_{i,12}$	-Y _{h2} N _{bac}		$k_{m,h2} \frac{S_{h2}}{K_s + S_{h2}} X_{h2} I_1$
13	Θάνατος X _{su}													k _{dec,Xsu} X _{su}
14	Θάνατος X _{aa}													k _{dec,Xaa} X _{aa}
15	Θάνατος X _{fa}													k _{dec,Xfa} X _{fa}
16	Θάνατος X _{c4}													k _{dec,Xc4} X _{c4}
17	Θάνατος X _{pro}													k _{dec,Xpro} X _{pro}
18	Θάνατος X _{ac}													k _{dec,Xac} X _{ac}
19	Θάνατος X _{h2}													k _{dec,Xh2} X _{h2}
		Σάκχαρα (kgCODm ⁻³)	Αμινοξέα (kgCODm ⁻³)	LCFA (kgCODm ⁻³)	Βαλερικό οξύ (kgCODm ⁻³)	Βουτυρικό οξύ (kgCODm ⁻³)	Προπιονικό οξύ (kgCODm ⁻³)	Οξικό οξύ (kgCODm ⁻³)	Υδρογόνο (kgCODm ⁻³)	Μεθάνιο (kgCODm ⁻³)	Ανόργανος άνθρακας (kmoleCm ⁻³)	Ανόργανο άζωτο (kmoleNm ⁻³)	Διαλυτά αδρανή (kgCODm ⁻³)	Συντελεστές παρεμπόδισης: I ₁ =I _{pH} I _{IN,lim} I ₂ =I _{pH} I _{IN,lim} I _{h2} I ₃ =I _{pH} I _{IN,lim} I _{NH3,Xac}

	Συστατικό→ i	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	Ρυθμός (ρ _i , kgCODm ⁻³ d ⁻¹)
j	Διεργασία ↓	X _{su}	X _{ch}	X _{pr}	X _{li}	X _{su}	X _{aa}	X _{fa}	X _{c4}	X _{pro}	X _{ac}	X _{h2}	X _I	
1	Υδρόλυση στερεών	-1	f _{ch,xc}	f _{pr,xc}	f _{li,xc}								f _{xl,xc}	k _{dis} X _c
2	Υδρόλυση υδατανθράκων		-1											k _{hyd,ch} X _{ch}
3	Υδρόλυση πρωτεϊνών			-1										k _{hyd,pr} X _{pr}
4	Υδρόλυση λιπών				-1									k _{hyd,li} X _{li}
5	Κατανάλωση σακχάρων					Y _{su}								k _{m, su} $\frac{S_{su}}{K_s + S_{su}}$ X _{su} I ₁
6	Κατανάλωση αμινοξέων						Y _{aa}							k _{m, aa} $\frac{S_{aa}}{K_s + S_{aa}}$ X _{aa} I ₁
7	Κατανάλωση LCFA							Y _{fa}						k _{m, fa} $\frac{S_{fa}}{K_s + S_{fa}}$ X _{fa} I ₂
8	Κατανάλωση βαλερικού οξέος								Y _{c4}					k _{m, c4} $\frac{S_{va}}{K_s + S_{va}}$ X _{c4} $\frac{1}{1 + S_{bu}/S_{va}}$ I ₂
9	Κατανάλωση βουτυρικού οξέος								Y _{c4}					k _{m, c4} $\frac{S_{bu}}{K_s + S_{bu}}$ X _{c4} $\frac{1}{1 + S_{va}/S_{bu}}$ I ₂
10	Κατανάλωση προπιονικού οξέος									Y _{pro}				k _{m, pr} $\frac{S_{pro}}{K_s + S_{pro}}$ X _{pro} I ₂
11	Κατανάλωση οξικού οξέος										Y _{ac}			k _{m, ac} $\frac{S_{ac}}{K_s + S_{ac}}$ X _{ac} I ₃
12	Κατανάλωση υδρογόνου											Y _{h2}		k _{m, h2} $\frac{S_{h2}}{K_s + S_{h2}}$ X _{h2} I ₁
13	Θάνατος X _{su}	1				-1								k _{dec, Xsu} X _{su}
14	Θάνατος X _{aa}	1					-1							k _{dec, Xaa} X _{aa}
15	Θάνατος X _{fa}	1						-1						k _{dec, Xfa} X _{fa}
16	Θάνατος X _{c4}	1							-1					k _{dec, Xc4} X _{c4}
17	Θάνατος X _{pro}	1								-1				k _{dec, Xpro} X _{pro}
18	Θάνατος X _{ac}	1									-1			k _{dec, Xac} X _{ac}
19	Θάνατος X _{h2}	1										-1		k _{dec, Xh2} X _{h2}
		Σύνθετα (kgCODm ⁻³)	Υδατανθρακες (kgCODm ⁻³)	Πρωτεΐνες (kgCODm ⁻³)	Λίπη (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν σάκχαρα (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν αμινοξέα (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν LCFA (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν βαλερικό & βουτυρικό οξύ (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν προπιονικό οξύ (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν οξικό οξύ (kgCODm ⁻³)	M/O που καταναλώνουν υδρογόνο (kgCODm ⁻³)	Αδρανή στερεά (kgCODm ⁻³)	Συντελεστές παρεμπόδισης: I ₁ =I _{pH} I _{IN,lim} I ₂ =I _{pH} I _{IN,lim} I _{h2} I ₃ =I _{pH} I _{IN,lim} I _{NH3,Xac}

5.3. Το τροποποιημένο μαθηματικό μοντέλο ADM1 για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου

Η εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1, με στόχο την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου, απαιτεί τροποποιήσεις, οι οποίες θα το καταστήσουν κατάλληλο για το σκοπό αυτό. Για παράδειγμα, θα πρέπει να περιοριστεί στην περιγραφή των δύο πρώτων σταδίων της αναερόβιας χώνευσης, αποκλείοντας την οξικογένεση και τη μεθανογένεση και απορρίπτοντας τις σχετιζόμενες με αυτά τα στάδια μαθηματικές εξισώσεις. Μια πρώτη προσπάθεια έχει γίνει από τον Peiris και τους συνεργάτες του (2006).

Στη συνέχεια, παρατίθενται οι βασικές τροποποιήσεις και θεωρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στο μαθηματικό μοντέλο ADM1, στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, με απώτερο στόχο τη μαθηματική προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων που αποκτήθηκαν από τη λειτουργία του αναερόβιου αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR και των αντιδραστήρων διαλείποντος έργου τροφοδοτούμενων με απόβλητα ελαιοτριβείων.

Περιορισμός της δράσης των μεθανογόνων και των οξικογόνων μικροοργανισμών

Σύμφωνα με το μαθηματικό μοντέλο ADM1, το μεθάνιο παράγεται, κατά το στάδιο της μεθανογένεσης, είτε από το οξικό οξύ μέσω των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων (X_{ac}) είτε από το υδρογόνο και το διοξείδιο του άνθρακα μέσω των μεθανογόνων βακτηρίων που χρησιμοποιούν το υδρογόνο για να ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα προς μεθάνιο (X_{h_2}). Επειδή, η καλλιέργεια μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκε για την έναρξη της λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου (τύπου CSTR) ήταν μίγμα θερμικά προεπεξεργασμένης μικτής αναερόβιας καλλιέργειας και μικτής καλλιέργειας παραγωγής υδρογόνου και καθώς δεν παρατηρήθηκε παραγωγή μεθανίου κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του αντιδραστήρα, η αρχική συγκέντρωση των μεθανογόνων μικροοργανισμών θεωρήθηκε μηδενική ($X_{ac}=0$ και $X_{h_2}=0$).

Οι συνθήκες λειτουργίας του υδρογονοπαραγωγού αντιδραστήρα τύπου CSTR, όπως οι μικροί χρόνοι παραμονής (της τάξεως μερικών ωρών), η χαμηλή τιμή του pH λειτουργίας (<5) και η υψηλή μερική πίεση του υδρογόνου, παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των οξικογόνων μικροοργανισμών. Πρόκειται για αργά αναπτυσσόμενα βακτήρια (ελάχιστος χρόνος διπλασιασμού 1.5-4 d), με βέλτιστο pH

ανάπτυξης περίπου 7 σε συνθήκες χαμηλής μερικής πίεσης υδρογόνου [Morinaga & Kawada, 1990]. Επομένως, θεωρήθηκε σκόπιμο, η αρχική συγκέντρωση των οξικογόνων μικροοργανισμών να μηδενιστεί ($X_{c4}=0$). Εξ άλλου, το υδρογόνο κατά την αναερόβια χώνευση οργανικών υποστρωμάτων παράγεται κατά το στάδιο της οξεογένεσης, ταυτόχρονα με τα πτητικά λιπαρά οξέα, και όχι κατά το στάδιο της οξικογένεσης. Αυτή η παρατήρηση ενισχύει το μηδενισμό της αρχικής συγκέντρωσης των οξικογόνων μικροοργανισμών.

Γαλακτικό οξύ και αιθανόλη: εναλλακτικά προϊόντα κατά το στάδιο της οξεογένεσης των σακχάρων

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κατά το στάδιο της οξεογένεσης των σακχάρων εκτός από πτητικά λιπαρά οξέα, υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα παράγονται γαλακτικό οξύ και αιθανόλη [Ueno *et al.*, 1995; Fang *et al.*, 2006; Fan *et al.*, 2006; Mu *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007]. Ωστόσο, το γαλακτικό οξύ και η αιθανόλη δεν συμπεριλαμβάνονται στη δομή του μοντέλου ADM1, λόγω της μικρής επίδρασης που έχουν στην παραγωγή μεθανίου, παρά το γεγονός ότι έχουν συμπεριληφθεί σε άλλα μαθηματικά μοντέλα αναερόβιας χώνευσης [Costello *et al.*, 1991a; Romli *et al.*, 1995; Kalyuzhnyi & Davlyatshina, 1997; Skiadas *et al.*, 2000]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το γαλακτικό οξύ βιοαποδομείται προς οξικό οξύ ή/και προπιονικό οξύ [Costello *et al.*, 1991a; Skiadas *et al.*, 2000], ενώ η αιθανόλη παράγεται αντί του οξικού οξέος για χαμηλές τιμές του pH (<5) [Ren *et al.*, 1997].

Η εισαγωγή του γαλακτικού οξέος και της αιθανόλης στη δομή του ADM1 αποτελεί μια ακόμα τροποποίηση του μοντέλου, θεωρώντας ότι υπάρχει μια επιπλέον ομάδα μικροοργανισμών που καταναλώνει το γαλακτικό οξύ (X_{la}). Η κατανάλωση του γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ ή/και προπιονικό οξύ εκφράζεται από κινητική τύπου Monod, ενώ κινητική πρώτης τάξης περιγράφει την ενδογενή φθορά των μικροοργανισμών που καταναλώνουν το γαλακτικό οξύ. Τέλος, λαμβάνεται υπόψη η διάσταση τόσο του γαλακτικού οξέος (ισχυρή διάσταση, $pK_a=3.08$) όσο και της αιθανόλης (ασθενής διάσταση, $pK_a=13.8$) στο ισοζύγιο φορτίου για την καλύτερη πρόβλεψη του pH και κατ'επέκταση όλων των προϊόντων.

Το τροποποιημένο μοντέλο ADM1 περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 7 της παρούσας διατριβής.

Κεφάλαιο

6. Υλικά και μέθοδοι

6.1. Εισαγωγή

Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφονται οι αναλυτικές μέθοδοι που εφαρμόστηκαν, οι πειραματικές διατάξεις και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων καθώς και το μαθηματικό πακέτο λογισμικού AQUASIM 2.0, που χρησιμοποιήθηκε για τη μοντελοποίηση των πειραματικών αποτελεσμάτων που προέκυψαν κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από απόβλητα ελαιοτριβείων.

6.2. Αναλυτικές μέθοδοι

6.2.1. Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH πραγματοποιήθηκε ποτενσιομετρικά, με εμβάπτιση κατάλληλου ηλεκτροδίου φορητού πεχαμέτρου της εταιρίας Hanna pH 211 στο προς ανάλυση δείγμα.

6.2.2. Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών

Ο προσδιορισμός των ολικών και των πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις μεθόδους 2540D και 2540E, αντίστοιχα, όπως περιγράφονται στο εγχειρίδιο ‘Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater’ (1995).

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά (TSS) είναι το κλάσμα των μη διηθούμενων ολικών στερεών. Ένα καλά ομογενοποιημένο δείγμα διηθείται σε προζυγισμένο ηθμό

ινών ύαλου και το στερεό υπόλειμμα που κατακρατείται στον ηθμό ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους στους 103-105°C. Η αύξηση του βάρους του ηθμού εκφράζει τα ολικά αιωρούμενα στερεά.

Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά (VSS) είναι το κλάσμα των ολικών αιωρούμενων στερεών που πτητικοποιείται στους 550°C. Ο προσδιορισμός των πτητικών αιωρούμενων στερεών ενός δείγματος λαμβάνει χώρα με πύρωση του ηθμού, στον οποίο έχουν κατακρατηθεί τα ολικά αιωρούμενα στερεά, μέχρι σταθερού βάρους στους 550°C. Η ελάττωση του βάρους του ηθμού εκφράζει τα πτητικά αιωρούμενα στερεά.

Η μέθοδος που εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών (TS) και των πτητικών στερεών (VS) είναι ανάλογη με τη μέθοδο που εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS) και των πτητικών αιωρούμενων στερεών (VSS), με τη διαφορά ότι, αντί για προζυγισμένο ηθμό ινών ύαλου χρησιμοποιείται προζυγισμένη κάψα.

6.2.3. Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου

Ως χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (COD) ορίζεται η ισοδύναμη ποσότητα οξυγόνου σε ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσο που απαιτείται για την πλήρη χημική οξείδωση των οργανικών συστατικών ενός δείγματος.

Η οξείδωση του οργανικού υλικού ενός δείγματος γίνεται από περίσσεια διχρωμικού καλίου ($K_2Cr_2O_7$) με θέρμανση (148°C) σε ισχυρά όξινες συνθήκες (πυκνό H_2SO_4) παρουσία καταλύτη ($AgSO_4$). Για να αποφευχθεί η δέσμευση των ιόντων αργύρου από χλωριούχα, βρωμιούχα και ιωδιούχα ιόντα, που συνήθως υπάρχουν στα διάφορα απόβλητα, λαμβάνει χώρα προσθήκη ιόντων υδραργύρου ($HgSO_4$), τα οποία συμπλοκοποιούνται με τα ανιόντα αλογόνων, σχηματίζοντας ίζημα.

Η γενική αντίδραση οξείδωσης του οργανικού υλικού από τα διχρωμικά ιόντα περιγράφεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{όπου } d = \frac{2n}{3} + \frac{a}{6} - \frac{b}{3} - \frac{c}{2}$$

Ο προσδιορισμός του χημικά απαιτούμενου οξυγόνου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο εγχειρίδιο 'Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater' (1995). Πιο συγκεκριμένα, για τον προσδιορισμό του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου εφαρμόζεται η μέθοδος της κλειστής επαναρρόης με φωτομέτρηση στα 600 nm των παραγόμενων ιόντων Cr^{3+} (5220D), κατά την οξείδωση διηθήματος οργανικού δείγματος. Τέλος, η μέθοδος της ανοιχτής επαναρρόης με τιτλοδότηση των εναπομείνοντων ιόντων Cr^{6+} (5220B), χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του ολικού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου.

6.2.4. Προσδιορισμός υδατανθράκων

Ο προσδιορισμός των υδατανθράκων βασίζεται στη διάσπαση των πολυσακχαριτών σε μονομερή, η οποία λαμβάνει χώρα σε όξινες συνθήκες (διάλυμα L-θρυπτοφάνης, βορικού οξέος και θεικού οξέος) και σε υψηλές θερμοκρασίες (χώνευση των δειγμάτων σε υδατόλουτρο στους 100°C για 20 min), και στη δημιουργία έγχρωμων συμπλόκων του αμινοξέος της L-θρυπτοφάνης με τα μονομερή, τα οποία προσδιορίζονται με φωτομέτρηση στα 520 nm [Josefsson, 1983]. Σύμφωνα με τη μέθοδο, το αμινοξύ L-θρυπτοφάνη μπορεί να σχηματίζει σύμπλοκα με αρκετά διαφορετικά μονομερή. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των υδατανθράκων (ολικών και διαλυτών) έγινε με χρήση πρότυπης καμπύλης οπτικής απορρόφησης συναρτήσει της συγκέντρωσης πρότυπων διαλυμάτων D-γλυκόζης.

6.2.5. Προσδιορισμός πτητικών λιπαρών οξέων και αλκοολών

Πτητικά λιπαρά οξέα (όπως το οξικό οξύ, το προπιονικό οξύ, το ισοβουτυρικό οξύ, το βουτυρικό οξύ, το ισοβαλερικό οξύ και το βαλερικό οξύ) και αλκοόλες (όπως η αιθανόλη και η βουτανόλη) προσδιορίστηκαν ποιοτικά και ποσοτικά σε χρωματογράφο αερίων (Varian CP-3800), εξοπλισμένο με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού (FID) και τριχοειδή στήλη (Agilent technologies INC. 30m×0.53mm).

Συνοπτικά, τα διηθημένα δείγματα (όγκου 1 mL) οξυνίζονται με προσθήκη διαλύματος 20% κ.ο. H_2SO_4 (30 μL). Στη συνέχεια, 1 μL οξυνισμένου δείγματος εγχέεται με μικροσύριγγα Hamilton στον εισαγωγέα δείγματος του χρωματογράφου θερμοκρασίας 175°C. Η ίδια μεθοδολογία ακολουθείτο τόσο για τον προσδιορισμό των πτητικών λιπαρών οξέων όσο και για τον προσδιορισμό των αλκοολών. Το

θερμοκρασιακό πρόγραμμα για τον προσδιορισμό των πτητικών λιπαρών οξέων είναι το ακόλουθο: η θερμοκρασία του φούρνου αυξάνεται από τους 105°C στους 160°C με ρυθμό 15°C/min και στη συνέχεια αυξάνεται στους 235°C με ρυθμό 20°C/min, όπου παραμένει για 3 min. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα για τον προσδιορισμό των αλκοολών είναι το ακόλουθο: η θερμοκρασία του φούρνου από τους 60°C (όπου παραμένει για 1 min) αυξάνεται στους 230°C με ρυθμό 45°C/min, όπου παραμένει για 0.5 min. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή για τον προσδιορισμό των πτητικών λιπαρών οξέων παραμένει σταθερή στους 225°C και για τον προσδιορισμό των αλκοολών στους 200°C, με φέρον αέριο και στις δύο περιπτώσεις He υψηλής καθαρότητας 99.999 % κ.ο. (15 mL/min).

6.2.6. Προσδιορισμός γαλακτικού οξέος

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του γαλακτικού οξέος πραγματοποιήθηκε σε συσκευή ιοντικής χρωματογραφίας (Dionex DX300), εξοπλισμένο με ανιχνευτή ηλεκτρονιακής αγωγιμότητας (ECD) και πακτωμένη στήλη (Dionex IonPac Column, AS11-HC, 4×250mm Analytical). Η σύσταση του διαλύματος έκλουσης αλλάζει βαθμιαία, με μεταβολή της κατά όγκο αναλογίας του τρις απεσταγμένου νερού (Α) και των διαλυμάτων NaOH 100 mM (Β) και NaOH 5mM (Γ). Η σύσταση του εκλούτη είναι η ακόλουθη: ισοκρατική (55% Α και 45% Γ) για το χρονικό διάστημα από 0-8 min και στη συνέχεια αλλάζει βαθμιαία για το χρονικό διάστημα από 8-10 min σε 35% Α και 65% Β, για το χρονικό διάστημα από 10-16 min σε 65%Α και 35% Β και για το χρονικό διάστημα από 16-16.2 min σε 55% Α και 45% Γ. Ο ρυθμός ροής του διαλύματος έκλουσης είναι 1.5 mL/min και η ανάλυση πραγματοποιείται στους 30°C.

6.2.7. Μέτρηση παροχής και σύστασης παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο

Ο προσδιορισμός της σύστασης του παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο πραγματοποιήθηκε με χρήση χρωματογράφου αερίων (Varian Star 3600), εξοπλισμένο με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD) και πακτωμένη στήλη (Poropak Q, 80/100-mesh). Η εισαγωγή του αερίου δείγματος στον εισαγωγέα γίνεται με σύριγγα, μέσω ελαστικού διαφράγματος, με φέρον αέριο N₂ υψηλής καθαρότητας (99.999 % κ.ο.). Η θερμοκρασία της στήλης παραμένει σταθερή και ίση με 70°C, η

θερμοκρασία του εισαγωγέα δείγματος είναι 80°C και η θερμοκρασία του ανιχνευτή είναι 180°C.

Η μέτρηση της παροχής του βιοαερίου πραγματοποιείται με μέτρηση του παραγόμενου όγκου του βιοαερίου για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Για τη μέτρηση του όγκου του παραγόμενου βιοαερίου εφαρμόζεται η μέθοδος του εκτοπιζόμενου υγρού. Το υγρό που χρησιμοποιείται είναι οξυνισμένο υδατικό διάλυμα ($\text{pH} < 1$) για την αποφυγή της διαλυτοποίησης του διοξειδίου του άνθρακα στο νερό. Γνωρίζοντας την παροχή του παραγόμενου βιοαερίου και τη σύσταση του σε υδρογόνο είναι πλέον εφικτός ο προσδιορισμός της παροχής του παραγόμενου υδρογόνου.

6.3. Υλικά

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μεταξύ άλλων, μελετήθηκε η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, τόσο από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων όσο και από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων. Τα χαρακτηριστικά των αποβλήτων, που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου, παρατίθενται στη συνέχεια.

Ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp)

Η προμήθεια του ημι-στερεού υπολείμματος διφασικών ελαιοτριβείων, για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, έγινε από το ελαιοτριβείο δυο φάσεων που εδρεύει στην Καλαμάτα με την επωνυμία ‘Eleourgiki Lipasmaton, A. Karathanasis’. Τα χαρακτηριστικά του αποβλήτου παρέμειναν σταθερά σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων, καθώς ήταν αποθηκευμένο στους -20°C και προερχόταν από την ίδια λειτουργική περίοδο του εργοστασίου.

Ο προσδιορισμός των χαρακτηριστικών του αποβλήτου πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Πατρών (Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος) σε συνεργασία με Πανεπιστήμιο της Μπολόνια (Department of Agro-Environmental Sciences and Technology) στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος BIOTROLL (QLK5-CT-2002-02344). Τα κυριότερα χαρακτηριστικά του ημι-στερεού υπολείμματος (ελαιοπολτός ή olive pulp) φαίνονται στους πίνακες 6.1 και 6.2. Πρέπει να σημειωθεί ότι, για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, ο ελαιοπολτός αραιώθηκε με νερό βρύσης (1:4) αφαιρώντας ταυτόχρονα

τα περιεχόμενα σε αυτό κουκούτσια, ώστε να διευκολυνθεί ο χειρισμός του σε επίπεδο εργαστηριακής κλίμακας. Η διαδικασία απομάκρυνσης των κουκουτσιών βασίστηκε στο διαφορετικό ειδικό βάρος των συστατικών του αποβλήτου. Οι τιμές των χαρακτηριστικών του αποβλήτου ήταν αρκετά μικρότερες, λόγω της αραιώσης, από αυτές που δίνονται στους πίνακες 6.1 και 6.2. Στον πίνακα 6.3 παρατίθενται τα χαρακτηριστικά του αραιωμένου αποβλήτου (1:4), όπου είναι φανερό ότι περίπου 50% κ.β. των ολικών υδατανθράκων είναι διαλυτοί υδατάνθρακες. Τέλος, για τη διεξαγωγή των πειραμάτων λάμβανε χώρα προσθήκη 1 g K₂HPO₄/L αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), ως πηγή φωσφόρου.

Πίνακας 6.1. Χαρακτηριστικά ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου.

Παράμετροι	Ημι-στερεό υπόλειμμα (ελαιοπολτός ή olive pulp)
Υγρασία (%)	70
Πυκνότητα (kg/L)	1.902 ± 0.10
TS (g/100g olive pulp)	29.5 ± 1.20
(g VS/g TS)*100%	94.84 ± 0.01
Ξηρός πυρήνας (g/100g olive pulp)	8.9 ± 0.2
pH	5.4 ± 0.1
Ηλεκτρική αγωγιμότητα (dS/m)	1.27 ± 0.06
Λίπη (g/kg)	55
Φαινολικές ενώσεις (g/kg)	3.9
TOC (C %)	16.6
Ολικό COD (g/100g TS)	158 ± 10.17
Ολικό άζωτο (g/kg)	6.4
NH ₄ ⁺ - N (mg/kg)	15
NO ₃ ⁻ - N (mg/kg)	6.8
Ολικός φωσφόρος ως P ₂ O ₅ (g/kg)	0.97
K ₂ O (g/kg)	6
Ολικοί υδατάνθρακες (g/100g TS)	24.5 ± 5.6
Λιγνίνη (g/100g TS)	38.4

Πίνακας 6.2. Περιεκτικότητα ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου σε ιχνοστοιχεία και βαρέα μέταλλα.

Παράμετροι (mg/kg)	Ημι-στερεό υπόλειμμα (ελαιοπολτός ή olive pulp)
Ασβέστιο (CaO)	1588
Μαγνήσιο (MgO)	347
Νάτριο (Na ₂ O)	60
Αλουμίνιο (Al)	27.5
Κάδμιο (Cd)	<όριο ανίχνευσης
Κοβάλτιο (Co)	<όριο ανίχνευσης
Χρώμιο (Cr)	<όριο ανίχνευσης
Χαλκός (Cu)	4.3
Σίδηρος (Fe)	123
Μαγγάνιο (Mn)	8.2
Νικέλιο (Ni)	<2
Μόλυβδος (Pb)	<2
Ψευδάργυρος (Zn)	6

Πίνακας 6.3. Χαρακτηριστικά ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου αραιωμένο 1:4 με νερό βρύσης.

Παράμετροι	Αραιωμένο ημι-στερεό υπόλειμμα (1:4)
pH	5.6 ± 0.1
TS (g/L)	55 ± 2.1
VS (g/L)	50.7 ± 1.9
TSS (g/L)	44 ± 1.3
VSS (g/L)	42.4 ± 0.6
Διαλυτό COD (g/L)	20.57 ± 0.33
Ολικοί υδατάνθρακες (g/L)	13.38 ± 0.31
Διαλυτοί υδατάνθρακες (g/L)	6.67 ± 0.23

Υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW)

Τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων, που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, προέρχονταν από τριφασικό ελαιοτριβείο που εδρεύει στην Πάτρα με την επωνυμία 'Πανίτσας Α.Ε.'. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των συγκριμένων αποβλήτων ήταν η προέλευση τους από υπερώριμο ελαιόκαρπο και από διαφορετικές σοδειές. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα η σύσταση των συγκεκριμένων υγρών αποβλήτων να διαφέρει σημαντικά από την τυπική, καθώς επίσης και τα χαρακτηριστικά τους να μεταβάλλονται από δοχείο σε δοχείο συλλογής και φύλαξης του αποβλήτου, όπως φάνηκε στη συνέχεια από αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν. Αρχικά, τα υγρά απόβλητα αποθηκεύτηκαν

στους 3°C. Ωστόσο, με το πέρασμα του χρόνου διαπιστώθηκαν μεταβολές στα χαρακτηριστικά τους (κυρίως ως προς τη συγκέντρωση των υδατανθράκων), οπότε κρίθηκε αναγκαία η αποθήκευση τους στους -20°C. Έτσι, θεωρήθηκε σκόπιμο τα χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων, που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, να παρουσιαστούν στα αντίστοιχα κεφάλαια ανάλυσης και σχολιασμού των αποτελεσμάτων.

Ενζυμική υδρόλυση του ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου

Κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής μελετήθηκε η επίδραση της υδρόλυσης του ημι-στερεού υπολείμματος διφασικού ελαιοτριβείου (ελαιοπολτός ή olive pulp), από ένζυμα της κατηγορίας των κυτταρινασών (cellulases), στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου. Τα κυτταρινολυτικά ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν εμπορικά διαλύματα της εταιρίας Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark. Ειδικότερα, πρόκειται για τα διαλύματα Celluclast 1.5L (ενδο-β-γλυκανάση, EC 3.2.1.4) και Novozyme 188 (κελλοβιάση, EC 3.2.1.21), τα οποία παράγονται από τους αερόβιους μύκητες *Trichoderma reesei* και *Aspergillus niger*, αντίστοιχα. Η ενεργότητα του διαλύματος Celluclast 1.5L σε ενδο-β-γλυκανάση ήταν 60 FPU/mL και 11.8 IU/mL σε κελλοβιάση, ενώ η ενεργότητα του διαλύματος Novozyme 188 σε κελλοβιάση ήταν 770 IU/mL. Η μονάδα FPU/mL εκφράζει τα mmol γλυκόζης που παράγονται από 1 mL ενζύμου μέσα σε 1 min, ενώ η μονάδα IU/mL εκφράζει τα mmol γλυκόζης που παράγονται από κελλοβιόζη μέσα σε 1 min από 1 mL ενζύμου.

6.4. Πειραματικές διατάξεις

Οι πειραματικές διατάξεις που χρησιμοποιήθηκαν για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από τα απόβλητα των ελαιοτριβείων περιγράφονται συνοπτικά στη συνέχεια.

Αντιδραστήρας τύπου CSTR

Ο αντιδραστήρας τύπου CSTR που χρησιμοποιήθηκε για τη συνεχή αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από τα απόβλητα διφασικών και τριφασικών ελαιοτριβείων, είναι κατασκευασμένος από ανοξείδωτο χάλυβα με κυλινδρικό σχήμα (ύψος 120 mm, εσωτερική διάμετρο 90 mm), συνολικού όγκου 750 mL και ενεργού όγκου 500 mL (Σχήμα 6.1). Ο αντιδραστήρας διαθέτει διπλά κυλινδρικά τοιχώματα,

ανάμεσα στα οποία ρέει νερό θερμοκρασίας $\sim 35^{\circ}\text{C}$, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η λειτουργία του στις μεσόφιλες συνθήκες. Στο πάνω μέρος του αντιδραστήρα υπάρχουν δύο υποδοχές, μία για λήψη αερίου δείγματος και μία για λήψη υγρού δείγματος, ενώ κατάλληλη διάταξη χρησιμοποιείται για τη συλλογή του παραγόμενου βιοαερίου. Η ανάδευση του αντιδραστήρα μπορεί πραγματοποιείται είτε περιοδικά είτε όχι (15 min ανάδευση και 15 min παύση).

Σχήμα 6.1. Ο αναερόβιος αντιδραστήρας παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR.

Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα ήταν είτε ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων αραιωμένο με νερό βρύσης 1:4 χωρίς κουκούτσια, είτε υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων αραιωμένα με νερό βρύσης 1:4, με προσθήκη και στις δυο περιπτώσεις 1 g $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$ τροφοδοσίας, ως πηγή φωσφόρου. Η συντήρηση του

αραιωμένου αποβλήτου (τροφοδοσία) λάμβανε χώρα σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο θερμοκρασίας 3-8°C. Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα γινόταν μέσω περισταλτικής αντλίας της εταιρίας Masterflex, η οποία ήταν κατάλληλα ρυθμισμένη, ώστε να τροφοδοτεί τον αντιδραστήρα με συγκεκριμένη ποσότητα αραιωμένου αποβλήτου ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ανάλογα με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT). Η εκροή του αντιδραστήρα γινόταν με φυσική υπερχειλίση, έτσι ώστε ο όγκος του υγρού μέσα στον αντιδραστήρα να παραμένει σταθερός και ίσος με 500 mL.

Αντιδραστήρας διαλείποντος έργου (batch)

Πολλά από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής έλαβαν χώρα σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (batch). Επειδή οι συνθήκες διεξαγωγής αυτών των πειραμάτων ποικίλουν, κρίθηκε σκόπιμο η πλήρη περιγραφή τους να δοθεί στα αντίστοιχα κεφάλαια παράθεσης των πειραματικών αποτελεσμάτων. Γενικά, πρόκειται για μεσόφιλους αναερόβιους αντιδραστήρες με συνεχή ανάδευση.

6.5. Μαθηματικό πακέτο λογισμικού AQUASIM 2.0

Το μαθηματικό πακέτο λογισμικού AQUASIM 2.0 [Reichert, 1998] χρησιμοποιήθηκε για τη μοντελοποίηση των πειραματικών αποτελεσμάτων που προέκυψαν κατά την εκπόνηση της παρούσας διατριβής. Το λογισμικό αυτό αναπτύχθηκε από το Ελβετικό ινστιτούτο ‘Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG)’ και κρίνεται κατάλληλο για την προσομοίωση υδατικών συστημάτων. Είναι ειδικά σχεδιασμένο για την επίλυση τόσο διαφορικών όσο και αλγεβρικών εξισώσεων, βάση του αλγορίθμου DASSL [Petzold, 1983]. Για την εύρεση της βέλτιστης τιμής διαφορών παραμέτρων του μοντέλου χρησιμοποιείται το κριτήριο ελαχιστοποίησης του αθροίσματος των τετραγώνων των σταθμισμένων διαφορών με βάση την τιμή της τυπικής απόκλισης:

$$\chi^2(p) = \sum_{i=1}^n \left(\frac{y_{\text{meas},i} - y_i(p)}{\sigma_{\text{meas},i}} \right)^2 \quad (\text{εξ. 6.2})$$

όπου $y_{\text{meas},i}$: η πειραματική τιμή i , $\sigma_{\text{meas},i}$: η τυπική απόκλιση της πειραματικής τιμής i , $y_i(p)$: η υπολογιζόμενη τιμή της παραμέτρου p από το μοντέλο σύμφωνα με την πειραματική τιμή i , $p=(p_1, \dots, p_m)$: οι παράμετροι του μοντέλου και n : ο αριθμός των πειραματικών δεδομένων.

Κεφάλαιο

7. Μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων

7.1. Εισαγωγή

Ένας από τους βασικούς στόχους της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp), μέσω της αναερόβιας βιολογικής επεξεργασίας του. Πρέπει να σημειωθεί ότι, για τη διεξαγωγή των πειραμάτων ο ελαιοπολτός αραιώθηκε με νερό βρύσης (σε αναλογία όγκων 1:4) αφαιρώντας ταυτόχρονα τα κουκούτσια, ώστε να καταστεί ευκολότερος ο χειρισμός του σε επίπεδο εργαστηριακής κλίμακας. Ειδικότερα, μελετήθηκε η συνεχής μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα τύπου CSTR, και βάσει αρκετών πειραμάτων έλαβε χώρα ο προσδιορισμός των συνθηκών βέλτιστης λειτουργίας του. Τέλος, αξιοποιώντας τα πειραματικά αποτελέσματα, πραγματοποιήθηκε μαθηματική μοντελοποίηση της αναερόβιας βιολογικής διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων, με χρήση μετά από κατάλληλες τροποποιήσεις του μαθηματικού μοντέλου ADM1.

7.2. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων

Το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp) είναι ένα υλικό πλούσιο σε υδατάνθρακες, οπότε αποτελεί ιδανικό υπόστρωμα για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 6, περίπου 50% κ.β. των ολικών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4)

είναι διαλυτοί υδατάνθρακες (σάκχαρα) (Πίνακας 6.3). Το χαρακτηριστικό αυτό ώθησε τις προσπάθειες στη διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου τόσο από το διαλυτό όσο και από το αδιάλυτο κλάσμα των υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4). Για το σκοπό αυτό πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν, σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL υπό αναερόβιες συνθήκες και στους 35°C.

Ειδικότερα, τα πειράματα διαλείποντος έργου περιελάμβαναν: (α) 20 mL μικτή καλλιέργεια (τυφλό πείραμα), (β) 20 mL μικτή καλλιέργεια και 10 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), με στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου τόσο από το διαλυτό όσο και από το αδιάλυτο κλάσμα των υδατανθράκων και (γ) 20 mL μικτή καλλιέργεια και 10 mL από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), που προέκυψε μετά από διήθηση του σε ηθμό ινών ύαλου με διάμετρο πόρων 0.7 μm , με στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου μόνο από το διαλυτό κλάσμα των υδατανθράκων. Η εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση σε $\text{HRT}=30\text{ h}$ (λεπτομέρειες στην παράγραφο που ακολουθεί), χρησιμοποιήθηκε ως μικτή καλλιέργεια μικροοργανισμών για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρατίθενται στον πίνακα 7.1 και στο σχήμα 7.1. Ειδικότερα, το παραγόμενο υδρογόνο από το τυφλό πείραμα αφαιρέθηκε από το αντίστοιχο που παράχθηκε τόσο από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) (πείραμα β), όσο και από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (πείραμα γ), ώστε να εκτιμηθεί η ποσότητα του υδρογόνου που παράχθηκε από το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση. Η παραγόμενη ποσότητα υδρογόνου από τους αδιάλυτους υδατάνθρακες υπολογίστηκε θεωρητικά, αφαιρώντας την ‘καθαρή’ παραγωγή υδρογόνου από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) από την ‘καθαρή’ παραγωγή υδρογόνου από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

Είναι φανερό από τον πίνακα 7.1 και το σχήμα 7.1 ότι, οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) συνεισφέρουν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, γεγονός που καταδεικνύει την περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητα τους. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η περιεκτικότητα του ελαιοπολτού σε λιγνίνη είναι αρκετά υψηλή (περίπου 38 g/100 g TS), οπότε πιθανότατα οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες να βρίσκονται ‘εγκλωβισμένοι’ στη δομή του

υλικού κάτι που καθιστά δύσκολη τη βιοαποδομησιμότητα τους [Albuquerque *et al.*, 2004; Gavala *et al.*, 2005]. Ως εκ τούτου, η χημική ή η ενζυμική διαλυτοποίηση τους θα μπορούσε να αυξήσει την απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) [Fan *et al.*, 1987; McMillan, 1994; Thygesen *et al.*, 2003].

