

Αθήνα

2014



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«Μελέτη και σχεδιασμός της βιοδιεργασίας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος από απόβλητα της βιομηχανίας χάρτου και χαρτοπολτού»

ΠΜΣ: Επιστήμη & Τεχνολογία Τροφίμων & Διατροφή του Ανθρώπου

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: Βιοδιεργασίες Τροφίμων και Βιοδιυλιστήρια

Επιβλέπων:

Κουτίνας Αποστόλης, Επίκουρος Καθηγητής

Λαδάκης Χ. Δημήτριος



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«Μελέτη και σχεδιασμός της βιοδιεργασίας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος από απόβλητα της βιομηχανίας χάρτου και χαρτοπολλτού»

Επιβλέπων:

Κουτίνας Αποστόλης, Επίκουρος Καθηγητής

Εξεταστική Επιτροπή:

Ιωάννης Κούκος, Επίκουρος Καθηγητής

Κουτίνας Αποστόλης, Επίκουρος Καθηγητής

Παπανικολάου Σεραφείμ, Επίκουρος Καθηγητής

Λαδάκης Χ. Δημήτριος

ΑΘΗΝΑ 2014

Στον γιό μου, Χαράλαμπο

Ευχαριστίες

Η παρούσα μελέτη εκπονήθηκε στα εργαστήρια <<Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων>> και <<Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων>> του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στα πλαίσια του Π.Μ.Σ <<Επιστήμη & Τεχνολογία Τροφίμων & Διατροφή του Ανθρώπου>>. Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντά μου, Επίκουρο Καθηγητή Κουτίνα Αποστόλη για την εμπιστοσύνη που έδειξε και δείχνει στο πρόσωπό μου. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Επίκουρους Καθηγητές Κούκο Ιωάννη και Παπανικολάου Σεραφείμ για την ανάθεση της παρούσας εργασίας η οποία αποτέλεσε μεγάλη πρόκληση για μένα. Τέλος, επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην υπονήφια διδάκτορα Πατεράκη Χρυσούλα και τον μεταδιδάκτορα ερευνητή Δρ. Βλυσίδη Ανέστη για την άμογη συνεργασία μας καθόλη την διάρκεια της μεταπτυχιακής αυτής μελέτης.

Περίληψη

Το ηλεκτρικό οξύ είναι ένα διακαρβοξυλικό οξύ με τέσσερα άτομα άνθρακα και αποτελεί πρόδρομη ένωση για την σύνθεση βιοαποικοδομήσιμων πολυεστέρων, ρητινών, χρωστικών ουσιών, φαρμακευτικών ειδών και πρόσθετο στην βιομηχανία των τροφίμων (Kurzrock and Weuster-Botz, 2010). Στις μέρες μας, η μεγαλύτερη παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος γίνεται μέσω χημικών διεργασιών. Μια εκτίμηση του κόστους πρώτων υλών και του μεγέθους της αγοράς δείχνει ότι η τρέχουσα διαδικασία παραγωγής του ηλεκτρικού οξέος με βάση το πετρέλαιο θα αντικατασταθεί στο εγγύς μέλλον από βιοδιεργασίες βασιζόμενες στην αναερόβια ζύμωση διαφόρων ανανεώσιμων πηγών βιομάζας.

Στην παρούσα εργασία εκπονήθηκε τεχνοοικονομική μελέτη ώστε να αξιολογηθεί η βιωσιμότητα μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος μέσω αναερόβιας μικροβιακής ζύμωσης, χρησιμοποιώντας ως πηγή άνθρακα απόβλητο που προέρχεται από την βιομηχανία παραγωγής χαρτοπολτού ή πολτού κυτταρίνης. Η παραγωγή του χαρτοπολτού πραγματοποιείται μέσω της πέψης της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας με θειώδες οξύ, παρουσία ανθρακικού ασβεστίου υπό συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας. Έπειτα, μετά από ξέπλυμα προκύπτει ο χαρτοπολτός (bleached sulphite pulp) που χρησιμοποιείται για την παραγωγή χαρτιού υψηλής ποιότητας. Το ρεύμα των απόβλητων της διεργασίας συμπυκνώνεται μετά από εξάτμιση και ονομάζεται Spent Sulphite Liquor (SSL). Είναι πλούσιο σε μονοσακχαρίτες (ξυλόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη, μαννόζη και αραβινόζη) και λιγνοσουλφονικά (LS) και περιέχει φαινολικά καθώς και μικρές συγκεντρώσεις οξικού οξέος και μεθανόλης. Στη μέχρι τώρα διεργασία γίνεται απομάκρυνση των λιγνοσουλφονικών με υδροξείδιο του καλίου ή/και υδροξείδιο του ασβεστίου με ταυτόχρονη καταστροφή των σακχάρων. Τα λιγνοσουλφονικά αξιοποιούνται για την παραγωγή πλαστικοποιητών από τις τσιμεντοβιομηχανίες. Η πλούσια σύσταση του αποβλήτου αυτού σε μονοσακχαρίτες (Varanasi et al. 2013) το καθιστά κατάλληλο για την παραγωγή βιοχημικών προϊόντων μέσω μικροβιακών ζυμώσεων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η παραγωγή της αιθανόλης (JN, 2001), της βακτηριακής κυτταρίνης (Carreira et al. 2011), της 2,3-βουτανοδιόλης (Frazer et al. 1989) και του ηλεκτρικού οξέος (Hodge et al. 2009).

Πριν από την τεχνοοικονομική μελέτη, διεξήχθησαν μια σειρά πειραμάτων των οποίων τα αποτελέσματα αποτέλεσαν την βάση για τον σχεδιασμό της μονάδας. Στο

πλαίσιο αυτό έγιναν πειράματα προεπεξεργασίας του αποβλήτου μέσω διήθησής του από μεμβράνες με δυνατότητα συγκράτησης σωματιδίων μοριακού βάρους 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa. Η διήθηση είχε σκοπό την απομάκρυνση λιγνοσουλφονικών ουσιών η οποίες δρουν παρεμποδιστικά στην μετέπειτα ανάπτυξη των μικροοργανισμών για την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Από τις τρεις μεμβράνες που μελετήθηκαν, αυτές των 5 kDa και 3 kDa είχαν παραπλήσια (70,57 % και 71,61 % αντίστοιχα) δυνατότητα συγκράτησης λιγνοσουλφονικών ενώ αυτές των 10 kDa συγκράτησαν το 29,72 %. Επίσης πραγματοποιηθήκαν πειράματα ζυμώσεων διαλείποντος έργου και ημισυνεχούς καλλιέργειας με την χρήση των βακτηρίων *Actinobacillus succinogenes* 130Z (DSM.22257) και *Basfia succiniciproducens* JF 4016 (DSM.22022) για την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος.

Διεξήχθησαν δύο σειρές από ζυμώσεις διαλείποντος έργου όπου στην πρώτη χρησιμοποιήθηκαν θρεπτικά υποστρώματα από μη επεξεργασμένο και προεπεξεργασμένο με μεμβράνες απόβλητο με σκοπό να εκτιμηθεί η συνεισφορά της προεπεξεργασίας του αποβλήτου στη διεργασία της ζύμωσης. Στην δεύτερη σειρά ζυμώσεων, χρησιμοποιήθηκε θρεπτικό υπόστρωμα υψηλής συγκέντρωσης καθαρών σακχάρων (55 g/L) ίδιας σύνθεσης με του αποβλήτου. Τέλος, οι ζυμώσεις ημισυνεχούς καλλιέργειας έγιναν με στόχο να βελτιστοποιηθεί η διεργασία παραγωγής του ηλεκτρικού οξέος σε όρους παραγωγικότητας απόδοσης και τελικής συγκέντρωσης. Συγκεκριμένα σε ζυμώσεις ημισυνεχούς καλλιέργειας με υπόστρωμα συνθετικών σακχάρων ο *B.succiniciproducens* έφτασε σε απόδοση παραγωγής ηλεκτρικού οξέος 0,64 g/g ενώ ο *A.succinogenes* παρουσίασε 0,55 g/g. Στις ζυμώσεις ημισυνεχούς λειτουργίας με υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο με μεμβράνες απόβλητο (SSL) ο *B.succiniciproducens* έφτασε σε απόδοση παραγωγής ηλεκτρικού οξέος 0,56 g/g ενώ ο *A.succinogenes* παρουσίασε 0,53 g/g.

Από την εκπόνηση της τεχνοοικονομικής μελέτης διαπιστώθηκε ότι η βιωσιμότητα μιας γραμμής παραγωγής ηλεκτρικού οξέος μέσω μικροβιακών ζυμώσεων, σε θρεπτικό υπόστρωμα αποβλήτου SSL εξαρτάται από το υψηλό κόστος κτήσης και εγκατάστασης του εξοπλισμού (13,322 M\$/y), το κόστος των πρώτων υλών (3,044 M\$/y) και το κόστος των βοηθητικών παροχών (1,667 M\$/y). Με τιμές απόδοσης ως προς την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος 0,60 g/g, η βιωσιμότητα της γραμμής παραγωγής υπολογίζεται οριακά θετική. Συμπερασματικά, κρίνεται σκόπιμο να επιτευχθούν τιμές απόδοσης μεγαλύτερες από 0,60 g/g.

Λέξεις κλειδιά: ηλεκτρικό οξύ, μικροβιακές ζυμώσεις, λιγνοσουλφονικές ουσίες, Spent Sulphite Liquor, *Actinobacillus succinogenes*, *Basfia succiniciproducens*, τεχνοοικονομική μελέτη

Abstract

Succinic acid is a dicarboxylic acid, which is used as a precursor in the manufacture of many chemicals in the food, chemical and pharmaceutical industries. Currently, succinic acid is produced via chemical processes. In the near future, the assessment of the raw material cost and the estimation of the market potential, clearly indicates that the current process of petroleum based succinic acid, will be replaced by the fermentative production.

In the current study, the technical and economic feasibility/viability study of succinic acid production through anaerobic fermentation, using as a carbon source the waste stream derived from the pulp industry, is presented. The production of the pulp is carried through the digestion of lignocellulosic biomass using sulfurous acid in the presence of calcium carbonate under high pressure and temperature. This procedure aims to hydrolyze the lignin and hemicellulose fibers. The waste stream of this process known as spent sulfite liquor (SSL) is discarded or incinerated or sent to a plant for recovery of heat and chemicals or is exploited from the cement industry as plasticizers. As a result of its sugar composition (mainly xylose, as well as galactose, mannose, glucose and arabinose) (Varanasi et al. 2013) SSL is suitable for the production of biochemicals through microbial fermentations. Typical examples are the production of ethanol (JN 2001), bacterial cellulose (Carreira et al. 2011), 2,3-butanediol (Frazer et al. 1989) and succinic acid (Hodge et al. 2009).

A series of experiments was carried out and the obtained results used as an input for designing the industrial plant. Due to its high concentration of inhibitors (lignosulphonic substances), SSL was filtrated with ultrafiltration membranes of 10 kDa, 5 kDa and 3 kDa pore size. The membranes of 5 kDa and 3 kDa had similar retaining capacity of lignosulfonates (70,57% and 71,61% respectively) while those of 10 kDa retained only 29,72%.

Batch and fed batch fermentations were carried out with the bacterial strains *Actinobacillus succinogenes* 130Z (DSM.22257) and *Basfia succiniciproducens* JF 4016 (DSM.22022) for the production of succinic acid. Specifically, batch fermentations were initially performed using untreated SSL and SSL filtered with membranes so as to assess the pretreatment contribution of the SSL in the fermentation process. Afterwards, batch fermentations were carried out in synthetic media in the

ratio that are contained in SSL, using a high concentration of commercial sugars (55 g/L). Finally, semi continuous fermentations were performed in order to optimize the production yield of succinic acid. Specifically, when semi continuous fermentations were performed using synthetic sugars, *B.succiniciproducens* reached a succinic acid yield of 0,64 g/g and *A.succinogenes* presented a yield of 0,55 g/g. While in semi continuous fermentations that were carried out using pretreated with membrane with SSL, *B.succiniciproducens* resulted in a yield of 0,56 g/g and *A.succinogenes* presented a yield of 0,53 g/g.

The techno-economic study showed that the viability of a line production of succinic acid by microbial fermentations using SSL depends on the cost of the acquisition and the installation of the equipment (13,322 M\$/y), the cost of the raw materials (3,044 M\$/y) and the cost of the utilities (1,667 M\$/y). When the yield of succinic acid production is 0,60 g/g, the sustainability of the line production is estimated marginally positive. In conclusion, it is appropriate to achieve yield values higher than 0,60 g/g.

Key words: Succinic acid, microbial fermentations, lignosulphonic substances, spent sulfite liquor, *Basfia succiniciproducens*, *Actinobacillus succinogenes*, technical and economic study

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1.1 Εφαρμογές και η παρούσα κατάσταση στην αγορά του ηλεκτρικού οξέος.....	13
1.2 Χημική διεργασία πολτοποίησης του ξύλου.....	16
1.3 Οργανισμοί και πολυμορφία.....	17
1.4 Φυσιολογία και μεταβολικό μονοπάτι των βακτηρίων <i>A. succinogenes</i> και <i>B. succiniciproducens</i> 18	
1.5 Σκοπός της παρούσας εργασίας.....	22
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	23
2.1 Αντιδραστήρια.....	23
2.2 Αξιοποίηση απόβλητου βιομηχανίας παραγωγής χαρτοπολτού (SSL) για την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος.....	23
2.3 Βιολογικό υλικό και παρασκευή υγρού εμβολίου.....	24
2.4 Προεπεξεργασία του αποβλήτου (SSL) με μεμβράνες.....	24
2.5 Ζυμώσεις σε βιοαντιδραστήρα	25
2.5.1 Συνθήκες ζήμωσης	25
2.5.2 Τεχνικά χαρακτηριστικά βιοαντιδραστήρα.....	25
2.6 Θρεπτικά υποστρώματα καλλιέργειας	26
2.7 Ζυμώσεις σε φιάλες Duran	27
2.8 Αποστείρωση.....	28
2.9 Χημικές αναλύσεις.....	28
2.9.1 Προσδιορισμός Αζώτου των Ελεύθερων Αμινομάδων (FAN analysis)	28
2.9.2 Μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)	30
2.9.3 Προσδιορισμός % των λιγνοσουλφονικών (LS), φαινολικών ΟΗ και στερεών (πρότυπο EN 16109).....	30
2.10 Μεθοδολογία της τεχνοοικονομικής μελέτης.....	33
2.10.1 Γραμμή παραγωγής.....	33
2.10.2 Εκτίμηση του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης.....	33
2.10.3 Εκτίμηση του συνολικού κόστους παραγωγής	34
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	35
3.1 Πειράματα με Μεμβράνες.....	35
3.2 Ζυμώσεις διαλείποντος έργου.....	37
3.2.1 Ζυμώσεις διαλείποντος έργου σε υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο απόβλητο (SSL) ...	37
3.3 Ζυμώσεις ημισυνεχούς καλλιέργειας σε βιοαντιδραστήρα	41
3.3.1 Ζυμώσεις ημισυνεχούς τροφοδοσίας σε συνθετικό υπόστρωμα καλλιέργειας	41
3.3.2 Ζυμώσεις ημισυνεχούς τροφοδοσίας σε θρεπτικό υπόστρωμα προεπεξεργασμένου με μεμβράνες των 5 kDa αποβλήτου (SSL).....	44

3.3.3	Ζυμώσεις διαλείποντος έργου σε υπόστρωμα καθαρών σακχάρων και προσθήκη $MgCO_3$	47
3.4	Σχεδιασμός της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος	49
3.4.1	Στάδιο Α-Προεπεξεργασία	52
3.4.2	Στάδιο Β-Ζύμωση.....	57
3.4.3	Στάδιο Γ- Ανάκτηση και καθαρισμός	68
3.5	Τεχνοοικονομική Μελέτη.....	75
3.5.1	Κόστος αγοράς και εγκατάστασης	75
3.5.2	Εκτίμηση του πάγιου κόστους κεφαλαίου	82
3.5.3	Κόστος Παραγωγής.....	83
3.5.4	Εκτίμηση του συνολικού κόστους παραγωγής	88
3.5.5	Καθαρή παρούσα αξία	90
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	93
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	95

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη σύγχρονη εποχή, η παραγωγή βιοκαυσίμων και βιοχημικών ουσιών είναι ζωτικής σημασίας για την επίτευξη μιας οικονομικής και φιλικής προς το περιβάλλον βιομηχανίας που θα βασίζεται αποκλειστικά και εξολοκλήρου σε ανανεώσιμες πρώτες ύλες και πηγές ενέργειας. Η αξιοποίηση των παραπροϊόντων ή υποπροϊόντων ή αποβλήτων που παράγονται από διάφορες βιομηχανικές διεργασίες κρίνεται πλέον απαραίτητη με απώτερο σκοπό την αντικατάσταση χημικών ουσιών και καυσίμων που παράγονται από το πετρέλαιο. Πρώτο βήμα στην αξιοποίηση αυτών των ρευμάτων των αποβλήτων είναι ο μετασχηματισμός των υφιστάμενων βιομηχανιών σε ολοκληρωμένα και αειφόρα βιοδυλιστήρια (Koutinas et al., 2014).

Το 2012, παρήχθησαν $173,9 \times 10^6$ t χαρτοπολτού για την βιομηχανία χάρτου, και $131,2 \times 10^6$ t για χρήση του σε χημικές διεργασίες (FAOSTAT, 2013). Η παραγωγή του χαρτοπολτού πραγματοποιείται μέσω της πέψης της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας με θειώδες οξύ, παρουσία ανθρακικού ασβεστίου υπό συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας με σκοπό την υδρόλυση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης. Το ρεύμα απόβλητων της διεργασίας γνωστό ως spent sulfite liquor (SSL) που προκύπτει μετά την παραλαβή του χαρτοπολτού, συμπυκνώνεται και αξιοποιείται σε μικρό ποσοστό από τις τσιμεντοβιομηχανίες για την παραγωγή πλαστικοποιητών. Η πλούσια σύσταση του αποβλήτου αυτού σε μονοσακχαρίτες (κυρίως ξυλόζη καθώς και γαλακτόζη, μαννόζη, γλυκόζη και αραβινόζη) (Varanasi et al., 2013) το καθιστά κατάλληλο για την παραγωγή βιοχημικών προϊόντων μέσω μικροβιακών ζυμώσεων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η παραγωγή της αιθανόλης (JN2001), της βακτηριακής κυτταρίνης (Carreira et al., 2011), της 2,3.βουτανοδιόλης (Frazer et al., 1989) και του ηλεκτρικού οξέος (Hodge et al., 2009). Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ως βιολογικό υλικό για την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος με πρώτη ύλη το απόβλητο SSL, έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε ένα ευρύ φάσμα πηγών άνθρακα. Αντιπροσωπευτικά είδη της κατηγορίας αυτής αποτελούν ο *Basfia succiniciproducens* και ο *Actinobacillus succinogenes*.

