

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΔΑΣΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
Π.Μ.Σ.
ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ & ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ



ΧΡΗΣΤΟΣ ΤΖΕΝΟΣ

Πτυχιούχος Χημικός Μηχανικός

ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΩΝ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ ΥΠΟ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ – Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΔΡΑΥΛΙΚΟΥ
ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Επιβλέπων: Θωμάς Α. Κωτσόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ (2020)

**ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΔΑΣΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**

Π.Μ.Σ.

ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ & ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ

ΧΡΗΣΤΟΣ ΤΖΕΝΟΣ

Πτυχιούχος Χημικός Μηχανικός

**ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΩΝ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ ΥΠΟ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ – Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΔΡΑΥΛΙΚΟΥ
ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Θωμάς Α. Κωτσόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Γεωπονίας του ΑΠΘ

Δημήτριος Ε. Μόσχου, Καθηγητής του Τμήματος Γεωπονίας του ΑΠΘ

Βασίλειος Β. Φράγκος, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Γεωπονίας του ΑΠΘ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ (2020)

Δήλωση

Δηλώνω ότι είμαι ο συγγραφέας της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής με τίτλο «ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΩΝ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ – Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΔΡΑΥΛΙΚΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ» που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του μεταπτυχιακού τίτλου του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στην Υποειδίκευση «Γεωργική Μηχανική» της Ειδίκευσης «Γεωργική Μηχανική και Υδατικών Πόρων» του Τμήματος Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος στην κατεύθυνση Εγγείων Βελτιώσεων, Εδαφολογίας και Γεωργικής Μηχανικής, που παραδόθηκε το μήνα Σεπτέμβρη το 2020. Η αναφερόμενη εργασία δεν αποτελεί αντιγραφή, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται σαφώς στη βιβλιογραφία και στο κείμενο, ενώ κάθε εξωτερική βοήθεια, αν υπήρξε, αναγνωρίζεται ρητά.

Όνομα : ΧΡΗΣΤΟΣ ΤΖΕΝΟΣ

Ημερομηνία :

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
1.2 ΒΙΟΑΕΡΙΟ.....	8
1.2.1 Χαρακτηριστικά του βιοαερίου.....	8
1.3 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....	15
2.1 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ.....	15
2.1.1 Υδρόλυση.....	18
2.1.2 Οξειογένεση και οξικογένεση.....	19
2.2 ΜΕΘΑΝΟΓΕΝΕΣΗ.....	20
2.2.1 Γενικά.....	20
2.2.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη μεθανογένεση.....	21
2.3 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΜΜΩΝΙΑΣ.....	27
2.3.1 Πηγές αμμωνίας.....	27
2.3.2 Επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στην αναερόβια αποικοδόμηση.....	28
2.3.3 Επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στους μεθανογόνους μικροοργανισμούς.....	30
2.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ.....	32

2.4.1 Χρήση ανόργανων προσθέτων	32
2.4.2 Ρύθμιση του λόγου Άνθρακα/Αζώτου	33
2.4.3 Απογύμνωση αμμωνίας (Ammonia stripping).....	34
2.5 ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ.....	37
2.5.1 Εγκλιματισμός μικροοργανισμών	38
2.5.2 Η διαδικασία της βιοενίσχυσης	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3:ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	40
3.1 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ.....	40
3.1.1 Χαρακτηριστικά και προετοιμασία του υποστρώματος και του εμβολίου.....	40
3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ	41
3.2.1. Περιγραφή της πειραματικής διάταξης.....	41
3.2.2. Εγκλιματισμός πληθυσμού για βιοενίσχυση	43
3.2.3 Λειτουργία της πειραματικής διάταξης	44
3.3 ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ	47
3.3.1 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών στερεών	47
3.3.2 Προσδιορισμός αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl.....	48
3.3.3 Προσδιορισμός pH.....	50
3.3.4 Λήψη, προετοιμασία και μέτρηση συγκέντρωσης δειγμάτων VFA.....	51
3.3.5 Λήψη δειγμάτων και μέτρηση συγκέντρωσης μεθανίου παραγόμενου βιοαερίου.....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	54

4.1 ΣΥΝΟΨΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	54
4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	55
4.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	63
Σχήμα 2.1: Απλοποιημένη σχηματική πορεία της αναερόβιας αποικοδόμησης	17
Σχήμα 2.2: Σχετικός ρυθμός ανάπτυξης μεθανογόνων μικροοργανισμών	23
Σχήμα 2.3: Σχετική παραγωγή μεθανίου	23
Σχήμα 2.4: Ισορροπία ελεύθερης αμμωνίας και αμμωνιακού ιόντος.....	29
Σχήμα 2.5: Επίδραση θερμοκρασίας και pH στην συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας	30
Σχήμα 2.6: Η επίδραση της αμμωνίας στη μεθανογένεση.....	31
Σχήμα 2.5: Σχηματικό διάγραμμα του αντιδραστήρα απογύμνωσης αμμωνίας.....	35
Σχήμα 3.1: Σχηματική αναπαράσταση πειραματικής διάταξης.....	43
Σχήμα 3.2: Πειραματική Διάταξη.....	44
Σχήμα 3.3: Φυγόκεντρος σταθερής θερμοκρασίας.....	46
Σχήμα 3.4: Κλίβανος αποξήρανσης και κλίβανος αποτέφρωσης.....	48
Σχήμα 3.5: Συσσκευή Kjeldahl.....	50
Σχήμα 3.6: Μετρητής pH.....	50
Σχήμα 3.7: Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID).....	52
Σχήμα 3.8 Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD)	53
Σχήμα 4.1: Ημερήσια παραγωγή μεθανίου για τους CSTR1 και CSTR2.....	55
Σχήμα 4.2: Ολικά VFA και pH για τους CSTR1 και CSTR2.....	57
Σχήμα 4.3: Οξικό και προπιονικό οξύ ανά ημέρα για τον CSTR1	59

Σχήμα 4.4: Οξικό και προπιονικό οξύ ανά ημέρα για τον CSTR2	59
Σχήμα 4.5: Σύγκριση μέσης παραγωγής μεθανίου για τους CSTR1 και CSTR2	60
Πίνακας 1.1: Σύσταση του βιοαερίου	8
Πίνακας 2.1: Αντιδράσεις της αναερόβιας αποικοδόμησης	18
Πίνακας 2.2: Σχέση μεταξύ θερμοκρασίας και διαλυτότητας αερίων στην υγρή φάση.....	25
Πίνακας 2.3 Πρωτεϊνικό περιεχόμενο	28
Πίνακας 3.1: Χαρακτηριστικά του υποστρώματος και του εμβολίου	41
Πίνακας 3.2: Τροφοδοσία CSTR για διαφοροποίηση του HRT.....	45
Πίνακας 3.3: Αύξηση συγκέντρωσης αμμωνίας.....	46

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η αναερόβια αποικοδόμηση είναι μία σημαντική διεργασία, η οποία αξιοποιεί οργανικά απόβλητα, κυρίως γεωργικά και κτηνοτροφικά για την παραγωγή βιοαερίου. Το βιοαέριο αποτελεί ανανεώσιμη πηγή ενέργειας η οποία μπορεί να συμβάλει στην κάλυψη ενός σημαντικού ποσοστού των παγκόσμιων αναγκών σε ενέργεια. Ωστόσο, ο συνεχώς αυξανόμενος αριθμός των εγκατεστημένων μονάδων βιοαερίου στον ελληνικό χώρο, έχει ως αποτέλεσμα τη χρήση όλων των διαθέσιμων υποστρωμάτων για τη κάλυψη των ενεργειακών τους αναγκών. Το υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο ορισμένων υποστρωμάτων οδηγεί στην παραγωγή αμμωνίας στους βιοαντιδραστήρες που μειώνει την απόδοσή τους. Για τη βελτίωση της απόδοσης βιοαντιδραστήρων που λειτουργούν σε υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας επιλέχθηκε ο συνδυασμός δύο μεθόδων, της μεταβολής του υδραυλικού χρόνου παραμονής (HRT) των αντιδραστήρων και η διεργασία της βιοενίσχυσης. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε δύο αντιδραστήρες συνεχούς ροής και ανάδευσης (CSTR).

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στους χώρους του Εργαστηρίου Γεωργικών Κατασκευών και Εξοπλισμού, στο κτίριο του Κέντρου Ελέγχου Γεωργικών Κατασκευών, στο Αγρόκτημα του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Θωμά Κωτσόπουλο, για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης και ολοκλήρωσης της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής. Επιπρόσθετα, ευχαριστώ τους υποψήφιους διδάκτορες κ. Σωτήριο Καλαμάρα και την κ. Μαρία-Λήδα Χρήστου, για την υποστήριξή τους, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετάται η εφαρμογή δύο μεθόδων καταπολέμησης των αρνητικών συνεπειών που επιφέρει η τοξικότητα της αμμωνίας στην παραγωγή βιοαερίου μέσω αναερόβιας αποικοδόμησης. Οι δύο μέθοδοι που επιλέχθηκαν είναι η μεταβολή του υδραυλικού χρόνου συγκράτησης (HRT) των αντιδραστήρων και η διεργασία της βιοενίσχυσης. Ο εγκλιματισμός των μικροοργανισμών, που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διεργασία της βιοενίσχυσης, πραγματοποιήθηκε σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (Batch reactors) με τη σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης της αμμωνίας. Χρησιμοποιήθηκαν δύο αντιδραστήρες συνεχούς ροής και ανάδευσης (CSTR) και η τροφοδοσία τους γινόταν με κόπρο βοοειδών προερχόμενη από σταβλική εγκατάσταση στη Βόρεια Ελλάδα η οποία δεν εμπεριείχε στρωμνή. Αρχικά οι δύο αντιδραστήρες λειτούργησαν με HRT 28 ημερών και στη συνέχεια μεταβλήθηκε σε 20 ημέρες στον πρώτο και σε 30 ημέρες στο δεύτερο. Μετά ακολούθησε η προσθήκη χλωριούχου αμμωνίου (NH_4Cl) για την επίτευξη συνθηκών τοξικότητας αμμωνίας και στους δύο αντιδραστήρες. Τέλος εφαρμόστηκε η διεργασία της βιοενίσχυσης με πληθυσμό μικροοργανισμών εγκλιματισμένο σε υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας.

Οι μετρήσεις που λήφθηκαν περιλαμβάνουν την ημερήσια παραγωγή βιοαερίου, το ποσοστό του μεθανίου στο βιοαέριο, τη συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων (VFA) και τη τιμή στην κλίμακα pH. Κατά τη λειτουργία υπό συνθήκες τοξικότητας αμμωνίας παρατηρήθηκε μείωση της παραγωγής μεθανίου κατά περίπου 37.5% και στους δύο αντιδραστήρες. Μετά από την εφαρμογή της βιοενίσχυσης η παραγωγή του μεθανίου αυξήθηκε περίπου στο 91.0% της αρχικής και στους δύο αντιδραστήρες. Όμως, παρόλο που το ποσοστό ανάκαμψης ήταν περίπου ίδιο και στους δύο αντιδραστήρες, κρίθηκε πως η διεργασία της βιοενίσχυσης δεν ήταν αποτελεσματική στον αντιδραστήρα με το HRT (20d). Διότι η μερική

ανάκαμψη της παραγωγής του βιοαερίου επήλθε μετά το πέρας ενός HRT, ενώ στον αντιδραστήρα με το HRT (30d) τα αποτελέσματα της βιοενίσχυσης ήταν πολύ πιο άμεσα. Η αργή απόκριση του αντιδραστήρα στην βιοενίσχυση είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στο φαινόμενο της έκπλυσης του εγκλιματισμένου πληθυσμού που προκύπτει λόγω του μικρού HRT.

Πιθανώς σε μία μονάδα με χαμηλό HRT, για την αύξηση της αποτελεσματικότητας της βιοενίσχυσης, ο διαχειριστής της μονάδας θα μπορούσε να αυξήσει το HRT του βιοαντιδραστήρα (πχ με ανακυκλοφορία των εκρεόμενων επεξεργασμένων αποβλήτων) πριν την εφαρμογή της βιοενίσχυσης. Αφότου ο εγκλιματισμένος πληθυσμός έχει προσαρμοστεί στον βιοαντιδραστήρα, το HRT μπορεί να ρυθμιστεί στην κανονική τιμή λειτουργίας.

ABSTRACT

In the present study the application of two methods to combat the negative effects of ammonia toxicity on biogas production through anaerobic digestion are investigated. The two methods selected are the change of the hydraulic retention time (HRT) of the reactors and the bioaugmentation process. The acclimatization of the microorganisms, used during the bioaugmentation process, was carried out in batch reactors with the gradual increase of the ammonia concentration. Two continuously stirred tank reactors (CSTR) were used and they were fed with cattle manure from a stable installation in Northern Greece. Initially the two reactors operated with a 28-day HRT and then were switched to 20 days in the first and 30 days in the second. The addition of ammonium chloride (NH_4Cl) followed to achieve ammonia toxicity conditions in both reactors. Finally, the bioaugmentation process was applied with a population of microorganisms acclimatized to high concentrations of ammonia.

The parameters that were measured include the daily biogas production, the percentage of methane in the biogas, the concentration of volatile fatty acids (VFA) and the pH value. During the operation under ammonia toxicity conditions a reduction in methane production of approximately 37.5% was observed in both reactors. After the application of the bioaugmentation process the production of methane increased to about 91.0% of the original value in both reactors. However, although the recovery rate was about the same in both reactors, it was decided that the bioaugmentation process was not effective in the reactor with the 20-day HRT. The reason for this is, that the partial recovery of biogas production in the reactor with the 20-day HRT occurred after 20 days, while in the reactor with the 30-day HRT the results of the bioaugmentation process were much more immediate. The reactor's slow response to the

bioaugmentation process is most likely due to the washout of the acclimatized population due to the low HRT.

Possibly in a biogas plant with low HRT, to increase the efficiency of the bioaugmentation, the plant manager could increase the HRT of the bioreactor (eg with the recirculation of the bioreactor effluent stream) before the application of the bioaugmentation. After the acclimatized population has adapted to the bioreactor, the HRT can be adjusted to the normal operation value.



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Η εργασία υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της Δράσης ΕΡΕΥΝΩ – ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ και συγχρηματοδοτήθηκε από το Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης (ΕΤΠΑ) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ) (κωδικός έργου: Τ1ΕΔΚ-00406 – ΝΗ3ΕΝΔ).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, η ενέργεια αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά και φλέγοντα θέματα που απασχολούν τον πλανήτη. Ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται ραγδαία και ταυτόχρονα αυξάνονται οι απαιτήσεις του για φθηνή και αποδοτική ενέργεια. Με την ανάπτυξη των ασιατικών χωρών, εκτιμάται πως η κατανάλωση ενέργειας θα αυξηθεί κατά 50% μέχρι το 2050 (Energy Information Administration, 2020). Τα περιβαλλοντικά προβλήματα είναι κάτι παραπάνω από ορατά λόγω κακής διαχείρισης των φυσικών πόρων, ενώ είναι πλέον κοινός στόχος η εξοικονόμηση ενέργειας και η προστασία του περιβάλλοντος. Η χρήση αγροτικών αποβλήτων που προέρχονται, είτε από υπολείμματα καλλιεργειών είτε από απόβλητα ζωικής προέλευσης μπορεί να οδηγήσει στη παραγωγή βιοκαυσίμων με πολλαπλά οικονομικά, κοινωνικά και περιβαλλοντικά οφέλη.

Με τον όρο βιομάζα αποκαλείται οποιοδήποτε υλικό παράγεται από ζωντανούς οργανισμούς (όπως είναι το ξύλο και άλλα προϊόντα του δάσους, υπολείμματα καλλιεργειών, κτηνοτροφικά απόβλητα, απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων κ.λπ.) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για παραγωγή ενέργειας. Αποτελεί μια τεράστια αποθήκη ενέργειας καθώς η ηλιακή ενέργεια που φτάνει στη γη δεσμεύεται σε οργανική ύλη, υπό τη μορφή χημικής ενέργειας και μπορεί να αξιοποιηθεί. Συνεπώς, θεωρείται ανανεώσιμη αφού ακολουθεί το θεμελιώδη κύκλο των θρεπτικών συστατικών (Energy Information Administration, 2020).

Σημαντική συμβολή στην κάλυψη των ολοένα αυξανόμενων ενεργειακών απαιτήσεων μπορούν να δώσουν οι Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας (ΑΠΕ). Η χρήση της αναερόβιας αποικοδόμησης για την παραγωγή βιοαερίου αποτελεί μία σημαντική διεργασία ΑΠΕ, η οποία

αξιοποιεί τη γεωργική βιομάζα και μπορεί να καλύψει ένα σημαντικό ποσοστό της παγκόσμιας παραγωγής ενέργειας. Η αναερόβια χώνευση είναι η μικροβιολογική διαδικασία αποσύνθεσης της οργανικής ύλης απουσία οξυγόνου. Τα βασικά προϊόντα αυτής της διεργασίας είναι το βιοαέριο και το χωνεμένο υπόλειμμα. Το βασικό τελικό προϊόν είναι το βιοαέριο, ένα μίγμα μεθανίου (CH_4) και διοξειδίου του άνθρακα (CO_2), με περιεκτικότητα σε CH_4 μεγαλύτερη από 50%. Το χωνεμένο υπόλειμμα είναι το αποσυντεθειμένο υπόστρωμα, επακόλουθο της παραγωγής του βιοαερίου (Al Seadi et al., 2008). Το βιοαέριο χρησιμοποιείται ως καύσιμο για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας και θερμότητας ενώ το χωνεμένο υπόλειμμα αποτελεί πρώτη ύλη για την παραγωγή εδαφοβελτιωτικού λιπάσματος.

Οι πρώτες ύλες που αξιοποιούνται κατά την αναερόβια αποικοδόμηση είναι κυρίως, αγροτοβιομηχανικά λύματα και απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων καθιστώντας την έτσι μία από τις πιο φιλικές τεχνολογίες ως προς το περιβάλλον. Συνεπώς, συμβάλει και στη διαχείριση των λυμάτων και των αποβλήτων δίνοντας μία εναλλακτική λύση πέρα από την εναπόθεσή τους στο περιβάλλον. Επίσης, η αναερόβια αποικοδόμηση για την παραγωγή βιοαερίου αποτελεί μία βιομηχανική διεργασία η οποία λειτουργεί όλο το 24ωρο δίνοντας μία σταθερή παροχή ενέργειας. Αυτό αποτελεί ένα μεγάλο πλεονέκτημα συγκριτικά με άλλες μορφές ΑΠΕ, όπως της ηλιακής ενέργειας που εξαρτάται από την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας και της αιολική ενέργειας που εξαρτάται από την ταχύτητα του ανέμου.