Πίνακας 7.1. Θεωρητική συνεισφορά αδιάλυτων υδατανθράκων στην παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

		mL H ₂
υπόστρωμα	αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4)	9.8 ± 1.9
	διαλυτό κλάσμα αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4)	7.2 ± 1.2
συνεισφορά αδιάλυτων υδατανθράκων (θεωρητική τιμή)		2.6 ± 0.8

Σχήμα 7.1. Η παραγόμενη ποσότητα υδρογόνου τόσο από το διαλυτό όσο και από το αδιάλυτο κλάσμα υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).

7.3. Συνεχής αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων

Ο μεσόφιλος αντιδραστήρας που χρησιμοποιήθηκε για τη συνεχή αναερόβια παραγωγή υδρογόνου και περιγράφηκε αναλυτικά στο προηγούμενο κεφάλαιο, ήταν τύπου CSTR (περιοδική τροφοδοσία και ανάδευση) και λειτουργικού όγκου 500 mL, ενώ για την εκκίνηση του χρησιμοποιήθηκε μικτή αναερόβια καλλιέργεια παραγωγής υδρογόνου, η οποία προερχόταν από Πανεπιστήμιο της Δανίας, στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος BIOTROLL (QLK5-CT-2002-02344). Ως υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών

ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp) αραιωμένο με νερό βρύσης (1:4) έχοντας αφαιρέσει τα κουκούτσια, με προσθήκη 1 g K₂HPO₄/L τροφοδοσίας, ως πηγή φωσφόρου.

Ο αντιδραστήρας λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση για υδραυλικούς χρόνους παραμονής (HRT) 30 h, 14.5 h και 7.5 h, ενώ παρέμεινε σε σταθερή λειτουργία για HRT=14.5 h μέχρι την ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Ως εκ τούτου, κρίθηκε σκόπιμο η παρουσίαση της λειτουργίας του αντιδραστήρα να εστιαστεί στο χρονικό διάστημα των πρώτων 600 ημερών, κατά το οποίο έλαβε χώρα η αποκατάσταση των τριών μόνιμων καταστάσεων.

Η περιοδική τροφοδοσία του αντιδραστήρα με αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) λάμβανε χώρα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και πιο συγκεκριμένα κάθε 6 h για 1 min, κάθε 6 h για 2 min και κάθε 3 h για 1 min για HRT 30 h, 14.5 h και 7.5 h, αντίστοιχα. Η αρχική συγκέντρωση των υδατανθράκων σε κάθε κύκλο τροφοδοσίας υπολογίστηκε σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$S = S_0 - (S_0 - S_{in}) \cdot \exp\left[-\left(\frac{Q}{V}\right) \cdot t\right] \quad (\text{εξ. 7.1})$$

όπου S_0 είναι η συγκέντρωση των υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ([=] mg/L), S_{in} είναι η συγκέντρωση των υδατανθράκων στο τέλος κάθε κύκλου τροφοδοσίας ([=] mg/L), Q είναι η ογκομετρική παροχή τροφοδοσίας ([=] mL/min), t η χρονική διάρκεια παροχής της τροφοδοσίας ([=] min).

Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του αναερόβιου αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) για κάθε μόνιμη κατάσταση παρουσιάζονται συνοπτικά στους πίνακες 7.2, 7.3 και 7.4, ενώ η συμπεριφορά του αντιδραστήρα κατά τη διάρκεια αποκατάστασης και των τριών μόνιμων καταστάσεων φαίνεται στα σχήματα 7.2, 7.3, 7.4 και 7.5. Είναι φανερό ότι, με μείωση του HRT το ποσοστό απομάκρυνσης των διαλυτών υδατανθράκων, ως συνέπεια της αναερόβιας ζύμωσής τους, μειώνεται σημαντικά, σε τέτοια έκταση, ώστε κατά την αποκατάσταση της μόνιμης κατάστασης για HRT=7.5 h να περιοριστεί μόλις στο 33.4% με ταυτόχρονη μείωση στην απόδοση σε υδρογόνο. Το γεγονός αυτό φανερώνει ότι, η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) για HRT=7.5 h, περιορίζεται πλέον κινητικά από το υπόστρωμα, οπότε δεν κρίθηκε σκόπιμο να μειωθεί περαιτέρω ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, γεγονός που ίσως οδηγούσε το σύστημα σε αστάθεια και δυσλειτουργία.

Πίνακας 7.2. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)		
	30 h	14.5 h	7.5 h
Παροχή τροφοδοσίας (mL/d)	383 ± 55	827 ± 45	1601 ± 40
Ημερήσια οργανική φόρτιση (g COD/d)	7.9 ± 0.7	16.9 ± 0.8	32.8 ± 0.9
Μείωση οργανικού φορτίου (%)	9.1 ± 0.9	10.2 ± 1.1	4.4 ± 0.6
Ημερήσια φόρτιση διαλυτών υδατανθράκων (g/d)	1.4 ± 0.1	3.6 ± 0.2	11.1 ± 0.1
Μείωση διαλυτών υδατανθράκων (%)	90.1 ± 1.1	65.2 ± 1.8	33.4 ± 2.1
pH	5 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.9 ± 0.1
VSS (g/L)	39.4 ± 0.9	41.2 ± 0.9	47.2 ± 0.1

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Πίνακας 7.3. Τα μεταβολικά προϊόντα κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα τύπου CSTR.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)		
	30 h	14.5 h	7.5 h
Οξικό οξύ (g COD/L)	1.35 ± 0.14	1 ± 0.07	0.64 ± 0.04
Προπιονικό οξύ (g COD/L)	0.92 ± 0.16	1.06 ± 0.07	0.18 ± 0.02
Βουτυρικό οξύ (g COD/L)	2.96 ± 0.40	1.98 ± 0.14	0.96 ± 0.09
Ισοβουτυρικό οξύ (g COD/L)	0.06 ± 0.004	0.04 ± 0.004	0.05 ± 0.01
Ισοβαλερικό οξύ (g COD/L)	N.D.	N.D.	0.039 ± 0.004
Βαλερικό οξύ (g COD/L)	0.047 ± 0.008	0.053 ± 0.006	0.049 ± 0.008
Αιθανόλη (g COD/L)	0.96 ± 0.09	0.65 ± 0.10	0.61 ± 0.06
Γαλακτικό οξύ (g COD/L)	0.06 ± 0.01	1.56 ± 0.06	1.67 ± 0.09

N.D.: δεν ανιχνεύθηκε

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Πίνακας 7.4. Παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα τύπου CSTR σε μόνιμη κατάσταση.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)		
	30 h	14.5 h	7.5 h
Ρυθμός παραγωγής βιοαερίου (mL/d)	490 ± 54	737 ± 82	791 ± 85
Υδρογόνο (%)	26.4 ± 1.7	26.7 ± 1.4	29.1 ± 1.6
Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL/d)	130 ± 0.4	196 ± 24	231 ± 22
Απόδοση σε υδρογόνο (mL/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν)	100.5 ± 7.2	75.3 ± 14.4	62.8 ± 9.6
Απόδοση σε υδρογόνο (L/kg TS ελαιοπολτού)	4.6 ± 0.01	3.2 ± 0.4	2 ± 0.2

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Σχήμα 7.2. Το προφίλ του pH του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του σε μόνιμη κατάσταση.

Σχήμα 7.3. Η συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων του επεξεργασμένου αποβλήτου κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Σχήμα 7.4. Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου και βιοαερίου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.

Σχήμα 7.5. Παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.

Ο αναερόβιος αντιδραστήρας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση μειώνοντας διαδοχικά τον υδραυλικό χρόνο παραμονής από 30 h σε 14.5h και τελικά σε 7.5 h και στη συνέχεια αυξάνοντας τον πάλι σε 14.5 h, όπου παρέμεινε μέχρι την ολοκλήρωση της παρούσας

διατριβής. Κατά την επαναφορά λειτουργίας του αντιδραστήρα σε HRT=14.5 h τα χαρακτηριστικά της νέας μόνιμης κατάστασης ήταν παρόμοια με την μόνιμη κατάσταση των 14.5 h που είχε επιτευχθεί αρχικά (Πίνακας 7.5). Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στο συμπέρασμα ότι, η μείωση του HRT και στη συνέχεια η αύξηση του, δε συνέβαλε σε έκπλυση κάποιας ομάδας μικροοργανισμών.

Πίνακας 7.5. Τα χαρακτηριστικά της μόνιμης κατάστασης για HRT=14.5 h πριν τη μείωση του HRT και μετά την επαναφορά του στην ίδια τιμή.

HRT=14.5 h	Πρώτη μόνιμη κατάσταση	Δεύτερη μόνιμη κατάσταση
pH	4.8 ± 0.1	4.8 ± 0.1
Υδρογόνο (%)	26.7 ± 1.4	25.6 ± 1.8
Ρυθμός παραγωγής βιοαερίου (mL/d)	737 ± 82	763 ± 115
Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL/d)	196 ± 24	180 ± 38
Μείωση διαλυτών υδατανθράκων (%)	65.2 ± 1.8	67.4 ± 1.4
Απόδοση σε υδρογόνο (mL/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν)	75.3 ± 14.4	76.2 ± 6.7
Οξικό οξύ (g COD/L)	1 ± 0.07	0.982 ± 0.09
Προπιονικό οξύ (g COD/L)	1.06 ± 0.07	1.10 ± 0.10
Βουτυρικό οξύ (g COD/L)	1.98 ± 0.14	2.403 ± 0.07
Αιθανόλη (g COD/L)	0.65 ± 0.10	0.65 ± 0.1
Γαλακτικό οξύ (g COD/L)	1.56 ± 0.06	1.61 ± 0.32

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας σε υδρογόνο μειώνεται με μείωση του HRT (από 100.5±7.2 σε 62.8±9.6 mL/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν), ενώ αντίθετα παρατηρείται αύξηση στον ρυθμό παραγωγής υδρογόνου (από 130±0.4 σε 231±22 mL/d) με την περιεκτικότητα του βιοαερίου σε υδρογόνο να παραμένει σχεδόν σταθερή και ίση με 26% (Πίνακας 7.4). Ταυτόχρονα, σε κανέναν από τους τρεις χρόνους παραμονής στους οποίους λειτούργησε ο αντιδραστήρας, δεν διαπιστώθηκε πειραματικά η παραγωγή μεθανίου. Η απόδοση σε υδρογόνο μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με το ρυθμό φόρτισης σε διαλυτούς υδατάνθρακες, συμπέρασμα ανάλογο με αυτό στο οποίο κατέληξαν οι Van Ginkel και Logan (2005). Η αύξηση του ρυθμού φόρτισης σε διαλυτούς υδατάνθρακες (μείωση του HRT) οδηγεί σε αύξηση του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου, η οποία πιθανότατα οδηγεί σε συσσώρευση υδρογόνου στην υγρή φάση και κατά συνέπεια σε

παρεμπόδιση της δράσης της υδρογένης, με αποτέλεσμα τη μειωμένη απόδοση σε υδρογόνο (Σχήμα 7.6) [Ruzicka, 1996].

Σχήμα 7.6. Η απόδοση σε υδρογόνο ως συνάρτηση του υδραυλικού χρόνου παραμονής (HRT) και οι αντίστοιχοι ρυθμοί παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, κατά το στάδιο της οξεογένεσης στην αναερόβια χώνευση, το διαλυτό οργανικό υλικό βιοαποδομείται προς απλούστερες οργανικές ενώσεις (κυρίως προς πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες και γαλακτικό οξύ) με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Πράγματι, τα κυριότερα μεταβολικά προϊόντα της αναερόβιας επεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) που ταυτοποιήθηκαν εργαστηριακά, εκτός από το υδρογόνο, ήταν το οξικό οξύ, το προπιονικό οξύ, το βουτυρικό οξύ, η αιθανόλη και το γαλακτικό οξύ. Ειδικότερα, η συγκέντρωση σε οξικό οξύ, βουτυρικό οξύ και αιθανόλη μειώνεται με μείωση του HRT με μέγιστη τιμή 1.35 ± 0.14 g COD/L, 2.96 ± 0.40 g COD/L, 0.96 ± 0.09 g COD/L για HRT=30 h, αντίστοιχα (Πίνακας 7.3). Η συγκέντρωση του προπιονικού οξέος ελαχιστοποιείται για HRT=7.5 h, ενώ η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος αυξάνεται με μείωση του HRT, με μέγιστη τιμή 1.67 ± 0.09 g COD/L για HRT=7.5 h (Πίνακας 7.3). Σύμφωνα με όσα έχουν αναφερθεί στο κεφάλαιο 3 (παράγραφος 3.4.2.1), το γαλακτικό οξύ μπορεί να θεωρηθεί ως ένα ενδιάμεσο προϊόν, το οποίο μπορεί να μετατραπεί σε οξικό οξύ ή/και προπιονικό οξύ (εξισώσεις 3.6 και 3.7). Η σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος με μείωση του HRT πιθανότατα επιφέρει κινητικό περιορισμό μετατροπής του γαλακτικού οξέος προς τα προαναφερθέντα προϊόντα.

Το άθροισμα των πτητικών λιπαρών οξέων μειώνεται με μείωση του HRT με το βουτυρικό οξύ να αποτελεί το κυριότερο προϊόν κατά την αποκατάσταση των μόνιμων καταστάσεων, με ποσοστό που κυμαίνεται από 47% έως 55%. (Σχήμα 7.7). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η παραγωγή του προπιονικού οξέος από μικτές καλλιέργειες κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου μειώνεται με μείωση του HRT, υποδηλώνοντας ότι, οι μικροοργανισμοί που παράγουν προπιονικό οξύ επηρεάζονται σημαντικά από τον HRT [Hussy *et. al.*, 2003; Lin & Chang, 2004; Zhang *et al.*, 2006].

Σχήμα 7.7. Κατανομή των τριών κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων που παράγονται από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου σε μόνιμη κατάσταση.

Αν θεωρήσουμε ότι, κατά την οξεογένεση, τα παραγόμενα προϊόντα είναι το οξικό οξύ, το προπιονικό οξύ, το βουτυρικό οξύ, η αιθανόλη, το γαλακτικό οξύ και το υδρογόνο, τότε από το σχήμα 7.8 μπορεί να παρατηρηθεί ότι: (α) κατά την αποκατάσταση της μόνιμης κατάστασης για HRT=30 h το βουτυρικό οξύ είναι το κυριότερο μεταβολικό προϊόν (περίπου 45%) με το οξικό οξύ να καταλαμβάνει τη δεύτερη θέση (περίπου 20%), το προπιονικό οξύ και την αιθανόλη να κατέχουν περίπου το 14% ενώ το γαλακτικό οξύ να παράγεται σε αμελητέες ποσότητες, (β) κατά την αποκατάσταση της μόνιμης κατάστασης για HRT=14.5 h το βουτυρικό οξύ μειώνεται αλλά εξακολουθεί να κατέχει την πρώτη θέση (περίπου 30%), ενώ τη δεύτερη θέση καταλαμβάνει πλέον το γαλακτικό οξύ σε ποσοστό περίπου 25%, το προπιονικό οξύ παραμένει στα ίδια επίπεδα και τόσο το οξικό οξύ όσο και η αιθανόλη παρουσιάζουν μια μικρή μείωση και (γ) κατά την αποκατάσταση της μόνιμης κατάστασης για HRT=7.5 h το κυριότερο μεταβολικό προϊόν είναι πλέον το

γαλακτικό οξύ σε ποσοστό περίπου 40%, ακολουθεί το βουτυρικό οξύ (περίπου 23%), το οξικό οξύ και η αιθανόλη κατέχουν την τρίτη θέση (περίπου 15%), ενώ το προπιονικό οξύ παρουσιάζει σημαντική μείωση.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 3, η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου συνδέεται με την παραγωγή οξικού οξέος και βουτυρικού οξέος, ενώ κατά την παραγωγή αιθανόλης, γαλακτικού οξέος και προπιονικού οξέος δεν παράγεται υδρογόνο. Η μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο παρατηρήθηκε για HRT=30 h, ενώ η ελάχιστη για HRT=7.5 h. Μια πιθανή εξήγηση με βάση τα μεταβολικά προϊόντα μπορεί να δοθεί παρατηρώντας το σχήμα 7.8, όπου για HRT=30 h τα κυριότερα προϊόντα είναι το βουτυρικό οξύ και το οξικό οξύ, που συνδέονται με την παραγωγή υδρογόνου, ενώ για HRT=7.5 h το κυριότερο προϊόν είναι το γαλακτικό οξύ που δεν ευνοεί την παραγωγή υδρογόνου, με το ποσοστό του οξικού οξέος και του βουτυρικού οξέος να παρουσιάζεται μειωμένο. Το ποσοστό της αιθανόλης παραμένει σχεδόν σταθερό ανεξάρτητα από τον HRT, ενώ το ποσοστό του προπιονικού οξέος παρουσιάζεται αρκετά μειωμένο για HRT=7.5 h.

Σχήμα 7.8. Κατανομή μεταβολικών προϊόντων που παράγονται από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου σε μόνιμη κατάσταση.

Στο σχήμα 7.9 λαμβάνει χώρα σύγκριση μεταξύ του πειραματικά και θεωρητικά προσδιοριζόμενου διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD) του επεξεργασμένου αποβλήτου. Πιο συγκεκριμένα, το θεωρητικά προσδιοριζόμενο COD προκύπτει από το άθροισμα όλων των μεταβολικών προϊόντων που ποσοτικοποιήθηκαν (πτητικά λιπαρά οξέα, αιθανόλη, γαλακτικό οξύ) καθώς και από

τη συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων που δεν καταναλώθηκαν (υπολειμματική συγκέντρωση), εκφρασμένη σε ισοδύναμη συγκέντρωση γλυκόζης. Όπως φαίνεται στο σχήμα 7.9 το θεωρητικά προσδιοριζόμενο COD αντιστοιχεί περίπου στο 58% του πειραματικά προσδιοριζόμενου. Η παρατηρούμενη απόκλιση από το 100% πιθανότατα αντιστοιχεί σε μεταβολικά προϊόντα που δεν προσδιορίστηκαν (π.χ. ακετόνη, προπανόλη, μεθανόλη κ.ά.), σε διαλυτές οργανικές ενώσεις που δεν μεταβολίστηκαν από τους μικροοργανισμούς της μικτής αναερόβιας καλλιέργειας παραγωγής υδρογόνου (όπως λίπη, φαινολικές ενώσεις κ.ά.) καθώς επίσης και στην ποσότητα του οργανικού άνθρακα που καταναλώθηκε για την ανάπτυξη της βιομάζας [Yu *et al.*, 2004; Van Ginkel & Logan, 2005, Lo *et al.*, 2007]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, 1.63 mg COD απαιτούνται για την παραγωγή 1 mg βιομάζας, θεωρώντας ότι η βιομάζα έχει εμπειρικό τύπο $C_5H_7O_2N$ [Rittmann & McCarty, 2001]. Ωστόσο, κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της βιομάζας παρουσιάζει δυσκολίες, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης των πτητικών αιωρούμενων στερεών της τροφοδοσίας (Πίνακας 6.3).

Σχήμα 7.9. Σύγκριση πειραματικά και θεωρητικά προσδιοριζόμενου COD κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολλτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Στη συνέχεια και επειδή ο αντιδραστήρας όπως έχει ήδη αναφερθεί, ήταν τύπου CSTR με περιοδική τροφοδοσία και ανάδευση, κρίθηκε σκόπιμο να

διερευνηθεί αν οι υφιστάμενες λειτουργικές συνθήκες επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την απόδοση του.

Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα δεν ήταν συνεχής αλλά περιοδική, ανάλογα με τον υδραυλικό χρόνο λειτουργίας του. Για παράδειγμα, όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε $HRT=14.5$ h η τροφοδοσία λάμβανε χώρα με σχεδόν ακαριαία προσθήκη περίπου 207 mL κάθε 6 h, οπότε η αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην αρχή κάθε κύκλου τροφοδοσίας ήταν περίπου ίση με 0.7. Ένας εναλλακτικός τρόπος τροφοδοσίας είναι η σχεδόν ακαριαία προσθήκη περίπου 103 mL κάθε 3 h, με αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην αρχή κάθε κύκλου τροφοδοσίας περίπου ίση με 0.3. Κατά συνέπεια, πειράματα διαλείποντος έργου με διαφορετική αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (S/X) πραγματοποιήθηκαν για τη μελέτη της επίδρασης του τρόπου τροφοδοσίας στην απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR.

Τα πειράματα διεξήχθησαν εις διπλούν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C . Η εκροή του αντιδραστήρα (μικτή καλλιέργεια), όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για $HRT=14.5$ h, χρησιμοποιήθηκε ως μαγιά μικροοργανισμών, ενώ το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), που προέκυψε μετά από διήθηση του σε ηθμό ινών ύαλου με διάμετρο πόρων 0.7 μm με την προσθήκη κατάλληλης ποσότητας K_2HPO_4 χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα, αφού διαπιστώθηκε ότι, οι διαλυτοί υδατάνθρακες συνεισφέρουν κυρίως στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, (παράγραφος 7.2).

Πιο συγκεκριμένα, τα πειράματα διαλείποντος έργου περιελάμβαναν: (α) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών (τυφλό πείραμα), (β) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών και 4 mL από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ($S/X=0.2$), (γ) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών και 10 mL από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ($S/X=0.5$) και (δ) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών και 20 mL από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ($S/X=1$). Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν φανερό ότι, η διαφορετική αρχική αναλογία υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών δεν επηρεάζει την παραγωγή υδρογόνου (ανηγμένη στη μάζα των διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν), για την περιοχή των αναλογιών που πραγματοποιήθηκε η μελέτη (Πίνακας 7.6). Ο τρόπος τροφοδοσίας του αντιδραστήρα φαίνεται ότι δεν επηρεάζει την απόδοση του, το οποίο επιβεβαιώθηκε και πειραματικά. Πιο συγκεκριμένα, όταν ο αντιδραστήρας

λειτουργούσε σε HRT=14.5h, ο τρόπος τροφοδοσίας του μεταβλήθηκε από τη σχεδόν ακαριαία προσθήκη των 207 mL κάθε 6 h σε 103 mL κάθε 3 h και διαπιστώθηκε ότι, η απόδοση σε υδρογόνο παρέμεινε σχεδόν σταθερή.

Πίνακας 7.6. Επίδραση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην απόδοση παραγωγής υδρογόνου.

Αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών	Απόδοση σε υδρογόνο (mL/g διαλυτών υδατ.κων που καταναλώθηκαν)
0.2	104.43 ± 28.59
0.5	121.59 ± 4.94
1	118.21 ± 2.09

Όπως ήδη έχει αναφερθεί στο κεφαλαίο 3, η παραγωγή υδρογόνου σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα μπορεί να ενισχυθεί διατηρώντας τη μερική πίεση του υδρογόνου σε χαμηλά επίπεδα. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με διαφόρους τρόπους, όπως έντονη ανάδευση για να αποφευχθεί ο κορεσμός, απαέρωση με αδρανές αέριο (π.χ. άζωτο, αργό), χρήση μεμβρανών που είναι διαπερατές από το υδρογόνο κ.ά. [Lay, 2000; Mizuno *et al.*, 2000; Liang *et al.*, 2002; Hussy *et al.*, 2003 και 2005].

Η ανάδευση του αναερόβιου αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ήταν περιοδική (15 min ανάδευση και 15 min παύση) και ως εκ τούτου κρίθηκε απαραίτητο να μελετηθεί η επίδραση της συνεχούς ανάδευσης στην απόδοση του αντιδραστήρα. Για το λόγο αυτό και όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε HRT=7.5 h, επιλέχθηκε χρονικό διάστημα 2 d (που αντιστοιχεί σε επτά χρόνους παραμονής, οπότε μπορεί να θεωρηθεί ότι είχε πλέον αποκατασταθεί μόνιμη κατάσταση), στο οποίο, η ανάδευση του αντιδραστήρα παρέμεινε συνεχής. Βάσει των πειραματικών αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι, η λειτουργία του αντιδραστήρα σε συνθήκες συνεχούς ανάδευσης δεν είχε καμία επίδραση στην παραγωγή υδρογόνου, στη συγκέντρωση και κατανομή των παραγόμενων μεταβολικών προϊόντων, σε αντίθεση με συναφή δεδομένα που κατά καιρούς έχουν παρατεθεί στη βιβλιογραφία (Πίνακας 7.7) [Lay, 2000]. Εν κατακλείδι, κρίθηκε σκόπιμο για οικονομικούς λόγους και για λόγους αποφυγής φθοράς των μηχανικών μερών του αντιδραστήρα, η ανάδευσή του να παραμείνει περιοδική.

Πίνακας 7.7. Παραγωγή υδρογόνου και μεταβολικών προϊόντων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) στον αντιδραστήρα τύπου CSTR υπό περιοδική και συνεχή ανάδευση (HRT=7.5 h).

	Ανάδευση αντιδραστήρα	
	Συνεχής	Περιοδική
Υδρογόνο (%)	29.8 ± 0.4	29.1 ± 1.6
Ρυθμός παραγωγής βιοαερίου (mL/d)	797 ± 75	791 ± 85
Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL/d)	238 ± 26	231 ± 22
Οξικό οξύ (g COD/L)	0.651 ± 0.007	0.643 ± 0.004
Προπιονικό οξύ (g COD/L)	0.183 ± 0.004	0.185 ± 0.007
Βουτυρικό οξύ (g COD/L)	0.995 ± 0.023	0.936 ± 0.012
Αιθανόλη (g COD/L)	0.548 ± 0.067	0.604 ± 0.016
Γαλακτικό οξύ (g COD/L)	1.53 ± 0.08	1.51 ± 0.09

7.4. Επίδραση της μερικής πίεσης του υδρογόνου στην αναερόβια παραγωγή του από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων

Η απόδοση του αναερόβιου αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κυμαίνεται από 0.81 έως 0.50 mol H₂/mol γλυκόζης που καταναλώθηκε, όταν ο υδραυλικός χρόνος παραμονής μειώνεται σταδιακά από 30 h σε 7.5 h. Η απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR είναι αρκετά μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των 4 mol H₂/mol γλυκόζης που καταναλώνεται και η οποία επιτυγχάνεται κατά την αναερόβια ζύμωση, όταν το οξικό οξύ αποτελεί το μοναδικό τελικό προϊόν της οξεογένεσης [Gottschalk, 1986].

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφαλαίο 3, ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επηρεάζουν αρνητικά την παραγωγή υδρογόνου είναι η αυξημένη μερική πίεσή του, στον υπερκείμενο αέριο χώρο της μικτής αναερόβιας υγρής καλλιέργειας [Levin *et al.*, 2004]. Στα πλαίσια μιας προκαταρκτικής απόπειρας να ερμηνευθεί η παρατηρούμενη μειωμένη απόδοση στην παραγωγικότητα του υδρογόνου στον αντιδραστήρα τύπου CSTR, υλοποιήθηκαν πειράματα διαλείποντος έργου, στα οποία έλαβε χώρα μελέτη της επίδρασης τόσο της τελικής όσο και της αρχικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας παραγωγής του από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

7.4.1. Επίδραση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου

Στόχος των πειραμάτων ήταν η μελέτη της επίδρασης της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στην απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου.

Τα πειράματα διαλείποντος έργου πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) διαφορετικού ολικού όγκου υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C και με συνεχή ανάδευση, διατηρώντας την ίδια αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών, έτσι ώστε να επιτευχθεί διαφορετική τελική μερική πίεση υδρογόνου.

Ειδικότερα, τα πειράματα διαλείποντος έργου περιελάμβαναν: (α) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών και περίπου 10 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε αντιδραστήρες ολικού όγκου 60 mL, (β) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών και περίπου 10 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε αντιδραστήρες ολικού όγκου 160 mL, (γ) 40 mL μαγιά μικροοργανισμών και περίπου 20 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε αντιδραστήρες ολικού όγκου 1150 mL, (δ) 80 mL μαγιά μικροοργανισμών και περίπου 40 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε αντιδραστήρες ολικού όγκου 1150 mL. Όπως είναι προφανές, με αύξηση του κενού αέριου όγκου των υάλινων αντιδραστήρων, η οποία υλοποιούνταν είτε σε αντιδραστήρες μεγαλύτερων διαστάσεων, είτε με προσθήκη μικρότερων όγκων υποστρώματος και μαγιάς μικροοργανισμών σε αντιδραστήρες ιδίου ολικού όγκου, επιτυγχάνονταν μικρότερες τιμές τελικής μερικής πίεσης αέριου υδρογόνου. Σε κάθε περίπτωση πραγματοποιήθηκε και το αντίστοιχο τυφλό πείραμα με τον αντίστοιχο όγκο μαγιάς μικροοργανισμών στον αντίστοιχο αντιδραστήρα. Ως μαγιά μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκε η εκροή από τον αντιδραστήρα τύπου CSTR (μικτή καλλιέργεια), όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για $HRT=7.5$ h. Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν είναι φανερό ότι, η αυξημένη τελική μερική πίεση του υδρογόνου (για την περιοχή των τιμών που μελετήθηκε) οδηγεί σε μείωση της απόδοσης σε υδρογόνο ανά μονάδα μάζας διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκε (Σχήμα 7.10). Η μερική πίεση του υδρογόνου στον αναερόβιο αντιδραστήρα τύπου CSTR και για τους τρεις υδραυλικούς χρόνους παραμονής ήταν

ιδιαίτερα υψηλή (περίπου 0.28 atm στους 35°C) και συνεπώς η παρατήρηση αυτή μπορεί να αποτελεί μια πιθανή ερμηνεία της μειωμένης απόδοσης του.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η αυξημένη μερική πίεση του υδρογόνου μπορεί να μετατοπίσει τις βιοχημικές αντιδράσεις προς την παραγωγή περισσότερο ανηγμένων προϊόντων, οπότε το ποσό NADH που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περαιτέρω παραγωγή υδρογόνου μειώνεται συνεχώς [Ruzicka 1996; Tanisho *et al.*, 1998; Mizuno *et al.*, 2000].

Σχήμα 7.10. Η επίδραση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

Κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκαν αρκετά πειράματα διαλείποντος έργου, χρησιμοποιώντας ως μαγιά μικροοργανισμών την εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR και ως υπόστρωμα αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Οι συνθήκες διεξαγωγής των πειραμάτων ήταν ποικίλες ανάλογα με το στόχο του κάθε πειράματος. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο σχήμα 7.11, εστιάζοντας στην παραγωγή υδρογόνου ανά μάζα διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν και στην τελική μερική πίεση του υδρογόνου που επιτεύχθηκε. Για ακόμα μια φορά καθίσταται φανερό ότι, η μειωμένη απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR οφείλεται πιθανότατα στην υψηλή μερική πίεση του υδρογόνου στον υπερκείμενο αέριο χώρο του αντιδραστήρα.

Σχήμα 7.11. Συσχέτιση της απόδοσης σε παραγόμενο υδρογόνο με την τελική μερική πίεσή του, βάσει των συνεχών και ασυνεχών πειραμάτων της παρούσας διατριβής.

7.4.2. Επίδραση της αρχικής μερικής πίεσης του υδρογόνου

Με βάση τα προαναφερθέντα, η αυξημένη τελική μερική πίεση του υδρογόνου στον αναερόβιο αντιδραστήρα τύπου CSTR πιθανότατα να αποτελεί αιτία για τη μειωμένη απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Ωστόσο, στον αντιδραστήρα κάθε φορά που γίνεται τροφοδοσία (οπότε ουσιαστικά αρχίζει ένας νέος κύκλος παραγωγής υδρογόνου) η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου είναι μη μηδενική και κυμαίνεται από 0.26 έως 0.29 atm στους 35°C, ανάλογα με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής του αντιδραστήρα. Έτσι, θεωρήθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η επίδραση της αρχικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας.

Στα πειράματα διαλείποντος έργου που διεξήχθησαν, η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου επιλέχθηκε να είναι περίπου ίση με τη μερική πίεση του υδρογόνου τη στιγμή που γίνεται η τροφοδοσία στον αντιδραστήρα για HRT=7.5 h, δηλαδή περίπου ίση με 0.29 atm στους 35°C. Η επιλογή αυτή βασίστηκε στο γεγονός ότι, ως μαγιά μικροοργανισμών για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε η εκροή από τον αντιδραστήρα, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=7.5 h.

Τα πειράματα διαλείποντος έργου πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν, σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL στους 35°C με συνεχή ανάδευση. Πιο συγκεκριμένα, τα πειράματα περιελάμβαναν: (α) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών με μηδενική αρχική μερική πίεση υδρογόνου, (β) 20 mL μαγιά

μικροοργανισμών και περίπου 10 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με μηδενική αρχική μερική πίεση υδρογόνου, (γ) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών με αρχική μερική πίεση υδρογόνου (0.23 atm στους 35°C) και (δ) 20 mL μαγιά μικροοργανισμών και περίπου 10 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με αρχική μερική πίεση υδρογόνου (0.23 atm στους 35°C). Στο σημείο αυτό, πρέπει να τονιστεί ότι δεν κατέστη δυνατή η επίτευξη αρχικής μερικής πίεσης υδρογόνου στα πειράματα διαλείποντος έργου ίση με 0.29 atm, αλλά ίση με 0.23 atm στους 35°C. Προκειμένου να εξασφαλιστούν οι αναερόβιες συνθήκες στους αντιδραστήρες διαλείποντος έργου έγινε απαέρωση με μίγμα N₂/CO₂ (70% N₂ και 30% CO₂) και στη συνέχεια προστέθηκε η κατάλληλη ποσότητα αέριου υδρογόνου ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή αρχική μερική πίεση του υδρογόνου. Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν συνοψίζονται στο σχήμα 7.12. Η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου φαίνεται ότι επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή υδρογόνου ανά μάζα διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν. Ενδεχομένως, η παρατήρηση αυτή να αποτελεί μια επιπλέον αιτία για τη μειωμένη απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR. Η απαέρωση του αντιδραστήρα με αδρανές αέριο πριν από κάθε κύκλο τροφοδοσίας ίσως οδηγούσε σε αύξηση της απόδοσης του αντιδραστήρα, αφού σε αυτή την περίπτωση η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου σε κάθε κύκλο τροφοδοσίας θα ήταν μηδενική. Δυστυχώς, αυτό δεν επιβεβαιώθηκε πειραματικά καθώς ήταν δύσκολο να επιτευχθούν οι επιθυμητές συνθήκες (π.χ. μηδενική μερική πίεση υδρογόνου πριν από κάθε τροφοδοσία) σε επίπεδο εργαστηριακής κλίμακας.

Σχήμα 7.12. Η επίδραση της αρχικής μερικής πίεσης υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

7.5. Περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το μαθηματικό μοντέλο ADM1 περιγράφει τις κυριότερες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την αναερόβια χώνευση σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων προς μεθάνιο, διοξείδιο του άνθρακα και αδρανή παραπροϊόντα [IWA, 2002]. Ωστόσο, εισάγοντας τις προτεινόμενες τροποποιήσεις στη δομή του, όπως αυτές αναφέρθηκαν και παρατέθηκαν σε προηγούμενο κεφάλαιο (παράγραφος 5.3), μπορεί να καταστεί κατάλληλο για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου.

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, χρησιμοποιώντας τα πειραματικά αποτελέσματα από τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), τύπου CSTR, προσδιορίστηκαν αρχικά οι κινητικές σταθερές κατανάλωσης των υδατανθράκων k_{m_su} (μέγιστος ειδικός ρυθμός κατανάλωσης υδατανθράκων τύπου Monod, $\text{kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) και K_{s_su} (σταθερά κορεσμού, $\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$) καθώς επίσης και οι στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων που προκύπτουν από την αναερόβια ζύμωση των υδατανθράκων (κυρίως σακχάρων). Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι, η προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων με χρήση των προκαθορισμένων τιμών των παραπάνω παραμέτρων, όπως αυτές προβλέπονται από το μοντέλο ADM1, αν και επιχειρήθηκε δεν οδήγησε σε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Το γεγονός αυτό, μπορεί να αποδοθεί στην πολυπλοκότητα του οργανικού υποστρώματος του αραιωμένου ελαιοπολτού, η οποία όπως και τελικά διαφάνηκε δεν αντιπροσωπεύεται με τις προκαθορισμένες και ταυτόχρονα τυπικές τιμές του ADM1. Ως εκ τούτου κρίθηκε απαραίτητη η εξειδίκευση του μοντέλου στο συγκεκριμένο υπόστρωμα και επάνω σε αυτή τη λογική βασίστηκε ο προσδιορισμός των βέλτιστων τιμών των παραμέτρων. Στη συνέχεια, με στόχο την πληρέστερη περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου, λήφθηκε υπόψη η διεργασία παραγωγής του γαλακτικού οξέος και της αιθανόλης. Η ενσωμάτωση αυτών των διεργασιών στη δομή του μοντέλου ADM1, επηρέασε την κατανομή των παραγόμενων μεταβολικών προϊόντων από τη ζύμωση των υδατανθράκων, δημιουργώντας την ανάγκη για τον εκ νέου προσδιορισμό των στοιχειομετρικών συντελεστών τους. Τέλος, διάφορα πειράματα σε συνθήκες διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα για την επιβεβαίωση των αποκτηθέντων αποτελεσμάτων.

