

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



Μεταπτυχιακή διατριβή

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕΘΑΝΙΟΥ ΑΠΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ
***P.OCEANICA* ΜΕΣΩ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ**

Αγγέλα Ανδρέου

Λεμεσός, Δεκέμβριος 2016.

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Μεταπτυχιακή διατριβή
Παραγωγή Μεθανίου από Υπολείμματα *P.oceanica* μέσω
Αναερόβιας Χώνευσης
της
Αγγέλα Ανδρέου

Λεμεσός, Δεκέμβριος 2016.

Έντυπο έγκρισης

Μεταπτυχιακή διατριβή

Παραγωγή Μεθανίου από Υπολείμματα *P.oceanica* μέσω Αναερόβιας Χώνευσης

Παρουσιάστηκε από

Αγγέλα Ανδρέου

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Ιωάννης Βυρίδης

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Δρ. Μιχάλης Κουτίνας

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Δρ. Μάρλεν Βάσκες

Υπογραφή _____

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Δεκέμβριος 2016.

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Αγγέλα Ανδρέου, 2016

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Ιωάννη Βυρίδη επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας διπλωματικής εργασίας για την δυνατότητα που μου έδωσε για να ασχοληθώ με το θέμα αυτό. Θα ήθελα επίσης να τον ευχαριστήσω για την καθοδήγηση, την εμπιστοσύνη και την αφιέρωση πολύτιμου χρόνου ώστε να ολοκληρωθεί η εργασία αυτή. Τέλος αφιερώνω την παρούσα πτυχιακή εργασία στην οικογένεια μου για την αμέριστη στήριξη που μου έχουν προσφέρει.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία μεγάλης ποσότητας υπολειμμάτων *Posidonia oceanica*, έχει προκαλέσει σημαντικά περιβαλλοντικά, κοινωνικά και οικονομικά προβλήματα σε όλες τις παράκτιες ζώνες της Μεσογείου. Το θαλάσσιο φυτό *P.oceanica* αποτελεί ενδημικό είδος της Μεσογείου και σημαντικό οικοτόπο για μεγάλο αριθμό θαλάσσιων οργανισμών. Παρόλα αυτά κατά τους φθινοπωρινούς μήνες και όταν η θάλασσα επηρεάζεται από τις κακές καιρικές συνθήκες, τα φύλλα του *P.oceanica* καθώς και κομμάτια των ριζωμάτων του, που βρίσκονται στο υδρόβιο περιβάλλον, αποσπώνται και μαζεύονται στις παράκτιες περιοχές. Η περισυλλογή και μεταφορά των ξηρών υπολειμμάτων του *P.oceanica* σε χώρους υγειονομικής ταφής, απαιτεί υψηλό κόστος. Έτσι, είναι σημαντικό να ερευνηθούν κι άλλες ποικίλες μέθοδοι διαχείρισης αυτής της βιομάζας. Στόχος της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη αξιοποίησης των υπολειμμάτων του *P.oceanica* χρησιμοποιώντας την τεχνολογία της Αναερόβιας Χώνευσης. Με μια σειρά πειραμάτων, διαφοροποιώντας κάποιες παραμέτρους, προϋποθέτετε η ανεύρεση των βέλτιστων συνθηκών, στις οποίες θα υπάρχει μεγαλύτερη απόδοση παραγωγής μεθανίου. Οι παράμετροι που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν το πλύσιμο, για αφαίρεση αλατιού, ο τεμαχισμός σε διαφορετικά μεγέθη (<2mm, 2-4mm, >4mm), η ενζυμική και η όξινη υδρόλυση της βιομάζας. Κατά την διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών της Αναερόβιας Χώνευσης μετρήθηκε το CH₄ που παράχθηκε με την χρήση του Αέριου Χρωματογράφου (GC). Τα κυριότερα αποτελέσματα είναι: Ο τεμαχισμός, η αφαίρεση αλατιού και η όξινη και η ενζυμική υδρόλυση αυξάνουν την απόδοση παραγωγής CH₄. Η μεγαλύτερη απόδοση παραγωγής μεθανίου (CH₄) παρουσιάστηκε στα δείγματα που είχαν υποστεί υδρόλυση. Η παραγωγή CH₄ στα όξινα

υδρολυμένα ήταν 156.7 ml και στα ενζυμικά 140.7 ml. Η παραγωγή CH₄/VS(πτητικά στερεά) για τα όξινα και τα ενζυμικά υδρολυμένα ήταν 670 ml και 687 ml αντίστοιχα.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών στις Περιβαλλοντικές Βιοεπιστήμες και Τεχνολογίας του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου.

Λέξεις κλειδιά: *P.oceanica*, Αγγειόσπερμα, Αναερόβια Χώνευση, Μεθάνιο,

ABSTRACT

The presence of large amount of *P.oceanica* residues causing several important environmental, social and economic problems, to all the Mediterranean coastal zones. *P.oceanica* marine plant is an endemic species of the Mediterranean and an important habitat for many marine organisms. However, during the autumn months and when the sea is affected by bad weather, leaves of the *P.oceanica* and pieces of rhizomes located in the aquatic environment, are detached and harvested in coastal areas. The collection and transportation of the dry residue of *P.oceanica* in landfills comes at a high cost. So, it is important to study different varieties of the biomass management methods. The objective of this research is to study the use of *P.oceanica* residues using the technology of Anaerobic Digestion. In a series of experiments and the adjustment of some parameters required in finding the optimal conditions in which there is greater methane yield. Parameters particularly examined in this study were washing, for remove salt, cutting into different sizes (<2mm, 2-4mm,> 4mm), enzymatic and acid hydrolysis of biomass. During the experimental procedures of anaerobic digestion, measurements of CH₄ were taken using the Gas Chromatograph (GC). The main results are: cutting, salt removal, acid and enzymatic hydrolysis can increase the methane (CH₄) yield. The largest methane yield presented in the samples were hydrolysed. Production CH₄ in acid hydrolysates were 156.7 ml and enzymatically 140.7 ml. Production of CH₄ / VS (volatile solids) for the acidic and enzymatic hydrolysates were 670 ml and 687 ml respectively.

This dissertation was produced as part of the Graduate Studies Program in Environmental Sciences and Technology of the Cyprus University of Technology.

Keywords: *P.oceanica*, Seagrass, Anaerobic Digestion, Methane.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	vi
ABSTRACT.....	viii
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	xi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	xii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	xiii
1 Εισαγωγή	1
1.1 Θαλάσσια φυτά - Φύκια	1
1.2 <i>Posidonia oceanica</i>	2
1.2.1 Γενικά	2
1.2.2 <i>Posidonia</i> ως δείκτης οικολογικής κατάστασης.....	3
1.2.3 Λιβάδια <i>Posidonia oceanica</i>	4
1.2.4 Παρουσίαση Προβλήματος.....	6
1.2.5 Αξιοποίηση υπολειμμάτων <i>Posidonia oceanica</i> και φυκιών	6
1.3 Αναερόβια χώνευση	12
1.3.1 Γενικά	12
1.3.2 Μικροβιολογία της αναερόβιας χώνευσης	13
1.3.2.1 Υδρόλυση	14
1.3.2.2 Οξεογένεση.....	15
1.3.2.3 Οξικογένεση	16
1.3.2.4 Μεθανογένεση.....	17
1.3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την Αναερόβια Χώνευση	18
1.3.3.1 Θερμοκρασία	18

1.3.3.2	Τιμή pH	21
1.3.3.3	Αλατότητα	21
1.3.3.4	Αμμωνία	22
1.3.3.5	Φαινολικές Ενώσεις.....	22
1.3.3.6	Πτητικά λιπαρά οξέα (VFA)	24
1.3.3.7	Θρεπτικά και τοξικές ενώσεις	25
1.4	Βιοαέριο	26
1.4.1	Σύσταση Βιοαερίου	26
1.4.2	Χρήσεις βιοαερίου	27
2	Μεθοδολογία Έρευνας.....	29
2.1	Υλικά και προετοιμασία δειγμάτων	29
2.2	Διαδικασίες διεξαγωγής πειραμάτων	34
2.2.1	Πρώτο Πείραμα	34
2.2.2	Δεύτερο Πείραμα	34
2.2.3	Τρίτο Πείραμα	35
2.2.4	Τέταρτο Πείραμα	36
3	Αποτελέσματα Πειραματικών Διαδικασιών	37
3.1	Αποτελέσματα Πρώτου Πειράματος.....	37
3.2	Αποτελέσματα Δεύτερου Πειράματος	40
3.3	Αποτελέσματα Τρίτου Πειράματος.....	42
3.4	Αποτελέσματα Τέταρτου Πειράματος	45
4	Σχόλια και Συμπεράσματα.....	50
5	Προτάσεις για Μελλοντικές έρευνες	52
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	53

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Διαφορές δομής μεταξύ φυκιών και αγγειόσπερμα (Sprague A.F. & Werner D., 2016).	2
Σχήμα 2: <i>P.oceanica</i> (Δημητρόπουλος Α. & Sanchez P., 2016).	2
Σχήμα 3: Λιβάδια <i>P.oceanica</i> (Δημητρόπουλος Α. & Sanchez P., 2016)	5
Σχήμα 4: Παραγωγή βιοαιθανόλης και κατανάλωση σακχάρων (Pilavtege M. et al., 2013).	7
Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση α) σταδίων εξαγωγής κυτταρίνης από υπολείμματα <i>P.oceanica</i> , β) σύνθεσης ακέτυλοκυτταρίνης γ) παραπροϊόν ακέτυλοκυτταρίνης (Coletti A., 2013).	8
Σχήμα 6: Παραγωγή μεθανίου από α) θαλάσσια φυτά και β) σε συνδιασμό με απόβλητα πουλερικών (C. Li et al., 2016).....	9
Σχήμα 7: Απεικόνιση διαδικασιών που μελετήθηκαν για παραγωγή μεθανίου από <i>P.Oceanica</i>	11
Σχήμα 8: Μετατροπή οργανικού υλικού προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα κατά την διεργασία της αναερόβιας χώνευσης (Κ.Δέλιος et al.,2014).	14
Σχήμα 9: Σχετικοί ρυθμοί παραγωγής βιοαερίου ανάλογα με την θερμοκρασία και τον χρόνο παραμονής (Stmugv, 2004).	20
Σχήμα 10: Εντοπισμός και Ποσοτικοποίηση Φαινολικών Ενώσεων (Agostini et al., 1998).	23

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ταξινομική Κατάταξη είδους <i>P.oceanica</i> (Τμήμα Αλιείας και Θαλάσσιων Ερευνών, Κύπρος, 2016).	3
Πίνακας 2: Λιγνίνη, Ημικυτταρίνη και α-κυτταρίνη, μη επεξεργασμένου, και υδρολυμένου <i>P.oceanica</i> (Pilavtepe M., 2013).	7
Πίνακας 3: Θερμοκρασιακές περιοχές ανάπτυξης μικροοργανισμών (Καραγκούνη - Κύρτσου, 1999).	19
Πίνακας 4: Τυπική Χημική Σύσταση Βιοαερίου (Biomass Energy, 2012).	27
Πίνακας 5: Σύσταση Βιομέσου (Angelidaki I. et al., 2009).	29
Πίνακας 6: Αποτελέσματα μέτρησης TS και VS για Πρώτο Πείραμα.	38
Πίνακας 7: Αποτελέσματα μέτρησης TS και VS για Δεύτερο Πείραμα.	41
Πίνακας 8: Μέτρηση VS και TS για Τρίτο Πείραμα.....	43
Πίνακας 9: Αποτελέσματα Μέτρησης Σακχάρων Όξινης Υδρόλυσης.....	44
Πίνακας 10: Μέτρηση TS και VS για Τέταρτο Πείραμα.	46
Πίνακας 11: Αποτελέσματα Μέτρησης Σακχάρων Ενζυμικής Υδρόλυσης.	47

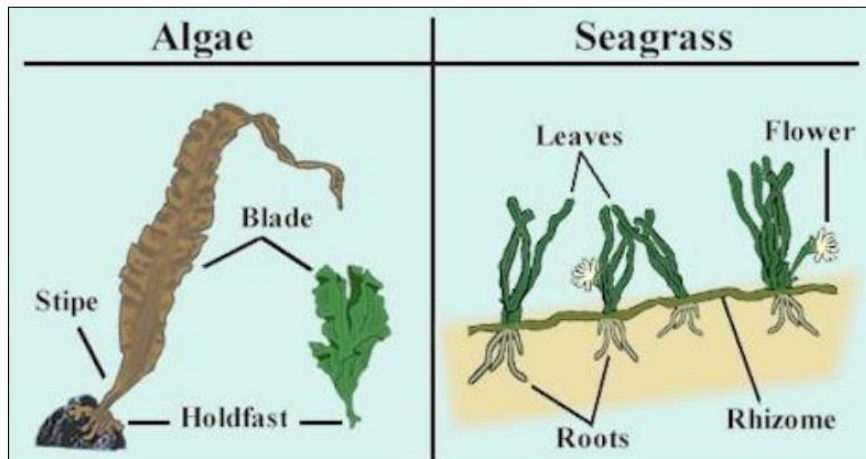
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Παραγωγή Μεθανίου (CH ₄) σε σχέση με τον χρόνο σε <i>P.oceanica</i> (3 g).	37
Διάγραμμα 2: Παραγωγή Μεθανίου (CH ₄) / Πτητικά Στερεά (VS) σε σχέση με τον χρόνο σε <i>P.oceanica</i> (3 g).	38
Διάγραμμα 3: Παραγωγή Μεθανίου (CH ₄) σε σχέση με τον χρόνο σε τεμαχισμένα και υδρολυμένα <i>P.oceanica</i> (2.5 g).	42
Διάγραμμα 4: Παραγωγή Μεθανίου (CH ₄) / Πτητικά Στερεά (VS) σε σχέση με τον χρόνο σε τεμαχισμένα και υδρολυμένα <i>P.oceanica</i> (2.5 g).	43
Διάγραμμα 5: Παραγωγή Μεθανίου (CH ₄) σε σχέση με τον χρόνο σε ενζυμικά, όξινα υδρολυμένα και μη επεξεργασμένα <i>P.oceanica</i> (2.5 g).	45
Διάγραμμα 6: Παραγωγή Μεθανίου (CH ₄) σε σχέση με τον χρόνο σε ενζυμικά, όξινα υδρολυμένα και μη επεξεργασμένα <i>P.oceanica</i> (2.5 g).	46

1 Εισαγωγή

1.1 Θαλάσσια φυτά - Φύκια

Τα αγγειόσπερμα αποτελούν το 85% των φυτών που υπάρχουν στην Γη. Είναι ανθοφόρα φυτά που ζουν κάτω από το νερό και έχουν την ικανότητα να παράγουν οξυγόνο προσλαμβάνοντας διοξείδιο του άνθρακα, όπως όλα τα φυτά, κατά την διαδικασία της φωτοσύνθεσής τους. Τα θαλάσσια φυτά αρκετές φορές συγχύζονται με τα θαλάσσια φύκια. Παρόλα αυτά, υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών. Τα φύκια ανήκουν στην οικογένεια των Πρωτίστων και όχι στα Αγγειόσπερμα. Επίσης διαφορές μεταξύ των δύο παρουσιάζονται στην αναπαραγωγή, την δομή και στις μεθόδους μεταφοράς θρεπτικών ουσιών και διαλυμένων αερίων. Ο αριθμός των ειδών που υπάρχουν για τα διαφορετικά είδη αγγειόσπερμα είναι 55, ενώ για τα φύκια υπολογίζεται στις 5000-6000. Όσον αφορά την αναπαραγωγή, τα φύκια παράγουν σπόρια ενώ τα αγγειόσπερμα έχουν διαφορετικά φύλα και παράγουν άνθη, καρπούς και σπόρια. Στο Σχήμα 1 παρουσιάζονται οι διαφορές στην δομή. Η δομή των φυκιών είναι σχετικά απλή χωρίς ρίζες, ριζώματα και άνθη, σε αντίθεση με τα αγγειόσπερμα που παρουσιάζουν πιο πολύπλοκη δομή αφού αποτελούν εξέλιξη χερσαίων φυτών. Επιπλέον οι θρεπτικές ουσίες εξάγονται από τα φύκια μέσω διάχυσης. Τα αγγειόσπερμα από την άλλη χρησιμοποιούν τις ρίζες και τα ριζώματα για να εξάγουν θρεπτικά από το ίζημα του εδάφους και τα φύλλα για να εξάγουν τα θρεπτικά από το νερό. Τα φύκια αποίκησαν στην θάλασσα, ωστόσο αποτελούν πιο πρωτογόνους οργανισμούς από τα αγγειόσπερμα (Claridge K., 2016).

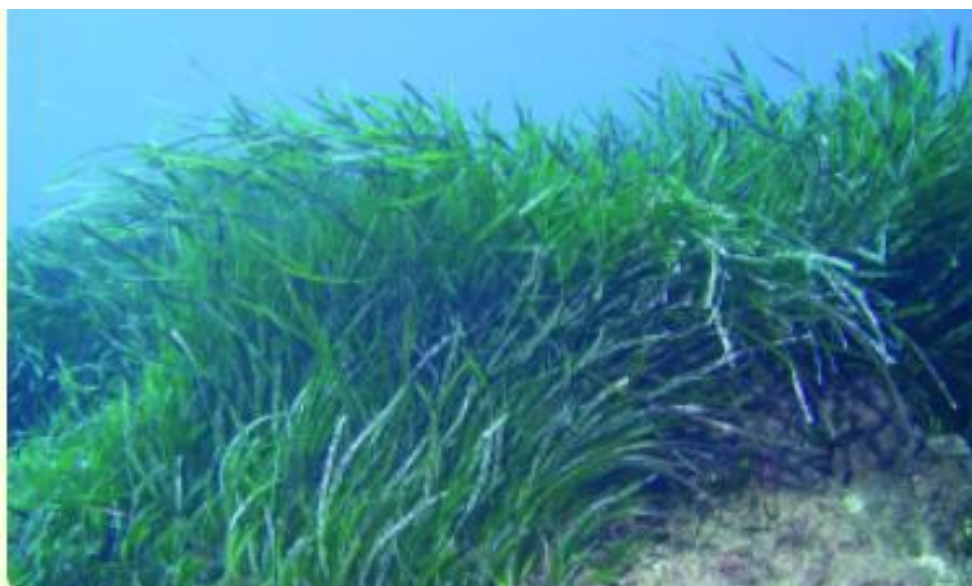


Σχήμα 1: Διαφορές δομής μεταξύ φυκιών και αγγειόσπερμα (Sprague A.F. & Werner D., 2016).