1.2 ΒΙΟΑΕΡΙΟ

1.2.1 Χαρακτηριστικά του βιοαερίου

Το ενεργειακό περιεχόμενο του βιοαερίου από την αναερόβια χώνευση είναι χημικά δεσμευμένο στο μεθάνιο. Οι ιδιότητες και η σύσταση του βιοαερίου ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο και τη δομή της πρώτης ύλης, το σύστημα της μονάδας, τη θερμοκρασία, το χρόνο παραμονής και άλλους παράγοντες. Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζονται κάποιες από τις μέσες τιμές σύστασης του βιοαερίου με βάση την βιβλιογραφία. Θεωρώντας ότι το βιοαέριο περιέχει 50% μεθάνιο, η μέση θερμοκρασιακή τιμή του είναι περίπου 21 MJ/Nm³, η μέση πυκνότητα 1.22 kg/Nm³ και η μάζα του είναι παρόμοια με αυτή του αέρα (1.29 kg/Nm³). (Energy Information Administration, 2020)

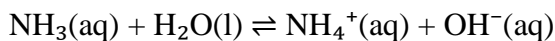
Πίνακας 1.1: Σύσταση του βιοαερίου

Συστατικό	Χημικός τύπος	Περιεκτικότητα % κατά όγκο
Μεθάνιο	CH ₄	50-75
Διοξείδιο του άνθρακα	CO ₂	25-45
Υδρατμοί	H ₂ O	2 (20°C) – 7 (40°C)
Οξυγόνο	O ₂	<2
Άζωτο	N ₂	<2
Αμμωνία	NH ₃	<1
Υδρογόνο	H ₂	<1
Υδρόθειο	H ₂ S	<1

1.3 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Στον ελληνικό χώρο η περιορισμένη ανάπτυξη των ενεργειακών καλλιεργειών καθώς και η μειωμένη εκτροφή βοοειδών, αναγκάζουν τις μονάδες παραγωγής βιοαερίου να χρησιμοποιούν ποικίλα είδη υποστρωμάτων βάση της διαθεσιμότητάς τους, όπως είναι και τα απόβλητα ορνιθοτροφείων, χοιροστασίων και σφαγείων

Το αμμωνιακό άζωτο (NH_3) ή τα ιόντα αμμωνίου (NH_4^+), δύο ανηγμένες μορφές του αζώτου, εισάγονται μέσω της τροφοδοσίας στους βιοαντιδραστήρες ή παράγονται κατά τη την αναερόβια αποικοδόμηση αζωτούχων οργανικών ενώσεων όπως τα αμινοξέα, η ουρία και οι πρωτεΐνες. Η χρήση αποβλήτων με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο, όπως τα απόβλητα ορνιθοτροφείων, χοιροστασίων και σφαγείων οδηγεί στην αύξηση της αμμωνίας η οποία επηρεάζει, αρνητικά την παραγωγή μεθανίου. Οι δύο μορφές της αμμωνίας βρίσκονται σε ισορροπία η οποία, σε υδατικά διαλύματα, χαρακτηρίζεται από τη εξίσωση:



με σταθερά ιονισμού: $K_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}$

Όπου:

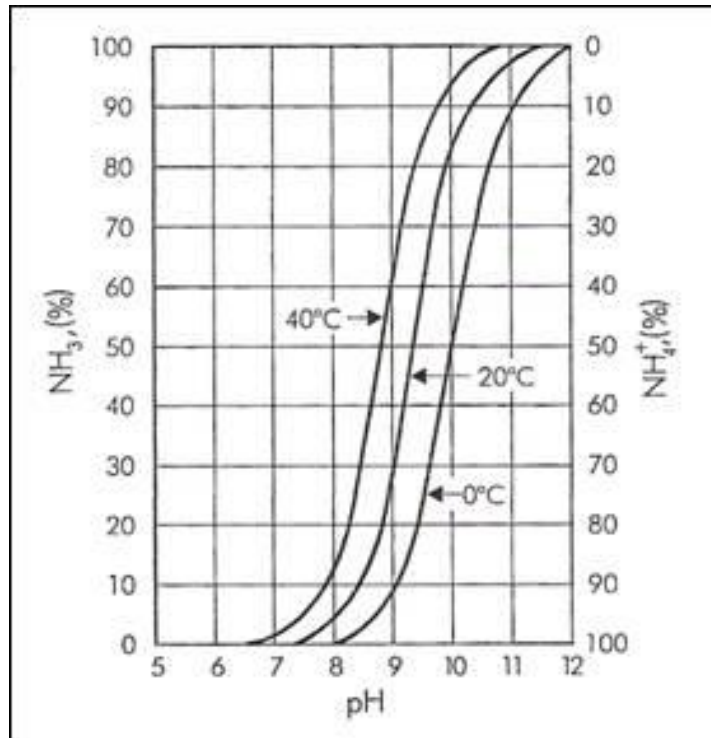
$[\text{NH}_4^+]$: η συγκέντρωση του αμμωνιακού ιόντος σε mol/L

$[\text{OH}^-]$: η συγκέντρωση των ιόντων υδροξειδίου σε mol/L

$[\text{NH}_3]$: η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας σε mol/L

Οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν αυτή την ισορροπία είναι το pH, και η θερμοκρασία. Από τις δύο μορφές η ελεύθερη αμμωνία (NH_3) είναι η πιο τοξική για τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς στη μη ιοντισμένη της μορφή και οδηγεί στην αναστολή της

μεταβολικής τους δραστηριότητα, όταν η συγκέντρωση της αυξάνεται, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής μεθανίου. Συνεπώς, είναι απαραίτητη η διερεύνηση οικονομικά βιώσιμων μεθόδων καταπολέμησης της τοξικότητας της αμμωνίας στις μονάδες παραγωγής βιοαερίου.



Σχήμα 1.1: Ισορροπία ελεύθερης αμμωνίας και αμμωνιακού ιόντος βάση θερμοκρασίας και pH (Khanal, 2008)

Καθώς η επιρροή της τοξικότητας της αμμωνίας στην παραγωγή μεθανίου αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα για τις μονάδες βιοαερίου, έχει μελετηθεί ενδελεχώς ως φαινόμενο και έχουν προταθεί αρκετές μέθοδοι καταπολέμησης της. Οι κυριότερες από αυτές είναι η χρήση ανόργανων προσθέτων, η μείωση της θερμοκρασίας, η μείωση του pH, η αραιώση με νερό και η ρύθμιση της αναλογίας άνθρακα/αζώτου (C/N). (Wang et al., 2016)

Η προσθήκη ορυκτών με υψηλή κατιονανταλλακτική ικανότητα, όπως ο φυσικός ζεόλιθος και ο ενεργός άνθρακας, στον βιοαντιδραστήρα οδηγεί στη δέσμευση του αμμωνιακού ιόντος. Καθώς η συγκέντρωση του αμμωνιακού ιόντος μειώνεται, λόγω της ισορροπίας μεταξύ ελεύθερης αμμωνίας και αμμωνιακού ιόντος, μέρος της ελεύθερης αμμωνίας μετατρέπεται σε αμμωνιακό ιόν. Αποτέλεσμα αυτής της διεργασίας είναι η μείωση της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας στον βιοαντιδραστήρα. (Tada et al., 2005)

Μία άλλη μέθοδος για την αποφυγή εμφάνισης τοξικότητας της αμμωνίας είναι η προεπεξεργασία των αποβλήτων πριν την εισαγωγή τους στον βιοαντιδραστήρα με σκοπό τη μείωση της περιεχόμενης αμμωνίας. Η διεργασία αυτή είναι γνωστή ως απογύμνωση αμμωνίας (Ammonia Stripping) και περιλαμβάνει τη θερμική κατεργασία ή την χρήση προσθέτων στα απόβλητα για την αύξηση του pH τους. Η αύξηση της θερμοκρασίας και του pH των αποβλήτων οδηγεί στη μετατροπή του αμμωνιακού ιόντος σε ελεύθερη αμμωνία, η οποία σε θερμοκρασία περιβάλλοντος βρίσκεται σε αέρια μορφή. Στη συνέχεια όταν τα απόβλητα έρχονται σε επαφή με ένα ρεύμα αέρα, η ελεύθερη αμμωνία προσροφάται στην αέρια φάση και απομακρύνεται από τα απόβλητα. (Zhang & Jahng, 2010)

Η αραιώση του υποστρώματος με νερό μειώνει τη συνολική συγκέντρωση της αμμωνίας όμως αυξάνει τον όγκο των αποβλήτων προς επεξεργασία και μειώνει το παραγόμενο μεθάνιο ανά κυβικό μέτρο αποβλήτου. Για την επίτευξη της ρύθμισης της αναλογίας C/N απαιτείται η ανάμιξη των αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση αμμωνίας με απόβλητα υψηλής συγκέντρωσης σε άνθρακα. Όμως, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η διαθεσιμότητα αποβλήτων με χαμηλή συγκέντρωση αμμωνίας δεν είναι σταθερή και συνήθως είναι περιορισμένη. Ενώ η χρήση χωνεμένου υπολείμματος οδηγεί στα ίδια προβλήματα με την αραιώση με νερό.

Οι παραπάνω μέθοδοι παρότι είναι αποτελεσματικές στην μείωση της τοξικότητας της αμμωνίας αποδεικνύονται κοστοβόρες και δύσχρηστες για βιομηχανική εφαρμογή. Μία καινοτόμα μέθοδος αντιμετώπισης της τοξικότητας αμμωνίας είναι η βιοενίσχυση, η οποία μπορεί να γίνει με την προσθήκη ανθεκτικών - εγκλιματισμένων μικροοργανισμών σε υψηλά επίπεδα αμμωνίας, στον βιοαντιδραστήρα. Ο εγκλιματισμός των μικροοργανισμών πραγματοποιείται με σταδιακή έκθεση του πληθυσμού σε όλο και αυξανόμενες συγκεντρώσεις αμμωνίας. Η σταδιακή αύξηση (stepwise increase) της συγκέντρωσης της αμμωνίας οδηγεί στην ανάπτυξη των πιο ανθεκτικών στελεχών των μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα ο τελικός πληθυσμός να μπορεί να λειτουργήσει αποτελεσματικά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αμμωνίας.

Μέχρι τώρα ο εγκλιματισμός μικροοργανισμών έχει επιτευχθεί με πολλές μεθόδους. Η κυριότερη μέθοδος είναι ο εγκλιματισμός σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (Batch Reactors). Όμως ανάλογα με τις επιθυμητές ιδιότητες του εγκλιματισμένου πληθυσμού έχουν χρησιμοποιηθεί και αντιδραστήρες συνεχούς και ανοδικής ροής (UASB Reactors) καθώς και αντιδραστήρες συνεχούς ροής και ανάδευσης (CSTR). Επίσης έχει επιτευχθεί ο εγκλιματισμός πολλών μεμονωμένων καλλιεργειών μεθανογόνων μικροοργανισμών, ανάλογα με τις απαιτήσεις της εκάστοτε έρευνας.

Η παραγωγή μεθανίου αποτελεί μία συνεργιστική διεργασία, η λειτουργία της οποίας δεν εξαρτάται μόνο από τους μεθανογόνους, αλλά από ένα μεγάλο εύρος μικροοργανισμών. Διαφορετικά είδη μικροοργανισμών μεταβολίζουν τις διαφορετικές οργανικές ενώσεις, δημιουργώντας έτσι μία αλυσίδα όπου οι μεγαλύτερες οργανικές ενώσεις διασπώνται μέχρι να καταλήξουν στη μορφή του μεθανίου (CH_4). Οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί, εκτός από την τοξικότητα που παρουσιάζουν στην αμμωνία, είναι και αυτοί με τον πιο αργό ρυθμό ανάπτυξης καθιστώντας τη μεθανογένεση το πιο αργό στάδιο της διεργασίας παραγωγής μεθανίου. Συνεπώς

σε διεργασίες συνεχούς λειτουργίας με χαμηλούς χρόνους υδραυλικής συγκράτησης (HRT), η παραγωγή μεθανίου μπορεί να μειωθεί λόγω του φαινομένου της έκπλυσης των μικροοργανισμών. Κατά την έκπλυση, ο ταχύς ρυθμός εκροής από τον αντιδραστήρα οδηγεί στην απομάκρυνση μικροοργανισμών σε ποσότητες που ο ρυθμός ανάπτυξής τους αδυνατεί να αναπληρώσει, με αποτέλεσμα την μείωση του πληθυσμού στον αντιδραστήρα και τη μείωση της παραγωγής βιοαερίου. Έτσι συχνά παρουσιάζεται το φαινόμενο της αποτυχίας της βιοενίσχυσης λόγω της έκπλυσης παρά του υψηλού ρυθμού αναπαραγωγής των μικροοργανισμών.

Για την εμπορική παραγωγή βιοαερίου, είναι σημαντικό να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή του μεθανίου και ταυτόχρονα και ο όγκος των αποβλήτων που επεξεργάζονται. Αυτό επιτυγχάνεται συνήθως με την αύξηση του ρυθμού παροχής οργανικού φορτίου (OLR) και τη μείωση του HRT (Angelidaki & Batstone, 2011). Η μείωση του HRT μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα έκπλυσης των βραδύτερα αναπτυσσόμενων μεθανογόνων μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων (VFA). Η συσσώρευση των VFA μπορεί να συμβεί και σε υψηλό OLR, καθώς οι μεθανογενείς μικροοργανισμοί δεν είναι ικανοί να μετατρέψουν τα παραγόμενα VFA λόγω του χαμηλότερου ρυθμού ανάπτυξής τους σε σύγκριση με τα οξεογόνα βακτήρια.

Στην παρούσα εργασία σε αντιδραστήρες CSTR που λειτουργούσαν κάτω από συνθήκες τοξικότητας (6000ppm) έγινε βιοενίσχυση. Η τιμή αυτή της συγκέντρωσης επιλέχθηκε καθώς αποτελεί τη μέγιστη συγκέντρωση αμμωνίας στην οποία λειτουργούν μονάδες βιοαερίου στον ελληνικό χώρο, των οποίων η τροφοδοσία αποτελείται σε μεγάλο μέρος από απόβλητα παραγωγικών ζώων με υψηλή πρωτεϊνική διατροφή, όπως απόβλητα ορνιθοτροφείων και εκτροφείων μινκ (Kalamaras & Kotsopoulos, 2014), όπως ανέφερε και ο εταίρος του έργου Εργαστήριο Αναλύσεων και Ποιοτικού Ελέγχου QLAB, που διενεργεί συχνές αναλύσεις των

αποβλήτων που χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη σε μονάδες βιοαερίου. Η επίδραση του HRT κατά την τοξικότητα και τη βιοενίσχυση σε αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας και ανάδευσης (CSTR) ως προς την παραγωγή μεθανίου, το pH και τα VFA, ερευνήθηκε ενδελεχώς. Η αποτελεσματικότητα μίας μεθόδου μείωσης της τοξικότητας μπορεί να μην εξαρτάται μόνο από τον εισαγόμενο εγκλιματισμένο πληθυσμό στον αντιδραστήρα αλλά και από τη ρύθμιση του HRT. Συνεπώς, η βιοενίσχυση πραγματοποιείται όταν οι αντιδραστήρες ήδη λειτουργούσαν υπό διαφορετικά HRT με σκοπό να προσδιοριστεί αν ο εγκλιματισμένος πληθυσμός, παρόλο τον υψηλό ρυθμό αναπαραγωγής του, παραμένει στον αντιδραστήρα και είναι ανταγωνιστικός στο αλληλεπιδρών σύνθετο περιβάλλον.

Ο εγκλιματισμός των μικροοργανισμών πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση αμμωνίας 6000 ppm, με τη μέθοδο της σταδιακής αύξησης της συγκέντρωσης, σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (Batch Reactors). Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν μικροβιακές αναλύσεις πριν και μετά την εισαγωγή του εγκλιματισμένου πληθυσμού, όπως και μετά από αρκετό χρόνο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ

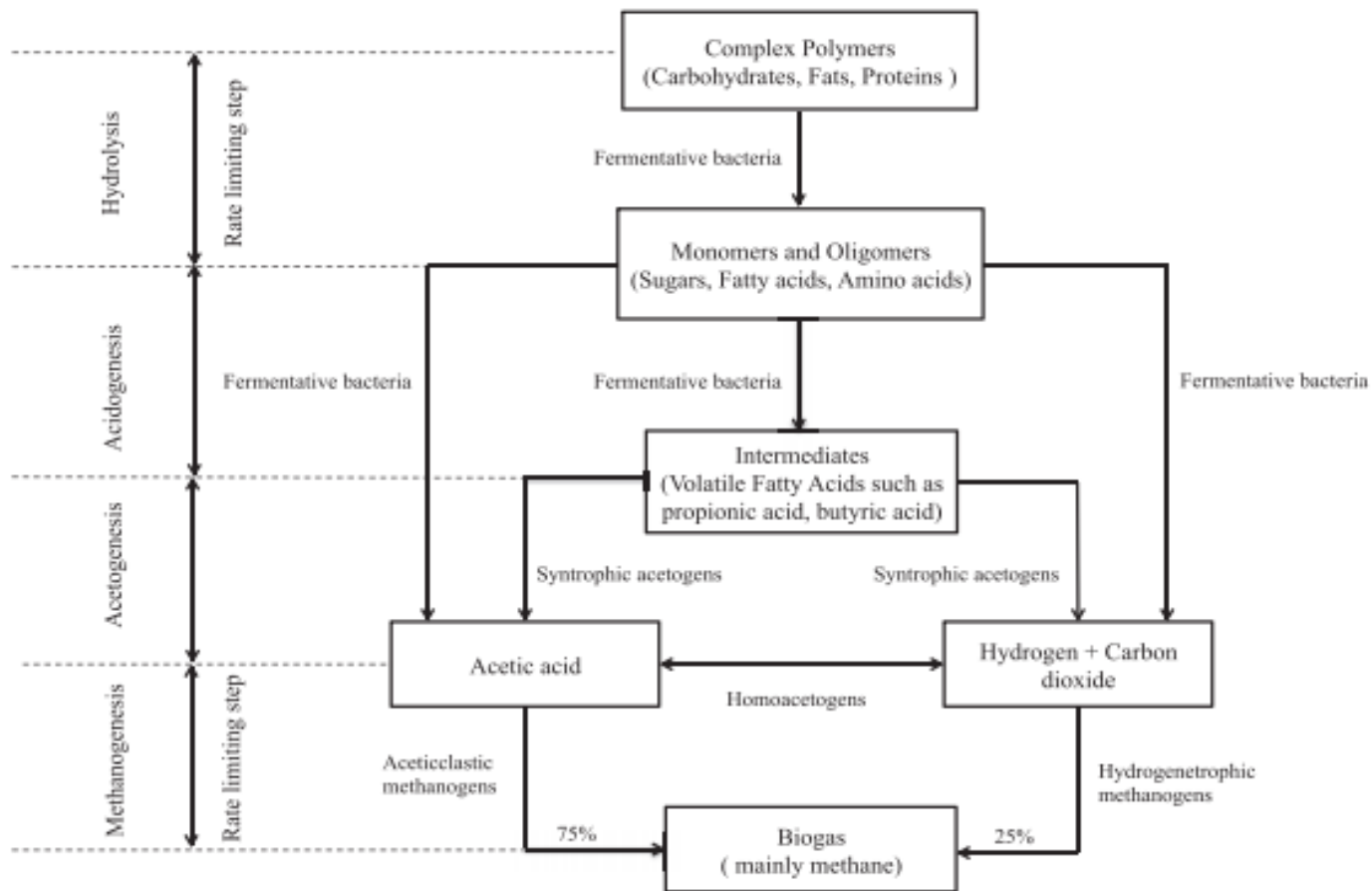
Η αναερόβια αποικοδόμηση είναι η διεργασία αποσύνθεσης οργανικής ύλης με τη χρήση μικροοργανισμών σε αναερόβιο περιβάλλον (απουσία οξυγόνου). Είναι μία διεργασία που απαντάται σε πολλά φυσικά ανοξικά περιβάλλοντα, όπως υδατορεύματα, ιζήματα, υδάτινα εδάφη και στην εντερική λειτουργία των θηλαστικών. Εμπορικά μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα ευρύ φάσμα πρώτων υλών με υψηλά ποσοστά οργανικής ουσίας, που λειτουργούν ως υπόστρωμα για την αναερόβια αποικοδόμηση. Κατάλληλα υποστρώματα αποτελούν τα βιομηχανικά και αστικά λύματα, τα απορρίμματα βιομηχανίας τροφίμων καθώς και αγροτικά και κτηνοτροφικά υπολείμματα. (Kiyasudeen S et al., 2016)

Η οργανική ουσία του κάθε υποστρώματος περιλαμβάνει τις λιγνοκυτταρινούχες ουσίες, τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λίπη που περιέχονται σε αυτό. Ένα μεγάλο ποσοστό της φυτικής βιομάζας αποτελείται από λιγνοκυτταρινούχες ουσίες, όπως τα γεωργικά υπολείμματα, τα δασικά υποπροϊόντα και οι ενεργειακές καλλιέργειες. Λόγω της σύνθεσης και της δομής τους η διάσπαση των λιγνοκυτταρινούχων ουσιών κατά την αναερόβια αποικοδόμηση αποδεικνύεται δύσκολη με αποτέλεσμα μικρό ποσοστό τους να μετατρέπεται σε βιοαέριο (Appels et al., 2011). Η απόδοσή τους κατά την αναερόβια αποικοδόμηση μπορεί να βελτιωθεί με διάφορες μεθόδους προεπεξεργασίας (Kalamaras & Kotsopoulos, 2014).