Στα πλαίσια της προσπάθειας για την αξιόπιστη περιγραφή της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου και του ακριβέστερου προσδιορισμού των προαναφερθέντων παραμέτρων, έλαβε χώρα πλήθος τροποποιήσεων του μαθηματικού μοντέλου ADM1. Εκτός από τις τροποποιήσεις που περιγράφηκαν αναλυτικά στην παράγραφο 5.3 και οι οποίες έχουν αντληθεί από τη δημοσιευμένη σχετική βιβλιογραφία [Peiris *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2007], στην παρούσα διατριβή υλοποιήθηκαν επιπρόσθετες τροποποιήσεις. Με βάση αυτές τις τροποποιήσεις, παρέχονται στο μαθηματικό μοντέλο πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τις λειτουργικές παραμέτρους του συγκεκριμένου αντιδραστήρα τύπου CSTR, όσο και τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος που χρησιμοποιήθηκε για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.

Ειδικότερα, κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του αντιδραστήρα τύπου CSTR παρατηρήθηκε ότι, η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών του ανάμικτου υγρού του αντιδραστήρα ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη συγκέντρωσή τους στην εκροή του αντιδραστήρα (Πίνακας 7.8). Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στο συμπέρασμα ότι, στο εσωτερικό του αντιδραστήρα λάμβανε χώρα κατακράτηση (retention) των πτητικών αιωρούμενων στερεών και ως εκ τούτου και της μικροβιακής μάζας (βιομάζα), η οποία σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αποτελεί κλάσμα των πτητικών αιρούμενων στερεών [Henze *et al.*, 1988; Gavala *et al.*, 1999]. Ο επιπρόσθετος χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών στον αντιδραστήρα (t_{res} , [=] d) που αποτελεί παρέκκλιση από την ιδανική λειτουργία, υπολογίστηκε και συμπεριλήφθηκε στο μαθηματικό μοντέλο ADM1 σύμφωνα με την εξίσωση που ακολουθεί:

$$t_{res} = SRT - HRT \quad (\text{εξ. 7.2})$$

$$SRT = \frac{VSS_{\text{ανάμικτο υγρό αντιδραστήρα}} \cdot V}{VSS_{\text{εκροής}} \cdot Q} \quad (\text{εξ. 7.3})$$

όπου SRT είναι ο χρόνος παραμονής των πτητικών αιωρούμενων στερεών ([=] d), HRT είναι ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του αντιδραστήρα ([=] d), $VSS_{\text{ανάμικτο υγρό αντιδραστήρα}}$ είναι η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών στο ανάμικτο υγρό του αντιδραστήρα ([=] g/L), $VSS_{\text{εκροής}}$ είναι η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών στην εκροή του αντιδραστήρα ([=] g/L), V είναι ο ενεργός όγκος του αντιδραστήρα ([=] 0.5 L) και Q είναι η ογκομετρική παροχή τροφοδοσίας του υποστρώματος ([=] L/d).

Πίνακας 7.8. Ο επιπλέον χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών (tres) στον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) τύπου CSTR.

HRT (h)	VSS _{ανάμικτο υγρό αντιδραστήρα} (g/L)	VSS _{εκροής} (g/L)	tres (d)
30	39.4 ± 0.9	36.6 ± 0.7	0.0971
14.5	41.2 ± 0.9	35.1 ± 0.6	0.107
7.5	47.2 ± 0.1	38.5 ± 0.6	0.0707

Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR περιελάμβανε αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), ο οποίος στα πλαίσια διακριτοποίησής του οργανικού φορτίου του θεωρήθηκε ότι, αποτελείται από σωματιδιακά συστατικά (όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη), διαλυτά συστατικά (όπως σάκχαρα, αμινοξέα και λιπαρά οξέα μακριάς αλυσίδας, αντίστοιχα) και αδρανή συστατικά (διαλυτά και σωματιδιακά). Τα φυσικοχημικά δεδομένα εισόδου του αντιδραστήρα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εφαρμογή του μοντέλου ADM1 παρατίθενται στον πίνακα 7.9 [Kalfas *et al.*, 2006]. Η συγκέντρωση του διαλυτού ανόργανου αζώτου στην είσοδο του αντιδραστήρα λήφθηκε ίση με $0.00028 \text{ kmol}\cdot\text{m}^{-3}$ και η συγκέντρωση του φωσφόρου ίση με $0.0057 \text{ kmol}\cdot\text{m}^{-3}$, αφού όπως έχει αναφερθεί λάμβανε χώρα προσθήκη $1 \text{ g K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$ αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).

Πίνακας 7.9. Οργανικά συστατικά αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ως δεδομένα εισόδου κατά την εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1.

Οργανικά συστατικά αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4)					
Σωματιδιακά ($\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$)			Διαλυτά ($\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$)		
Αδρανή	16.05		Αδρανή	6.17	
Πρωτεΐνες	6.08		Αμινοξέα	0.23	
Λίπη	32.70		LCFA	3.70	
COD	62		COD	20.5	
			HRT		
Υδατάνθρακες	6.94		30 h	14.5 h	7.5 h
			Σάκχαρα	6.59	5.40
				5.50	

COD= χημικά απαιτούμενο οξυγόνο

LCFA= λιπαρά οξέα μακριάς αλυσίδας

Τέλος, η ογκομετρική παροχή τροφοδοσίας του αντιδραστήρα ($[=] \text{ m}^3/\text{d}$) εκφράστηκε με τέτοιο τρόπο ώστε να περιγράφει την περιοδική τροφοδοσία του αντιδραστήρα. Για το σκοπό αυτό και ανάλογα με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής

του αντιδραστήρα, λάμβανε χώρα ανά τακτά χρονικά διαστήματα, η σχεδόν ‘ακαριαία’ ή κρουστική επιβολή του υποστρώματος (αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4)).

7.5.1. Προσδιορισμός των κινητικών σταθερών κατανάλωσης διαλυτών υδατανθράκων

Ο προσδιορισμός των κινητικών σταθερών κατανάλωσης των διαλυτών υδατανθράκων (σάκχαρα) κρίθηκε απαραίτητος και μείζονος σημασίας, καθώς οι υδατάνθρακες αποτελούν το βασικό υπόστρωμα για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, χωρίς όμως να αποκλείεται η παραγωγή υδρογόνου και από άλλα υποστρώματα, όπως π.χ. πρωτεΐνες [Noike & Mizuno, 2000; Okamoto *et al.*, 2000; Lay *et al.*, 2003; Bai *et al.*, 2004]. Ειδικότερα, στην παράγραφο αυτή περιγράφεται ο προσδιορισμός των κινητικών σταθερών k_{m_su} (μέγιστος ειδικός ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων τύπου Monod, $\text{kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) και K_{S_su} (σταθερά κορεσμού, $\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$).

Σύμφωνα με το μοντέλο ADM1, στον ειδικό ρυθμό κατανάλωσης των σακχάρων (κινητική τύπου Monod, $\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$) έχουν εισαχθεί δύο συντελεστές σχετικοί με τον περιορισμό της ανάπτυξης της βιομάζας (α) από το pH, I_{pH} και (β) λόγω έλλειψης ανόργανου αζώτου, $I_{N,lim}$, σύμφωνα με την εξίσωση που ακολουθεί:

$$\text{ειδικός ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων} = k_{m\_su} \cdot \frac{S_{su}}{K_{S\_su} + S_{su}} \cdot X_{su} \cdot I_{pH} \cdot I_{N,lim} \quad (\text{εξ. 7.4})$$

όπου k_{m_su} ο μέγιστος ειδικός ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων τύπου Monod ($[=] \text{kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), K_{S_su} η σταθερά κορεσμού ($[=] \text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$), S_{su} η συγκέντρωση των σακχάρων ($[=] \text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$) και X_{su} η συγκέντρωση της παραγόμενης βιομάζας από την κατανάλωση των σακχάρων ($[=] \text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$).

Ειδικότερα, ο σχετικός συντελεστής με τον περιορισμό της ανάπτυξης της βιομάζας από το pH, I_{pH} , δίνεται από τη σχέση που παρατίθεται ακολούθως:

$$I_{pH} = \exp \left(-3 \left(\frac{pH - pH_{UL}}{pH_{UL} - pH_{LL}} \right)^2 \right) \quad \text{όταν } pH < pH_{UL} \quad (\text{εξ. 7.5})$$

$$I_{pH} = 1 \quad \text{όταν } pH > pH_{UL} \quad (\text{εξ. 7.6})$$

όπου ο όρος pH_{UL} υποδηλώνει την ελάχιστη τιμή του pH στην οποία δεν υφίσταται περιορισμός της ανάπτυξης της βιομάζας, ενώ ο όρος pH_{LL} αντιπροσωπεύει την μέγιστη τιμή του pH για την οποία η ανάπτυξη της βιομάζας παρεμποδίζεται πλήρως.

Σύμφωνα με τον Batstone και τους συνεργάτες του (2002) οι προτεινόμενες τιμές των pH_{UL} και pH_{LL} για τα οξεογόνα βακτήρια είναι ίσες με 5.5 και 4, αντίστοιχα.

Ο σχετικός συντελεστής με τον περιορισμό της ανάπτυξης της βιομάζας λόγω έλλειψης ανόργανου αζώτου, $I_{N,lim}$, δίνεται από τη σχέση (κινητική τύπου Monod) που ακολουθεί:

$$I_{N,lim} = \frac{1}{1 + \frac{K_{S\_IN}}{S_{IN}}} \quad (\text{εξ. 7.7})$$

όπου K_{S_IN} η σταθερά κορεσμού ($[=] \text{ kmol} \cdot \text{m}^{-3}$) και S_{IN} η συγκέντρωση ανόργανου αζώτου ($[=] \text{ kmol} \cdot \text{m}^{-3}$).

Ο προσδιορισμός των βέλτιστων τιμών των κινητικών σταθερών κατανάλωσης των σακχάρων k_{m_su} και K_{S_su} απαιτεί την ταυτόχρονη προσαρμογή των θεωρητικών καμπύλων στις πειραματικές μετρήσεις των διαλυτών υδατανθράκων (αφού σύμφωνα με την παράγραφο 7.2 η συγκέντρωση των αδιάλυτων υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) συνεισφέρει ελάχιστα στο ρυθμό παραγωγής υδρογόνου) εισόδου και εξόδου του αντιδραστήρα τύπου CSTR και για τους τρεις υδραυλικούς χρόνους παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας. Οι τιμές των υπολοίπων κινητικών και στοιχειομετρικών παραμέτρων που καθορίζουν την κατανάλωση των υδατανθράκων ήταν $Y_{su} = 0.1 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$ (απόδοση παραγωγής βιομάζας λόγω κατανάλωσης σακχάρων) και $k_{dec\_Xsu} = 0.02 \text{ d}^{-1}$ (κινητικός ρυθμός πρώτης τάξης για τη φθορά ή τον ενδογενή μεταβολισμό των κυττάρων που καταναλώνουν σάκχαρα) [Batstone *et al.*, 2002].

Ωστόσο, κατά την προσπάθεια προσδιορισμού των κινητικών σταθερών κατανάλωσης των σακχάρων, με χρήση του ειδικού ρυθμού κατανάλωσης όπως δίνεται από την εξίσωση 7.4, παρατηρήθηκε ανεπιθύμητη έκπλυση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν τα σάκχαρα ($X_{su}=0$). Στο σημείο αυτό θεωρήθηκε σκόπιμο να διερευνηθούν περαιτέρω τα αίτια που προκάλεσαν αυτό το φαινόμενο. Στην κατεύθυνση αυτή, ως πιθανότερη αιτία πρόκλησής του, θεωρήθηκε η μικρή συγκέντρωση του αζώτου στον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), την οποία ενισχύει και η μη προσθήκη πηγής αζώτου στο υπόστρωμα κατά την τροφοδοσία του αντιδραστήρα τύπου CSTR. Έτσι, θεωρήθηκε ότι, η έλλειψη αζώτου πιθανότατα να περιορίζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που καταναλώνουν σάκχαρα και κατά συνέπεια να οδηγεί στην έκπλυση τους.

Για το σκοπό αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου πραγματοποιήθηκαν με στόχο να διερευνηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης του αζώτου στην αναερόβια διεργασία παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 1315 mL υπό αναερόβιες συνθήκες, στους 35°C με συνεχή ανάδευση. Ειδικότερα, τα πειράματα περιελάμβαναν την ανάμιξη: (α) 100 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 400 mL από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) χωρίς προσθήκη αζώτου και (β) 100 mL μαγιάς μικροοργανισμών και περίπου 400 mL από το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με προσθήκη 0.84 g ουρίας (ποσότητα επαρκής για την ανάπτυξη τόσο των μεθανογόνων όσο και των οξεογόνων μικροοργανισμών) [Κάλφας Χ., Διδακτορική Διατριβή, 2006]. Και στις δύο περιπτώσεις προστέθηκε η απαιτούμενη ποσότητα K_2HPO_4 ως πηγή φωσφόρου (1 g K_2HPO_4/L αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4)). Ως μαγιά μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκε η εκροή από τον αντιδραστήρα (μικτή καλλιέργεια), κατά τη λειτουργία του σε μόνιμη κατάσταση για $HRT=14.5$ h. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση και υγρό δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων.

Σχήμα 7.13. Κατανάλωση διαλυτών υδατανθράκων αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με και χωρίς προσθήκη αζώτου.

Σχήμα 7.14. Παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με και χωρίς προσθήκη αζώτου.

Όπως φαίνεται στα σχήματα 7.13 και 7.14, ο ρυθμός κατανάλωσης των διαλυτών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) και ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου δεν επηρεάζονται από την προσθήκη αζώτου, καταδεικνύοντας ότι, η συγκέντρωσή του στον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) δεν αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα της ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Επομένως, η υπόθεση ότι, η έκπλυση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδατάνθρακες οφείλεται στην έλλειψη αζώτου δε φαίνεται να ευσταθεί.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, έχει αναφερθεί ότι στο μοντέλο ADM1 το ισοζύγιο μάζας του αζώτου δεν επαληθεύεται, παρατήρηση που πιθανότατα να οφείλεται στο γεγονός ότι, το άζωτο που καταναλώνεται στη φάση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών δεν απελευθερώνεται πλήρως κατά το θάνατο τους, με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του αζώτου να παρουσιάζεται υποεκτιμημένη [Blumensaat & Keller, 2005]. Με βάση την παρατήρηση αυτή θεωρήθηκε σκόπιμη η παράλειψη του συντελεστή περιορισμού της ανάπτυξης της βιομάζας λόγω έλλειψης ανόργανου αζώτου ($I_{N,lim}$) από την έκφραση του ειδικού ρυθμού κατανάλωσης των σακχάρων. Έτσι, ο ειδικός ρυθμός κατανάλωσης των σακχάρων δίνεται πλέον από την εξίσωση που ακολουθεί:

$$\text{ειδικός ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων} = k_{m\_su} \cdot \frac{S_{su}}{K_{S\_su} + S_{su}} \cdot X_{su} \cdot I_{pH} \quad (\text{εξ. 7.8})$$

Οι βέλτιστες τιμές των κινητικών σταθερών της κατανάλωσης των σακχάρων (k_{m_su} και K_{S_su}), που προέκυψαν με προσαρμογή του τροποποιημένου ειδικού

ρυθμού κατανάλωσης των σακχάρων (εξίσωση 7.8) στα πειραματικά δεδομένα, παρατίθενται στον πίνακα 7.10 και είναι κοινές και για τους τρεις υδραυλικούς χρόνους παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας. Επιπρόσθετα, στο σχήμα 7.15 παρατίθενται οι προβλεπόμενες από το μοντέλο τιμές της υπολειπόμενης συγκέντρωσης των σακχάρων για κάθε μόνιμη κατάσταση λειτουργίας του αντιδραστήρα τύπου CSTR και όπως είναι προφανές, η σύγκρισή τους με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές οδηγεί σε ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Πίνακας 7.10. Κινητικές σταθερές κατανάλωσης σακχάρων.

	Βέλτιστη προβλεπόμενη τιμή	Προτεινόμενη τιμή από το ADM1
k_{m_su} (kgCOD·kgCOD ⁻¹ ·d ⁻¹)	53.79	30
K_{S_su} (kgCOD m ⁻³)	0.79	0.5

Σχήμα 7.15. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα της υπολειμματικής συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολλτό (1:4).

7.5.2. Προσδιορισμός των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής μεταβολικών προϊόντων από σάκχαρα στο μη τροποποιημένο μοντέλο ADM1

Στο μαθηματικό μοντέλο ADM1 και για λόγους απλότητας θεωρείται ότι, η αναερόβια ζύμωση των σακχάρων οδηγεί στην παραγωγή οξικού οξέος, βουτυρικού οξέος, προπιονικού οξέος και υδρογόνου, σύμφωνα με τις αντιδράσεις που δίνονται στον πίνακα 7.11. Το κλάσμα των σακχάρων που βιοαποδομείται σύμφωνα με την πρώτη, δεύτερη και τρίτη αντίδραση συμβολίζεται με $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$ αντίστοιχα,

όπου $n_{3,su}=1-n_{2,su}-n_{1,su}$ [Batstone *et al.*, 2002]. Ωστόσο, κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, οι διαλυτοί υδατάνθρακες βιοαποδομούνται όχι μόνο προς τα προαναφερθέντα προϊόντα αλλά και προς αιθανόλη και γαλακτικό οξύ (Πίνακας 7.3). Έτσι, θεωρήθηκε σκόπιμο το κλάσμα $n_{3,su}$ να είναι ανεξάρτητο των $n_{1,su}$ και $n_{2,su}$. Οι στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής, σύμφωνα πάντα με τις αντιδράσεις του πίνακα 7.11, οξικού οξέος (f_{ac_su}), προπιονικού οξέος (f_{pro_su}), βουτυρικού οξέος (f_{bu_su}) και υδρογόνου (f_{h2_su}) από σάκχαρα είναι συναρτήσεις των παραμέτρων $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$ και δίνονται στον πίνακα 7.12 [Batstone *et al.*, 2002].

Πίνακας 7.11. Αντιδράσεις αναερόβιας ζύμωσης σακχάρων, όπως περιγράφονται στο μαθηματικό μοντέλο ADM1.

	Προϊόντα	Αντιδράσεις
1	Οξικό οξύ	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$
2	Οξικό οξύ και Προπιονικό οξύ	$3C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4CH_3CH_2COOH + 2CH_3COOH + 2CO_2 + 2H_2O$
3	Βουτυρικό οξύ	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$

Πίνακας 7.12. Στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής μεταβολικών προϊόντων από σάκχαρα, σύμφωνα με τις αντιδράσεις του πίνακα 7.11.

Προϊόντα	Στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής μεταβολικών προϊόντων από σάκχαρα (kg COD/kg COD)
Οξικό οξύ	$f_{ac\_su} = 0.67 \cdot n_{1,su} + 0.22 \cdot n_{2,su}$
Προπιονικό οξύ	$f_{pro\_su} = 0.78 \cdot n_{2,su}$
Βουτυρικό οξύ	$f_{bu\_su} = 0.83 \cdot n_{3,su}$
Υδρογόνο	$f_{h2\_su} = 0.33 \cdot n_{1,su} + 0.17 \cdot n_{3,su}$

Οι βέλτιστες τιμές των επιμέρους κλασμάτων των σακχάρων ($n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$) που βιοαποδομούνται, σύμφωνα με τις αντιδράσεις του πίνακα 7.11, προσδιορίστηκαν με προσαρμογή των θεωρητικών καμπύλων στα πειραματικά δεδομένα, που αφορούν στην παραγωγή οξικού οξέος, προπιονικού οξέος και βουτυρικού οξέος κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση και χρησιμοποιώντας τις βέλτιστες τιμές των κινητικών σταθερών κατανάλωσης των σακχάρων (Πίνακας 7.10).

Αρχικά, οι παράμετροι $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$ προσδιορίστηκαν με ταυτόχρονη προσομοίωση των πειραματικών δεδομένων, θεωρώντας ότι, η κατανομή των μεταβολικών προϊόντων από την βιοαποδόμηση των σακχάρων είναι κοινή και για τους τρεις υδραυλικούς χρόνους παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση, ενώ στη συνέχεια, προσδιορίστηκαν εκ νέου αλλά ξεχωριστά για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT=30 h, 14.5 h και 7.5 h). Οι βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$, για κάθε μία από τις προαναφερθείσες περιπτώσεις προσέγγισης (ταυτόχρονης ή ξεχωριστής προσομοίωσης) δίνονται στον πίνακα 7.13. Είναι φανερό ότι, το μεγαλύτερο μέρος των σακχάρων βιοαποδομείται προς βουτυρικό οξύ (και για τις δυο περιπτώσεις), σε αντίθεση με αυτό που προτείνεται από το μοντέλο ADM1, σύμφωνα με το οποίο, το μεγαλύτερο κλάσμα των σακχάρων βιοαποδομείται προς οξικό οξύ.

Πίνακας 7.13. Οι βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$ θεωρώντας τόσο κοινή όσο και διαφορετική κατανομή των μεταβολικών προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων για τους τρεις υπό μελέτη υδραυλικούς χρόνους παραμονής.

	Βέλτιστη προβλεπόμενη τιμή		
	$n_{1,su}$	$n_{2,su}$	$n_{3,su}$
κοινή κατανομή μεταβολικών προϊόντων	0.134	0.171	0.416
HRT (h)			
30	0.094	0.173	0.446
14.5	0.116	0.235	0.402
7.5	0.216	0.067	0.323
προτεινόμενη τιμή από το ADM1	0.495	0.345	0.160

Στο σχήμα 7.16, φαίνεται η προσαρμογή του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος και βουτυρικού οξέος, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση (HRT=30 h, 14.5 h, 7.5 h), θεωρώντας τόσο κοινή όσο και διαφορετική κατανομή μεταβολικών προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων για κάθε μόνιμη κατάσταση λειτουργίας. Η προσαρμογή του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα κρίνεται ιδιαίτερα ικανοποιητική, όταν η κατανομή των κυριότερων παραγόμενων πτητικών λιπαρών οξέων από τα σάκχαρα, διαφοροποιείται για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας, χωρίς όμως τα αποτελέσματα να είναι πολύ

διαφορετικά στην περίπτωση κοινής κατανομής προϊόντων. Ωστόσο, η απόκλιση είναι εμφανής σε μικρότερους υδραυλικούς χρόνους παραμονής και ιδιαίτερα για $HRT=7.5$ h.

Σχήμα 7.16. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 τόσο για κοινή όσο και για διαφορετική κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος και βουτυρικού οξέος, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Σύμφωνα με το μοντέλο ADM1, το υδρογόνο παράγεται κατά τη βιοαποδόμηση των σακχάρων, των αμινοξέων, των λιπαρών οξέων μακριάς αλυσίδας, του βαλερικού οξέος, του βουτυρικού οξέος και του προπιονικού οξέος (Πίνακας 5.1). Ωστόσο, λόγω των τροποποιήσεων που έλαβαν χώρα (παράγραφος 5.3) και των συνθηκών λειτουργίας του αντιδραστήρα (συγκέντρωση παραγομένης βιομάζας από λιπαρά οξέα μακριάς αλυσίδας (X_{fa}) και προπιονικό οξύ (X_{pro}) ~ 0), το υδρογόνο παράγεται ουσιαστικά μόνο από τα σάκχαρα και τα αμινοξέα. Στον πίνακα 7.14 παρατίθενται αναλυτικά οι ειδικοί ρυθμοί και οι στοιχειομετρικοί συντελεστές που περιγράφουν την παραγωγή υδρογόνου από σάκχαρα και αμινοξέα. Είναι φανερό ότι, η παραγωγή υδρογόνου καθορίζεται κατά κύριο λόγο από τους στοιχειομετρικούς συντελεστές f_{h2_su} και f_{h2_aa} , όπου $f_{h2\_su} = 0.33 \cdot n_{1,su} + 0.17 \cdot n_{3,su}$ (υποδηλώνοντας ότι το υδρογόνο παράγεται στοιχειομετρικά από τα σάκχαρα μέσω των αντιδράσεων 1 και 3 του πίνακα 7.11) και $f_{h2\_aa} = 0.06$ [Batstone *et al.*, 2002]. Η πρόβλεψη του μοντέλου για το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου, θεωρώντας τόσο κοινή όσο και διαφορετική κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων, απέχει αρκετά από τα πειραματικά δεδομένα (Σχήμα 7.17).

Επομένως, καθίσταται αναγκαία η τροποποίηση του στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα (f_{h2_su}), ώστε να προβλέπεται καλύτερα ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου.

Πίνακας 7.14. Οι βιοχημικές αντιδράσεις (ρυθμοί και συντελεστές) που περιγράφουν την παραγωγή υδρογόνου στο μοντέλο ADM1.

Διεργασία	Συντελεστής	Ρυθμός ($\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$)
Κατανάλωση σακχάρων	$(1-Y_{su}) \cdot f_{h2\_su}$	$k_{m\_su} \cdot \frac{S_{su}}{K_{S\_su} + S_{su}} \cdot X_{su} \cdot I_{pH}$
Κατανάλωση αμινοξέων	$(1-Y_{aa}) \cdot f_{h2\_aa}$	$k_{m\_aa} \cdot \frac{S_{aa}}{K_{S\_aa} + S_{aa}} \cdot X_{aa} \cdot I_{pH}$

$Y_{su}=0.1 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$ (παραγωγή βιομάζας από σάκχαρα) [Batstone *et al.*, 2002].

$Y_{aa}=0.08 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$ (παραγωγή βιομάζας από αμινοξέα) [Batstone *et al.*, 2002].

Σχήμα 7.17. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 τόσο για κοινή όσο και για διαφορετική κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.

7.5.3. Προσδιορισμός των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα στο τροποποιημένο μοντέλο ADM1

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το γαλακτικό οξύ και η αιθανόλη παράγονται, εκτός από τα πτητικά λιπαρά οξέα, το υδρογόνο και το διοξείδιο του άνθρακα, κατά το στάδιο της οξεογένεσης των σακχάρων, το οποίο επιβεβαιώθηκε και πειραματικά στην παρούσα διατριβή [Costello *et al.*, 1991a; Ren *et al.*, 1997; Skiadas *et al.*, 2000]. Η εισαγωγή του γαλακτικού οξέος και της αιθανόλης στη δομή του μοντέλου ADM1 απαιτεί τον προσδιορισμό των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής τους από τα σάκχαρα, f_{la_su} και f_{EtOH_su} , αντίστοιχα.

Στον πίνακα 7.15 παρατίθενται οι συντελεστές που συνδέουν την παραγωγή των προαναφερθέντων προϊόντων με την κατανάλωση των σακχάρων. Η βασική θεώρηση του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 είναι ότι, η παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων (οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, αιθανόλη, γαλακτικό οξύ και υδρογόνο) από τα σάκχαρα δεν μπορεί να αποδίδεται πλέον από τη στοιχειομετρία του πίνακα 7.12.

Πίνακας 7.15. Οι τροποποιημένοι συντελεστές που συνδέουν την κατανάλωση των σακχάρων με την παραγωγή μεταβολικών προϊόντων.

Προϊόντα	Συντελεστής	Ρυθμός (kgCOD·m ⁻³ ·d ⁻¹)
Οξικό οξύ	(1-Y _{su})·f _{ac_su}	$k_{m\_su} \cdot \frac{S_{su}}{K_{S\_su} + S_{su}} \cdot X_{su} \cdot I_{pH}$
Προπιονικό οξύ	(1-Y _{su})·f _{pro_su}	
Βουτυρικό οξύ	(1-Y _{su})·f _{bu_su}	
Αιθανόλη	(1-Y _{su})·f _{EtOH_su}	
Γαλακτικό οξύ	(1-Y _{su})·f _{la_su}	
Υδρογόνο	(1-Y _{su})·f _{h2_su}	

Y_{su}=0.1 kgCOD·kgCOD⁻¹ (παραγωγή βιομάζας από σάκχαρα) [Batstone *et al.*, 2002].

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το γαλακτικό οξύ βιοαποδομείται προς οξικό οξύ ή/και προπιονικό οξύ [Gottschalk G., 1986; Costello *et al.*, 1991a; Skiadas *et al.*, 2000], οπότε κρίθηκε σκόπιμος ο προσδιορισμός των κινητικών σταθερών της κατανάλωσης του. Ειδικότερα, ο ειδικός ρυθμός κατανάλωσης του γαλακτικού οξέος εκφράστηκε από κινητική τύπου Monod (με περιορισμό μόνο από το pH), σύμφωνα με την εξίσωση που ακολουθεί:

$$\text{ειδικός ρυθμός κατανάλωσης γαλακτικού οξέος} = k_{m\_la} \cdot \frac{S_{la}}{K_{S\_la} + S_{la}} \cdot X_{la} \cdot I_{pH} \quad (\text{εξ. 7.9})$$

όπου k_{m_la} ο μέγιστος ειδικός ρυθμός κατανάλωσης γαλακτικού οξέος τύπου Monod ([=] kgCOD·kgCOD⁻¹·d⁻¹), K_{S_la} η σταθερά κορεσμού ([=] kgCOD·m⁻³), S_{la} η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος ([=] kgCOD·m⁻³), X_{la} η συγκέντρωση της παραγόμενης βιομάζας από την κατανάλωση του γαλακτικού οξέος ([=] kgCOD·m⁻³) και I_{pH} ο συντελεστής περιορισμού ανάπτυξης της βιομάζας από το pH (εξισώσεις 7.5 και 7.6).

Ο προσδιορισμός της κινητικής σταθεράς κατανάλωσης (k_{m_la}) και του στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής γαλακτικού οξέος από σάκχαρα (f_{la_su}) πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονα με προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, υποθέτοντας ότι (α) K_{S_la}=K_{S_su}=0.79 kgCOD·m⁻³, (β) Y_{la}=Y_{su}=0.1 kgCOD·kgCOD⁻¹ (παραγωγή βιομάζας από γαλακτικό οξύ) και (γ) k_{dec_la}=k_{dec_su}=0.02 d⁻¹ (ρυθμός φθοράς πρώτης τάξης) [Batstone *et al.*, 2002]. Η βέλτιστη προβλεπόμενη τιμή της κινητικής σταθεράς k_{m_la} προσδιορίστηκε ίση με 7.64 kgCOD·kgCOD⁻¹·d⁻¹, ενώ στον πίνακα 7.16 δίνεται η βέλτιστη προβλεπόμενη τιμή του στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής γαλακτικού οξέος από σάκχαρα (f_{la_su}) για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο

αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση (HRT=30 h, 14.5 h και 7.5 h). Επιπρόσθετα, στο σχήμα 7.18 παρατίθενται οι προβλεπόμενες από το μοντέλο τιμές της τελικής συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος για κάθε μόνιμη κατάσταση λειτουργίας και όπως είναι προφανές, η σύγκρισή τους με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές οδηγεί σε ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Πίνακας 7.16. Η τιμή του στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής γαλακτικού οξέος από σάκχαρα κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από σάκχαρα.

HRT (h)	Βέλτιστη προβλεπόμενη τιμή f_{la_su} (kgCOD·kgCOD ⁻¹)
30	0.0067
14.5	0.283
7.5	0.469

Σχήμα 7.18. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Το γαλακτικό οξύ βιοαποδομείται προς οξικό οξύ ή/και προπιονικό οξύ σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις [Gottschalk G., 1986; Batstone *et al.*, 2002]:

Όμως, στο μοντέλο ADM1 δεν λαμβάνεται υπόψη η μετατροπή του γαλακτικού οξέος προς τα προαναφερθέντα προϊόντα. Για το λόγο αυτό, δυο νέοι στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής οξικού οξέος (f_{ac_la}) και προπιονικού οξέος

(f_{pro_la}) από το γαλακτικό οξύ, εισήχθησαν ώστε, να περιγραφεί καλύτερα η αναερόβια βιολογική επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) προς υδρογόνο.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το γαλακτικό οξύ συνήθως βιοαποδομείται προς οξικό οξύ και προπιονικό οξύ [Peiris *et al.*, 2006], οπότε θεωρήθηκε σκόπιμο, για λόγους απλότητας και απουσίας αντίστοιχων πειραματικών δεδομένων, οι στοιχειομετρικοί συντελεστές f_{ac_la} και f_{pro_la} να ληφθούν ίσοι με $0.222 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$ και $0.778 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$, αντίστοιχα, σύμφωνα με την εξίσωση 3.6. Με βάση την υπόθεση αυτή, ακολούθησε ο προσδιορισμός των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής του οξικού οξέος (f_{ac_su}), του προπιονικού οξέος (f_{pro_su}), του βουτυρικού οξέος (f_{bu_su}) και της αιθανόλης (f_{EtOH_su}) από τα σάκχαρα, με προσαρμογή στα αντίστοιχα πειραματικά δεδομένα για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση (HRT=30 h, 14.5 h, 7.5 h). Αξίζει να σημειωθεί ότι, στο τροποποιημένο μοντέλο ADM1 οι στοιχειομετρικοί συντελεστές f_{ac_su} , f_{pro_su} και f_{bu_su} θεωρούνται ανεξάρτητοι των παραμέτρων $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$.

Στον πίνακα 7.17 παρατίθενται οι βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής του οξικού οξέος, του προπιονικού οξέος, του βουτυρικού οξέος και της αιθανόλης από τα σάκχαρα, θεωρώντας τόσο κοινή όσο και διαφορετική κατανομή των προϊόντων.

Πίνακας 7.17. Οι βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα, λαμβάνοντας υπόψη την παραγωγή αιθανόλης και γαλακτικού οξέος κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

Στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα ($\text{kg COD} \cdot \text{kg COD}^{-1}$)				
	Οξικό οξύ (f_{ac_su})	Προπιονικό οξύ (f_{pro_su})	Βουτυρικό οξύ (f_{bu_su})	Αιθανόλη (f_{EtOH_su})
κοινή κατανομή προϊόντων	0.120	0.134	0.340	0.130
HRT (h)				
30	0.101	0.135	0.371	0.121
14.5	0.130	0.184	0.334	0.118
7.5	0.159	0.052	0.268	0.175

Στο σχήμα 7.19 φαίνεται η προσαρμογή του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και αιθανόλης κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση (HRT=30 h, 14.5 h, 7.5 h), θεωρώντας τόσο κοινή όσο και διαφορετική κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων για κάθε μόνιμη κατάσταση λειτουργίας. Η προσαρμογή του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα κρίνεται ιδιαίτερα ικανοποιητική, όταν η κατανομή των κυριότερων παραγόμενων πτητικών λιπαρών οξέων από τα σάκχαρα, διαφοροποιείται για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας, χωρίς όμως τα αποτελέσματα να είναι πολύ διαφορετικά στην περίπτωση κοινής κατανομής προϊόντων. Ωστόσο, η απόκλιση είναι εμφανής σε μικρότερους υδραυλικούς χρόνους παραμονής και ιδιαίτερα για HRT=7.5 h.

Στη συνέχεια, έχοντας πλέον προσδιορίσει τους στοιχειομετρικούς συντελεστές παραγωγής του οξικού οξέος, του προπιονικού οξέος, του βουτυρικού οξέος, της αιθανόλης και του γαλακτικού οξέος από τα σάκχαρα, κρίθηκε σκόπιμο να υπολογιστεί ο στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί (παράγραφος 7.5.2), η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 για το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) απέχει αρκετά από τα πειραματικά δεδομένα, οδηγώντας σε υπερεκτίμησή του. Έτσι, θεωρήθηκε σκόπιμο η παραγωγή του υδρογόνου από τα σάκχαρα να περιγραφεί από αντιδράσεις που περιορίζουν αισθητά το ρυθμό παραγωγής του και κατά συνέπεια όχι από την εξίσωση του στοιχειομετρικού συντελεστή $f_{h_2\_su}$ που δίνεται στον πίνακα 7.12. Ειδικότερα, θεωρήθηκε ότι, (α) η παραγωγή του υδρογόνου συνδέεται μόνο με την παραγωγή του βουτυρικού οξέος με απόδοση 2 mol H₂/mol βουτυρικού οξέος (εξίσωση 3, πίνακας 7.11) [Gottschalk G., 1986], και (β) το οξικό οξύ παράγεται από τα σάκχαρα σύμφωνα με την αντίδραση που περιγράφεται από την εξίσωση 3.8, οπότε η παραγωγή του υδρογόνου δεν συνδέεται πλέον με την παραγωγή του οξικού οξέος, όπως περιγράφεται από την εξίσωση 1 του πίνακα 7.11.

Σχήμα 7.19. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και αιθανόλης, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Συνεπώς, ο τροποποιημένος στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής του υδρογόνου από τα σάκχαρα δίνεται από την εξίσωση 7.11, ενώ η τιμή του, που υπολογίστηκε για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση, παρατίθεται στον πίνακα 7.18.

$$f_{h2\_su}=2 \cdot f_{bu\_su} \cdot \left(\frac{16}{160}\right) \quad (\text{εξ. 7.11})$$

Πίνακας 7.18. Η τιμή του τροποποιημένου στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), για κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση.