1.2 *Posidonia oceanica*

1.2.1 Γενικά

Το είδος *P.oceanica* (Σχήμα 2) ανήκει στα αγγειόσπερμα, όπως τα φυτά της ξηράς που εκτός από φύλλα, βλαστούς και ρίζες, φέρουν σπέρματα και άνθη. Επιπλέον το *P.oceanica* αποτελεί ενδημικό είδος της Μεσογείου, δηλαδή σε ολόκληρο τον κόσμο απαντάται αποκλειστικά μόνο σε αυτή. Το όνομά της προέρχεται από τον Έλληνα θεό της θάλασσας, Ποσειδώνα.



Σχήμα 2: *P.oceanica* (Δημητρόπουλος Α. & Sanchez P., 2016).

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται η ταξινομική κατάταξη του *P.oceanica*.

Ταξινομική Κατάταξη	
Κλάση	Angiospermae – Monocotyledonae
Τάξη	Alismatales
Οικογένεια:	Potamogetonaceae
Γένος	Posidonia
Είδος	Posidonia oceanica

Πίνακας 1: Ταξινομική Κατάταξη είδους *P.oceanica* (Τμήμα Αλιείας και Θαλάσσιων Ερευνών, Κύπρος, 2016).

1.2.2 *Posidonia* ως δείκτης οικολογικής κατάστασης

Η *P.oceanica* αποτελεί σημαντικό οικολογικό δείκτη αφού είναι ευαίσθητη στη ρύπανση, και οποιαδήποτε διαταραχή στο θαλάσσιο περιβάλλον έχει επιπτώσεις στο οικοσύστημά της. Συγκεκριμένα η *P.oceanica* αποτελεί δείκτη καλής οικολογικής ποιότητας, καλής ανανέωσης υδάτων και σταθερών συνθηκών αλατότητας (37-39%).

Η εμφάνιση της *P.oceanica* ακολουθεί μια αλληλουχία συνθηκών και προϋποθέσεων με την οποία καθίσταται δυνατή η εγκατάσταση των πρώτων φυτών.

1. Πρώτο στάδιο αυτής της διαδικασίας είναι η εμφάνιση του θαλάσσιου αγγειόσπερμου *Cymodocea Nodosa* σε κάποιο αμμώδη βυθό. Το *C.Nodosa* εξαπλώνεται στην ευρύτερη περιοχή και συντελεί στον εμπλουτισμό του υποστρώματος με οργανικές ουσίες.

2. Αποκομμένες δέσμες ή σπέρματα του *Posidonia* αιχμαλωτίζονται από το φύλλωμα του *C.Nodosa* και βλαστάνουν δημιουργώντας κυκλικές αποικίες με την μορφή αττόλης.
3. Με συνεχή παράλληλη ανάπτυξη η *P.oceanica* ανταγωνίζεται το *C.Nodosa* και στο τέλος το εξαφανίζει.

Παρόμοιο μηχανισμό ακολουθεί η *Posidonia* και στον εποικισμό βραχωδών βυθών.

1.2.3 Λιβάδια *Posidonia oceanica*

Το *P.oceanica* είναι από τα γνωστότερα είδη (ιδιαίτερα στην Μεσόγειο), που μαζί με άλλα αποτελούν την ομάδα των θαλάσσιων γρασιδιών.

Παρουσιάζεται ως υποβρύχιο λιβάδι το οποίο εκτείνεται από την ακτή ως και βάθος 40 μέτρων αντιπροσωπεύοντας έτσι ένα από τα βασικότερα οικοσυστήματα της Μεσογείου. Τα συναντάμε συχνότερα σε λασπώδη και αμμώδη υποστρώματα και σπανιότερα σε σκληρό υπόστρωμα. Τα ριζώματά του μπορούν να αυξηθούν οριζόντια ή κάθετα, συνδυάζονται με πυκνά φυλλώματα.

Στην άκρη κάθε ριζώματος, υπάρχει ένας βλαστός πλάτους περίπου ενός εκατοστού. Ο αριθμός των φυλλωμάτων τους ποικίλλει κατά την διάρκεια του έτους, που κυμαίνεται μεταξύ 5 και 8. Τα παλαιότερα φύλλα τοποθετούνται στην εξωτερική πλευρά του βλαστού και μειώνονται ενώ ταυτόχρονα, αντικαθίστανται σύντομα από νέα που αυξάνονται στο εσωτερικό του βλαστού.

Τα λιβάδια του φίκους *P.oceanica* είναι μεγάλης σπουδαιότητας για το θαλάσσιο οικοσύστημα, όχι μόνο λαμβάνοντας υπόψη την παραγωγή οξυγόνου και των οργανικών ουσιών, αλλά και ως οικότοπος για ένα άπειρο αριθμό θαλάσσιων οργανισμών εξαρτώμενων από τέτοια λιβάδια από άποψη της διατροφής, του βιότοπου,

του καταφυγίου τους κ.λπ. Υπάρχουν επίσης πολλοί οργανισμοί που συνδέονται άμεσα με την επιφάνεια των φύλλων και των ριζωμάτων (επίφυτα, ξενιστές) για τους οποίους υπάρχει περισσότερο διαθέσιμος χώρος για το λόγο ότι η πραγματική περιοχή επιφάνειας όλων των φυλλωμάτων σε ένα ενιαίο τετραγωνικό μέτρο ενός λιβαδιού κυμαίνεται από 20 έως 50 τετραγωνικά μέτρα (Castro & Hubber., 1992).



Σχήμα 3: Λιβάδια *P.oceanica* (Δημητρόπουλος Α. & Sanchez P., 2016)

Τα λιβάδια *P.oceanica* (Σχήμα 3) είναι συγχρόνως ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην μείωση της διάβρωσης (Nybakken, 1997). Με την πυκνότητα των φυλλωμάτων τους επιβραδύνουν σε σημαντικό βαθμό την κίνηση των κυμάτων κι έτσι ο αντίκτυπος της δυναμικής της θάλασσας σε σχέση με αυτό που ασκείται στην ακτή είναι αμελητέος.

Παρόλη αυτή την πληθώρα θετικών χαρακτηριστικών ο αριθμός των φυσικών αυτών βιότοπων στην Μεσόγειο έχει μειωθεί, κάτι που οφείλεται ιδιαίτερα στις διάφορες εργασίες κατασκευής υποθαλάσσιων και παράκτιων έργων, την ρύπανση, την αλιεία με δίχτυα την αγκυροβόληση κ.α. (Τμήμα Αλιείας και Θαλάσσιων Ερευνών Κύπρος, 2016).

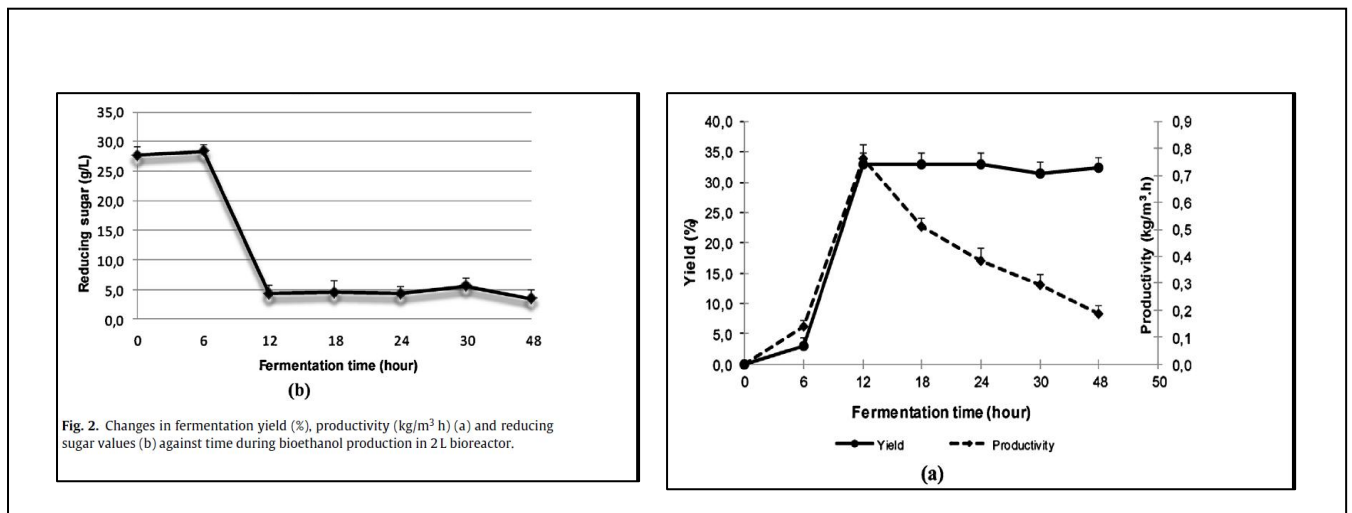
1.2.4 Παρουσίαση Προβλήματος

Κυρίως κατά τους φθινοπωρινούς μήνες και γενικά όταν είναι φουρτουνιασμένη η θάλασσα, φύλλα και κομμάτια ριζωμάτων από το *P.oceanica* που βρίσκεται στο θαλάσσιο περιβάλλον αποσπώνται και απομακρύνονται καταλήγοντας στις παράκτιες περιοχές, παρουσιάζοντας σημαντικά περιβαλλοντικά, κοινωνικά και οικονομικά προβλήματα σε όλες τις παράκτιες ζώνες της Μεσογείου. Τα ξηρά υπολείμματα του *P.oceanica* προκαλούν ζητήματα υγιεινής καθώς επίσης και θέματα οπτικής ρύπανσης στους επισκέπτες. Το γεγονός αυτό γίνεται εντονότερο σε περιοχές όπου οι παραλίες είναι κατάλληλες για λουόμενους, καθώς οι επισκέπτες των παραλιών δεν αντιμετωπίζουν θετικά την εικόνα αυτή και έτσι κρίνεται αναγκαίος ο καθαρισμός των παραλιών από τα ξηρά υπολείμματα του *P.oceanica*. Η ποσότητα των ξηρών υπολειμμάτων *P.oceanica* που συλλέγεται ανέρχεται περίπου στους 30 τόνους. Παρόλα αυτά η περισυλλογή και μεταφορά της μεγάλης ποσότητας ξηρών υπολειμμάτων του *P.oceanica* σε χώρους υγειονομικής ταφής, απαιτεί υψηλό κόστος και για τον λόγο αυτό, είναι σημαντικό να εξεταστούν κι άλλες πιθανές μέθοδοι διαχείρισης αυτής της βιομάζας καθώς και τρόποι μετατροπής του σε προϊόν προστιθέμενης αξίας. (*Pilavtepe M., 2013*).

1.2.5 Αξιοποίηση υπολειμμάτων *Posidonia oceanica* και φυκιών

Ο μεγάλος όγκος των υπολειμμάτων του *P.oceanica* οδήγησε σε εκτενή έρευνα για ανεύρεση τρόπων αξιοποίησής του. Σε σχετικές μελέτες παρατηρείται πως ερευνήθηκε

παραγωγή βιοαιθανόλης από τα υπολείμματα του *P.oceanica*. Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν θετικά αφού η μέγιστη απόδοση βιοαιθανόλης, μέσω υδρόλυσης έφτασε σε ποσοστό 62.3%. Η παραγωγή βιοαιθανόλης με την ταυτόχρονη κατανάλωση σακχάρων παρουσιάζονται και στο σχήμα 4. Μέσα από την ίδια μελέτη παρουσιάστηκαν (Πίνακας 2) και οι τιμές λιγνίνης, ημικυτταρίνης και α-κυτταρίνης σε μη επεξεργασμένα *P.oceanica* καθώς και μετά από όξινη και ενζυμική υδρόλυση (Pilavtepe M., 2013).

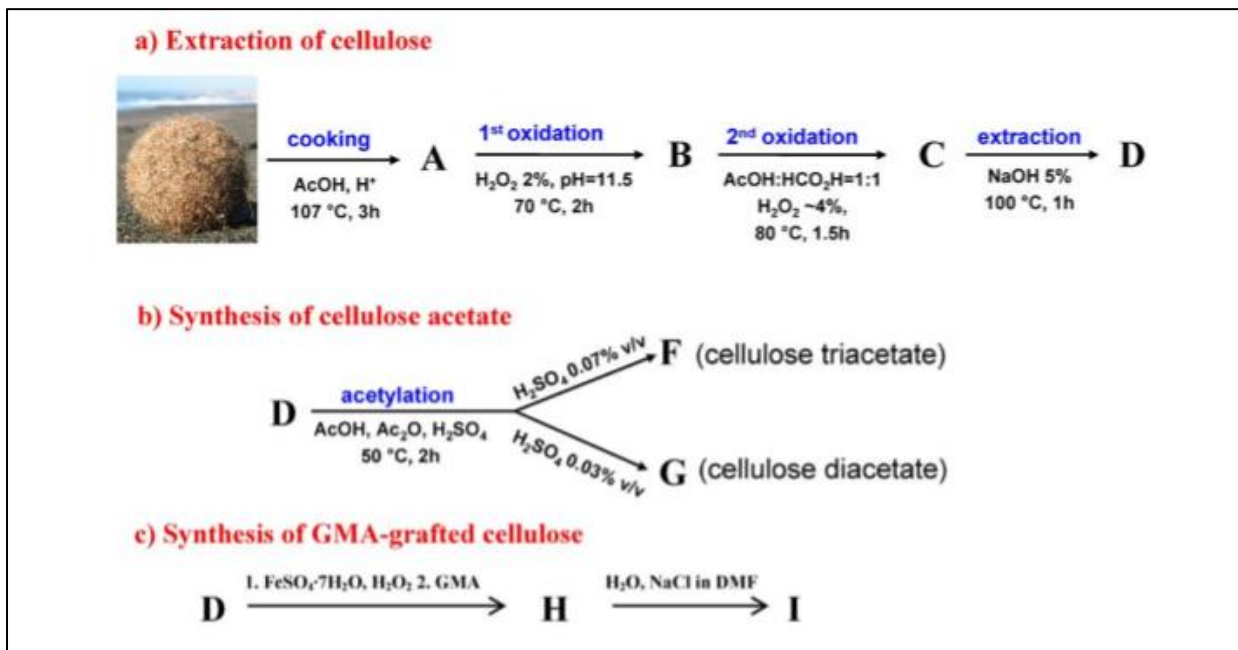


Σχήμα 4: Παραγωγή βιοαιθανόλης και κατανάλωση σακχάρων (Pilavtege M. et al., 2013).

Samples	Lignin (%)	Hemicellulose (%)	α-Cellulose (%)
Raw	23.8 ± 1.48	13.6 ± 1.86	42.9 ± 1.10
Acid-Hyd	36.6 ± 0.46	10.8 ± 0.08	45.7 ± 0.17
Enzyme-Hyd	30.9 ± 0.79	22.0 ± 0.27	26.1 ± 0.41

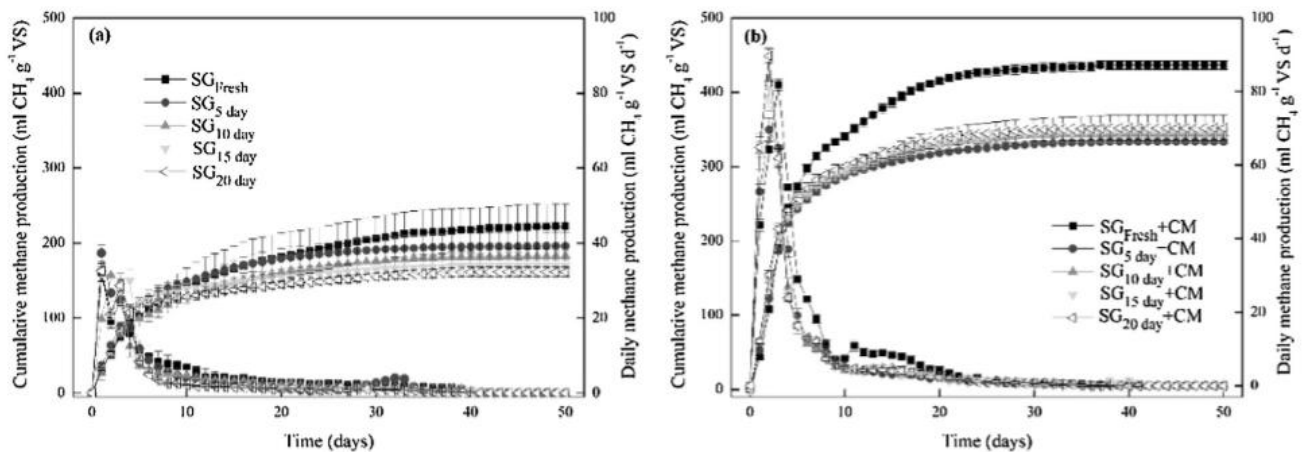
Πίνακας 2: Λιγνίνη, Ημικυτταρίνη και α-κυτταρίνη, μη επεξεργασμένου, και υδρολυμένου *P.oceanica* (Pilavtepe M., 2013).