Τα απόβλητα γαλακτοβιομηχανιών και σφαγείων είναι ιδιαίτερα πλούσια σε πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λίπη (Xu et al., 2018). Οι τρεις αυτές κατηγορίες περιλαμβάνουν μακρομοριακές οργανικές ενώσεις, οι οποίες κατά την αναερόβια αποικοδόμηση διασπώνται πλήρως και έχουν υψηλή απόδοση στην παραγωγή βιοαερίου (Appels et al., 2011). Οι πρωτεΐνες

συγκεκριμένα, κατά την αποικοδόμησή τους, παράγουν και ελεύθερη αμμωνία η οποία λειτουργεί ανασταλτικά κατά την αναερόβια αποικοδόμηση (Chen et al., 2008).

Τα κύρια προϊόντα της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης είναι το βιοαέριο και το χωνεμένο υπόλειμμα. Το βιοαέριο αποτελείται κυρίως από μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα. Η διεργασία της αναερόβιας αποικοδόμησης, παράγει μικρή ποσότητα θερμότητας σε αντίθεση με αερόβιες διεργασίες αποσύνθεσης (παρουσία οξυγόνου), όπως συμβαίνει με την κομποστοποίηση. Η ενέργεια, η οποία αρχικά δεσμευόταν χημικά στο υπόστρωμα, παραμένει κυρίως στο παραγόμενο βιοαέριο, με τη μορφή μεθανίου. Η διαδικασία σχηματισμού βιοαερίου είναι αποτέλεσμα διαδοχικών σταδίων, κατά τα οποία οι αρχικές μακρομοριακές οργανικές ενώσεις διασπώνται συνεχώς σε μικρότερες μονάδες. Συγκεκριμένες ομάδες μικροοργανισμών εμπλέκονται σε κάθε μεμονωμένο στάδιο. Αυτοί οι μικροοργανισμοί αποσυνθέτουν διαδοχικά τα προϊόντα των προηγούμενων βημάτων (Al Seadi et al., 2008). Στο απλοποιημένο διάγραμμα της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης (Σχήμα 2.1), παρουσιάζονται τα τέσσερα βασικά στάδια της διεργασίας: υδρόλυση, οξεογένεση, οξικογένεση και μεθανογένεση.



Σχήμα 2.1: Απλοποιημένη σχηματική πορεία της αναερόβιας αποικοδόμησης (Chen et al., 2016)

Τα στάδια της διεργασίας που αναφέρονται στο Σχήμα 2.1 πραγματοποιούνται παράλληλα στον όγκο του βιοαντιδραστήρα. Η συνολική ταχύτητα της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης καθορίζεται από το πιο αργό στάδιο. Στην περίπτωση της αναερόβιας αποικοδόμησης το πιο αργό στάδιο είναι η μεθανογένεση (Rajagopal et al., 2013). Κατά την υδρόλυση, την οξεογένεση και την οξικογένεση, παράγονται σχετικά μικρές ποσότητες βιοαερίου, ενώ η παραγωγή βιοαερίου φτάνει στο αποκορύφωμά της κατά τη μεθανογένεση.

Πίνακας 2.1: Αντιδράσεις της αναερόβιας αποικοδόμησης (Bajrai, 2017)

Υδρόλυση	$C_6H_{10}O_4 + 2H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + H_2$
Οξεογένεση	$C_6H_{12}O_6 \leftrightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$
	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \leftrightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$ $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3CH_3COOH$
	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \leftrightarrow CH_3COO^- + H^+ + HCO_3^- + 3H_2$
Οξικογένεση	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \leftrightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$
	$CH_3CH_2OH + 2H_2O \leftrightarrow CH_3COO^- + 3H_2 + H^+$
	$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$
Μεθανογένεση	$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$
	$2CH_3CH_2OH + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2CH_3COOH$

2.1.1 Υδρόλυση

Η υδρόλυση είναι το πρώτο στάδιο της αναερόβιας αποικοδόμησης, κατά το οποίο η σύνθετη οργανική ύλη (πολυμερή) αποσυντίθεται σε μικρότερες μονάδες (μονομερή και ολιγομερή). Κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης, πολυμερή όπως υδατάνθρακες, λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα και πρωτεΐνες μετατρέπονται σε γλυκόζη, γλυκερόλη, πουρίνες και πυριδίνες. (Al Seadi et al., 2008)

Οι υδρολυτικοί μικροοργανισμοί εκκρίνουν υδρολυτικά ένζυμα, μετατρέποντας τα αδιάλυτα στην υδατική φάση οργανικά πολυμερή σε απλούστερες και διαλυτές ενώσεις. Ενώ ορισμένα προϊόντα της υδρόλυσης όπως το υδρογόνο και το οξικό οξύ μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς η πλειονότητα των μορίων, τα οποία ήταν ακόμη σχετικά μεγάλα, πρέπει να διασπαστούν περαιτέρω σε μικρότερα, όπως οξικό οξύ, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή μεθανίου. Η υδρόλυση είναι ένα σχετικά

αργό βήμα και μπορεί να περιορίσει το ρυθμό της συνολικής αναερόβιας αποικοδόμησης. (Bajpai, 2017)

2.1.2 Οξεογένεση και οξικογένεση

Η υδρόλυση ακολουθείται αμέσως από το στάδιο σχηματισμού οξέων, την οξεογένεση. Σε αυτό το στάδιο, οι οργανικές ενώσεις μετατρέπονται από οξεο-παραγωγικά βακτήρια σε ανώτερα οργανικά οξέα όπως προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ και οξικό οξύ καθώς και σε υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα. Στη συνέχεια, κατά την οξικογένεση, τα ανώτερα οργανικά οξέα διασπώνται σε οξικό οξύ και υδρογόνο από οξικο-παραγωγικά βακτήρια. Η σαφής διάκριση μεταξύ των σταδίων της οξεογένεσης και της οξικογένεσης δεν είναι πάντα εφικτή. Το οξικό οξύ και το υδρογόνο που παράγονται κατά τη διάρκεια των δύο σταδίων αποτελούν αμφοτέρα υποστρώματα για τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. (Bajpai, 2017)

Τα οξεο-παραγωγικά και τα οξικο-παραγωγικά βακτήρια ανήκουν σε μια μεγάλη και πολυποίκιλη ομάδα η οποία περιλαμβάνει τόσο προαιρετικά όσο και υποχρεωτικά αναερόβιους μικροοργανισμούς. Οι προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να επιβιώνουν τόσο σε αερόβιο όσο και σε αναερόβιο περιβάλλον ενώ για τους υποχρεωτικά αναερόβιους μικροοργανισμούς το οξυγόνο είναι τοξικό. Τα γένη που έχουν απομονωθεί από αναερόβιους αντιδραστές περιλαμβάνουν: *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Desulfovibrio*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Saccharolobus*, *Saccharosporium*, *Saccharosporium*. (Bajpai, 2017)

2.2 ΜΕΘΑΝΟΓΕΝΕΣΗ

2.2.1 Γενικά

Η παραγωγή του μεθανίου και του διοξειδίου του άνθρακα, που αποτελούν τα κύρια συστατικά του βιοαερίου, πραγματοποιείται από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. Το μεθάνιο σχηματίζεται με δύο οδούς από την αποικοδόμηση του οξικού οξέος (CH_3COOH), και από την αποικοδόμηση του υδρογόνου (H_2) και του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) (Rajagopal et al., 2013). Παραγωγή μεθανίου μπορεί να προκύψει και από την αποικοδόμηση της μεθανόλης (CH_3OH) από μεθυλοτρόφους μικροοργανισμούς (Ochsner et al., 2015), όμως η επίδρασή τους θεωρείται αμελητέα στην παρούσα εργασία.

Η μετατροπή του οξικού οξέος σε μεθάνιο μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω δύο διαφορετικών βιολογικών διεργασιών. Η πρώτη διεργασία είναι η οξικολυτική μεθανογένεση, η οποία πραγματοποιείται από τους μικροοργανισμούς *Methanosarcinaceae* ή *Methanosaetaceae*. Η δεύτερη διεργασία περιλαμβάνει δύο στάδια, την συντροφική οξείδωση του οξικού οξέος (SAO) σε H_2 και CO_2 και στην συνέχεια τη μετατροπή αυτών των προϊόντων σε CH_4 με υδρογονοτροφική μεθανογένεση. Θερμοδυναμικά, η οξείδωση του οξικού οξέος είναι κατώτερη από την οξικολυτική οδό και μπορεί να συμβεί μόνο εάν οι μερικές πιέσεις του H_2 διατηρούνται χαμηλές με την ταυτόχρονη κατανάλωση H_2 κατά τη μεθανογένεση. Θεωρητικά το μεγαλύτερο μέρος του παραγόμενου CH_4 (έως 67%) προέρχεται άμεσα από οξικά ιόντα, επομένως η λειτουργία και η βελτιστοποίηση των αντιδραστήρων βιοαερίου βασίζονται επί του παρόντος στη διατήρηση των οξικολυτικών μεθανογόνων μικροοργανισμών. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες διαπίστωσαν ότι η συντροφική οδός είναι σημαντική σε θερμοφιλες διεργασίες ή όταν η διεργασία υποβάλλεται σε στρεσογόνες περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι συντροφικοί μικροοργανισμοί οξείδωσης του οξικού οξέος και οι υδρογονοτροφικοί

μικροοργανισμοί ξεπερνούν τους οξικολυτικούς μεθανογόνους μικροοργανισμούς στην παραγωγή μεθανίου. (Hao et al., 2011)

Η μεθανογένεση αποτελεί το πιο κρίσιμο στάδιο σε ολόκληρη τη διεργασία αναερόβιας αποικοδόμησης, καθώς είναι η πιο αργή βιοχημική αντίδραση της διαδικασίας. Επίσης η μεθανογένεση είναι ιδιαίτερος ευαίσθητη και επηρεάζεται σοβαρά από τις συνθήκες λειτουργίας του βιοαντιδραστήρα. Η σύνθεση της πρώτης ύλης, ο ρυθμός τροφοδοσίας, η θερμοκρασία και το pH είναι παραδείγματα παραγόντων που επηρεάζουν τη διαδικασία μεθανογένεσης. (Al Seadi et al., 2008)

2.2.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη μεθανογένεση

Η αναερόβια αποικοδόμηση επηρεάζεται από ορισμένες κρίσιμες παραμέτρους, επομένως είναι ζωτικής σημασίας να παρέχονται οι κατάλληλες συνθήκες για τους αναερόβιους μικροοργανισμούς. Η ανάπτυξη και η δραστηριότητα των αναερόβιων μικροοργανισμών επηρεάζεται σημαντικά από παραμέτρους όπως η έλλειψη οξυγόνου, η σταθερή θερμοκρασία, η τιμή του pH, η παροχή θρεπτικών ουσιών, η ένταση της ανάδευσης καθώς και η παρουσία και η ποσότητα αναστολέων (π.χ. αμμωνία). Οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί είναι αποκλειστικά αναερόβιοι, συνεπώς η παρουσία οξυγόνου κατά τη διεργασία της αποικοδόμησης πρέπει να αποφεύγεται αυστηρά. (Chen et al., 2016)

2.2.1.1 Επιρροή του pH

Η τιμή του pH είναι το μέτρο της οξύτητας / αλκαλικότητας ενός διαλύματος (αντίστοιχα του υποστρώματος στην περίπτωση της αναερόβιας αποικοδόμησης) και εκφράζεται σε μέρη ανά εκατομμύριο (ppm). Η τιμή του pH του υποστρώματος επηρεάζει την ανάπτυξη των μεθανογόνων μικροοργανισμών και την διάλυση ορισμένων ενώσεων που έχουν σημασία για τη

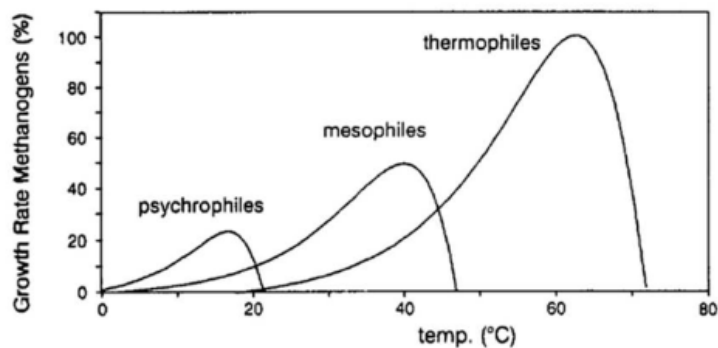
διεργασία της αναερόβιας αποικοδόμησης (αμμωνία, σουλφίδια, οργανικά οξέα). Ο σχηματισμός μεθανίου λαμβάνει χώρα σε σχετικά μικρό εύρος pH, από περίπου 5.5 έως 8.5, με βέλτιστο εύρος μεταξύ 7.0-8.0 για τους περισσότερους μεθανογόνους μικροοργανισμούς. (Al Seadi et al., 2008)

Το βέλτιστο εύρος pH για μεσόφιλες διεργασίες είναι μεταξύ 6.5 και 8.0 και υπάρχει σοβαρή αναστολή της διεργασίας εάν η τιμή του pH μειωθεί κάτω από 6.0 ή αυξηθεί πάνω από 8.3. Η διαλυτότητα του διοξειδίου του άνθρακα στο νερό μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Συνεπώς η τιμή του pH σε θερμοφιλες διεργασίες είναι υψηλότερη από αυτή των μεσόφιλων διεργασιών, καθώς υπάρχει παραγωγή ανθρακικού οξέος από την αντίδραση του διαλυμένου διοξειδίου του άνθρακα με το νερό. (Angelidaki et al., 2003)

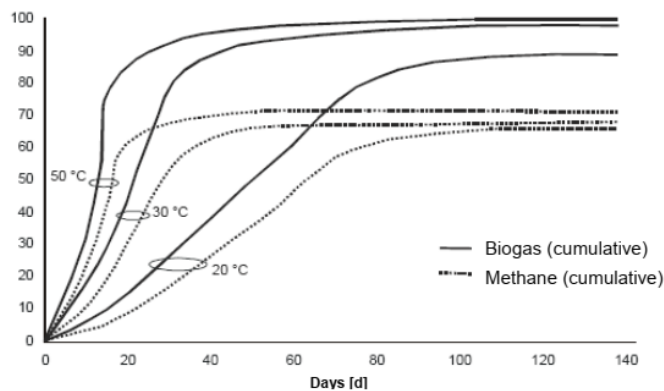
Η τιμή του pH μπορεί να αυξηθεί από την αμμωνία, που παράγεται κατά την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών ή λόγω της παρουσίας αμμωνίας στην ροή τροφοδοσίας, ενώ η συσσώρευση των VFA μειώνει την τιμή του pH. Η τιμή του pH στους αναερόβιους αντιδραστήρες ελέγχεται κυρίως από τη ρυθμιστική δυνατότητα του διοξειδίου του άνθρακα. Ως εκ τούτου, η τιμή του pH στους αντιδραστήρες εξαρτάται από τη μερική πίεση του CO₂ και από την συγκέντρωση αλκαλικών και όξινων συστατικών στην υγρή φάση. Εάν υπάρξει συσσώρευση βασικών ή όξινων στοιχείων, η ρυθμιστική ικανότητα εξουδετερώνει αυτές τις αλλαγές στο pH, μέχρι ένα συγκεκριμένο επίπεδο. Όταν υπάρξει υπέρβαση της ρυθμιστικής ικανότητας του συστήματος παρατηρούνται δραστικές αλλαγές στις τιμές του pH αναστέλλοντας τη διεργασία της αναερόβιας αποικοδόμησης. Για το λόγο αυτό, η τιμή pH δεν συνιστάται ως αυτόνομη παράμετρος παρακολούθησης της διεργασίας. (Angelidaki & Batstone, 2011)

2.2.1.2 Επιρροή της Θερμοκρασίας

Η αναερόβια αποικοδόμηση μπορεί να πραγματοποιηθεί σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Οι θερμοκρασίες λειτουργίας χωρίζονται σε τρεις περιοχές, ψυχρόφιλη (κάτω από 25°C), μεσόφιλη (25°C - 45°C) και θερμόφιλη (45°C - 70°C). Η θερμοκρασία λειτουργίας καθορίζει και την ποικιλία των μεθανογόνων μικροοργανισμών που θα αναπτυχθούν κατά την αναερόβια αποικοδόμηση, με τους μικροοργανισμούς να χωρίζονται αντίστοιχα σε ψυχρόφιλους, μεσόφιλους και θερμόφιλους. Επίσης υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της θερμοκρασίας λειτουργίας και του HRT της διεργασίας.



Σχήμα 2.2: Σχετικός ρυθμός ανάπτυξης μεθανογόνων μικροοργανισμών (Angelidaki & Batstone, 2011)



Σχήμα 2.3: Σχετική παραγωγή μεθανίου βάση θερμοκρασίας και υδραυλικού χρόνου συγκράτησης (Al Seadi et al., 2008)

Οι θερμοφιλες διεργασίες παρέχουν πολλά πλεονεκτήματα, σε σύγκριση με τις μεσόφιλες και τις ψυχρόφιλες διεργασίες (Angelidaki et al., 2003):

- αποτελεσματική καταστροφή παθογόνων
- υψηλότερος ρυθμός ανάπτυξης μεθανογόνων μικροοργανισμών
- μειωμένος χρόνος συγκράτησης, καθιστώντας τη διαδικασία ταχύτερη και πιο αποτελεσματική
- βελτιωμένη αποικοδόμηση και μεγαλύτερη διαθεσιμότητα υποστρωμάτων
- καλύτερη αποδόμηση στερεών υποστρωμάτων
- καλύτερη δυνατότητα διαχωρισμού υγρών και στερεών κλασμάτων

Η θερμοφιλή διαδικασία έχει επίσης μερικά μειονεκτήματα (Angelidaki et al., 2003):

- μεγαλύτερος βαθμός ανισορροπίας
- μεγαλύτερες απαιτήσεις σε ενέργεια λόγω υψηλής θερμοκρασίας
- υψηλότερος κίνδυνος τοξικότητας αμμωνίας

Η διαλυτότητα διαφόρων ενώσεων (NH_3 , H_2 , CH_4 , H_2S και VFA) εξαρτάται επίσης από τη θερμοκρασία. Αυτό μπορεί να έχει μεγάλη σημασία για υλικά που έχουν ανασταλτική επίδραση στη διαδικασία (Angelidaki & Batstone, 2011).