Περίπου 90×10^9 L αποβλήτου SSL παράγονται ετησίως σε όλο τον κόσμο (Lawford and Rousseau, 1993). Ωστόσο, η υψηλή συγκέντρωση των παρεμποδιστικών παραγόντων στο SSL οδηγεί σε χαμηλές αποδόσεις ζύμωσης. Η αξιοποίηση του SSL για την ταυτόχρονη παραγωγή πηγών άνθρακα και λιγνινοσουλφονικών ουσιών,

μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου βιοδιωλιστηρίου που θα στηρίζεται στην αναδιάρθρωση των συμβατικών βιομηχανιών χαρτοπολτού και χαρτιού.

Το ηλεκτρικό οξύ είναι μία πολλά υποσχόμενη χημική ουσία που χρησιμοποιείται σε πολλούς τομείς όπως, στις βιομηχανίες χημικών και φαρμακευτικών προϊόντων, τροφίμων και βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών. Σήμερα, το ηλεκτρικό οξύ παράγεται μέσω χημικών διεργασιών. Πρόσφατα ωστόσο, η βιομηχανική παραγωγή του από ανανεώσιμη βιομάζα μέσω αναερόβιας ζύμωσης έχει αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον.

1.1 Εφαρμογές και η παρούσα κατάσταση στην αγορά του ηλεκτρικού οξέος

Στις μέρες μας, εμπορεύονται πάνω από 15 kt βιομηχανικού ηλεκτρικού οξέος του οποίου η τιμή κυμαίνεται από 5,90 έως 8,80 \$/kg ανάλογα με την καθαρότητά του. Το μεγαλύτερο μέρος του ηλεκτρικού οξέος παράγεται πετροχημικά από βουτάνιο, μέσω καταλυτικής υδρογόνωσης του μηλεϊκού ανυδρίτη. Μόνο η ποσότητα που προορίζεται για την αγορά τροφίμων παράγεται μέσω μικροβιακών ζυμώσεων (Zeikus et al, 1999).

Η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών, στοχεύει στην μείωση της τιμής του ηλεκτρικού οξέος στα 0,55 \$/kg με την ετήσια παραγωγή του να ανέρχεται πάνω από 75 kt/y. Αυτά τα οικονομικά δεδομένα ανοίγουν νέες προοπτικές στην αγορά του ηλεκτρικού οξέος (Zeikus et al, 1999).

Οι σημαντικότερες αγορές του ηλεκτρικού οξέος είναι τέσσερις. Στην πρώτη και μεγαλύτερη, χρησιμοποιείται ως επιφανειοδραστική ουσία και ως αφριστικός παράγοντας. Στην δεύτερη, χρησιμοποιείται σε διεργασίες επιμετάλλωσης για την πρόληψη της διάβρωσης μετάλλων. Η τρίτη αφορά στην αγορά των τροφίμων, όπου χρησιμοποιείται ως μέσο όξυνσης (ρυθμιστής pH), ως βελτιωτής γεύσης και για την αντιμικροβιακή του δράση. Τέλος η τέταρτη αγορά αφορά την χρήση του στην παραγωγή προϊόντων όπως φαρμακευτικά είδη, αντιβιοτικά, αμινοξέα, και βιταμίνες. Το συνολικό μέγεθος της αγοράς για αυτές τις τέσσερις υφιστάμενες εφαρμογές του ηλεκτρικού οξέος ανέρχεται σε 400 M\$/y.

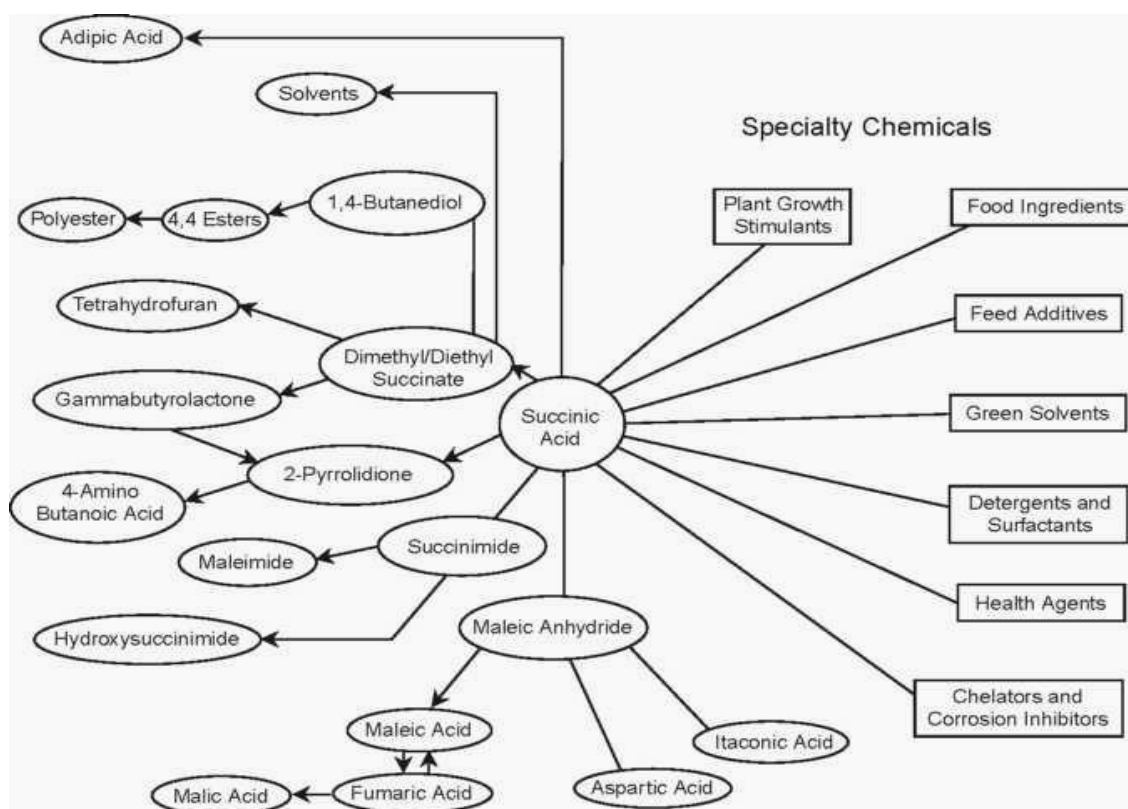
Πολλά προϊόντα που βασίζονται στο βενζόλιο και σε άλλα πετροχημικά ενδιάμεσα, μπορούν να αντικατασταθούν από το ηλεκτρικό οξύ που παράγεται μέσω

ζύμωσης, με αποτέλεσμα την μεγάλη μείωση της ρύπανσης που προκαλείται από την παραγωγή και κατανάλωση άνω των 250 χημικών προϊόντων προερχόμενα από το βενζόλιο (Ahmed και Morris 1994). Το Σχήμα 1.1 απεικονίζει ένα πιθανό χάρτη των διαδρομών που οδηγούν στην παραγωγή ενδιάμεσων και υψηλής προστιθεμένης αξίας χημικών ουσιών με βάση το ηλεκτρικό οξύ. Λόγω της δομής του (γραμμικό κορεσμένο δικαρθοξυλικό οξύ), μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ενδιάμεση χημική ουσία και να μετατραπεί σε 1,4-βουτανودیολη, τετραϋδροφουράνη, γ-βουτυρολακτόνη και σε πολλές άλλες χημικές ουσίες που αποτελούνται από τέσσερα άτομα άνθρακα των οποίων οι ποσότητες υπερβαίνουν τα 275×10^6 kg/y ετησίως στην παγκόσμια αγορά χημικών. Σημαντική πρόοδος έχει επιτευχθεί στην τεχνολογία χημικής κατάλυσης, μέσω της οποίας το ηλεκτρικό οξύ μετατρέπεται σε αυτές τις ενδιάμεσες χημικές ουσίες, μερικές από τις οποίες παρουσιάζονται στον Πινάκα 1.1.

Επίσης, από την διαδικασία της ζύμωσης παράγονται ηλεκτρικά άλατα τα οποία κατά το στάδιο καθαρισμού τους, μετατρέπονται σε ηλεκτρικό οξύ. Τα ακάθαρτα αυτά άλατα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετα σε ζωοτροφές για την εκτροφή μηρυκαστικών και μονογαστρικών ζώων. Έχει αποδειχθεί ότι το ηλεκτρικό άλας αυξάνει την παραγωγή του προπιονικού οξέος στη μεγάλη κοιλία των ζώων αυτών, βοηθάει ως πρόδρομη ουσία στην πρωτεϊνοσύνθεση και ενεργεί ως γλυκογονική ουσία (ουσία που μπορεί να μετατραπεί σε γλυκόζη μέσω της γλυκονεογένεσης). Ως εκ τούτου, το ηλεκτρικό άλας θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως λειτουργικό τρόφιμο για τη διατροφή των ζώων και να ανοίξει προοπτικές νέων μεγάλων αγορών (Bergen και Bates, 1984).

Πίνακας 1.1. Ενδιάμεσες χημικές ουσίες με βάση το ηλεκτρικό οξύ που βρίσκονται αυτή τη στιγμή στο στάδιο της έρευνας και ανάπτυξης ή επίδειξης πειραματικού χαρακτήρα (Zeikus et al, 1999).

N-μεθυλοπυρρολιδόνη	Υποκατάστατο του μεθυλενογλωφιδίου ως διαλύτη από το οποίο είναι λιγότερο πτητική ώστε να μπορεί να ανακυκλωθεί χωρίς απελευθέρωση τοξικών ουσιών.
1,4-βουτανοδιόλη	Βιομηχανικός διαλύτης και πρώτη ύλη για ρητίνες.
Γ-βουτυρολακτόνη	Ενδιάμεσο χημικό προϊόν και συστατικό που χρησιμοποιείται για αφαίρεσης βαφής στη βιομηχανία κλωστοϋφαντουργίας .
Αδipικό οξύ	Πρώτη ύλη για την παραγωγή λιπαντικών, αφρών και προϊόντων διατροφής.
Τετραϋδροφουράνιο.	Διαλύτης και βασικό συστατικό των συγκολλητικών, τυπογραφικών μελανών και μαγνητικών ταινιών .
Γραμμική αλειφατικοί εστέρες	Σημαντικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή ρητινών, πλαστικών , και άλλων βιομηχανικών και καταναλωτικών τελικών προϊόντων.



Σχήμα 1.1. Πιθανή διαδρομή ηλεκτρικού οξέος προς παραγωγή ενδιάμεσων και υψηλής προστιθεμένης αξίας χημικών ουσιών (Zeikus et al, 1999).

1.2 Χημική διεργασία πολτοποίησης του ξύλου

Η χημική διεργασία πολτοποίησης του ξύλου περιλαμβάνει την απομόνωση της κυτταρίνης από προσμίξεις ινών λιγνίνης και ημικυτταρίνης. Οι 4 διεργασίες που χρησιμοποιούνται στη χημική πολτοποίηση είναι η kraft, η θειώδης, η ημιχημικά θειώδης (NSSC) και με σόδα. Η επιλογή της διεργασίας πολτοποίησης καθορίζεται κάθε φορά από το ζητούμενο τελικό προϊόν, από τα είδη του ξύλου που διατίθενται καθώς και από οικονομικούς παράγοντες.

Η διαδικασία της θειώδους πολτοποίησης διεξάγεται σε χωνευτήρες συνεχούς ή ασυνεχούς λειτουργίας και περιλαμβάνει την χώνευση των πριονιδίων του ξύλου υπό συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών και πίεσης. Το "κόκκινο υγρό" που προκύπτει είναι ένα υδατικό διάλυμα θειώδους οξέος (διάλυση της λιγνίνης) και όξινου θειώδους νατρίου ή μαγνησίου ή ασβεστίου ή αμμωνίου (ρυθμιστικός παράγοντας).

Μετά το πέρας της πέψης, ο πολτός διαχωρίζεται από το θειώδες διάλυμα μέσω αποστράγγισης. Εν συνεχεία, πλένεται και επεξεργάζεται μέσω σίτων και φυγοκεντρητών για την απομάκρυνση των στερεών. Τέλος, ο πολτός υφίσταται διαδικασίες λεύκανσης, συμπίεσης και ξήρανσης με σκοπό την αξιοποίησή του από τις βιομηχανίες χαρτοποιίας.

Όσον αφορά στο όξινο θειώδες διάλυμα (Spent Sulfite Liquor, SSL), αυτό αποτεφρώνεται ή αποστέλλεται σε μονάδες επεξεργασίας για ανάκτηση θερμότητας και χημικών ουσιών. Στην περίπτωση της ανάκτησης θερμότητας, το SSL (περιέχει περισσότερο από το ήμισυ της ποσότητας της πρώτης ύλης με την μορφή διαλυμένων οργανικών στερεών), συμπυκνώνεται σε εξατμιστήρα πολλών βαθμίδων έως ότου αποκτήσει 55-60% στερεά. Αυτό το ισχυρό συμπύκνωμα ψεκάζεται σε κλίβανο και καίγεται προς παραγωγή ατμού για την κάλυψη των διάφορων απαιτήσεων ενέργειας του εργοστασίου.

Όταν ο ρυθμιστικός παράγοντας της διεργασίας πολτοποίησης είναι διάλυμα όξινου θειώδους μαγνησίου το υγρό καίγεται υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Τα οξειδία του μαγνησίου που παράγονται ανακτώνται και υδροποιούνται σε ένα πολλαπλό κυκλώνα και κατόπιν χρησιμοποιούνται ως υγρό κυκλοφορίας σε μια σειρά από σωλήνες Venturi, οι οποίοι έχουν σχεδιαστεί για να απορροφούν το διοξείδιο του θείου από τα καυσαέρια (fluegas) σχηματίζοντας ένα όξινο θειώδες διάλυμα το οποίο χρησιμοποιείται στον κύκλο της πέψης.

Όταν χρησιμοποιείται διάλυμα όξινου θειώδους νατρίου ως ρυθμιστικός παράγοντας της διεργασίας πολτοποίησης, οι ανόργανες ενώσεις ανακτώνται μέσω της καύσης ως τήγμα αλάτων που περιέχει θειούχο νάτριο και ανθρακικό νάτριο. Το τήγμα αυτό δύναται να αξιοποιηθεί περαιτέρω για να απορροφήσει το διοξείδιο του θείου από τα καυσαέρια και τον καυστήρα του θείου.

Αν δεν υφίστανται διεργασίες ανάκτησης του υγρού, το θείο καίγεται σε ένα περιστροφικό καυστήρα ή καυστήρα ψεκασμού. Το αέριο που παράγεται στη συνέχεια ψύχεται με εναλλάκτες θερμότητας και στη συνέχεια οδηγείται σε ειδικούς σωλήνες που περιέχουν είτε ασβεστόλιθο ή το βασικό διάλυμα που χρησιμοποιείται ως ρυθμιστικός παράγοντας.

1.3 Οργανισμοί και πολυμορφία

Το ηλεκτρικό οξύ αποτελεί ένα ενδιάμεσο συστατικό της μεταβολικής οδού πολλών αναερόβιων και προαιρετικά αναερόβιων μικροοργανισμών. Σχηματίζεται στα βακτηριακά είδη *Propionibacterium*, σε τυπικά γαστρεντερικά βακτήρια όπως *Escherichia coli*, *Pectinatus sp.*, *Bacteroides sp.* και σε βακτήρια του προστομάχου όπως *Ruminococcus flavefaciens*, *Basfia succiniciproducens*, *Actinobacillus succinogenes*, *Bacteroides samylophilus*, *Prevotellatum inicola*, *Succinimonas amylolytica*, *Succinivibrio dextrinisolvens*, *Wolinella succinogenes* και *Cytophaga succinicans* (Davis et al. 1976; Vander Werf et al 1997; Guettler et al 1999).

Οι περισσότεροι από τους μικροοργανισμούς που παράγουν ηλεκτρικό οξύ έχουν απομονωθεί από τον πρώτο στόμαχο των μηρυκαστικών, όπου λειτουργεί ως μία σημαντική πρόδρομη ουσία για τον σχηματισμό προπιονικού οξέος. Το προπιονικό οξύ απορροφάται μέσω των τοιχωμάτων του προστομάχου και στην συνέχεια οξειδώνεται παρέχοντας ενέργεια και πρόδρομα βιοσύνθετα μόρια στο ζώο.

Το μεγαλύτερο μέρος της διατροφής των μηρυκαστικών αποτελείται από λιγνοκυτταρινούχες και αμυλούχες ουσίες, με αποτέλεσμα να ευνοείται η ανάπτυξη ποικίλων μικροοργανισμών στον προστόμαχο. Ο *Succinivibrio dextrinisolvens* αποτελεί έναν από τους μικροοργανισμούς που ευδοκιμούν στην μεγάλη κοιλία, όταν η διατροφή του ζώου είναι πλούσια σε άμυλο και σχηματίζουν ηλεκτρικό οξύ, οξικό οξύ, μυρμηκικό οξύ και γαλακτικό οξύ ως τελικά προϊόντα του καταβολισμού (O'Herrin και Kenealy, 1993). Οι μικροοργανισμοί *Basfia succiniciproducens* και *Actinobacillus succinogenes* είναι αναερόβια βακτήρια που έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν

ένα ευρή φάσμα πηγών άνθρακα όπως είναι η L-αραβινόζη, η κελλοβιόζη, η φρουκτόζη, η γαλακτόζη, η γλυκόζη, η λακτόζη, η μαλτόζη, η μαννιτόλη, η μαννόζη, η σακχαρόζη, η D-ξυλόζη και η σαλικυλίνη (Guettler et al., 1999). Τα βακτήρια αυτά παράγουν ηλεκτρικό οξύ στην μεγάλη κοιλία των ζώων σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, μαζί με οξικό οξύ, πυροσταφυλικό οξύ, μυρμηκικό οξύ και αιθανόλη. Επίσης, το ηλεκτρικό οξύ παράγεται από μικροοργανισμούς που απομονώνονται από το πεπτικό σύστημα άλλων ζώων. Για παράδειγμα, το κατά Gram αρνητικό, υποχρεωτικά αναερόβιο βακτήριο *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, έχει απομονωθεί από το στόμα του σκύλου Beagle και παράγει ηλεκτρικό οξύ, οξικό οξύ, μυρμηκικό οξύ, αιθανόλη και γαλακτικό οξύ από γλυκόζη και λακτόζη (Davis et al., 1976).