Επιπλέον μελέτη, δείχνει την ικανότητα παραγωγής υψηλής ποιότητας κυτταρίνης, σε ποσοστό 97% α-κυτταρίνης με 48% βαθμό κρυσταλλικότητας, από υπολείμματα *P.oceanica*. Στο πιο κάτω σχήμα (Σχήμα 5), απεικονίζονται τα στάδια εξαγωγής κυτταρίνης από υπολείμματα *P.oceanica*. Η κυτταρίνη που παράχθηκε στην μελέτη αυτή είναι παρόμοια με την υψηλής ποιότητας κυτταρίνη που παράγεται από άλλα υλικά όπως το ξύλο και το βαμβάκι (Coletti A., 2013).



Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση α) σταδίων εξαγωγής κυτταρίνης από υπολείμματα *P.oceanica*, β) σύνθεσης ακετυλοκυτταρίνης γ) παραπροϊόν ακετυλοκυτταρίνης (Coletti A., 2013).

Έχουν εντοπιστεί αρκετές μελέτες για παραγωγή βιοαερίου από είδη φυκιών. Πρόσφατα έχει πραγματοποιηθεί ακόμη μια μελέτη χρησιμοποιώντας αγγειόσπερμα σε συνδυασμό με απόβλητα πουλερικών για έρευνα παραγωγής μεθανίου, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία της αναερόβιας χώνευσης. Στα πλαίσια της μελέτης ερευνήθηκε η παραγωγή μεθανίου από απόβλητα πουλερικών σε συνδυασμό με τα απόβλητα επεξεργασίας πουλερικών, είδη του φυτού *Miscanthus* και από θαλάσσια φυτά. Μέσα από τα αποτελέσματα της έρευνας εντοπίζεται πως ο συνδυασμός αποβλήτων πουλερικών με θαλάσσια φυτά έχει μεγαλύτερη απόδοση, από την απόδοση που έχουν μόνο τους τα θαλάσσια φυτά (Σχήμα 6) (C.Li et al., 2016).

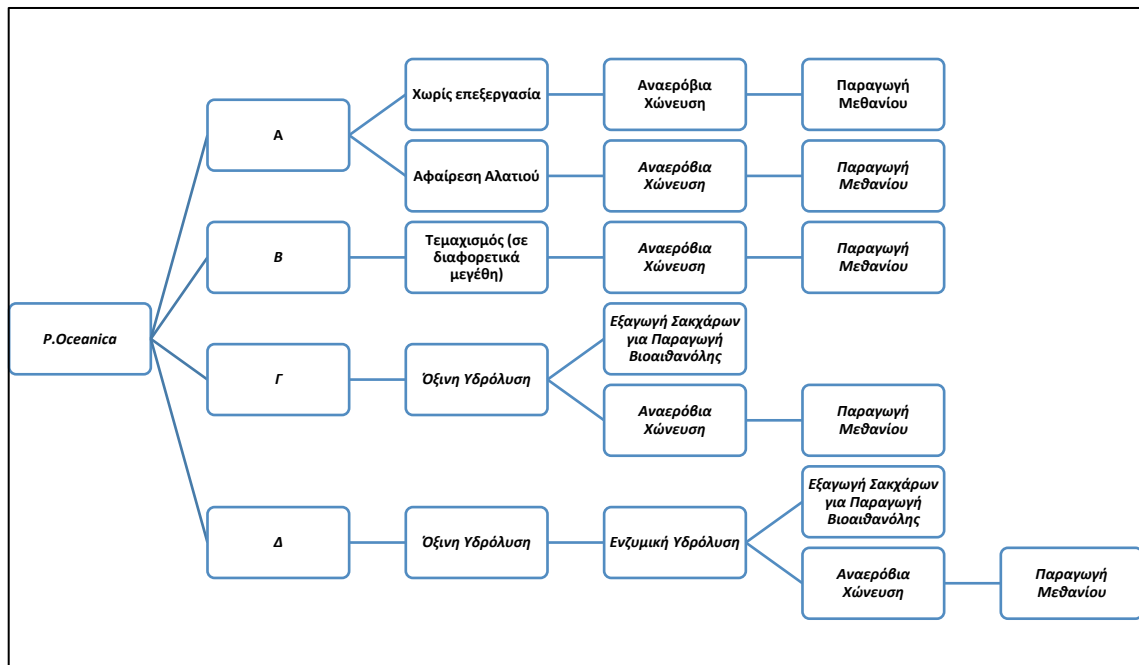


Σχήμα 6: Παραγωγή μεθανίου από α) θαλάσσια φυτά και β) σε συνδυασμό με απόβλητα πουλερικών (C. Li et al., 2016).

Επίσης έχει μελετηθεί η απόδοση μεθανίου από αναερόβια χώνευση διαφόρων ειδών φυκιών που έχουν υποστεί διαφορετική προ-επεξεργασία (θερμική, μηχανική, χημική και βιολογική) (Passos F., 2014). Επιπλέον έχει ερευνηθεί σε αναερόβιες συνθήκες, η

παραγωγή μεθανίου από φύκια τα οποία δεν έχουν υποστεί καμία επεξεργασία, με μέγιστη απόδοση μεθανίου $380 \text{ dm}^3 \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$ (Migliore G., 2011).

Ωστόσο, δεν έχει πραγματοποιηθεί οποιαδήποτε μελέτη παραγωγής βιοαερίου με την χρήση των ξηρών υπολειμμάτων *P.oceanica*, μέσω Αναερόβιας Χώνευσης. Επιπρόσθετα θα μπορούσε να συνδυαστεί η υπάρχουσα μελέτη παραγωγής βιοαιθανόλης από υπολείμματα *P.oceanica*, με ταυτόχρονη παραγωγή βιοαερίου. Στο πιο κάτω σχήμα (Σχήμα 7) απεικονίζονται οι συνοπτικά οι διάφορες διεργασίες που μελετήθηκαν κατά την διάρκεια της παρούσας έρευνας.



Σχήμα 7: Απεικόνιση διαδικασιών που μελετήθηκαν για παραγωγή μεθανίου από *P.Oceanica*.

Η επιλογή της αναερόβιας χώνευσης ως κύρια μέθοδο είναι αποτέλεσμα μιας πληθώρας θετικών χαρακτηριστικών που παρουσιάζει:

- Αρχικά η μέθοδος της Αναερόβιας Χώνευσης αποτελεί μια αρκετά ώριμη τεχνολογία, αφού χρησιμοποιείται σε βιομηχανίες εδώ και πολλά χρόνια, από το 1895.
- Μέσω Αναερόβιας Χώνευσης μπορούν να μετατραπούν όλα τα κλάσματα οργανικού υλικού, περιλαμβάνοντας λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και νουκλεϊκά οξέα σε βιοαέριο.
- Δεν απαιτείται οποιαδήποτε ξήρανση ή εκχύλιση του υποστρώματος πριν την χρήση του.
- Είναι φιλική προς το περιβάλλον, αφού δεν παράγονται τοξικές ενώσεις κατά την διάρκεια της διεργασίας (Bohutskyi P., 2013).

1.3 Αναερόβια χώνευση

1.3.1 Γενικά

Η αναερόβια χώνευση προσδιορίζεται ως η βιολογική διεργασία κατά την οποία το οργανικό υλικό, σε απουσία οξυγόνου, μετατρέπεται σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα (Toerien and Hattingh, 1969).

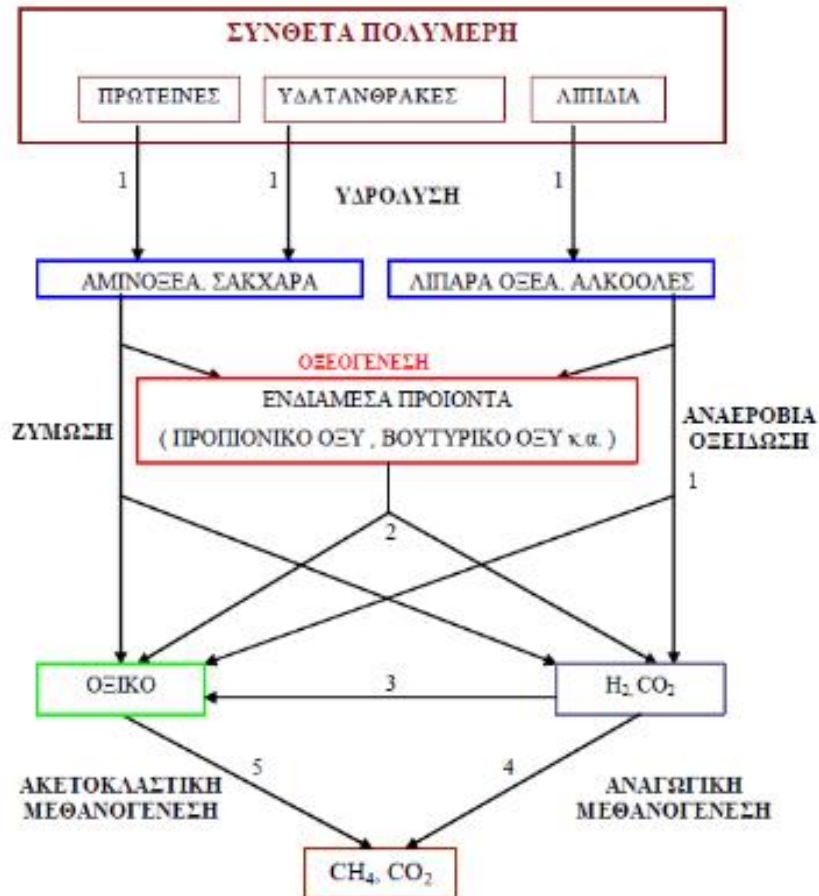
Ο πρώτος επιστήμονας που παρατήρησε τους αναερόβιους μικροοργανισμούς και την μελέτη της αναερόβιας χώνευσης, ήταν ο Leeuwenhoek (1680). Ακολούθησε η παρατήρηση του Alessandro Volta (1776) πως σε ιζήματα από βαλτώδης περιοχές, επισημαίνοντας την παραγωγή εύφλεκτου αερίου, οδηγώντας την επιστημονική κοινότητα στην μελέτη της βιολογικής παραγωγής μεθανίου. Παρόλα αυτά, η πιστοποίηση της ύπαρξης αναερόβιων βακτηρίων πραγματοποιήθηκε από τον Lois Pasteur (1862). Το 1913, ο Beijerinck ταυτοποίησε τον αναερόβιο μικροοργανισμό *Clostridium butyricum*, επαναλαμβάνοντας με ακρίβεια τα πειράματα του Leeuwenhoek.

Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης είναι κοινή σε αρκετά φυσικά περιβάλλοντα για παράδειγμα ιζήματα θαλάσσιου ύδατος και στο στομάχι μηρυκαστικών. Στις μέρες μας, η αναερόβια επεξεργασία με ταυτόχρονη παραγωγή μεθανίου αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την σταθεροποίηση της παραγόμενης λάσπης ειδικά σε μονάδες βιολογικής επεξεργασίας αστικών και βιομηχανικών λυμάτων. Παράλληλα χρησιμοποιείται και για την επεξεργασία στερεών απορριμμάτων και αστικών λυμάτων (Gunaseelan, 1997).

1.3.2 Μικροβιολογία της αναερόβιας χώνευσης

Η αναερόβια χώνευση αποτελείται από μια μικροβιολογική διαδικασία αποσύνθεσης της οργανικής ουσίας υπό αναερόβιες συνθήκες. Η αναερόβια βιοαποδόμηση του σύνθετου οργανικού υλικού είναι αποτέλεσμα συνδυαστικών σταδίων με οριζόντιες και παράλληλες αντιδράσεις (Pavlostathis and Giraldo-Gomez, 1991). Σε κάθε στάδιο εμπλέκονται ειδικές ομάδες μικροοργανισμών οι οποίοι αποσυνθέτουν διαδοχικά τα προϊόντα των προηγούμενων βημάτων. Στο (Σχήμα 8) παρουσιάζεται ένα απλουστευμένο διάγραμμα με τα κύρια βήματα της διεργασίας της αναερόβιας χώνευσης: η υδρόλυση, η οξεογένεση, η οξικογένεση και η μεθανογένεση.

Η ύπαρξη, ο αριθμός, ο τύπος και το είδος των μικροοργανισμών της αναερόβιας χώνευσης εξαρτάται από τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων που πρόκειται να επεξεργαστούν (Hobson et al., 1974).



Σχήμα 8: Μετατροπή οργανικού υλικού προς μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα κατά τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης (Κ.Δέλιος et al.,2014).

1.3.2.1 Υδρόλυση

Η υδρόλυση αποτελεί το πρώτο στάδιο της αναερόβιας χώνευσης. Λόγω του ότι το οργανικό υλικό είναι αδιαπέρατο από την κυτταρική του μεμβράνη, οι μικροοργανισμοί δεν μπορούν να το μεταβολίσουν σε μορφή σωματιδίων. Κατά την διάρκεια της υδρόλυσης, συνθέτες πολυμερικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες και τα λίπη αποσυντίθενται σε μικρότερα στοιχεία σε μονό- και ολιγομερή όπως είναι η γλυκόζη, η γλυκόλη, οι πουρίνες και άλλα. Οι πολυμερικές ενώσεις υδρολύονται με την βοήθεια εξωκυτταρικών ενζύμων σε διαλυτά προϊόντα μικρότερου μεγέθους ώστε να μπορούν να εισχωρήσουν στο εσωτερικό του κυττάρου διαμέσου της κυτταρικής

μεμβράνης (Gerardi, 2006). Τα υδρολυτικά βακτηρίδια εκκρίνουν υδρολυτικά ένζυμα, μετατρέποντας τα βιοπολυμερή σε απλούστερες και διαλυτές ενώσεις. Ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών συμμετέχει στην διαδικασία της υδρόλυσης. Ωστόσο, η υδρόλυση πραγματοποιείται από τα εξωένζυμα, τα οποία παράγονται από τους μικροοργανισμούς που αποσυνθέτουν το αδιάλυτο μοριακό υλικό. Τα προϊόντα της υδρόλυσης αποσυντίθενται περαιτέρω από τους μικροοργανισμούς που εμπλέκονται και χρησιμοποιούνται για τις δικές τους διεργασίες μεταβολισμού. Η υδρόλυση είναι μια σχετικά αργή διαδικασία η οποία παρεμποδίζεται από διάφορους παράγοντες όπως είναι το είδος του υποστρώματος, η τιμή του pH, το σωματιδιακό μέγεθος, την παραγωγή ενζύμων, την προσρόφηση ενζύμων στην επιφάνεια των σωματιδίων και άλλα (Anderson et al., 2003).

1.3.2.2 Οξεογένεση

Η οξεογένεση είναι το δεύτερο στάδιο της αναερόβιας χώνευσης. Στο στάδιο αυτό, τα προϊόντα που προκύπτουν από την διαδικασία της υδρόλυσης χρησιμοποιούνται από τα οξεογόνα κυρίως βακτήρια και μετατρέπονται σε μεθανογενή υποστρώματα. Τα απλά σάκχαρα, τα αμινοξέα και τα λιπαρά οξέα υποβιβάζονται σε οξικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο καθώς επίσης και σε πτητικά λιπαρά οξέα (VFA) και αλκοόλες. Το οξικό οξύ αποτελεί το κύριο προϊόν ζύμωσης των υδατανθράκων. Τα προϊόντα της οξεογένεσης ποικίλουν ανάλογα με τον τύπο των μικροοργανισμών καθώς επίσης και των συνθηκών καλλιέργειας (θερμοκρασία, pH, οξειδωαναγωγικό δυναμικό) (Gerardi, 2003). Ο οξεογόνος πληθυσμός αποτελεί περίπου το 90% του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού σε ένα αναερόβιο χωνευτήρα (Bitton., 2005).

1.3.2.3 Οξικογένεση

Κατά την διάρκεια της διαδικασίας της οξικογένεσης, τα προϊόντα που προέκυψαν από την οξεογένεση τα οποία δεν μπορούν άμεσα να μετατραπούν σε μεθάνιο, μετατρέπονται σε μεθανογενή υποστρώματα. Τα πτητικά λιπαρά οξέα και οι αλκοόλες οξειδώνονται σε μεθανογενή υποστρώματα, όπως είναι το οξικό οξύ, το υδρογόνο και το διοξείδιο του άνθρακα. Τα πτητικά λιπαρά οξέα με αλυσίδες άνθρακα με περισσότερους από δύο δεσμούς και αλκοόλες με αλυσίδες άνθρακα με περισσότερους από ένα δεσμό άνθρακα οξειδώνονται σε οξικό οξύ και υδρογόνο. Κάτω από υψηλή μερική πίεση υδρογόνου, οι οξικογόνοι μικροοργανισμοί παρεμποδίζονται και αδυνατούν να μετατρέψουν τα πτητικά λιπαρά οξέα, έχοντας ως αποτέλεσμα τη μείωση στον σχηματισμό οξικού οξέος και την εκτροπή της διεργασίας. Κατά την διάρκεια της μεθανογένεσης, το υδρογόνο μετατρέπεται σε μεθάνιο και οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί δρουν συνεργατικά επιτυγχάνοντας με αυτό τον τρόπο την μείωση συγκέντρωσης του υδρογόνου (Bjornsson et al, 2001). Η οξικογένεση και η μεθανογένεση συνήθως λαμβάνουν χώρα παράλληλα, ως συμβίωση δύο ομάδων οργανισμών. Παρόλα αυτά ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης τους διαφέρει καθώς ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης των οξικογόνων μικροοργανισμών είναι $\mu_{\max} = 1 \text{ g} * \text{h}^{-1}$ σε αντίθεση με τους μεθανογόνους οι οποίοι αναπτύσσονται με πολύ πιο αργούς ρυθμούς $\mu_{\max} = 0.04 \text{ g} * \text{h}^{-1}$ (Bitton., 2005).