Πίνακας 2.2: Σχέση μεταξύ θερμοκρασίας και διαλυτότητας αερίων στην υγρή φάση (Angelidaki & Batstone, 2011)

Αέριο	Θερμοκρασία (°C)	Διαλυτότητα (mmol/L νερού)	Μεταβολή Διαλυτότητας 50°C-35°C
H ₂	35	0.749	3.3%
	50	0.725	
CO ₂	35	26.6	36%
	50	19.6	
H ₂ S	35	82.2	31%
	50	62.8	
CH ₄	35	1.14	19%
	50	0.962	

Το ιξώδες του υποστρώματος είναι αντιστρόφως ανάλογο με τη θερμοκρασία, συνεπώς σε υψηλές θερμοκρασίες διευκολύνεται η διάχυση του διαλυμένου υλικού. Η θερμοφιλή θερμοκρασία λειτουργίας έχει ως αποτέλεσμα ταχύτερους ρυθμούς χημικής αντίδρασης, άρα καλύτερη απόδοση παραγωγής μεθανίου, υψηλότερη διαλυτότητα και χαμηλότερο ιξώδες. (Ahring, 2003)

Οι υψηλότερες ενεργειακές απαιτήσεις της θερμοφιλής διεργασίας δικαιολογούνται από την υψηλότερη απόδοση βιοαερίου. Είναι σημαντικό να διατηρείται μια σταθερή θερμοκρασία κατά τη διαδικασία της αποικοδόμησης, καθώς οι αλλαγές της θερμοκρασίας επηρεάζουν αρνητικά την παραγωγή βιοαερίου. Οι θερμοφιλοι μικροοργανισμοί είναι πιο ευαίσθητοι στις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας +/- 1 °C και απαιτούν περισσότερο χρόνο για να προσαρμοστούν σε μια νέα θερμοκρασία, προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη παραγωγή μεθανίου. Οι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί είναι λιγότερο ευαίσθητοι. Οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας +/- 3 °C είναι ανεκτές, χωρίς σημαντικές μειώσεις στην παραγωγή μεθανίου. (Ahring, 2003)

2.2.1.3 Πτητικά λιπαρά οξέα

Η σταθερότητα της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης αντικατοπτρίζεται από τη συγκέντρωση ενδιάμεσων προϊόντων όπως τα πτητικά λιπαρά οξέα (VFA). Τα VFA είναι ενδιάμεσες ενώσεις (οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, γαλακτικό οξύ), που παράγονται κατά τη διάρκεια της οξεογένεσης. Στις περισσότερες περιπτώσεις, κάποια αστάθεια της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης οδηγεί σε συσσώρευση VFA εντός του αντιδραστήρα, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε επιπλέον πτώση της τιμής του pH. Ωστόσο, η συσσώρευση των VFA δεν συνοδεύεται πάντοτε από πτώση της τιμής του pH, λόγω της ρυθμιστικής ικανότητας του αντιδραστήρα. (Angelidaki & Batstone, 2011)

Εκτός από την επίδρασή της στο pH, η αύξηση της συγκέντρωσης των VFA μπορεί να λειτουργήσει ανασταλτικά κατά την αναερόβια αποικοδόμηση (Jiang et al., 2019). Όμως εμπειρικά δεδομένα φανερώνουν πως δύο διαφορετικοί αντιδραστήρες μπορούν να συμπεριφέρονται εντελώς διαφορετικά σε σχέση με την ίδια συγκέντρωση VFA, έτσι ώστε η ίδια συγκέντρωση VFA να είναι βέλτιστη για τον ένα αντιδραστήρα, αλλά ανασταλτική για κάποιον άλλο. Μία από τις πιθανές εξηγήσεις μπορεί να είναι το γεγονός ότι η σύνθεση των πληθυσμών των μικροοργανισμών ποικίλλει σε κάθε αντιδραστήρα. Για το λόγο αυτόν, όπως και στην περίπτωση του pH, η συγκέντρωση των VFA δεν συνιστάται ως αυτόνομη παράμετρος παρακολούθησης της διεργασίας. (Angelidaki & Batstone, 2011)

2.2.1.4 Ιχνοστοιχεία και τοξικές ενώσεις

Τα ιχνοστοιχεία όπως σίδηρος, νικέλιο, κοβάλτιο, σελήνιο, μολυβδαίνιο ή βολφράμιο είναι εξίσου σημαντικά για την ανάπτυξη και την επιβίωση των μικροοργανισμών που συμμετέχουν στην αναερόβια αποικοδόμηση μαζί με τα θρεπτικά στοιχεία (άνθρακας, άζωτο,

φωσφόρος και θείο). Η βέλτιστη αναλογία του άνθρακα, του αζώτου, του φωσφόρου και του θείου (C: N: P: S) θεωρείται 600: 15: 5: 1. Η ανεπαρκής παροχή θρεπτικών ουσιών και ιχνοστοιχείων μπορούν να προκαλέσουν αναστολή και διαταραχές στη διεργασία της αναερόβιας αποικοδόμησης. (Al Seadi et al., 2008)

Ένας άλλος παράγοντας, που επηρεάζει τη δραστηριότητα των αναερόβιων μικροοργανισμών, είναι η παρουσία τοξικών ενώσεων. Μπορούν να εισαχθούν στον αντιδραστήρα μαζί με το υπόστρωμα ή να δημιουργηθούν κατά τη διάρκεια της αναερόβιας αποικοδόμησης. Ο ορισμός οριακών τιμών για τις τοξικές ενώσεις είναι δύσκολος, αφενός, επειδή τέτοιου είδους υλικά συχνά δεσμεύονται από χημικές διεργασίες και αφετέρου, λόγω της ικανότητας των αναερόβιων μικροοργανισμών να προσαρμόζονται, εντός ορισμένων ορίων, σε περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η παρουσία τοξικών ενώσεων (Chen et al., 2016). Μία τοξική ένωση είναι η αμμωνία που αναλύεται εκτενέστερα στο παρακάτω υποκεφάλαιο.

2.3 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΜΜΩΝΙΑΣ

2.3.1 Πηγές αμμωνίας

Η αμμωνία παράγεται κατά την αναερόβια αποικοδόμηση της ουρίας ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) ή των πρωτεϊνών που περιέχονται στο εκάστοτε υπόστρωμα. Υποστρώματα με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο περιλαμβάνουν την κόπρο χοίρων, την κόπρο πουλερικών, απόβλητα σφαγείων και γαλακτοκομικών μονάδων. Στον Πίνακα 2.3 παρουσιάζονται ενδεικτικές τιμές του πρωτεϊνικού περιεχομένου μερικών κοινών υποστρωμάτων.

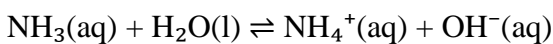
Πίνακας 2.3 Πρωτεϊνικό περιεχόμενο(Jingura & Kamusoko, 2017), (Wang et al., 2018)

Υπόστρωμα	Πρωτεϊνικό Περιεχόμενο (% ξηρής βάσης)
Κόπρος Αγελάδων	18.1
Κόπρος Χοίρων	22.7
Κόπρος Πουλερικών	31.6
Απόβλητα Σφαγείου (Χοίροι)	56.0
Απόβλητα Σφαγείου (Βοοειδή)	25.1

2.3.2 Επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στην αναερόβια αποικοδόμηση

Ο πιο κοινός αναστολέας της αναερόβιας αποικοδόμησης είναι η αμμωνία. Η αμμωνία εισέρχεται στην διεργασία είτε ως μέρος του υποστρώματος, είτε από αποικοδόμηση πρωτεϊνών και άλλων ενώσεων όπως η ουρία. Πολλά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται κατά την αναερόβια αποικοδόμηση συχνά περιέχουν αμμωνία σε τοξικές συγκεντρώσεις. Τέτοια υποστρώματα περιλαμβάνουν κοπριά χοίρων και πουλερικών, απόβλητα σφαγείων και τυροκομείων. (Angelidaki et al., 2003)

Σε υδατικά διαλύματα η αμμωνία συναντάται σε δύο μορφές, την ελεύθερη αμμωνία (NH_3) και το αμμωνιακό ιόν (NH_4^+) οι οποίες βρίσκονται σε ισορροπία. Η ισορροπία εκφράζεται από τη σχέση:



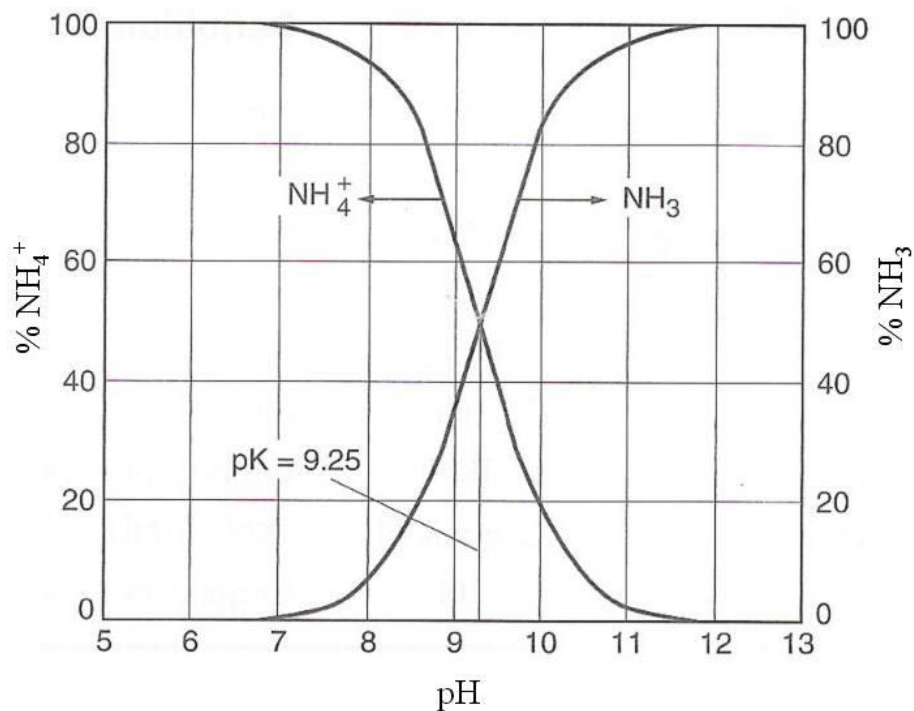
με σταθερά ιονισμού: $K_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}$

Όπου:

$[\text{NH}_4^+]$: η συγκέντρωση του αμμωνιακού ιόντος σε mol/L

$[\text{OH}^-]$: η συγκέντρωση των ιόντων υδροξειδίου σε mol/L

$[\text{NH}_3]$: η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας σε mol/L

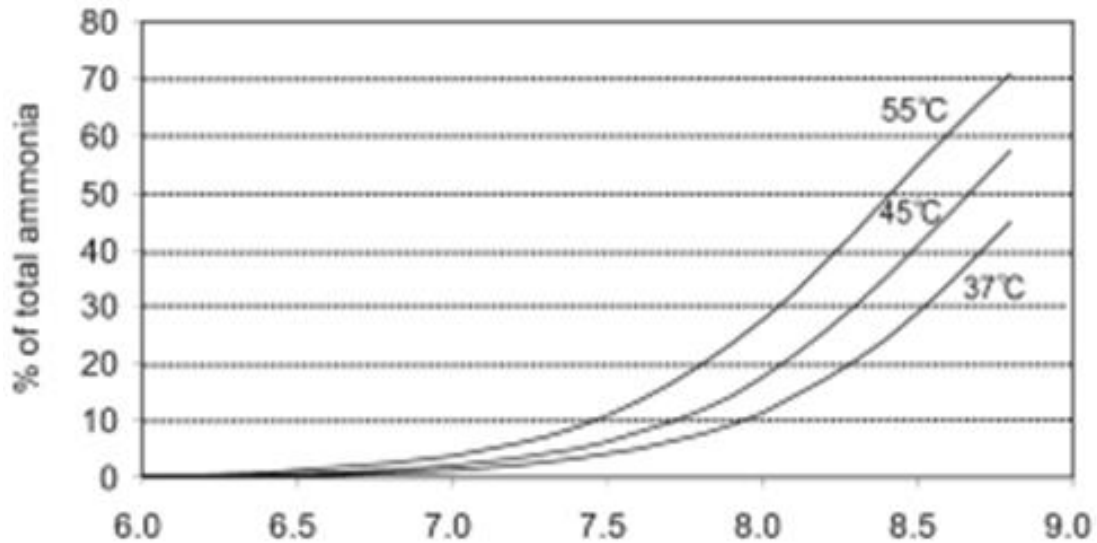


Σχήμα 2.4: Ισορροπία ελεύθερης αμμωνίας και αμμωνιακού ιόντος (Kunz & Mukhtar, 2016)

Είναι γενικά αποδεκτό ότι η μη ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (ελεύθερη αμμωνία) είναι υπεύθυνη για την αναστολή της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης. Το pH και η θερμοκρασία έχουν σημαντική επίδραση στο επίπεδο της τοξικότητας της αμμωνίας, καθώς καθορίζουν το βαθμό ιονισμού της ελεύθερης αμμωνίας. Ο λόγος ελεύθερης αμμωνίας προς ολική αναλογία αμμωνίας / αμμωνίου μπορεί να υπολογιστεί από τη σχέση ισορροπίας ως εξής:

$$[\text{NH}_3] / [\text{T} - \text{NH}_3] = 1 / (1 + [\text{H}^+] / \text{Kb})$$

όπου, $[\text{NH}_3]$ και $[\text{T} - \text{NH}_3]$ είναι η ελεύθερη αμμωνία και οι συνολικές συγκεντρώσεις αμμωνίας/αμμωνίου αντίστοιχα, και το Kb είναι η σταθερά ιονισμού, η οποία εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Καθώς αυξάνεται το pH και η θερμοκρασία αυξάνεται επίσης το κλάσμα της ελεύθερης αμμωνίας. (Angelidaki et al., 2003)



Σχήμα 2.5: Επίδραση της θερμοκρασίας και του pH στην συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας (Angelidaki et al., 2003)

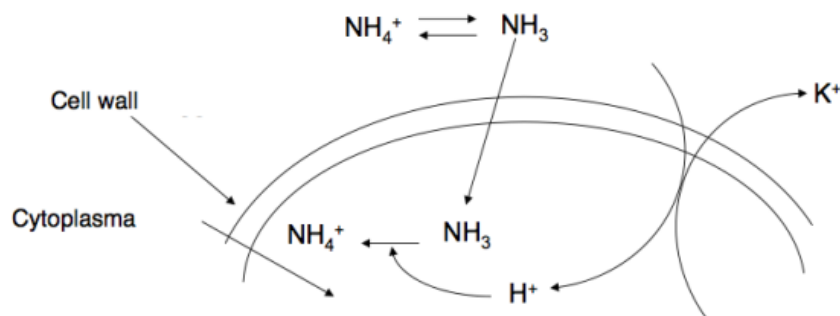
Επίσης, η συγκέντρωση των VFA επηρεάζει την αναερόβια αποικοδόμηση σε συνδυασμό με την τοξικότητα της αμμωνίας. Παρότι στις περισσότερες περιπτώσεις, η αστάθεια της διεργασίας της αναερόβιας αποικοδόμησης οδηγεί σε συσσώρευση των VFA εντός του βιοαντιδραστήρα και συνεπώς σε πτώση της τιμής του pH, γεγονός που μειώνει τη συγκέντρωση της αμμωνίας (Al Seadi et al., 2008), έχει παρατηρηθεί πως η ανασταλτική λειτουργία των VFA και της αμμωνίας είναι συνεργιστική. Συνεπώς, η λειτουργία των μεθανογενών μικροοργανισμών ρυθμίζεται από κοινού από τα VFA και την αμμωνία. (Lü et al., 2013)

2.3.3 Επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στους μεθανογόνους μικροοργανισμούς

Ο λόγος της ανασταλτικής λειτουργίας της αμμωνίας δεν είναι βέβαιος, αλλά εκτιμάται πως μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η ελεύθερη αμμωνία, η οποία είναι αφόρτιστη, μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα των μεθανογόνων μικροοργανισμών. Εντός του κυττάρου, η αμμωνία

μετατρέπεται σε αμμώνιο, δεσμεύοντας ιόντα υδρογόνου. Όταν η συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου μειωθεί, το κύτταρο πρέπει να αντισταθμίσει αυτή την αλλαγή για να αποφύγει την μεταβολή του pH του κυττάρου. Για να διατηρηθεί το pH σταθερό, ο μεθανογόνος μικροοργανισμός αντλεί ιόντα υδρογόνου από το περιβάλλον, ενώ αποβάλλει ιόντα καλίου, με αποτέλεσμα την έλλειψη καλίου μέσα στο κύτταρο. (Sprott & Patel, 1986)

Οι διάφοροι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν διαφορετικές αρχικές ποσότητες καλίου στα κύτταρά τους, συνεπώς οι λειτουργίες τους αναστέλλονται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αμμωνίας. Γενικά, οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί που καταναλώνουν οξικό οξύ έχουν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε κάλιο από τους μεθανογόνους μικροοργανισμούς που καταναλώνουν υδρογόνο και επομένως αναστέλλονται σε χαμηλότερη συγκέντρωση αμμωνίας (Sprott & Patel, 1986). Επίσης, καθώς η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας εξαρτάται άμεσα από τη θερμοκρασία, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος αναστολής της αναερόβιας αποικοδόμησης σε διεργασίες που λειτουργούν σε θερμοφίλες θερμοκρασίες, σε σύγκριση με τις μεσόφιλες (Al Seadi et al., 2008). Οι συντροφικοί μικροοργανισμοί γενικά είναι πολύ πιο ανθεκτικοί στην παρουσία της αμμωνίας και η λειτουργία τους δεν επηρεάζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις (Fotidis et al., 2013).