1.4 Φυσιολογία και μεταβολικό μονοπάτι των βακτηρίων *A. succinogenes* και *B. succiniciproducens*

Τα βακτήρια *B.succiniciproducens* και *A.succinogenes* ανήκουν στα μέλη της οικογένειας *Pasteurellaceae*. Ο *B. succiniciproducens* είναι ένα κατά Gram αρνητικό, καπνόφιλο, μη κινητικό βακτήριο που αναπτύσσεται υπό προαιρετικά αναερόβιες συνθήκες στους 37 °C. Χαρακτηρίζεται σαν ενδιάμεσο κοκκοειδούς και ραβδοειδούς σχήματος. Οι αποικίες του έχουν διάμετρο 0,1-0,5 μm, είναι λαμπερές και γκριζωπού χρώματος μετά την διέλευση 24 ωρών επώασης. Το μη αιμολυτικό αυτό βακτήριο, είναι θετικό στην οξειδάση και αρνητικό στην καταλάση, ουρεάση, ινδόλη και α-γλυκοσιδάση. Η περιεκτικότητα σε βάσεις G+C του DNA του στελέχους είναι 42,5 % mol (Kuhnert et al., 2010).

Ο *A.succinogenes* είναι ένα πολυμορφικό, χημειο-οργανοτροφικό κατά Gram αρνητικό βακτήριο με μη κινητικά ραβδία διαμέτρου 0,8 x 1 μm. Νηματοειδή κύτταρα και αλυσίδες του μικροοργανισμού παρατηρούνται σε καλλιέργειες. Οι αποικίες που παράγονται σε άγαρ είναι κυκλικές, γκρι, ημιδιαφανείς και διαμέτρου 1-1,5 μm μετά από 24 ώρες επώασης στους 37 °C. Ο μικροοργανισμός είναι θετικός στα τεστ καταλάσης, οξειδάσης και αλκαλικής φωσφατάσης (Guettler et al., 1999).

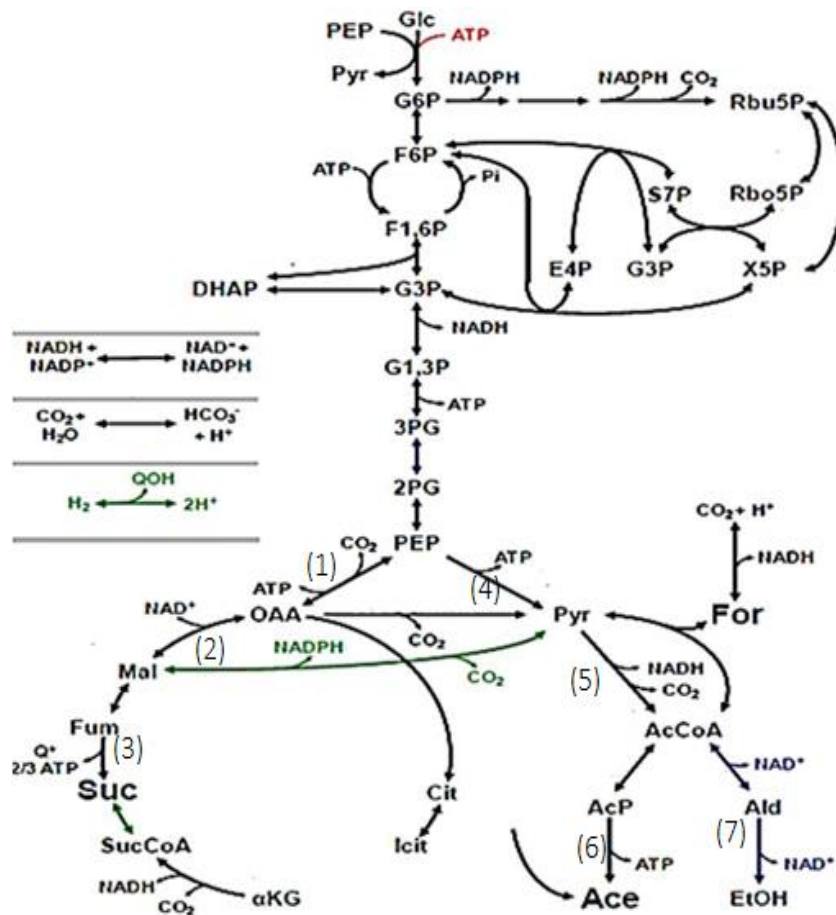
Η φυσιολογία μεταξύ των βακτηρίων που παράγουν ηλεκτρικό οξύ διαφέρει σημαντικά. Στο Σχήμα 1.2 απεικονίζονται τα μεταβολικά παρακλάδια που μπορεί να ακολουθήσουν τα στελέχη που εμφανίζουν υψηλές αποδόσεις ηλεκτρικού κατά τη

ζύμωση της γλυκόζης σε σύνθετα μέσα καλλιέργειας. Το βακτήριο *A.succinogenes* στερείται του ολοκληρωμένου κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος (TCA) και ακολουθεί αποκλειστικά την μεταβολική οδό της φωσφο-ενολο-πυροσταφυλικής (PEP) καρβοξυκινάσης, χρησιμοποιώντας 4 ένζυμα-κλειδιά (PEP καρβοξυκινάση, μηλική αφυδρογονάση, φουμαράση, και φουμαρική αφυδρογονάση). Το μεταβολικό αυτό μονοπάτι ρυθμίζεται από τα επίπεδα του CO₂ (Samuelon et al., 1991; Vander Werf et al., 1997) και η PEP καρβοξυκινάση δρα καταβολικά για να ρυθμίσει το CO₂ και να συνθέσει οξαλοοξικό. Σε χαμηλά επίπεδα CO₂ (10 mol CO₂/100 mol γλυκόζης), ο *A.succinogenes* παράγει αιθανόλη ως ένα σημαντικό παραπροϊόν ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ (100 mol CO₂/100 mol γλυκόζης), το ηλεκτρικό οξύ είναι το κύριο τελικό προϊόν και μόνο ίχνη γαλακτικού οξέος ή αιθανόλης παράγονται.

Η συγκέντρωση του CO₂ φαίνεται να ρυθμίζει τα επίπεδα των ενζύμων στο μεταβολικό μονοπάτι της PEP καρβοξυκινάσης. Σε υψηλά επίπεδα CO₂, η PEP καρβοξυκινάση αυξάνεται ενώ η αλκοολική και γαλακτική αφυδρογονάση δεν είναι ανιχνεύσιμες. Κατά συνέπεια, το CO₂ αλλάζει την ροή του PEP και στην περίπτωση που τα ποσοστά του είναι χαμηλά, το πυροσταφυλικό οξύ μεταβολίζεται σε γαλακτικό οξύ ή αιθανόλη ενώ αν είναι υψηλά παράγεται ηλεκτρικό οξύ.

Το υδρογόνο δείχνει να αυξάνει τον λόγο αλάτων ηλεκτρικού/οξικού κατά τη διάρκεια της ζύμωσης της γλυκόζης. Χαμηλού δυναμικού ηλεκτρόνια οξειδοαναγωγής που παράγονται από την οξείδωση πυροσταφυλικού οξέος χρησιμοποιούνται για να μειώσουν το ποσοστό αλάτων φουμαρικού και να αυξήσουν αυτό του ηλεκτρικού.

Όσον αφορά στον μικροοργανισμό, είναι μέτριας ισχύος οσμόφιλος και έχει υψηλή ανοχή σε άλατα ηλεκτρικού, γεγονός το οποίο είναι κρίσιμο για την παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων ηλεκτρικού οξέος καθώς και στις απαιτήσεις της διεργασίας για ανάκτηση του προϊόντος.



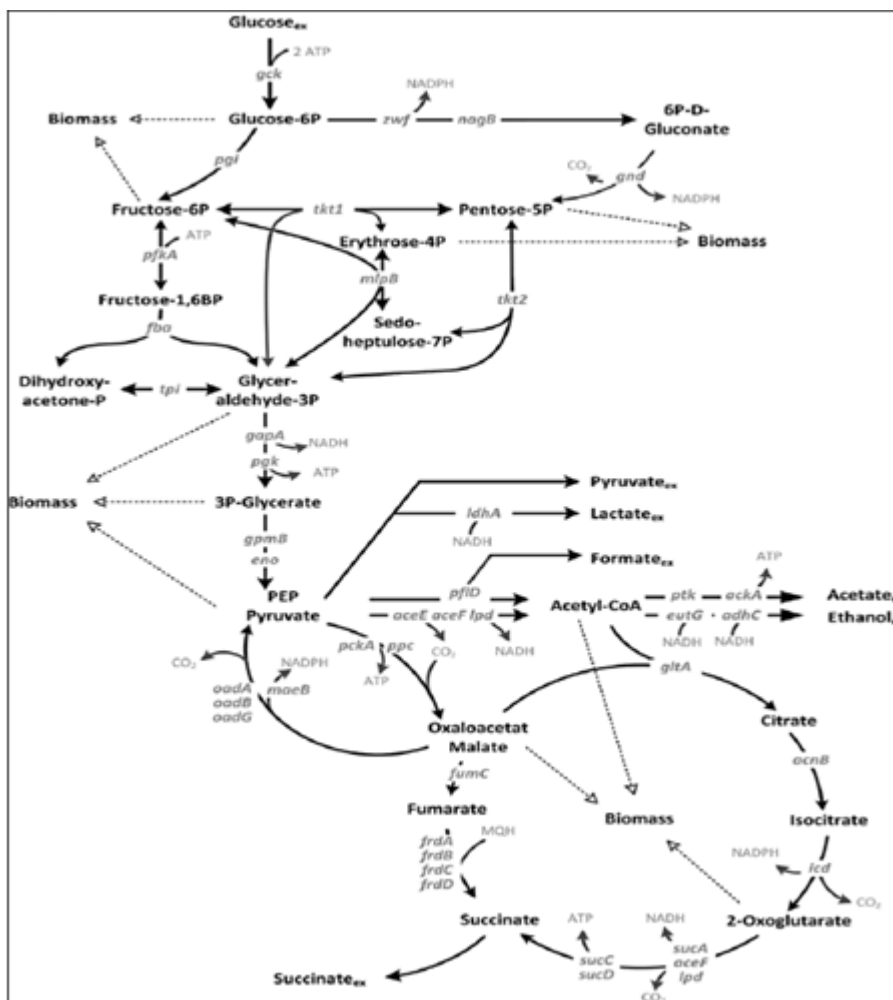
Σχήμα 1.2. Καταβολική οδός της γλυκόζης κατά την ζύμωση της από τον *A. succinogenes*. Ένζυμα: 1) φωσφοενολοπυροσταφυλική καρβοξυ κινάση, 2) μηλική αφυδρογονάση, 3) φουμαρική αναγωγή 4) πυροσταφυλική κινάση, 5) πυροσταφυλική φερρεδοξίνη οξειδοαναγωγή, 6) οξική κινάση, 7) αλκοολική αφυδρογονάση (Samuelon et al., 1991).

Σχετικά με την σκιαγράφιση του μεταβολικού μονοπατιού του *B. succiniciproducens* (Σχήμα 1.3), οι βασικότερες μεταβολικές οδοί είναι παρούσες, συμπεριλαμβανομένης της γλυκόλυσης (Embden-Meyerhof-Parnas), του μονοπατιού των φωσφοροπεντοζών (PPP), του μονοπατιού Entner-Doudoroff (EDP) και του κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων (TCA). Εντοπίζονται τουλάχιστον τρία ένζυμα που μετατρέπουν C3 ενώσεις σε C4. Η φωσφοενολοπυροσταφυλική (PEP) καρβοξυκινάση και η PEP καρβοξυλάση αλληλομετατρέπουν το PEP και το οξαλοξικό, ενώ το NADP^+ εξαρτώμενο ένζυμο μηλικού (maeB) αλληλομετατρέπει το πυροσταφυλικό και μηλικό. Ο μικροοργανισμός διαθέτει αρκετούς ABC μεταφορείς

για να μεταφέρει υδατάνθρακες, αμινοξέα, λιπαρά οξέα μακράς αλύσου, διπεπτίδια/ολιγοπεπτίδια, Fe^{3+} /κοβαλαμίνη, νικέλιο, μαγγάνιο/ψευδάργυρος, θειαμίνη και θειικό/μολυβδαίνιο (Kuhnert et al., 2010)

Το βακτήριο έχει εξελιχθεί ώστε να μπορέσει να προσαρμοστεί σε συνθήκες πλούσιες σε CO_2 και ανεπάρκειας σε O_2 οι οποίες επικρατούν στην μεγάλη κοιλία των μυρηκαστικών. Ως καπνοφιλικό βακτήριο, διαθέτει ένα αποτελεσματικό σύστημα για την καρβοξυλίωση του φωσφο-ενολο-πυροσταφικού (PEP) σε οξαλοξικό, το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε ηλεκτρικό οξύ μέσω του αναγωγικού ή οξειδωτικού κύκλου των τρικαρβοξυλικών οξέων (TCA).

Ο *B.succiniciproducens* μπορεί να παράγει 1,71 και 1,86 mol ηλεκτρικού οξέος από 1 mol γλυκόζης υπό CO_2 και υπό $\text{CO}_2\text{-H}_2$, αντιστοίχως.



Σχήμα 1.3. Καταβολική οδός της γλυκόζης κατά την ζύμωσή της από τον *B.succiniciproducens*.

1.5 Σκοπός της παρούσας εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο σχεδιασμός καθώς και η τεχνοοικονομική μελέτη μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος μέσω αναερόβιας ζύμωσης χρησιμοποιώντας ως θρεπτικό υπόστρωμα καλλιέργειας το ρεύμα απόβλητου που προέρχεται από την βιομηχανία παραγωγής χαρτοπολτού.

Αρχικά, διεξήχθησαν πειράματα προεπεξεργασίας του αποβλήτου μέσω διήθησής του από μεμβράνες με δυνατότητα συγκράτησης σωματιδίων μοριακού βάρους 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa για την απομάκρυνση λιγνοσουλφονικών ουσιών, οι οποίες δρουν παρεμποδίστηκα στην ανάπτυξη του μικροοργανισμού.

Επίσης, πραγματοποιηθήκαν πειράματα/ζυμώσεις με τα βακτηριακά στελέχη *Basfia succiniciproducens* και *Actinobacillus succinogenes*. Οι ζυμώσεις ήταν διαλείποντος έργου και ημισυνεχούς καλλιέργειας.

Αρχικά, διεξήχθησαν ζυμώσεις διαλείποντος έργου, χρησιμοποιώντας ως πηγή άνθρακα ανεπεξέργαστο απόβλητο SSL. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν ζυμώσεις διαλείποντος έργου κατά τις οποίες το απόβλητο SSL προεπεξεργάστηκε με μεμβράνες πριν την εισαγωγή του στο βιοαντιδραστήρα. Σκοπός αυτών των πειραμάτων ήταν να εκτιμηθεί η επίδραση της προεπεξεργασίας του αποβλήτου στη διεργασία της ζύμωσης.

Κατά το επόμενο στάδιο των πειραμάτων, ακολούθησαν ζυμώσεις ημισυνεχούς καλλιέργειας. Η πηγή άνθρακα προς αξιοποίηση από τα βακτηριακά στελέχη ήταν υψηλής συγκέντρωσης εμπορικά σάκχαρα (55 g/L) ίδιας σύνθεσης με του αποβλήτου. Στόχος αυτού του πειραματικού σταδίου ήταν να παρατηρηθεί η ανθεκτικότητα των βακτηρίων σε αυτές τις υψηλές συγκεντρώσεις καθαρών σακχάρων.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν για τον επιτυχή σχεδιασμό της διεργασίας απομάκρυνσης των λιγνοσουλφονικών από το SSL και της αναερόβιας ζύμωσης για παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Μετά τον σχεδιασμό ακολούθησε η οικονομική μελέτη της όλης διεργασίας, τα αποτελέσματα της οποίας έδειξαν τον βαθμό βιωσιμότητας της.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Αντιδραστήρια

Στον Πίνακα 2.1. αναγράφονται τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων όπως και η προέλευση τους.

Πίνακας 2.1. Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν και η προέλευση τους.

Αντιδραστήρια	Προέλευση
Γλυκόζη, ξυλόζη, γαλακτόζη, μαννόζη, αραβινόζη	Penta
TSB, Yeast extract, πεπτόνη, τρυπτόνη, δεξτρίνη, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , NaCl , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Lab M

2.2 Αξιοποίηση απόβλητου βιομηχανίας παραγωγής χαρτοπολτού (SSL) για την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος

Το προς αξιοποίηση απόβλητο (SSL) προκύπτει κατά τη διάρκεια επεξεργασίας ξύλου για παραγωγή χαρτοπολτού. Το κύριο στάδιο της παραγωγής του χαρτοπολτού είναι αυτό της θειώδους πολτοποίησης. Το στάδιο αυτό διεξάγεται υπό όξινες συνθήκες (pH 1- 2) στο θερμοκρασιακό εύρος των 135 έως 145 °C για 12 ώρες σε χωνευτήρες διαλείποντος έργου με την χρήση υδατικού διαλύματος SO_2 και MeHSO_3 , όπου Me μπορεί να είναι Ca, Mg, Na ή NH_4 . Μεγάλες ποσότητες νερού απαιτούνται ώστε να αφαιρεθούν όλες οι προσμίξεις από τον πλούσιο σε κυτταρίνη πολτό. Το ρεύμα με τις προσμίξεις που προκύπτει, ονομάζεται θειώδες υγρό (SSL) και περιέχει κυρίως λιγνοσουλφονικές ουσίες, σάκχαρα με πέντε και έξι άτομα άνθρακα, μεθανόλη, οξικό οξύ, φουρφουράλη, χαμηλού μοριακού βάρους φαινολικές ενώσεις, διάφορα βαρέα μέταλλα και άλλες ουσίες οι οποίες περιέχονται στο ξύλο.

Το απόβλητο (SSL) που χρησιμοποιήθηκε για τις ανάγκες τις παρούσας εργασίας, προμηθεύτηκε από την Green Source SA (Spain) και αποθηκεύτηκε σε ειδικό δοχείο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25 °C). Το απόβλητο αναλύθηκε ως προς την σύσταση του σε σάκχαρα μέσω υγρού χρωματογράφου υψηλής απόδοσης (HPLC) και ο προσδιορισμός των λιγνοσουλφονικών ουσιών διεξήχθη σύμφωνα με το

πρότυπο UNE.EN 16109:2012 EN 16109 (βλ. Κεφ 2.8.3). Η αξιοποίηση του αποβλήτου στην παρούσα εργασία αφορά την χρήση του ως πηγή άνθρακα σε ζυμώσεις που έχουν σκοπό την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος.

2.3 Βιολογικό υλικό και παρασκευή υγρού εμβολίου

Τα άγριου τύπου βακτηριακά στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν στις ζυμώσεις ήταν το *Actinobacillus succinogenes* 130Z (DSM.22257) και *Basfia succiniciproducens* JF 4016 (DSM.22022). Οι μικροοργανισμοί απομονώθηκαν από άνω κοιλίες μηρυκαστικών και προμηθεύτηκαν από το Ινστιτούτο Leibniz DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures).