1.3.2.4 Μεθανογένεση

Οι μεθανογόνοι αποτελούν αυστηρά αναερόβιους μικροοργανισμούς και χαρακτηριστικό και κύριο καταβολικό τους προϊόν είναι η παραγωγή μεθανίου, κατά την κατανάλωση απλών οργανικών ενώσεων. Φυλογενετικά οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί ανήκουν στα Αρχαία τα οποία διαφέρουν από τα κοινά βακτήρια σε κάποια χαρακτηριστικά τους όπως είναι η έλλειψη πεπτιδογλυκάνης, η θέση των λιπιδίων στην κυτταρική μεμβράνη και άλλες διαφορές στην αλληλουχία του RNA (Ferry, 1993). Η κατάταξη των μεθανογόνων πραγματοποιείται με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά (παρουσία ή απουσία προστατευτικής μεμβράνης), τον τύπο των ενζύμων που παράγουν, το υπόστρωμα που καταναλώνουν (διοξειδίο του άνθρακα, μονοξειδίο του άνθρακα, οξικό οξύ, μυρμηγκικό οξύ, μεθανόλη, μεθυλαμίνες) καθώς και από την θερμοκρασία ανάπτυξής τους.

Η παραγωγή μεθανίου αλλά και του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) από ενδιάμεσα προϊόντα πραγματοποιείται όπως προαναφέρθηκε από τα μεθανογενή βακτηρίδια. Κατά την μεθανογένεση υπάρχουν τρεις κύριες ομάδες μεθανογόνων μικροοργανισμών α) οι οξικολυτικοί μεθανογόνοι, οι οποίοι καταναλώνουν το οξικό οξύ, β) οι υδρογονοτροφικοί μεθανογόνοι, οι οποίοι χρησιμοποιούν το υδρογόνο για την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα σε μεθάνιο και γ) οι μεθυλοτροφικοί μεθανογόνοι, οι οποίοι αφαιρούν την μεθυλ-ομάδα από απλές ενώσεις. Το 70% του διαμορφωμένου μεθανίου προέρχεται από το οξικό οξύ (οξικολυτικοί μεθανογόνοι) ενώ το υπόλοιπο 30% προέρχεται από την μετατροπή του υδρογόνου (υδρογονοτροφικοί μεθανογόνοι) και του CO_2 . Η συνεισφορά των μεθυλοτροφικών μεθανογόνων στον συνολικό όγκο του παραγόμενου μεθανίου σε ένα σύστημα αναερόβιας χώνευσης είναι πολύ μικρή.

Η μεθανογένεση αποτελεί κρίσιμο στάδιο σε όλη την διεργασία της αναερόβιας χώνευσης, δεδομένου ότι είναι η πιο αργή βιοχημική αντίδραση της διεργασίας. Η μεθανογένεση επηρεάζεται σημαντικά από τις συνθήκες λειτουργίας. Η σύνθεση της πρώτης ύλης, ο ρυθμός τροφοδοσίας, η θερμοκρασία και το pH αποτελούν παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την μεθανογένεση. Η υπερφόρτωση του χωνευτήρα, οι αλλαγές θερμοκρασίας και η μεγάλη είσοδος οξυγόνου μπορεί να οδηγήσουν στον τερματισμό παραγωγής μεθανίου (Bitton., 2005).

1.3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την Αναερόβια Χώνευση

Η αναερόβια χώνευση αποτελεί μια πολύπλοκη και σύνθετη βιολογική διεργασία, η οποία οφείλεται στην αλληλεξάρτηση των μικροοργανισμών και στους παράγοντες που τους επηρεάζουν. Είναι πολύ σημαντικό να παρέχονται οι κατάλληλες συνθήκες στους αναερόβιους μικροοργανισμούς για την καλύτερη αποδοτικότητα τους κατά την αναερόβια χώνευση.

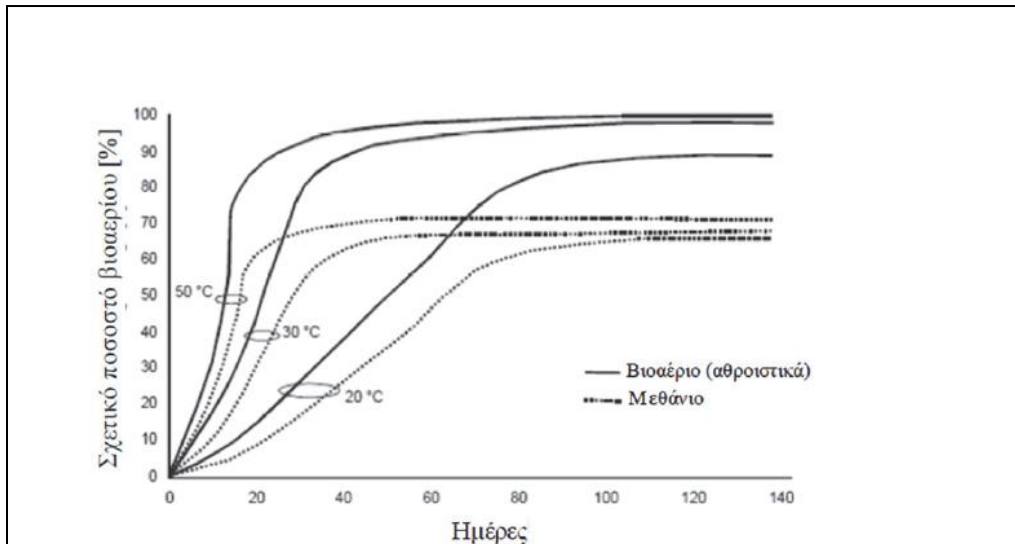
1.3.3.1 Θερμοκρασία

Η μεθανογένεση είναι από τις διεργασίες που εξαρτώνται σημαντικά από την θερμοκρασία. Η θερμοκρασία αποτελεί τον κύριο περιβαλλοντικό παράγοντα που επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν ανιχνευθεί σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών από 2°C σε θαλάσσια ιζήματα έως και 100°C σε γεωθερμικές περιοχές (Ferry., 1993). Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης πραγματοποιείται σε διαφορετικές θερμοκρασίες, οι οποίες χωρίζονται σε διαφορετικά θερμοκρασιακά εύρη, όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Υπερθερμόφιλοι	>80°C
Θερμόφιλα	65-75°C
Μεσόφιλοι	30-40°C
Ψυχροανθεκτικοί	20-30°C
Ψυχρόφιλοι	10-20°C

Πίνακας 3: Θερμοκρασιακές περιοχές ανάπτυξης μικροοργανισμών (Καραγκούνη - Κύρτσου, 1999).

Οι δύο βέλτιστες θερμοκρασιακές περιοχές για την λειτουργία αναερόβιων αντιδραστήρων είναι οι μεσόφιλοι και οι θερμόφιλοι, ανάμεσα στις οποίες παρατηρείται υψηλή απόδοση. Παρόλα αυτά έχει αναφερθεί και λειτουργία χωνευτή αναερόβιας επεξεργασίας λυμάτων σε θερμοκρασία 15°C (Zeeman et al, 1988). Κατά την λειτουργία ενός συστήματος αναερόβιας χώνευσης ακόμη και οι μικρές αλλαγές τις θερμοκρασίας μπορεί να αποβούν μοιραίες λόγω του ότι οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι είναι αρκετά ευαίσθητοι, εισέρχονται σε λανθάνουσα φάση προκειμένου να προσαρμοστούν στις νέες συνθήκες. Στο σχήμα 9 παρουσιάζονται οι σχετικοί ρυθμοί παραγωγής βιοαερίου ανάλογα με την θερμοκρασία και τον χρόνο παραμονής.



Σχήμα 9: Σχετικοί ρυθμοί παραγωγής βιοαερίου ανάλογα με την θερμοκρασία και τον χρόνο παραμονής (Stmugv, 2004).

Η θερμοφιλή αναερόβια χώνευση υπερτερεί της μεσόφιλης λόγω: α) μικρότερου όγκου εγκαταστάσεων, β) μεγαλύτερου ποσοστού αποδόμησης των οργανικών η οποία προκαλεί αύξηση ρυθμού παραγωγής βιοαερίου, γ) ταχύτερης υδρόλυσης και δ) καταστροφής παθογόνων μικροοργανισμών. Παρόλα αυτά, οι ψηλές απαιτήσεις σε ενέργεια λόγω υψηλής θερμοκρασίας σε συνδυασμό με την μεγαλύτερη ευαισθησία σε τοξικές ενώσεις, καθώς και την μειωμένη ευστάθεια των συστημάτων, καθιστούν την θερμοφιλή αναερόβια χώνευση οικονομικά ασύμφορη και δύσκολα εφαρμόσιμη (Ward,2007, Κάλφας, 2007).

1.3.3.2 Τιμή pH

Η τιμή του pH αποτελεί ακόμη ένα σημαντικό παράγοντα καθώς έχει την ικανότητα να επηρεάζει την ενζυμική λειτουργία και η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης. Οι περισσότερες διεργασίες αναερόβιας διεργασίας λειτουργούν σε ουδέτερο pH. Διαφοροποιήσεις από αυτή την περιοχή παρατηρούνται λόγω συσσώρευσης βασικών ή όξινων μεταβολικών προϊόντων αμμωνίας ή λιπαρών οξέων. Ένα από τα πιο κοινά προβλήματα που παρατηρούνται σε αναερόβιους αντιδραστήρες είναι η αύξηση της συσσώρευσης λιπαρών οξέων, το οποίο συμβαίνει όταν οξικογόνοι ή μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν παρεμποδιστεί έχοντας ως αποτέλεσμα την μη κατανάλωση και συσσώρευση των οξέων στον χωνευτήρα. Κάθε μικροβιακή ομάδα έχει το δικό της βέλτιστο pH για παράδειγμα τα οξεογόνα βακτήρια 5.5-6.5, ενώ για τα μεθανογόνα είναι το 7.8-8.2 (Khanal, 2008). Οι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί έχουν καλή ενζυμική λειτουργία ακόμη και σε τιμές pH 5. Αυτό δεν ισχύει για τους μεθανογόνους οι οποίοι αναπτύσσονται με πολύ αργούς ρυθμούς σε pH κάτω από 6. Η βέλτιστη τιμή για συνδυασμένες δράσεις είναι pH 6.8-7.5. Σε περίπτωση που η τιμή του pH μειωθεί κάτω από 6.6 η λειτουργία των μεθανογόνων παρεμποδίζεται όπως προαναφέρθηκε, με αποτέλεσμα να μην καταναλώνονται τα συσσωρευμένα παραγόμενα οξέα μειώνοντας περαιτέρω την το pH του αντιδραστήρα (Angelidaki, et al., 2003).

1.3.3.3 Αλατότητα

Οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να εντοπίζονται σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας. Έχουν εντοπιστεί σε γλυκά αλλά και σε υπεραλατούχα νερά. Ωστόσο έχει αποδειχθεί μέσα από μελέτες πως η παρουσία των μεθανογόνων μικροοργανισμών σε συνθήκες αλατότητας πέραν των 0.2 M Na⁺ παρεμποδίζεται η παραγωγή μεθανίου (Vyrides I. et al., 2009). Η επαρκής ποσότητα αποτελεί σημαντικό

παράγοντα για ρύθμιση του pH. Κατά την διεργασία της Αναερόβιας Χώνευσης η αλκαλικότητα που παράγεται κατά την διάσπαση των οργανικών υποστρωμάτων εμφανίζονται υπό την μορφή διττανθρακικών, τα οποία βρίσκονται σε ισορροπία με το CO₂ στην αέρια φάση. Στις τιμές που ρυθμίζεται το pH, η διττανθρακική αλκαλικότητα κυμαίνεται από 1000 mg/L -5000mg/L CaCO₃ (Malina et al., 1991).

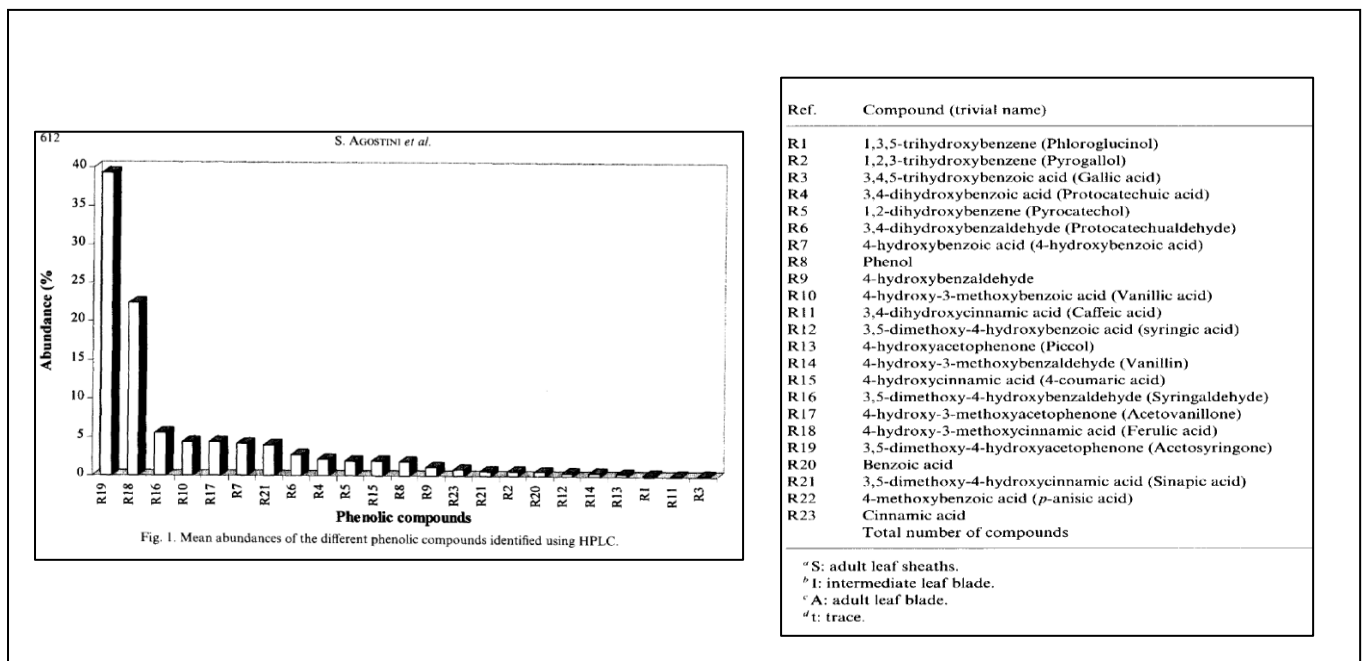
1.3.3.4 Αμμωνία

Η αμμωνία (NH₃) είναι μια σημαντική ένωση, με ιδιαίτερη λειτουργία στην διεργασία της αναερόβιας χώνευσης καθώς αποτελεί σημαντικό ρυθμιστικό παράγοντα κρατώντας το pH του αντιδραστήρα σε επιθυμητά επίπεδα. Παρόλα αυτά υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας μπορεί επίσης να δράσουν παρεμποδιστικά κατά την διαδικασία της αναερόβιας χώνευσης. Η τιμή συγκέντρωσης που είναι τοξική για τους μικροοργανισμούς εξαρτάται και από άλλους παράγοντες όπως είναι το pH και η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων, καθώς και από τον τρόπο έκθεσης στα μεθανοβακτήρια με την ελεύθερη μορφή να θεωρείται πιο τοξική από την ιονισμένη της μορφή (Malina et al, 1991). Η συγκέντρωση αμμωνίας μεταξύ 1500 και 3000mg/l έχει την ικανότητα να παρεμποδίσει την παραγωγή μεθανίου ενώ σε τιμές άνω των 4000 mg/l η διεργασία αναστέλλεται (Stonach et al, 1986).

1.3.3.5 Φαινολικές Ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες οι οποίες συνδέονται με έναν ή περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους. Οι φαινολικές ενώσεις στα φυτά αποτελούν μέρος του αμυντικού τους μηχανισμού, και τα προστατεύουν από έντομα και παθογόνους μικροοργανισμούς (Vermerris & Nickolson, 2006). Η ποσότητά τους στα *P.Oceanica* εξαρτάται από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες και από το στάδιο

ωριμότητάς τους. Τα χλωροφυλλούχα *P.Oceanica*, παρουσιάζουν μεγαλύτερες ποσότητες σε φαινολικές ενώσεις, από ότι τα μη χλωροφυλλούχα (Dumay O. et al., 2004). Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 10, το *P.Oceanica* έχουν εντοπιστεί 23 διαφορετικές φαινολικές ενώσεις με μεγαλύτερο ποσοστό σε ακετοσυριγγόνη και φερουλικό οξύ (Agostini et al., 1998). Η εμφάνιση φαινολικών ενώσεων σε απόβλητα επηρεάζει την αποτοξικοποίησή του. Παρόλα αυτά η χρησιμότητά τους σε βιομηχανίες τροφίμων και φαρμάκων είναι σημαντική αφού έχει αποδειχτεί η παρουσία αντιοξειδωτικής, αντικαρκινικής και καρδιοπροστατευτικής τους δράσης (Vermerris & Nickolson, 2006).



Σχήμα 10: Εντοπισμός και Ποσοτικοποίηση Φαινολικών Ενώσεων (Agostini et al., 1998).

1.3.3.6 Πτητικά λιπαρά οξέα (VFA)

Τα πτητικά λιπαρά οξέα (VFA) αποτελούν ενδιάμεσα προϊόντα κατά την βιοαποδόμηση και την μετατροπή της οργανικής ουσίας σε βιοαέριο. Η δομή και η χημική τους σύνθεση είναι παρόμοια με αυτή των λιπιδικών συστατικών της κυτταρικής μεμβράνης των οξυκολυτικών μεθανογόνων, έχοντας ως αποτέλεσμα την προσκόλληση και διάλυση των κυττάρων μειώνοντας έτσι την δραστηρότητά τους (Gerardi, 2006). Η ευστάθεια της διεργασίας της αναερόβιας χώνευσης επηρεάζεται από την συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων. Τα πτητικά λιπαρά οξέα είναι ενδιάμεσες ενώσεις που παράγονται κατά την διάρκεια της οξικογένεσης, με μια αλυσίδα άνθρακα από έξι ή λιγότερα άτομα.