Σχήμα 2.6: Η επίδραση της αμμωνίας στη μεθανογένεση (Schnürer & Jarvis, 2010)

2.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ

2.4.1 Χρήση ανόργανων προσθέτων

Μία από της βασικές μεθόδους καταπολέμησης της τοξικότητας της αμμωνίας κατά την αναερόβια αποικοδόμηση αποτελεί η προσθήκη ανόργανων ουσιών με έντονη ιοντοανταλλακτική ικανότητα (μπεντονίτης, γλαυκονίτης, φωσφορίτης και ζεόλιθοι) ή προσροφητικά υλικά (άργιλος, οξειδία μαγγανίου ή ζεόλιθοι). (Romero-Güiza et al., 2016)

Οι φυσικοί ζεόλιθοι είναι κρυσταλλικά, ενυδατωμένα αργιλοπυριτικά άλατα, αποτελούμενοι από τρισδιάστατα τετράεδρα πλαίσια SiO_4^{4-} και AlO_4^{5-} που συνδέονται μέσω ατόμων οξυγόνου. Είναι πορώδη υλικά που χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να 1) απορροφούν και να αποβάλλουν νερό αναστρέψιμα, 2) προσροφούν μόρια κατάλληλης διατομής και 3) ανταλλάσσουν τα κατιόντα που τα αποτελούν χωρίς σημαντική αλλαγή στη δομή τους (ιδιότητα ανταλλαγής ιόντων). Λόγω αυτών των ιδιοτήτων οι ζεόλιθοι χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα βιομηχανικών και γεωργικών εφαρμογών. (Montalvo et al., 2012)

Οι ζεόλιθοι έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως εναλλάκτες ιόντων για την απομάκρυνση της ελεύθερης αμμωνίας στην αναερόβια αποικοδόμηση λόγω της παρουσίας κατιόντων Na^+ , Ca_2^+ και Mg_2^+ στην κρυσταλλική δομή τους. Αυτή η ιδιότητα είναι επίσης χρήσιμη για τη βελτίωση των επιδόσεων της αναερόβιας αποικοδόμησης στην επεξεργασία των λυμάτων με υψηλές συγκεντρώσεις αζωτούχων ενώσεων, όπως απόβλητα βοοειδών, χοίρων και πουλερικών. Ταυτόχρονα, ο ζεόλιθος έχει δείξει μεγάλη απορρόφηση μετάλλων και αυτή η ιδιότητα μπορεί να είναι χρήσιμη για την απομάκρυνση τοξικών υλικών που μπορούν να αναστείλουν στους μικροοργανισμούς που είναι υπεύθυνοι για τις διαδικασίες αναερόβιας πέψης. (Montalvo et al., 2012)

Μία πιο πρόσφατη μέθοδος απομάκρυνσης της ελεύθερης αμμωνίας αποτελεί ο συνδυασμός της αναερόβιας αποικοδόμησης με την κατακρήμιση στρουβίτη ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$), ο οποίος αποτελεί ένα πολύτιμο λίπασμα αργής απελευθέρωσης. (Uludag-Demirer et al., 2005) Η κατακρήμιση στρουβίτη συμβαίνει φυσικά όταν οι συνδυασμένες συγκεντρώσεις των Mg^{2+} , NH_4^+ και PO_4^{3-} υπερβούν τη διαλυτότητα του παραγόμενου στρουβίτη. Συνεπώς, η κατακρήμιση στρουβίτη σε πολλές διεργασίες αναερόβιας αποικοδόμησης απαιτεί την προσθήκη χημικών ενώσεων καθώς οι συγκεντρώσεις των Mg^{2+} και PO_4^{3-} είναι συνήθως χαμηλές σε σχέση με αυτή του NH_4^+ . Για το λόγο αυτό, προστίθενται στην διεργασία της αναερόβιας αποικοδόμησης διάφορες πηγές μαγνησίου ($MgSO_4$, $Mg(OH)_2$, $MgCl_2$, MgO) και φωσφόρου (H_3PO_4 , φωσφορικά άλατα). (Uludag-Demirer et al., 2008)

2.4.2 Ρύθμιση του λόγου Άνθρακα/Αζώτου

Μια ακόμα λύση που έχει διερευνηθεί είναι η αύξηση του λόγου C/N προσθέτοντας ένα πλούσιο σε άνθρακα υπόστρωμα, η πρόσθετη πηγή άνθρακα θα ενισχύσει τη βιοσύνθεση της κυτταρικής βιομάζας στον αντιδραστήρα με αποτέλεσμα την αποφυγή της αναστολής της αμμωνίας καθώς περισσότερο αμμωνιακό άζωτο θα δεσμευθεί από τους μικροοργανισμούς κατά την ανάπτυξή τους (Wang et al., 2016). Η έρευνα πάνω σε αυτή τη μέθοδο έχει επικεντρωθεί κυρίως σε πειράματα όπου η αναερόβια αποικοδόμηση πραγματοποιείται σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (Herrmann et al., 2016). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τους αντιδραστήρες διαλείποντος έργου δεν μπορούν να έχουν άμεση εφαρμογή σε διεργασίες που περιλαμβάνουν αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας όσον αφορά τη σύνθεση του πληθυσμού των μικροοργανισμών, καθώς σε συνεχείς αντιδραστήρες ο πληθυσμός επηρεάζεται από πολλούς άλλους παράγοντες, κυρίως το HRT. Από τις μελέτες για την προσαρμογή του C/N υπό υψηλή συγκέντρωση αμμωνίας σε συνεχείς αντιδραστήρες, έχει

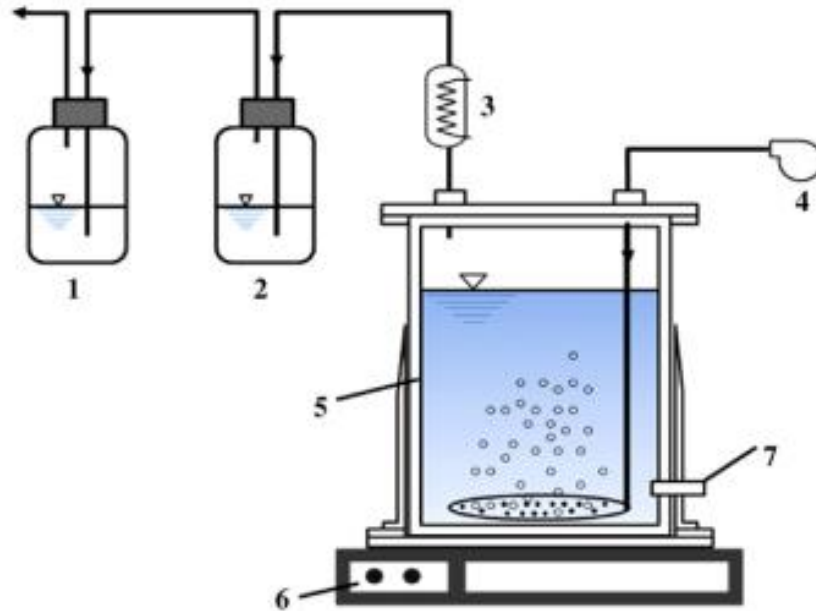
προκύψει αύξηση στην παραγωγή CH_4 κατά την αύξηση του λόγου C/N με τη συναποικοδόμηση μικροφυκών μαζί με υποστρώματα πλούσια σε άνθρακα (Herrmann et al., 2016).

Επίσης, οι υψηλοί λόγοι C/N μπορεί να οδηγήσουν στην υπερφόρτωση της αναερόβιας αποικοδόμησης με οργανική ύλη και να προκληθεί συσσώρευση VFA στον αντιδραστήρα (Nagao et al., 2012). Το φαινόμενο αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη, καθώς η υψηλή συγκέντρωση VFA λειτουργεί ανασταλτικά κατά τη μεθανογένεση και μειώνει τη σταθερότητα και την αποδοτικότητα του συστήματος. Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές για επιδείνωση του φαινομένου της τοξικότητας της αμμωνίας κατά την αναερόβια αποικοδόμηση με την ταυτόχρονη ύπαρξη υψηλών επιπέδων VFA και αμμωνίας (Lü et al., 2013).

2.4.3 Απογύμνωση αμμωνίας (Ammonia stripping)

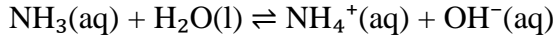
Η απογύμνωση με αέρα σε συνδυασμό με την απορρόφηση, χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση και την ανάκτηση αμμωνίας από τα οργανικά υποστρώματα πριν την αναερόβια αποικοδόμηση. Η απομάκρυνση της αμμωνίας με απογύμνωση αέρα έχει μελετηθεί και εφαρμόζεται σε διαφορετικούς τύπους αποβλήτων: υγρά αστικά απόβλητα, απόβλητα παραγωγής λιπασμάτων ουρίας, απόβλητα χοιροστασιών, απόβλητα ορνιθοτροφείων και συμπυκνώματα από εργοστάσια ζαχαρότευτλων (Zhang et al., 2012). Η διεργασία περιλαμβάνει την αύξηση του pH των αποβλήτων με την προσθήκη κάποιου άλατος (συνήθως υδροξείδιο του ασβεστίου, $\text{Ca}(\text{OH})_2$) με την ταυτόχρονη επαφή τους με ένα ρεύμα αέρα με αποτέλεσμα τη μεταφορά της αμμωνίας από τη ροή των αποβλήτων στο ρεύμα του αέρα. Στη συνέχεια το ρεύμα αέρα διέρχεται από ένα ισχυρό διάλυμα οξέος (συνήθως θειικό οξύ) στο οποίο απορροφάται η

αμμωνία, δημιουργώντας έτσι ένα άλας αμμωνίου, το οποίο μπορεί να κρυσταλλωθεί και να ανακτηθεί (Yabu et al., 2011).



Σχήμα 2.5: Σχηματικό διάγραμμα του αντιδραστήρα απογύμνωσης αμμωνίας. (1) διάλυμα NaOH, (2) διάλυμα H_2SO_4 , (3) συμπυκνωτής, (4) αντλία αέρα, (5) κύριο δοχείο αντιδραστήρα, (6) ελεγκτής θερμοκρασίας, (7) έξοδος αποβλήτων (Zhang et al., 2012)

Η ποσότητα αμμωνίας που μπορεί να αφαιρεθεί από τα υγρά απόβλητα και να απορροφηθεί στο όξινο διάλυμα, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από δύο θερμοδυναμικές ισορροπίες: την ισορροπία μεταξύ ελεύθερης αμμωνίας και του αμμωνιακού ιόντος και την διαλυτότητα της αμμωνίας στο υγρό (Guštin & Marinšek-Logar, 2011). Η ισορροπία της ελεύθερης αμμωνίας σε υδατικά διαλύματα εξαρτάται από το pH και τη θερμοκρασία και εκφράζεται με την ακόλουθη εξίσωση:



με σταθερά ιονισμού: $K_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}$

Όπου:

$[\text{NH}_4^+]$: η συγκέντρωση του αμμωνιακού ιόντος σε mol/m³

$[\text{OH}^-]$: η συγκέντρωση των ιόντων υδροξειδίου σε mol/m³

$[\text{NH}_3]$: η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας σε mol/m³

Η διαλυτότητα της ελεύθερης αμμωνίας στην υγρή φάση διέπεται από το νόμο του

Henry: $p = K_c c$

Όπου:

p : είναι η μερική πίεση της αέριας αμμωνίας σε Pa

c : είναι η μοριακή συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας στην υγρή φάση σε mol/m³

K_c : είναι η σταθερά του νόμου του Henry σε (Pa m³)/ mol

Συνεπώς για την μεταφορά της αμμωνίας από τα απόβλητα στο ρεύμα του αέρα απαιτείται η μετατροπή του αμμωνιακού ιόντος σε ελεύθερη αμμωνία που επιτυγχάνεται με την αύξηση του pH και της θερμοκρασίας των αποβλήτων και η μείωση της διαλυτότητας της ελεύθερης αμμωνίας στην υγρή φάση που επιτυγχάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Αν η διεργασία πραγματοποιηθεί σε θερμοκρασία δωματίου (25 °C) απαιτούνται υψηλές τιμές pH (10.5-11.5) για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων απομάκρυνσης αμμωνίας. Όμως οι υψηλές τιμές pH απαιτούν προσθήκη μεγάλων ποσοτήτων Ca(OH)₂ που οδηγούν σε προβλήματα επικαθίσεων ανθρακικού ασβεστίου που μειώνουν την αποτελεσματικότητα του συστήματος και προκαλούν σοβαρά προβλήματα συντήρησης (Bonmatí & Flotats, 2003). Ωστόσο, εάν η απογύμνωση αέρα πραγματοποιηθεί σε υψηλή θερμοκρασία, η ρυθμιστική ικανότητα των

αποβλήτων μπορεί να διατηρήσει το pH σε ικανοποιητικές τιμές, και η ποσότητα του προστιθέμενου $\text{Ca}(\text{OH})_2$ μπορεί να μειωθεί. Όμως ο κύριος περιοριστικός παράγοντας για απογύμνωση αμμωνίας σε υψηλή θερμοκρασία είναι η διαθεσιμότητα μίας φθηνής πηγής θερμότητας. Σε συνδυασμό με τη διεργασία αναερόβιας αποικοδόμησης, το παραγόμενο βιοαέριο μπορεί εν μέρει ή ολικά να παρέχει τη θερμότητα που απαιτείται για την απογύμνωση σε υψηλή θερμοκρασία (Bonmati & Flotats, 2003).

2.5 ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ

Ο γενικός ορισμός της βιοενίσχυσης μίας βιολογικής διεργασίας περιλαμβάνει την προσθήκη συγκεκριμένων μικροοργανισμών στην διεργασία για την ενίσχυση της επιθυμητής δραστηριότητας. Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι εισέρχονται στη βιολογική διεργασία έχουν πρώτα υποβληθεί σε μία διαδικασία εγκλιματισμού με σκοπό να αυξηθεί η ανθεκτικότητά τους σε όποια παράμετρο αναστέλλει τη διεργασία. (Schauer-Gimenez et al., 2010)

Κατά την τελευταία δεκαετία, η βιοενίσχυση έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε πολλά στάδια των αναερόβιων διεργασιών, όπως για τη μείωση της περιόδου εκκίνησης, του χρόνου υδραυλικής συγκράτησης και του χρόνου ανάκαμψης αναερόβιων διεργασιών που αντιμετωπίζουν τοξικότητα λόγω της παρουσίας οξυγόνου ή λόγω υπερβολικού οργανικού φορτίου. Επιπλέον, η βιοενίσχυση έχει εφαρμοστεί για τη βελτίωση της απόδοσης της αναερόβιας αποικοδόμησης χωνεμένης λάσπης (κυρίως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες), αποβλήτων πλούσια σε λιπίδια, υποστρώματα πλούσια σε αμμωνία, και λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας (LCFA). (Li et al., 2017)

Συγκεκριμένα για την αναερόβια αποικοδόμηση η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας, θεωρείται βασική παράμετρος που επηρεάζει τη σταθερότητα και την

αποτελεσματικότητα της διεργασίας. Η τοξικότητα της αμμωνίας, θεωρείται ως η κύρια αιτία αναστολής της αναερόβιας αποικοδόμησης όταν τροφοδοτείται με πλούσια σε άζωτο υποστρώματα λόγω άμεσης αναστολής της δραστηριότητας των μικροοργανισμών, αλλαγών στο ενδοκυτταρικό pH, μείωση του ενδοκυτταρικού καλίου, και αναστολή συγκεκριμένων ενζυματικών αντιδράσεων (Rajagopal et al., 2013). Η βιοενίσχυση, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πιθανή μέθοδος για την καθιέρωση μικροοργανισμών ανεκτικών στην αμμωνία με σκοπό τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της αναερόβιας αποικοδόμησης. (Yang et al., 2019)

2.5.1 Εγκλιματισμός μικροοργανισμών

Η πιο συνήθης μέθοδος εγκλιματισμού του πληθυσμού ο οποίος θα χρησιμοποιηθεί για τη βιοενίσχυση περιλαμβάνει τη χρήση αντιδραστήρων διαλείποντος έργου (batch reactors). Σε κάθε αντιδραστήρα τοποθετείται εμβόλιο το οποίο περιέχει τον επιλεγμένο πληθυσμό μικροοργανισμών μαζί με κατάλληλο υπόστρωμα. Στη συνέχεια η συγκέντρωση της αμμωνίας αυξάνεται σταδιακά (πχ με διάλυμα NH_4Cl) με ταυτόχρονη προσθήκη υποστρώματος. (Fotidis et al., 2017)

Η επιλογή του πληθυσμού ποικίλει ανάλογα με το αντικείμενο της έρευνας. Μεγαλύτερο βάρος έχει δοθεί στην χρήση καθαρών καλλιεργειών μικροοργανισμών (Fotidis et al., 2014b) αλλά υπάρχουν και εφαρμογές που χρησιμοποιούν ήδη υπάρχοντες μικτούς πληθυσμούς από μονάδες βιοαερίου ή από ζωικά απόβλητα (Kalamaras et al., 2020). Επίσης μπορεί να δοθεί έμφαση στην συντροφική οδό παραγωγής μεθανίου με την ενίσχυση των υδρογονοτροφικών μεθανογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι εμφανίζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην αμμωνία από τους οξικολυτικούς (Fotidis et al., 2013).

2.5.2 Η διαδικασία της βιοενίσχυσης

Κατά τη βιοενίσχυση η καλλιέργεια του εγκλιματισμένου πληθυσμού σε υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας, φυγοκεντρείται για να αυξηθεί η πυκνότητα του κυτταρικού φορτίου και στη συνέχεια εισάγεται στον βιοαντιδραστήρα (Nielsen et al., 2007).

Το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας σχετικά με τη βιοενίσχυση επικεντρώνεται κυρίως σε αντιδραστήρες συνεχούς ροής και ανάδευσης (CSTR), καθώς προσομοιάζουν καλύτερα τις συνθήκες μίας μονάδας παραγωγής βιοαερίου. Η εισαγωγή εγκλιματισμένου πληθυσμού σε αντιδραστήρες CSTR έχει αποδειχθεί μία αποτελεσματική μέθοδος καταπολέμησης της ανασταλτικής δράσης της αμμωνίας κατά την αναερόβια αποικοδόμηση (Fotidis et al., 2017), (Fotidis et al., 2014b). Επίσης η βιοενίσχυση έχει αποδειχθεί αποτελεσματική και όταν εφαρμόζεται σε αντιδραστήρες ασυνεχούς λειτουργίας (Batch reactors) (Nielsen et al., 2007), (Schauer-Gimenez et al., 2010). Τέλος, σε πειράματα που διεξήχθησαν σε αναερόβιους αντιδραστήρες ανοδικής ροής διά μέσου στρώματος ιλύος (Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor - UASB reactor) η βιοενίσχυση αποδείχθηκε αναποτελεσματική καθώς η υψηλή ροή των αποβλήτων στον αντιδραστήρα δεν επέτρεψε στους μεθανογόνους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν, λόγω του χαμηλού ρυθμού ανάπτυξής τους (Fotidis et al., 2013).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3:ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε πειραματική διάταξη η οποία περιελάμβανε δυο μεταχειρίσεις με το ίδιο OLR με διαφορετικά όμως HRT, πραγματοποιήθηκε πρώτα η αλλαγή του HRT στους αντιδραστήρες CSTR και ακολούθησε η διεργασία της βιοενίσχυσης.

3.1 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ

3.1.1 Χαρακτηριστικά και προετοιμασία του υποστρώματος και του εμβολίου

Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε κόπρος βοοειδών προερχόμενη από σταβλική εγκατάσταση στη Βόρεια Ελλάδα η οποία δεν εμπειείχε στρωμνή και η οποία προήλθε από τις εγκαταστάσεις της μονάδας παραγωγής βιοαερίου «Βιοαέριο Λαγκαδάς». Η κόπρος που χρησιμοποιήθηκε περάστηκε διαδοχικά από 3 πλέγματα με ολοένα μικρότερο μέγεθος οπών (1cm, 5mm και 2mm), με σκοπό την απομάκρυνση μεγάλης διαμέτρου σωματιδίων για να αποφευχθεί πιθανή έμφραξη των σωλήνων τροφοδοσίας και εξόδου. Το υπόστρωμα που προέκυψε μετά το διαχωρισμό τους από τα ογκώδη σωματίδια, ομογενοποιήθηκε κατάλληλα, καταψύχθηκε στους -20°C και αποψυχόταν στους 4°C (για 3 ημέρες) πριν τη χρήση του στους αντιδραστήρες.