Παρασκευή εμβολίου

Για την ανάπτυξη του εμβολίου, χρησιμοποιήθηκε ως θρεπτικό μέσο το Tryptone Soya Broth (TSB) (Πιν.2.2) συγκέντρωσης 30 g/L. Η επώαση διεξήχθη σε κωνικές φιάλες (250mL), οι οποίες πληρώθηκαν με 100 mL θρεπτικού μέσου και τοποθετήθηκαν σε ανακινούμενο επωαστικό θάλαμο υπό αναερόβιες συνθήκες, σε θερμοκρασία 37 °C και ταχύτητα ανάδευσης 170 rpm για 12-16 h.

Συνθήκες Αποθήκευση

Οι μικροοργανισμοί διατηρούνται σε φιαλίδια ειδικού τύπου χωρητικότητας 2 mL σε θερμοκρασία -30 °C και σε μέσο που περιέχει υγρό καλλιέργειας και γλυκερόλη σε αναλογία 50% v/v.

Πίνακας 2.2. Σύνθεση του θρεπτικού υλικού Tryptone Soya Broth (TSB).

Συστατικά	Σύσταση (g/L)	pH
Τρυπτόνη	17,00	
Πεπτόνη σόγιας	3,00	
K ₂ HPO ₄	2,50	7,3±0.2
NaCl	5,00	
Δεξτρίνη	2,50	

2.4 Προεπεξεργασία του αποβλήτου (SSL) με μεμβράνες

Το απόβλητο αραιώθηκε 10 φορές με νερό ώστε οι συγκεντρώσεις των συστατικών του να γίνουν κατάλληλες για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Το αραιωμένο απόβλητο διηθήθηκε με τη χρήση τριών μεμβρανών (Merck Millipore) 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa μοριακού βάρους δυνατότητα συγκράτησης. Η διεργασία έλαβε

χώρο σε ειδικό δοχείο (omicon, 8400) όγκου 400 mL. Οι μεμβράνες τοποθετήθηκαν σε δίσκο με ειδική υποδοχή που βρίσκεται στο κάτω μέρος του δοχείου ενώ το υπόλοιπο δοχείο πληρώθηκε με το υγρό απόβλητο. Η κινητήριος δύναμη για την διήθηση είναι η πίεση (2,4 bar) που δημιουργείται στο δοχείο μέσω φιάλης αζώτου.

2.5 Ζυμώσεις σε βιοαντιδραστήρα

Σε αυτό το πειραματικό στάδιο, μελετήθηκε η παραγωγή ηλεκτρικού οξέος σε θρεπτικό υποστρώματα υγρού αποβλήτου (SSL) καθώς και σε υποστρώματα εμπορικών σακχάρων μέσω ζυμώσεων διαλείποντος έργου (batch) και ζυμώσεων ημισυνεχούς λειτουργίας (fed batch).

2.5.1 Συνθήκες ζήμωσης

Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε βιοαντιδραστήρα (Labfors 4, Infors HT, NW 115) (βλ. Κεφ.2.5.2), με ενεργό όγκο 1 L, όγκο εμβολίου 10% v/v, θερμοκρασία 37 °C, με ταχύτητα ανάδευσης 300 rpm και συνεχή παροχή CO₂ 0,5 vvm. Ο έλεγχος αφρισμού γινόταν με αυτόματη προσθήκη αντιαφριστικού παράγοντα και ο έλεγχος του pH γινόταν με αυτόματη προσθήκη ποσότητας 10M NaOH ώστε η τιμή να διατηρείται σταθερή στο 6,6.

2.5.2 Τεχνικά χαρακτηριστικά βιοαντιδραστήρα

Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακό βιοαντιδραστήρας ελβετικής προέλευσης της εταιρείας Infors HT και της σειράς Labfors 4. Η λειτουργία του ρυθμίζεται μέσω του λογισμικού προγράμματος V.2.0.2. της ίδιας εταιρείας. Οι ζυμώσεις λαμβάνουν χώρα σε ένα διπλότοιχο δοχείο κατασκευασμένο από βοριοπυριτικό γυαλί του οποίου τα χαρακτηριστικά φαίνονται στον Πίνακα 2.3. Στο εσωτερικό των δύο τοιχωμάτων κυκλοφορεί νερό το οποίο απαιτείται για την εναλλαγή θερμότητας με το υγρό της ζύμωσης. Ο βιοαντιδραστήρας έχει την δυνατότητα να ρυθμίζει τον αριθμό των στροφών του αναδευτήρα, το pH, την θερμοκρασία, την παροχή οξυγόνου, τον αφρισμό και την παροχή της τροφοδοσίας με θρεπτικό μέσο. Οι ρυθμίσεις όλων των προαναφερθέντων παραγόντων πραγματοποιούνται μέσω του ειδικού εξοπλισμού που διαθέτει ο βιοαντιδραστήρας και ο οποίος αποτελείται από:

αναδευτήρα δύο πτερωτών, πεχάμετρο, θερμόμετρο, οξυγονόμετρο, παροχόμετρο, αισθητήρα αφρισμού καθώς και τέσσερις αντλίες για παροχή οξέος, βάσεως, αντιαφριστικού παράγοντα και θρεπτικού μέσου.

Πίνακας 2.3. Διάσταση του δοχείου ζύμωσης (Labfors 4, Infors HT, NW 115)

Μεγέθη	Διαστάσεις	Μονάδες
Συνολικός όγκος	2,0	L
Μέγιστος ενεργός όγκος	1,2	L
Ελάχιστος ενεργός όγκος	0,5	L
Εσωτερική διάμετρος	115	mm
Ύψος	205	mm

2.6 Θρεπτικά υποστρώματα καλλιέργειας

2.6.1.1 Ζυμώσεις διαλείποντος έργου σε θρεπτικό υπόστρωμα εμπορικών σακχάρων

Πραγματοποιήθηκαν δύο ζυμώσεις διαλείποντος έργου σε συνθετικό θρεπτικό μέσο καλλιέργειας σύστασης και περιεκτικότητας σακχάρων ίδιας με του αποβλήτου (SSL) αραιωμένο κατά 1:3 (58 g/L). Η ειδοποιός διαφορά μεταξύ των πειραμάτων ήταν το είδος του βιολογικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε. Η σύσταση του συνθετικού υποστρώματος καλλιέργειας ήταν η εξής : 42,69 g/L ξυλόζη; 6,42 g/L γλυκόζη; 0,06 g/L αραβινόζη; 7,16 g/L γαλακτόζη; 2,47 g/L μαννόζη; 5g/L yeast extract και ανόργανα άλατα σε περιεκτικότητες: 1,16 g/LNaH₂PO₄·H₂O; 0,31 g/L Na₂HPO₄; 1 g/L NaCl; 0,2 g/L MgCl₂·6H₂O; 0,2 g/L CaCl₂·2H₂O. Το pH διατηρήθηκε στο βέλτιστο επίπεδο με αρχική προσθήκη 25 g/L MgCO₃ καθώς και με επιπλέον προσθήκη όταν το pH παρουσίαζε πτώση χαμηλότερη του 6.6.

2.6.1.2 Ζυμώσεις ημισυνεχούς καλλιέργειας σε θρεπτικό υπόστρωμα εμπορικών σακχάρων

Διεξήχθησαν δύο ζυμώσεις ημισυνεχούς καλλιέργειας με τροφοδοσία συνθετικού θρεπτικού μέσου καλλιέργειας. Τα θρεπτικά υποστρώματα καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκαν είχαν αρχική συγκέντρωση σακχάρων ίδια με αυτή του αποβλήτου, αλλά αραιωμένου κατά 1:10 (17,65 g/L) και ήταν η εξής: 12,81 g/L ξυλόζη; 1,93 g/L γλυκόζη; 0,018g/L αραβινόζη; 2,15 g/L γαλακτόζη; 0,74 g/L μαννόζη;. Επιπλέον προστέθηκαν 5 g/L yeast extract (Πιν.2.4.) ως πηγή αζώτου όπως

επίσης και ανόργανα άλατα σε περιεκτικότητες: 1,16 gNaH₂PO₄·H₂O; 0,31 g/L Na₂HPO₄; 1 g/L NaCl; 0,2 g/L MgCl₂·6H₂O; 0,2 g/LCaCl₂·2H₂O και 5 g/L MgCO₃.

Το θρεπτικό μέσο που χρησιμοποιήθηκε για την τροφοδοσία της ζύμωσης, είχε υψηλή συγκέντρωση σακχάρων ώστε να μην απαιτείται μεγάλος όγκος αυτού και επομένως να μην μεταβληθεί σημαντικά ο ενεργός όγκος της ζύμωσης. Η αναλογία των σακχάρων της τροφοδοσίας ήταν ίδια με του αποβλήτου (SSL) και η σύστασή της ήταν η εξής (g/L): 290,41 g ξυλόζη; 43,69g γλυκόζη; 0,41g αραβινόζη; 48,68g γαλακτόζη και 16,8 g μαννόζη ώστε η αρχική συγκέντρωση των συνολικών σακχάρων να είναι 400 g/L. Επίσης προστέθηκαν και 40g/L yeast extract ως πηγή αζώτου.

2.6.1.3 Ζυμώσεις ημισυνεχούς τροφοδοσίας με θρεπτικό μέσο καλλιέργειας το προεπεξεργασμένο απόβλητο (SSL)

Πειράματα με ημισυνεχή τροφοδοσία του θρεπτικού μέσου καλλιέργειας πραγματοποιήθηκαν και για τους δύο μικροοργανισμούς. Η πηγή άνθρακα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το προεπεξεργασμένο απόβλητο (SSL) το οποίο συμπυκνώθηκε σε περιστροφικό αποστακτήρα κενού σε θερμοκρασία 60 °C κατά 48% ώστε η αρχική συγκέντρωση των σακχάρων του να φτάσει τα 30 g/L. Επιπλέον, στο θρεπτικό μέσο προστέθηκαν 5 g/L yeast extract πηγή αζώτου όπως επίσης και ανόργανα άλατα σε περιεκτικότητες: 1,16 g/L NaH₂PO₄·H₂O; 0,31 g/L Na₂HPO₄; 1 g/L NaCl; 0,2 g/L MgCl₂·6H₂O; 0,2 g/L CaCl₂·2H₂O καθώς και 5 g/L MgCO₃.

Για την τροφοδοσία προετοιμάστηκε θρεπτικό μέσο καθαρών σακχάρων, προσομοιωμένο στην σύσταση του προεπεξεργασμένου αποβλήτου (SSL) με συμπύκνωση 1:30.

2.7 Ζυμώσεις σε φιάλες Duran

Το υπερδιηθημένο με μεμβράνες διαφορετικής ικανότητας συγκράτησης και αραιωμένο κατά 10 φορές απόβλητο (SSL) χρησιμοποιήθηκε ως πηγή άνθρακα σε ζυμώσεις που πραγματοποιήθηκαν σε φιάλες Duran των 500 mL. Οι συγκεντρώσεις των σακχάρων ήταν οι εξής: 12,81 g/L ξυλόζη; 1,93 g/L γλυκόζη; 0,02 g/L αραβινόζη; 2,15 g/L γαλακτόζη; 0,74 g/L μαννόζη ώστε η τελική συγκέντρωση σακχάρων να είναι 17,65 g/L. Επιπλέον προστέθηκαν 5g/L yeast extract ως πηγή αζώτου και ανόργανα άλατα σε συγκεντρώσεις: 1,16 g/L NaH₂PO₄·H₂O; 0,31 g/L Na₂HPO₄; 1 g/L NaCl; 0,2

g/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$; 0,2 g/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$; καθώς και λίγες σταγόνες αντιαφριστικού παράγοντα. Οι ζυμώσεις διεξήχθησαν με διατήρηση του pH μέσω προσθήκης $MgCO_3$ συγκέντρωσης ίδιας με τη συνολική αρχική συγκέντρωση των σακχάρων (17,65 g/L). Τα συγκεκριμένα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με χρήση και των δύο μικροοργανισμών.

Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε φιάλες Duran (0,5 L), είχαν ενεργό όγκο 0,25 L, όγκο εμβολίου 10% v/v και συνεχή παροχή CO_2 0,5 vvm. Υπήρχε ανάδευση με ρυθμό 170 rpm και η θερμοκρασία ήταν σταθερή στους 37 °C.

2.8 Αποστείρωση

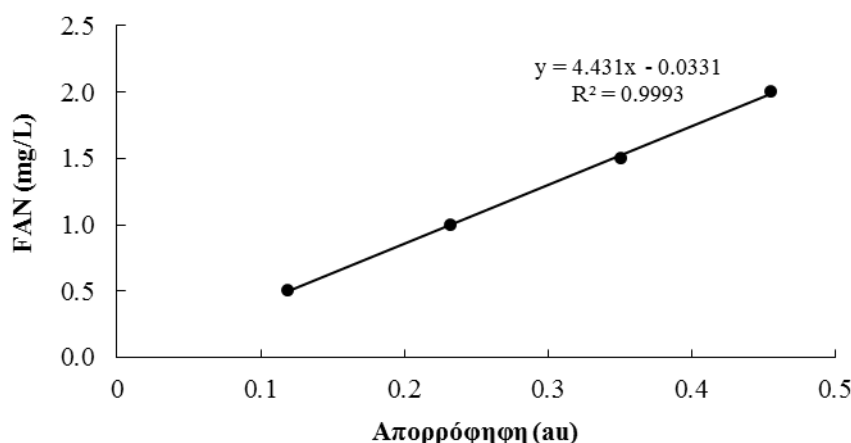
Όλα τα υλικά, σκεύη και διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις περιπτώσεις ζυμώσεων, αποστειρώθηκαν πριν τον εμβολιασμό σε αυτόκαυστο στους 121°C για 20min. Το yeast extract αποστειρώθηκε ξεχωριστά από τα υπόλοιπα συστατικά του μέσου ζύμωσης ώστε να αποφευχθεί η κρυστάλλωση των σακχάρων και στην συνέχεια αναμείχθηκε με αυτά υπό ασηπτικές συνθήκες. Επίσης, όλοι οι χειρισμοί πραγματοποιήθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες (σε θάλαμο κάθετης νηματικής ροής).

2.9 Χημικές αναλύσεις

2.9.1 Προσδιορισμός Αζώτου των Ελεύθερων Αμινομάδων (FAN analysis)

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του αζώτου των ελεύθερων αμινομάδων (Free Amino Nitrogen, FAN) είναι η φωτομετρική μέθοδος της νινυδρίνης (Lie 1973). Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκε 1 mL κατάλληλα αραιωμένου δείγματος και 0,5 mL αντιδραστηρίου χρώσης (colour reagent). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες πωματίστηκαν και μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο στους 100 °C για 16 min. Ακολούθησε ψύξη των δειγμάτων σε νερό στους 20 °C για 20 min. Έπειτα, προστέθηκαν 2,5 mL αντιδραστηρίου αραιώσης (dilution reagent) και αναδεύτηκαν μέχρι αλλαγή χρώματος (20sec). Τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση σε φασματοφωτόμετρο (Hitachi U.2000 Spectrophotometer) στα 570 nm. Το τυφλό δείγμα για το μηδενισμό του φασματοφωτόμετρου, περιείχε 1 mL απιονισμένο νερό. Η συγκέντρωση του δείγματος σε FAN υπολογίστηκε από την πρότυπη καμπύλη

αναφοράς εκφρασμένη σε mg/L (Σχήμα 2.1.). Για την πρότυπη καμπύλη αναφοράς ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία, χρησιμοποιώντας διαφορετικές αραιώσεις πρότυπου διαλύματος γλυκίνης. Η σύσταση των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκε για την μέθοδο FAN περιγράφεται στον Πίνακα 2.4.



Σχήμα 2.1. Καμπύλη αναφοράς της γλυκίνης με τη μέθοδο FAN.

Πίνακας 2.4. Σύσταση αντιδραστηρίων για την μέτρηση FAN.

Αντιδραστήρια για την μέτρηση FAN	Σύσταση
Colour reagent	<ul style="list-style-type: none"> • 49,71 g όξινο φωσφορικό δινάτριο ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 5 g νιυδρίνη, 3 g φρουκτόζη και περίπου 60 g όξινο διφωσφορικό κάλιο (KH_2PO_4) διαλυμένα σε 1 l αποσταγμένο νερό. • pH: 6,6-6,8 • Αποθήκευση: 4 °C
Dilution reagent	<ul style="list-style-type: none"> • 2 g ιωδικού καλίου (KIO_3) σε 616 ml αποσταγμένο νερό και προσθήκη 384 ml αιθανόλης (καθαρότητας 100%).
Αποθεματικό διάλυμα γλυκίνης	<ul style="list-style-type: none"> • 0,1072 g γλυκίνης σε 100 mL αποσταγμένο νερό • Αποθήκευση: 4 °C
Πρότυπο διάλυμα γλυκίνης	<ul style="list-style-type: none"> • 1 mL διαλύματος γλυκίνης σε 100 mL αποστειρωμένο νερό • 2 mL από το παραπάνω διάλυμα περιέχει 2 mg/L FAN.

2.9.2 Μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης σακχάρων και αλκοολών πραγματοποιήθηκε με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography). Όλα τα δείγματα αρχικά φυγοκεντρούνταν και στην συνέχεια φιλτράρονταν με την χρήση φίλτρων whatman που διέθεταν μεμβράνη διαμέτρου οπών 0.2 μm . Ο απαιτούμενος όγκος κάθε ένεσης ήταν 20 μL .

Χαρακτηριστικά υγρού χρωματογράφου:

- Όργανο: Waters 600E
- Στήλη (στατική φάση): Aminex HPX.87H (Bio.rad, Richmond, USA)(30 cm x 7,8 mL)
- Κινητή φάση: 5 mM H_2SO_4 σε απιονισμένο, απεσταγμένο και φιλτραρισμένο νερό.
- Ανιχνευτής: RI (410 Waters)
- Ροή διαλυτών (κινητής φάσης): 0,6 mL/min
- Όγκος ένεσης: 20 μL

2.9.3 Προσδιορισμός % των λιγνοσουλφονικών (LS), φαινολικών OH και στερεών (πρότυπο EN 16109)

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό λιγνοσουλφονικών ουσιών (LS), φαινολικών OH και στερεών είναι φωτομετρική μέθοδος. Μετρημένου όγκου ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε σε προζυγισμένη πυρίμαχη κάψα και το δείγμα τοποθετήθηκε σε φούρνο ξήρανσης στους 70 °C για 24 ώρες. Στην συνέχεια το ξηρό δείγμα ζυγίστηκε με σκοπό να βρεθεί η κατά βάρος περιεκτικότητα του υγρού δείγματος σε στερεά.

Προετοιμασία διαλυμάτων

1. Λήφθηκε ποσότητα δείγματος η οποία περιείχε μεταξύ 0,15 και 0,20 g ξηρού βάρους. Το δείγμα τοποθετήθηκε σε κωνικές φιάλες των 250mL όπου προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι πλήρωση των κωνικών και προέκυψε διάλυμα συγκέντρωσης μεταξύ 0,6 και 0,8 g/L ξηρού βάρους λιγνοσουλφονικών. Ακολούθησε ανάδευση για

τουλάχιστον 20 min με μαγνητικό αναδευτήρα και ποσοτική διήθηση σε κωνικές φιάλες των 250mL (Διάλυμα S1).