Από τα πτητικά λιπαρά οξέα ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν το οξικό και προπιονικό οξύ, το άθροισμα των οποίων ανέρχεται στο 85% της συγκέντρωσης του συνόλου των VFA. Τα πτητικά λιπαρά οξέα δρουν παρεμποδιστικά στα μεθανογόνα για αυτό και η συγκέντρωσή τους θα πρέπει να ελέγχεται και να παραμένει σε επιθυμητά επίπεδα. Συνήθως η αστάθεια κατά την διεργασία οδηγεί σε συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων και κατ' επέκταση πτώση της τιμής του pH. Από τα πτητικά λιπαρά οξέα το προπιονικό οξύ είναι το πιο παρεμποδιστικό στα μεθανογόνα (Wang et al. 2009). Συγκεντρώσεις άνω των 1000 mg/L έχουν αρνητική επίδραση στην διεργασία της υδρόλυσης, ενώ τιμές άνω των 6000 mg/L παρεμποδίζουν σημαντικά την διεργασία της ζύμωσης (Siegert and Banks, 2005). Ο χαμηλότερος λόγος προπιονικού οξέος προς οξικού οξέος από 1.4 αποτελεί ένα καλό δείκτη για την σταθερότητα της αναερόβιας χώνευσης. Επιθυμητή συγκέντρωση για το οξικό οξύ είναι < 750mg/L (Hill et al. 1987). Ο βαθμός συσσώρευσης VFA εξαρτάται σημαντικά από το οργανικό φορτίο λειτουργίας του αντιδραστήρα, το οποίο όταν είναι μεγάλο υπάρχει κίνδυνος

συσσώρευσής τους σε επίπεδα που επιδρούν αρνητικά στην διεργασία της αναερόβιας χώνευσης και την παραγωγή βιοαερίου (Angelidaki et al. 2011).

1.3.3.7 Θρεπτικά και τοξικές ενώσεις

Η διάσπαση οργανικών μορίων και παραγωγή μεθανίου πραγματοποιείται με την ύπαρξη θρεπτικών συστατικών τα οποία είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Η βέλτιστη αναλογία θρεπτικών στοιχείων άνθρακα (C), αζώτου (N), φωσφόρου (P) και θείου (S) είναι 600:15:5:1 αντίστοιχα. Άλλα σημαντικά ιχνοστοιχεία για την μεθανογένεση αποτελούν το νικέλιο, το μαγνήσιο, ο σίδηρος, το ασβέστιο, το βάριο, το βολφράμιο, το σελήνιο, ο μόλυβδος και το κοβάλτιο.

Η παρουσία τοξικών ενώσεων από την άλλη αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα της δραστηριότητας των αναερόβιων μικροοργανισμών. Η παρουσία τοξικών ενώσεων στην διεργασία της αναερόβιας χώνευσης είναι λόγω μεταφοράς τους μαζί με την πρώτη ύλη ή παραγωγή τους κατά την διάρκεια της διεργασίας. Λόγω του ότι τα υλικά αυτά δεσμεύονται με χημικές διεργασίες και οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί προσαρμόζονται εντός ορισμένων ορίων σε περιβαλλοντικές συνθήκες, η εφαρμογή κατώτατων οριακών τιμών για τα τοξικά υλικά είναι δύσκολη (Σιούλας Κ,2010).

1.4 Βιοαέριο

1.4.1 Σύσταση Βιοαερίου

Ο όρος βιοαέριο αναφέρεται σε ένα μείγμα διαφορετικών αερίων τα οποία προκύπτουν από την αποσύνθεση οργανικής ύλης υπό αναερόβιες συνθήκες. Η σύνθεση του βιοαερίου διαφέρει από την σύνθεση του φυσικού αερίου, όμως είναι παρόμοια με το αέριο της υγειονομικής ταφής. Το παραγόμενο βιοαέριο που προκύπτει από την διεργασία της Αναερόβιας Χώνευσης αποτελείται κυρίως από μεθάνιο (CH_4) και διοξείδιο του άνθρακα (CO_2), και σε μικρότερες ποσότητες από υδρόθειο (H_2S) και αμμωνία (NH_3). Επίσης, πιθανόν να παρουσιαστούν ίχνη υδρογόνου (H_2), αζώτου (N_2) οξυγόνο (O_2) και μονοξειδίου του άνθρακα (CO). Το μείγμα των αερίων είναι κορεσμένο με υδρατμούς και πιθανόν να περιέχει σωματίδια σκόνης και σιλοξάνες (Monnet F., 2003). Μια τυπική σύσταση του βιοαερίου παρουσιάζεται στον πιο κάτω Πίνακα 4.

Συστατικό	Χημικός Τύπος	Περιεκτικότητα (% κ.ο.)
Μεθάνιο	CH ₄	55-70
Διοξείδιο του άνθρακα	CO ₂	30-45
Άζωτο	N ₂	0-5
Οξυγόνο	O ₂	<1
Υδρογονάνθρακες	C _n H _{2n+2}	<1
Υδρόθειο	H ₂ S	0-0.05
Αμμωνία	NH ₃	0-0.05
Υδρατμοί	H ₂ O	1-5
Σιλοξάνες	C _n H _{2n+2+1} SiO	0-50 g/m ³

Πίνακας 4: Τυπική Χημική Σύσταση Βιοαερίου (Biomass Energy, 2012).

1.4.2 Χρήσεις βιοαερίου

Το βιοαέριο ως εναλλακτική πηγή ενέργειας βρίσκει αρκετές εφαρμογές. Η χρήση του βιοαερίου καθορίζεται κυρίως από την προέλευση των αποβλήτων και το είδος των αναγκών για ενέργεια.

Τα αέρια μεθάνιο, υδρογόνο και μονοξείδιο του άνθρακα έχουν την ικανότητα να καίγονται ή να οξειδώνονται με παρουσία οξυγόνου. Μέσω αυτής της ενεργειακής απελευθέρωσης δίνεται η δυνατότητα στο βιοαέριο να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο. Το καύσιμο που προκύπτει από το βιοαέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε

λέβητες (boilers) για παραγωγή θερμότητας. Η παραγόμενη θερμότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εγκαταστάσεις για θέρμανση και για μαγείρεμα ή στην παραγωγή ατμού για βιομηχανική χρήση.

Επιπλέον το βιοαέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμένη παραγωγή ηλεκτρισμού και θερμότητας, μονάδες Συμπαραγωγής Ηλεκτρισμού και Θερμότητας (CHP- Combined Heat and Power). Στις μονάδες αναερόβιας χώνευσης η μονάδα Συμπαραγωγής Ηλεκτρισμού και Θερμότητας αποτελεί καλό τρόπο για αποδοτική παραγωγή ηλεκτρισμού και θερμότητας. Η θέρμανση του χωνευτήρα και η αποστείρωση του κομπόστ προκύπτει από την θερμότητα αυτή, ενώ το υπόλοιπο της ηλεκτρικής ενέργειας μπορεί να πωληθεί στο εθνικό δίκτυο.

Επίσης το βιοαέριο μπορεί να συμπιεστεί όπως και το φυσικό αέριο και να χρησιμοποιηθεί για παραγωγή ενέργειας σε μηχανές οχημάτων. Οι κινητήρες Otto αναπτύσσονται συγκεκριμένα για τη χρήση του βιοαερίου σύμφωνα με την αρχή του Otto και απαιτούν βιοαέριο με τουλάχιστον 45% περιεχόμενο μεθανίου. Οι μικρότερες μηχανές, μέχρι τα 100 kWel, είναι συνήθως μηχανές Otto που μπορούν να λειτουργούν με βιοαέριο ή φυσικό αέριο, το οποίο είναι χρήσιμο κατά την φάση της εκκίνησης των εγκαταστάσεων βιοαερίου, όταν η θερμότητα χρησιμοποιείται για να θερμάνει τους χωνευτήρες (Σιούλας, 2009).

Στόχος της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη αξιοποίησης των υπολειμμάτων του *Posidonia Oceanica* χρησιμοποιώντας την μέθοδο της Αναερόβιας Χώνευσης. Με μια σειρά πειραμάτων, διαφοροποιώντας κάποιες παραμέτρους, προϋποθέτετε η ανεύρεση των βέλτιστων συνθηκών, στις οποίες θα υπάρχει μεγαλύτερη απόδοση.

2 Μεθοδολογία Έρευνας

Ο βασικός σκοπός της εργασίας αυτής, είναι όπως προαναφέρθηκε η μελέτη της αξιοποίησης υπολειμμάτων του είδους *P.Oceanica* μέσω παραγωγής μεθανίου, με την τεχνολογία της αναερόβιας χώνευσης. Για την μελέτη αυτή κρίθηκε σκόπιμη η συλλογή ξεβρασμένων υπολειμμάτων αγγειόσπερμα του είδους *P.Oceanica*. Η συλλογή τους πραγματοποιήθηκε τον Σεπτέμβριο του 2016, από τις παράκτιες περιοχές της Γεροσκήπου στην Πάφο.

2.1 Υλικά και προετοιμασία δειγμάτων

Βήμα 1- Προετοιμασία μέσου (media) και λάσπης

<u>ΣΥΣΤΑΣΗ ΒΙΟΜΕΣΟΥ</u>	
Απεσταγμένο Νερό	975 ml
Διάλυμα (A)	10 ml
Διάλυμα (B)	2 ml
Διάλυμα (C)	1 ml
Διάλυμα (D)	1 ml
Διάλυμα (E)	1 ml
Απιονισμένο νερό	10 ml
+0.5g υδροχλωρική κυστεΐνη	
+ 2.6 NaHCO ₃	

Πίνακας 5: Σύσταση Βιομέσου (Angelidaki I. et al., 2009).

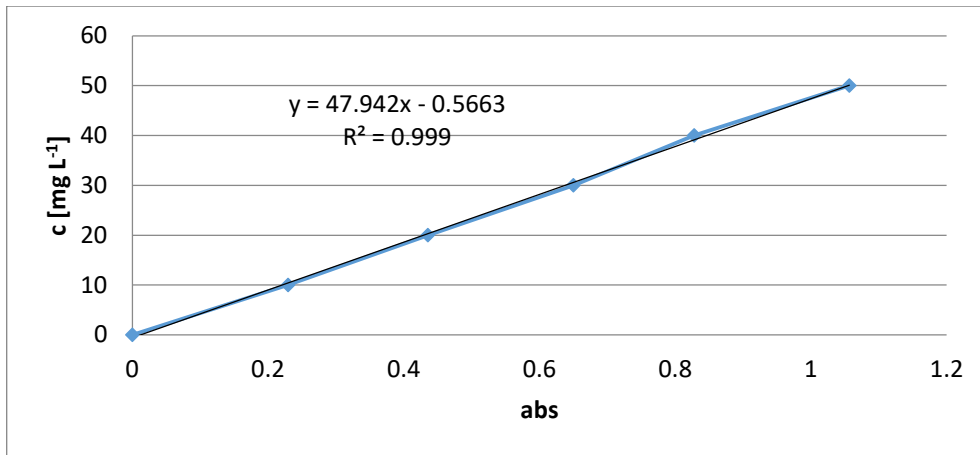
Η λάσπη ήταν έτοιμη granular sludge, η οποία λήφθηκε από το εργαστήριο.

Βήμα 2 - Ετοιμασία Μάρτυρα (Control)

Για επαλήθευση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε θετικός μάρτυρας (Control). Το control αποτελείται από 90ml μέσο (media) και 10ml λάσπης (sludge).

Βήμα 3 – Προ επεξεργασία υποστρωμάτων αναερόβιας χώνευσης

- A. Πλύσιμο - Αφαίρεση αλατιού: Πραγματοποιήθηκε έκπλυση με νερό, μικρής ποσότητας *P.oceanica* πριν την χρήση τους στα υπό μελέτη δείγματα για αφαίρεση αλατιού.
- B. Τεμαχισμός: Μικρή ποσότητα *P.oceanica* χρειάστηκε να τεμαχιστεί σε διαφορετικά μεγέθη πριν την χρήση τους.
- C. Όξινη Υδρόλυση: 30 g *P.oceanica* υπέστησαν όξινη υδρόλυση πριν την ανάλυσή τους. Τοποθετήθηκαν σε 116 °C για 10 λεπτά. Η μέτρηση σακχάρων πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο φαινόλης-θειικού οξέος (95% (0.5%)H₂SO₄ και 5% στερεό). Αρχικά πραγματοποιήθηκε αραιώση του δείγματος 1:1000. Από την αραιώση προσθέτονται 1ml δείγμα + 0,25μL φαινόλης 80% και ακολουθεί ανάδευση. Στην συνέχεια προσθέτονται 2,5ml H₂SO₄ και ακολουθεί ξανά ανάδευση του δείγματος. 20 λεπτά αργότερα πραγματοποιείται η μέτρηση στα 490 nm. Πιο κάτω παρουσιάζεται η καμπύλη βαθμονόμησης.



Καμπύλη βαθμονόμησης

D. Ενζυμική υδρόλυση: 30g υπολειμμάτων *P.oceanica*, υπέστησαν ενζυμική υδρόλυση η οποία πραγματοποιήθηκε μετά από την όξινη υδρόλυση. Οι συνθήκες που επικράτησαν κατά την ενζυμική υδρόλυση ήταν 50 °C για 72 ώρες, 35 IU κυτταρινάσες και 25 BGL β-γλυκοσιδάσες.

Βήμα 5 - Δημιουργία αναερόβιων συνθηκών (CO₂ flask)

Η δημιουργία αναερόβιων συνθηκών στις φιάλες επιτυγχάνεται ταχέως με την διοχέτευση διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) μέσω συνδετικού, με πίεση περίπου 2 bar. Παράλληλα πραγματοποιείται και η απομάκρυνση οξυγόνου (O₂) εντός 2 λεπτών με την χρήση δεύτερου συνδετικού .

Φιάλη μικρού όγκου (serum bottle)

Η εύρεση παραγωγής μεθανίου συνήθως λαμβάνει χώρα σε γυάλινη φιάλη όγκου 160 ml , η οποία διαθέτει πλαστικό πώμα, δίνοντας την ικανότητα δειγματοληψίας του αέριου δείγματος, και είναι σφραγισμένη με καπάκι από αλουμίνιο επιτρέποντας την ανάπτυξη μεγάλων πιέσεων στο εσωτερικό του αντιδραστήρα. Επίσης η φιάλη καθ' όλη την διάρκεια των μετρήσεων είναι τοποθετημένη σε επωαστήρα ανάδευσης εξασφαλίζοντας έτσι ανάδευση στο δείγμα. Η θερμοκρασία του επωαστήρα είναι ρυθμισμένη σε επιθυμητά επίπεδα θερμοκρασίας.

Βήμα 6 – Μετρήσεις

- Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH πραγματοποιείται με την εμφύσηση ηλεκτροδίου βαθμονομημένου, ηλεκτρονικού pH-μέτρου σε όγκο δείγματος 10-15ml. Κατά την έναρξη των πειραμάτων το pH ρυθμιζόταν σε τιμές 6.8-7.

- Μέτρηση παραγωγής μεθανίου: Όλες οι μετρήσεις παραγωγής μεθανίου, πραγματοποιήθηκαν με την χρήση GC Αέριου χρωματογράφου προσθέτοντας 1 ml αερίου με την χρήση σύριγγας, και ακολούθως μέσω υπολογισμών. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στο GC για κάθε δείγμα διαρκούσε 5.5 λεπτά. Η διακύμανση της θερμοκρασίας κυμαινόταν από 60°C μέχρι 160°C. Στους 60°C εμφανιζόταν η κορυφή για το Οξυγόνο (O₂), στους ~97°C η κορυφή του Μεθανίου (CH₄) και στους ~157°C η κορυφή του Διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Το retention time ήταν ~1.3 για Άζωτο (N₂), ~3 για Μεθάνιο (CH₄), ~4.4 για Διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) και ~0.5 για το Οξυγόνο O₂.

- Μέτρηση Πτητικών Λιπαρών Οξέων VFA'S

Πτητικά λιπαρά Οξέα ορίζονται τα διαλυτά στο νερό οξέα τα οποία έχουν την ικανότητα να αποσταχθούν σε ατμοσφαιρική πίεση. Τα λιπαρά οξέα με έξι άτομα άνθρακα παρουσιάζουν την ικανότητα να αποστάζονται παράλληλα με το νερό και έτσι απομακρύνονται από τα υδατικά μέσα παρά το ψηλό σημείο ζέσεως τους. Η μέτρηση των VFA'S πραγματοποιήθηκε με την χρήση Υγρής Χρωματογράφου Υψηλής Απόδοσης - HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

- Μέτρηση Ολικών στερεών (TS) και Πτητικών στερεών (VS)

Τα ολικά στερεά (Total Solids TS) ορίζονται ως η ύλη που απομένει μετά από εξάτμιση στους 103-105°C. Για τον προσδιορισμό τους ξηράθηκαν 5g δείγματος στους 103-105°C, μέχρι σταθερού βάρους σε προ ζυγισμένη κάψα. Η αύξηση του βάρους της κάψας μετά την ξήρανση αντιστοιχεί στα ολικά στερεά.

Πτητικά στερεά (Volatile Solids VS) ορίζεται ως η ύλη που απομένει μετά από καύση του δείγματος στους 550°C. Για τον προσδιορισμό τους η κάψα στην οποία έχουν κατακρατηθεί τα ολικά στερεά πυρακτώνεται μέχρι σταθερού βάρους στους 550°C. Η μείωση του βάρους της κάψας αντιστοιχεί στα πτητικά στερεά.

2.2 Διαδικασίες διεξαγωγής πειραμάτων

2.2.1 Πρώτο Πείραμα

Κατά την πρώτη πειραματική δοκιμή μελετήθηκε η παραγωγή βιοαερίου και μεθανίου ανάμεσα σε *Posidonia oceanica* χωρίς οποιαδήποτε επεξεργασία και σε πλυμένα *P.oceanica* σε σύγκριση με το control. Όλα τα υπό μελέτη δείγματα ετοιμάστηκαν σε τριπλέτες.