Το εμβόλιο (Inoculum) το οποίο περιείχε τους απαραίτητους μικροοργανισμούς για την άμεση εκκίνηση της αναερόβιας αποικοδόμηση προήλθε από τον αντιδραστήρα D1 της μονάδας παραγωγής βιοαερίου «Βιοαέριο Λαγκαδάς», η οποία λειτουργεί στο μεσόφιλο εύρος θερμοκρασιών και συγκεκριμένα στους 37 ± 0.1 °C. Το εμβόλιο αποθηκεύτηκε για 7 ημέρες υπό αναερόβιες συνθήκες σε θερμοκρασία 37 °C προκειμένου να μειωθεί το υπολειπόμενο δυναμικό

του σε μεθάνιο (CH₄). Τα χαρακτηριστικά των υποστρώματων και του εμβολίου που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1: Χαρακτηριστικά του υποστρώματος και του εμβολίου

	Υπόστρωμα (Τιμή ± ΤΑ ¹)	Αρχικό Εμβόλιο (Τιμή ± ΤΑ ¹)
Ολικά Στερεά (TS) (g/L)	40.3 ± 0.016	26.6 ± 0.019
Πηκτικά Στερεά (VS) (g/L)	30.9 ± 0.012	20.2 ± 0.048
Ολικό Αμμωνιακό Άζωτο (TAN) (g/L)	1.6 ± 0.021	3.1 ± 0.017
Ελεύθερη Αμμωνία (FAN) (mg/L)	44.01 ± 1.85	221.21 ± 8.64
Οξικό οξύ (mg/L)	5146.88 ± 20.48	86.11 ± 2.65
Προπιονικό οξύ (mg/L)	1222.69 ± 0.41	3.63 ± 0.27
Ισοβουτυρικό οξύ (mg/L)	120.33 ± 1.42	8.14 ± 0.19
Βουτυρικό οξύ (mg/L)	480.24 ± 0.68	0.00
Ισοβαλερικό οξύ (mg/L)	174.43 ± 2.64	0.00
v – Βαλερικό οξύ (mg/L)	51.63 ± 1.44	0.80 ± 0.012
Ισοκαπροϊκό οξύ (mg/L)	24.15 ± 0.34	0.70 ± 0.021
v – Καπροϊκό οξύ (mg/L)	5.46 ± 0.69	0.96 ± 0.016
Επτανοϊκό οξύ (mg/L)	1.67 ± 0.12	3.90 ± 0.42

¹: Τυπική Απόκλιση

Για την αύξηση του ρυθμού οργανικής φόρτισης (OLR) χρησιμοποιήθηκε μονοένυδρη d-γλυκόζη 99.5% w/w (C₆H₁₂O₆·H₂O) και για την αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας χρησιμοποιήθηκε χλωριούχο αμμώνιο 99.8% w/w (NH₄Cl).

3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ

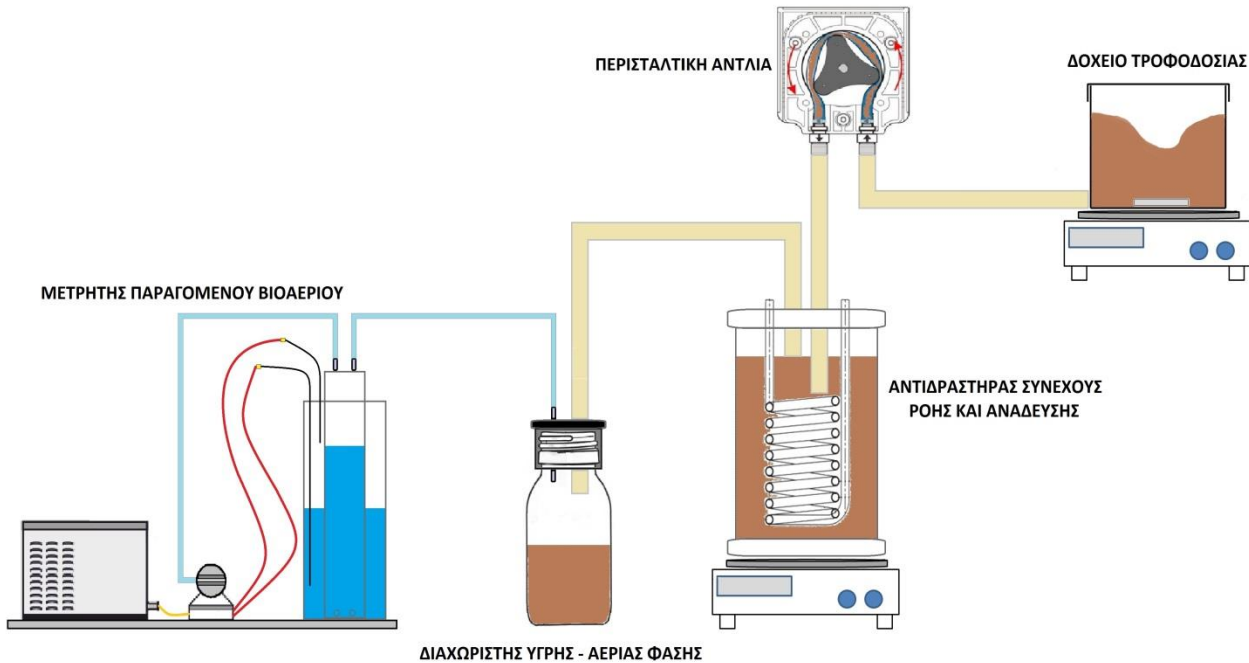
3.2.1. Περιγραφή της πειραματικής διάταξης

Η πειραματική διάταξη αποτελούνταν από δύο αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας και ανάδευσης (CSTR) από ακρυλικό γυαλί (Plexiglas) συνολικού όγκου 2 L. Ο κάθε αντιδραστήρας

ήταν εξοπλισμένος με θερμόμετρο και με εσωτερική θερμαντική σπείρα από ανοξείδωτο χάλυβα. Στη θερμαντική σπείρα κυκλοφορούσε απιονισμένο νερό το οποίο θερμαινόταν σε δεξαμενή από ανοξείδωτο χάλυβα ενεργού όγκου 40 L. Η θέρμανση του νερού πραγματοποιούνταν με ηλεκτρική αντίσταση συνδεδεμένη με σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας PID controller και η κυκλοφορία του νερού με φυγοκεντρική αντλία (DAB class f, 50 Hz).

Το υπόστρωμα για την τροφοδοσία του κάθε αντιδραστήρα αποθηκεύονταν σε γυάλινο δοχείο με όγκο 1.5 L και ενεργό όγκο 0.44 L. Το δοχείο με το υπόστρωμα ήταν συνδεδεμένο με περισταλτική αντλία τροφοδοσίας (Cole-Parmer Masterflex L/S και Cole-Parmer Masterflex Console Drive). Για τη σύνδεση του δοχείου τροφοδοσίας με την αντλία και για την είσοδο και την έξοδο του αντιδραστήρα χρησιμοποιήθηκαν οι προβλεπόμενοι από τον κατασκευαστή σωλήνες σιλικόνης εσωτερικής διαμέτρου 9.7 mm (Cole-Parmer Masterflex, PharMed BPT tubing). Η παροχή της αντλίας ρυθμιζόταν με χρονοδιακόπτες.

Η έξοδος του αντιδραστήρα οδηγεί σε γυάλινη φιάλη με όγκο 500 mL η οποία λειτουργούσε ως διαχωριστής υγρής-αέριας φάσης. Ο διαχωριστής υγρής-αέριας φάσης συνδεόταν με αυτόματο μετρητή παραγόμενου βιοαερίου με τη χρήση σωλήνα Tygon (Cole-Parmer, Tygon LFL tubing) εσωτερικής διαμέτρου 2.8 mm. Ο αυτόματος μετρητής βιοαερίου λειτουργούσε με εκτοπισμό νερού και χρησιμοποιούσε αυτόματο σύστημα το οποίο λάμβανε μετρήσεις ανά 100 mL αερίου και με δοχείο διαβαθμισμένο ανά 10 mL για οπτική μέτρηση. Για την ανάδευση των αντιδραστήρων και των δοχείων τροφοδοσίας χρησιμοποιήθηκαν μαγνητικοί αναδευτήρες (Stuart, stir UC151 και VWR, VS-C4). Σε όλες τις συνδέσεις χρησιμοποιήθηκε κατάλληλος σωλήνας σιλικόνης και πλαστικά πώματα και τάπες για την αποφυγή διαρροών αερίου και τη διασφάλιση της στεγανότητας των αντιδραστήρων.



Σχήμα 3.1: Σχηματική αναπαράσταση πειραματικής διάταξης

3.2.2. Εγκλιματισμός πληθυσμού για βιοενίσχυση

Γυάλινες φιάλες των 2 L χρησιμοποιήθηκαν ως αντιδραστήρες διαλείποντος έργου (Batch Reactors) στους οποίους πραγματοποιήθηκε ο σταδιακός εγκλιματισμός (Stepwise Increase) των μικροοργανισμών σε ολοένα αυξανόμενες συγκεντρώσεις αμμωνίας. Οι φιάλες σφραγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο με σταθερή θερμοκρασία στους 37 °C. Σταδιακά η συγκέντρωση της αμμωνίας αυξήθηκε από τις 2000 ppm μέχρι τις 6500 ppm (ανά 500 ppm). Για τη διατήρηση του αναερόβιου περιβάλλοντος πραγματοποιήθηκε απαέρωση των φιαλών με τη χρήση αζώτου. Καθημερινά λαμβάνονταν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μεθανίου και υπολογιζόταν η ημερήσια παραγωγή μεθανίου. (Kalamaras et al., 2020)

3.2.3 Λειτουργία της πειραματικής διάταξης

Η αναερόβια αποικοδόμηση έλαβε μέρος σε 2 αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας και ανάδευσης, συνολικού όγκου 2 L και ωφέλιμου όγκου 1.5 L με θερμοκρασία λειτουργίας τους 37 ± 0.1 °C που ανήκει στο μεσόφιλο εύρος θερμοκρασιών. Ο κάθε αντιδραστήρας ήταν εξοπλισμένος με εσωτερική θερμαντική σπείρα η οποία κυκλοφορούσε ζεστό νερό για τη διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας. Η τροφοδοσία των αντιδραστήρων πραγματοποιήθηκε με ρυθμό 54 mL/d, σε δύο στάδια στις 12:00 πμ και 12:00 μμ, ο οποίος αντιστοιχεί σε υδραυλικό χρόνο συγκράτησης (HRT) 28 ημερών. Ο ρυθμός οργανικής φόρτισης των αντιδραστήρων (OLR) ήταν $1.03 \text{ gVS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Οι αντιδραστήρες πληρώθηκαν έως τον ωφέλιμο όγκο τους με το εμβόλιο από τον αντιδραστήρα D1 της μονάδας παραγωγής βιοαερίου «Βιοαέριο Λαγκαδάς».



Σχήμα 3.2: Πειραματική Διάταξη

Οι αντιδραστήρες λειτούργησαν υπό τις παραπάνω συνθήκες μέχρι να παρουσιάσουν σταθερή παραγωγή βιοαερίου για πέντε συνεχόμενες ημέρες, ένδειξη πως έχει επιτευχθεί σταθερή κατάσταση λειτουργίας και ανάπτυξης του πληθυσμού των μικροοργανισμών.

Ο ρυθμός τροφοδοσίας τους μεταβλήθηκε με σκοπό τη διαφοροποίηση του HRT τους από 28 ημέρες σε 20 ημέρες στον CSTR1 και 30 ημέρες στον CSTR2. Το υπόστρωμα που τροφοδοτούσε τον καθένα από τους 2 αντιδραστήρες αραιώθηκε με νερό και ο ρυθμός τροφοδοσίας μεταβλήθηκε για την επίτευξη του επιθυμητού HRT. Οι αντιδραστήρες, μετά την αλλαγή του HRT, λειτούργησαν μέχρι να επιτευχθεί σταθερή κατάσταση. Στον πίνακα 3.2 παρουσιάζεται ο ρυθμός τροφοδοσίας και η σύσταση του υποστρώματος για τον κάθε αντιδραστήρα.

Πίνακας 3.2: Τροφοδοσία CSTR για διαφοροποίηση του HRT.

	Ρυθμός Τροφοδοσίας (mL/d)	Σύσταση Τροφοδοσίας (mL υποστρώματος + mL νερού/ d)	HRT (d)
CSTR1	75	50 + 25	20
CSTR2	50	50	30

Για την επίτευξη τοξικότητας λόγω αμμωνίας στους αντιδραστήρες προστέθηκε απευθείας στον κάθε αντιδραστήρα και στο υπόστρωμά του κατάλληλη ποσότητα χλωριούχου αμμωνίου (NH_4Cl) για την αύξηση της συγκέντρωσης αμμωνίας (NH_3) στα 6100 ppm. Στον πίνακα 3.3 παρουσιάζεται η αρχική συγκέντρωση αμμωνίας του κάθε αντιδραστήρα και η ποσότητα NH_4Cl που προστέθηκε.

Πίνακας 3.3: Αύξηση συγκέντρωσης αμμωνίας			
	Αρχική Συγκέντρωση Αμμωνίας (g/L)	Προσθήκη Χλωριούχου Αμμωνίου	Τελική Συγκέντρωση Αμμωνίας (g/L)
CSTRA1	1.8	24.6 g	6.1
CSTRA2	1.8	24.6 g	6.1
Υπόστρωμα	1.6	15 g/L	6.1

Η βιοενίσχυση πραγματοποιήθηκε κατά τη λειτουργία των αντιδραστήρων υπό τοξικότητα. Από τους αντιδραστήρες αφαιρέθηκαν 180 mL υγρού από το εσωτερικό τους και αντικαταστάθηκαν με 180 mL πυκνού εγκλιματισμένου πληθυσμού. Ο εγκλιματισμένος πληθυσμός προήλθε από αντιδραστήρες διαλείποντος έργου, που λειτουργούσαν υπό συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης αμμωνίας (6500 ppm NH₃), μετά από φυγοκέντρηση σε 4500 rpm και θερμοκρασία 21 °C για 10 λεπτά.



Σχήμα 3.3: Φυγόκεντρος σταθερής θερμοκρασίας

3.3 ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

3.3.1 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών στερεών

Για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών αρχικά ζυγίζονται τα χωνευτήρια (κάψες) πορσελάνης (διαμέτρου 90 mm) με τη χρήση αναλυτικού ζυγού, ακρίβειας 3 δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια το δείγμα αναδεύεται για να ομογενοποιηθεί, τοποθετούνται 100 g σε κάθε χωνευτήριο και ζυγίζονται τα χωνευτήρια με το δείγμα. Τα χωνευτήρια τοποθετούνται σε κλίβανο αποξήρανσης θερμοκρασίας 103 έως 105°C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, τα χωνευτήρια με το δείγμα απομακρύνονται από τον κλίβανο, τοποθετούνται σε ξηραντήρα μέχρι να ψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και τέλος ζυγίζονται ξανά. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για το κάθε δείγμα εις τριπλούν. Ο υπολογισμός των ολικών στερεών πραγματοποιείται με τον παρακάτω τύπο:

$$\% \text{ Ολικά στερεά (TS)} = \frac{(B\xi - B\kappa) * 100}{(B\nu - B\chi)}$$

Όπου:

Bξ: Βάρος ξηρού δείγματος + βάρος χωνευτηρίου

Bχ: Βάρος χωνευτηρίου

Bν: Βάρος υγρού δείγματος + βάρος χωνευτηρίου

Για τον προσδιορισμό των πτητικών στερεών αρχικά ζυγίζονται χωνευτήρια πορσελάνης (διαμέτρου 25 mm) με τη χρήση αναλυτικού ζυγού, ακρίβειας 3 δεκαδικών ψηφίων. Παραλαμβάνεται όλο το ξηρό δείγμα, που προήλθε από τη μέτρηση των ολικών στερεών και αλέθεται μέχρι να ομογενοποιηθεί πλήρως. Από το ομογενοποιημένο δείγμα τοποθετείται 1 g σε κάθε χωνευτήριο και έπειτα ζυγίζονται. Τα χωνευτήρια με το δείγμα εισάγονται σε αποτεφρωτικό κλίβανο θερμοκρασίας 550°C για 2 ώρες. Μετά το πέρας των 2 ωρών, τα

χωνευτήρια με το δείγμα απομακρύνονται από τον κλίβανο, τοποθετούνται σε ξηραντήρα μέχρι να ψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και τέλος ζυγίζονται ξανά. Ο υπολογισμός των πτητικών στερεών πραγματοποιείται με τον παρακάτω τύπο:

$$\% \text{ Πτητικά στερεά (VS)} = \frac{(B\xi - B\alpha\pi) * 100}{(B\xi - B\chi)}$$

Όπου:

Bξ: Βάρος ξηρού δείγματος + βάρος χωνευτηρίου

Bχ: Βάρος χωνευτηρίου

Bαπ: βάρος χωνευτηρίου + βάρος δείγματος που απομένει μετά την αποτέφρωση στους 550°C.



Σχήμα 3.4: Κλίβανος αποξηρανσης (αριστερά) και κλίβανος αποτέφρωσης (δεξιά)

3.3.2 Προσδιορισμός αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl

Ο προσδιορισμός του αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl πραγματοποιήθηκε με τη χρήση συσκευής Kjeldahl της εταιρίας Rayra βάση τροποποιημένης μεθόδου κατά A.P.H.A. (Rice et al., 2017). Αρχικά στη συσκευή τοποθετούνταν 20 mL ρυθμιστικού διαλύματος (14.3 g/L KH_2PO_4 και 68.8 g/L άνυδρο- K_2HPO_4) και το απόσταγμα παραλαμβάνονταν σε διάλυμα βορικού οξέως (H_3BO_3) 2% w/w και ακολουθούσε τιτλοδότηση με θειικό οξύ (H_2SO_4) 0.05

mol/L. Ο δείκτης που χρησιμοποιήθηκε κατά την τιτλοδότηση ήταν διάλυμα 0.02 g ερυθρό του μεθυλίου (Methyl Red) και 0.01 g κυανό του μεθυλενίου (Methylene Blue) σε 100 mL αιθανόλης (Ethanol). Η προετοιμασία των δειγμάτων περιελάμβανε την αραίωση 0.5 mL ουσίας με 19.5 mL απιονισμένου νερού (1:40 αναλογία) και την ανάμιξή του με 20 mL ρυθμιστικού διαλύματος πριν την εισαγωγή του στην συσκευή. Έπειτα ακολουθούσε τιτλοδότηση του αποστάγματος. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω σχέση:

$$\text{NH}_4\text{-N} = C_{\text{acid}} \times (V_1 - V_0) \times \text{MB}_N \times 100 \times A$$

Όπου:

$\text{NH}_4\text{-N}$: η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου σε ppm

C_{acid} : η συγκέντρωση του οξέος τιτλοδότησης σε mol/L

V_1 : ο όγκος του οξέως (mL) που καταναλώθηκε στη τιτλοδότηση του ρυθμιστικού διαλύματος

V_0 : ο όγκος του οξέως (mL) που καταναλώθηκε στη τιτλοδότηση του δείγματος

MB_N : το μοριακό βάρος του αζώτου

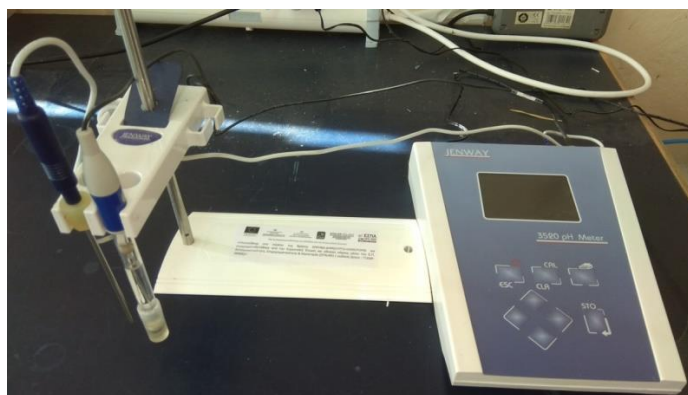
A: η αραίωση του δείγματος



Σχήμα 3.5: Συσκευή Kjeldahl της εταιρίας Raypa

3.3.3 Προσδιορισμός pH

Ο προσδιορισμός των τιμών στην κλίμακα pH πραγματοποιήθηκε με τη χρήση οργάνου της εταιρείας Jenway (Μοντέλο 3510) εξοπλισμένο με ηλεκτρόδιο μέτρησης pH γενικής χρήσης (924 001) και με ηλεκτρόδιο μέτρησης θερμοκρασίας (027 500). Μετρήσεις λαμβάνονταν καθημερινά από τους δύο αντιδραστήρες.