HRT (h)	f_{h2_su} (kgCOD·kgCOD ⁻¹)
30	0.0742
14.5	0.0668
7.5	0.0536

Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου, θεωρώντας ότι ο στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα συνδέεται είτε με την παραγωγή οξικού οξέος και βουτυρικού οξέος από τα σάκχαρα (Πίνακας 7.12, Σχήμα 7.17) είτε μόνο με την παραγωγή βουτυρικού οξέος από τα σάκχαρα (εξίσωση 7.11) για διαφορετική κατανομή προϊόντων, φαίνεται στο σχήμα 7.20. Είναι φανερό πλέον ότι, ο τρόπος με τον οποίο περιγράφηκε η παραγωγή του υδρογόνου από τα σάκχαρα στο τροποποιημένο μοντέλο ADM1 (εξίσωση 7.11) προσεγγίζει με μεγαλύτερη εγγύτητα τα πειραματικά δεδομένα.

Παρά το γεγονός ότι, ο τροποποιημένος συντελεστής παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα f_{h2_su} (εξίσωση 7.11) προσεγγίζει αρκετά ικανοποιητικά τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου, οι αποκλίσεις που παρατηρούνται υποδηλώνουν ότι απαιτούνται περαιτέρω βελτιώσεις της δομής του μοντέλου ADM1.

Μια σημαντική τροποποίηση θα αποτελούσε η εισαγωγή μιας βιολογικής διεργασίας κατανάλωσης υδρογόνου. Πειράματα διαλείποντος έργου με μαγιά μικροοργανισμών την εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) για HRT=14.5 h και αέρια φάση υδρογόνο και CO₂ κατέδειξαν την ύπαρξη μιας ομάδας μικροοργανισμών που καταναλώνει υδρογόνο (Σχήμα 7.21). Ειδικότερα τα πειράματα διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) ολικού όγκου 160 mL υπό αναερόβιες συνθήκες στους

35°C με 60 mL μαγιά μικροοργανισμών και αρχική συγκέντρωση υδρογόνου στην αέρια φάση περίπου 19%.

Βιβλιογραφικά, κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου έχει διαπιστωθεί η κατανάλωση του υδρογόνου από μικροοργανισμούς που παράγουν οξικό οξύ, σύμφωνα με την αντίδραση που περιγράφεται από την εξίσωση 3.9 [Hawkes *et al.*, 2007]. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εισαγωγή της συγκεκριμένης διεργασίας στη δομή του μοντέλου αποτελεί η γνώση των κινητικών σταθερών κατανάλωσης του υδρογόνου και ανάπτυξης των μικροοργανισμών.

Σχήμα 7.20. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) για διαφορετική κατανομή προϊόντων, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.

Σχήμα 7.21. Κατανάλωση υδρογόνου από τον μικροβιακό πληθυσμό της αναερόβιας καλλιέργειας.

Επίσης, η εισαγωγή ενός μηχανισμού που θα ελέγχει την παραγωγή όλων των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν (π.χ. μερική πίεση υδρογόνου) θα έδινε στο μοντέλο τη δυνατότητα να περιγράψει με μεγαλύτερη αξιοπιστία την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου [Peiris *et al.*, 2006]. Ωστόσο, αυτό είναι αρκετά δύσκολο να επιτευχθεί λόγω της ελάχιστης πληροφορίας που υπάρχει σχετικά με τη συσχέτιση των λειτουργικών συνθηκών και την παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων.

Τέλος, για τον υπολογισμό του pH στο τροποποιημένο μοντέλο ADM1 λήφθηκε υπόψη η ιοντική διάσταση τόσο της αιθανόλης όσο και του γαλακτικού οξέος. Η πρόβλεψη του μοντέλου για το pH του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR αν και είναι υποεκτιμημένη, μπορεί να κριθεί ως αρκετά ικανοποιητική (Σχήμα 7.22).

Σχήμα 7.22. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 για το pH και τα πειραματικά δεδομένα, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

7.5.4. Επαλήθευση του τροποποιημένου μοντέλου ADM1

Έχοντας προσδιορίσει όλες εκείνες τις παραμέτρους του μαθηματικού μοντέλου ADM1 που απαιτούνται για την όσο το δυνατόν πληρέστερη περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου σε αντιδραστήρα τύπου CSTR από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), κρίθηκε σκόπιμη η επαλήθευσή τους, μέσω πειραμάτων διαλείποντος έργου.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί (παράγραφος 7.2), οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) συνεισφέρουν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου. Συνεπώς, ως υπόστρωμα για τη διεξαγωγή των πειραμάτων

χρησιμοποιήθηκε το διαλυτό κλάσμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), που προέκυψε μετά από διήθηση του σε ηθμό ινών ύαλου με διάμετρο πόρων 0.7 μm , ενώ η εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για $\text{HRT}=14.5\text{ h}$ χρησιμοποιήθηκε ως μαγιά μικροοργανισμών (μικτή καλλιέργεια).

Τα πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν για τρεις διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις διαλυτών υδατανθράκων ($1.3\text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$, $2.5\text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$ και $3.5\text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$). Ο στόχος αυτός επιτεύχθηκε με τη διαφορετική αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών, εξασφαλίζοντας ότι, ο όγκος της αέριας φάσης του αντιδραστήρα είναι ο ίδιος και στις τρεις περιπτώσεις, έτσι ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο η επίδραση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στην απόδοση της διεργασίας. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 1310 mL υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C . Ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση και υγρό δείγμα για τον προσδιορισμό του pH, της συγκέντρωσης των υπολειπόμενων διαλυτών υδατανθράκων και των παραγόμενων μεταβολικών προϊόντων.

Η αρχική συγκέντρωση της βιομάζας που καταναλώνει σάκχαρα (X_{su}) στα πειράματα διαλείποντος έργου, προσδιορίστηκε από την πρόβλεψη του μοντέλου για τη συγκεκριμένη ομάδα μικροοργανισμών, λαμβάνοντας υπόψη την κατακράτηση των στερεών που λαμβάνει χώρα στον αντιδραστήρα τύπου CSTR (όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για $\text{HRT}=14.5\text{ h}$), καθώς η μαγιά των μικροοργανισμών για τη διεξαγωγή των πειραμάτων προερχόταν από την εκροή του (Πίνακας 7.19). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η μικροβιακή μάζα (βιομάζα) αποτελεί ένα μικρό κλάσμα των πειραματικά προσδιοριζόμενων πτητικών αιωρούμενων στερεών της εκροής του αντιδραστήρα [Henze *et al.*, 1988; Gavala *et al.*, 1999].

Πίνακας 7.19. Η αρχική συγκέντρωση της βιομάζας, που καταναλώνει σάκχαρα (X_{su}), στα πειράματα διαλείποντος έργου που πραγματοποιήθηκαν για την επαλήθευση του τροποποιημένου μοντέλου ADM1.

Αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων ($\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$)	Αρχική συγκέντρωση βιομάζας X_{su} ($\text{kgCOD}\cdot\text{kgCOD}^{-1}$)
1.3	0.5755
2.5	0.4535
3.5	0.3436

Επαλήθευση των κινητικών σταθερών κατανάλωσης των σακχάρων

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα πειράματα διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα για τρεις διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις διαλυτών υδατανθράκων. Στο σχήμα που ακολουθεί, φαίνεται η πρόβλεψη του μοντέλου για $k_{m\_su} = 53.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ και $K_{S\_su} = 0.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$ και τα πειραματικά δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου της υπολειπόμενης συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων (σάκχαρα) συναρτήσει του χρόνου.

Σχήμα 7.23. Η πρόβλεψη του μοντέλου και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου για την επιβεβαίωση των κινητικών σταθερών $k_{m\_su} = 53.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ και $K_{S\_su} = 0.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$.

Η πρόβλεψη του μοντέλου είναι αρκετά ικανοποιητική όταν η αρχική συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων ήταν $1.3 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$ και $2.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$, ενώ αντίθετα, όταν η αρχική συγκέντρωση ήταν $3.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$ ο ρυθμός κατανάλωσης των διαλυτών υδατανθράκων προβλέπεται από το μοντέλο με υπερεκτίμηση. Η απόκλιση αυτή πιθανότατα να οφείλεται σε υπερεκτίμηση της αρχικής συγκέντρωσης της βιομάζας που καταναλώνει σάκχαρα (X_{su}) στο

συγκεκριμένο πείραμα. Πράγματι, όταν η αρχική συγκέντρωση της βιομάζας θεωρηθεί ίση με $X_{su} = 0.144 \text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$ (αντί για $X_{su} = 0.344 \text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$) η πρόβλεψη του μοντέλου προσεγγίζει πολύ περισσότερο τα πειραματικά δεδομένα και το ρυθμό κατανάλωσης των διαλυτών υδατανθράκων (Σχήμα 7.24).

Σχήμα 7.24. Η πρόβλεψη του μοντέλου και τα πειραματικά δεδομένα για την επιβεβαίωση των κινητικών σταθερών $k_{m\_su} = 53.79 \text{ kgCOD}\cdot\text{kgCOD}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ και $K_{S\_su} = 0.79 \text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$, με διαφορετική αρχική τιμή για την παράμετρο X_{su} (αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $3.5 \text{ kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}$).

Επαλήθευση των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής μεταβολικών προϊόντων από σάκχαρα του τροποποιημένου μοντέλου ADM1

Σύμφωνα με τις παραγράφους 7.5.2 και 7.5.3, καταδεικνύεται ότι, η προσαρμογή του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 στα πειραματικά δεδομένα του αντιδραστήρα, ήταν πιο ικανοποιητική (ιδιαίτερα για το υδρογόνο) σε αντίθεση με το μη τροποποιημένο μοντέλο. Έτσι κρίθηκε σκόπιμο, να λάβει χώρα η επαλήθευση των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα του τροποποιημένου μοντέλου ADM1, για $\text{HRT}=14.5 \text{ h}$ (Πίνακες 7.17 και 7.18).

Συνοπτικά, θεωρήθηκε ότι (α) η παραγωγή του οξικού οξέος, του προπιονικού οξέος και του βουτυρικού οξέος από τα σάκχαρα δεν αποδίδεται πλέον από τη στοιχειομετρία του πίνακα 7.12 (β) η αιθανόλη και το γαλακτικό οξύ (ως ενδιάμεσο προϊόν) παράγονται από τα σάκχαρα και (γ) το υδρογόνο παράγεται από τα σάκχαρα σύμφωνα με το στοιχειομετρικό συντελεστή που δίνεται από την εξίσωση 7.11.

Στα σχήματα που ακολουθούν φαίνεται η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου και η προσαρμογή του στα δεδομένα που αποκτήθηκαν από τα πειράματα

διαλείποντος έργου. Ειδικότερα, ενώ το μοντέλο υπερεκτιμά τις συγκεντρώσεις του οξικού οξέος και του προπιονικού οξέος, η προσαρμογή του είναι ικανοποιητική τόσο για την περίπτωση του βουτυρικού οξέος όσο και της αιθανόλης, με εξαίρεση το πείραμα διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $3.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$ (Σχήματα 7.25, 7.26, 7.27 και 7.28).

Σχήμα 7.25. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα δεδομένα του πειράματος διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $1.3 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$.

Σχήμα 7.26. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα δεδομένα του πειράματος διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $2.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$.

Σχήμα 7.27. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για τα πτητικά λιπαρά οξέα και τα δεδομένα του πειράματος διαλείποντος έργου με αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων $3.5 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$.

Σχήμα 7.28. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για την αιθανόλη και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου.

Η πρόβλεψη του μοντέλου για το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου είναι αρκετά καλή και για τα τρία πειράματα διαλείποντος έργου με διαφορετική αρχική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων (Σχήμα 7.29). Ωστόσο όμως παρουσιάζει δυο σημαντικές αδυναμίες: (α) αδυνατεί να προβλέψει το χρόνο καθυστέρησης που παρατηρείται στην παραγωγή υδρογόνου (lag time), καθώς κάτι τέτοιο δεν προβλέπεται από το μοντέλο και (β) η παραγωγή του υδρογόνου, σύμφωνα με το μοντέλο, συνεχίζεται ακόμα και όταν ο ρυθμός κατανάλωσης των σακχάρων έχει σχεδόν μηδενιστεί (Σχήμα 7.23). Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι, στο μοντέλο (α) δεν έχει ληφθεί υπόψη κάποια βιολογική διεργασία κατανάλωσης υδρογόνου και (β) δεν έχει εισαχθεί κάποιος μηχανισμός που να ελέγχει την παραγωγή όλων των μεταβολικών προϊόντων, μεταξύ των οποίων και του υδρογόνου, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν (π.χ. μερική πίεση υδρογόνου).

Τέλος, η πρόβλεψη του μοντέλου για το γαλακτικό οξύ δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως ικανοποιητική, καθώς αδυνατεί να προβλέψει την κατανάλωση του (Σχήμα 7.28).

Σχήμα 7.29. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου.

Σχήμα 7.30. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου για το γαλακτικό οξύ και τα δεδομένα από τα πειράματα διαλείποντος έργου.

Κεφάλαιο

8. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από προεπεξεργασμένο ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων

8.1. Εισαγωγή

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp) ανήκει στην κατηγορία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών [Alburquerque *et al.*, 2004; Gavala *et al.*, 2005]. Ο ελαιοπολτός, που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής, αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη (γλυκόζη), ημικυτταρίνη (κυρίως ξυλόζη και αραβινόζη) και λιγνίνη, συνολικής μάζας 38.4 g/100 g TS [Gavala *et al.*, 2005].

Η απόδοση της αναερόβιας ζύμωσης στην παραγωγή υδρογόνου εξαρτάται από το περιεχόμενο του λιγνοκυτταρινούχου υλικού κυρίως σε υδατάνθρακες και από τη φύση τους, καθώς τα διαλυτά σάκχαρα βιοαποδομούνται ευκολότερα, από αυτά που αποτελούν την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη. Συνεπώς, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη, ως πολυμερή υδατανθράκων, πρέπει να υδρολυθούν προς διαλυτά ζυμώσιμα σάκχαρα (σακχαροποίηση), ώστε τελικά να μετατραπούν σε υδρογόνο κατά την αναερόβια ζύμωση. Αντίθετα, αυτό δε μπορεί να συμβεί με τη λιγνίνη, η οποία είναι μια εξαιρετικά σταθερή ένωση και ανθεκτική κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό [McMillan, 1994].

Το κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) είναι ότι, η εκατοστιαία κατά βάρος περιεκτικότητα του σε διαλυτούς υδατάνθρακες (σάκχαρα) αντιστοιχεί μόλις στο 50% της περιεκτικότητας του σε ολικούς υδατάνθρακες (Πίνακας 6.3). Επίσης, κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων για τη διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου τόσο από το διαλυτό όσο και από το αδιάλυτο κλάσμα των υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) φάνηκε

ότι, οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες συνεισφέρουν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, καταδεικνύοντας την περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητα τους (παράγραφος 7.2).

Συνεπώς, η φυσικοχημική ή η ενζυμική προεπεξεργασία με στόχο τη σακχαροποίηση του αδιάλυτου κλάσματος των περιεχόμενων υδατανθράκων στον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της απόδοσης της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου [Fan *et al.*, 1987; McMillan, 1994; Thygesen *et al.*, 2003]. Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, αναπτύχθηκαν και εφαρμόστηκαν μέθοδοι προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού με κύριο στόχο την αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του, ενώ ταυτόχρονα στις περιπτώσεις που αυτό επιτεύχθηκε, διερευνήθηκε η επίδραση τους στην παραγωγικότητα σε υδρογόνο.

8.2. Φυσικοχημικές μέθοδοι προεπεξεργασίας

8.2.1. Προεπεξεργασία με αλκαλικό μέσο

Μια από τις μεθόδους που εφαρμόστηκαν στην παρούσα διατριβή για την προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με στόχο τη σακχαροποίησή του, περιελάμβανε την προσθήκη αλκαλικού μέσου με ταυτόχρονη θέρμανσή του σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Προς επίτευξη του παραπάνω σκοπού, πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν, σε κατάλληλους υάλινους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL). Ειδικότερα, η μέθοδος περιελάμβανε την προσθήκη μερικών σταγόνων πυκνού διαλύματος NaOH (4 M) σε 100 mL αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), μέχρι το pH του μίγματος να καταστεί ίσο με 12. Στη συνέχεια, το μίγμα υποβαλλόταν σε θέρμανση, είτε στους 35°C για χρονικό διάστημα 24 h (ήπια θέρμανση) είτε στους 105°C για χρονικό διάστημα 48 h (οξεία θέρμανση).

Τα αποτελέσματα της προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) παρουσία του αλκαλικού μέσου παρατίθενται στο σχήμα 8.1, όπου παρατηρείται αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων (σακχάρων) κατά ένα ποσοστό της τάξεως του 10% επί της αρχικής τους συγκέντρωσης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η προεπεξεργασία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών με αλκαλικό μέσο (π.χ. διάλυμα NaOH) έχει ως αποτέλεσμα την απολιγνοποίηση του υλικού, καταστρέφοντας το

δεσμό εστέρα που συνδέει τη λιγνίνη με την ημικυτταρίνη, αυξάνοντας κατά συνέπεια το πορώδες του υλικού [Tarkon & Feist, 1969]. Ωστόσο, ο Cai και οι συνεργάτες του (2004) κατέδειξαν ότι, η αλκαλική προεπεξεργασία ιλύος (από την αερόβια δεξαμενή βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων) σε pH=11 (25°C για 24 h) οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά ένα ποσοστό της τάξεως του 132%. Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι, η περιεκτικότητα της ιλύος σε λιγνίνη είναι σχεδόν μηδενική, σε αντίθεση με την περιεκτικότητα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), καθώς η απόδοση της αλκαλικής προεπεξεργασίας ελαττώνεται με την περιεκτικότητα του υλικού σε λιγνίνη [Fan *et al.*, 1987; McMillan, 1994].

Σχήμα 8.1. Αλκαλική προεπεξεργασία αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).

8.2.2. Προεπεξεργασία με αέριο όζον

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το αέριο όζον αντιδρά με οργανικές ενώσεις που περιέχουν αρωματικούς δακτυλίους και διπλούς δεσμούς, προσβάλλει ενώσεις που έχουν κάποιες ιδιαίτερες ομάδες στο μόριο τους (π.χ. -OH, -CH₃, -OCH₃) ή ενώσεις που περιέχουν ηλεκτραρνητικά άτομα (π.χ. N, P, O, S) [Karageorgos *et al.*, 2006]. Ειδικότερα, το αέριο όζον σε υδατικά διαλύματα αντιδρά με τα ιόντα υδροξυλίου παράγοντας τις ιδιαίτερα δραστικές ρίζες υδροξυλίου, οι οποίες με τη σειρά τους οξειδώνουν πληθώρα οργανικών ενώσεων [Zouari, 1998]. Η προεπεξεργασία των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων με αέριο όζον, οδηγεί κυρίως στην αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων και συνεπώς στον αποχρωματισμό του αποβλήτου, αφού οι ενώσεις αυτές είναι υπεύθυνες για το χαρακτηριστικό σκούρο χρώμα τους [Borja *et al.*, 2006; Karageorgos *et al.*, 2006].

Η προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με αέριο όζον περιελάμβανε οζονισμό διάρκειας 30 min, 60 min και 120 min με αέριο όζον συγκέντρωσης $15 \text{ g O}_3/\text{m}^3$. Για το σκοπό αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους υάλινους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL), οι οποίοι πληρώνονταν με αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) συνολικού όγκου 100 mL.

Τα αποτελέσματα παρατίθενται στο σχήμα 8.2, όπου είναι φανερό ότι, η προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού με αέριο όζον ($15 \text{ g O}_3/\text{m}^3$) δεν οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων (μόλις 10% επί της αρχικής τους τιμής για διάρκεια οζονισμού 60 min).

Σχήμα 8.2. Προεπεξεργασία αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με αέριο όζον ($15 \text{ g O}_3/\text{m}^3$).

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι, ο οζονισμός του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) για χρονικό διάστημα 120 min, οδήγησε σε σημαντικά μικρότερα ποσοστά αύξησης της συγκέντρωσης των σακχάρων, συγκριτικά με την περίπτωση του οζονισμού διάρκειας 30 min και 60 min, κάτι που μπορεί να αποδοθεί στην οξείδωση των σακχάρων από το όζον. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται βιβλιογραφικά με βάση τη δημοσιευμένη εργασία του Holen και των συνεργατών του (1998), στην οποία αναφέρεται ότι, ο παρατεταμένος οζονισμός της γλυκόζης και της κυτταρίνης σε υδατικά τους διαλύματα, οδηγεί στο σχηματισμό μίγματος οργανικών οξέων μικρής αλυσίδας και τελικά σε οξαλικό οξύ. Αντίθετα, παρατηρήθηκε έντονος αποχρωματισμός του διαλύματος του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), το οποίο επιβεβαιώνεται και βιβλιογραφικά [Benitez *et al.*, 1999; Karageorgos *et al.*, 2006].

8.2.3. Προεπεξεργασία με ατμό

Η προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού με ατμό αποτελεί την τρίτη κατά σειρά φυσικοχημική μέθοδο προεπεξεργασίας, που αναπτύχθηκε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Η μέθοδος αυτή περιελάμβανε την κατεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό πίεσης 1 bar και θερμοκρασίας 121°C για χρονικά διαστήματα 30 min, 60 min και 120 min. Για το σκοπό αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους υάλινους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL), στους οποίους λάμβανε χώρα προσθήκη 100 mL αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων παρατίθενται στο σχήμα 8.3. Όπως καταδεικνύεται, η προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό πίεσης 1 bar και θερμοκρασίας 121°C οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων (περίπου 25% επί της αρχική τιμή της συγκέντρωσής τους) τόσο για τη χρονική διάρκεια προεπεξεργασίας των 60 min όσο και των 120 min. Η προεπεξεργασία με ατμό (1 bar, 121°C) για 60 min, επιλέχθηκε μεταξύ των δύο, ως η βέλτιστη μέθοδος, συνυπολογίζοντας και το μικρότερο λειτουργικό της κόστος.

Σχήμα 8.3. Προεπεξεργασία αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό (1 bar, 121°C).

Συμπερασματικά και συγκρίνοντας τις τρεις μεθόδους που εφαρμόστηκαν για τη φυσικοχημική προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (προεπεξεργασία με αλκαλικό μέσο, με αέριο όζον και με ατμό), ως βέλτιστη μέθοδος επιλέχθηκε η προεπεξεργασία με ατμό (1 bar, 121°C) για 60 min, καθώς οδηγεί στο μεγαλύτερο ποσοστό αύξησης διαλυτών υδατανθράκων (25.4 ± 4.5 %), με το μικρότερο δυνατό οικονομικό κόστος.

Έχοντας επιλέξει ως βέλτιστη μέθοδο προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) τη χρήση ατμού (1 bar, 121°C) για 60 min, κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η επίδραση αυτής της μεθόδου στο μη αραιωμένο ελαιοπολτό και στον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:2) με κουκούτσια. Η διερεύνηση αυτή υλοποιήθηκε καθώς θεωρήθηκε ότι, πιθανότατα ένα μεγάλο μέρος του ενεργειακού περιεχόμενου του ατμού, δαπανάται για την ανύψωση της θερμοκρασίας του περιεχόμενου ύδατος στον αραιωμένο ελαιοπολτό, με άμεσο αποτέλεσμα να παρατηρείται μικρότερη απόδοση στη σακχαροποίηση του υποστρώματος.

Προς επίτευξη του ανωτέρω, πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους υάλινους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL), οι οποίοι περιείχαν (α) 100 g ελαιοπολτό, (β) 100 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:2) με κουκούτσια και (γ) 100 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) χωρίς κουκούτσια. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων παρατίθενται στον πίνακα 8.1. Είναι φανερό ότι, η προεπεξεργασία με ατμό (1 bar, 121°C) για 60 min είναι εξίσου αποδοτική και στις τρεις περιπτώσεις χωρίς σημαντικές διαφορές.

Πίνακας 8.1. Επίδραση της προεπεξεργασίας με ατμό (1 bar, 121°C για 60 min) στην αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του ελαιοπολτού με διαφορετικό υδατικό περιεχόμενο.

	αύξηση διαλυτών υδατανθράκων (%)	αύξηση διαλυτών υδατανθράκων (g/100 g TS ελαιοπολτού)
ελαιοπολτός	28.15 ± 3.82	2.62 ± 0.36
ελαιοπολτός (1:2)	33.75 ± 6.09	3.15 ± 0.57
ελαιοπολτός (1:4)	25.39 ± 4.49	1.99 ± 0.29

Όπως έχει προαναφερθεί, πειράματα διαλείποντος έργου, που διεξήχθησαν κατά την διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής κατέδειξαν ότι, οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) συνεισφέρουν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου (παράγραφος 7.2). Θεωρήθηκε λοιπόν απαραίτητο, να μελετηθεί η επίδραση της βέλτιστης μεθόδου προεπεξεργασίας (χρήση ατμού 1 bar, 121°C για 60 min) στην εκροή του αντιδραστήρα, η οποία περιέχει κυρίως αδιάλυτους υδατάνθρακες, με σκοπό την επανατροφοδότηση του και την πιο ολοκληρωμένη επεξεργασία του υποστρώματος.

Πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους υάλινους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL), στους οποίους

προσθέτονταν 100 mL εκροής από τον αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=14.5 h. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον πίνακα 8.2. Η αύξηση της μάζας των διαλυτών υδατανθράκων ανά μάζα αρχικών αδιάλυτων υδατανθράκων κατά την προεπεξεργασία της εκροής ήταν συγκρίσιμη με την αντίστοιχη αύξηση που παρατηρήθηκε κατά την προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) υπό τις ίδιες συνθήκες (ατμός 1 bar, 121°C για 60 min).

Πίνακας 8.2. Επίδραση της προεπεξεργασίας με ατμό (1 bar, 121°C για 60 min) στην περιεκτικότητα σε διαλυτούς υδατάνθρακες της εκροής του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4).

αύξηση διαλυτών υδατανθράκων (g/g αρχικών αδιάλυτων υδατανθράκων)	
εκροή (HRT=14.5 h)	0.20 ± 0.02
ελαιοπολτός (1:4)	0.28 ± 0.04

Επομένως, η εκροή του αντιδραστήρα, εάν υποστεί επεξεργασία με ατμό (1 bar, 121°C για 60 min) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την επανατροφοδότηση του αντιδραστήρα, αφού παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη μάζα των διαλυτών υδατανθράκων. Ωστόσο, η επανατροφοδότηση του αντιδραστήρα με προεπεξεργασμένη εκροή (πλούσια σε πτητικά λιπαρά οξέα) πιθανότατα να παρεμποδίζει τη διεργασία της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου, καθώς έχει διαπιστωθεί βιβλιογραφικά ότι, οι υψηλές συγκεντρώσεις πτητικών λιπαρών οξέων (κυρίως οξικού οξέος και βουτυρικού οξέος) μπορεί να περιορίσουν την ανάπτυξη των οξεογόνων μικροοργανισμών [Zheng & Yu, 2005; Van Ginkel & Logan, 2005]. Ακόμα και στην περίπτωση που η τελευταία παρατήρηση επαληθευόταν, η προεπεξεργασμένη εκροή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την τροφοδοσία του αντιδραστήρα, μετά από κατάλληλη αραιώσή της με τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Δυστυχώς, όμως κάτι τέτοιο δεν διερευνήθηκε περαιτέρω με τη διεξαγωγή κατάλληλων πειραμάτων.

8.2.3.1. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) προεπεξεργασμένο με ατμό

Η προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό πίεσης 1 bar και θερμοκρασίας 121°C για 60 min οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων (περίπου 25%), οι οποίοι μεταβολίζονται κατά την αναερόβια διεργασία παραγωγής υδρογόνου (παράγραφος 7.2). Ωστόσο, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κατά την επεξεργασία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών είναι δυνατό να παραχθούν παρεμποδιστικά προϊόντα για τις βιολογικές διεργασίες [Palmqvist & Hahn-Hagerdal, 2000].

Έτσι, κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου από τον προεπεξεργασμένο με ατμό στις βέλτιστες συνθήκες (1 bar, 121°C, 60 min) αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Για το λόγο αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα τόσο με μη προεπεξεργασμένο όσο και με προεπεξεργασμένο με ατμό αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), ώστε να διαπιστωθεί η θετική ή η αρνητική επίδραση της προεπεξεργασίας του υποστρώματος στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.

Τα πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C. Ειδικότερα, τα πειράματα περιελάμβαναν την προσθήκη: (α) 20 mL μαγιάς μικροοργανισμών, (β) 20 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 10 mL προεπεξεργασμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) και (γ) 20 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 10 mL μη προεπεξεργασμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4). Η εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=14.5 h, χρησιμοποιήθηκε ως μαγιά μικροοργανισμών (μικτή καλλιέργεια) για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, ενώ ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, παρατίθενται στα σχήματα 8.4 και 8.5. Όπως είναι προφανές, η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου όχι μόνο δεν περιορίστηκε, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα προεπεξεργασμένο με ατμό αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), αλλά αντίθετα η απόδοση της διεργασίας (εκφρασμένη ως mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν) αυξήθηκε κατά ένα ποσοστό περίπου 45%. Η αύξηση στην απόδοση μπορεί να αποδοθεί πιθανότατα στην παρατηρούμενη αύξηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων, που παράγονται ταυτόχρονα με το

υδρογόνο στο στάδιο της οξεογένεσης. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του βουτυρικού και του προπιονικού οξέος σχεδόν διπλασιάστηκε, ενώ η συγκέντρωση του οξικού οξέος σχεδόν τριπλασιάστηκε.

Σχήμα 8.4. Επίδραση της προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με ατμό (1 bar, 121°C, 60 min) στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.

Σχήμα 8.5. Τα κυριότερα πτητικά λιπαρά οξέα που παράγονται στο στάδιο της οξεογένεσης, κατά την αναερόβια επεξεργασία τόσο του προεπεξεργασμένου με ατμό όσο και του μη προεπεξεργασμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4).

8.3. Ενζυμική υδρόλυση

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, εκτός από τις φυσικοχημικές μεθόδους προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), μελετήθηκε και η ενζυμική υδρόλυση του, με απώτερο σκοπό την αύξηση της απόδοσης της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου. Η μετατροπή της κυτταρίνης σε διαλυτά ζυμώσιμα σάκχαρα, τα οποία τελικά μπορούν να μετατραπούν σε υδρογόνο κατά την αναερόβια χώνευση, μπορεί να λάβει χώρα μέσω της ενζυμικής υδρόλυσης της. Τα ένζυμα που συμμετέχουν στην υδρόλυση της κυτταρίνης ανήκουν στην κατηγορία των κυτταρινασών.

Τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τα ακόλουθα εμπορικά διαλύματα ενζύμων (κυτταρινάσες): (α) Celluclast 1.5L, διάλυμα ενδο-β-γλυκανάσης (EC 3.2.1.4), το οποίο παράγεται από τους μύκητες που ανήκουν στο είδος *Trichoderma reesei* και (β) Novozyme 188, διάλυμα β-γλυκοσιδάσης ή αλλιώς κελλοβιάσης (EC 3.2.1.21), το οποίο παράγεται από τους μύκητες που ανήκουν στο είδος *Aspergillus niger*. Οι κυτταρινάσες (από το διάλυμα Celluclast 1.5L) διασπούν την κυτταρίνη σε κελλοβιόζη, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε γλυκόζη λόγω της δράσης του ενζύμου β-γλυκοσιδάσης (από το διάλυμα Novozyme 188).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι κυτταρινάσες που παράγονται από τα είδη μυκήτων *Trichoderma viride* και *Trichoderma reesei* χαρακτηρίζονται από χαμηλή ενεργότητα σε β-γλυκοσιδάση, με αποτέλεσμα το κύριο προϊόν της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης να είναι η κελλοβιόζη, η οποία παρεμποδίζει τη δράση των ενδο-β-γλυκανασών και εξω-β-γλυκανασών [Woodward & Wiseman, 1982]. Επομένως, καθίσταται αναγκαίος ο εμπλουτισμός των κυτταρινασών (που παράγονται από τα είδη μυκήτων *Trichoderma viride* και *Trichoderma reesei*) με β-γλυκοσιδάση από άλλες πηγές [Pemberton *et al.*, 1980].

8.3.1. Απελευθέρωση σακχάρων κατά την ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4)

Στόχος των πειραμάτων ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας υδρόλυσης του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) από τα εμπορικά διαλύματα ενζύμων Celluclast 1.5L και Novozyme 188 καθώς και η επίδραση της διαφορετικής συγκέντρωσης των ενζύμων στο ποσοστό αύξησης των διαλυτών υδατανθράκων. Τα πειράματα

ενζυμικής υδρόλυσης πραγματοποιήθηκαν σε κατάλληλους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL) στους 35°C, υπό συνθήκες ήπιας ανάδευσης με αποστειρωμένο (με χρήση κορεσμένου ατμού σε συνθήκες πίεσης 1 bar, θερμοκρασίας 121°C για χρονικό διάστημα 20 min) αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), για να αποφευχθεί η πιθανή κατανάλωση των παραγομένων σακχάρων από τους ενδογενείς μικροοργανισμούς του υποστρώματος.

Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) έλαβε χώρα είτε χρησιμοποιώντας μίγμα από τα εμπορικά διαλύματα ενζύμων Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L. Τόσο στις περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκε το μίγμα των δύο ενζύμων, όσο και στις περιπτώσεις όπου χρησιμοποιήθηκε μόνο το ένζυμο Celluclast 1.5L, οι συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν ήταν 5, 25, 50, 75 και 100 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων. Η ίδια αναλογία όγκων από τα εμπορικά διαλύματα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 χρησιμοποιήθηκε και από τους Panagiotou και Olsson (2007), σε μια προσπάθεια να διερευνήσουν την πιθανή παρεμποδιστική δράση συστατικών που παράγονται κατά την προεπεξεργασία λιγνοκυτταρινούχων υλικών (π.χ. σιτάλευρο) στην ενζυμική υδρόλυση τους.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) παρατίθενται στο σχήμα 8.6. Είναι φανερό ότι, το ποσοστό αύξησης των διαλυτών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) αυξάνει με αύξηση της συγκέντρωσης των ενζύμων, ενώ η επίδραση αυτή καθίσταται αμελητέα σε περιοχές υψηλότερων συγκεντρώσεών τους. Ειδικότερα, όταν χρησιμοποιήθηκε μίγμα ενζύμων Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, η μέγιστη αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων (περίπου 35%) παρατηρήθηκε για συγκέντρωση ενζύμου μεγαλύτερη ή ίση με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων, ενώ όταν χρησιμοποιήθηκε μόνο Celluclast 1.5L η μέγιστη αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων (25-30%) παρατηρήθηκε για συγκέντρωση μεγαλύτερη ή ίση με 25 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων. Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων συγκριτικά με τη χρήση μόνο Celluclast 1.5L. Αυτό ήταν αναμενόμενο αφού στην πρώτη περίπτωση η κελλοβιόζη, που πιθανότατα παράγεται και παρεμποδίζει τη δράση της ενδο-β-γλυκανάσης

(Celluclast 1.5L), μετατρέπεται σε γλυκόζη μέσω της β-γλυκοσιδάσης (Novozyme 188).

Σχήμα 8.6. Το ποσοστό αύξησης της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) κατά την ενζυμική υδρόλυσή του είτε με μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο με Celluclast 1.5L.

Στη συνέχεια και προκειμένου να αποκτηθούν κινητικά δεδομένα, θεωρήθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η πρόοδος της ενζυμικής υδρόλυσης του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) συναρτήσει του χρόνου. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, τόσο κατά την προσθήκη του μίγματος των δύο ενζύμων όσο και κατά την προσθήκη του ενός ενζύμου (Celluclast 1.5L) επιλέχθηκε η συγκέντρωση των 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων, έναντι των μεγαλύτερων της, καθαρά για οικονομικούς λόγους (Σχήμα 8.6).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο αρχικός ρυθμός με τον οποίο λαμβάνει χώρα η ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης είναι σχετικά μεγάλος, ωστόσο με το πέρασμα του χρόνου μειώνεται, πιθανότατα λόγω παρεμπόδισης από τα προϊόντα της υδρόλυσης και μείωσης της ενεργότητας των ενζύμων [Duff & Marry, 1996]. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των προαναφερθέντων κινητικών πειραμάτων και τα οποία παρατίθενται στο σχήμα 8.7. Για την καλύτερη κινητική περιγραφή του φαινομένου, το πείραμα της υδρόλυσης του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) παρουσία του μίγματος των ενζύμων, επαναλήφθηκε με συχνότερη δειγματοληψία στο κρίσιμο χρονικό διάστημα των πρώτων ωρών (Σχήμα 8.8).

Σχήμα 8.7. Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ως συνάρτηση του χρόνου είτε με μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο με Celluclast 1.5L, για 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων.

Σχήμα 8.8. Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) στο αρχικό χρονικό διάστημα της διεργασίας, ως συνάρτηση του χρόνου, με χρήση μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, για 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων.

Συμπερασματικά καταδεικνύεται ότι, η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) καθίσταται δυνατή με χρήση είτε μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L.

8.3.2. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων

Στόχος των πειραμάτων της ενζυμικής υδρόλυσης του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) είναι η μετατροπή της κυτταρίνης προς διαλυτά ζυμώσιμα σάκχαρα (saccharification), ώστε τελικά να αυξηθεί η απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου. Η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), με χρήση είτε μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L, οδήγησε σε αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων περίπου κατά 35% και 30%, αντίστοιχα (παράγραφος 8.3.1).