Σε serum bottle των 160ml, τοποθετήθηκαν 2g *P.oceanica*, 90ml μέσω (media) και 10g λάσπης. Το headspace που δημιουργήθηκε ήταν 25 ml. Στην συνέχεια δημιουργήθηκαν αναερόβιες συνθήκες στα serum bottle, μέσω διοχέτευσης διοξειδίου του άνθρακα και ταυτόχρονης απομάκρυνσης αερίων για 2 λεπτά. Πραγματοποιήθηκε ρύθμιση του pH και τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα στους 35°C. Ακολούθησαν οι μετρήσεις για μελέτη παραγωγής μεθανίου, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν την 2^η, 5^η, 7^η, 10^η, και 13^η ημέρα, καθώς και μετρήσεις TS και VS.

2.2.2 Δεύτερο Πείραμα

Κατά την δεύτερη πειραματική δοκιμή μελετήθηκε η παραγωγή βιοαερίου και μεθανίου ανάμεσα σε τεμαχισμένα σε τρία διαφορετικά μεγέθη (>4mm, 2-4mm και <2mm) *P.oceanica* σε σύγκριση με το control. Όλα τα υπό μελέτη δείγματα ετοιμάστηκαν σε τριπλέτες.

Σε serum bottle των 250ml, τοποθετήθηκαν 5g *P.oceanica*, 90ml μέσω (media) και 10g λάσπης. Το headspace που δημιουργήθηκε ήταν 150 ml. Στην συνέχεια δημιουργήθηκαν αναερόβιες συνθήκες στα serum bottle, μέσω διοχέτευσης διοξειδίου του άνθρακα και ταυτόχρονης απομάκρυνσης αερίων για 2 λεπτά. Ρυθμίστηκε το Ph

και τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα στους 35°C. Ακολούθησαν οι μετρήσεις για μελέτη παραγωγής μεθανίου, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν την 1^η, 3^η, 5^η, 7^η, 9^η, 13^η, 19^η, 26^η και 30^η ημέρα καθώς και μετρήσεις TS και VS.

2.2.3 Τρίτο Πείραμα

Στην τρίτη πειραματική δοκιμή μελετήθηκε η παραγωγή βιοαερίου και μεθανίου ανάμεσα σε μη επεξεργασμένα, τεμαχισμένα, υδρολυμένα και τεμαχισμένα και υδρολυμένα *P.oceanica* σε σύγκριση με το control. Όλα τα υπό μελέτη δείγματα ετοιμάστηκαν σε τριπλέτες.

Σε serum bottle των 160 ml, τοποθετήθηκαν 2.5 g *P.oceanica*, 90 ml μέσω (media) και 10 g λάσπης. Το headspace που δημιουργήθηκε ήταν 25 ml. Στην συνέχεια δημιουργήθηκαν αναερόβιες συνθήκες στις φιάλες, μέσω διοχέτευσης διοξειδίου του άνθρακα και ταυτόχρονης απομάκρυνσης αερίων για 2 λεπτά. Τα δείγματα ρυθμίστηκαν σε τιμές pH 6.8-7 και τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα στους 35°C. Ακολούθησαν οι μετρήσεις για μελέτη παραγωγής μεθανίου, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν την 1^η, 2^η, 5^η, 9^η, 12^η, 16^η και 26^η ημέρα. Επίσης πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για TS και VS.

2.2.4 Τέταρτο Πείραμα

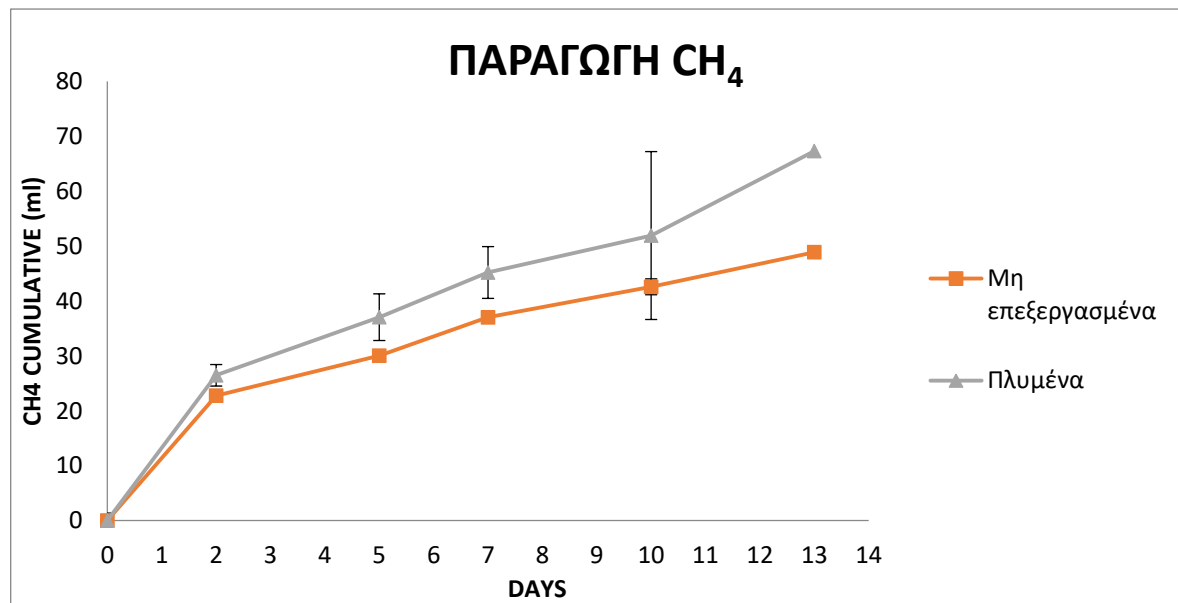
Στην τέταρτη πειραματική δοκιμή μελετήθηκε η παραγωγή βιοαερίου και μεθανίου ανάμεσα σε μη επεξεργασμένα, όξινα υδρολυμένα και ενζυμικά υδρολυμένα *P.oceanica* σε σύγκριση με το control. Όλα τα υπό μελέτη δείγματα ετοιμάστηκαν σε τριπλέτες.

Σε serum bottle των 250 ml, τοποθετήθηκαν 2.5g *P.oceanica*, 85 ml μέσω (media) και 15g λάσπης. Το headspace που δημιουργήθηκε ήταν 150 ml. Στην συνέχεια δημιουργήθηκαν αναερόβιες συνθήκες στις φιάλες, μέσω διοχέτευσης διοξειδίου του άνθρακα και ταυτόχρονης απομάκρυνσης αερίων για 2 λεπτά. Το pH ρυθμίστηκε στο 6.8-7 και τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα στους 35°C. Ακολούθησαν οι μετρήσεις για μελέτη παραγωγής μεθανίου, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν την 2^η, 5^η, 7^η, 20^η και 23^η ημέρα. Κατά την τέταρτη πειραματική δοκιμή πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις TS, VS καθώς και για VFA'S.

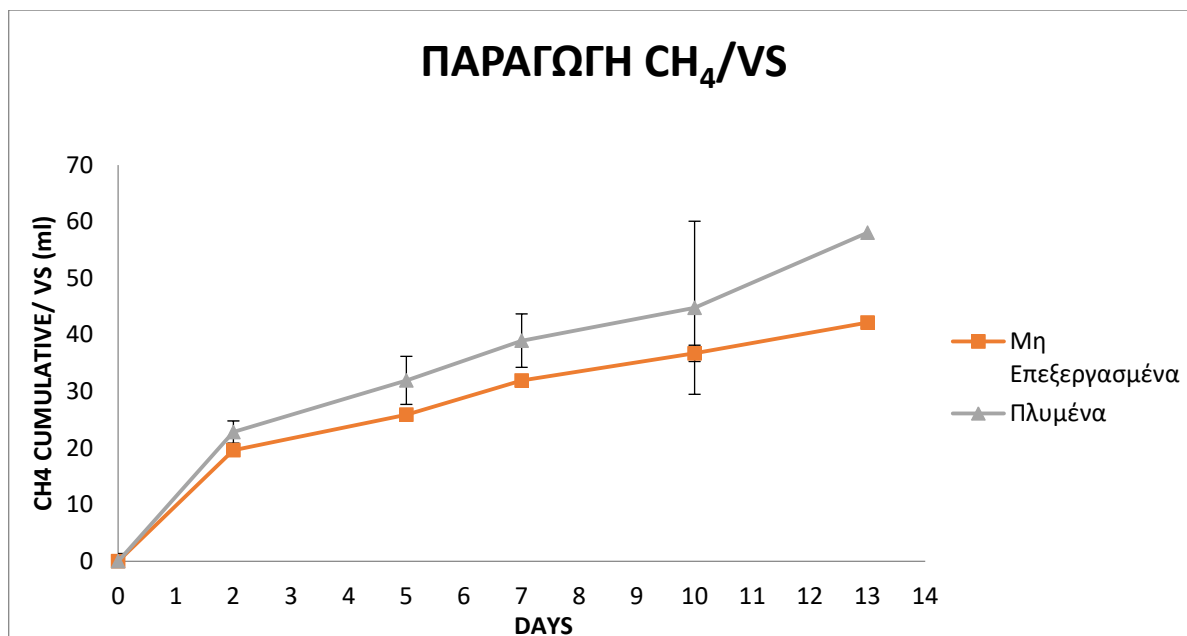
3 Αποτελέσματα Πειραματικών Διαδικασιών

3.1 Αποτελέσματα Πρώτου Πειράματος

Στα πιο κάτω διαγράμματα παρουσιάζεται η παραγωγή Μεθανίου (CH_4) σε ml σε συνάρτηση με τον χρόνο σε μέρες (Διάγραμμα 1) και η παραγωγή Μεθανίου (CH_4) / Πτητικά Στερεά (VS) σε ml σε συνάρτηση με τον χρόνο σε μέρες (Διάγραμμα 2). Με πορτοκαλί χρώμα εμφανίζονται τα μη επεξεργασμένα *P.oceanica* ενώ με γκριζο χρώμα τα πλυμένα *P.oceanica*. Η συνολική διάρκεια των μετρήσεων ήταν 13 ημέρες και χρησιμοποιήθηκαν 2 g, υποστρώματος. Τα αποτελέσματα της μέτρησης των ολικών στερεών TS για πλυμένα και μη επεξεργασμένα δείγματα ήταν 84.8%, και τα πτητικά στερεά VS 64.3% (Πίνακας 6).



Διάγραμμα 1: Παραγωγή Μεθανίου (CH_4) σε σχέση με τον χρόνο σε *P.oceanica* (3 g).



Διάγραμμα 2: Παραγωγή Μεθανίου (CH₄) / Πτητικά Στερεά (VS) σε σχέση με τον χρόνο σε *P.oceanica* (3 g).

TS (% by weight)	VS (% of total solids)	(TS)*(VS)* (g δείγματος) =VS
84.808	69.312	0.84*0.69*3=1.7388

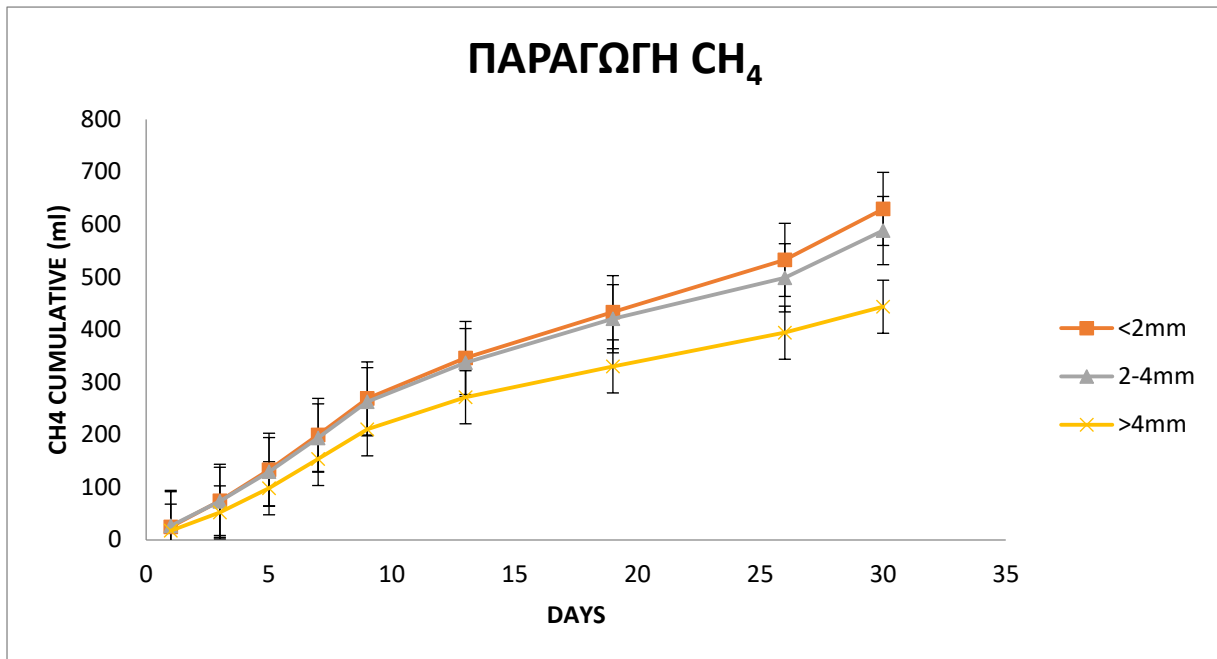
Πίνακας 6: Αποτελέσματα μέτρησης TS και VS για Πρώτο Πείραμα.

Η πρώτη μέτρηση για τα μη επεξεργασμένα *P.oceanica* πραγματοποιήθηκε την 2^η ημέρα κατά την οποία παρατηρείται απότομη αύξηση παραγωγής μεθανίου στα 19.62 ml και CH₄/ VS στα 22.75 ml. Στις υπόλοιπες μετρήσεις και των δύο διαγραμμάτων για τα μη επεξεργασμένα *P.oceanica* παρατηρείται σταδιακή αύξηση παραγωγής μεθανίου και η παραγωγή CH₄/ VS αντίστοιχα. Την 13^η ημέρα μέτρησης η παραγωγή μεθανίου φτάνει στα 48,89 ml και η παραγωγή CH₄/ VS στα 42,17 ml. Όσον αφορά τα πλυμένα *P.oceanica*, παρατηρείται και στα δύο διαγράμματα απότομη αύξηση παραγωγής μεθανίου κατά την 2^η ημέρα στα 26.45ml και CH₄/ VS στα 22.82ml. Ακολουθεί

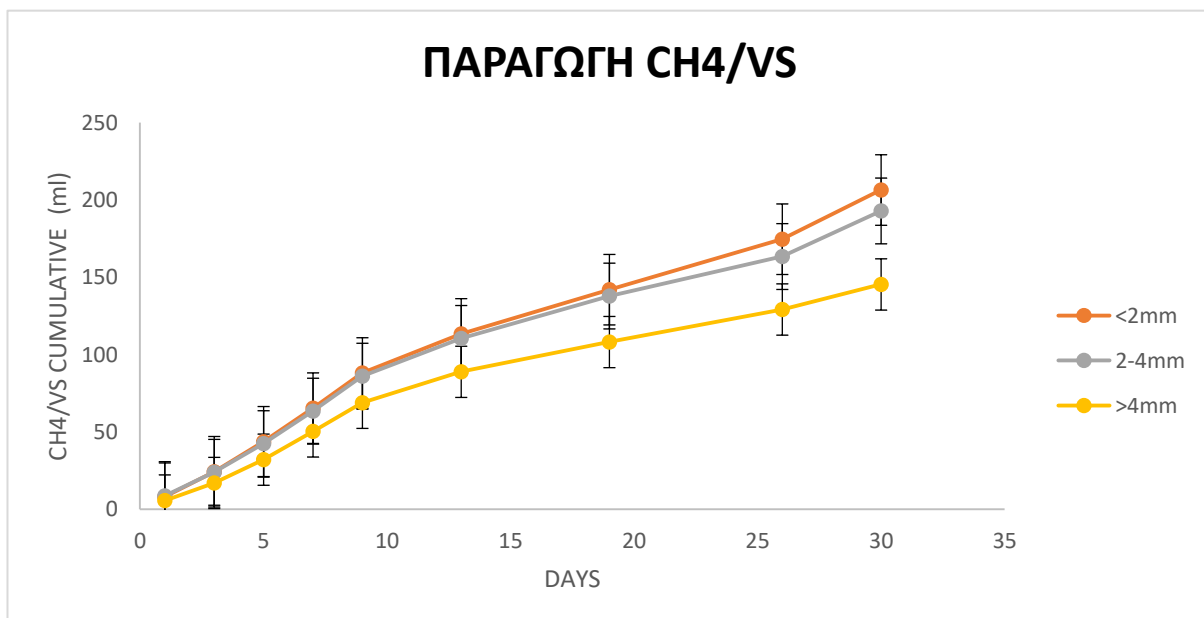
σταδιακή αύξηση μέχρι και την 13^η ημέρα όπου η παραγωγή μεθανίου γίνεται 67.31 ml και CH₄/ VS στα 58.07 ml.

Γενικά ο ρυθμός παραγωγής και των δύο διαγραμμάτων (διάγραμμα 1, διάγραμμα 2), είναι ο ίδιος με μικρές διαφορές στις τιμές. Συγκριτικά παρατηρείται πως η παραγωγή CH₄ και CH₄/ VS για τα πλυμένα *P.oceanica* είναι ψηλότερη από την παραγωγή των μη επεξεργασμένων *P.oceanica*. Η διαφορά αυτή πιθανόν να οφείλεται στο τα μη πλυμένα *P.oceanica* μεταφέρουν υπολείμματα θαλασσινού νερού, όπως είναι το αλάτι, το οποίο δρα ανασταλτικά στην διεργασία, έχοντας ως αποτέλεσμα την μείωση παραγωγής CH₄.