Σχήμα 3.6: Μετρητής pH Jenway (Μοντέλο 3510)

3.3.4 Λήψη, προετοιμασία και μέτρηση συγκέντρωσης δειγμάτων VFA

Δείγματα VFA λαμβάνονταν σε καθημερινή βάση και από τους 2 CSTR. Για την προετοιμασία ενός δείγματος VFA, σε 5 mL ουσίας προστίθενταν 100 μ L πυκνού φωσφορικού οξέως 85% w/w. Μετά το πέρας 10 λεπτών από το μίγμα πληρώνονταν δύο φιάλες Eppendorf και τοποθετούνταν στην φυγόκεντρο για 10 λεπτά στις 12000 rpm. Στη συνέχεια τρίτη φιάλη Eppendorf πληρώνονταν με 0,75 mL υπερκείμενου και από τις δύο αρχικές φιάλες και τοποθετούνταν στην φυγόκεντρο ξανά για 10 λεπτά στις 12000 rpm. Μετά τη δεύτερη φυγοκέντρωση 1 mL του δείγματος τοποθετούνταν σε γυάλινο φιαλίδιο με septa cap.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των πτητικών λιπαρών οξέων (Volatile Fatty Acids, VFA) των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με αέριο χρωματογράφο (Gas Chromatographer, GC), μοντέλο GC-2010 plusAT της εταιρείας SHIMADZU, εξοπλισμένο με:

- Ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID).
- Τριχοειδή στήλη χρωματογραφίας ZB FFAP, με μήκος 30.00 m, εσωτερική διάμετρο 0.53 mm και πάχος μεμβράνης 1.00 mm κατάλληλη για το διαχωρισμό των VFA.
- Αυτόματο εγχυτήρα της εταιρείας SHIMADZU, μοντέλο AOC-20i.
- Αυτόματο δειγματολήπτη της εταιρείας SHIMADZU, μοντέλο AOC-20s.

Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο. Το ρεύμα του φέροντος αερίου είχε γραμμική ταχύτητα στη λειτουργία control mode 60 cm sec^{-1} , συνολική ροή 57.0 mL min^{-1} , ροή στήλης 9.0 mL min^{-1} , ροή καθαρισμού 3.0 mL min^{-1} , πίεση 45.5 kPa και η θερμοκρασία κλιβάνου ορίστηκε στους $31.5 \text{ }^\circ\text{C}$. Ο όγκος έγχυσης των δειγμάτων ήταν 0.5 μ l και η θερμοκρασία του εισαγωγέα είχε ρυθμιστεί στους $150 \text{ }^\circ\text{C}$. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας ορίστηκε στους $230 \text{ }^\circ\text{C}$. Οι ροές υδρογόνου, επανόρθωσης, και αέρα ήταν 40 , 30 και 400 mL min^{-1} αντίστοιχα. Η λειτουργία της στήλης χρωματογραφίας ρυθμίστηκε με θερμοκρασιακό πρόγραμμα στους $50 \text{ }^\circ\text{C}$

για τα πρώτα 3.5 min, μετά στους 130 °C για 3 επιπλέον λεπτά και τέλος στους 210 °C για ακόμα 15 min.



Σχήμα 3.7: Αέριος χρωματογράφος GC-2010 plusAT, SHIMADZU με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID)

3.3.5 Λήψη δειγμάτων και μέτρηση συγκέντρωσης μεθανίου παραγόμενου βιοαερίου

Η μέτρηση της συγκέντρωσης μεθανίου του παραγόμενου βιοαερίου πραγματοποιήθηκε με αέριο χρωματογράφο (Gas Chromatographer, GC), μοντέλο GC-2010 plusAT της εταιρείας SHIMADZU, εξοπλισμένο με:

- Ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (Thermal Conductivity Detector, TCD) για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του μεθανίου στο παραγόμενο βιοαέριο.
- Στήλη χρωματογραφίας τύπου GC-Column, FS, ValcoPLOT HayeSep D με 15 m μήκος, εσωτερική διαμέτρο 0.53 mm και πάχος μεμβράνης 20 μm.

- Στήλη χρωματογραφίας τύπου VP-Molesieve Column, FS, ValcoBond, 5A Fused Silica με 15 m μήκος, εσωτερική διαμέτρο 0.53 mm, και πάχος μεμβράνης 20 μm .

Συμβατική σύριγγα χρησιμοποιήθηκε για τη λείψη των δειγμάτων τα οποία εισάγονταν σε ειδική θύρα του αέριου χρωματογράφου. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν στους 120 °C. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο. Το ρεύμα του φέροντος αερίου είχε γραμμική ταχύτητα στη λειτουργία control mode 45.4 cm sec^{-1} , συνολική ροή 39.0 mL min^{-1} , ροή στήλης 6.01 mL min^{-1} , ροή καθαρισμού 3.0 mL min^{-1} , πίεση 36.6 kPa και η θερμοκρασία κλιβάνου ορίστηκε στους 31.5 °C. Στον ανιχνευτή η θερμοκρασία ήταν 120 °C και η ένταση του ηλεκτρικού ρεύματος ήταν 30 mA.



Σχήμα 3.8 Αέριος χρωματογράφος GC-2010 plusAT, SHIMADZU με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD)

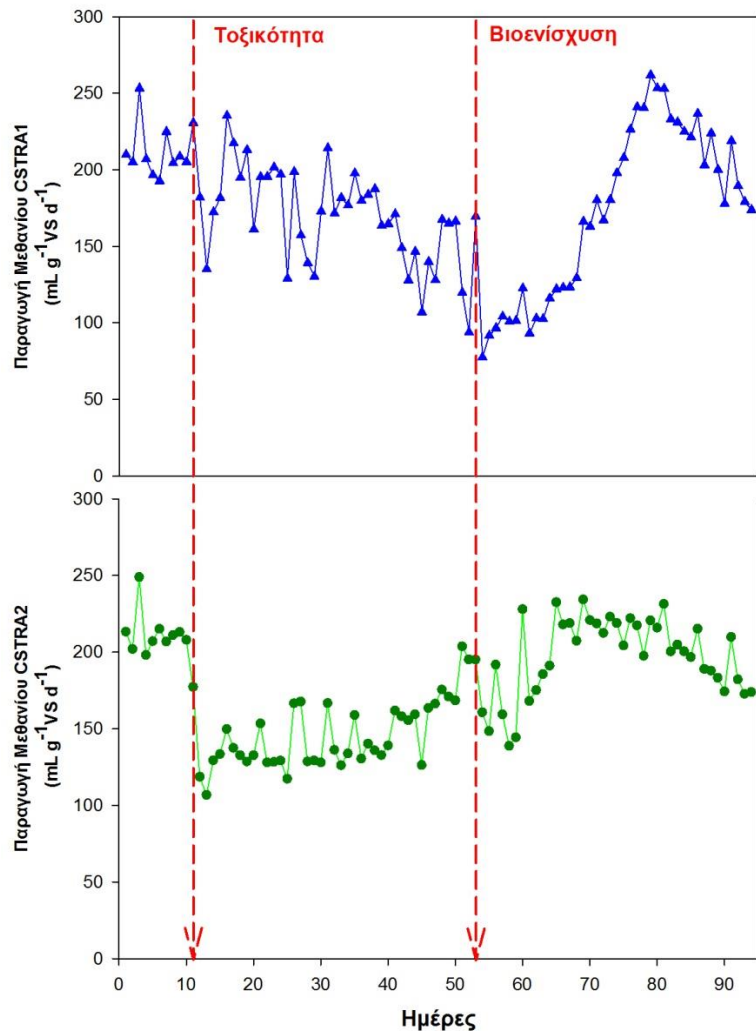
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 ΣΥΝΟΨΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η συνολική διάρκεια της πειραματικής διεργασίας ήταν περίπου 6 μήνες. Παράλληλα με τη λειτουργία των CSTR αντιδραστήρων πραγματοποιήθηκε και ο εγκλιματισμός του πληθυσμού που χρησιμοποιήθηκε κατά τη βιοενίσχυση σε Batch αντιδραστήρες. Κατά τον πρώτο μήνα οι δύο αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας και ανάδευσης, της διάταξης (CSTRA1 και CSTRA2), λειτούργησαν με τον ίδιο ρυθμό οργανικής φόρτισης (OLR) $1.03 \text{ gVS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (ο οποίος διατηρήθηκε σταθερός για όλη τη διάρκεια της πειραματικής διεργασίας) και με HRT 28 ημερών με σκοπό την επίτευξη σταθερής κατάστασης λειτουργίας. Αφού παρουσίασαν σταθερή παραγωγή μεθανίου για 5 ημέρες, ένδειξη σταθερής λειτουργίας, ακολούθησε η μεταβολή του HRT τους σε 20 ημέρες για τον CSTRA1 και 30 ημέρες για τον CSTRA2. Οι αντιδραστήρες λειτούργησαν για περίπου 1.5 μήνα με διαφορετικά HRT μέχρι τη σταθεροποίηση της λειτουργίας τους. Στη συνέχεια, ακολούθησε η προσθήκη NH_4Cl για την επίτευξη συνθηκών τοξικότητας της αμμωνίας και στους δύο αντιδραστήρες. Η συγκέντρωση του ολικού αμμωνιακού αζώτου αυξήθηκε με άμεση εισαγωγή χλωριούχου αμμωνίου στους αντιδραστήρες και στο υπόστρωμα, από $3.63 \text{ g NH}_4^+\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ σε $6.10 \text{ g NH}_4^+\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$. Οι αντιδραστήρες λειτούργησαν για περίπου 1.5 μήνα υπό συνθήκες τοξικότητας της αμμωνίας μέχρι να εμφανίσουν σημαντική μείωση της παραγωγής του μεθανίου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε η βιοενίσχυση με την εισαγωγή εγκλιματισμένου πληθυσμού στους αντιδραστήρες. Η λειτουργία των αντιδραστήρων συνεχίστηκε για περίπου 1 μήνα μέχρι τη μερική ανάκαμψη της παραγωγής μεθανίου.

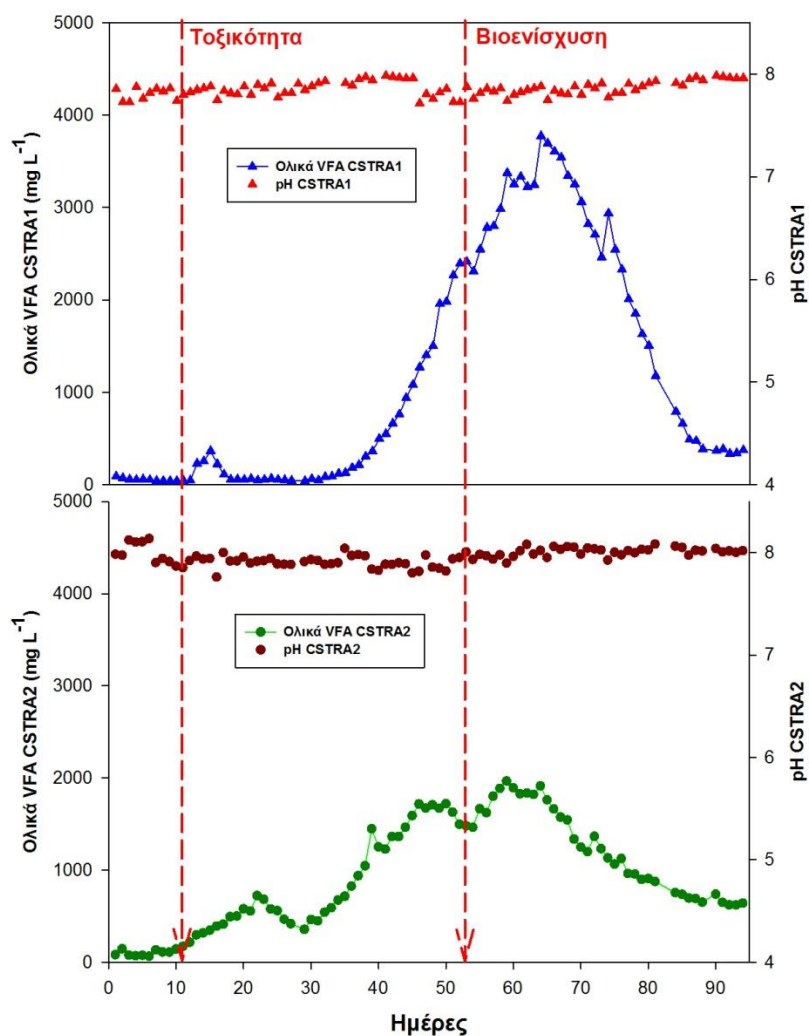
4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στα σχήματα 4.1 έως 4.5 παρουσιάζονται οι μεταβολές της παραγωγής μεθανίου ($\text{mL gVS}^{-1} \text{d}^{-1}$), τα ολικά λιπαρά πτητικά οξέα (VFA) (mg L^{-1}) και μεμονωμένα πτητικά λιπαρά οξέα (οξικό και προπιονικό οξύ) (mg L^{-1}) για τους αντιδραστήρες της διάταξης. Τα σχήματα καλύπτουν την περίοδο λειτουργίας υπό συνθήκες τοξικότητας καθώς και την περίοδο που ακολουθεί την εφαρμογή της διεργασίας της βιοενίσχυσης.



Σχήμα 4.1: Ημερήσια παραγωγή μεθανίου για τους CSTR A1 και CSTR A2

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.1, μετά την άμεση αύξηση της συγκέντρωσης της αμμωνίας, παρατηρείται μείωση της παραγωγής μεθανίου και στους δύο αντιδραστήρες. Στον CSTR1 παρατηρήθηκε έντονη διαταραχή της σταθερής κατάστασης για ένα διάστημα 20 ημερών πριν επιτευχθεί εκ νέου σταθερή κατάσταση υπό την τοξικότητα αμμωνίας, σε αντίθεση με τον CSTR2 όπου η διαταραχή είχε διάρκεια μόνο 2 ημερών. (Μεταβολή μικρότερη του 10% για 5 ημέρες στην παραγωγή μεθανίου σηματοδοτεί την επίτευξη σταθερής κατάστασης). Κατά την αρχική σταθερή κατάσταση, πριν την τοξικότητα αμμωνίας, η μέση ημερήσια παραγωγή μεθανίου ήταν $236 \pm 20 \text{ mL gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ και $236 \pm 20 \text{ mL gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ για τους αντιδραστήρες CSTR1 και CSTR2, ενώ κατά τη λειτουργία υπό τοξικότητα αμμωνίας μειώθηκε σε $148 \pm 15 \text{ mL gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ και $145 \pm 15 \text{ mL gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ αντίστοιχα. Συνεπώς, υπήρξε μείωση της μέσης ημερήσιας παραγωγής μεθανίου κατά 37.04% στον αντιδραστήρα CSTR1 και 38.52% στον αντιδραστήρα CSTR2.



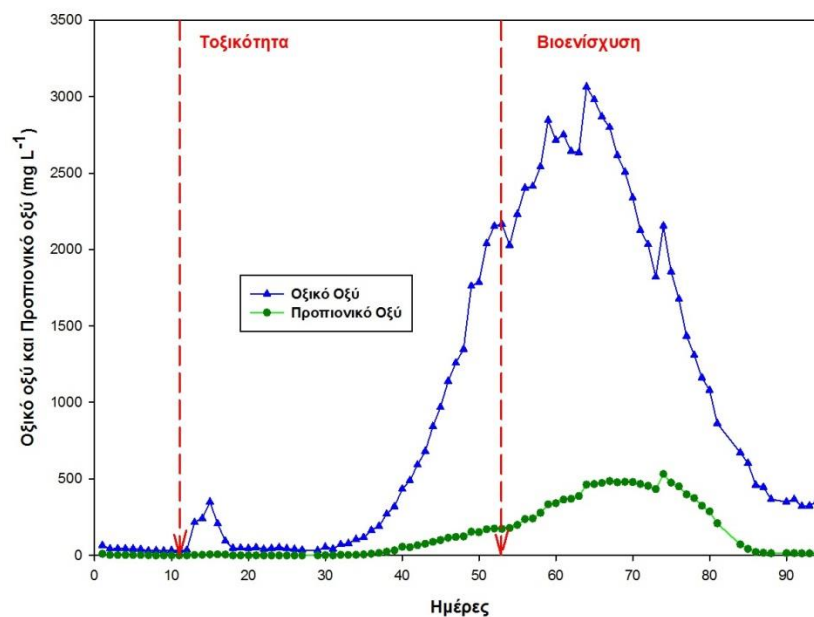
Σχήμα 4.2: Ολικά VFA και pH για τους CSTR1 και CSTR2

Η συγκέντρωση των ολικών VFA αυξήθηκε σημαντικά με την άμεση αύξηση της αμμωνίας και στους δύο αντιδραστήρες, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.2. Πιο συγκεκριμένα, στον CSTR2 παρουσιάζεται μία ομαλή αύξηση των ολικών VFA μέχρι την πραγματοποίηση της βιοενίσχυσης, η οποία συμπίπτει με τη μείωση της παραγωγής μεθανίου. Ωστόσο, στον CSTR1 παρουσιάζεται μία περίοδος 20 ημερών κατά την οποία τα ολικά VFA αυξάνονται, εν

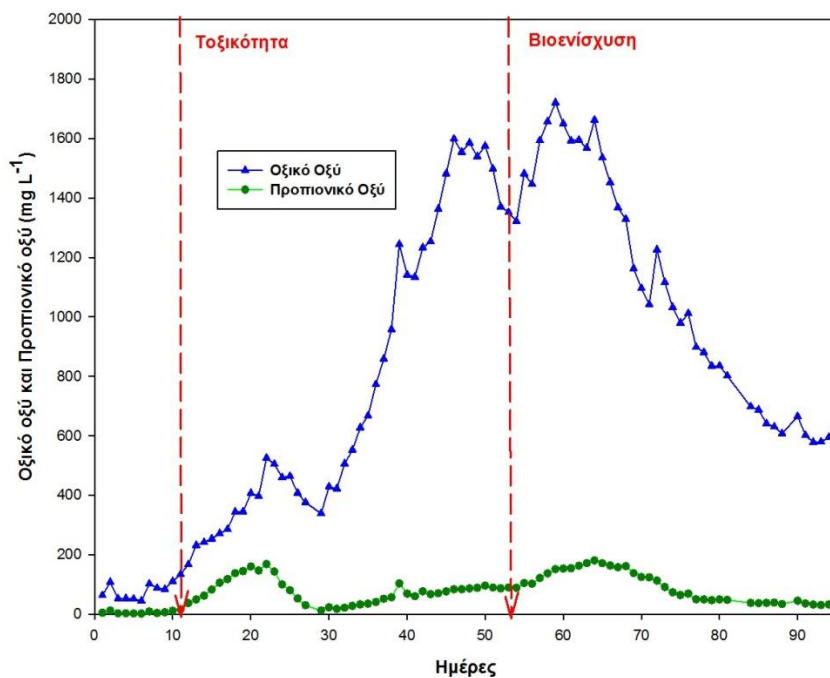
συνεχία, επανέρχονται στα αρχικά τους επίπεδα, όπου και παραμένουν σταθερά μέχρι την απότομη αύξησή τους την ημέρα 30.