Συνεπώς, θεωρήθηκε απαραίτητο να διερευνηθεί η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου (α) σε μια διεργασία δυο σταδίων (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF) όπου τα διαλυτά σάκχαρα που απελευθερώνονται κατά την ενζυμική υδρόλυση του υποστρώματος (1^ο στάδιο) ζυμώνονται αναερόβια προς υδρογόνο (2^ο στάδιο) και (β) σε μια διεργασία ενός σταδίου (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) όπου η σακχαροποίηση του υποστρώματος και η αναερόβια ζύμωση των σακχάρων με στόχο την παραγωγή υδρογόνου λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα.

Το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας έχει στραφεί κυρίως προς τη διεργασία του ενός σταδίου, ιδιαίτερα στην παραγωγή αιθανόλης από κυτταρίνη, καθώς περιορίζεται σημαντικά η παρεμπόδιση των ενζύμων (κυτταρινασών) από τα προϊόντα της υδρόλυσης (κυρίως από την παραγόμενη κελλοβιόζη), ενώ μειώνεται σημαντικά το κόστος της διεργασίας, αφού δεν απαιτούνται διαφορετικοί αντιδραστήρες για την υδρόλυση και την αναερόβια ζύμωση [Philippidis *et al.*, 1993; South *et al.*, 1995; Gregg & Saddler, 1996; Vinzant *et al.*, 1997; Hari Krishna *et al.*, 1998 και 1999; Hari Krishna & Chowdary, 2000].

Όλα τα πειράματα που έπονται, πραγματοποιήθηκαν με αποστειρωμένο αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) (κορεσμένος ατμός, 1 bar, 121°C για 20 min), ενώ ως μαγιά μικροοργανισμών (μικτή καλλιέργεια) χρησιμοποιήθηκε η εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=14.5 h. Σε κάθε περίπτωση προστέθηκε και η απαιτούμενη ποσότητα K₂HPO₄ ως πηγή φωσφόρου (0.1 g/100 mL υποστρώματος). Προτού υλοποιηθούν τα προαναφερθέντα πειράματα και επειδή στα πλαίσια της παρούσας εργασίας σε εργαστηριακή κλίμακα μελετήθηκε η παραγωγή υδρογόνου από μη αποστειρωμένο αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), έλαβε χώρα συγκριτική μελέτη της

επίδρασης της προσθήκης των ενζύμων στην απόδοση της αναερόβιας βιολογικής διεργασίας παραγωγής υδρογόνου, όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιείται είτε αποστειρωμένος είτε μη αποστειρωμένος αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4).

Τα πειράματα διεξήχθησαν εις τριπλούν σε κατάλληλους αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C. Ειδικότερα, τα πειράματα περιελάμβαναν την προσθήκη: (α) 10 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 40 mL μη αποστειρωμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) και (β) 10 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 40 mL αποστειρωμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), ενώ και στις δυο περιπτώσεις έλαβε χώρα προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L συγκέντρωσης 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων κατέδειξαν ότι, η απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου δε φαίνεται να επηρεάζεται από τη χρήση του αποστειρωμένου ή μη αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ως υποστρώματος και την ταυτόχρονη προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (Σχήμα 8.9). Συνεπώς, τα αποτελέσματα που αφορούν στη διεξαγωγή των πειραμάτων με τη χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων και αποστειρωμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην περιγραφή της παραγωγής υδρογόνου από μη αποστειρωμένο αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) και κυτταρινολυτικά ένζυμα, η οποία όπως χαρακτηριστικά αναφέρθηκε έχει πρακτικό ενδιαφέρον.

Σχήμα 8.9. Σύγκριση της απόδοσης της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αποστειρωμένο ή μη αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση του κυτταρινολυτικού ενζύμου Celluclast, σε συγκέντρωση 50 FPU/ g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος.

8.3.2.1. Επίδραση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών

Στόχος των πειραμάτων διαλείποντος έργου ήταν η μελέτη της επίδρασης της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (S/X) στην απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), με χρήση των προαναφερθέντων κυτταρινολυτικών ενζύμων για την υδρόλυση του υποστρώματος προς διαλυτά ζυμώσιμα σάκχαρα.

Τα πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν σε δύο παράλληλες επαναλήψεις και σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C. Αποστειρωμένος αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4) (κορεσμένος ατμός, 1 bar, 121°C για 20 min) χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα με την προσθήκη της απαιτούμενης ποσότητας K_2HPO_4 , ενώ η εκροή από τον αντιδραστήρα (τύπου CSTR) παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=14.5 h, χρησιμοποιήθηκε ως μαγιά μικροοργανισμών (μικτή καλλιέργεια) για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Διεργασία ενός σταδίου (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, πρόκειται για μια διεργασία όπου η σακχαροποίηση του υποστρώματος και η αναερόβια ζύμωση των παραγόμενων σακχάρων, με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα σε έναν αντιδραστήρα.

Τα πειράματα διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα με προσθήκη είτε μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L. Η συγκέντρωση του ενζύμου υπολογίστηκε με βάση τους αδιάλυτους υδατάνθρακες του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) και καθορίστηκε ίση με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, αφού θεωρήθηκε ως εξίσου αποτελεσματική και ταυτόχρονα πιο οικονομική έναντι των μεγαλύτερων τιμών της συγκεντρώσεώς του (Σχήμα 8.6).

Ειδικότερα, τα πειράματα διαλείποντος έργου περιελάμβαναν την ανάμιξη: (α) 10 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 40 mL αποστειρωμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (S/X=4), (β) 20 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 40 mL αποστειρωμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (S/X=2), (γ) 30 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 30 mL αποστειρωμένου αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (S/X=1) και (δ) 40 mL μαγιάς μικροοργανισμών και 20 mL αποστειρωμένου

αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) ($S/X=0.5$). Σε κάθε περίπτωση πραγματοποιήθηκε και το αντίστοιχο πείραμα ελέγχου με τον αντίστοιχο όγκο μαγιάς μικροοργανισμών και υποστρώματος χωρίς την προσθήκη ενζύμων. Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση. Επίσης, ο ονομαστικός όγκος της υγρής φάσης (μαγιά μικροοργανισμών και υπόστρωμα) ήταν περίπου ίδιος σε όλες τις περιπτώσεις, εξασφαλίζοντας με αυτόν τον τρόπο τον ίδιο περίπου όγκο αέρια φάσης, απαλλάσσοντας τα πειραματικά αποτελέσματα από την εξάρτηση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων φαίνονται στα σχήματα 8.10 έως 8.12. Η παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) χωρίς προσθήκη ενζύμων παραμένει σχεδόν σταθερή (περίπου 40 mL H_2/g αρχικών ολικών υδατανθράκων) και είναι ανεξάρτητη από την αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών, επιβεβαιώνοντας το συμπέρασμα που προέκυψε στο κεφάλαιο 7 (παράγραφος 7.3). Ειδικότερα, όταν χρησιμοποιήθηκε μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, η διεργασία της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου φάνηκε να παρεμποδίζεται για $S/X>1$, καθώς η απόδοση σε υδρογόνο ήταν μικρότερη από την αντίστοιχη, στην περίπτωση που δεν προστέθηκαν ένζυμα (πείραμα ελέγχου). Όταν όμως χρησιμοποιήθηκε μόνο Celluclast 1.5L η απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο αυξήθηκε σημαντικά με μείωση του λόγου S/X , με εξαίρεση για $S/X>2$. Ωστόσο, η απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου ήταν η ίδια όταν χρησιμοποιήθηκε είτε μίγμα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L για $S/X\leq 1$ και σε κάθε περίπτωση σημαντικά μεγαλύτερη από την αντίστοιχη τιμή της απουσία ενζυμικού παράγοντα (Σχήμα 8.10).

Συνεπώς, η απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) καθίσταται βέλτιστη, όταν για την ενζυμική υδρόλυση του υποστρώματος χρησιμοποιείται μόνο Celluclast 1.5L για $S/X\leq 2$. Το κριτήριο επιλογής βασίστηκε στη μεγαλύτερη παρατηρούμενη σταθερότητα της απόδοσης σε υδρογόνο με την προσθήκη μόνο του ενζύμου Celluclast 1.5L και σε καθαρά οικονομικούς λόγους, καθώς το κόστος για την προσθήκη μίγματος ενζύμων Celluclast 1.5L και Novozyme 188 είναι μεγαλύτερο από την προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, η προσθήκη μίγματος ενζύμων Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, για αναλογία όγκων $S/X > 1$ φάνηκε να παρεμποδίζει σημαντικά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) (Σχήμα 8.10). Κάτι τέτοιο δεν έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά, καθώς δεν έχει μελετηθεί η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από λιγνοκυτταρινούχα υλικά με χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων για την αύξηση της συγκέντρωσης των ζυμώσιμων σακχάρων.

Ωστόσο, σε μια προσπάθεια να δοθεί εξήγηση στο φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε ότι, η αναλογία του όγκου των προστιθέμενων ενζύμων ανά μονάδα όγκου της μαγιάς μικροοργανισμών επηρεάζει την απόδοση της διεργασίας (Σχήμα 8.11). Πιο συγκεκριμένα, η αύξηση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών οδηγεί σε αύξηση της αναλογίας όγκων προστιθέμενων ενζύμων/μαγιάς μικροοργανισμών και σε ταυτόχρονη μείωση της απόδοσης της διεργασίας σε υδρογόνο. Μια πιθανή εξήγηση που μπορεί να δοθεί είναι ότι, η αυξημένη ποσότητα ενζύμων ανά μονάδα όγκου μαγιάς μικροοργανισμών περιορίζει την ανάπτυξη της βιομάζας και ειδικότερα την ανάπτυξη των οξεογόνων μικροοργανισμών. Η υπόθεση αυτή έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με την παρατήρηση που προκύπτει από το σχήμα 8.12β, όπου είναι φανερό ότι, κατά την προσθήκη μίγματος κυτταρινολυτικών ενζύμων για $S/X > 1$ έχει περιοριστεί σημαντικά η παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων, η οποία συνδέεται με την παραγωγή υδρογόνου.

Συμπερασματικά καταδεικνύεται ότι, σε μια διεργασία ενός σταδίου η προσθήκη κυτταρινολυτικών ενζύμων για την υδρόλυση του υποστρώματος επηρεάζει είτε θετικά είτε αρνητικά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, ανάλογα με την αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (S/X) (Σχήμα 8.10).

Σχήμα 8.10. Διεργασία ενός σταδίου (50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος): Επίδραση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση είτε μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L.

Σχήμα 8.11. Συσχέτιση της απόδοσης της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 (3/1) με την αναλογία όγκου προστιθέμενων ενζύμων ανά όγκο μαγιάς μικροοργανισμών.

Σχήμα 8.12. Διεργασία ενός σταδίου (50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος): Παραγωγή κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ως συνάρτηση της αναλογίας όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (α) χωρίς προσθήκη ενζύμων, (β) με προσθήκη μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 (3/1), (γ) με προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L.

8.3.2.2. Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4)

Απώτερος σκοπός των πειραμάτων διαλείποντος έργου ήταν η εύρεση των κατάλληλων συνθηκών για τη βέλτιστη παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων και η εφαρμογή τους στον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, ώστε να αυξηθεί η μειωμένη απόδοση του. Από προηγούμενα πειράματα καταδείχθηκε ότι, η απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) καθίσταται βέλτιστη με την προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L και σε αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών μικρότερης ή ίσης με 2 σε μια διεργασία ενός σταδίου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο αντιδραστήρας τύπου CSTR λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h, 14.5 h και 7.5 h, με την αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών σε κάθε κύκλο λειτουργίας να είναι περίπου ίση με 0.7. Για αυτό το λόγο, επιλέχθηκε να μελετηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L όταν η αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών είναι ίση με 1.

Πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν σε δύο παράλληλες επαναλήψεις, σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C. Αποστειρωμένος αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4) (κορεσμένος ατμός, 1 bar, 121°C για 20 min) χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα με την προσθήκη της απαιτούμενης ποσότητας K_2HPO_4 , ενώ η εκροή από τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=14.5 h, χρησιμοποιήθηκε ως μαγιά μικροοργανισμών για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Διεργασία ενός σταδίου (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην αναερόβια διεργασία ενός σταδίου παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Τα πειράματα διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα με προσθήκη 5, 25, 50, 75 και 100 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, με αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών ίση με 1 (30 mL μαγιά μικροοργανισμών και 30 mL αποστειρωμένος αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4)), ενώ πραγματοποιήθηκε και το αντίστοιχο πείραμα ελέγχου με τον αντίστοιχο όγκο μαγιάς

μικροοργανισμών και υποστρώματος χωρίς την προσθήκη ενζύμου. Σε κάθε περίπτωση προστέθηκε η απαιτούμενη ποσότητα K_2HPO_4 (0.1 g/100 mL αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4)). Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων είναι φανερό ότι, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας ενός σταδίου παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) αυξάνει καθώς η συγκέντρωση του ενζύμου Celluclast 1.5L αυξάνει (Σχήμα 8.13). Ωστόσο, η επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου στην απόδοση της διεργασίας καθίσταται σημαντική μέχρι τη συγκέντρωση των 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος. Με βάση την παρατήρηση αυτή και συνυπολογίζοντας το οικονομικό κόστος της διεργασίας (υψηλό κόστος ενζύμου) ως βέλτιστη συγκέντρωση ενζύμου για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου με αναλογία όγκων $S/X=1$ σε μια διεργασία ενός σταδίου λήφθηκε η συγκέντρωση των 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος.

Σχήμα 8.13. Διεργασία ενός σταδίου: Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με αναλογία όγκων $S/X=1$.

Στο σχήμα 8.14 παρατίθενται οι συγκεντρώσεις των πτητικών λιπαρών οξέων που παράγονται κατά την αναερόβια διεργασία ενός σταδίου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L και $S/X=1$. Σε όλες τις περιπτώσεις, η συγκέντρωση του οξικού οξέος είναι περίπου ίση με τη συγκέντρωση

του προπιονικού οξέος, ενώ η συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος είναι κατά 2.5-3 φορές υψηλότερη. Η επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην παραγωγή βουτυρικού οξέος είναι αμελητέα για συγκέντρωση μεγαλύτερη ή ίση με 25 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος. Αντίθετα, η παραγωγή του οξικού οξέος και του προπιονικού οξέος φαίνεται ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση του ενζύμου.

Σχήμα 8.14. Διεργασία ενός σταδίου: Παραγωγή κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L για αναλογία όγκων S/X=1.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η επίδραση του ενζύμου Celluclast 1.5L στην παραγωγή υδρογόνου, που αντιστοιχεί στο σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων (υποστρώματος και εκροής), αφού όπως έχει ήδη αναφερθεί, η εκροή του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) περιέχει κυρίως αδιάλυτους υδατάνθρακες (παράγραφος 7.2).

Για το σκοπό αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα όπως περιγράφηκαν προηγουμένως, μόνο που η συγκέντρωση του προστιθέμενου ενζύμου Celluclast 1.5L υπολογίστηκε με βάση το σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων (υποστρώματος και εκροής). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στα σχήματα που ακολουθούν.

Είναι φανερό ότι, όταν η συγκέντρωση του ενζύμου Celluclast 1.5L που προστέθηκε, υπολογίστηκε με βάση το σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας ενός σταδίου παραγωγής υδρογόνου μειώθηκε

περίπου κατά 35% (Σχήμα 8.15). Η μειωμένη απόδοση της αναερόβιας διεργασίας χαρακτηρίζεται από τη μειωμένη παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων και τη διαφορετική κατανομή τους. Ειδικότερα, η συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος και του προπιονικού οξέος είναι σχεδόν διπλάσια από τη συγκέντρωση του οξικού οξέος (Σχήμα 8.16). Επίσης, όταν η προστιθέμενη ποσότητα ενζύμου υπολογίστηκε με βάση το σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων, η συγκέντρωση του προπιονικού οξέος αυξήθηκε σχεδόν κατά 0.4 φορές, η συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος σχεδόν υποδιπλασιάστηκε ενώ η συγκέντρωση του οξικού οξέος παρέμεινε σχεδόν σταθερή σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δεδομένα, όταν η προστιθέμενη ποσότητα του ενζύμου υπολογίστηκε με βάση τους αδιάλυτους υδατάνθρακες του υποστρώματος (Σχήματα 8.16 και 8.14). Η παρατήρηση αυτή πιθανότατα δικαιολογεί τη μειωμένη απόδοση σε υδρογόνο της αναερόβιας διεργασίας ενός σταδίου όταν η συγκέντρωση του ενζύμου Celluclast 1.5L που προστέθηκε, υπολογίστηκε με βάση το σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων.

Σχήμα 8.15. Διεργασία ενός σταδίου: Επίδραση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L που αντιστοιχεί στο σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων, στην απόδοση της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με αναλογία όγκων S/X=1.

Σχήμα 8.16. Διεργασία ενός σταδίου: Παραγωγή κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L, που αντιστοιχεί στο σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων, για αναλογία όγκων S/X=1.

Η μειωμένη παραγωγή των πτητικών λιπαρών οξέων και του υδρογόνου πιθανότατα να οφείλεται στην αυξημένη ποσότητα του προστιθέμενου ενζύμου Celluclast 1.5L που αντιστοιχεί ανά όγκο μαγιάς μικροοργανισμών, η οποία όπως έχει δείχθει πιθανότατα περιορίζει την ανάπτυξη της βιομάζας και ειδικότερα των οξεογόνων μικροοργανισμών (Σχήματα 8.14, 8.15, 8.16 και 8.17).

Σχήμα 8.17. Διεργασία ενός σταδίου: Η προστιθέμενη ποσότητα ενζύμου ανά όγκο μαγιάς μικροοργανισμών, όταν η συγκέντρωση του ενζύμου Celluclast 1.5L υπολογίζεται είτε από τους αδιάλυτους υδατάνθρακες του υποστρώματος είτε από το σύνολο των αδιάλυτων υδατανθράκων.

Συμπερασματικά, καταδεικνύεται ότι, για να επιτευχθεί η βέλτιστη απόδοση στην παραγωγή υδρογόνου σε μια διεργασία ενός σταδίου η συγκέντρωση του ενζύμου Celluclast 1.5L πρέπει να υπολογισθεί με βάση τους αδιάλυτους υδατάνθρακες του υποστρώματος και να είναι περίπου ίση με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων, με αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών ίση με 1.

Διεργασία δυο σταδίων (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου σε μια διεργασία δυο ξεχωριστών σταδίων, όπου τα διαλυτά σάκχαρα που απελευθερώνονται κατά την ενζυμική υδρόλυση του υποστρώματος (1^ο στάδιο) ζυμώνονται αναερόβια προς υδρογόνο (2^ο στάδιο).

Το πρώτο στάδιο της διεργασίας περιελάμβανε την ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) σε συγκεντρώσεις ενζύμου Celluclast 1.5L ίσες με 5, 25, 50, 75 και 100 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων. Τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης έλαβαν χώρα με αποστειρωμένο αραιωμένο ελαιοπολτό (κορεσμένος ατμός, 1 bar, 121°C για 20 min) σε κατάλληλους αντιδραστήρες (υάλινες φιάλες duran, όγκου 250 mL) στους 35°C υπό συνθήκες ήπιας ανάδευσης. Τα αποκτηθέντα αποτελέσματα, σχετικά με το πρώτο στάδιο επεξεργασίας, παρατίθενται στο σχήμα 8.18, όπου παρατηρείται αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων από 20-40% για συγκέντρωση ενζύμου από 5 έως 100 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων, αντίστοιχα.

Το δεύτερο στάδιο της διεργασίας περιελάμβανε την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από τον προεπεξεργασμένο αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), που έχει ήδη υποστεί ενζυμική υδρόλυση στο πρώτο στάδιο της διεργασίας για διάφορες συγκεντρώσεις ενζύμου Celluclast 1.5L. Ειδικότερα, τα πειράματα διαλείποντος έργου για την παραγωγή υδρογόνου, έλαβαν χώρα σε δύο παράλληλες επαναλήψεις, σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C, με αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών ίση με 1 (30 mL μαγιά μικροοργανισμών και 30 mL υπόστρωμα), ενώ πραγματοποιήθηκε και το αντίστοιχο πείραμα ελέγχου με τον ίδιο όγκο μαγιάς μικροοργανισμών και υποστρώματος, το οποίο δεν είχε υποστεί ενζυμική υδρόλυση. Σε κάθε περίπτωση προστέθηκε η απαιτούμενη ποσότητα K_2HPO_4 (0.1 g/100 mL

αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4)). Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση.

Σχήμα 8.18. Διεργασία δυο σταδίων: Το ποσοστό αύξησης της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) κατά την ενζυμική υδρόλυση του με Celluclast 1.5L σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων του δεύτερου σταδίου παρατίθενται στο σχήμα 8.19. Είναι φανερό ότι, η απόδοση σε υδρογόνο της διεργασίας δυο σταδίων αυξάνει με αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου, ωστόσο η επίδραση καθίσταται αμελητέα για συγκέντρωση ενζύμου μεγαλύτερη ή ίση με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος. Προκειμένου να αποφευχθεί η δράση των ενζύμων στο δεύτερο στάδιο, μετά το πέρας του πρώτου έλαβε χώρα απενεργοποίηση τους με κορεσμένο ατμό θερμοκρασίας 121°C και πίεσης 1 bar για 20 min. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 4, τα ένζυμα αποτελούνται από μακριές, γραμμικές αλυσίδες αμινοξέων, οι οποίες αναδιπλώνονται έτσι ώστε να αποκτήσουν τρισδιάστατη δομή. Η καταστροφή της τρισδιάστατης δομής οδηγεί συνήθως στην απενεργοποίηση των ενζύμων. Για κάθε ένζυμο υπάρχει μια άριστη τιμή της θερμοκρασίας στην οποία η ταχύτητα της αντίδρασης που καταλύει γίνεται μέγιστη. Υπέρμετρη αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί απενεργοποίηση των ενζύμων, δηλαδή καταστροφή της τρισδιάστατης δομής τους και απώλεια της λειτουργικότητάς τους, καθώς σπάζουν οι χημικοί δεσμοί μεταξύ των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων του ενζύμου. Η άριστη θερμοκρασία

των κυτταρινολυτικών ενζύμων που περιέχονται στα εμπορικά διαλύματα Celluclast 1.5L και Novozyme 188 είναι περίπου 40°C [Srinivas & Panda, 1998].

Σε όλα τα παραπάνω πρέπει να προστεθεί ότι, η παραγόμενη κελλοβιόζη από το πρώτο στάδιο δεν φαίνεται να περιορίζει την αποδοτικότητα της διεργασίας δύο σταδίων καθώς πειράματα διαλείποντος έργου που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι, η συγκεκριμένη μικτή καλλιέργεια, που προέρχεται από την εκροή του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, μπορεί να βιοαποδομεί την κελλοβιόζη παράγοντας υδρογόνο (λόγω του πρώιμου χαρακτήρα των πειραμάτων τα αποτελέσματα δεν παρατίθενται).

Η απόδοση σε υδρογόνο της αναερόβιας βιολογικής διεργασίας από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση του ενζύμου Celluclast 1.5L σε διάφορες συγκεντρώσεις και αναλογία όγκων S/X=1 είναι περίπου ίδια, είτε όταν η αναερόβια διεργασία λάβει χώρα σε ένα στάδιο είτε σε δύο στάδια (Σχήμα 8.19). Ωστόσο, η διεργασία ενός σταδίου κρίθηκε ως η βέλτιστη και η πιο οικονομική διεργασία παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με χρήση του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος) και αναλογία όγκων S/X=1.

Σχήμα 8.19. Σύγκριση της απόδοσης σε υδρογόνο μεταξύ της διεργασίας δυο σταδίων και ενός σταδίου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε συγκεντρώσεις του ενζύμου Celluclast 1.5L από 0-100 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και σε αναλογία όγκων S/X=1.

Στη συνέχεια και έχοντας καταλήξει στη βέλτιστη διεργασία παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) με ενζυμική υδρόλυση (διεργασία ενός

σταδίου) θεωρήθηκε απαραίτητο να πραγματοποιηθεί κινητική μελέτη. Για το σκοπό αυτό, πείραμα διαλείποντος έργου πραγματοποιήθηκε σε κατάλληλο αντιδραστήρα (serum vial) συνολικού όγκου 1310 mL υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C, με προσθήκη 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και αναλογία όγκων S/X=1 (245 mL μαγιά μικροοργανισμών και 245 mL υπόστρωμα). Η επιλογή των όγκων του πειράματος, έγινε με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε, ο λόγος των όγκων υγρής φάσης/αέριας φάσης να βρίσκεται σε απόλυτη συμφωνία με τα αντίστοιχα πειράματα που διεξάχθηκαν σε αντιδραστήρα συνολικού όγκου 160 mL, ώστε να αποκλειστεί η επίδραση της τελικής μερικής πίεσης του υδρογόνου στα πειραματικά αποτελέσματα. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν τόσο αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση, όσο και υγρό δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των παραγόμενων μεταβολικών προϊόντων και της υπολειμματικής συγκέντρωσης των υδατανθράκων.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στα σχήματα 8.20 και 8.21. Όπως είναι προφανές, στο χρονικό διάστημα των πρώτων ωρών, η συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων αυξάνει και στη συνέχεια μειώνεται μέχρι που σταθεροποιείται περίπου στα 1500 mg/L (Σχήμα 8.20). Από τα πειράματα που έχουν ήδη διεξαχθεί, η υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων περίπου κατά 25% (Σχήματα 8.6 και 8.18). Ωστόσο, στο συγκεκριμένο πείραμα παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσής τους μόλις κατά ένα ποσοστό ίσο με 12% (Σχήμα 8.20). Η παρατήρηση αυτή πιθανότατα υποδηλώνει ότι, ο ρυθμός κατανάλωσης των παραγόμενων σακχάρων είναι μεγαλύτερος από τον ρυθμό παραγωγής τους (σακχαροποίηση). Συνοπτικά θα μπορούσε να ειπωθεί ότι, στο χρονικό διάστημα των πρώτων 10 h, το ρυθμορυθμιστικό βήμα της διεργασίας είναι η ενζυμική υδρόλυση, ενώ στο διάστημα των επόμενων ωρών, είναι η ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου. Παρατηρώντας το σχήμα 8.20, προκύπτει ότι ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου μηδενίζεται, όταν ο ρυθμός κατανάλωσης των διαλυτών υδατανθράκων μηδενίζεται, υποδηλώνοντας για ακόμα μία φορά ότι, η παραγωγή του υδρογόνου σχετίζεται με την κατανάλωση των υδατανθράκων και κατά συνέπεια με την παραγωγή μεταβολικών προϊόντων. Η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων αυξάνει με το πέρασμα του χρόνου, σταθεροποιείται όμως όταν τόσο η κατανάλωση των διαλυτών υδατανθράκων όσο και η παραγωγή υδρογόνου σταθεροποιείται. Το pH (με αρχική τιμή ίση με 5) μειώνεται συνεχώς, λόγω της

παραγωγής των πτητικών λιπαρών οξέων και σταθεροποιείται τελικά σε 4.6, όταν ο ρυθμός παραγωγής των πτητικών λιπαρών οξέων μηδενίζεται.

Σχήμα 8.20. Κατανάλωση διαλυτών υδατανθράκων και παραγωγή υδρογόνου συναρτήσει του χρόνου σε μια διεργασία ενός σταδίου με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και αναλογία όγκων S/X=1.

Σχήμα 8.21. Παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων συναρτήσει του χρόνου σε μια διεργασία ενός σταδίου με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και αναλογία όγκων S/X=1.

8.3.3. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από την εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR με χρήση κυτταρινολυτικών ενζύμων

Όπως έχει ήδη καταδειχθεί, οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) συνεισφέρουν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου (παράγραφος 7.2). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, η εκροή του αντιδραστήρα (τύπου CSTR) παραγωγής υδρογόνου από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), να περιέχει κυρίως αδιάλυτους υδατάνθρακες, οι οποίοι μπορεί να μετατραπούν προς διαλυτά ζυμώσιμα σάκχαρα (σακχαροποίηση) με τη χρήση κατάλληλων κυτταρινολυτικών ενζύμων.

Στόχος των επόμενων πειραμάτων διαλείποντος έργου ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου σε μια διεργασία ενός σταδίου από την εκμετάλλευση των αδιάλυτων υδατανθράκων της εκροής. Για το σκοπό αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν σε δύο παράλληλες επαναλήψεις σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C, με προσθήκη 60 mL εκροής και 5, 25, 50, 75 και 100 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων εκροής, ενώ πραγματοποιήθηκε και το αντίστοιχο πείραμα ελέγχου με τον ίδιο όγκο εκροής χωρίς την προσθήκη ενζύμου. Η εκροή προερχόταν από τον αντιδραστήρα, όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=14.5 h. Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβανόταν αέριο δείγμα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην αέρια φάση.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στο σχήμα 8.22. Είναι φανερό ότι, η παραγωγή υδρογόνου από την εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR, που περιέχει τόσο αδιάλυτους υδατάνθρακες όσο και αναερόβιους μικροοργανισμούς παραγωγής υδρογόνου, καθίσταται εφικτή με την προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L σε μια διεργασία ενός σταδίου. Η απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο αυξάνει με αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L μέχρι 75 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων εκροής.

FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων

Σχήμα 8.22. Η απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από την εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR (HPT=14.5 h) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L.

8.3.4. Επίδραση κυτταρινολυτικών ενζύμων στην απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4)

Στόχος όλων των πειραμάτων διαλείποντος έργου που διεξάχθηκαν με τη χρήση των κυτταρινολυτικών ενζύμων Celluclast 1.5 και Novozyme 188 ήταν η εκμετάλλευση των αδιάλυτων υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), η διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από τα παραγόμενα ζυμώσιμα σάκχαρα και στη συνέχεια η εύρεση των συνθηκών που θα μεγιστοποιούσαν την απόδοση της διεργασίας.

Συμπερασματικά, για τα πειράματα διαλείποντος έργου καταδείχθηκε ότι, η προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L σε μια διεργασία ενός σταδίου σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες ή ίσες με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών ίση με 1, οδηγεί στη βέλτιστη παραγωγή υδρογόνου. Στο σημείο αυτό, θεωρήθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η επίδραση της προσθήκης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR.

Ο αντιδραστήρας τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση για υδραυλικούς χρόνους παραμονής (HRT) 30 h, 14.5 h και 7.5 h. Ωστόσο, όταν λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=7.5 h, η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου φάνηκε να

περιορίζεται κινητικά από το υπόστρωμα (παράγραφος 7.3). Κατά συνέπεια, θεωρήθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η επίδραση της προσθήκης του ενζύμου Celluclast 1.5L στην απόδοση της διεργασίας, όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h.

Η περιοδική τροφοδοσία του αντιδραστήρα με αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) λάμβανε χώρα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και πιο συγκεκριμένα κάθε 12 h για 2 min και κάθε 6 h για 2 min για HRT 30 h και 14.5 h, αντίστοιχα. Σε κάθε περίπτωση, η αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην αρχή του κάθε κύκλου τροφοδοσίας ήταν περίπου ίση με 1 (πιο συγκεκριμένα περίπου ίση με 0.7). Η ποσότητα του ενζύμου Celluclast 1.5L, που έπρεπε να προστεθεί κάθε φορά που λάμβανε χώρα η τροφοδοσία του αντιδραστήρα, υπολογίστηκε με βάση τη μάζα των αδιάλυτων υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), έτσι ώστε σε κάθε κύκλο τροφοδοσίας να επιτευχθεί συγκέντρωση ενζύμου Celluclast 1.5L ίση με 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα για HRT 30 h και 14.5 h με προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L, φαίνονται στα σχήματα και στους πίνακες που ακολουθούν. Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης του ενζύμου όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=30h και στη συνέχεια για HRT=14.5h. Μεταξύ όμως των δύο πειραμάτων παρεμβλήθηκε ένα μεγάλο χρονικό διάστημα (περίπου 3 μήνες) όπου ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=30 h και στη συνέχεια για HRT=14.5 h χωρίς την προσθήκη ενζύμων.

Η προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L σε συγκεντρώσεις 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, όταν ο αντιδραστήρας τύπου CSTR λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=30 h, είχε ως αποτέλεσμα: (α) η εκατοστιαία περιεκτικότητα του παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο να παραμείνει σχεδόν σταθερή, (β) ο ρυθμός παραγωγής βιοαερίου και υδρογόνου να μειωθεί κατά περίπου 13% και 10%, αντίστοιχα, (γ) η υπολειμματική συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων να αυξηθεί περίπου κατά 0.7 g/L και (δ) η συγκέντρωση του προπιονικού οξέος να αυξηθεί περίπου κατά 0.6 g COD/L, ενώ οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων παραγόμενων οξέων παρέμειναν σταθερές.

Σε γενικές γραμμές, ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα από την προσθήκη Celluclast 1.5L συγκέντρωσης 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, όταν ο αντιδραστήρας τύπου CSTR λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για

HRT=14.5 h. Πιο συγκεκριμένα, ο ρυθμός παραγωγής βιοαερίου παρέμεινε σταθερός σε αντίθεση με το ρυθμό παραγωγής υδρογόνου που μειώθηκε κατά περίπου 15%. Η συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων που δεν καταναλώθηκαν αυξήθηκε κατά περίπου 0.9 g/L, προκαλώντας περίπου την ίδια αύξηση στο διαλυτό COD του επεξεργασμένου πλέον αποβλήτου. Η συγκέντρωση του προπιονικού οξέος αυξήθηκε περίπου κατά 0.6 g COD/L, όπως συνέβη και όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT=30 h, ενώ οι συγκεντρώσεις όλων των άλλων παραγόμενων οξέων παρέμειναν σχεδόν σταθερές, παρατηρώντας μια ασήμαντη αύξηση στη συγκέντρωση του οξικού οξέος και μια ασήμαντη μείωση στη συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος.

Ωστόσο, ενώ κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων διαλείποντος έργου είχεδειχθεί ότι, η προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L συγκέντρωσης 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, με αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών ίση με 1, οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε υδρογόνο, αυτό δυστυχώς δε συνέβη στην απόδοση του αντιδραστήρα.

Όπως έχει ήδηδειχθεί, η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή υδρογόνου (παράγραφος 7.2). Πιθανότατα, αυτό να αποτελεί αιτία για τη μειωμένη απόδοση του αντιδραστήρα τύπου CSTR παρά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L, αφού η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου σε κάθε κύκλο τροφοδοσίας του αντιδραστήρα ήταν μη μηδενική.

Παρατηρώντας τους πίνακες 8.3 και 8.4 φαίνεται ότι, η προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L στον αντιδραστήρα τύπου CSTR είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης του προπιονικού οξέος (κατά 0.6 g COD/L) είτε όταν ο αντιδραστήρας λειτούργησε σε HRT 30 h είτε σε 14.5 h.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η συσσώρευση του προπιονικού οξέος λαμβάνει χώρα σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης NADH [Mosey F. E., 1983; Dinopoulou *et al.*, 1988; Ren *et al.*, 1997]. Ωστόσο, ο λόγος $[NADH]/[NAD^+]$ στο εσωτερικό των κυττάρων θα πρέπει να διατηρείται σε επίπεδα κατάλληλα για τη διεξαγωγή της αναερόβιας χώνευσης [Ren *et al.*, 1997]. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με την παραγωγή προπιονικού οξέος είτε με την παραγωγή υδρογόνου. Ειδικότερα, η παραγωγή προπιονικού οξέος αντικαθιστά την παραγωγή βουτυρικού οξέος, καθώς παράγεται μεγαλύτερη ποσότητα NAD^+ και κατά συνέπεια ο λόγος $[NADH]/[NAD^+]$ μειώνεται και ρυθμίζεται σε επίπεδα κατάλληλα για την αναερόβια χώνευση [Ren *et al.*, 1997]. Επίσης, όπως έχει ήδη αναφερθεί, υδρογόνο μπορεί να

παραχθεί κατά την οξείδωση του NADH προς NAD⁺, μέσω του ενζύμου της υδρογενάσης σύμφωνα με την αντίδραση $2\text{NADH} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{NAD}^+$, υπό αυστηρά αναερόβιες συνθήκες (παράγραφος 3.4.2.1).

Συνεπώς, από τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L στον αντιδραστήρα είναι φανερό ότι, η παραγωγή προπιονικού οξέος επικράτησε έναντι της παραγωγής υδρογόνου ως ένας τρόπος μείωσης του λόγου $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$.

Σχήμα 8.23. Η ποσοστιαία περιεκτικότητα του παραγόμενου βιοαερίου σε υδρογόνο, όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος)

Σχήμα 8.24. Ο ρυθμός παραγωγής βιοαερίου και υδρογόνου όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος).

Πίνακας 8.3. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα κατά την αποκατάσταση των μονίμων καταστάσεων για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος).