3.2 Αποτελέσματα Δεύτερου Πειράματος



Διάγραμμα 3: Παραγωγή Μεθανίου (CH₄) σε σχέση με τον χρόνο σε τεμαχισμένα *P.oceanica* (5 g).



Διάγραμμα 4: Παραγωγή Μεθανίου (CH₄) / Πτητικά Στερεά (VS) σε σχέση με τον χρόνο σε τεμαχισμένα *P.oceanica* (5 g).

TS (% by weight)	VS (% of total solids)	(TS)*(VS)* (g δείγματος) =VS
84.808	69.312	0.84*0.69*3=2.898

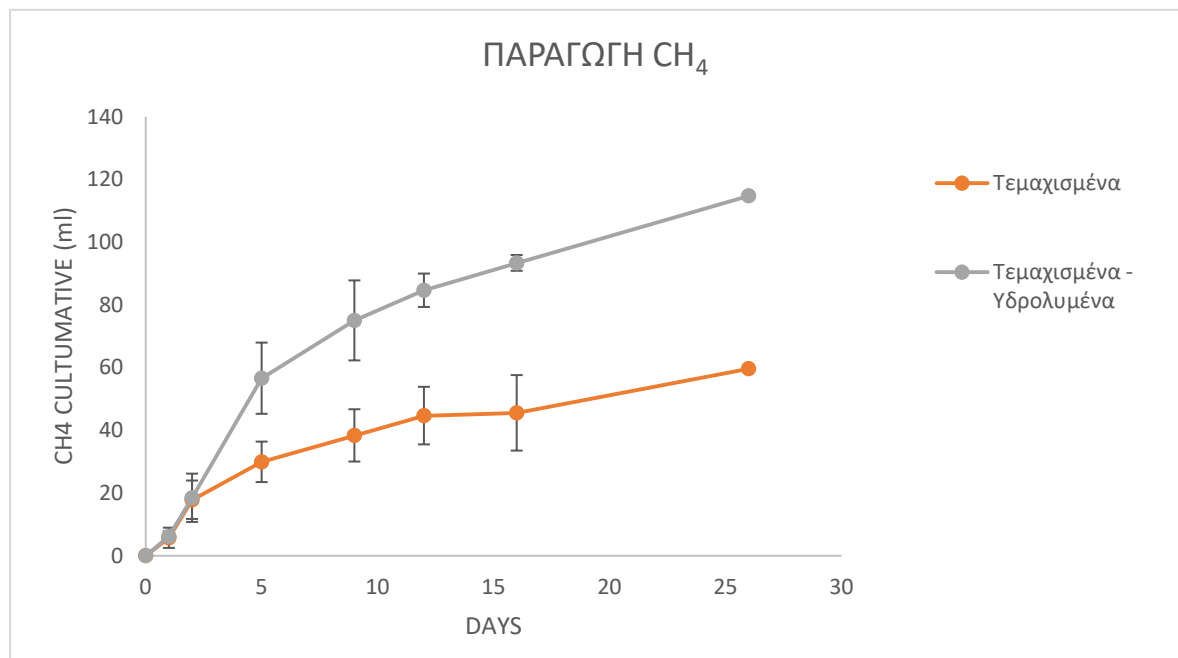
Πίνακας 7: Αποτελέσματα μέτρησης TS και VS για Δεύτερο Πείραμα.

Στα διαγράμματα 3 και 4 εμφανίζεται η παραγωγή Μεθανίου (CH_4), και η παραγωγή Μεθανίου CH_4 / Πτητικά Στερεά (VS) αντίστοιχα σε ml σε συνάρτηση με τον χρόνο σε μέρες, για *P.oceanica* τεμαχισμένα σε διαφορετικά μεγέθη. Με πορτοκαλί χρώμα παρουσιάζονται τα τεμαχισμένα *P.oceanica* μικρότερου μεγέθους από 2mm, με γκριζο χρώμα τα τεμαχισμένα *P.oceanica* μεγέθους 2-4 mm και με κίτρινο τα τεμαχισμένα *P.oceanica* μεγέθους μεγαλύτερο από 4mm. Η συνολική διάρκεια των μετρήσεων της δεύτερης πειραματικής δοκιμής ήταν 30 ημέρες και χρησιμοποιήθηκαν 5 g *P.oceanica*. Τα αποτελέσματα της μέτρησης για τα TS σε όλα τα δείγματα ήταν 84.8% και των VS 69.3% (Πίνακας 7).

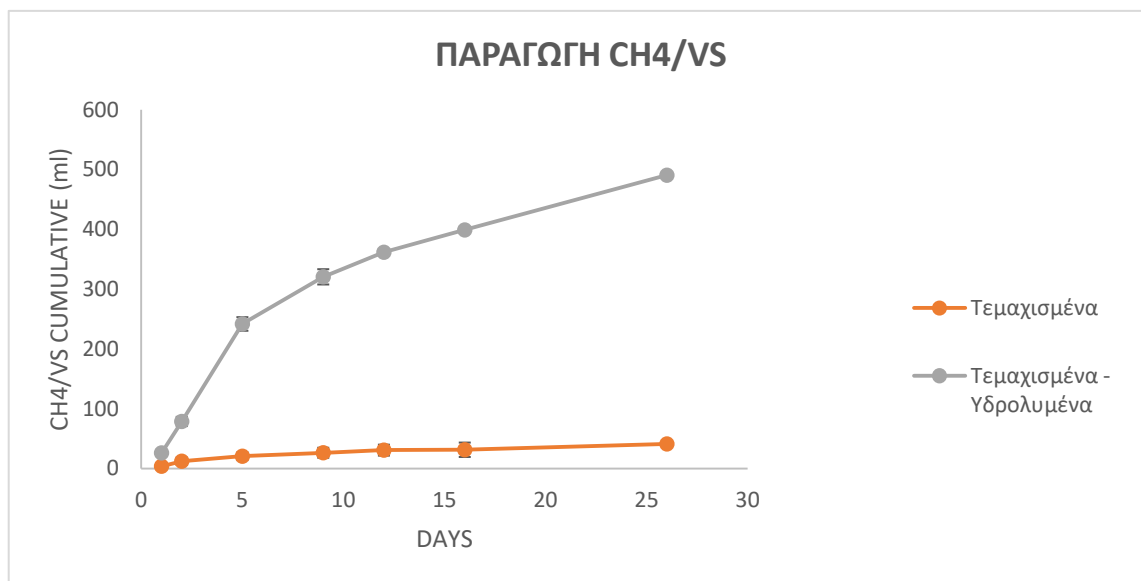
Κατά την διάρκεια των μετρήσεων παρατηρείται μια συνεχής σταδιακή αύξηση παραγωγής μεθανίου, και CH_4 / VS. Η μεγαλύτερη απόδοση παραγωγής μεθανίου και CH_4 / VS, εμφανίζεται στα τεμαχισμένα *P.oceanica* μεγέθους μικρότερου από 2mm, παράγοντας συνολικά 629.5 ml μεθάνιο και 206.4 ml CH_4 / VS. Ακολουθούν με ελάχιστη διαφορά τα τεμαχισμένα *P.oceanica* μεγέθους 2-4mm, τα οποία παράγουν συνολικά 588.3ml μεθανίου και 192.9 ml CH_4 / VS. Τέλος παρουσιάζονται τα τεμαχισμένα *P.oceanica* μεγέθους μεγαλύτερο από 4mm, τα οποία παράγουν 443.4 ml μεθανίου και 145.4 ml CH_4 / VS.

Γενικά παρατηρείται πως ο ρυθμός αύξησης παραγωγής CH_4 και CH_4 / VS είναι ίδιος, με διαφορετικές τιμές. Επίσης παρατηρούνται πολύ κοντινές τιμές για τα *P.oceanica* μεγέθους μικρότερο από 2mm και 2-4mm σε όλες τις μετρήσεις, διαφέροντας από τις τιμές παραγωγής CH_4 και CH_4 / VS για το *P.oceanica* μεγέθους μεγαλύτερο από 4mm, του οποίου οι τιμές ήταν μικρότερες. Συγκρίνοντας τα διαφορετικά μεγέθη που εξετάστηκαν καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως όσο πιο μικρό μέγεθος των *P.oceanica*, τόσο μεγαλύτερη είναι η παραγωγή CH_4 και CH_4 / VS . Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι ο τεμαχισμός βοηθά στην κάνει πιο εύκολο το υπόστρωμα για τους μικροοργανισμούς, ευκολύνοντας την διεργασία και έχοντας ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη παραγωγή μεθανίου.

3.3 Αποτελέσματα Τρίτου Πειράματος



Διάγραμμα 3: Παραγωγή Μεθανίου (CH_4) σε σχέση με τον χρόνο σε τεμαχισμένα και υδρολυμένα *P.oceanica* (2.5 g).



Διάγραμμα 4: Παραγωγή Μεθανίου (CH₄) / Πτητικά Στερεά (VS) σε σχέση με τον χρόνο σε τεμαχισμένα και υδρολυμένα *P.oceanica* (2.5 g).

	TS (% by weight)	VS (% of total solids)	(TS)*(VS)* (g δείγματος) =VS
κανονικά	84.8	69.3	$0.84 \cdot 0.69 \cdot 2.5 = 1.449$
υδρολυμένα	13.9	72.2	$0.13 \cdot 0.72 \cdot 2.05 = 0.234$

Πίνακας 8: Μέτρηση VS και TS για Τρίτο Πείραμα.

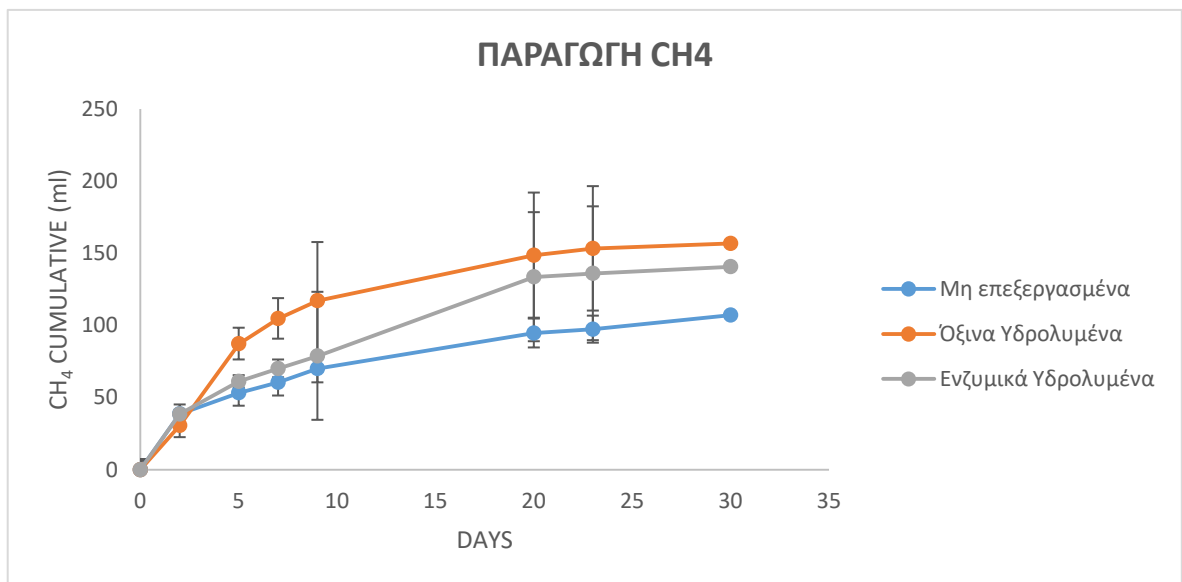
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΟΞΙΝΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ (g/L)			
	a	b	c
<i>Posidonia Oceanica</i>	7.20	4.70	4.46

Πίνακας 9: Αποτελέσματα Μέτρησης Σακχάρων Όξινης Υδρόλυσης.

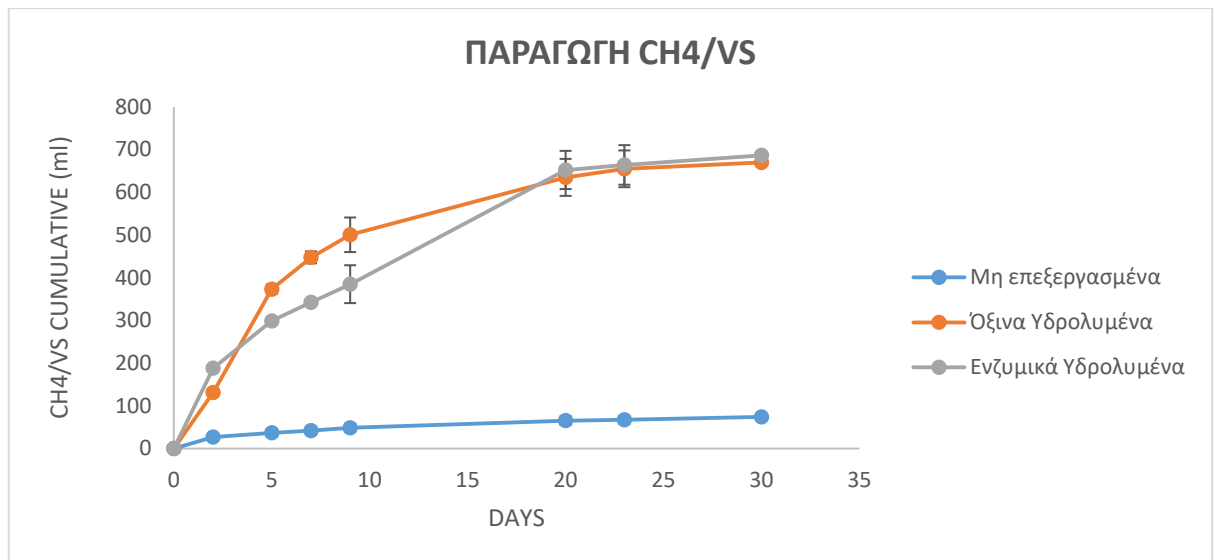
Στο διάγραμμα 5 παρουσιάζεται η παραγωγή CH₄ σε ml σχέση με τον χρόνο σε ημέρες. Στο διάγραμμα 6 παρουσιάζεται η παραγωγή CH₄/VS σε ml σε σχέση με τον χρόνο σε ημέρες. Με χρώμα πορτοκαλί εμφανίζονται τα τεμαχισμένα *P.oceanica*, ενώ με γκριζό χρώμα τα υδρολυμένα *P.oceanica* τα οποία έχουν υποστεί παράλληλα και υδρόλυση. Η συνολική διάρκεια των μετρήσεων CH₄ και CH₄/VS ήταν 26 ημέρες για αυτή την πειραματική δοκιμή και χρησιμοποιήθηκαν 2.5 g υποστρώματος. Τα αποτελέσματα της μέτρησης TS για τα όξινα υδρολυμένα ήταν 13.9%, ενώ για τα τεμαχισμένα 84.8%. Ενώ στην μέτρηση των VS ήταν 72.2% και 69.3% αντίστοιχα (Πίνακας 8). Τα αποτελέσματα της μέτρησης σακχάρων μετά την όξινη παρουσιάζονται στον Πίνακα 9. Όσον αφορά τα τεμαχισμένα και υδρολυμένα *P.oceanica*, παρατηρείται απότομη αύξηση παραγωγής CH₄ και CH₄/VS, κατά την 5^η ημέρα. Η παραγωγή CH₄ την 5^η ημέρα για τα τεμαχισμένα υδρολυμένα *P.oceanica* ήταν 56.5 ml και CH₄/VS 241.8 ml. Στην συνέχεια παρατηρείται σταδιακή αύξηση παραγωγής CH₄ και CH₄/VS μέχρι την 26^η ημέρα στα 114.7 ml και 490.5 ml αντίστοιχα. Για την παραγωγή CH₄ των τεμαχισμένων *P.oceanica*, παρατηρείται σημαντική αύξηση κατά την 2^η-5^η ημέρα και στην συνέχεια αυξάνεται σταδιακά μέχρι την 26^η ημέρα που φτάνει στα 59.6 ml. Στην παραγωγή CH₄/VS η καμπύλη παραμένει σχεδόν σταθερή σε χαμηλά επίπεδα φτάνοντας την 26^η ημέρα στα 41.17 ml.

Συγκριτικά παρατηρείται αισθητή διαφορά στην παραγωγή CH_4 και CH_4/VS ,μεταξύ υδρολυμένων- τεμαχισμένων και τεμαχισμένων *P.oceanica* με τα υδρολυμένα- τεμαχισμένα να υπερισχύουν σε μεγάλο βαθμό. Η υδρόλυση των *P.oceanica* φαίνεται να βοηθά αρκετά την όλη διεργασία. Με την υδρόλυση διασπώνται οι ημικυτταρίνες, δίνοντας ευκολότερη πρόσβαση και αυξάνοντας έτσι τα διαθέσιμα σάκχαρα για τους μικροοργανισμούς οι οποίοι θα καταλύσουν την διεργασία, για παραγωγή CH_4 .

3.4 Αποτελέσματα Τέταρτου Πειράματος



Διάγραμμα 5: Παραγωγή Μεθανίου (CH_4) σε σχέση με τον χρόνο σε ενζυμικά, όξινα υδρολυμένα και μη επεξεργασμένα *P.oceanica* (2.5 g).



Διάγραμμα 6: Παραγωγή Μεθανίου (CH₄) σε σχέση με τον χρόνο σε ενζυμικά, όξινα υδρολυμένα και μη επεξεργασμένα *P.oceanica* (2.5 g).

	TS (% by weight)	VS (% of total solids)	(TS)*(VS)* (g δείγματος) =VS
κανονικά	84.8	69.3	0.84*0.69*2.5=1.449
υδρολυμένα	13.9	72.2	0.13*0.72*2.5= 0.234
ενζυμικά	13.38	61.67	0.13*0.61*2.5= 0.198

Πίνακας 10: Μέτρηση TS και VS για Τέταρτο Πείραμα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΣΑΚΧΑΡΩΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ (g/L)			
	a	b	c
<i>Posidonia Oceanica</i>	13.33	13.38	14.87

Πίνακας 11: Αποτελέσματα Μέτρησης Σακχάρων Ενζυμικής Υδρόλυσης.