2. Λήφθηκε ποσότητα από το διάλυμα S1 του οποίου το pH ρυθμίστηκε στο 2,0-2,2 με 5M HCl. 5 mL αυτού του διαλύματος τοποθετήθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL και ο υπόλοιπος όγκος συμπληρώθηκε με απιονισμένο νερό (Διάλυμα S2).

3,5 mL από το διάλυμα S1 τοποθετήθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL. Το pH ρυθμίστηκε στο 11 με 5M NaOH και ο υπόλοιπος όγκος συμπληρώθηκε με απιονισμένο νερό (Διάλυμα S3).

4. Προστέθηκαν 3 mL διαλύματος S1 σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL και απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 60 mL. Το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε μεταξύ 4,0 και 5,0 με 0,125 M NaOH ή 0,2M HCl. Στη συνέχεια, το διάλυμα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL, συμπληρώθηκε μέχρι αυτόν τον όγκο με αποσταγμένο νερό και ανακινήθηκε (Διάλυμα S4).

Φασματοφωτομετρική ανάλυση :

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση έγινε σε UV-Vis αναλυτή με κυψελίδες χαλαζία και έχει ως εξής:

1. Προσθήκη αποσταγμένου νερού και στις δύο κυψελίδες για την δημιουργία γραμμής βάσης.

2. Πλήρωση της κυψελίδας του δείγματος με το διάλυμα S2, σάρωση σε μήκος κύματος 340 έως 220 nm, καταγραφή της τιμής απορρόφησης της κορυφής μεταξύ 270 και 285 nm ως A.

3. Πλήρωση της κυψελίδας του δείγματος με το διάλυμα S3 και της κυψελίδας αναφοράς με το διάλυμα S2, σάρωση σε μήκος κύματος 340 έως 220 nm, καταγραφή της απορρόφησης της κορυφής στα 255 nm ως B και της ελάχιστης κοιλάδα εκατέρωθεν ως C.

4. Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε λιγνοσουλφονικά, η κυψελίδα δείγματος πληρώθηκε με διάλυμα S4 και η κυψελίδα αναφοράς με απεσταγμένο νερό. Κατεγράφη η απορρόφησης στα 232,5 nm ως E.

Αυτή η διαδικασία είναι για λιγνοσουλφονικά, LS, με συγκεντρώσεις μεταξύ 30 και 80 g/L ξηρού LS. Η τελική απορρόφηση του δείγματος πρέπει να είναι μεταξύ 0,2

και 0,8 για την ελαχιστοποίηση των αποκλίσεων από το νόμο του Beer και σφάλματος οργάνου. Το σφάλμα των διπλών δειγμάτων δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 0,5 %.

Υπολογισμοί

$$\% LS = \frac{E \cdot D(mL)}{f \cdot P(g) \cdot 10} \quad \text{Εξίσωση 2.1}$$

$$K_{solids} = \frac{A}{Conc(g/L)} \quad \text{Εξίσωση 2.2}$$

$$\% OH_{phenolics} = \frac{B-C}{Conc(g/L)} \cdot 0.192 \quad \text{Εξίσωση 2.3}$$

Conc (g/L): συγκέντρωση των διαλυμάτων σε ξηρά LS

D: συντελεστής αραιώσης σε mL ($D = \frac{100250}{3}$)

P: βάρος δείγματος σε g

F: συντελεστής που παίρνει την τιμή 35,2 για λιγνοσουλφονικό ασβέστιο

K_{solids}: μέθοδος ανάλυσης των LS με UV που υπολογίζει την σχετική ποσότητα της περιεχόμενης λιγνίνης στο δείγμα.

2.9.3.1 Προσδιορισμός βιομάζας

Η βιομάζα συλλέγονταν σε προζυγισμένα φιαλίδια (2 mL) με φυγοκέντρηση σε φυγόκεντρο τύπου Heraeus Sepatech Suprafuge 22 (9.000 rpm, 15 min). Μετά την απόρριψη του υπερκείμενου υγρού, ακολουθούσε προσθήκη 1 M HCl και ομογενοποίηση με την βιομάζα με σκοπό την εξουδετέρωση του MgCO₃. Στη συνέχεια, η βιομάζα ξαναφυγοκεντρούταν όπως παραπάνω και το υπερκείμενο υγρό απορριπτόταν. Τέλος, μεταφέρονταν σε προζυγισμένα φιαλίδια και τοποθετούταν σε φούρνο προς ξήρανση (90±5 °C) μέχρι σταθερού βάρους. Το ξηρό υπόλειμμα ζυγίζοταν σε ζυγό ακριβείας τύπου Sartorius basic, εκφρασμένο σε g/L.

2.10 Μεθοδολογία της τεχνοοικονομικής μελέτης

Ο σχεδιασμός της διεργασίας παραγωγής του ηλεκτρικού οξέος βασίστηκε στα αποτελέσματα που διεξήχθησαν από τα πειράματα σε εργαστηριακό βιοαντιδραστήρα πάγκου.

Αρχικά η διεργασία διαχωρίστηκε σε τρία στάδια:

1. Προεπεξεργασία του θρεπτικού μέσου καλλιέργειας για τις μικροβιακές ζυμώσεις
2. Παραγωγή ηλεκτρικού οξέος μέσω μικροβιακών ζυμώσεων
3. Διαχωρισμός και ανάκτηση του ηλεκτρικού οξέος από τα υπόλοιπα συστατικά της ζύμωσης

Ως πηγή άνθρακα για την παραγωγή ηλεκτρικού χρησιμοποιήθηκε το υπερδιηθημένο από μεμβράνη απόβλητο (SSL) αραιωμένο κατά τρεις φορές.

2.10.1 Γραμμή παραγωγής

Η γραμμή παραγωγής που επιλέχθηκε είναι συνεχούς λειτουργίας. Η ετήσια δυναμικότητά της είναι ανάλογη της ετήσια παραγωγής του αποβλήτου (SSL) η οποία ανέρχεται στα 101.000 m³. Η μονάδα σχεδιάστηκε να λειτουργεί 330 d/y και 24 h/d ενώ ο συνολικός χρόνος λειτουργίας της ορίστηκε στα 10 έτη.

2.10.2 Εκτίμηση του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης

Η εκτίμηση του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης στηρίζεται στον υπολογισμό του κόστους προμήθειας και εγκατάστασης των στοιχείων του εξοπλισμού της διεργασίας που εφαρμόστηκε. Για τον σκοπό αυτό αρχικά έγινε διαστασιολόγηση του εξοπλισμού και χρησιμοποιήθηκαν εξισώσεις και γραφικές παραστάσεις από βιβλιογραφικές αναφορές (Atkinson and Mavituna, 1991; Blanch and Clark, 1997; Peters et al., 2002; Coulson and Richardson, 2006). Η συσχέτιση του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης με το κόστος προμήθειας και εγκατάστασης των στοιχείων εξοπλισμού στηρίχτηκε στην μεθοδολογία που προτείνεται από τους Peters, Timmerhaus και West, 2003.

2.10.3 Εκτίμηση του συνολικού κόστους παραγωγής

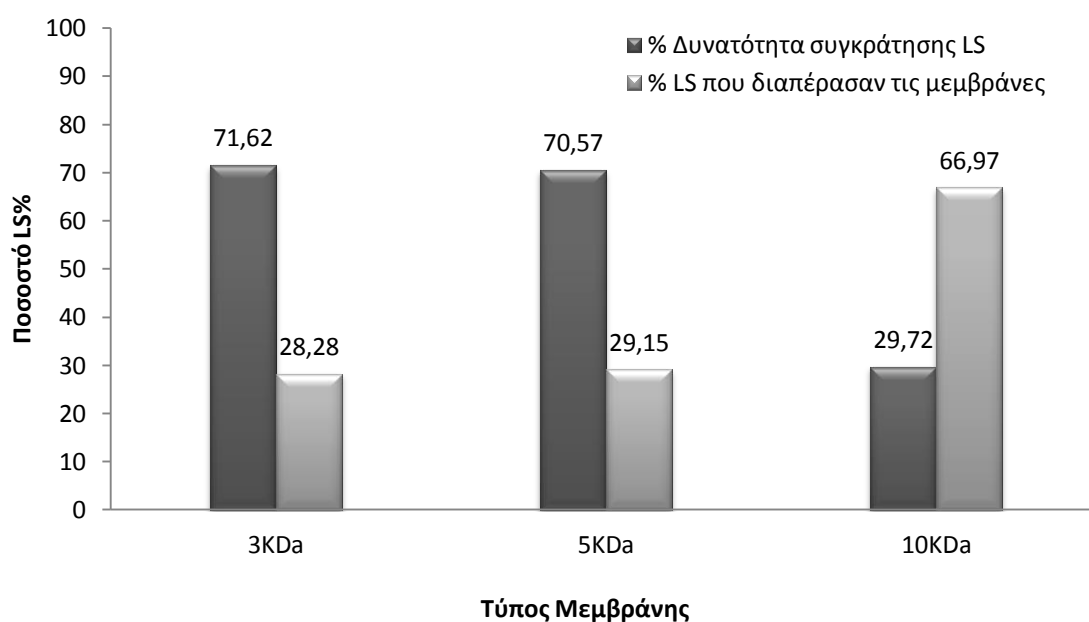
Το συνολικό κόστος παράγωγης είναι το άθροισμα από τα επιμέρους κόστη της προμήθειας των πρώτων υλών, των βοηθητικών παροχών και των εργατικών δαπανών. Για την εκτίμηση των βοηθητικών παροχών χρειάστηκε να γίνει υπολογισμός του μεγέθους κάθε ρεύματος βοηθητικής παροχής μέσω εξισώσεων διατήρησης μάζας και ενέργειας. Στην συνέχεια έγινε αντιστοιχία του μεγέθους παροχής με το κόστος μέσω πινάκων (Peters et al., 2002, Coulson και Richardson, 2006). Για τον υπολογισμό των εργατικών έγινε αναγωγή στην τιμή του κόστους εργατικών για το έτος 2004 σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Coulson και Richardson, 2006) στο αντίστοιχο κατά το έτος 2013 χρησιμοποιώντας τους δείκτες από το US Department of Labour (Labour Productivity and Costs, <http://www.bls.gov/lpc/>). Η ετήσια απόσβεση της αρχικής επένδυσης ορίστηκε ως 10 % ανά έτος λειτουργίας της παραγωγικής μονάδας.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

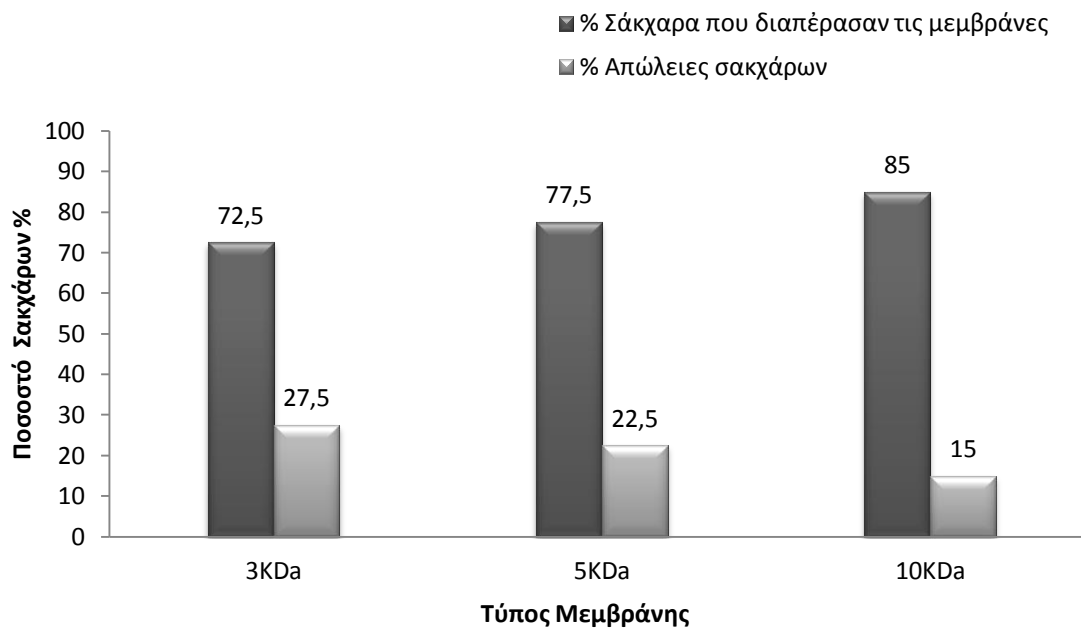
3.1 Πειράματα με Μεμβράνες

Το απόβλητο SSL όπως προαναφέρθηκε είναι πλούσιο σε λιγνοσουλφονικές ουσίες (400 g/L). Οι υψηλές συγκεντρώσεις των ουσιών αυτών δρουν παρεμποδιστικά στην ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Σκοπός του πειραματικού αυτού σταδίου είναι η μελέτη και σύγκριση μεμβρανών ως προς την δυνατότητα συγκράτησης λιγνοσουλφονικών ουσιών κατά την επεξεργασία του αποβλήτου SSL καθώς και την εξέταση και σύγκριση του φιλτραρισμένου αποβλήτου ως προς την αποτελεσματικότητα ζύμωσής του.

Οι μεμβράνες που χρησιμοποιήθηκαν είχαν δυνατότητας συγκράτησης σωματιδίων μοριακού βάρους 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa. Τα αποτελέσματα από τα πειράματα επεξεργασίας του αποβλήτου που διεξήχθησαν έδειξαν ότι οι μεμβράνες των 5 kDa και 3 kDa έχουν το μεγαλύτερο ποσοστό συγκράτησης: 70,57 % και 71,61 % αντίστοιχα ενώ αυτές των 10 kDa έδειξαν ποσοστό 29,72 % (Σχήμα 3.1).



Σχήμα 3.1. Συγκριτική μελέτη μεμβρανών 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa ως προς την ικανότητα συγκράτησης λιγνοσουλφονικών ουσιών (LS).



Σχήμα 3.2. Συγκριτική μελέτη των απωλειών και της ανάκτησης σακχάρων από μεμβράνες 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa.

Επίσης, διαπιστώθηκε ότι οι μεμβράνες είχαν δυνατότητα επεξεργασίας διαφορετικούς όγκους αποβλήτου. Οι μεμβράνες των 10 kDa επεξεργάστηκαν το 85 % του αρχικού όγκου αποβλήτου SSL, αυτές των 5 kDa το 77,5 % και εκείνες των 3 kDa το 70%. Όσον αφορά στην περιεκτικότητα των σακχάρων του επεξεργασμένου αποβλήτου, ήταν η ίδια σε όλα τα δείγματα που πέρασαν από τις μεμβράνες και ίση με 17,64 g/L (αραιωμένο 1:10). Η ίδια συγκέντρωση σακχάρων παρατηρήθηκε επίσης και στον όγκο του αποβλήτου που συγκρατήθηκε από τις μεμβράνες αλλά και στο ανεπεξέργαστο SSL. Από τις αναλύσεις αυτές προκύπτει ότι το ποσοστό απωλειών σακχάρων κατά την διεργασία αυτή είναι αντίστοιχο με το ποσοστό του όγκου αποβλήτου που συγκρατείται από τις μεμβράνες (Σχήμα 3.2.).

Συμπερασματικά, η δυνατότητα συγκράτησης λιγνοσουλφονικών ουσιών των δύο μεμβρανών 5 kDa και 3 kDa είναι παραπλήσια και πολύ μεγαλύτερη από αυτήν των 10 kDa, με την πρώτη να δύναται να επεξεργάζεται 7,5 % περισσότερο όγκο αποβλήτου από την δεύτερη. Επομένως οι μεμβράνες των 5 kDa αποδείχθηκαν καταλληλότερες για την επεξεργασία του συγκεκριμένου αποβλήτου. Επιπλέον, διαπιστώθηκε μεγαλύτερη απώλεια σακχάρων όταν χρησιμοποιήθηκαν οι 3 kDa μεμβράνες (27,5 % αντί για 22,5 % με 5 kDa μεμβράνες) χωρίς να υπάρχει σημαντικά

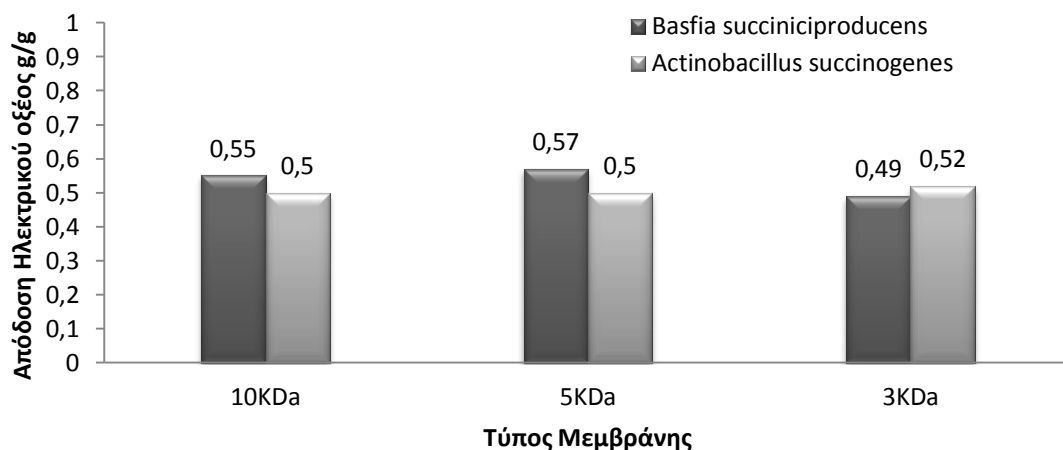
υψηλότερη συγκράτηση λιγνοσουλφονικών (28,3 % αντί για 29,2 % με 5 kDa μεμβράνες).