Η περίοδος αυτή των 20 ημερών συνάδει με λειτουργία σε μη σταθερή κατάσταση που φαίνεται και από την παραγωγή μεθανίου στον CSTR1. Η καθυστέρηση που παρατηρήθηκε στην αύξηση των VFA στον CSTR1, μπορεί να οφείλεται στο χαμηλό HRT του και στη χαμηλή συγκέντρωση VFA στο υπόστρωμα. Ο ταχύς ρυθμός ανανέωσης του περιεχομένου του αντιδραστήρα συντελεί στην απομάκρυνση των VFA διατηρώντας τη συγκέντρωσή τους χαμηλή, περιορίζοντας τη συνεργιστική τους δράση με τη τοξικότητα της αμμωνίας (Lü et al., 2013).

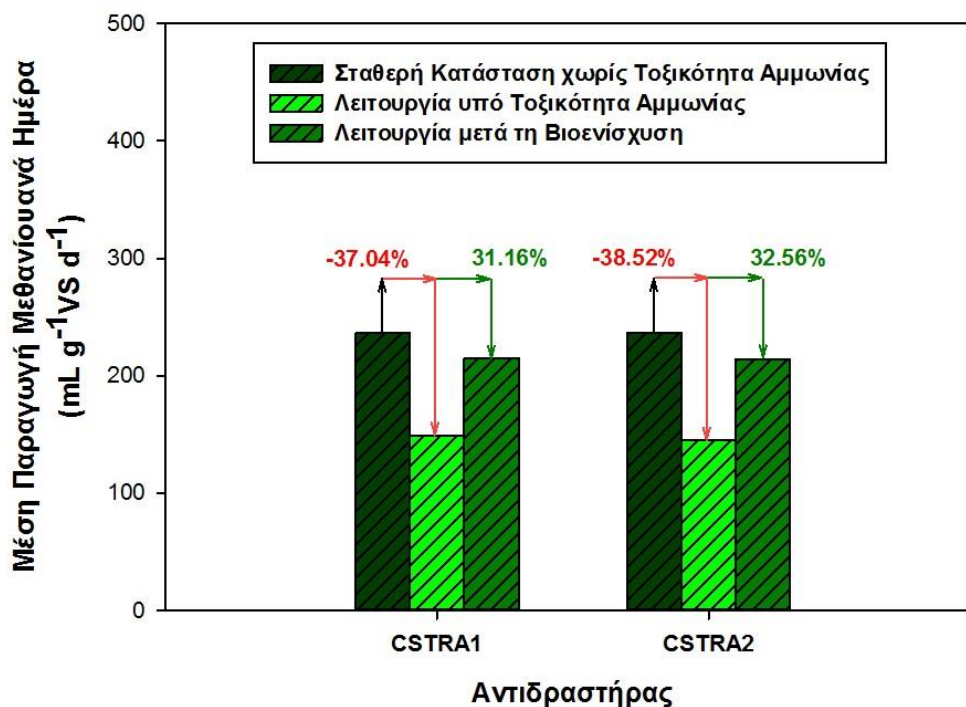
Οι τιμές στην κλίμακα pH παρέμειναν σταθερές (8 ± 0.5) και για τους δύο αντιδραστήρες καθ'όλη τη διάρκεια της πειραματικής διεργασίας. Η διατήρηση σταθερής τιμής στην κλίμακα pH κατά τη διάρκεια έντονων διαταράξεων (προσθήκη NH_4Cl και αύξηση της συγκέντρωσης των VFA), φανερώνουν την ισχυρή ρυθμιστική ικανότητα των αντιδραστήρων. Η διαλυτότητα του CO_2 στην υγρή φάση εξαρτάται από το pH της, έτσι όταν μεταβάλλεται το pH της υγρής φάσης απελευθερώνεται ή παραλαμβάνεται CO_2 από την αέρια φάση διατηρώντας το pH σταθερό (Kiyasudeen S et al., 2016).



Σχήμα 4.3: Οξικό και προπιονικό οξύ ανά ημέρα για τον CSTR1



Σχήμα 4.4: Οξικό και προπιονικό οξύ ανά ημέρα για τον CSTR2



Σχήμα 4.5: Σύγκριση μέσης παραγωγής μεθανίου ανά ημέρα για τους CSTR1 και CSTR2

Όπως φαίνεται στα σχήματα 4.3 και 4.4, η συγκέντρωση του οξικού και του προπιονικού οξέος αυξήθηκε με την έναρξη των συνθηκών τοξικότητας της αμμωνίας. Η αύξηση της συγκέντρωσης του οξικού οξέος φανερώνει το μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης των οξικολυτικών μεθανογόνων μικροοργανισμών που το καταναλώνουν, λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης της αμμωνίας. Η αυξημένη συγκέντρωση του προπιονικού οξέος είναι και αυτή σημάδι συνθηκών τοξικότητας εντός των αντιδραστήρων (Fotidis et al., 2014a).

Μετά την εισαγωγή του εγκλιματισμένου πληθυσμού στους αντιδραστήρες, όπως φαίνεται στα Σχήματα 4.1 και 4.2, η απόκριση των δύο αντιδραστήρων ήταν διαφορετική. Ο CSTR2 παρουσίασε άμεση ανάκαμψη, όπως φαίνεται από την ταυτόχρονη αύξηση της παραγωγής μεθανίου και μείωση της συγκέντρωσης των ολικών VFA. Σε αντίθεση, ο CSTR1

παρουσίασε μία περίοδο υστέρησης, διάρκειας 10 ημερών, πριν αρχίσει να αυξάνει η παραγωγή μεθανίου.

Η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται, ενδεχομένως, στη διαφορά των HRT των δύο αντιδραστήρων. Η λειτουργία του CSTR2, με 30 ημέρες HRT, παρέχει επαρκή χρόνο στους μικροοργανισμούς να εδραιωθούν και να προσαρμοστούν στο περιβάλλον του αντιδραστήρα. Με αποτέλεσμα την ταχεία ανάπτυξή τους καταναλώνοντας τα συσσωρευμένα VFA και αυξάνοντας την παραγωγή μεθανίου. Συνεπώς, η απόκριση του CSTR2 προσομοιάζει την αντίστοιχη ενός αντιδραστήρα διαλείποντος έργου. Ωστόσο, στον CSTR1 παρουσιάζεται μία περίοδος υστέρησης, καθώς λόγω του χαμηλότερου HRT (20 ημέρες), η προσαρμογή του εγκλιματισμένου πληθυσμού στον αντιδραστήρα καθυστερεί (φαινόμενο της έκπλυσης των μικροοργανισμών). Όταν και οι δύο αντιδραστήρες παρουσίασαν σταθερή ημερήσια παραγωγή βιοαερίου (μετά τη βιοενίσχυση), η ημερήσια παραγωγή μεθανίου ήταν $215 \pm 20 \text{ mL gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ και $214 \pm 20 \text{ mL gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ για τους αντιδραστήρες CSTR1 και CSTR2, αντίστοιχα. Συνεπώς, η διεργασία της βιοενίσχυσης οδήγησε στην αύξηση της μέσης ημερήσιας παραγωγής μεθανίου κατά 31.16% και 32.56% (8.96% και 9.40% μείωση από την αρχική σταθερή κατάσταση) στους αντιδραστήρες CSTR1 και CSTR2.

4.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Βάση των παραπάνω αποτελεσμάτων είναι εμφανές πως μετά από τη διεργασία της βιοενίσχυσης, εμφανίζεται σημαντική περίοδος υστέρησης πριν την ανάκαμψη της λειτουργίας του αντιδραστήρα CSTR1 ο οποίος λειτουργεί σε χαμηλό HRT, ενώ παρατηρείται άμεση ανάκαμψη του αντιδραστήρα CSTR2 ο οποίος λειτουργεί σε υψηλό HRT. Συνεπώς φαίνεται

πως η μείωση του HRT επηρεάζει αρνητικά την αποτελεσματικότητα της διεργασία της βιοενίσχυσης, πιθανότατα λόγω του φαινομένου της έκπλυσης του εγκλιματισμένου πληθυσμού (Fotidis et al., 2014b).

Συνεπώς, μία πιθανή μέθοδος για να εξασφαλιστεί η παραμονή του εγκλιματισμένου πληθυσμού στον βιοαντιδραστήρα και η αποτελεσματικότητα της διεργασίας της βιοενίσχυσης, είναι η αύξηση του HRT πριν τη βιοενίσχυση, με σκοπό τη μείωση του φαινομένου της έκπλυσης. Μετά από μία χρονική περίοδο όπου ο εγκλιματισμένος πληθυσμός θα έχει καθιερωθεί στον βιοαντιδραστήρα το HRT μπορεί να μειωθεί πάλι στα αρχικά του επίπεδα, χωρίς να επηρεαστεί η παραγωγή μεθανίου.

Τέλος κρίνεται απαραίτητη η διεξαγωγή έρευνας στην εύρεση της κρίσιμης βιομάζας του εγκλιματισμένου πληθυσμού η οποία θα χρησιμοποιείται κατά τη διεργασία της βιοενίσχυσης, όπως προτείνεται και από άλλους ερευνητές (Nzila, 2017). Ο όρος κρίσιμη βιομάζα αναφέρεται στην απαραίτητη ποσότητα εγκλιματισμένου πληθυσμού που πρέπει να εισαχθεί σε έναν βιοαντιδραστήρα για την επιτυχημένη βιοενίσχυσή του. Η προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας εγκλιματισμένου πληθυσμού μπορεί να οδηγήσει σε αποτελεσματική προσαρμογή των μικροοργανισμών παρά το φαινόμενο της έκπλυσης, ακόμα και σε αντιδραστήρες με μικρά HRT. Συνεπώς, η μελέτη της επίδρασης του HRT στην κρίσιμη βιομάζα είναι απαραίτητη. Οι βασικοί παράγοντες που θα πρέπει να εξεταστούν είναι το κόστος παραγωγής του εγκλιματισμένου πληθυσμού καθώς και οι μέθοδοι αποθήκευσης και μεταφοράς του.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahring, B.K. 2003. Perspectives for Anaerobic Digestion. in: *Biomethanation I. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. 81, Springer. Berlin, Heidelberg, pp. 1-30.
- Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., Janssen, R. 2008. *Biogas handbook*. Syddansk Universitet, Esbjerg, Denmark
- Angelidaki, I., Batstone, D.J. 2011. Anaerobic Digestion: Process. in: *Solid Waste Technology and Management*, Vol. Volume 2, Wiley. Chichester, West Sussex, UK, pp. 583-600.
- Angelidaki, I., Ellegaard, L., Ahring, B.K. 2003. Applications of the Anaerobic Digestion Process. in: *Biomethanation II. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. 82, Springer. Berlin, Heidelberg, pp. 1-33.
- Appels, L., Lauwers, J., Degrève, J., Helsen, L., Lievens, B., Willems, K., Van Impe, J., Dewil, R. 2011. Anaerobic digestion in global bio-energy production: Potential and research challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **15**(9), 4295-4301.
- Bajpai, P. 2017. Basics of Anaerobic Digestion Process. in: *Anaerobic Technology in Pulp and Paper Industry*, (Ed.) P. Bajpai, Springer Singapore. Singapore, pp. 7-12.
- Bonmatí, A., Flotats, X. 2003. Air stripping of ammonia from pig slurry: characterisation and feasibility as a pre- or post-treatment to mesophilic anaerobic digestion. *Waste Management*, **23**(3), 261-272.
- Chen, C., Guo, W., Ngo, H.H., Lee, D.-J., Tung, K.-L., Jin, P., Wang, J., Wu, Y. 2016. Challenges in biogas production from anaerobic membrane bioreactors. *Renewable Energy*, **98**, 120-134.
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, **99**(10), 4044-4064.
- Energy Information Administration, U.S.E. 2020. Annual Energy Outlook 2020. U.S. Department of Energy.
- Fotidis, I.A., Karakashev, D., Angelidaki, I. 2013. Bioaugmentation with an acetate-oxidising consortium as a tool to tackle ammonia inhibition of anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, **146**, 57-62.
- Fotidis, I.A., Karakashev, D., Angelidaki, I. 2014a. The dominant acetate degradation pathway/methanogenic composition in full-scale anaerobic digesters operating under different ammonia levels. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **11**(7), 2087-2094.
- Fotidis, I.A., Treu, L., Angelidaki, I. 2017. Enriched ammonia-tolerant methanogenic cultures as bioaugmentation inocula in continuous biomethanation processes. *Journal of Cleaner Production*, **166**, 1305-1313.
- Fotidis, I.A., Wang, H., Fiedel, N.R., Luo, G., Karakashev, D.B., Angelidaki, I. 2014b. Bioaugmentation as a Solution To Increase Methane Production from an Ammonia-Rich Substrate. *Environmental Science & Technology*, **48**(13), 7669-7676.
- Guštin, S., Marinšek-Logar, R. 2011. Effect of pH, temperature and air flow rate on the continuous ammonia stripping of the anaerobic digestion effluent. *Process Safety and Environmental Protection*, **89**(1), 61-66.
- Hao, L.-P., Lü, F., He, P.-J., Li, L., Shao, L.-M. 2011. Predominant Contribution of Syntrophic Acetate Oxidation to Thermophilic Methane Formation at High Acetate Concentrations. *Environmental Science & Technology*, **45**(2), 508-513.

- Herrmann, C., Kalita, N., Wall, D., Xia, A., Murphy, J.D. 2016. Optimised biogas production from microalgae through co-digestion with carbon-rich co-substrates. *Bioresource Technology*, **214**, 328-337.
- Jiang, Y., McAdam, E., Zhang, Y., Heaven, S., Banks, C., Longhurst, P. 2019. Ammonia inhibition and toxicity in anaerobic digestion: A critical review. *Journal of Water Process Engineering*, **32**, 100899.
- Jingura, R.M., Kamusoko, R. 2017. Methods for determination of biomethane potential of feedstocks: a review. *Biofuel Research Journal*, **4**(2), 573-586.
- Kalamaras, S.D., Kotsopoulos, T.A. 2014. Anaerobic co-digestion of cattle manure and alternative crops for the substitution of maize in South Europe. *Bioresource Technology*, **172**, 68-75.
- Kalamaras, S.D., Vasileiadis, S., Karas, P., Angelidaki, I., Kotsopoulos, T.A. 2020. Microbial adaptation to high ammonia concentrations during anaerobic digestion of manure-based feedstock: biomethanation and 16S rRNA gene sequencing. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*.
- Khanal, S.K. 2008. Environmental Factors. in: *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production*, pp. 43-63.
- Kiyasudeen S, K., Ibrahim, M.H., Quaik, S., Ahmed Ismail, S. 2016. An Introduction to Anaerobic Digestion of Organic Wastes. in: *Prospects of Organic Waste Management and the Significance of Earthworms*, (Eds.) K. Kiyasudeen S, M.H. Ibrahim, S. Quaik, S. Ahmed Ismail, Springer International Publishing. Cham, pp. 23-44.
- Kunz, A., Mukhtar, S. 2016. Hydrophobic Membrane Technology for Ammonia extraction from Wastewaters. *Engenharia Agrícola*, **36**, 377-386.
- Lü, F., Hao, L., Guan, D., Qi, Y., Shao, L., He, P. 2013. Synergetic stress of acids and ammonium on the shift in the methanogenic pathways during thermophilic anaerobic digestion of organics. *Water Research*, **47**(7), 2297-2306.
- Li, Y., Zhang, Y., Sun, Y., Wu, S., Kong, X., Yuan, Z., Dong, R. 2017. The performance efficiency of bioaugmentation to prevent anaerobic digestion failure from ammonia and propionate inhibition. *Bioresource Technology*, **231**, 94-100.
- Montalvo, S., Guerrero, L., Borja, R., Sánchez, E., Milán, Z., Cortés, I., Angeles de la la Rubia, M. 2012. Application of natural zeolites in anaerobic digestion processes: A review. *Applied Clay Science*, **58**, 125-133.
- Nagao, N., Tajima, N., Kawai, M., Niwa, C., Kurosawa, N., Matsuyama, T., Yusoff, F.M., Toda, T. 2012. Maximum organic loading rate for the single-stage wet anaerobic digestion of food waste. *Bioresource Technology*, **118**, 210-218.
- Nielsen, H.B., Mladenovska, Z., Ahring, B.K. 2007. Bioaugmentation of a two-stage thermophilic (68°C/55°C) anaerobic digestion concept for improvement of the methane yield from cattle manure. *Biotechnology and Bioengineering*, **97**(6), 1638-1643.
- Nzila, A. 2017. Mini review: Update on bioaugmentation in anaerobic processes for biogas production. *Anaerobe*, **46**, 3-12.
- Ochsner, A.M., Sonntag, F., Buchhaupt, M., Schrader, J., Vorholt, J.A. 2015. Methylobacterium extorquens: methylotrophy and biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **99**(2), 517-534.
- Rajagopal, R., Massé, D.I., Singh, G. 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, **143**, 632-641.

- Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D. 2017. *STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, 23RD EDITION. 23rd ed.* American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Romero-Güiza, M.S., Vila, J., Mata-Alvarez, J., Chimenos, J.M., Astals, S. 2016. The role of additives on anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **58**, 1486-1499.
- Schauer-Gimenez, A.E., Zitomer, D.H., Maki, J.S., Struble, C.A. 2010. Bioaugmentation for improved recovery of anaerobic digesters after toxicant exposure. *Water Research*, **44**(12), 3555-3564.
- Schnürer, A., Jarvis, Å. 2010. *Microbiological Handbook for Biogas Plants*.
- Sprott, G.D., Patel, G.B. 1986. Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, **7**(2), 358-363.
- Tada, C., Yang, Y., Hanaoka, T., Sonoda, A., Ooi, K., Sawayama, S. 2005. Effect of natural zeolite on methane production for anaerobic digestion of ammonium rich organic sludge. *Bioresource Technology*, **96**(4), 459-464.
- Uludag-Demirer, S., Demirer, G.N., Chen, S. 2005. Ammonia removal from anaerobically digested dairy manure by struvite precipitation. *Process Biochemistry*, **40**(12), 3667-3674.
- Uludag-Demirer, S., Demirer, G.N., Frear, C., Chen, S. 2008. Anaerobic digestion of dairy manure with enhanced ammonia removal. *Journal of Environmental Management*, **86**(1), 193-200.
- Wang, H., Fotidis, I.A., Angelidaki, I. 2016. Ammonia–LCFA synergetic co-inhibition effect in manure-based continuous biomethanation process. *Bioresource Technology*, **209**, 282-289.
- Wang, S., Jena, U., Das, K.C. 2018. Biomethane production potential of slaughterhouse waste in the United States. *Energy Conversion and Management*, **173**, 143-157.
- Xu, F., Li, Y., Ge, X., Yang, L., Li, Y. 2018. Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, **247**, 1047-1058.
- Yabu, H., Sakai, C., Fujiwara, T., Nishio, N., Nakashimada, Y. 2011. Thermophilic two-stage dry anaerobic digestion of model garbage with ammonia stripping. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **111**(3), 312-319.
- Yang, Z., Wang, W., Liu, C., Zhang, R., Liu, G. 2019. Mitigation of ammonia inhibition through bioaugmentation with different microorganisms during anaerobic digestion: Selection of strains and reactor performance evaluation. *Water Research*, **155**, 214-224.
- Zhang, L., Jahng, D. 2010. Enhanced anaerobic digestion of piggery wastewater by ammonia stripping: Effects of alkali types. *Journal of Hazardous Materials*, **182**(1), 536-543.
- Zhang, L., Lee, Y.-W., Jahng, D. 2012. Ammonia stripping for enhanced biomethanization of piggery wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, **199-200**, 36-42.