	HRT (h)			
	30		14.5	
	πριν την προσθήκη ενζύμου	μετά την προσθήκη ενζύμου	πριν την προσθήκη ενζύμου	μετά την προσθήκη ενζύμου
pH	4.8 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.6 ± 0.1
Ρυθμός παραγωγής βιοαερίου (mL/d)	336.7 ± 26.8	292.1 ± 38	506.4 ± 76.8	504.2 ± 62.4
Υδρογόνο (%)	26.6 ± 2.2	29.5 ± 2.7	23.1 ± 2.7	19.3 ± 2.9
Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL/d)	93.2 ± 14.2	83.6 ± 12.8	115.2 ± 14.4	98.4 ± 24.5
Υπολειμματική συγκέντρωση διαλυτών υδατανθράκων (g/L)	1.01 ± 0.45	1.68 ± 0.28	1.61 ± 0.26	2.51 ± 0.33
Διαλυτό COD επεξεργασμένου αποβλήτου (g COD/L)	17.7 ± 0.9	18.3 ± 1.1	17.4 ± 1.7	18.8 ± 2.3

Πίνακας 8.4. Τα παραγόμενα μεταβολικά προϊόντα όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση για HRT 30 h και 14.5 h, πριν και μετά την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L (50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος).

	HRT (h)			
	30		14.5	
	πριν την προσθήκη ενζύμου	μετά την προσθήκη ενζύμου	πριν την προσθήκη ενζύμου	μετά την προσθήκη ενζύμου
Οξικό οξύ (g COD/L)	1.85 ± 0.11	1.94 ± 0.66	1.16 ± 0.14	1.37 ± 0.13
Προπιονικό οξύ (g COD/L)	1.64 ± 0.09	2.24 ± 0.12	1.23 ± 0.17	1.87 ± 0.15
Βουτυρικό οξύ (g COD/L)	2.02 ± 0.11	2.04 ± 0.07	1.84 ± 0.07	1.57 ± 0.13
Ισοβουτυρικό οξύ (g COD/L)	0.57 ± 0.02	0.57 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.35 ± 0.02
Ισοβαλερικό οξύ (g COD/L)	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Βαλερικό οξύ (g COD/L)	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.15 ± 0.04

Κεφάλαιο

9. Μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων

9.1. Εισαγωγή

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, εκτός από τη μελέτη της μεσόφιλης αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp) διερευνήθηκε και η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων. Ειδικότερα, μελετήθηκε η συνεχής παραγωγή υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων σε αντιδραστήρα τύπου CSTR, με στόχο τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών λειτουργίας του. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μαθηματική προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων της αναερόβιας βιολογικής διεργασίας παραγωγής υδρογόνου, με χρήση των παραμέτρων που προέκυψαν κατά την περιγραφή της παραγωγής υδρογόνου από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), με τη βοήθεια του τροποποιημένου μαθηματικού μοντέλου ADM1 (Κεφάλαιο 7).

9.2. Διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων

Τα υγρά απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW), όπως και το ημι-στερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp), αποτελούν γενικά ιδανικό υπόστρωμα για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς τους σε υδατάνθρακες (Πίνακας 1.3). Τα απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση των πειραμάτων της παρούσας εργασίας χαρακτηρίζονταν από ιδιαίτερα μεγάλες διακυμάνσεις, σε

τέτοιο βαθμό ώστε τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους να μεταβάλλονται από δοχείο σε δοχείο συλλογής και φύλαξης του αποβλήτου. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στην προέλευση των αποβλήτων κατά την παραγωγική διαδικασία ελαιολάδου από υπερώριμους ελαιοκαρπούς διαφορετικών σοδειών. Ποσοτικές αναλύσεις που έλαβαν χώρα με το πέρασμα του χρόνου, κυρίως ως προς την περιεκτικότητα του αποβλήτου σε υδατάνθρακες, κατέδειξαν ότι, η επί μακρόν παραμονή του αποβλήτου σε θερμοκρασία περίπου 4°C δε φαίνεται να συμβάλλει στη συντήρησή του, πιθανότητα λόγω μικροβιακής ανάπτυξης στη μάζα του. Προκειμένου να αποφευχθεί η παρατηρούμενη μείωση των υδατανθράκων λόγω του προαναφερθέντος ανεπιθύμητου φαινομένου, το απόβλητο φυλασσόταν σε συνθήκες κατάψυξης, σε θερμοκρασία -20°C.

Τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου χαρακτηρίζονταν από ασυνήθιστα υψηλές συγκεντρώσεις σε ολικά και πτητικά αιωρούμενα στερεά (90.2 ± 2.3 και 82.8 ± 1.6 g/L, αντίστοιχα) και σε ολικούς και διαλυτούς υδατάνθρακες (53.2 ± 3.8 και 46.7 ± 1.9 g/L, αντίστοιχα). Ο εργαστηριακός χειρισμός του συγκεκριμένου αποβλήτου για την τροφοδοσία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR αποδείχθηκε αρκετά δυσχερής, λόγω της υψηλής συγκέντρωσής του σε ολικά αιωρούμενα στερεά. Κατά συνέπεια, για την ομαλή λειτουργία του αντιδραστήρα θεωρήθηκε απαραίτητη η αραίωση του αποβλήτου με νερό βρύσης, όπως ακριβώς είχε πραγματοποιηθεί και κατά την αναερόβια επεξεργασία του ελαιοπολτού, χωρίς να παρουσιαστούν προβλήματα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου. Ωστόσο, στο σημείο αυτό θεωρήθηκε απαραίτητο να προσδιοριστεί ο βέλτιστος παράγοντας αραίωσης του αποβλήτου OMW με νερό βρύσης, ώστε να αποφεύγεται η σπατάλη νερού και ταυτόχρονα να διεξάγεται απρόσκοπτα η διεργασία.

Για το σκοπό αυτό, κατάλληλα πειράματα διαλείποντος έργου έλαβαν χώρα, με υπόστρωμα το συγκεκριμένο απόβλητο σε διαφορετικούς λόγους αραίωσης με νερό βρύσης και με μαγιά μικροοργανισμών (μικτή καλλιέργεια) την εκροή από τον αντιδραστήρα (τύπου CSTR) παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση σε $HRT=14.5$ h. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε δύο παράλληλες επαναλήψεις, σε κατάλληλους αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C. Ειδικότερα, τα πειράματα περιελάμβαναν την προσθήκη:

(α) 30 mL μικτής καλλιέργειας μικροοργανισμών, (β) 30 mL μικτής καλλιέργειας μικροοργανισμών και 30 mL μη αραιωμένου αποβλήτου OMW, (γ) 30 mL μικτής καλλιέργειας μικροοργανισμών και 30 mL αραιωμένου αποβλήτου OMW (σε λόγο αραιώσης 1:2) και (δ) 30 mL μικτής καλλιέργειας μικροοργανισμών και 30 mL αραιωμένου αποβλήτου OMW (σε λόγο αραιώσης 1:4). Βάσει των πειραματικών αποτελεσμάτων που προέκυψαν και παρατίθενται στον πίνακα 9.1, καταδεικνύεται ότι, η αναερόβια διεργασία παραγωγής υδρογόνου παρεμποδίστηκε πλήρως όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε μη αραιωμένο απόβλητο OMW, ενώ κάτι τέτοιο δεν συνέβη όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε αραιωμένο απόβλητο OMW (1:2) και (1:4). Ωστόσο, για την τροφοδοσία του αντιδραστήρα τύπου CSTR επιλέχθηκε το αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) με νερό βρύσης (συγκέντρωσης περίπου 20 g COD/L) με προσθήκη 1 g K₂HPO₄/L τροφοδοσίας, ως πηγή φωσφόρου. Εξάλλου, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η αναερόβια επεξεργασία των υγρών αποβλήτων OMW έχει αντιμετωπιστεί με επιτυχία χωρίς προβλήματα παρεμπόδισης, όταν το απόβλητο αραιώνεται, μέχρι το περιεχόμενο του σε οργανικό φορτίο να μην υπερβαίνει τα 20 g COD/L [Boari *et al.*, 1984; Gelegenis *et al.*, 2007]. Επίσης, σε ανάλογο συμπέρασμα κατέληξαν ο Eroglu και οι συνεργάτες του (2004), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι, η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου από υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων είναι δυνατή μόνο όταν το απόβλητο υφίσταται αραιώση, αφού με αυτό τον τρόπο μειώνεται πιθανότατα η συγκέντρωση των παρεμποδιστικών ουσιών και η χρωματική του πυκνότητα διευκολύνοντας τη διέλευση του φωτός.

Πίνακας 9.1. Απόδοση σε υδρογόνο όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιείται απόβλητο OMW αραιωμένο ή μη.

	απόδοση σε υδρογόνο (mL/g διαλυτών υδατ.κων που καταναλώθηκαν)
μη αραιωμένο απόβλητο OMW	0
αραιωμένο απόβλητο OMW (1:2)	26.73 ± 2.58
αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4)	36.53 ± 1.05

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 7, όταν για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα ο αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4), θεωρήθηκε απαραίτητο να διερευνηθεί η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου τόσο από το διαλυτό όσο και από το αδιάλυτο κλάσμα των υδατανθράκων, καθώς ένα μεγάλο ποσοστό των ολικών υδατανθράκων ήταν αδιάλυτοι (περίπου 50% κ.β.).

Ωστόσο, στην περίπτωση του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) κάτι τέτοιο δε θεωρήθηκε σκόπιμο, αφού το μεγαλύτερο ποσοστό των ολικών υδατανθράκων αφορούσε διαλυτούς υδατάνθρακες (περίπου 88% κ.β.).

9.3. Συνεχής αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων

Ο μεσόφιλος αντιδραστήρας που χρησιμοποιήθηκε για τη συνεχή αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW) ήταν ίδιος με τον αντιδραστήρα τύπου CSTR που χρησιμοποιήθηκε για την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) και περιγράφηκε αναλυτικά στα κεφάλαια 6 και 7. Για την εκκίνηση του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου, ως μικτή καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκε μικτή αναερόβια καλλιέργεια, η οποία προερχόταν από την εκροή του αντιδραστήρα (τύπου CSTR) παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) όταν λειτουργούσε σε μόνιμη κατάσταση σε HRT=14.5 h. Όπως προαναφέρθηκε, για την παραγωγή υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα το αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) με διαλυτό οργανικό φορτίο περίπου ίσο με 20 g COD/L και κατόπιν προσθήκης 1 g K₂HPO₄/L τροφοδοσίας, ως πηγής φωσφόρου. Τα χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας του αντιδραστήρα τύπου CSTR παρατίθενται στον πίνακα 9.2. Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων, παρατηρήθηκαν σημαντικές διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) σε διαλυτούς υδατάνθρακες, με τη συγκέντρωσή τους να κυμαίνεται από 3.3 ± 0.2 έως 6.2 ± 0.2 g/L, ενώ η τιμή του pH παρέμενε περίπου ίση με 5.5.

Ο αντιδραστήρας τύπου CSTR λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση σε υδραυλικούς χρόνους παραμονής (HRT) 60 h, 33 h, 30 h, 27 h, 24 h, 14.5 h και 7.5 h. Η περιοδική τροφοδοσία του αντιδραστήρα με αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) λάμβανε χώρα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και πιο συγκεκριμένα κάθε 6 h για 1 min εκτός από την περίπτωση των HRT 14.5 h και 7.5 h όπου λάμβανε χώρα κάθε 6 h για 2 min και κάθε 3 h για 2 min αντίστοιχα, με την αρχική συγκέντρωση των υδατανθράκων σε κάθε κύκλο τροφοδοσίας να δίνεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$S = S_0 - (S_0 - S_m) \cdot \exp\left[-\left(\frac{Q}{V}\right) \cdot t\right] \quad (\text{εξ. 7.1})$$

όπου S_0 είναι η συγκέντρωση των υδατανθράκων του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) ($[=]$ mg/L), S_{in} είναι η συγκέντρωση των υδατανθράκων στο τέλος κάθε κύκλου τροφοδοσίας ($[=]$ mg/L), Q είναι η ογκομετρική παροχή τροφοδοσίας ($[=]$ mL/min), t η χρονική διάρκεια παροχής της τροφοδοσίας ($[=]$ min).

Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε κάθε μόνιμη κατάσταση παρουσιάζονται στους πίνακες που ακολουθούν, ενώ η συμπεριφορά του αντιδραστήρα κατά τη διάρκεια αποκατάστασης όλων των μονίμων καταστάσεων φαίνεται στα σχήματα Π1, Π2 και Π3 του παραρτήματος.

Παρατηρώντας τον πίνακα 9.3 προκύπτει ότι, με μείωση του HRT το ποσοστό απομάκρυνσης των διαλυτών υδατανθράκων μειώνεται από $86.3 \pm 1.4 \%$ για $HRT=60$ h σε $44.3 \pm 1.8 \%$ για $HRT=7.5$ h, όπως συνέβη και κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (Πίνακας 7.2). Συνεπώς, θεωρήθηκε σκόπιμο να μη μειωθεί περαιτέρω ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του αντιδραστήρα, αφού ήδη ένα μεγάλο ποσοστό των διαλυτών υδατανθράκων του αποβλήτου παραμένει ανεκμετάλλευτο, παρόλο που η μείωση του HRT οδήγησε σε σημαντική αύξηση του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου (από 26.4 ± 2.2 mL H_2 /d για $HRT=60$ h σε 201.6 ± 26.6 mL H_2 /d για $HRT=7.5$ h). Ανάλογο ήταν και το συμπέρασμα στο οποίο κατέληξαν ο Zhang και οι συνεργάτες του (2006), κατά τη μελέτη της επίδρασης του HRT στη μεσόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από γλυκόζη σε αντιδραστήρα CSTR. Εξάλλου, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, για την παραγωγή υδρογόνου από σύνθετα υποστρώματα (όπως άμυλο, απόβλητα ζυθοποιείας κ.ά.) απαιτείται λειτουργία σε τιμές HRT συνήθως μεγαλύτερες από 8 h, πιθανότατα λόγω των χαμηλών ρυθμών υδρόλυσης τέτοιων υποστρωμάτων [Li & Fang, 2007].

Πίνακας 9.2. Τα χαρακτηριστικά του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) για την τροφοδοσία του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)						
	60 h	33 h	30 h	27 h	24 h	14.5 h	7.5h
Διαλυτοί υδατάνθρακες (g/L)	3.9 ± 0.2	5.7 ± 0.4	5.9 ± 0.2	5.5 ± 0.2	5.8 ± 0.3	3.3 ± 0.2	6.2 ± 0.2
Διαλυτό οργανικό περιεχόμενο (g COD/L)	18.5 ± 1.1	19.5 ± 1.2	21.4 ± 1.4	21.1 ± 1.1	20.5 ± 1.1	19.1 ± 1.4	20.1 ± 0.9

± : διακύμανση χαρακτηριστικών από ημέρα σε ημέρα

Πίνακας 9.3. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)						
	60 h	33 h	30 h	27 h	24 h	14.5 h	7.5h
Παροχή τροφοδοσίας (mL/d)	200 ± 15	364 ± 35	395 ± 35	444 ± 20	505 ± 40	808 ± 35	1600 ± 45
Ημερήσια οργανική φόρτιση (g COD/d)	3.7 ± 0.2	7.1 ± 0.4	8.6 ± 0.5	9.4 ± 0.5	10.3 ± 0.6	15.3 ± 1.1	32.2 ± 1.3
Μείωση οργανικού φορτίου (%)	5.8 ± 0.9	2.7 ± 0.6	1.3 ± 1.1	2.2 ± 0.4	1.3 ± 0.6	3.2 ± 0.3	2.9 ± 0.4
Ημερήσια φόρτιση διαλυτών υδατανθράκων (g/d)	0.8 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.9 ± 0.2	2.7 ± 0.1	9.9 ± 0.3
Μείωση διαλυτών υδατανθράκων (%)	86.3 ± 1.4	83.2 ± 2.3	82.6 ± 2.6	75.6 ± 3.3	76.2 ± 2.4	67.7 ± 2.7	44.3 ± 1.8
pH	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.7 ± 0.1	5 ± 0.1	4.9 ± 0.1
VSS (g/L)	16.5 ± 1.2	17.7 ± 1.3	17.5 ± 1.1	17.9 ± 0.7	18.7 ± 0.9	18.1 ± 0.9	18.9 ± 0.8

± : διακύμανση λειτουργικών χαρακτηριστικών από ημέρα σε ημέρα

Πίνακας 9.4. Τα μεταβολικά προϊόντα κατά την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου σε αντιδραστήρα τύπου CSTR.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)						
	60 h	33 h	30 h	27 h	24 h	14.5 h	7.5h
Οξικό οξύ (g COD/L)	1.37 ± 0.21	1.58 ± 0.05	1.69 ± 0.16	1.85 ± 0.22	1.39 ± 0.14	1.40 ± 0.07	0.90 ± 0.06
Προπιονικό οξύ (g COD/L)	0.63 ± 0.11	1.98 ± 0.03	2.03 ± 0.11	1.91 ± 0.17	1.28 ± 0.12	0.77 ± 0.09	0.51 ± 0.02
Βουτυρικό οξύ (g COD/L)	1.32 ± 0.15	2.41 ± 0.14	2.24 ± 0.19	2.08 ± 0.10	2.18 ± 0.27	1.77 ± 0.14	0.85 ± 0.14
Ισοβουτυρικό οξύ (g COD/L)	0.37 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.53 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.45 ± 0.04	0.46 ± 0.02	0.34 ± 0.02
Ισοβαλερικό οξύ (g COD/L)	0.05 ± 0.001	0.06 ± 0.003	0.06 ± 0.001	0.05 ± 0.004	0.05 ± 0.002	0.05 ± 0.006	0.05 ± 0.004
Βαλερικό οξύ (g COD/L)	0.08 ± 0.015	0.19 ± 0.004	0.169 ± 0.011	0.165 ± 0.017	0.131 ± 0.044	0.116 ± 0.011	0.091 ± 0.007
Αιθανόλη (g COD/L)	0.61 ± 0.03	1.01 ± 0.09	1.20 ± 0.07	1.23 ± 0.119	1.06 ± 0.14	0.72 ± 0.06	0.79 ± 0.08
Οξύνιση (%)	22.7 ± 2.8	34.8 ± 1.2	31.9 ± 2.4	32.1 ± 0.4	27.1 ± 3.4	24.7 ± 1.1	14.5 ± 1.6

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Πίνακας 9.5. Παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα τύπου CSTR σε μόνιμη κατάσταση.

	Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)						
	60 h	33 h	30 h	27 h	24 h	14.5 h	7.5h
Ρυθμός παραγωγής βιοαερίου (mL/d)	108.8 ± 4.8	336.7 ± 23.9	357.8 ± 4.5	470.1 ± 25.1	579.9 ± 63.6	530.5 ± 39.1	633.6 ± 81.6
Υδρογόνο (%)	23.8 ± 4.1	18.9 ± 1.5	15.6 ± 1.3	15.8 ± 2.2	28.2 ± 2.2	34.8 ± 3.4	30.2 ± 3.7
Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL/d)	26.4 ± 2.2	67.5 ± 4.3	56.2 ± 4.4	70.2 ± 4.1	165.1 ± 15.4	186.5 ± 11.2	201.6 ± 26.6
Απόδοση σε υδρογόνο (mL/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν)	73.6 ± 5.3	67.4 ± 5.2	48.1 ± 3.5	60.7 ± 3.3	113.5 ± 6.9	196.2 ± 11.3	64.3 ± 3.6
Απόδοση σε υδρογόνο (mL/L αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4))	132.1 ± 11.1	185.4 ± 10.5	140.5 ± 9.2	158.1 ± 9.4	330.2 ± 29.4	233.1 ± 12.4	126.2 ± 10.3

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Όπως φαίνεται στον πίνακα 9.3, η ημερήσια φόρτιση σε διαλυτούς υδατάνθρακες για HRT 33 h, 30 h και 27 h είναι σχεδόν σταθερή και κατά μέσο όρο ίση με 2.3 ± 0.2 g/d, με το ποσοστό κατανάλωσης των διαλυτών υδατανθράκων να κυμαίνεται στα ίδια περίπου επίπεδα. Η απόδοση σε υδρογόνο είναι σχεδόν σταθερή και κατά μέσο όρο ίση με 58.7 ± 9.8 mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν, υποδηλώνοντας έμμεσα ότι, ο μεταβολισμός του υποστρώματος πιθανότατα δε μεταβάλλεται σημαντικά σε HRT από 33 h έως 27 h [Kim *et al.*, 2005]. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται και πειραματικά, αφού όπως φαίνεται από το σχήμα 9.1 και τον πίνακα 9.4, η κατανομή του οξικού οξέος, του προπιονικού οξέος και του βουτυρικού οξέος δεν αλλάζει σημαντικά με τη μείωση του HRT από 33 h σε 27 h. Στη συνέχεια, η μείωση του HRT σε 24 h είχε ως αποτέλεσμα το διπλασιασμό της απόδοσης της αναερόβιας διεργασίας σε υδρογόνο (113.5 ± 6.9 mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν), παρά το γεγονός ότι η ημερήσια φόρτιση σε διαλυτούς υδατάνθρακες και το ποσοστό απομάκρυνσης τους παρέμειναν σχεδόν σταθερά και ανεξάρτητα από τη μεταβολή του HRT. Η τελευταία παρατήρηση ενισχύεται και από το γεγονός ότι διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση του βουτυρικού οξέος που ευνοεί την παραγωγή υδρογόνου, ενώ η συγκέντρωση του οξικού οξέος και του προπιονικού οξέος παρέμεινε στα ίδια περίπου επίπεδα (Σχήμα 9.1, Πίνακας 9.4). Η περαιτέρω μείωση του HRT σε 14.5 h επέφερε περίπου τον διπλασιασμό της απόδοσης σε υδρογόνο (196.2 ± 11.3 mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν), ενώ το ποσοστό απομάκρυνσης των διαλυτών υδατανθράκων μειώθηκε και η ημερήσια φόρτιση σε διαλυτούς υδατάνθρακες παρέμεινε σχεδόν σταθερή. Η παρατήρηση αυτή φανερώνει ότι, μέρος των ηλεκτρονίων που απελευθερώνονται κατά το μεταβολισμό του υποστρώματος για HRT 24 h, πιθανότατα δε μετατρέπονται σε υδρογόνο αλλά σε άλλα μεταβολικά προϊόντα [Kim *et al.*, 2005]. Επίσης, η μείωση του HRT από 24 h σε 14.5 h είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης του οξικού οξέος και τη μείωση της συγκέντρωσης του προπιονικού οξέος, ευνοώντας την παραγωγή του υδρογόνου (Σχήμα 9.1). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η μείωση της παραγόμενης ποσότητας του προπιονικού οξέος είναι αναμενόμενη λόγω της μείωσης του HRT, καθώς τα βακτήρια παραγωγής προπιονικού οξέος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε μικρούς HRT με κρίσιμη τιμή για την έκπλυσή τους από το σύστημα, την τιμή των 6 h [Hussy *et al.*, 2003; Lin & Chang, 2004; Zhang *et al.*, 2006]. Η μείωση του HRT από 14.5 h σε 7.5 h είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού φόρτισης σε διαλυτούς

υδατάνθρακες και ταυτόχρονα τη μείωση της απόδοσης σε υδρογόνο (από 196.2 ± 11.3 σε 64.3 ± 3.6 mL H_2/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν, αντίστοιχα), παρατήρηση ανάλογη με αυτήν που κατέληξαν οι Van Ginkel και Logan (2005).

Σχήμα 9.1. Κατανομή των κυριότερων πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) που παράγονται από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) στο στάδιο της οξεογένεσης, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR σε μόνιμη κατάσταση.

Σχήμα 9.2. Σύγκριση πειραματικά και θεωρητικά προσδιοριζόμενου COD κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Στο σχήμα 9.2 λαμβάνει χώρα σύγκριση μεταξύ του πειραματικά και του θεωρητικά προσδιοριζόμενου διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD) του επεξεργασμένου αποβλήτου. Πιο συγκεκριμένα, το θεωρητικά προσδιοριζόμενο COD προκύπτει από το άθροισμα όλων των μεταβολικών προϊόντων που ποσοτικοποιήθηκαν (πτητικά λιπαρά οξέα και αιθανόλη) καθώς και από τη συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων που δεν καταναλώθηκαν (υπολειμματική συγκέντρωση), εκφρασμένη σε ισοδύναμη συγκέντρωση γλυκόζης. Όπως φαίνεται στο σχήμα, το θεωρητικά προσδιοριζόμενο COD αντιστοιχεί περίπου στο 60% του πειραματικά προσδιοριζόμενου, όπως παρατηρήθηκε και κατά την αναερόβια ζύμωση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου. Η απόκλιση αυτή σίγουρα είναι μικρότερη καθώς δεν έχει ληφθεί υπόψη η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, η παραγωγή του οποίου είναι δυνατή, όπως έχει δείχθει κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4). Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 7 (παράγραφος 7.3), η παρατηρούμενη απόκλιση από το 100%, πιθανότατα αντιστοιχεί σε μεταβολικά προϊόντα που δεν προσδιορίστηκαν (π.χ. ακετόνη, προπανόλη, μεθανόλη, γαλακτικό οξύ κ.ά.), σε διαλυτές οργανικές ενώσεις που δεν μεταβολίστηκαν από τους μικροοργανισμούς της μικτής αναερόβιας καλλιέργειας παραγωγής υδρογόνου (όπως λίπη, φαινολικές ενώσεις κ.ά.) καθώς επίσης και στην ποσότητα του οργανικού άνθρακα που καταναλώθηκε για την ανάπτυξη της βιομάζας [Rittmann & McCarty, 2001; Yu *et al.*, 2004; Van Ginkel & Logan, 2005; Lo *et al.*, 2007], ο προσδιορισμός της οποίας καθίσταται δύσκολος, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης των πτητικών αιωρούμενων στερεών της τροφοδοσίας.

Παρά το γεγονός ότι, ένα σχετικά μικρό ποσοστό των ολικών υδατανθράκων του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) είναι αδιάλυτοι υδατάνθρακες (10-12%), για λόγους περαιτέρω αύξησης της απόδοσης της διεργασίας σε υδρογόνο, μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης κυτταρινολυτικών ενζύμων. Για το σκοπό αυτό, πειράματα διαλείποντος έργου πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις βέλτιστες συνθήκες που προέκυψαν κατά την ενζυμική επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (Κεφάλαιο 8). Οι συνθήκες αυτές αφορούν στην προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L συγκέντρωσης 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, σε αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (S/X) ίση με 1 και σε διεργασία ενός σταδίου. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, η εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4), όταν λειτουργούσε σε

μόνιμη κατάσταση για HRT=60 h χρησιμοποιήθηκε ως μαγιά μικροοργανισμών (μικτή καλλιέργεια) και αποστειρωμένο απόβλητο OMW (1:4) (κορεσμένος ατμός, 1 bar, 121°C για 20 min) ως υπόστρωμα. Τα πειράματα διαλείποντος έργου διεξήχθησαν σε τρεις επαναλήψεις, σε κατάλληλους αντιδραστήρες (serum vials) συνολικού όγκου 160 mL, υπό αναερόβιες συνθήκες στους 35°C. Ειδικότερα, τα πειράματα περιελάμβαναν την προσθήκη: (α) 30 mL μικτής καλλιέργειας μικροοργανισμών και 30 mL υποστρώματος χωρίς την προσθήκη ενζύμου και (β) 30 mL μικτής καλλιέργειας μικροοργανισμών και 30 mL υποστρώματος με την προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L συγκέντρωσης 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν, η απόδοση της διεργασίας ενός σταδίου σε υδρογόνο από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) είναι περίπου ίδια είτε λάβει χώρα προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L είτε όχι, γεγονός που είναι αναμενόμενο, αφού όπως προαναφέρθηκε η συγκέντρωση των αδιάλυτων υδατανθράκων του υποστρώματος είναι σχετικά μικρή (Πίνακας 9.6). Συνεπώς, δεν θεωρήθηκε απαραίτητο να μελετηθεί περαιτέρω η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) με στόχο τη βελτιστοποίηση της απόδοσης της διεργασίας σε υδρογόνο.

Πίνακας 9.6. Διεργασία ενός σταδίου (50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος, S/X=1): Επίδραση της προσθήκης ενζύμου στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

	απόδοση σε υδρογόνο (mL H₂/g αρχικών ολικών υδατανθράκων)
χωρίς προσθήκη ενζύμου	70.63 ± 0.94
με προσθήκη ενζύμου	73.60 ± 1.22

9.4. Περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων με εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, το μαθηματικό μοντέλο περί αναερόβιας χώνευσης ADM1 τροποποιήθηκε κατάλληλα, ώστε να καταστεί δυνατή η περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου (Κεφάλαιο 7). Επιπρόσθετα, θεωρήθηκε σκόπιμο να εξεταστεί η αξιοπιστία και η προσαρμοστικότητα του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 στην περιγραφή της

αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από σύνθετα οργανικά απόβλητα, όπως είναι τα απόβλητα των ελαιοτριβείων. Για το σκοπό αυτό, το τροποποιημένο μοντέλο ADM1 και όλες οι παράμετροι που προσδιορίστηκαν κατά την προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) (θεωρώντας κοινή κατανομή προϊόντων από τη βιοαποδόμηση των σακχάρων) χρησιμοποιήθηκαν και στην περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW) και ειδικότερα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, από τα αραιωμένα απόβλητα OMW (1:4).

Οι σημαντικότερες τροποποιήσεις που πραγματοποιήθηκαν στη δομή του μοντέλου ADM1 και περιγράφονται αναλυτικά στα κεφάλαια 5 και 7 είναι οι ακόλουθες: (α) ο περιορισμός της δράσης των μεθανογόνων και οξικογόνων μικροοργανισμών, (β) η εισαγωγή της παραγωγής του γαλακτικού οξέος και της αιθανόλης ως μεταβολικών προϊόντων από τη ζύμωση των σακχάρων, (γ) η βιοαποδόμηση του γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ και προπιονικό οξύ, (δ) η παράλειψη του συντελεστή που αφορά στον περιορισμό της ανάπτυξης της βιομάζας λόγω έλλειψης ανόργανου αζώτου ($I_{N,lim}$) από τις εκφράσεις των ειδικών ρυθμών κατανάλωσης των σακχάρων, αμινοξέων και γαλακτικού οξέος και (ε) η τροποποίηση του στοιχειομετρικού συντελεστή παραγωγής υδρογόνου από τα σάκχαρα.

Το αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4), που χρησιμοποιήθηκε ως τροφοδοσία για τον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR, θεωρήθηκε ότι αποτελείται από σωματιδιακά συστατικά (όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη), διαλυτά συστατικά (όπως σάκχαρα, αμινοξέα και λιπαρά οξέα μακριάς αλυσίδας, αντίστοιχα) και αδρανή συστατικά (διαλυτά και σωματιδιακά), όπως ακριβώς συνέβη και στην περίπτωση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4). Τα δεδομένα εισόδου του αντιδραστήρα για την εφαρμογή του τροποποιημένου μοντέλου ADM1, θεωρήθηκαν ότι είναι ακριβώς τα ίδια με τα δεδομένα εισόδου που παρατίθενται στον πίνακα 7.9, όταν ο αραιωμένος ελαιοπολτός (1:4) χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου, με μοναδική εξαίρεση, τη συγκέντρωση των υδατανθράκων και των σακχάρων, που αποτελούν το βασικό υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου (Πίνακας 9.7). Η συγκέντρωση του διαλυτού ανόργανου αζώτου στην είσοδο του αντιδραστήρα λήφθηκε ίση με $0.00028 \text{ kmol}\cdot\text{m}^{-3}$ και η συγκέντρωση του φωσφόρου ίση με $0.0057 \text{ kmol}\cdot\text{m}^{-3}$, αφού λήφθηκε υπόψη η προσθήκη $1 \text{ g K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$ αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4). Επίσης, προσδιορίστηκε ο επιπλέον χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών (t_{res}) στον αντιδραστήρα με βάση τις εξισώσεις 7.2

και 7.3, καθώς διαπιστώθηκε ότι, η συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών του ανάμικτου υγρού του αντιδραστήρα ήταν μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση των πτητικών αιωρούμενων στερεών της εκροής του, όπως ακριβώς είχε συμβεί και στην περίπτωση του αραιωμένου ελαιοπολτού (Πίνακας 9.8).

Πίνακας 9.7. Οργανικά συστατικά αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) ως δεδομένα εισόδου για την εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου ADM1.

Οργανικά συστατικά αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4)		
HRT (h)	Υδατάνθρακες	Σάκχαρα
	(σωματιδιακά, kgCOD·m⁻³)	(διαλυτά, kgCOD·m⁻³)
60	0.58	4.15
33	0.86	6.10
30	0.85	6.27
27	0.89	5.83
24	0.95	6.22
14.5	0.58	3.56
7.5	0.7	6.56

Πίνακας 9.8. Ο επιπλέον χρόνος παραμονής των μικροοργανισμών (tres) στον αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

HRT (h)	VSS_{ανάμικτο υγρό αντιδραστήρα} (g/L)	VSS_{εκροής} (g/L)	tres (d)
60	16.5 ± 1.2	16.4 ± 0.7	0.0152
33	17.7 ± 1.3	16.7 ± 0.8	0.0781
30	17.5 ± 1.1	16.2 ± 0.9	0.0971
27	17.9 ± 0.7	16.4 ± 0.6	0.1110
24	18.7 ± 0.9	16.8 ± 0.4	0.1174
14.5	18.1 ± 0.9	15.4 ± 0.7	0.1107
7.5	18.9 ± 0.8	15.4 ± 0.5	0.0709

Στη συνέχεια και προτού παρατεθούν τα αποτελέσματα της προσομοίωσης των πειραματικών αποτελεσμάτων που αφορούν στο αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4), αναφέρονται συνοπτικά οι βέλτιστες τιμές των κρίσιμων παραμέτρων του τροποποιημένου μοντέλου ADM1, όπως λήφθηκαν από το κεφάλαιο 7.

Αρχικά, θεωρήθηκε απαραίτητο να διαπιστωθεί εάν οι βέλτιστες τιμές των κινητικών σταθερών κατανάλωσης των σακχάρων (k_{m_su} και K_{S_su}), που προέκυψαν με προσαρμογή του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 στα πειραματικά δεδομένα της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), μπορούν να προβλέψουν την κατανάλωση των σακχάρων στον αντιδραστήρα παραγωγής

υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4). Οι βέλτιστες τιμές των παραμέτρων k_{m_su} και K_{S_su} είναι ίσες με $53.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ και $0.79 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3}$, αντίστοιχα (Πίνακας 7.10).

Η πρόβλεψη του μοντέλου σχετικά με τα πειραματικά δεδομένα της υπολειμματικής συγκέντρωσης των σακχάρων κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4), φανερώνει ότι, οι βέλτιστες τιμές των παραμέτρων k_{m_su} και K_{S_su} μπορούν να περιγράψουν αρκετά ικανοποιητικά την κατανάλωση των σακχάρων σύνθετων υποστρωμάτων, όπως είναι τα απόβλητα των ελαιοτριβείων, κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου (Σχήμα 9.3).

Σχήμα 9.3. Η πρόβλεψη του μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα της υπολειμματικής συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

Σύμφωνα με το μοντέλο ADM1, η αναερόβια ζύμωση των σακχάρων οδηγεί στην παραγωγή οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και υδρογόνου με στοιχειομετρικούς συντελεστές παραγωγής f_{ac_su} , f_{pro_su} , f_{bu_su} , f_{h2_su} , αντίστοιχα ($\text{kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$), οι οποίοι εκφράζονται ως συναρτήσεις των κλασμάτων βιοαποδόμησης των σακχάρων $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$ (Πίνακες 7.11 και 7.12). Ωστόσο, στο τροποποιημένο μοντέλο που αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία, το κλάσμα $n_{3,su}$ θεωρήθηκε ότι είναι ανεξάρτητο των $n_{1,su}$ και $n_{2,su}$, αφού διαπιστώθηκε πειραματικά η παραγωγή και άλλων μεταβολικών προϊόντων (γαλακτικό οξύ και αιθανόλη) κατά την αναερόβια ζύμωση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) προς υδρογόνο (Πίνακας 7.3). Στη συνέχεια της προσπάθειας με σκοπό την καλύτερη περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από τον

αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) οι στοιχειομετρικοί συντελεστές f_{ac_su} , f_{pro_su} , f_{bu_su} θεωρήθηκαν ανεξάρτητοι των $n_{1,su}$, $n_{2,su}$ και $n_{3,su}$, με βέλτιστες προβλεπόμενες τιμές τις 0.120, 0.134 και 0.340 kgCOD·kgCOD⁻¹ αντίστοιχα, θεωρώντας κοινή κατανομή μεταβολικών προϊόντων (Πίνακας 7.17).

Η εισαγωγή της διεργασίας παραγωγής του γαλακτικού οξέος και της αιθανόλης στη δομή του μοντέλου ADM1 απαίτησε τον προσδιορισμό των στοιχειομετρικών συντελεστών παραγωγής τους από τα σάκχαρα, f_{la_su} και f_{EtOH_su} , αντίστοιχα (παράγραφος 7.5.3). Ωστόσο, όπως έχει ήδη αναφερθεί στην παράγραφο 7.3, η μείωση του HRT πιθανότατα περιορίζει κινητικά την περαιτέρω μετατροπή του γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ ή/και προπιονικό οξύ, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης του και τη συσσώρευσή του. Αυτό φαίνεται και στον πίνακα 7.16, όπου η τιμή του f_{la_su} σε HRT ίσο με 30 h είναι περίπου μηδενική, φανερώνοντας ότι, σε αυτή την περίπτωση το γαλακτικό οξύ που παράγεται, καταναλώνεται με τον ίδιο ρυθμό, χωρίς να παρατηρείται συσσώρευσή του. Έτσι, ο στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής του γαλακτικού οξέος από τα σάκχαρα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), θεωρώντας κοινή κατανομή μεταβολικών προϊόντων σε HRT 14.5h και 7.5h, προσδιορίστηκε ίσος με 0.343 kgCOD·kgCOD⁻¹. Επίσης, ο στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής της αιθανόλης από τα σάκχαρα, θεωρώντας κοινή κατανομή μεταβολικών προϊόντων, προσδιορίστηκε ίσος με 0.130 kgCOD·kgCOD⁻¹ (Πίνακας 7.17).