3.2 Ζυμώσεις διαλείποντος έργου

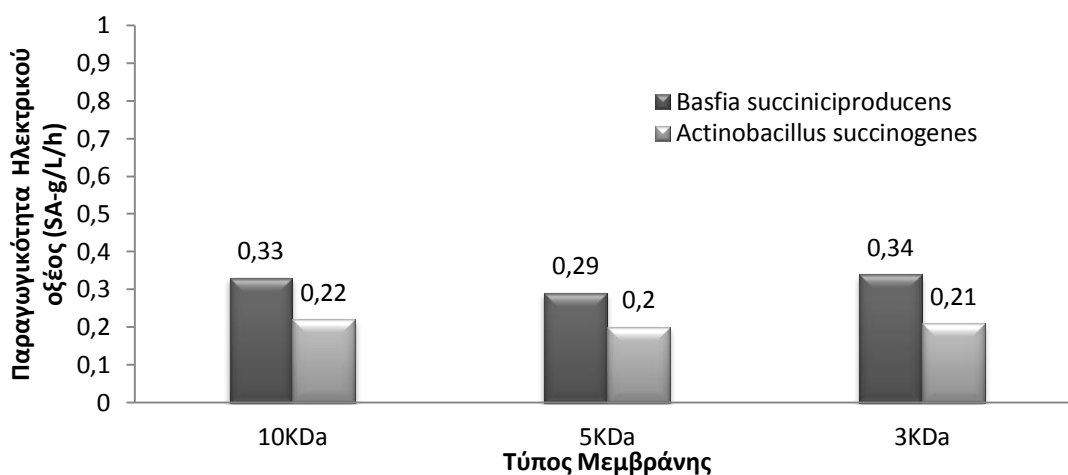
3.2.1 Ζυμώσεις διαλείποντος έργου σε υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο απόβλητο (SSL)

Ο καθαρισμός του αποβλήτου SSL από λιγνοσουλφονικές ουσίες επιτεύχθηκε σε μεγάλο βαθμό μέσω της χρήσης μεμβρανών. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων ζύμωσης με θρεπτικό υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο SSL. Στόχος των πειραμάτων ήταν να διαπιστωθεί η επίδρασή της προεπεξεργασίας του αποβλήτου στην διεργασία της ζύμωσης. Τα πειράματα έλαβαν χώρα σε φιάλες τύπου Duran όπου χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα επεξεργασμένο και με τους τρεις τύπους μεμβρανών απόβλητο αραιωμένο κατά δέκα φορές, οι συγκεντρώσεις του οποίου αναγράφονται στο Πίνακα 3.1.

Στις ζυμώσεις χρησιμοποιήθηκαν οι μικροοργανισμοί *B.succiniciproducens* και *A.succinogenes*. Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα (Σχήμα 3.3) οι αποδόσεις της παραγωγής ηλεκτρικού οξέος και για τους δύο μικροοργανισμούς και στα τρία υποστρώματα κυμάνθηκαν σε παρεμφερή επίπεδα (*B.succiniciproducens* 10 kDa = 0,55 g/g; 5 kDa=0,57 g/g; 3 kDa=0,49 g/g- *A.succinogenes* 10 kDa = 0,5 g/g; 5 kDa=0,5 g/g; 3 kDa=0,52 g/g).



Σχήμα 3.3. Συγκριτική μελέτη της απόδοσης παραγωγής ηλεκτρικού οξέος από του δύο μικροοργανισμούς, *Basfia succiniciproducens* και *Actinobacillus succinogenes* σε επεξεργασμένο με μεμβράνες των 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa και αραιωμένο 1/10 απόβλητο SSL.



Σχήμα 3.4. Συγκριτική μελέτη της παραγωγικότητας ηλεκτρικού οξέος από του δύο μικροοργανισμούς, *Basfia succiniciproducens* και *Actinobacillus succinogenes* σε επεξεργασμένο με μεμβράνες των 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa απόβλητο SSL.

Επίσης, μέσω του υπολογισμού της παραγωγικότητας για κάθε μικροοργανισμό και για τα τρία υποστρώματα (Σχήμα 3.4), φαίνεται ότι ο *B.succiniciproducens* υπερέχει έναντι του *A.succinogenes*. (*B.succiniciproducens* 10 kDa = 0,33 g/(L×h); 5 kDa=0,29 g/(L×h); 3 kDa=0,31 g/(L×h), *A.succinogenes* 10 kDa = 0,22 g/(L×h); 5 kDa=0,2 g/(L×h); 3 kDa=0,21 g/(L×h)). Συγκεκριμένα, στο θρεπτικό υπόστρωμα που

επεξεργάστηκε με μεμβράνη των 3 kDa ο *B.succiniciproducens* είχε κατά 38% μεγαλύτερη παραγωγικότητα από τον *A.succinogenes* ενώ σε εκείνα που επεξεργάστηκαν με μεμβράνες των 10 kDa και 5 kDa είχε 33,3 % και 31 % μεγαλύτερη παραγωγικότητα, αντίστοιχα.

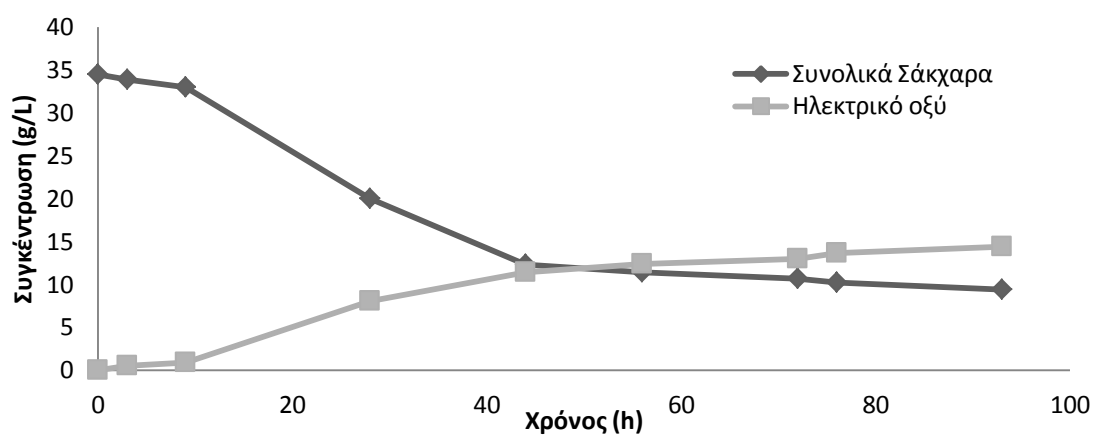
Στα συγκεκριμένα πειράματα και οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύχθηκαν και παρήγαγαν ηλεκτρικό οξύ σε όλα τα υποστρώματα χωρίς να παρουσιάζεται κάποια παρεμπόδιση εκ των λιγνοσουλφονικών ουσιών που παρέμειναν σε αυτά και μετά την επεξεργασία τους με τις μεμβράνες. Αυτό οφείλεται στην μεγάλη αραιώση των υποστρωμάτων (1/10) και στη μικρή συγκέντρωση λιγνοσουλφονικών.

Πίνακας 3.1. Σύσταση υποστρώματος αποβλήτου SSL αραιωμένου δέκα φορές και επεξεργασμένου με μεμβράνες των 10 kDa, 5 kDa και 3 kDa.

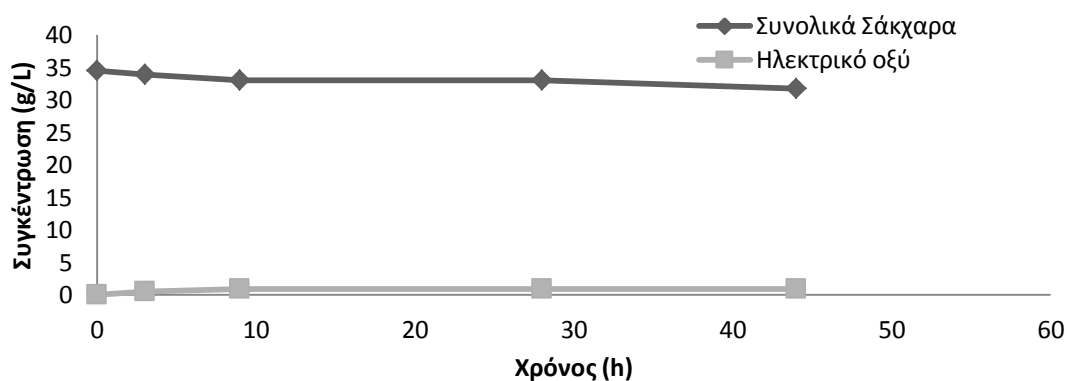
Συστατικά	Συγκεντρώσεις (g/L)
Ολικά σάκχαρα	17,6
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,16
Na ₂ HPO ₄	0,31
NaCl	1
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,2
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,2
MgCO ₃	20
Yeast extract	5
Λιγνοσουλφονικές ουσίες	
3 kDa	14,03
5 kDa	15,18
10 kDa	28,18

Με σκοπό να διαπιστωθεί η ανεκτικότητα των μικροοργανισμών σε υπόστρωμα υψηλής συγκέντρωσης σακχάρων και λιγνοσουλφονικών ουσιών πραγματοποιήθηκαν πειράματα με αραιωμένο κατά πέντε φορές και επεξεργασμένο με μεμβράνη των 5 kDa απόβλητο SSL του οποίου οι συγκεντρώσεις αναγράφονται στο Πίνακα 3.2. Στα συγκεκριμένα πειράματα παρατηρήθηκε ότι ο *A.succinogenes* μετά από μια φάση προσαρμογής που διήρκησε 10 h, κατανάλωσε συνολικά 26 g/L σακχάρων και

παρήγαγε 14,5 g/L ηλεκτρικού οξέος (Σχήμα 3.5). Η ζύμωση διήρκησε 93 ώρες με απόδοση παραγωγής ηλεκτρικού οξέος 0,55 g/g και παραγωγικότητα 0,15 g/(L×h).



Σχήμα 3.5. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *A.succinogenes* σε επεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa και αραιωμένο 1/5 απόβλητο SSL.



Σχήμα 3.6. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *B.succiniciproducens* σε επεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa και αραιωμένο 1/5 απόβλητο SSL.

Αντιθέτως, στο ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα με τη χρήση του μικροοργανισμού *B.succiniciproducens*, δεν παρατηρήθηκε κατανάλωση σακχάρων, επομένως ούτε παραγωγή ηλεκτρικού οξέος (Σχήμα 3.6). Επομένως, φαίνεται ότι ο *B.succiniciproducens* δεν έχει την ίδια ανοχή με τον *A.succinogenes* στο συγκεκριμένο υπόστρωμα.

Πίνακας 3.2. Σύσταση υποστρώματος αποβλήτου SSL αραιωμένου πέντε φορές και επεξεργασμένου με μεμβράνες των 5 kDa.

Συστατικά	Συγκεντρώσεις (g/L)
Ολικά σάκχαρα	35,28
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,16
Na ₂ HPO ₄	0,31
NaCl	1
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,2
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,2
MgCO ₃	20
Yeast extract	5
Λιγνοσουλφονικές ουσίες	
5 kDa	30,36

3.3 Ζυμώσεις ημισυνεχής καλλιέργειας σε βιοαντιδραστήρα

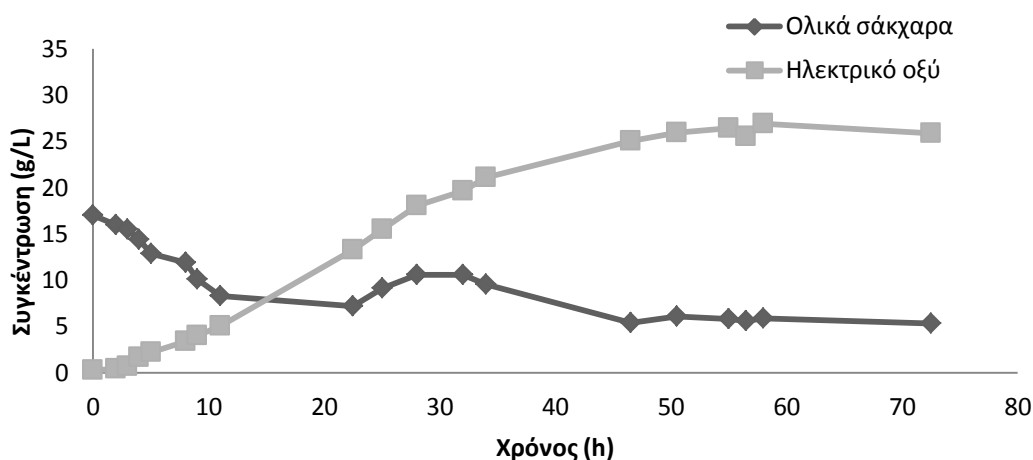
3.3.1 Ζυμώσεις ημισυνεχούς τροφοδοσίας σε συνθετικό υπόστρωμα καλλιέργειας

Για τον προσδιορισμό της μέγιστης απόδοσης παραγωγής προϊόντος στην συγκεκριμένη σύνθεση σακχάρων του αποβλήτου SSL πραγματοποιήθηκαν πειράματα ημισυνεχούς λειτουργίας.

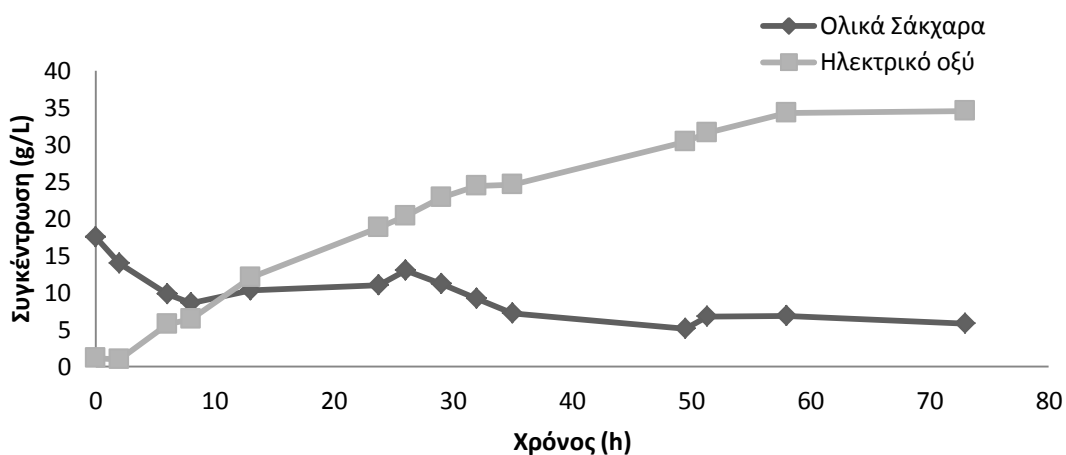
Αρχικά, έγιναν ζυμώσεις σε υποστρώματα καθαρών σακχάρων των οποίων οι συγκεντρώσεις φαίνονται στον Πίνακα 3.3, και στην συνέχεια ακολούθησαν ζυμώσεις σε προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa απόβλητο SSL, οι συγκεντρώσεις του οποίου αναγράφονται στον Πίνακα 3.4.

Το Σχήμα 3.7 δείχνει το προφίλ της ζύμωσης ως προς την κατανάλωση των σακχάρων και την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος από τον *A.succinogenes*. Η διάρκεια της ζύμωσης ήταν 72,5 h. Συνολικά καταναλώθηκαν 48,9 g σακχάρων και παρήχθησαν 27,2 g ηλεκτρικού οξέος με τιμή απόδοσης 0,55 g/g. Η παραγωγικότητα της ζύμωσης στις 72,5 h ήταν 0,37 g/(L×h). Παρατηρήθηκε ότι από την 46,5^h και μέχρι το τέλος της ζύμωσης, η παραγωγή ηλεκτρικού οξέος ήταν μικρή, δηλαδή 2 g σε 26 h. Επομένως, μπορεί να θεωρηθεί ως τέλος της ζύμωσης η χρονική στιγμή των 46,5 h, με την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος να ανέρχεται στην τιμή των 25 g και την

παραγωγικότητα να φτάνει τα 0,54 g/(L×h) που αντιστοιχεί σε αύξηση κατά 46% από την αντίστοιχη των 72,5 h.



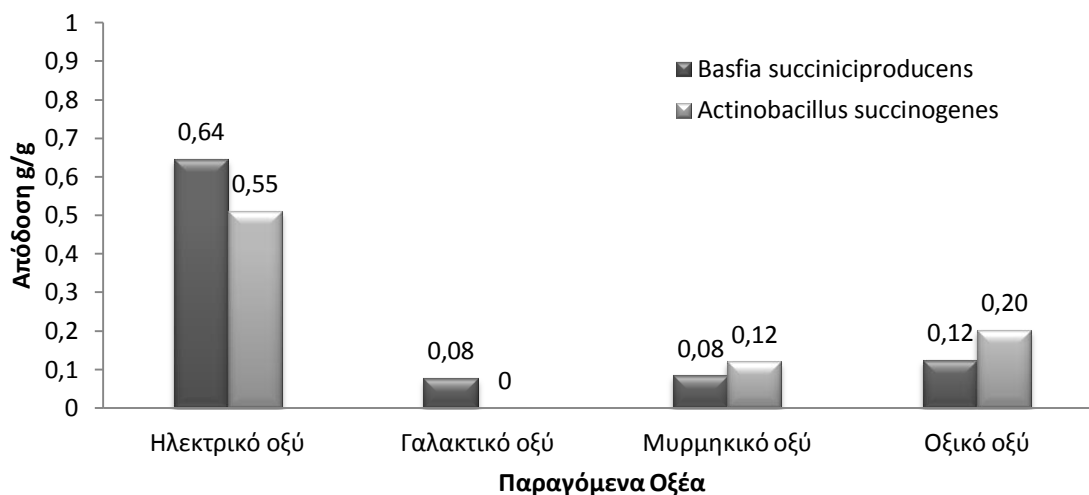
Σχήμα 3.7. Κατανάλωση σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *A.succinogenes* σε ημισυνεχούς λειτουργίας ζυμώσεις με υπόστρωμα εμπορικών σακχάρων.



Σχήμα 3.8. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *B.succiniciproducens* σε ημισυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα συνθετικών σακχάρων.

Στο Σχήμα 3.8 φαίνεται η κατανάλωση σακχάρων και η παραγωγή ηλεκτρικού οξέος στην ζύμωση που πραγματοποιήθηκε με τον μικροοργανισμό *B.succiniciproducens*. Η ζύμωση διήρκεσε 73 h, καταναλώθηκαν 58,37 g σακχάρων και παρήχθησαν 37,70 g ηλεκτρικού οξέος με την απόδοση να ισούται με 0,64 g/g. Στις

73 h η παραγωγικότητα της ζύμωσης είναι 0,51 g/(L×h). Παρατηρείται ότι στις 58 h ζύμωσης παράχθηκαν 35,26 g ηλεκτρικού οξέος με την τιμή της παραγωγικότητα να ανεβαίνει στα 0,60 g/(L×h).



Σχήμα 3.9. Συγκριτική μελέτη της απόδοσης παραγωγής ηλεκτρικού οξέος από του δύο μικροοργανισμούς, *B.succiniciproducens* και *A.succinogenes* σε ημισυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα συνθετικών σακχάρων.

Από τα αποτελέσματα των ζυμώσεων φαίνεται ότι ο *B.succiniciproducens* ανταποκρίνεται καλύτερα στο υπόστρωμα εμπορικών σακχάρων που χρησιμοποιήθηκε, παρουσιάζοντας μεγαλύτερη απόδοση παραγωγής ηλεκτρικού οξέος σε σχέση με τον *A.succinogenes* στο ίδιο υπόστρωμα (0,64 g/g αντί 0,55 g/g) (Σχήμα 3.9).