Στα διαγράμματα 7 και 8 παρουσιάζεται η παραγωγή CH_4 και CH_4 / VS σε ml σε συνάρτηση με τον χρόνο σε ημέρες. Με πορτοκαλί χρώμα παρουσιάζονται τα *P.oceanica* τα οποία υπέστησαν όξινη υδρόλυση, με γκριζο χρώμα τα *P.oceanica* τα οποία υπέστησαν ενζυμική υδρόλυση και με μπλε χρώμα τα κανονικά χωρίς καμία επεξεργασία *P.oceanica*. Οι μετρήσεις διήρκησαν 30 ημέρες και όπως και στην τρίτη πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν 2.5 g *P.oceanica*. Τα αποτελέσματα της μέτρησης TS ήταν 13.9% για τα όξινα υδρολυμένα και 13.38% για τα ενζυμικά υδρολυμένα. Η μέτρηση για τα VS ήταν 72.2% για τα όξινα υδρολυμένα και 61.67% για τα ενζυμικά υδρολυμένα *P.oceanica* (Πίνακας 10). Τα αποτελέσματα της μέτρησης σακχάρων μετά την ενζυμική υδρόλυση παρουσιάζονται στον Πίνακας 11. Λόγω του ότι η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιείται μετά την όξινη υδρόλυση, διασπώντας περαιτέρω το υπό μελέτη δείγμα, είναι λογικό το ότι παρατηρείται μεγαλύτερος αριθμός εξαγωγής σακχάρων μετά την ενζυμική υδρόλυση. Όσον αφορά την παραγωγή CH_4 τα μη επεξεργασμένα *P.oceanica* παρουσιάζουν άνοδο μέχρι την 1^η μέτρηση την 2^η ημέρα στα 38.5 ml. Ακολούθως η παραγωγή CH_4 αυξάνεται σταδιακά, φτάνοντας στα 107 ml την 30^η ημέρα. Όσον αφορά την παραγωγή CH_4/VS για τα μη επεξεργασμένα *P.oceanica*, παρατηρείται μια αυξητική διαδρομή από την 1^η ως και την τελευταία μέτρηση, στα 26.7ml και 73.9 ml αντίστοιχα.

Στις μετρήσεις των όξινα υρολυμένων *P.oceanica*, παρατηρείται μια απότομη άνοδος στην παραγωγή CH₄, μέχρι την 5^η ημέρα φτάνοντας στα 87.32ml. Ακολούθως συνεχίζει να παρατηρείται μικρή αύξηση παραγωγής CH₄ μέχρι την 20^η ημέρα στα 148.6 ml, όπου από το σημείο αυτό μέχρι το τέλος των μετρήσεων παρουσιάζεται μια σταθερή παραγωγή του αερίου καταλήγοντας στα 156.7 ml παραγόμενου αερίου. Ο ρυθμός αύξησης παραγωγής CH₄/VS είναι ο ίδιος με τον ρυθμό αύξησης παραγωγής CH₄ (Διάγραμμα 7), εμφανίζοντας διαφορές στις τιμές παραγωγής CH₄/VS, όπου την 5^η ημέρα είναι 373.1 ml , την 20^η ημέρα αυξάνεται στα 635.1 ml και τελικά φτάνει στα 670ml.

Στις μετρήσεις των ενζυμικά υρολυμένων *P.oceanica*, υπάρχει σημαντική αύξηση παραγωγής CH₄ κατά την πρώτη μέτρηση στα 38.5ml , ακολουθεί αύξηση μέχρι την 20^η ημέρα στα 133.6 ml , καταλήγοντας την 30^η ημέρα στα 140.7 ml. Στην μέτρηση για CH₄/VS παρουσιάζεται ίδιος ρυθμός αύξησης όπως και στο διάγραμμα 7 με διαφορετικές τιμές. Στην πρώτη μέτρηση η τιμή παραγωγής CH₄/VS είναι 188.1ml, την 20^η ημέρα 652.6 ml και στο τέλος των μετρήσεων 687ml. Στην παραγωγή CH₄ παρατηρείται πως μέχρι και την 10^η ημέρα οι τιμές για την παραγωγή CH₄ για τα κανονικά και ενζυμικά υδρολυμένα *P.oceanica* είναι κοντινές 70.1ml και 78.8 ml αντίστοιχα, έχοντας σημαντική διαφορά από τα όξινα υδρολυμένα τα οποία παρουσίασαν αρκετά μεγαλύτερη αύξηση 117.1ml. Παρόλα αυτά μέχρι 20^η ημέρα όπου η παραγωγή CH₄ αρχίζει να σταθεροποιείται, παρατηρείται σημαντική αύξηση παραγωγής CH₄ στα ενζυμικά υδρολυμένα τα οποία τώρα εμφανίζουν κοντινές τιμές με τα όξινα υδρολυμένα 133.6 ml και 148.6 ml αντίστοιχα, απέχοντας από τα κανονικά τα οποία παράγουν λιγότερο CH₄, στα 94.6 ml. Στην παραγωγή CH₄/VS όπως και στην παραγωγή CH₄ καθ' όλη την διάρκεια των μετρήσεων ,παρατηρούνται ψηλότερες και

κοντινές τιμές μεταξύ των όξινα και ενζυμικά υδρολυμένων *P.oceanica* σε σχέση με τις τιμές των κανονικών *P.oceanica*. Παρόλο που οι τιμές μεταξύ τους είναι πολύ κοντινές ο ρυθμός παραγωγής τους διαφέρει σε κάποια σημεία. Την 2^η ημέρα τα ενζυμικά υδρολυμένα παρουσιάζουν ψηλότερη παραγωγή CH₄/VS , 188.1 ml ενώ τα όξινα υδρολυμένα 131.1ml. Παρόλα αυτά την 5^η ημέρα παρατηρείται ψηλότερη παραγωγή CH₄/VS για τα όξινα υδρολυμένα 373.1ml , ενώ τα ενζυμικά παράγουν 298.7ml.

Γενικά όπως προαναφέρθηκε η παραγωγή CH₄ και CH₄/VS για τα όξινα και ενζυμικά υδρολυμένα είναι αισθητά μεγαλύτερη από τα κανονικά *P.oceanica*. Μεταξύ των ενζυμικά και όξινα υδρολυμένων δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στην συνολική παραγωγή CH₄/VS. Όσον αφορά την παραγωγή CH₄ ξεχωρίζουν με μικρή διαφορά τα όξινα υδρολυμένα. Η υδρόλυση είτε ενζυμική ή όξινη των *P.oceanica*, φαίνεται να βοηθά σε μεγάλο βαθμό την όλη διεργασία. Με την υδρόλυση διασπώνται οι ημικυτταρίνες, δίνοντας ευκολότερη πρόσβαση και αυξάνοντας έτσι τα διαθέσιμα σάκχαρα για τους μικροοργανισμούς οι οποίοι θα καταλύσουν την διεργασία, για παραγωγή CH₄.

4 Σχόλια και Συμπεράσματα

Μέσα από την παρατήρηση και τη μελέτη των αποτελεσμάτων όλων των πειραματικών διαδικασιών που πραγματοποιήθηκαν είναι δυνατόν να εξαχθούν κάποια σημαντικά συμπεράσματα. Όπως προ αναφέρθηκε ο σκοπός της μελέτης ήταν η μελέτη αξιοποίησης των υπολειμμάτων του *Posidonia oceanica* χρησιμοποιώντας την μέθοδο της Αναερόβιας Χώνευσης.

Αρχικά επιλέχθηκε να μελετηθεί η απόδοση του *P.oceanica* χωρίς καμία επεξεργασία και με μια μικρή επεξεργασία που είναι το πλύσιμο. Μέσω αναερόβιων συνθηκών εξετάστηκαν οι δύο αυτές περιπτώσεις καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως τα *P.oceanica* τα οποία είχαν υποστεί πλύση παρουσίασαν μεγαλύτερη απόδοση. Ακολούθως, μελετήθηκε κατά πόσο επηρεάζει την απόδοση της διεργασίας ο τεμαχισμός του υποστρώματος, καταλήγοντας πως όσο πιο μικρό είναι το μέγεθος των *P.oceanica*, τόσο μεγαλύτερη είναι η παραγωγή CH_4 και CH_4 / VS . Στην συνέχεια στην τρίτη πειραματική διαδικασία εξετάστηκε η παραγωγή CH_4 και CH_4 / VS τεμαχισμένων και υδρολυμένων και τεμαχισμένων δειγμάτων, στα οποία φαίνεται πως τα όξινα υδρολυμένα και τεμαχισμένα *P.oceanica* παρουσιάζουν καλύτερη απόδοση. Στην τέταρτη πειραματική διαδικασία με τα όξινα υδρολυμένα, ενζυμικά υδρολυμένα και μη επεξεργασμένα *P.oceanica*, φαίνεται πως τα υδρολυμένα δείγματα λειτουργούσαν πολύ καλύτερα. Παρατηρώντας τα γραφήματα των αποτελεσμάτων καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η όξινη υδρόλυση είναι προτιμότερη, αφού εμφανίζει πολύ καλή απόδοση και κοντινές τιμές με την ενζυμική υδρόλυση η οποία απαιτεί περισσότερο κόστος και χρόνο σε σχέση με την όξινη υδρόλυση.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα των όλων των πειραματικών διαδικασιών καταλήγουμε στα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Τα υπολείμματα *P.oceanica* περιέχουν σημαντικές αποδόσεις σε παραγωγή CH_4/VS , καθιστώντας τα ιδανικά για την παραγωγή βιοαερίου
- Απαιτείται προ-επεξεργασία των υπολειμμάτων *P.oceanica* για την αυξημένη παραγωγή CH_4 (πλύσιμο, τεμαχισμός και υδρόλυση).
- Όσο πιο μικρό μέγεθος τεμαχιστούν τόσο αυξάνεται η παραγωγή CH_4 και CH_4/VS .
- Η όξινη και ενζυμική υδρόλυση παρουσιάζουν πολύ κοντινές τιμές και γενικά την μεγαλύτερη απόδοση όλων των αποτελεσμάτων.

5 Προτάσεις για Μελλοντικές έρευνες

Σε μελλοντικό στάδιο όσον αφορά την έρευνα αυτή, είναι αρχικά εξέταση της παραγωγής βιοαερίου από υπολείμματα *P.oceanica* σε μεγαλύτερη κλίμακα και η ένταξη της σε τομείς της βιομηχανίας. Η ένταξή σε τομείς της βιομηχανίας θεωρείται εφικτή, μιας και η χρήση υπολειμμάτων *P.oceanica* ως υπόστρωμα παρουσίασε καλή αποδοτικότητα.

Ακόμη μια σημαντική παράμετρος που χρήζει περαιτέρω έρευνας για πιθανή εξέλιξη σε βιομηχανική κλίμακα, είναι η χρήση συνδυασμού υποστρωμάτων. Υποστρώματα αποβλήτων που θα μπορούσαν να μελετηθούν σε συνδυασμό με υπολείμματα *P.oceanica* είναι τα ζωικά απόβλητα από εργοστάσια επεξεργασίας.

Τέλος, θα μπορούσε να μελετηθεί όπως προαναφέρθηκε ο συνδυασμός παραγωγής βιοαερίου με την παραγωγή βιοαιθανόλης. Υδρολύοντας το υπόστρωμα, το στερεό υπόλειμμα θα εξεταστεί για παραγωγή βιοαερίου υπό αναερόβιες συνθήκες και το υγρό μέρος για παραγωγή βιοαιθανόλης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία:

1. Agostini, S., Desjobert, J. M., & Pergent, G. (1998). Distribution of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Phytochemistry*, 48(4), 611-617.
2. Anderson, K., Sallis, P., Uyanik, S., Chapter 24, Anaerobic Treatment Process, In: Handbook of Water and Wastewater Microbiology, Ed. Mara, D., Horan, N., Elsevier 2003.
3. Angelidaki, I., Karakashev, D., Btstone, D.J., Plugge, C.M., Stams, A.J.M. 2011. Biomethanation and its potential in: Methods Enzymol., (Eds.) C.R. Amy, W.R. Stephen, Vol. Volume 494, Academic Press, pp.327-351.
4. Biomass Energy www.biomassenergy.gr
5. Bitton Gabriel, Wastewater microbiology, Third edition, John Wiley & Sons, 2005.
6. Bjornsson, L., Murto, M., Jantsch, G., Mattiasson, B., Evaluation of New Methods for the Monitoring of Alkalinity, Dissolved Hydrogen and the Microbial Community in Anaerobic Digestion, *Water Research*, 35, 2833-2840, 2001.
7. Bohutskyi, P., & Bouwer, E. (2013). Biogas production from algae and cyanobacteria through anaerobic digestion: a review, analysis, and research needs. In *Advanced biofuels and bioproducts* (pp. 873-975). Springer New York.
8. Coletti, A., Valerio, A., & Vismara, E. (2013). *Posidonia oceanica* as a renewable lignocellulosic biomass for the synthesis of cellulose acetate and glycidyl methacrylate grafted cellulose. *Materials*, 6(5), 2043-2058.

9. Dumay, O., Costa, J., Desjobert, J. M., & Pergent, G. (2004). Variations in the concentration of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica* under conditions of competition. *Phytochemistry*, 65(24), 3211-3220.
10. Ferry J.G. (1993) Methanogenesis- ecology, physiology, biochemistry& genetics.

Chapman & Hall Microbiology Series.
11. Gerardi, H. Michael, Wastewater Bacteria, John Wiley & Sons, 2006.
12. Gerardi, H. Michael, Microbiology of Anaerobic Digesters, John Wiley & Sons, 2003.
13. Gunaseelan V.N. (1997) Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review. *Biomass and Bioenergy*. 13, 83-114.
14. Hill, D., Cobb, S., Bolte, J. 1987. Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure. *Transactions of the ASAE American Society of Agricultural Engineers*.
15. Hobson, P.N., Shaw, B.G., The bacterial population of piggery waste anaerobic digesters, *Water Research* 8 (8), 507-516, 1974.
16. Li, C., Strömberg, S., Liu, G., Nges, I. A., & Liu, J. (2017). Assessment of regional biomass as co-substrate in the anaerobic digestion of chicken manure: Impact of co-digestion with chicken processing waste, seagrass and *Miscanthus*. *Biochemical Engineering Journal*, 118, 1-10
17. Malina J.F., Pohland F.G. Jr. (1992) Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. *Water Quality Management Library*. Vol 7.

18. Migliore, G., Alisi, C., Sprocati, A. R., Massi, E., Ciccoli, R., Lenzi, M., ... & Cremisini, C. (2012). Anaerobic digestion of macroalgal biomass and sediments sourced from the Orbetello lagoon, Italy. *biomass and bioenergy*, 42, 69-77.
19. Monnet Fabien. Remade Scotland. (2003), 'Final report. An Introduction to Anaerobic Digestion of Organic Wastes', from www.biogasmax.eu
20. Passos, F., Uggetti, E., Carrère, H., & Ferrer, I. (2014). Pretreatment of microalgae to improve biogas production: a review. *Bioresource technology*, 172, 403-412.
21. Pavlostathis S.G. and Giraldo-Gomez E. (1991) Kinetics of anaerobic Treatment: a critical review. *Critical reviews in Environ Control*. 21(5-6), 411-490.
22. Pilavtepe, M., Celiktas, M. S., Sargin, S., & Yesil-Celiktas, O. (2013). Transformation of *Posidonia oceanica* residues to bioethanol. *Industrial Crops and Products*, 51, 348-354.
23. Siegert, I., Banks, C. 2005. The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochem.*, 40, 3412-3418. 89.
24. Sprague A.F. & Werner D. 2016. "Multi cellular Algae Kingdom Protista" online at: www.slideplayer.com/slide/3922286/. [Last visited: 06/12/2016].
25. Stronach, S.M., Rudd, T. and Lester, J.N. (1986) Anaerobic digestion processes in industrial wastewater treatment, Springer-Verlag. 21-38.

26. Toerien D.F. and Hattingh W.H.J. (1969) Anaerobic Digestion I. The microbiology of anaerobic digestion. *Water Res*, 3, 385-416.
27. Vermerris, W., Nickolson, R., 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer.
28. Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J., Meng, L. 2009. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass Bioenergy*, 33, 848-853. 99. 99.
29. Zeeman, G., Vens, T.J.M., Koster-Treffers, M.E. and Lettinga, G. (1988) Start-up of low temperature digestion of manure. In *Anaerobic Digestion 1988*, Hall E.R. and Hobson P.N. Ed., Pergamon Press, Oxford, 397-406.

Ελληνική Βιβλιογραφία:

1. Δημητρόπουλος Α. & Sanchez P. 2016. Τμήμα Αλιείας και Θαλάσσιων Ερευνών. Online at: www.moa.gov.cy/moa/dfmr/dfmr.nsf [Last visited: 06/12/2016].
2. Κάλφας, Χ., “Παραγωγή Βιοαερίου από Αναερόβια Χώνευση Προεπεξεργασμένου και μη Ελαιοπολτού”, Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, 2007.
3. Καραγκούνη-Κύρτσου, Α., Γενική Μικροβιολογία, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης Αθήνα, 1999.
4. Σιούλας Κωνσταντίνος, Teodorita Al Seadi, Dominik Rutz, Heinz Prassl, Michael Köttner, Tobias Finsterwalder, Silke Volk, Rainer Janssen, (2010), Εγχειρίδιο Βιοαερίου, εκδόσεις ΚΑΠΕ, Αθήνα, Ελλάδα

5. Τμήμα Αλιείας και Θαλάσσιων Ερευνών Κύπρος, 2016. Online at:
www.moa.gov.cy/moa/dfmr/dfmr.nsf [Last visited: 06/12/2016].