Στη συνέχεια και θεωρώντας ότι, το γαλακτικό οξύ βιοαποδομείται προς οξικό (f_{ac_la}) και προπιονικό οξύ (f_{pro_la}) με στοιχειομετρικούς συντελεστές παραγωγής 0.222 kgCOD·kgCOD⁻¹ και 0.778 kgCOD·kgCOD⁻¹ αντίστοιχα, προέκυψε με προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα ότι, η κινητική σταθερά κατανάλωσης του γαλακτικού οξέος ισούται με 7.64 kgCOD·kgCOD⁻¹·d⁻¹. Τέλος, για την καλύτερη περιγραφή του ρυθμού παραγωγής του υδρογόνου από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4), ο στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής του υδρογόνου από τα σάκχαρα δίνεται από τη σχέση:

$$f_{h2\_su} = 2 \cdot f_{bu\_su} \cdot \left(\frac{16}{160} \right) \quad (\text{εξ. 7.11})$$

Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και η προσαρμογή του στα πειραματικά δεδομένα, που προέκυψαν κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4), χρησιμοποιώντας τις τιμές των παραμέτρων που προαναφέρθηκαν, φαίνεται στα σχήματα που ακολουθούν.

Σχήμα 9.4. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής οξικού οξέος, προπιονικού οξέος, βουτυρικού οξέος και αιθανόλης, θεωρώντας κοινή κατανομή προϊόντων, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

Η προσαρμογή του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα παραγωγής του οξικού, προπιονικού, βουτυρικού οξέος και της αιθανόλης εμφανίζει αποκλίσεις, οι οποίες θα μπορούσαν να αμβλυνθούν, εάν οι στοιχειομετρικοί συντελεστές παραγωγής των προϊόντων από τα σάκχαρα προσδιορίζονταν ξεχωριστά, σε κάθε HRT μόνιμης λειτουργίας του αντιδραστήρα (Σχήμα 9.4). Ωστόσο, ο επαναπροσδιορισμός των παραμέτρων δεν θεωρήθηκε απαραίτητος, αφού στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η τροποποίηση του μοντέλου ADM1, ώστε να περιγράφει όσο το δυνατόν πιο απλά και ικανοποιητικά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από σύνθετα οργανικά υποστρώματα, όπως τα απόβλητα των ελαιοτριβείων.

Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και η προσαρμογή του στα πειραματικά δεδομένα παραγωγής του υδρογόνου από το αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) φαίνεται στο σχήμα 9.5. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 7, οι διαφορές που παρατηρούνται μπορούν να μειωθούν εάν στη δομή του μοντέλου ADM1 εισαχθεί, είτε μια διεργασία κατανάλωσης υδρογόνου, είτε ένας μηχανισμός που θα ελέγχει την παραγωγή όλων των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 για το pH του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου τύπου CSTR από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) αν και υποεκτιμημένη μπορεί να χαρακτηριστεί ως ικανοποιητική (Σχήμα 9.6).

Σχήμα 9.5. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και τα πειραματικά δεδομένα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) θεωρώντας κοινή κατανομή μεταβολικών προϊόντων από τη ζύμωση των σακχάρων.

Σχήμα 9.6. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 για το pH και τα πειραματικά δεδομένα, κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε μόνιμη κατάσταση.

Τέλος, λόγω έλλειψης πειραματικών δεδομένων για τη συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, έλαβε χώρα η πρόβλεψη του μοντέλου, θεωρώντας ότι σε HRT 60 h, 33 h, 27 h και 24 h ο στοιχειομετρικός συντελεστής παραγωγής γαλακτικού οξέος από τα σάκχαρα (f_{la_su}) είναι ίσος με $0.0067 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$, ενώ για HRT 14.5 h και 7.5 h θεωρήθηκε ίσος με $0.343 \text{ kgCOD} \cdot \text{kgCOD}^{-1}$ (Πίνακας 7.16, παράγραφος 9.4).

Σχήμα 9.7. Η πρόβλεψη του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, κατά την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

9.5. Σύγκριση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από απόβλητα διφασικών και τριφασικών ελαιοτριβείων

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής μελετήθηκε η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου από απόβλητα διφασικών και τριφασικών ελαιοτριβείων μέσω της αναερόβιας χώνευσης. Συνεχή πειράματα σε αντιδραστήρα τύπου CSTR κατέδειξαν ότι, η αξιοποίηση των αποβλήτων των ελαιοτριβείων για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου είναι πλέον δυνατή. Όπως, έχει ήδη αναφερθεί τόσο το ημιστερεό υπόλειμμα των διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός) όσο και τα υγρά απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων αραιώθηκαν με νερό βρύσης, μια τακτική που έχει ευρύτερα εφαρμοστεί για τη βιολογική επεξεργασία των συγκεκριμένων αποβλήτων [Boari *et al.*, 1984; Borja *et al.*, 2002; Eroglu *et al.*, 2003; Gelegenis *et al.*, 2007].

Στον πίνακα που ακολουθεί γίνεται μια σύγκριση μεταξύ της συνεχούς αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από τον αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) και το αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε αντιδραστήρα τύπου CSTR. Η σύγκριση υλοποιήθηκε για τους υδραυλικούς χρόνους παραμονής που είναι κοινοί και για τα δυο υποστρώματα, δηλαδή 30 h, 14.5 h και 7.5 h.

Η επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) σε HRT 30 h αποδείχθηκε αποδοτικότερη συγκριτικά με την επεξεργασία του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4), βάσει της παραγωγής υδρογόνου εκφρασμένης ως mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν. Στην περίπτωση λειτουργίας του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση για HRT 14.5 h τα αποτελέσματα εναλλάσσονται, ενώ η επεξεργασία τόσο του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) όσο και του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) σε HRT 7.5 h οδήγησε σε συγκρίσιμα αποτελέσματα.

Η ανάπτυξη ενός δευτέρου σταδίου επεξεργασίας που θα ακολουθεί την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου είναι απαραίτητη, όχι μόνο για την ανάκτηση επιπλέον ενέργειας αλλά και για την προστασία του περιβάλλοντος, εξαιτίας του υψηλού ρυπαντικού φορτίου της εκροής του αντιδραστήρα. Συνεπώς, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το ποσοστό μετατροπής του διαλυτού οργανικού φορτίου προς πτητικά λιπαρά οξέα (% οξύνισης), καθώς αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για την παραγωγή τόσο βιοκαυσίμων (π.χ. μεθάνιο, υδρογόνο κ.ά.) όσο και άλλων χρήσιμων προϊόντων (π.χ. βιοπολυμερή κ.ά.) (Κεφάλαιο 3). Από τον πίνακα 9.9 φαίνεται ότι, το ποσοστό μετατροπής είναι το ίδιο είτε κατά την αναερόβια παραγωγή

υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) είτε από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε κάθε υδραυλικό χρόνο παραμονής που λειτούργησε ο αντιδραστήρας σε μόνιμη κατάσταση (30 h, 14.5 h, 7.5 h).

Ο ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL/d) μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής του αντιδραστήρα κατά την αναερόβια επεξεργασία είτε αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) είτε αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4). Η απόδοση σε υδρογόνο (mL/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν) από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) μειώνεται με μείωση του HRT, ενώ αντίθετα μεγιστοποιείται για HRT 14.5 h όταν ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

Η αναερόβια επεξεργασία των αποβλήτων ελαιοτριβείων με στόχο την παραγωγή υδρογόνου σε έναν αντιδραστήρα τύπου CSTR μπορεί να λάβει χώρα με επιτυχία μέχρι ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του αντιδραστήρα να καταστεί ίσος με 7.5 h, καθώς ήδη ένα μεγάλο ποσοστό των διαλυτών υδατανθράκων του υποστρώματος παραμένει ανεκμετάλλευτο, ενώ περαιτέρω μείωση του υδραυλικού χρόνου παραμονής πιθανότατα να οδηγήσει το σύστημα σε αστάθεια και δυσλειτουργία.

Πίνακας 9.9. Σύγκριση της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) και αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε αντιδραστήρα τύπου CSTR.

		Υδραυλικός χρόνος παραμονής (h)		
		30	14.5	7.5
Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου (mL H ₂ /d)	OP (1:4)	130±0.4	196±24	231±22
	OMW (1:4)	56.2±4.4	186.5±11.2	201.6±26.6
Απόδοση σε υδρογόνο (mL H ₂ /g διαλυτών υδατ.κων που καταναλώθηκαν)	OP (1:4)	100.5±7.2	75.3±14.4	62.8±9.6
	OMW (1:4)	48.1±3.5	196.2±11.3	64.3±3.6
Οξύνιση (%)	OP (1:4)	30±1.2	22±0.9	9.8±1.4
	OMW (1:4)	31.9±2.4	24.7±1.1	14.5±1.6
Μείωση διαλυτών υδατανθράκων (%)	OP (1:4)	90.1±1.1	65.2±1.8	33.4±2.1
	OMW (1:4)	82.6±2.6	67.7±2.7	44.3±1.8

OP: ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων ή αλλιώς ελαιοπολτός

OMW: υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων

± : διακύμανση από ημέρα σε ημέρα

Κεφάλαιο

10. Συμπεράσματα

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, έλαβε χώρα η βιοτεχνολογική επεξεργασία των αποβλήτων ελαιοτριβείων με στόχο την ενεργειακή αξιοποίησή τους. Ειδικότερα, μελετήθηκε η δυνατότητα παραγωγής υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων (ελαιοπολτός ή olive pulp) και από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW) με χρήση μικτής αναερόβιας καλλιέργειας μικροοργανισμών. Πρέπει να σημειωθεί ότι, ο ελαιοπολτός και τα υγρά απόβλητα OMW, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα για την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, αραιώθηκαν με νερό βρύσης σε αναλογία όγκων 1 προς 4 (απόβλητο προς νερό, αντίστοιχα) ενώ κρίθηκε απαραίτητη η προσθήκη μόνο K_2HPO_4 ως πηγή φωσφόρου (1 g/L αραιωμένου αποβλήτου).

Βάσει πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου και σε αντιδραστήρες τύπου CSTR (περιοδική τροφοδοσία και ανάδευση) καταδείχθηκε ότι, η μεσόφιλη παραγωγή υδρογόνου μέσω της αναερόβιας επεξεργασίας των αποβλήτων ελαιοτριβείων είναι εφικτή. Η διαπίστωση αυτή αποτελεί ένα βήμα καθοριστικής σημασίας στην προσπάθεια βιοτεχνολογικής αξιοποίησης των αποβλήτων των ελαιοτριβείων, με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, καθώς σύμφωνα με τις μέχρι τώρα δημοσιευμένες εργασίες έχει μελετηθεί μόνο η φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων και η θερμόφιλη αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από το ημι-στερεό υπόλειμμα διφασικών ελαιοτριβείων [Eroglu *et al.*, 2004; Gavala *et al.*, 2005].

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, η συνεχής μεσόφιλη αναερόβια επεξεργασία τόσο του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) όσο και του αραιωμένου αποβλήτου OMW (1:4) με στόχο την παραγωγή υδρογόνου σε έναν αντιδραστήρα

τύπου CSTR, μπορεί να λάβει χώρα με επιτυχία μέχρι $HRT=7.5$ h, ενώ περαιτέρω μείωση του HRT πιθανότατα να οδηγήσει το σύστημα σε αστάθεια και δυσλειτουργία. Επίσης, πειράματα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) που διεξήχθησαν στον αντιδραστήρα τύπου CSTR κατέδειξαν ότι, η λειτουργία σε συνθήκες περιοδικής τροφοδοσίας και ανάδευσης δεν φαίνεται να επηρεάζει την απόδοση της βιολογικής διεργασίας σε παραγόμενο υδρογόνο.

Η αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε αντιδραστήρα τύπου CSTR μελετήθηκε σε HRT 30 h, 14.5 h και 7.5 h καταδεικνύοντας ότι, (α) η απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο μειώθηκε με μείωση του HRT (από 100.5 ± 7.2 σε 62.8 ± 9.6 mL/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν), ενώ αντίθετα παρατηρήθηκε αύξηση στο ρυθμό παραγωγής υδρογόνου (από 130 ± 0.4 σε 231 ± 22 mL/d) και (β) το ποσοστό μετατροπής του διαλυτού οργανικού φορτίου προς πτητικά λιπαρά οξέα μειώθηκε με μείωση του HRT (από 30 ± 1.2 σε 9.8 ± 1.4 %).

Η απόδοση της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) στον αντιδραστήρα τύπου CSTR προσδιορίστηκε αρκετά μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των $4 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ γλυκόζης που καταναλώνεται (κυμάνθηκε από 0.81 έως $0.50 \text{ mol H}_2/\text{mol}$ γλυκόζης που καταναλώθηκαν). Πειράματα διαλείποντος έργου κατέδειξαν ότι, η παρατηρούμενη μειωμένη απόδοση της διεργασίας, πιθανότατα να οφείλεται στην αυξημένη τελική μερική πίεση του υδρογόνου στην αέρια φάση του αντιδραστήρα και στη μη μηδενική αρχική μερική πίεση του υδρογόνου σε κάθε κύκλο τροφοδοσίας-λειτουργίας.

Βελτιωτικές παρεμβάσεις στα λειτουργικά χαρακτηριστικά του αντιδραστήρα τύπου CSTR με σκοπό την αύξηση της απόδοσης της διεργασίας σε υδρογόνο αποτελούν (α) η απαέρωση με αδρανές αέριο (π.χ. N_2) πριν από κάθε κύκλο τροφοδοσίας, ώστε η αρχική μερική πίεση του υδρογόνου να μηδενιστεί και (β) η συνεχής απομάκρυνση του παραγόμενου υδρογόνου από την αέρια φάση του αντιδραστήρα με συνεχή απαέρωση, μειώνοντας διαρκώς την τελική μερική πίεση του υδρογόνου. Ωστόσο, το μειονέκτημα της απαέρωσης με αδρανές αέριο είναι ότι, η συγκέντρωση του υδρογόνου στο αέριο μίγμα μειώνεται λόγω αραιώσης, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά το κόστος ανάκτησης του, το οποίο είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί, καθώς οι σύγχρονες κυψελίδες καυσίμου απαιτούν υδρογόνο υψηλής καθαρότητας (>99%).

Η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) σε αντιδραστήρα τύπου CSTR μελετήθηκε σε HRT 60 h, 33 h, 30 h, 27 h, 24 h, 14.5 h και 7.5 h καταδεικνύοντας ότι, (α) η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας σε υδρογόνο μεγιστοποιήθηκε σε $HRT=14.5\text{ h}$ ($196.2 \pm 11.3\text{ mL/g}$ διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν), ενώ παρατηρήθηκε αύξηση στο ρυθμό παραγωγής υδρογόνου με μείωση του HRT (από 26.4 ± 2.2 σε $201.6 \pm 26.6\text{ mL/d}$) και (β) το ποσοστό μετατροπής του διαλυτού οργανικού φορτίου προς πτητικά λιπαρά οξέα μεγιστοποιήθηκε για μια περιοχή HRT από 33 h έως 27 h.

Η επιλογή του βέλτιστου HRT για τη λειτουργία ενός αντιδραστήρα τύπου CSTR παραγωγής υδρογόνου από απόβλητα ελαιοτριβείων σε πιλοτική κλίμακα, απαιτεί επιπλέον ανάλυση και μελέτη που θα λάμβανε υπόψη τα οικονομικοτεχνικά στοιχεία της διεργασίας. Μια τέτοια μελέτη, που θα έδινε σαφέστερη και πιο αξιόπιστη απάντηση στο παραπάνω ερώτημα, δεν πραγματοποιήθηκε.

Στα πλαίσια αξιοποίησης των πειραματικών αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής το μαθηματικό μοντέλο αναερόβιας χώνευσης ADM1 τροποποιήθηκε κατάλληλα, ώστε να καταστεί δυνατή η περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου. Ωστόσο, θεωρήθηκε σκόπιμο να εξεταστεί η εγκυρότητα του τροποποιημένου μοντέλου ADM1 και η δυνατότητα αξιόπιστης περιγραφής της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από σύνθετα οργανικά απόβλητα, όπως είναι τα απόβλητα των ελαιοτριβείων. Για το σκοπό αυτό, το τροποποιημένο μοντέλο ADM1 και όλες παράμετροι που προσδιορίστηκαν κατά την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από τα υγρά απόβλητα των τριφασικών ελαιοτριβείων (OMW) και ειδικότερα, από τα αραιωμένα απόβλητα OMW (1:4).

Σε γενικές γραμμές η πρόβλεψη του μοντέλου για την κατανάλωση των σακχάρων και την παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων ήταν ικανοποιητική, αφού αποτελεί μια πρώτη προσπάθεια στο δύσκολο εγχείρημα της περιγραφής της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου από ένα μοντέλο που έχει αναπτυχθεί και τελειοποιηθεί για την περιγραφή της παραγωγής του μεθανίου. Ωστόσο, οι αποκλίσεις που παρατηρούνται μεταξύ της πρόβλεψης του μοντέλου και των πειραματικών δεδομένων παραγωγής υδρογόνου υποδηλώνουν ότι, απαιτούνται περαιτέρω βελτιώσεις στη δομή του μοντέλου.

Μια σημαντική βελτιωτική κίνηση στην παραπάνω κατεύθυνση θα ήταν, η εισαγωγή (α) μιας βιολογικής διεργασίας κατανάλωσης υδρογόνου, η οποία απαιτεί

τη γνώση των κινητικών σταθερών κατανάλωσης του υδρογόνου και ανάπτυξης των μικροοργανισμών και (β) ενός μηχανισμού που θα ελέγχει την παραγωγή όλων των μεταβολικών προϊόντων από τα σάκχαρα, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν (π.χ. μερική πίεση υδρογόνου). Δυστυχώς, αυτό είναι αρκετά δύσκολο να επιτευχθεί λόγω της ελάχιστης πληροφορίας που υπάρχει σχετικά με τη συσχέτιση των λειτουργικών συνθηκών με την παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων και της δυσκολίας του πειραματικού προσδιορισμού των κινητικών παραμέτρων.

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν και εφαρμόστηκαν μέθοδοι προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) (φυσικοχημικές μέθοδοι και ενζυμική υδρόλυση) με κύριο στόχο την αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων του, ενώ στις περιπτώσεις που αυτό επιτεύχθηκε, διερευνήθηκε η επίδραση τους στην απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο. Η προσπάθεια αυτή βασίστηκε στο κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) σύμφωνα με το οποίο, η εκατοστιαία κατά βάρος περιεκτικότητα του σε διαλυτούς υδατάνθρακες (σάκχαρα) αντιστοιχεί μόλις στο 50% της περιεκτικότητας του σε ολικούς υδατάνθρακες. Σύμφωνα με πειράματα διαλείποντος έργου που πραγματοποιήθηκαν, φάνηκε ότι, οι αδιάλυτοι υδατάνθρακες συνεισέφεραν ελάχιστα στην αναερόβια παραγωγή υδρογόνου, καταδεικνύοντας την περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητα τους.

Οι φυσικοχημικές μέθοδοι που εφαρμόστηκαν για την προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) με στόχο τη σακχαροποίησή του, ήταν οι ακόλουθες: (α) η προσθήκη αλκαλικού μέσου (πυκνό διάλυμα NaOH, 4M) με ταυτόχρονη θέρμανσή του μίγματος είτε στους 35°C για χρονικό διάστημα 24 h (ήπια θέρμανση) είτε στους 105°C για χρονικό διάστημα 48 h (οξεία θέρμανση), (β) ο οξονισμός του αποβλήτου για 30 min, 60 min και 120 min με αέριο όζον συγκέντρωσης 15 g O₃/m³ και (γ) η κατεργασία του αποβλήτου με ατμό πίεσης 1 bar και θερμοκρασίας 121°C για χρονικά διαστήματα 30 min, 60 min και 120 min.

Συγκρίνοντας τις τρεις μεθόδους που εφαρμόστηκαν για τη φυσικοχημική προεπεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), η επεξεργασία με ατμό (1 bar, 121°C) για 60 min επιλέχθηκε ως βέλτιστη μέθοδος, καθώς οδήγησε στο μεγαλύτερο ποσοστό αύξησης διαλυτών υδατανθράκων (περίπου 26% επί της αρχικής τους συγκέντρωσης), με το μικρότερο δυνατό οικονομικό κόστος. Πειράματα διαλείποντος έργου κατέδειξαν ότι, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από προεπεξεργασμένο με ατμό αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) αυξήθηκε κατά ένα

ποσοστό περίπου 45% (εκφρασμένη ως mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν).

Εκτός από τις φυσικοχημικές μεθόδους προεπεξεργασίας του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), μελετήθηκε και η ενζυμική υδρόλυση του, χρησιμοποιώντας τα εμπορικά διαλύματα ενζύμων Celluclast 1.5L (διάλυμα ενδο-β-γλυκανάσης) και Novozyme 188 (διάλυμα β-γλυκοσιδάσης).

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, η ενζυμική υδρόλυση του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) καθίσταται δυνατή με χρήση είτε μίγματος Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, είτε μόνο Celluclast 1.5L. Ειδικότερα, όταν χρησιμοποιήθηκε μίγμα ενζύμων Celluclast 1.5L και Novozyme 188 σε αναλογία όγκων 3/1 αντίστοιχα, η μέγιστη αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων (περίπου 35% επί της αρχικής τους συγκέντρωσης) παρατηρήθηκε σε συγκέντρωση ενζύμου μεγαλύτερη ή ίση με 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων, ενώ όταν χρησιμοποιήθηκε μόνο Celluclast 1.5L η μέγιστη αύξηση των διαλυτών υδατανθράκων (25-30% επί της αρχικής τους συγκέντρωσης) παρατηρήθηκε για συγκέντρωση μεγαλύτερη ή ίση με 25 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων.

Πειράματα διαλείποντος έργου κατέδειξαν ότι, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) καθίσταται βέλτιστη με την προσθήκη μόνο Celluclast 1.5L σε συγκέντρωση ενζύμου 50 FPU Celluclast 1.5L/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος και σε αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών (S/X) ίση με 1 σε διεργασία ενός σταδίου. Στην περίπτωση αυτή, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου αυξήθηκε περίπου κατά 60% (εκφρασμένη ως mL H₂/g διαλυτών υδατανθράκων που καταναλώθηκαν).

Επίσης, η παραγωγή υδρογόνου από την εκροή του αντιδραστήρα τύπου CSTR, που περιέχει τόσο αδιάλυτους υδατάνθρακες όσο και αναερόβιους μικροοργανισμούς παραγωγής υδρογόνου, καθίσταται εφικτή με την προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L σε διεργασία ενός σταδίου. Η απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο αυξάνει (περίπου 100%) με αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου Celluclast 1.5L μέχρι 75 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων εκροής.

Ακολούθως, μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης του ενζύμου Celluclast 1.5L στον αντιδραστήρα τύπου CSTR στην απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο ελαιοπολτό (1:4) σε HRT=30 h και 14.5 h, αφού σε 7.5 h

η αναερόβια διεργασία παραγωγής υδρογόνου φάνηκε να περιορίζεται κινητικά από το υπόστρωμα.

Η τροφοδοσία του αντιδραστήρα τύπου CSTR ήταν περιοδική με την αναλογία όγκων υποστρώματος/μαγιάς μικροοργανισμών στην αρχή του κάθε κύκλου τροφοδοσίας περίπου ίση με 1. Η ποσότητα του ενζύμου Celluclast, που προστέθηκε κάθε φορά που λάμβανε χώρα η τροφοδοσία του αντιδραστήρα, υπολογίστηκε με βάση τη μάζα των αδιάλυτων υδατανθράκων του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4), έτσι ώστε για κάθε κύκλο τροφοδοσίας να επιτευχθεί συγκέντρωση ενζύμου Celluclast 1.5L ίση με 50 FPU/g αδιάλυτων υδατανθράκων υποστρώματος (διεργασία ενός σταδίου). Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τα πειράματα διαλείποντος έργου, η προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L δεν βελτίωσε σημαντικά την απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου στον αντιδραστήρα τύπου CSTR. Τα αποτελέσματα πιθανότατα να ήταν διαφορετικά αν ο υδραυλικός χρόνος παραμονής του αντιδραστήρα τύπου CSTR ήταν αρκετά μεγαλύτερος από 30 h, αφού σύμφωνα με σχετικό πείραμα διαλείποντος έργου, η παραγωγή του υδρογόνου μεγιστοποιήθηκε μετά από περίπου 60 h. Επίσης, μερικές παρεμβάσεις που πιθανότατα να είχαν θετικά αποτελέσματα, θα ήταν η απαέρωση του αντιδραστήρα με αδρανές αέριο (π.χ. N₂), είτε πριν από κάθε τροφοδοσία είτε συνεχώς, καθώς και η μη προσθήκη ενζύμων σε κάποιους λειτουργικούς κύκλους, ώστε να αποφευχθεί ο περιορισμός ανάπτυξης της βιομάζας λόγω αύξησης της ποσότητας των ενζύμων ανά όγκο μαγιάς μικροοργανισμών (πριν από κάθε κύκλο τροφοδοσίας).

Η απόδοση σε υδρογόνο από την αναερόβια επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) θα μπορούσε να αυξηθεί εάν μετά τον αντιδραστήρα τύπου CSTR (χωρίς την προσθήκη ενζύμου) ακολουθούσαν σε σειρά αντιδραστήρες διαλείποντος έργου, στους οποίους θα λάμβανε χώρα η παραγωγή υδρογόνου από τους αδιάλυτους υδατάνθρακες της εκροής του αντιδραστήρα τύπου CSTR με την προσθήκη του ενζύμου Celluclast 1.5L. Επίσης, η επεξεργασία του αραιωμένου ελαιοπολτού (1:4) σε έναν αντιδραστήρα διαλείποντος έργου με προσθήκη ενζύμου Celluclast 1.5L σύμφωνα με τις βέλτιστες συνθήκες, θα μπορούσε να αυξήσει σημαντικά την απόδοση της διεργασίας σε υδρογόνο.

Τέλος, η ανάπτυξη ενός ακόμα σταδίου επεξεργασίας, που έπεται της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου, είναι απαραίτητο για την προστασία του περιβάλλοντος, εξαιτίας του υψηλού ρυπαντικού φορτίου της εκροής του

αντιδραστήρα. Το στάδιο αυτό θα μπορούσε να αφορά στην αξιοποίηση των πτητικών λιπαρών οξέων είτε για την παραγωγή επιπλέον ενέργειας (π.χ. μεθάνιο, υδρογόνο) είτε για την παραγωγή άλλων χρήσιμων προϊόντων (π.χ. βιοπολυμερή).

Βιβλιογραφία

- Ahring B.K., 2003. Perspectives for Anaerobic Digestion. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* 81, 1-27, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Aktas E.S., Imre S., Ersoy L., 2001. Characterization and lime treatment of olive mill wastewater. *Water Research* 35 (9), 2336-2340.
- Albarran A., Celis R., Hermosin M.C., Lopez-Pineiro A., Cornejo J., 2004. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive oil extraction process. *Chemosphere* 54, 717-724.
- Albuquerque J.A., Gonzalvez J., Garcia D., Cegarra J., 2004. Agrochemical characterisation of 'alperujo', a solid by-product of the two phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology* 92 (2), 195-200.
- Al-Malah K., Azzam M.O.J., Abulai N.I., 2000. Olive mills effluent (OME) wastewater post-treatment using activated clay. *Separ. Purif. Technol.* 20, 225-234.
- Angelidaki I., Ahring B.K., 1997. Codigestion of olive mill wastewaters with manure, household waste or sewage sludge. *Biodegradation* 8, 221-226.
- Arienzo M., Capasso R., 2000. Analysis of Metal Cations and Inorganic Anions in Olive Oil Mill Waste Waters by Atomic Absorption Spectroscopy and Ion Chromatography. Detection of Metals Bound Mainly to the Organic Polymeric Fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1405-1410.
- Arjona R., Garcia A., Ollero P., 1999. The drying of alpeorujo, a waste product of the olive oil mill industry. *Journal of Food Engineering* 41, 229-234.
- Atalla R.H., Vanderhart D.L., 1984. Native cellulose: A composite of two distinct crystalline forms. *Science* 223, 283-285.
- Azbar N., Bayram A., Filibeli A., Muezzinoglu A., Sengul F., Ozer A., 2004. A Review of Waste Management Options in Olive Oil Production. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 34, 209-247.
- Bai M.D., Cheng S.S., Chao Y.S., 2004. Effects of substrates components on hydrogen fermentation of multiple substrates. *Wat. Sci. Tech.* 50 (8), 209-216.
- Balice V., Cera O., 1984. Acidic phenolic fraction of the olive vegetation water determined by a gas chromatographic method. *Grasas Aceites* 35, 178-180.
- Batstone D.J., Keller J., Newell R.B., Newland M., 2000. Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. I: model development. *Bioresource Technology* 75, 67-74.
- Batstone D.J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S.V., Pavlostathis S.G., Rozzi A., Sanders W.T.M., Siegrist H., Vavilin V.A., (IWA Task Group on Modelling of Anaerobic Digestion Processes) 2002. Anaerobic Digestion Model No 1. (ADM1). IWA Scientific Technical Report No 13. IWA publishing, London.
- Beccari M., Carucci G., Lanz A.M., Majone M., Pentrangeli-Papini M., 2002. Removal of molecular weight fractions of COD and phenolic compounds in an integrated treatment of olive oil mill effluents. *Biodegradation* 13, 401-410.

- Benemann J., 1996. Hydrogen biotechnology: progress and prospects. *Nature Biotechnol.* 14, 1101-1103.
- Benemann J., Cannizzaro C., Cooney M.J., 2004. Biological production of hydrogen-methane mixtures for clean electricity. (*In Proceedings of the 10th World Congress of Anaerobic Digestion, Montreal, Canada, 29 August-2 September*).
- Benemann J.R., 1998. Process analysis and economics of biophotolysis of water. IEA/H2/10/TR2-98.
- Benitez F.J., Beltran-Heredia J., Torregrosa J., Acero J.L., 1997a. Improvement of the anaerobic biodegradation of olive mill wastewaters by prior ozonation pretreatment. *Bioprocess Engineering* 17, 169-175.
- Benitez F.J., Beltran-Heredia J., Torregrosa J., Acero J.L., 1997b. Aerobic degradation of olive mill wastewaters. *Applied Microbiology and Biotechnology* 47, 185-188.
- Benitez F.J., Beltran-Heredia J., Torregrosa J., Acero J.L., 1999. Treatment of olive mill wastewaters by ozonation, aerobic degradation and the combination of both treatments. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 74, 639-646.
- Bianchi G., 2003. Lipids and phenols in table olives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105, 229-242.
- Bisaria V.S., 1991. Bioprocessing of agro-residues to glucose and chemicals. In: Martin, A.M. (Ed.), *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*. Elsevier, London, 210-213.
- Blumensaat F., Keller J., 2005. Modelling of two-stage anaerobic digestion using the IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Res.* 39, 171-183.
- Boari G., Brunetti A., Passino R., Rozzi A., 1984. Anaerobic digestion of olive-oil mill wastewaters. *Agric Wastes* 10 (3), 161-175.
- BOE, 2001. Orden de 25 de Julio de 2001 por la que se establecen limites de determinacion de hidrocarburos aromaticos policiclicos en aceite de orujo de oliva. Boletin Oficial del Estado N° 178.
- Borja R., Martin A., Alonso V., Garcia I., Banks C.J., 1995. Influence of different aerobic pretreatments on the kinetics of anaerobic digestion of olive mill wastewater. *Water Research* 19, 489-495.
- Borja R., Rincon B., Raposo F., 2006. Anaerobic biodegradation of two-phase olive mill solid wastes and liquid effluents: kinetic studies and process performance. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 81, 1450-1462.
- Borja R., Rincon B., Raposo F., Alba J., Martin A., 2002. A study of anaerobic digestibility of two-phases olive mill solid waste (OMSW) at mesophilic temperature. *Process Biochemistry* 38, 733-742.
- Borja R., Rincon B., Raposo F., Alba J., Martin A., 2003. Kinetics of mesophilic anaerobic digestion of the two-phase olive mill solid waste. *Biochemical Engineering Journal* 15 (2), 139-145.

- Boucoid O., Navarro D., Roche M., Asther M., Haon M., Delattre M., Lorquin J., Labat M., Asther M., Lesage-Meessen L., 2005. Fungal enzymes as a powerful tool to release simple phenolic compounds from olive oil by-product. *Process Biochemistry* 40, 1855-1862.
- Brock T.D., Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., 1994. Biology of microorganisms, Prentice-Hall, New York.
- Cai M., Liu J., Wei Y., 2004. Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3195-3202.
- Cardoso S.M., Coimbra M.A., Lopes da Silva J.A., 2003. Calcium-mediated gelation of an olive pomace pectic extract. *Carbohydrate polymers* 52, 125-133.
- Cegarra J., Amor J.B., Gonzalvez J., Bernal M.P., Roig A., 2000. Characteristics of a new solid olive-mill-by-product (alperujo) and its suitability for composting. In: Warman P.R., Taylor B.R. (Eds.), Proceedings of the International Composting Symposium ICS_99, I.CBA Press Inc., pp. 124-140.
- Chang J.S., Lee K.S., Lin P.J., 2002. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors. *Int. J. Hydrogen Energy* 27(11/12), 1167-1174.
- Chen C.C., Lin C.Y., Lin M.C., 2002. Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58(2), 224-228.
- Cheng S.S., Lin C.Y., Tseng I.C., Lee C.M., Lin H.I., Lin M.R., Chen S.T., Chen S.D., Liu P.W., 2003. Biohydrogen production mechanisms and processes application on multiple substrates. *Proc. 1st NRL International Workshop on Innovative Anaerobic Technology*, Daejeon, Korea, 33-39.
- Cheung S.W., Anderson B.C., 1997. Laboratory investigation of ethanol production from municipal primary wastewater. *Bioresource Technology* 59, 81-96.
- Classen P.A.M., van Lier J.B., Lopez Contreras A.M., van Niel E.W.J., Sijtsma L., Stams A.J.M., de Vries S.S., Weusthuis R.A., 1999. Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Appl Microbiol Biotechnol* 52, 741-755.
- Costello D.J., Greenfield P.F., Lee P.L., 1991a. Dynamic modeling of a single-stage high-rate anaerobic reactor I. Model derivation. *Wat. Res.* 25, 847-858.
- Costello D.J., Greenfield P.F., Lee P.L., 1991b. Dynamic modeling of a single-stage high-rate anaerobic reactor II. Model verification. *Wat. Res.* 25, 859-871.
- Cox L., Hermosin M.C., Cornejo J., 2004. Influence of organic amendments on sorption and dissipation of imidacloprid in soil. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 84, 95-102.
- Das D., Veziroglu T.N., 2001. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *Int J Hydrogen Energy* 26, 13-28.
- Demain A.L., Newcomb M., Wu J.H.D., 2005. Cellulase, clostridia, and ethanol. *Microbiol Mol Biol* 69, 124-154.
- Demirbas A., 2002. Hydrogen production from biomass by the gasification process. *Energy Sources* 24, 59.

- Dinopoulou G., Rudd T., Lesler J.N., 1988. Anaerobic acidogenesis of a complex wastewater: I. The influence of operational parameters on reactor performance. *Biotechnol. Bioeng.* 31, 958-964.
- Dionisi D., Majone M., Papa V., Beccari M., 2004. Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding. *Biotechnol. Bioeng.* 85(6), 569-579.
- Doi Y., Kunioka M., Nakamura Y., Soag K., 1987. Biosynthesis of copolyesters in *Alcaligenes eutrophus* H16 from ¹³C-labelled acetate and propionate. *Macromolecular* 20, 2988-2991.
- Duff S.J.B., Murray W.D., 1996. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review. *Bioresource Technology* 55, 1-33.
- Eriksson T., Börjesson J., Tjerneld F., 2002. Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Enzyme and Microbial Technology* 31, 353-364.
- Eroglu E., Gunduz U., Yucel M., Turker L., Eroglu I., 2004. Photobiological hydrogen production by using olive mill wastewater as a sole substrate source. *Int J Hydrogen Energy* 29, 163-171.
- Fabiano B., Perego P., 2002. Thermodynamic study and optimization of hydrogen production by *Enterobacter aerogenes*, *Int. J. Hydrogen Energy* 27, 149-156.
- FAIR CT96-1420, Annex 2. Final report, Improlive, investments of treatment and validation of liquid-solid waste from the two phase olive oil extraction. www.nf-2000.org/publications/q30011.pdf, 2000.
- Fan K.S., Chen Y.Y., 2004. H₂ production through anaerobic mixed culture: effect of batch So/Xo and shock loading of CSTR. *Chemosphere* 57, 1059-1068.
- Fan L.T., Gharpuray M.M., Lee Y.H., 1987. Cellulose Hydrolysis Biotechnology monographs. Springer, Berlin.
- Fan L.T., Lee Y.H., 1983. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: derivation of a mechanistic kinetic model. *Biotechnol Bioeng* 25, 2707-2733.
- Fan Y.T., Zhang Y.H., Zhang S.F., Hou H.W., Ren B.Z., 2006. Efficient conversion of wheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost. *Bioresource Technology* 97, 500-505.
- Fang H.H.P., Chenlin L.C., Zhang T., 2006. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry. *Intl J Hydrogen Energy* 31, 683-692.
- Fang H.H.P., 1997. Inhibition of bioactivity of UASB biogranules by electroplating metals. *Pure Appl. Chem.* 69(11), 2425-2429.
- Fang H.H.P., Liu H., 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technology* 82, 87-93.