Όσον αφορά στα παραπροϊόντα των ζυμώσεων, φαίνεται ότι ο *A.succinogenes* παράγει μεγαλύτερη συγκέντρωση μυρμηκικού και οξικού οξέος με αντίστοιχες τιμές 6,4 g/L και 10,8 g/L σε σύγκριση με τον *B.succiniciproducens*, ο οποίος παράγει 4,95 g/L μυρμηκικού και 7,28 g/L οξικού οξέος. Ο τελευταίος παράγει ως και 4,53 g/L γαλακτικού οξέος ενώ ο πρώτος δεν φάνηκε να παράγει γαλακτικό οξύ.

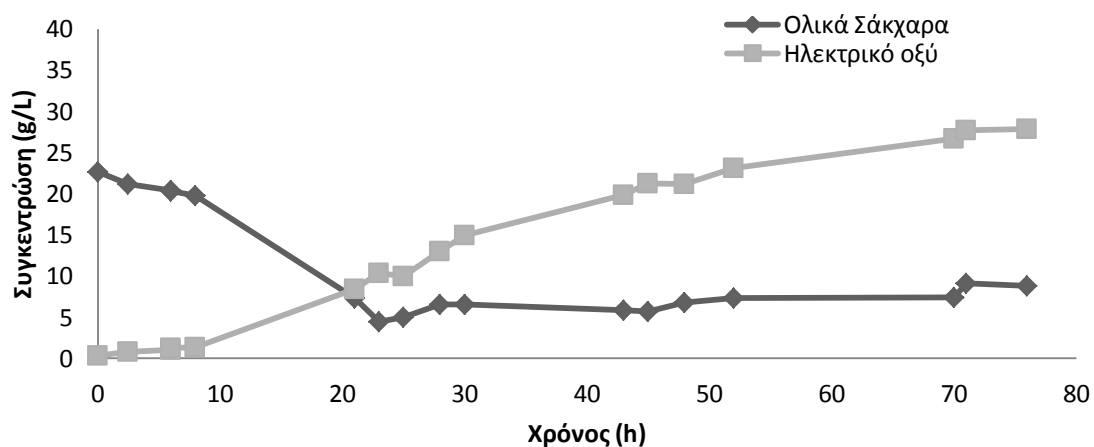
Πίνακας 3.3. Σύσταση υποστρώματος από συνθετικά σάκχαρα για πειράματα ασυνεχούς λειτουργίας

Συστατικά	Συγκεντρώσεις (g/L)	
Ολικά σάκχαρα	Αντιδραστήρας	17,6
	Τροφοδοσία	421
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,16	
Na ₂ HPO ₄	0,31	
NaCl	1	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,2	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,2	
MgCO ₃	5	
Yeast extract	Αντιδραστήρας	5
	Τροφοδοσία	40

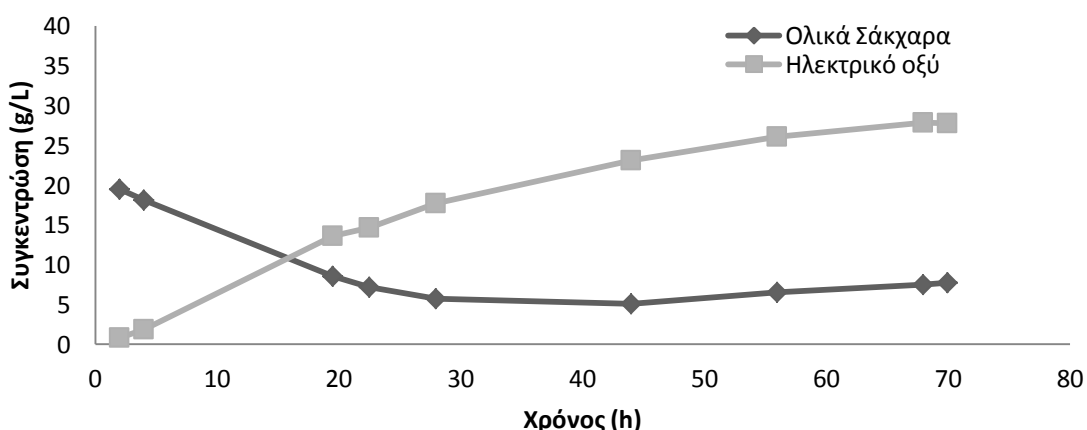
3.3.2 Ζυμώσεις ημισυνεχούς τροφοδοσίας σε θρεπτικό υπόστρωμα προεπεξεργασμένου με μεμβράνες των 5 kDa αποβλήτου (SSL)

Στα πειράματα ασυνεχούς λειτουργίας που χρησιμοποιήθηκε ως θρεπτικό υπόστρωμα καλλιέργειας, προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa απόβλητο (SSL), ο μικροοργανισμός *A.succinogenes* παράγαγε 27,87 g/L ηλεκτρικό οξύ καταναλώνοντας συνολικά 52,23 g/L σακχάρων. Συγκρίνοντας αυτή την συγκέντρωση του ηλεκτρικού οξέος με εκείνη που παράχθηκε στα πειράματα με υπόστρωμα ζύμωσης εμπορικά σάκχαρα (27,20 g/L), οι τιμές που προκύπτουν είναι παραπλήσιες. Στο Σχήμα 3.10 το οποίο δείχνει την ζύμωση των σακχάρων και την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *A.succinogenes* διακρίνεται για τις πρώτες 8 ώρες της ζύμωσης μικρός ρυθμός κατανάλωσης σακχάρων (0,36 g/(L×h)) καθώς και μικρός ρυθμός παραγωγής ηλεκτρικού οξέος (0,16 g/(L×h)). Αυτό το χρονικό διάστημα αντιστοιχεί στον χρόνο που χρειάστηκε ο μικροοργανισμός για να προσαρμοστεί στο συγκεκριμένο υπόστρωμα (φάση προσαρμογής). Η ζύμωση διήρκησε 76 h και έδειξε απόδοση ως προς την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος 0,54 g/g.

Η παραγωγικότητα για της 76 h υπολογίζεται στα 0,36 g/(L×h), ενώ στις 52 h όπου η παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος φτάνει τα 23,11 g/L υπολογίστηκε στα 0,45 g/(L×h).



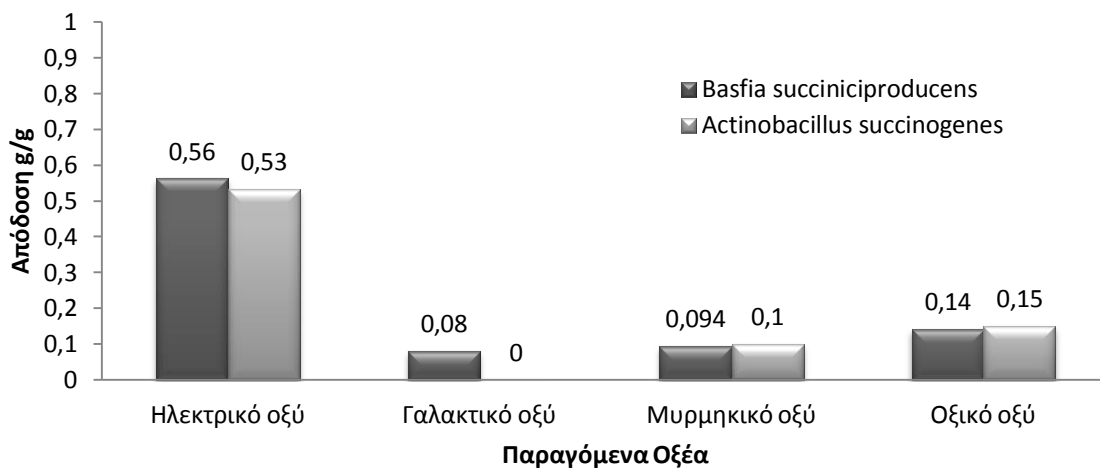
Σχήμα 3.10. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *A.succinogenes* σε ημισυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa απόβλητο (SSL).



Σχήμα 3.11. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *B.succiniciproducens* σε ημισυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa απόβλητο (SSL).

Η παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον *B.succiniciproducens* στο προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa υπόστρωμα αποβλήτου (SSL) υπολογιστικέ ως 28,1 g/L καταναλώνοντας συνολικά 49,9 g/L σακχάρων δηλαδή παρόμοια παραγωγή με αυτή του *A.succinogenes* (27,87 g/L) και κατά πολύ μικρότερη από αυτή που έδειξε σε υπόστρωμα από καθαρά σάκχαρα (37,70 g/L) (Σχήμα 3.11). Η

ζύμωση διήρκησε 72 h, με παραγωγικότητα να υπολογίζεται στα 0,39 g/(L×h) ενώ στις 48 h ζύμωσης όπου είχαν παραχθεί 24,13 g ηλεκτρικού οξέος η παραγωγικότητα ήταν 0,49 g/(L×h).



Σχήμα 3.12. Συγκριτική μελέτη της απόδοσης παραγωγής ηλεκτρικού οξέος από του δύο μικροοργανισμούς, *B.succiniciproducens* και *A.succinogenes* σε ημισυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα από προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa απόβλητο (SSL).

Οι αποδόσεις ως προς την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος του *B.succiniciproducens* και *A.succinogenes* ήταν παρόμοιες στις συγκεκριμένες ζυμώσεις με τον πρώτο να φτάνει ως 0,56 g/g και τον δεύτερο 0,53 g/g (Σχήμα 3.12). Σε αυτό το στάδιο συμπεραίνεται ότι ο *A.succinogenes* παρουσιάζει μεγαλύτερη ανεκτικότητα στην παρουσία λιγνοσουλφονικών ουσιών σε σχέση με τον *B.succiniciproducens* εφόσον έδειξε παρόμοια συμπεριφορά και στα δύο υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν στα συγκεκριμένα πειράματα. Το ίδιο είχε παρατηρηθεί και στα πειράματα διαλείποντος έργου με 1:5 αραιώση του SSL. Από την άλλη, ο *B.succiniciproducens* παρουσίασε μικρότερη τελική συγκέντρωση ηλεκτρικού οξέος σε σχέση με τα καθαρά σάκχαρα (27,8 g/L αντί 34,3 g/L), υποστηρίζοντας το γεγονός ότι αυτό το βακτήριο αντέχει λιγότερο σε παρεμποδιστές που κατά την διάρκεια των ζυμώσεων ημιδιαλείποντος έργου μπορούν να φτάσουν σε υψηλές συγκεντρώσεις (π.χ. LS). Ως προς την παραγωγή των υποπροϊόντων, ο *A.succinogenes* παρουσιάζει μεγαλύτερη παραγωγή μυρμηκικού και οξικού οξέος 4,65 g/L και 7,44 g/L αντίστοιχα

σε σχέση με τον *B.succiniciproducens* που παρήγαγε 4,70 g/L μυρμηκικού και 7,08 g/L οξικού οξέος, ο τελευταίος έδειξε να παράγει ως και 4,01 g/L γαλακτικού οξέος ενώ ο πρώτος δεν παρατηρήθηκε να το παράγει.

Πίνακας 3.4. Σύσταση υποστρώματος από προεπεξεργασμένο με μεμβράνες των 5 kDa απόβλητο (SSL) για πειράματα ασυνεχούς λειτουργίας.

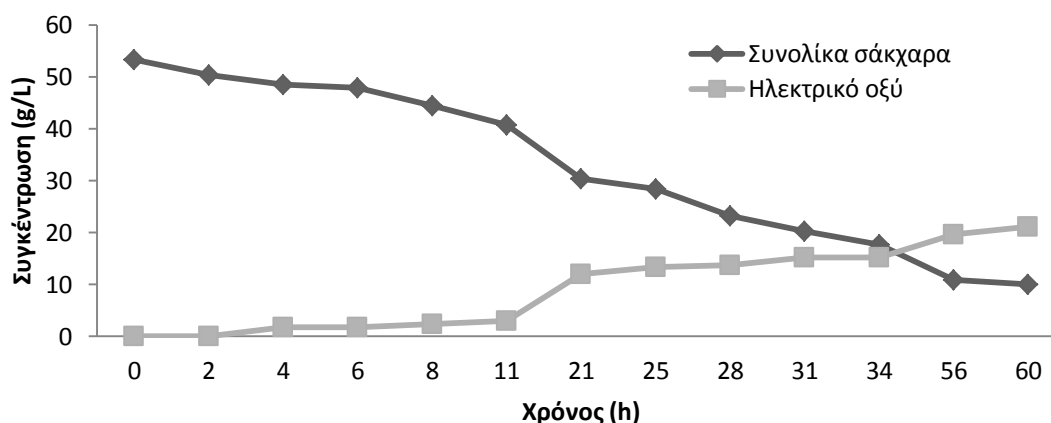
Συστατικά	Συγκεντρώσεις (g/L)	
Ολικά σάκχαρα	Αντιδραστήρα	28
	Τροφοδοσίας	500
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,16	
Na ₂ HPO ₄	0,31	
NaCl	1	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,2	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,2	
MgCO ₃	5	
Yeast extract	Αντιδραστήρα	5
	Τροφοδοσίας	50
Λιγνοσουλφονικές ουσίες	Αντιδραστήρα	30
	Τροφοδοσίας	170

3.3.3 Ζυμώσεις διαλείποντος έργου σε υπόστρωμα καθαρών σακχάρων και προσθήκη MgCO₃

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων ημισυνεχούς λειτουργίας, παρουσίασε ενδιαφέρον η πραγματοποίηση ζύμωσης ασυνεχούς λειτουργίας με αρχικές συγκεντρώσεις σακχάρων παρόμοιες με αυτές που μπόρεσαν να καταναλώσουν οι μικροοργανισμοί στα προαναφερθέντα πειράματα. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα καθαρών σακχάρων με αρχική συγκέντρωση 50 g/L (Πίνακας 3.5).

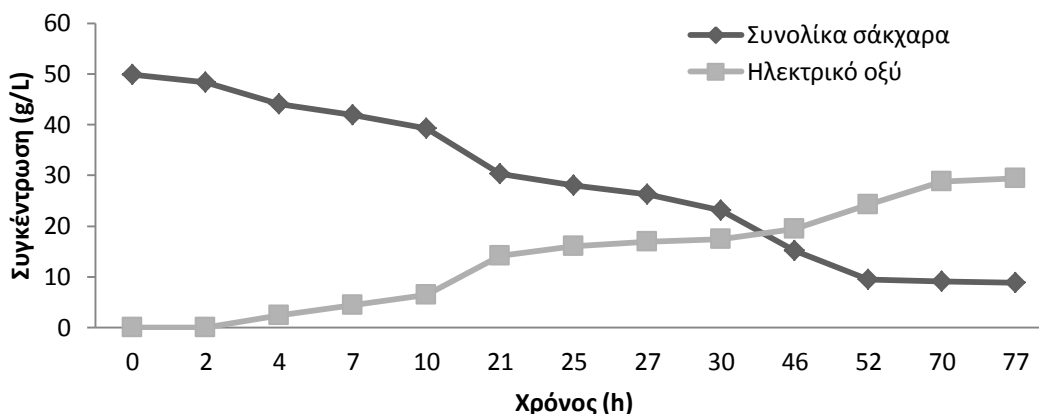
Στο Σχήμα 3.13 φαίνεται η συμπεριφορά του *A.succinogenes*, ως προς την κατανάλωση των σακχάρων και την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος σε ασυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα καθαρών σακχάρων. Η ζύμωση διήρκησε 60 h, καταναλώθηκαν 44 g/L σακχάρων και παρήχθησαν ως και 26,33 g/L έχοντας μία

απόδοση ίση με 0,60 g/g ως προς την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Τις πρώτες 11 h παρατηρήθηκε αυξημένη κατανάλωση σακχάρων (10 g/L), σχετικά υψηλή παραγωγή υποπροϊόντων (οξικό 1,2 g/L, μυρμηκικό 3,6 g/L) και μικρή παραγωγή ηλεκτρικού οξέος (2,7 g/L). Φαινομενικά, η συμπεριφορά αυτή του μικροοργανισμού μπορεί να οφείλεται στην υψηλή αρχική συγκέντρωση σακχάρων.



Σχήμα 3.13. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *A.succinogenes* σε ασυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα καθαρών σακχάρων.

Στο Σχήμα 3.14 φαίνεται η συμπεριφορά του *B.succiniciproducens* ως προς την κατανάλωση των σακχάρων και την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος σε ζύμωση ασυνεχούς λειτουργίας με υπόστρωμα καθαρών σακχάρων. Η ζύμωση διήρκησε 77 h καταναλώθηκαν 42,35 g/L σακχάρων και παρήχθησαν ως και 26,52 g/L ηλεκτρικού οξέος. Έτσι η απόδοση ηλεκτρικού οξέος υπολογίζεται ως 0,62 g/g. Τις πρώτες 11 h παρατηρήθηκε αυξημένη κατανάλωση σακχάρων (10 g/L), σχετικά υψηλή παραγωγή παραπροϊόντων (οξικό 1,2 g/L, μυρμηκικό 3,6 g/L) και μικρή παραγωγή ηλεκτρικού οξέος (2,7 g/L). Η συμπεριφορά αυτή του μικροοργανισμού μπορεί να οφείλεται στην υψηλή αρχική συγκέντρωση σακχάρων.



Σχήμα 3.14. Κατανάλωσης σακχάρων και παραγωγή ηλεκτρικού οξέος από τον μικροοργανισμό *B.succiniciproducens* σε ασυνεχούς λειτουργίας ζύμωση με υπόστρωμα συνθετικών σακχάρων .

Πίνακας 3.5. Σύσταση υποστρώματος αποβλήτου SSL αραιωμένου πέντε φορές και επεξεργασμένου με μεμβράνες των 5 kDa.