- Fang H.H.P., Liu H., 2004. Biohydrogen production from wastewater by granular sludge. *1st International Symposium on Green Energy Revolution*, Nagaoka, Japan, 31-36.
- Fang H.H.P., Liu H., Zhang T., 2002a. Characterization of a hydrogen-producing granular sludge. *Biotechnol. Bioeng.* 78(1), 44-52.
- Fang H.H.P., Liu H., Zhang T., 2005. Phototrophic hydrogen production from acetate and butyrate in wastewater, *Int. J. Hydrogen Energy* 30(7), 785-793.
- Fernandez-Bolanos J., Rodriguez G., Rodriguez R., Heredia A., Guillen R., Jimenez A., 2002. Production in large quantities of highly purified hydroxytyrosol from liquid-solid waste of the two-phase olive oil processing or 'alperujo'. *J. Agric Food Chem* 50, 6804-6811.
- Filippi C., Bedini S., Levi-Minzi R., Cardelli R., Saviozzi A., 2002. Composting of olive oil mill by-products: Chemical and microbiological evaluations. *Compost Science and Utilization* 10 (1), 63-71.
- Food and agriculture organization of the United Nations, www.fao.org.
- Ganesh K., Joshi J.B., Sawant S.B., 2000. Cellulase deactivation in an stirred reactor. *Biochem Eng J* 4, 137-141.
- Gavala H.N., Skiadas I.V., Ahring B.K., Lyberatos G., 2005. Potential for biohydrogen and methane production from olive pulp. *Wat. Sci. Tech* 52 (1-2), 209-215.
- Gavala H.N., Skiadas I.V., Lyberatos G., 1999. On the performance of a centralized digestion facility receiving seasonal agroindustrial wastewater. *Wat. Sci. Tech.* 53 (1), 339-346.
- Gelegenis J., Georgakakis D., Angelidaki I., Christopoulou N., Goumenaki M, 2007., Optimization of biogas production from olive-oil mill wastewater, by codigesting with diluted poultry-manure. *Applied Energy* 84, 646-663.
- Giannes A., Diamadopoulos E., Ninolakis M., 2003. Electrochemical treatment of olive oil mill wastewater using a Ti/Ta/Pt/Ir electrode. *Proc 3rd Int Conf on Oxidation technologies for Water and Wastewater treatment* 527-530.
- Gottschalk G., 1986. Bacterial Metabolism, *2nd edn. Springer-Verlag, New York*.
- Goyal A., Ghosh B., Eveleigh D., 1991. Characteristics of Fungal Cellulases. *Bioresource Technology* 36, 37-50.
- Grady C.P.L., Daigger G.T., Lim H.C., 1999. Biological Wastewater Treatment. 2nd Edition, Marcel Dekker Inc, New York.
- Gregg D.J., Saddler J.N., 1996. Factors affecting cellulose hydrolysis and the potential of enzyme recycle to enhance the efficiency of an integrated wood to ethanol process. *Biotechnol Bioeng* 51, 375-383.
- Hallenbeck P.C., Benemann J.R., 2002. Biological hydrogen production: fundamentals and limiting processes. *Int J Hydrogen Energy* 27, 1185-1193.

- Hari K.S., Chowdary G.V., 2000. Optimization of Simultaneous Saccharification and Fermentation for the Production of Ethanol from Lignocellulosic Biomass. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1971-1976.
- Hari K.S., Chowdary G.V., Reddy D.S., Ayyanna C., 1999. Simultaneous saccharification and fermentation of pretreated *Antigonum leptopus* (Linn) leaves to ethanol. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 74, 1055-1060.
- Hari K.S., Prasanthi K., Chowdary G.V., Ayyanna C., 1998. Simultaneous saccharification fermentation of pretreated sugar cane leaves to ethanol. *Process Biochem.* 33, 825-830.
- Harper S.R., Pohland F.G., 1986. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. *Biotechnology and Bioengineering* 28, 585-602.
- Hawkes R.F., Dinsdale R., Hawkes L.D., Hussy I., 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. *Int. J. Hydrogen Energy* 27, 1339-1347.
- Hawkes R.F., Hussy I., Kyazze G., Dinsdale R., Hawkes L.D., 2007. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress. *Int. J. Hydrogen Energy* 32(2), 172-184.
- Hayashi N., Sugiyama J., Okano T., Ishihara M., 1997. Selective degradation of the cellulose I-alpha component in *Cladophora* cellulose with *Trichoderma viride* cellulase. *Carbohydr Res* 305, 109-116.
- Henrissat B., 1994. Cellulases and their interactions with cellulose. *Cellulose* 1, 169-196.
- Hildén L., Johansson G., 2004. Recent developments on cellulases and carbohydrate binding modules with cellulose affinity. *Biotechnol Lett* 26, 1683-1693.
- Hsieh H.H., 2004. Effects of heavy metals and pH on hydrogen fermentation. Master's thesis, Fengchia University, Taiwan.
- Huang X.L., Penner M.H., 1991. Apparent substrate inhibition of the *Trichoderma reesei* cellulase system. *J. Agric. Food Chem.* 39, 2096-2100.
- Hussy I., Hawkes F.R., Dinsdale R., Hawkes D.L., 2003. Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora, *Biotechnology Bioeng.* 84, 619-626.
- Hussy I., Hawkes F.R., Dinsdale R., Hawkes D.L., 2005. Continuous fermentative hydrogen production from sucrose and sugarbeet. *Int. J. Hydrogen Energy* 30(5), 471-483.
- Hwang H.M., Jang J.N, Hyun H.S., Kim S.I., 2004. Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH. *Journal of Biotechnology* 111, 297-309.

- IMPEL 2003. IMPEL Olive Oil Project Report. European Union Network for the implementation and enforcement of Environmental Law. Available from: http://europa.eu.int/comm/environment/impel/olive_oil_project.htm.
- IOOC, International Olive Oil Council, 2004. <http://www.internationaloliveoil.org>.
- IWA 2002. Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1). International Water Association Scientific and Technical Report No. 13, IWA Publishing, London, UK.
- Josefsson B., 1983. Rapid spectrophotometric determination of total carbohydrates, in Grasshoff, K., Ehrhardt, M. and Kremling, K. (eds). *Methods of Seawater Analysis*, 340-342 (Verlag Chemie GmbH, Weinheim, Germany).
- Kalfas H., Skiadas I.V., Gavala H.N., Stamatelatou K., Lyberatos G., 2006. Application of ADM1 for the simulation of anaerobic digestion of olive pulp under mesophilic and thermophilic conditions. *Wat. Sci. Tech.* 4, 149-156.
- Kalyuzhnyi S.V., Davlyatshina M.A., 1997. Batch anaerobic digestion of glucose and its mathematical modeling. I: Kinetic investigations. *Biores Tech* 59 (1), 73-80.
- Kapdan I.K., Kargi F., 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology* 38, 569-582.
- Kestioglou K., Yonar T., Azbar N., 2005. Feasibility of physiochemical treatment and advanced oxidation processes (AOPs) as a means of pre-treatment of olive mill effluent (OME). *Process Biochemistry* 40, 2409-2416.
- Khanal S.K., Chen W.H., Li L., Sung S., Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products, *Int. J. Hydrogen Energy*, in press.
- Kim D.H., Han S.K., Kim S.H., Shin H.S., 2006a. Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production, *Int. J. Hydrogen Energy* 31, 2158-2169.
- Kim I.S., Hwang M.H., Jang N.J., Hyun S.H., Lee S.T., 2004. Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process. *Int. J. Hydrogen Energy* 29(11), 1133-1140.
- Kim S.H., Han S.K., Shin S.H., 2005. Performance comparison of a continuous-flow stirred-tank reactor and an anaerobic sequencing batch reactor for fermentative hydrogen production depending on substrate concentration. *Water Science & Technology* 52, 10-11, 23-29.
- Koesnandar A., Nichio N., Yamamoto A., Nagai S., 2001. Enzymatic reduction of cystine into cysteine by cell-free extract of *Clostridium thermocellum*. *J Ferment Bioeng* 72(1), 11-14.
- Koutrouli E.C., Gavala H.N., Skiadas I.V., Lyberatos G., 2006. Mesophilic biohydrogen production from olive pulp. *Process Safety and Environmental Protection* 84 (B4) 285-289.

- Kyazze G., Martinez-Perez N., Dinsdale R., Premier G.C., Hawkes F.R., Guwy A.J., 2006. Influence of substrate concentration on the stability and yield of continuous biohydrogen production. *Biotechnol Bioeng.* 93(5), 971-979.
- Largus T.A., Khurshed K., Muthanna H., Al-Dahhan., Brian A.W., Rosa D.E., 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends in Biotechnology* 22 (9), 477-485.
- Lay J.J., 2000. Modelling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. *Biotechnol. Bioeng.* 68(3), 269-278.
- Lay J.J., Fan K.S., Chang J.I., Ku C.H., 2003. Influence of chemical nature of organic wastes on their conversion to hydrogen by heat-shock digested sludge. *Int. J. Hydrogen Energy* 28 (12), 1361-1367.
- Lay J.J., Lee Y.J., Noike, T., 1999. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste, *Water. Res.* 33(11), 2579-2586.
- Lee D.Y., Li Y.Y., Noike T., 2004. Influence of substrate concentration on the biohydrogen production in membrane bioreactor. *Proc. 2nd International Workshop on Innovative Anaerobic Technology*, Sendai, Japan, 97-100.
- Lee S.Y., 1996. Bacterial polyhydroxyalcanoates. *Biotechnol. Bioeng.* 49(1), 1-14.
- Lee Y.H., Fan L.T., 1982. Kinetics studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: analysis of the initial rates. *Biotechnol Bioeng* 24, 2383-2406.
- Lee Y.J., Miyahara T., Noike T., 2001. Effect of iron concentration on hydrogen fermentation. *Bioresour. Technol.* 80(3), 227-231.
- Levin D.B., Pitt L., Love M., 2004. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Int J Hydrogen Energy* 29, 173-185.
- Li C., Fang H.H.P., 2007. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 37, 1-39.
- Liang T.M., Cheng S.S., Wu K.L., 2002. Behavioral study on hydrogen fermentation reactor installed with silicone rubber membrane. *Int. J. Hydrogen Energy* 27(11/12), 1157-1165.
- Lin C.Y., Chang R.C., 2004. Fermentative hydrogen production at ambient temperature. *Int. J. Hydrogen Energy* 29 (7), 715-720.
- Lin C.Y., Jo C.H., 2003. Hydrogen production from sucrose using an anaerobic sequencing batch reactor process. *J Chem Technol Biotechnol.* 78, 678-684.
- Lin C.Y., Lay C.H., 2004a. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. *Int. J. Hydrogen Energy* 29(1), 41-45.
- Lin C.Y., Lay C.H., 2004b. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. *Int. J. Hydrogen Energy* 29(3), 275-281.

- Lin C.Y., Lay C.H., 2005. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. *Int. J. Hydrogen Energy* 30 (3), 285-292.
- Lin P.Y., Whang L.M., Wu Y.R., Ren W.J., Hsiao C.J., Li S.L., Chang J.S., 2007. Biological hydrogen production of the genus *Clostridium*: Metabolic study and mathematical model simulation. *Int. J. Hydrogen Energy* 32, 1728-1735.
- Lin S.Y., Harada M., Suzuki Y., Hatano H., 2005. Process analysis for hydrogen production by reaction integrated novel gasification (HyPr-RING), *Energy Conversion and Management* 46, 869.
- Liu D., Zeng R.J., Angelidaki I., 2006. Hydrogen and methane production from household solid waste in two-stage fermentation process. *Water Res.* 40, 2230-2236.
- Liu G.Z., Shen J.Q., 2004. Effects of culture and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria. *J. Biosci. Bioeng.* 98(4), 251-256.
- Liu H., Fang H.H.P., 2002. Hydrogen production from wastewater by acidogenic granular sludge. *Water Sci Technol* 47:153-158.
- Liu H., Grot S., Logan B.E., 2005. Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. *Environ Sci Technol.* 39,431-4320.
- Lo Y.C, Chen W.M., Hung C.H., Chen S.D., Chang J.S., 2007. Dark H₂ fermentation from sucrose and xylose using H₂-producing indigenous bacteria: Feasibility and kinetic studies. *Water Research*, in press.
- Logan B., Oh S.E., Kim I.K., Van Ginkel S.W., 2002. Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers. *Environ. Sci. Technol.* 36(11), 2530-2535.
- Lyberatos G., Skiadas I.V., 1999. Modeling of anaerobic digestion: A review. *Global Nest: the International Journal* 1 (2), 63-76.
- Madejon E., Galli E., Tomati U., 1998. Composting of wastes produced by low water consuming olive mill technology. *Agrochimica* 42, 135-146.
- Marques I.P., Teixeira A., Rodrigues L., 1998. Anaerobic treatment of olive mill wastewater with digested piggery effluent. *Water Environ Res* 70, 1056-1061.
- Martinez-Garcia G., Bachmann R., Williams C.J., Burgoyne A., Edyvean R.G.J., 2006. Olive oil waste as a biosorbent for heavy metals. *International Biodeterioration & Biodegradation* 58, 231-238.
- McMillan J.D., 1994. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (Eds.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*. American Chemical Society, Washington, DC, 292-324.
- Mizuno O., Dinsdale R., Hawkes F.R., Hawkes D.L., Noike T., 2000. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Biores. Technol.* 73, 59-65.

- Morinaga T., Kawada N., 1990. The production of acetic acid from carbon dioxide and hydrogen by an anaerobic bacterium. *Journal of Biotechnology*, 14, 187-194.
- Mosey F.E., 1983. Mathematical modeling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. *Wat. Sci. Technol.* 15, 209-232.
- Mu Y., Wang G., Yu H.Q., 2005. Kinetic modelling of batch hydrogen production process by mixed anaerobic cultures. *Bioresource Technology*, in press.
- Mu Y., Zheng X.J., Yu H.Q., Zhu R.F., 2006. Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures. *Int J Hydrogen Energy* 31, 780-785.
- Muller V., 2001. Bacterial fermentation. Encyclopedia of life sciences, www.els.net.
- Nandi R., Sengupta S., 1998. Microbial production of hydrogen: an overview. *Crit. Rev. Microbiol.* 24, 61-84.
- Nguyen Q.A., Saddler J.N., 1991. An integrated model for the technical and economic evaluation of an enzymatic biomass conversion process. *Bioresource Technology* 85, 275-282.
- Ni M., Leung Y.C.D., Leung K.H.M., Sumathy K., 2006. An overview of hydrogen production from biomass. *Fuel Processing Technology* 87, 461-472.
- Noike T., Ko I.B., Lee D.Y., Yokoyama S., 2003. Continuous hydrogen production from organic municipal wastes. *Proc. 1st NRL. International Workshop on Innovative Anaerobic Technology*, Daejeon, Korea, 53-60.
- Noike T., Mizuno O., 2000. Hydrogen fermentation of organic municipal wastes. *Water Sci. Technol.* 42 (12), 155-162.
- Noike T., Takabatake H., Mizuno O., Ohba M., 2002. Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria. *Int. J. Hydrogen Energy* 27(11/12), 1367-1371.
- Oh S., Logan B.E., 2005. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Water Research* 39, 4673-4682.
- Oh S.E., Lyer P., Bruns M.A., Logan B.E., 2004a. Biological hydrogen production using a membrane bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 87(1), 119-127.
- Oh S.E., Van Ginkel S.W., Logan B.E., 2003. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environ. Sci. Technol.* 37(22), 5186-5190.
- Oh Y.K., Seol E.H., Lee E.Y., Park S., 2002. Fermentative hydrogen production by a new chemoheterotrophic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* P4. *Int. J. Hydrogen Energy* 27(11/12), 1373-1379.
- Okamoto M., Miyahara T., Minuno O., Noike T., 2000. Biological hydrogen potential of materials characteristic of the organic fraction of municipal solids wastes. *Water Sci. Technol.* 41(3), 25-32.

- Okazaki M., Young M., 1978. *Biotechnol Bioeng* 20, 637.
- Ordóñez R., González P., Giraldez J.V., García-Ortiz A., 1999. Efecto de la enmienda con alperujo sobre los principales nutrientes de un suelo agrícola. In: Muñoz-Carpena, R., Ritter, A., Tascon, C. (Eds.), *Estudios de la Zona no Saturada*. ISBN 84-699-1258-5.
- Padro C.E.G., Putsche V., 1999. Survey of the economics of hydrogen technologies. National Renewable Energy Laboratory Technical Report, NREL/TP_570_27079.
- Pagnanelli F., Toro L., Veglio F., 2002. Olive mill solid residues as heavy metal sorbent material: a preliminary study. *Waste Management* 22, 901-907.
- Palmqvist E., Hahn-Hagerdal B., 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology* 74, 25-33.
- Panagiotou G., Olsson L., 2007. Effect of compounds released during pretreatment of wheat straw on microbial growth and enzymatic hydrolysis rates. *Biotechnol. Bioeng.* 96 (2), 250-258.
- Paraskeva C.A., Papadakis V.G., Tsarouchia E., Kanellopoulou D.G., Koutsoukos P.G., 2007. Membrane processing for olive mill wastewater fractionation. *Desalination* 213, 218-229.
- Paraskeva P., Diamantopolos E., 2006. Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81, 1475-1485.
- Paredes C., Cegarra J., Bernal M.P., Roig A., 2003. Use of olive mill wastewater for composting of organic wastes and the effect of the compost on plant yield and soil properties. Proc 2nd Eur Bioremediation Conf, Chania, 563-566.
- Paredes C., Roig A., Bernal M.P., Sanchez-Monedero M.A., Cegarra J., 2000. Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biology and Fertility of Soils* 32, 222-227.
- Paredes M.J., Moreno E., Ramos-Cormenzana A., Martínez J., 1987. Characteristics of soil after pollution with wastewaters from olive oil extraction plants. *Chemosphere* 16 (7), 1557-1564.
- Parisi F., 1989. Advances in lignocellulosic hydrolysis and in the utilisation of the hydrolysates. *Adv. Biochem. Eng.* 38, 53-87.
- Park W., Hyun S.H., Oh S.E., Logan B.E., Kim I.S., 2005. Removal of headspace CO₂ increases biological hydrogen production, *Environ. Sci. Technol.* 39, 4416-4420.
- Peiris B.R.H., Rathnasiri P.G., Johansen J.E., Kuhn A., Bakke R., 2006. ADM1 simulations of hydrogen production. *Wat. Sci. Tech.* 53 (8), 129-137.
- Pemberton M.S., Brown R.D., Emert G.H. 1980. The role of β -glucosidase in the bioconversion of cellulose to ethanol. *Can. J. Chem. Eng.* 58, 723-729.

- Petzold L., 1983. A description of DASSL: A differential/algebraic system solver. In Stepleman R., editor, Scientific Computing, pages 65-68. IMACS/North-Holland, Amsterdam.
- Philippidis G.P., Smith T.K., Wyman C.E., 1993. Study of enzymatic hydrolysis of cellulose for production of fuel ethanol by the simultaneous saccharification and fermentation process. *Biotechnol. Bioeng.* 41, 846-853.
- Potoglou D., Kouzeli-Katsiri A., Haralambopoulos D., 2004. Solar distillation of olive mill wastewater. *Renew Energy* 29, 569-579.
- Pullammanapallil P., Owens J.M., Svoronos S.A., Lyberatos G., Chynoweth D.P., 1991. Dynamic model for conventionally mixed anaerobic digestion reactors. AICHE Annual Meeting, 43-53.
- Reese E.T., Siu R.G.H., Levinson H.S., 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *J. Bacteriol.* 59, 485-497.
- Reichert P., 1998. AQUASIM 2.0. Tutorial. Technical report, Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG), CH-8600 Dübendorf, Switzerland.
- Ren N., Li J., Li B., Wang Y., Liu S., 2006. Biohydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system. *Int. J. Hydrogen Energy* 31, 2147-2157.
- Ren N., Wang B., Huang J., 1997. Ethanol-type fermentation of carbohydrate wastewater in a high rate acidogenic reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 54, 428-433.
- Rittmann B.E., McCarty P.L., 2001. Environmental biotechnology: Principle and Applications. McGraw-Hill, New York.
- Rivas J.F., Beltran F.J., Gimeno O., Acedo B., 2001. Wet air oxidation of wastewater from olive oil mills. *Chem. Eng. Technol.* 24, 415-421.
- Roig A., Cayuela M.L., Sanchez-Monedero M.A., 2006. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management* 26, 960-969.
- Romli M., Keller J., Lee P.L., Greenfield P.F., 1995. Model prediction and verification of a two stage high-rate anaerobic wastewater treatment system subjected to shock loads. *Trans IChemE* 73, 151-154.
- Roychowdhury S., 2000. Process for production of hydrogen from anaerobically decomposed organic materials. U.S. Patent. US 006090266A.
- Rozendal R.A., Hamelers H.V.M., Euverink G.J.W., Metz S.J., Buisman C.J.N., 2006. Principles and perspectives of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis. *Int. J. Hydrogen Energy* 31(12), 1632-1640.
- Ruzicka M., 1991. An extension of the Mosey model. *Wat. Res.* 30 (10), 2440-2446.
- Ryu D.D.Y., Lee S.B., Tassinari T., Macy C., 1982. *Biotechnol Bioeng* 24, 1047.
- Saka S., 1991. Chemical composition and Distribution. Dekker, New York, 3-58.

- Salehizadeh H., Van Loosdrecht M.C.M., 2004. Production of polyhydroxyalcanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnol. Adv.* 22, 261-279.
- Sarika R., Kalogerakis N., Mantzavinos D., 2005. Treatment of olive mill effluents, Part II: Complete removal of solids by direct flocculation with polyelectrolytes. *Environ Int* 31, 297-304.
- Sasaki K., Tanaka T., Nishio N., Nagai S., 1993. Effect of culture pH on the extracellular production of 5-aminolevulinic acid by *Rhodobacter sphaeroides* from volatile fatty acids. *Biolechnology Letters* 15, 859-864.
- Sasaki K., Tanaka T., Nishizawa Y., Hayashi M., 1990. Production of herbicides, 5-aminolevulinic acid, by *Rhodobacter sphueroides* using the effluent of swine wastes from an anaerobic digester. *Applied Microbiology and Biotechnology* 32, 727-731.
- Sattler W., Esterbauer H., Glatter O., Steiner W., 1989. The effect of enzyme concentration on rate of hydrolysis of cellulose. *Biotechnol Bioeng* 33, 1221-1234.
- Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Miniati E., Machioni A., Montedoro G., 1999. High performance liquid chromatography evaluation of phenols in olive fruit, virgin oil, vegetation waters and pomace in 1D and 2D nuclear resonance characterization. *J Am Oil Chem Soc* 76, 873-882.
- Shin H.S., Youn J.H., 2005. Conversion of food waste into hydrogen by thermophilic acidogenesis. *Biodegradation* 16(1), 33-44.
- Skiadas I.V., Gavala H.N., Lyberatos G., 2000. Modeling of the periodic anaerobic baffled reactor (PABR) based on the retaining factor concept. *Wat. Res.* 34 (15), 3725-3736.
- South C.R., Hogsett D.A.L., Lind L.R., 1995. Modeling simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulose to ethanol in batch and continuous reactors. *Enzyme Microb. Technol.* 17, 797-803.
- Sparling R., Risbey D., Poggi-Varaldo H.M., 1997. Hydrogen production from inhibited anaerobic composters. *Int. J. Hydrogen Energy* 22(6), 563-566.
- Srinivas R., Panda T., 1998. pH and thermal stability studies of carboxymethyl cellulose from intergeneric fusants of *Trichoderma reesei*/*Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 21, 178-183
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1995, 19th edition. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Sun Y., Cheng J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83, 1-11.
- Tanaka T., Sasaki K., Noparatnaraporn N., Nishio N., 1994. Utilization of volatile fatty acids from the anaerobic digestion liquor of sewage sludge for 5-

- aminolevulinic acid production by photosynthetic bacteria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 10, 677-660.
- Tanisho S., Kuromoto M., Kadokura N., 1998. Effect of CO₂ removal on hydrogen production by fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy* 23(7), 559-563.
- Tao Y., Chen Y., Wu Y., He Y., Zhou Z., 2007. High hydrogen yield from a two-step process of dark- and photo-fermentation of sucrose, *Int. J. Hydrogen Energy* 32, 200-206.
- Tarkow H., Feist W.C., 1969. A mechanism for improving the digestibility of lignocellulosic materials with dilute alkali and liquid ammonia. *Adv. Chem. Ser.* 95 (1), 197-218.
- Tekin A.R., Dalgic A.C., 2000. Biogas production from olive pomace. *Resources, Conservation and Recycling* 30, 301-313.
- Thompson R.B., Nogales R., 1999. Nitrogen and carbon mineralization in soil of vermi-composted and unprocessed dry olive cake (orujo seco) produced from two-stage centrifugation for olive oil extraction. *Journal of Environmental Science and Health B* 34, 917-928.
- Thygesen A., Thomsen A.B., Schmidt A.S., Joergensen H., Ahring B.K., Olsson L., 2003. Production of cellulose and hemicellulose degrading enzymes by filamentous fungi cultivated on wet-oxidised wheat straw. *Enzyme and Microbial Technology* 32, 606-615.
- Ting C.H., Lee D.J., Production of hydrogen and methane from wastewater sludge using anaerobic fermentation, *Int. J. Hydrogen Energy*, in press
- Ting C.H., Lin K.R., Lee D.J., Tay J.H., 2004. Production of hydrogen and methane from wastewater sludge using anaerobic fermentation. *Water Science and Technology* 50 (9), 223-228.
- Ueno Y., Haruta S., Ishii M., Igarashi Y., 2001a. Microbial community in anaerobic hydrogen-producing microflora enriched from sludge compost. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 555-562.
- Ueno Y., Kawai T., Sato S., Otsuka S., Morimoto M., 1995. Biological production of hydrogen from cellulose by natural anaerobic microflora. *J. Ferment. Bioeng.* 79 (4), 395-397.
- Ueno Y., Otsuka S., Morimoto M., 1996. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture. *J. Ferment. Bioeng.* 82 (2), 194-197.
- Ueno Y., Tatara M., Fukui H., Makiuchi T., Goto M., Sode K., 2007. Production of hydrogen and methane from organic solid wastes by phase-separation of anaerobic process. *Bioresource Technology* 98, 1861-1865.
- Valdez-Vazquez I., Rios-Leal E., Esparza-Garcia F., Cecchi F., Poggi-Varaldo H.M., 2005. Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from

- organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime, *Int J. Hydrogen Energy* 30 (13/14), 1383-1391.
- Van Andel G.J., Breure M.A., 1984. Anaerobic waste water treatment, *Trends in Biotechnology* 2, (1), 16-20.
- Van Ginkel S., Logan B., 2005. Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. *Environ Sci Technol* 39, 9351-9356.
- Van Ginkel S.W., Logan B., 2005. Increased biological hydrogen production with reduced organic loading. *Water Res* 39, 3819-3826.
- Vinzant T.B., Ehrman C.I., Adney W.S., Thomas S.R., Himmel M.E., 1997. Simultaneous saccharification and fermentation of pretreated hardwoods. Effects of native lignin content. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 62, 99-104.
- Vlyssides A.G., Iaconidou K., 2003. Olive oil production in Greece. Cordoba, Spain: EU IMPEL Olive Oil Workshop.
- Vlyssides A.G., Loizides M., Karlis P.K., 2004. Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *Journal of Cleaner Production* 12, 603-611.
- Vlyssides A.G., Loizidou M., Gimouhopoulos K., Zorpas A., 1998. Olive oil processing wastes production and their characteristics in relation to olive oil extraction methods. *Fresenius Envir. Bull.* 7, 308-313.
- Vlyssides A.G., Loukakis H.N., Israilides C., Barampouti E.M., Mai S., 2003. Detoxification of olive mill wastewater using a Fenton process. Proc 2nd Eur Bioremediation Conf, Chania 531-534.
- Vlyssides A.G., Loukakis H.N., Karlis P.K., Barampouti E.M., Mai S., 2004b. Olive mill wastewater detoxification by applying pH related Fenton's oxidation process, *Fresenius Envir. Bull.* 13, 501-504.
- Wang C.C., Chang C.W., Chu C.P., Lee D.J., Chang B.V., Liao C.S., 2003b. Producing hydrogen from wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*. *Journal of Biotechnology* 102, 83-92.
- Wang C.C., Chang C.W., Chu C.P., Lee D.J., Chang B.V., Liao C.S., Tay J.H., 2003a. Using filtrate of waste biosolids to effectively produce bio-hydrogen by anaerobic fermentation. *Water Res.* 37(11), 2789-2793.
- Wang C.C., Chang C.W., Chu C.P., Lee D.J., Chang B.V., Liao C.S., 2004. Efficient production of hydrogen from wastewater sludge. *J Chem Technol Biotechnol* 79, 426.
- Wang S.S., Converse A., 1991. On the use of enzyme adsorption and specific hydrolysis rate to characterize thermal-chemical pretreatment. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 34/35, 61-74.
- Whang L.M., Hsiao C.J., Cheng S.S., 2006. A dual-substrate steady state model for biological hydrogen production in an anaerobic hydrogen fermentation process. *Biotech Bioeng* 95(3), 492-500.

- Woodward J.; Wiseman A., 1982. Fungal and other β -D-glucosidases. Their properties and applications. *Enzyme Microb. Technol.* 4, 73-79.
- Wyman C. E., 1994. Ethanol from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 50, 3-16.
- Yang P., Zhang R., McGarvey J.A., Benemann J.R., 2007, Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. *Int J Hydrogen Energy*, in press.
- Youn J.H., Shin H.S., 2005. Comparative performance between temperature-phased and conventional mesophilic two-phased processes in terms of anaerobically produced bioenergy from food waste. *Waste Manag. Res.* 23, 32-38.
- Yu H.Q., Fang H.H.P., 2000. Thermophilic acidification of dairy wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54, 439-444.
- Yu H.Q., Fang H.H.P., 2001b. Inhibition by chromium and cadmium of anaerobic acidogenesis. *Water Sci. Technol.* 43(11), 267-274.
- Yu H.Q., Fang H.H.P., 2001a. Inhibition on acidogenesis of dairy wastewater by zinc and copper. *Environ. Technol.* 22, 1459-1465.
- Yu H.Q., Zhu Z.H., Hu W.R., Zhang H.S., 2002. Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. *Int. J. Hydrogen Energy* 27(11/12), 1359-1365.
- Zhang J.J., Li X.Y., Oh S.E., Logan B.E., 2004. Physical and hydrodynamic properties of flocs produced during biological hydrogen production. *Biotechnol. Bioeng.* 88(7), 854-860.
- Zhang Y.H.P., Lynd L.R., 2004b. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems. *Biotechnol Bioeng* 88, 797-824.
- Zhang Z.P., Show K.Y., Tay J.H., Liang D.T., Lee D.J., Jiang W.J., 2006. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Process Biochemistry* 41, 2118-2123.
- Zhang Z.P., Tay J.H., Show K.Y., Yan R., Liang D.T., Lee D.J., Jiang W.J., 2007. Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor. *Int J Hydrogen Energy* 32, 185-191.
- Zheng X.J., Yu H.Q., 2005. Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures. *Journal of Environmental Management* 74, 65-70.
- Zinder S.H., Koch M., 1984. Non-aceticlastic methanogenesis from acetate: acetate oxidation by a thermophilic syntrophic coculture. *Archives of Microbiology* 138, 263-272.
- Zoetemeyer R.J., Matthijse A.J.C.M., Cohen A., Boelhouwer C., 1982. Product inhibition in the acid forming stage of the anaerobic digestion process. *Water Res.* 16, 633-639.

Zouari N., 1998. Decolorization of Olive Oil Mill Effluent by Physical and Chemical Treatment Prior to Anaerobic Digestion. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 73, 297-303.

Βασιλειάδου Ι.Α., Βαγενάς Δ.Β. 2007. Υδρογονοτροφική απονιτροποίηση πόσιμου νερού. 6^ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, Αθήνα.

Παράρτημα

Σχήμα Π1. Η συγκέντρωση των διαλυτών υδατανθράκων του επεξεργασμένου αποβλήτου σε μόνιμη κατάσταση κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4).

Σχήμα Π2. Ρυθμός παραγωγής υδρογόνου και βιοαερίου από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.

Σχήμα Π3. Παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων από αραιωμένο απόβλητο OMW (1:4) κατά τη λειτουργία του αντιδραστήρα σε μόνιμη κατάσταση.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικές πληροφορίες

Όνοματεπώνυμο	Κουτρούλη Ελένη
Ημερομηνία γέννησης	14-03-1980
Διεύθυνση	Κάτω Αλισσός, Αχαΐας
Τηλέφωνο	6944771242
email	ekoutrouli@chemeng.upatras.gr

Εκπαίδευση

- 2003 μέχρι σήμερα Υποψήφια διδάκτορας του τμήματος Χημικών Μηχανικών, Πολυτεχνικής Σχολής, Πανεπιστημίου Πατρών
- 2003 Διπλωματούχος Χημικός Μηχανικός, Πολυτεχνικής Σχολής, Πανεπιστημίου Πατρών, με γενικό βαθμό διπλώματος 8,26

Βραβεύσεις

Αριστείο από τον Πανελλήνιο Σύλλογο Χημικών Μηχανικών για την 2^η θέση κατά σειρά επιτυχίας μεταξύ των αποφοίτων του Τμήματος Χημικών Μηχανικών της Πολυτεχνικής Σχολής του Πανεπιστημίου Πατρών κατά το έτος 2003.

Βραβείο από το Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας για την επίδοση στις σπουδές κατά το ακαδημαϊκό έτος 2002-2003.

Επιστημονικές Δημοσιεύσεις σε Διεθνή Περιοδικά με κριτές

- E.C. Koutrouli, H.N. Gavala, I.V. Skiadas and G. Lyberatos, 'Mesophilic biohydrogen production from olive pulp', *Process Safety and Environmental Protection*, 84, B4, 285-289, 2006.

Συμμετοχή σε Διεθνή και Ελληνικά Συνέδρια

- E.C. Koutrouli, H.N. Gavala, I.V. Skiadas and G. Lyberatos, 'Biological fermentative hydrogen production from olive pulp at 35°C', *Proceedings of the 10th World Congress of Anaerobic Digestion*, Montreal, Canada, 29th of August-2nd of September 2004.
- Eleni C. Koutrouli, Hariklia N. Gavala, Ioannis V. Skiadas and Gerasimos Lyberatos, 'Mesophilic Biohydrogen Production from Olive Pulp', *WASTEENG 2005 Conference*, Albi, France, May 17-19, 2005.
- Γ. Αντωνοπούλου, Χ. Κάλφας, E.X. Κουτρούλη, Χ.Ν. Γαβαλά, Ι.Β. Σκιαδάς, Γ. Λυμπεράτος, 'Συνδυασμένη βιολογική παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου

από βιόμαζα', 5^ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, Θεσσαλονίκη 26-28 Μαΐου 2005.

- Gerasimos Lyberatos, Georgia Antonopoulou, Eleni Koutrouli, Haralambos Kalfas, Hariklia Gavala and Ioannis Skiadas, 'Gaseous Biofuels Production from Sweet Sorghum and Olive Pulp', *AIChE 2006*.
- Μ. Βλάχος, Ε. Κουτρούλη και Π. Βλάχος, 'Τεχνοοικονομική αποτίμηση του ενεργειακού οφέλους εγκατάστασης ηλιακών συλλεκτών σε ξενοδοχειακή μονάδα δυναμικότητας 500 κλινών', 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φοιτητών HMMY: «Τεχνολογίες αιχμής: Έρευνα, Ανάπτυξη, Εφαρμογή», Αθήνα, 25-26 Μαΐου 2007.
- Γ. Αντωνοπούλου, Χ. Κάλφας, Ε.Χ. Κουτρούλη, Ν. Βενετσανέας, Χ.Ν. Γαβαλά, Ι.Β. Σκιαδάς, Κ. Σταματελάτου, Μ. Κορνάρος και Γ. Λυμπεράτος, 'Παραγωγή βιοκαυσίμων από ενεργειακά φυτά και απόβλητα', 6^ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, Αθήνα, 31 Μαΐου-2 Ιουνίου 2007.
- E.C. Koutrouli, H. Kalfas, H.N. Gavala, I.V. Skiadas, K. Stamatelatou and G. Lyberatos, 'Hydrogen and methane production through two-stage mesophilic anaerobic digestion of olive pulp', *WASTEENG 2008 Conference*, Patras, Greece, June 3-5, 2008.
- E.C. Koutrouli, H.N. Gavala, I.V. Skiadas, K. Stamatelatou and G. Lyberatos, 'Enhancement of biohydrogen production via enzymatic hydrolysis of olive pulp', *WASTEENG 2008 Conference*, Patras, Greece, June 3-5, 2008.
- C. Kourmentza, E.C. Koutrouli, I. Ntaikou, K. Stamatelatou, M. Kornaros and G. Lyberatos, 'Exploitation of olive oil mill wastewater for combined biofuels and biopolymers production', *WASTEENG 2008 Conference*, Patras, Greece, June 3-5, 2008