Συστατικά	Συγκεντρώσεις (g/L)
Ολικά σάκχαρα	50
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,16
Na ₂ HPO ₄	0,31
NaCl	1
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,2
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,2
MgCO ₃	25
Yeast extract	5

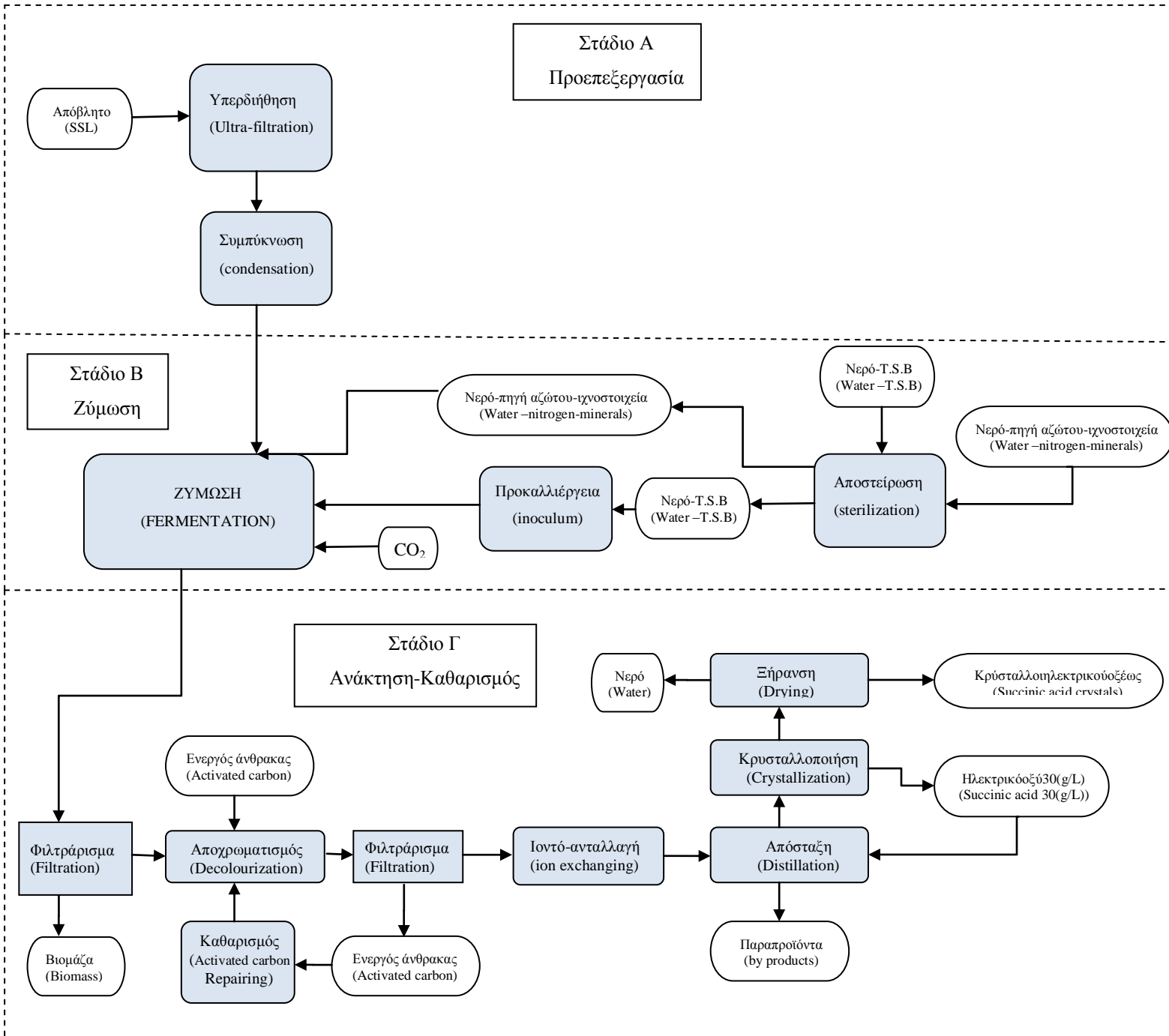
3.4 Σχεδιασμός της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος

Για την εκπόνηση της τεχνοοικονομικής μελέτης πραγματοποιήθηκε σχεδιασμός της γραμμής παραγωγής του ηλεκτρικού οξέος. Στην συνέχεια, υπολογίστηκαν τα χαρακτηριστικά μεγέθη των στοιχείων που αποτελούν την συγκεκριμένη γραμμή παραγωγής καθώς και όλων των βοηθητικών ρευμάτων που χρειάζονται για την λειτουργία της. Στο Σχήμα 3.15. φαίνεται το διάγραμμα ροής με τις διεργασίες του κάθε σταδίου παραγωγής.

Η μονάδα παραγωγής ηλεκτρικού οξέος αποτελεί επέκταση μίας υπάρχουσας μονάδας παραγωγής ξυλοπολτού στην οποία δημιουργούνται 306 m³/d από το απόβλητο (SSL) εκ των οποίων το ήμισυ θα χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Η ποσότητα αυτή προκύπτει μετά από συμπύκνωση (7/1) του υγρού που εξέρχεται από την διεργασία καθαρισμού του πλούσιου σε κυτταρίνη πολτού. Οι συγκεντρώσεις σακχάρων και λιγνοσουλφονικών (Πίνακας 3.6.) στο συμπύκνωμα είναι απαγορευτικές για την ανάπτυξη μικροοργανισμών επομένως και για το στάδιο της ζύμωσης για παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Είδαμε προηγουμένως ότι υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρων κοντά στα 50 g/L επιτρέπουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Τέτοιες συγκεντρώσεις πετυχαίνονται όταν το απόβλητο αραιωθεί κατά τρεις φορές (1/3) (Πίνακας 3.6).

Πίνακας 3.6. Συγκεντρώσεις (g/L) για το συμπυκνωμένο και αραιωμένο κατά εφτά (1/7) και τρεις (1/3) φορές απόβλητο (SSL).

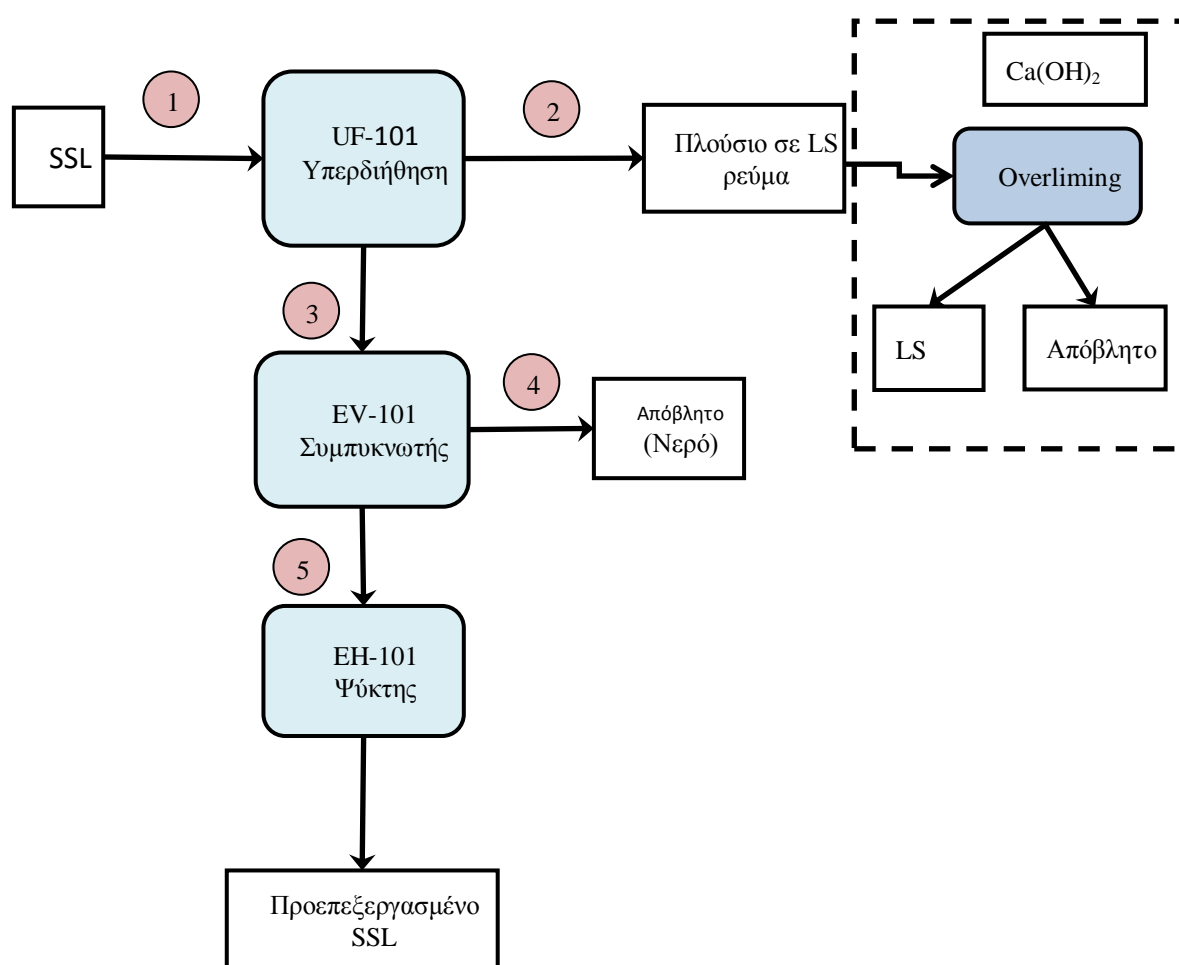
Αραίωση	1	1/7	1/3
Συνολικά σάκχαρα	176,41	25,2014	58,803
Ξυλόζη	128,08	18,297	42,693
Γαλακτόζη	21,47	3,067	7,156
Γλυκόζη	19,27	2,752	6,423
Μαννόζη	7,41	1,058	2,47
Αραβινόζη	0,18	0,025	0,06
Λιγνοσουλφονικές ουσίες	400	57,142	133,33



Σχήμα 3.15. Σχήμα ροής των βασικών διεργασιών του σταδίου παραγωγής

3.4.1 Στάδιο Α-Προεπεξεργασία

Η χρήση του αποβλήτου SSL ως υπόστρωμα για την παραγωγή ηλεκτρικού μέσω μικροβιακών ζυμώσεων απαιτεί μια σειρά διεργασιών που αποσκοπούν στην απομάκρυνση των λιγνοσουλφονικών ουσιών (LS) και την αύξηση της συγκέντρωσης των σακχάρων στο απόβλητο SSL. Για την διεργασία της απομάκρυνσης των λιγνοσουλφονικών ουσιών χρησιμοποιήθηκε υπερδιηθητής (UF-101), ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης των σακχάρων επιτεύχθηκε μέσω συμπύκνωσης του αποβλήτου (SSL) σε τριτοβάθμιο συμπυκνωτή (Σχήμα 3.16). Ο καθαρισμός του αποβλήτου (SSL) από λιγνοσουλφονικές ουσίες συμβάλει στην αύξηση της αποδοτικότητας του ηλεκτρικού οξέος κατά την διεργασία της ζύμωσης όπως είδαμε και στο προηγούμενο υποκεφάλαιο. Επίσης, μετά το φιλτράρισμα, δημιουργείται ένα ρεύμα πλούσιο σε LS το οποίο υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία με σκοπό την ανάκτησή τους ως τελικό προϊόν αγοράς (βλ. Σχήμα 3.16).



Σχήμα 3.16. Σχήμα ροής του σταδίου προεπεξεργασίας του αποβλήτου SSL.

Πίνακας 3.7. Χαρακτηριστικά των ρευμάτων που δημιουργούνται κατά την προεπεξεργασία του αποβλήτου (SSL).

Ρεύμα	V (m ³ /h)	T (°C)	Σάκχαρα (g/L)	LS (g/L)
1	44,64	85	25,2	57,142
2	11,16	85	25,2	198,56
3	33,48	85	25,2	10
4	21,95	50	0	0
5	11,52	50	73,5	29,06
6	11,52	37	73,5	29,06

3.4.1.1 Υπερδιηθητής (UF-101)

Για τον υπολογισμό του κόστους προμηθείας και εγκατάστασης του υπερδιηθητή χρειάζεται να υπολογιστεί η επιφάνεια της μεμβράνης που θα χρησιμοποιηθεί. Η επιφάνεια της μεμβράνης, καθορίζεται από τον όγκο του υγρού που διαπερνάει κάθε τετραγωνικό μέτρο της μεμβράνης. Στο σχεδιασμό της γραμμής χρησιμοποιήθηκαν μεμβράνες με δυνατότητα συγκράτησης ουσιών μοριακού βάρους 800 Dalton, δεδομένα για την απόδοση των οποίων αντλήθηκαν από την εταιρεία Avocom. Τέτοιου τύπου μεμβράνες έχουν ρυθμό διαπερατότητας 25 L/m²h (Blanch and Clark (1997)). Ο υπερδιηθητής είναι αναγκαίο να τοποθετηθεί πριν την συμπίκνωση του αποβλήτου ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση των στερεών που θα παραμένουν στην μεμβράνη και θα επιβαρύνουν την λειτουργία της. Η ροή του αποβλήτου προς παραγωγή ηλεκτρικού οξέος είναι 44,64 m³/h εκ των οποίων τα 33,48 m³/h διηθούνται, επομένως προκύπτει ότι χρειάζονται 1400 m² μεμβράνης. Επίσης πρέπει να επισημανθεί ότι με την διαδικασία της υπερδιήθησης επιτυγχάνεται και αποστείρωση αφού η διάμετρος των πόρων της μεμβράνης δεν επιτρέπει το πέρασμα μικροοργανισμών.

Πίνακας 3.8. Συγκεντρώσεις λιγνοσουλφονικών ουσιών πριν και μετά την διαδικασία της υπερδιήθησης.

	Ογκομετρική παροχή Αποβλήτου (m ³ /h)	Συγκεντρώσεις λιγνοσουλφονικών ουσιών (g/L)
Πριν το φίλτρο	44,640	57,142
Μετά το φίλτρο	33,480	10
Υπόλειμμα φίλτρου	11,160	198,56

3.4.1.2 Εξατμιστήρας (EV-101)

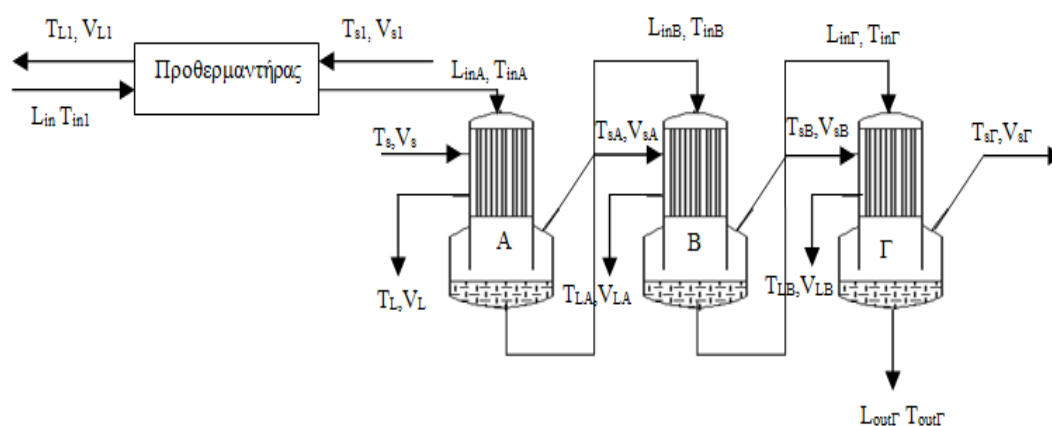
Ο υπολογισμός της μονάδας συμπύκνωσης απαιτεί να υπολογιστεί η επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας του συστήματος. Η επιφάνεια αυτή εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα όρια λειτουργίας του συμπυκνωτή καθώς και από το ποσοστό συμπύκνωσης που πρέπει να πετύχει. Στην συγκεκριμένη περίπτωση επειδή το υγρό συμπύκνωμα θα κατευθυνθεί απευθείας στην ζύμωση πρέπει να υπολογιστεί και ο όγκος του εμβολίου καθώς και ο όγκος της πηγής αζώτου που θα προστεθούν ξεχωριστά στην ζύμωση (ο οποίος αποτελεί το 20% του όγκου ζύμωσης – 10% ο όγκος του εμβολίου και 10% ο όγκος της πηγής αζώτου). Επομένως για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση σακχάρων 58,8 g/L (συγκέντρωση σακχάρων μέσα στον αντιδραστήρα την χρονική στιγμή μηδέν), θα πρέπει το συμπύκνωμα να έχει αρχική συγκέντρωση σακχάρων 73,5 g/L. Για τον σκοπό αυτό πρέπει να εξατμίζονται συνολικά $L_g=6,1$ kg/s.

Για την διεργασία συμπύκνωσης θα χρησιμοποιηθεί αρχικά προθερμαντήρας στον οποίο το κυρίως ρεύμα του αποβλήτου $L_{in}=9,3$ kg/s από τους $T_{in1}=85$ °C θερμαίνεται σε θερμοκρασία $T_{inA}=100$ °C. Η αρχική αυτή θερμοκρασία T_{in1} είναι η θερμοκρασία που βγαίνει το φιλτραρισμένο υγρό από την διεργασία της υπερδιήθησης. Η αύξηση της θερμοκρασίας γίνεται μέσω εναλλαγής θερμότητας με ατμό θερμοκρασίας $T_{S1}=160$ °C και παροχής $V_{s1}=0,085$ kg/s όπως υπολογίζεται από την Εξίσωση 3.1 και η επιφάνεια εναλλαγής του προθερμαντήρα υπολογίζεται από την Εξίσωση 3.2 ως $A=4,31$ m². Στην συνέχεια η εξάτμιση των $L_g=6,1$ kg/s θα λάβει χώρα σε συμπυκνωτή τριών βαθμίδων. Η πρώτη βαθμίδα λειτουργεί σε πίεση $P_A=101,4$ kPa όπου η θερμοκρασία εξάτμισης του νερού είναι $T_{νερού}=100$ °C και επιτυγχάνεται ρυθμός εξάτμισης $V_A=2,11$ kg/s. Για την εξάτμιση χρησιμοποιείται ατμός θερμοκρασίας $T_s=160$ °C και το θερμικό φορτίο υπολογίζεται από την Εξίσωση 3.1 σε $Q=4746$ kW. Από την Εξίσωση 3.2 υπολογίζεται η επιφάνεια εναλλαγής ίση με $A_A=38,08$ m². Η παροχή του ατμού υπολογίζεται από την Εξίσωση 3.1 ως $V_{sA}=2,28$ kg/s. Η δεύτερη βαθμίδα λειτουργεί σε θερμοκρασία $T_B=70$ °C και πίεση $P_B=31,2$ kPa και εξατμίζονται $V_B=2,2$ kg/s, ενώ ως θερμικό μέσω χρησιμοποιείται ο ατμός που προκύπτει από την πρώτη. Στην δεύτερη βαθμίδα το εμβαδόν εναλλαγής θερμότητας υπολογίζεται στα $A_B=78,62$ m². Η τρίτη βαθμίδα λειτουργεί σε θερμοκρασία $T_2=50$ °C και πίεση $P_3=12,3$ kPa, για την εξάτμιση χρησιμοποιεί τον ατμό που προκύπτει από την δεύτερη βαθμίδα. Στην τρίτη βαθμίδα το εμβαδόν εναλλαγής θερμότητας

υπολογίζεται στα $A_{\Gamma}= 116,43 \text{ m}^2$ και εξατμίζονται $V_{\Gamma}=1,95 \text{ kg/s}$. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του συμπυκνωτή φαίνονται στον Πίνακα 3.9.

Πίνακας 3.9. Χαρακτηριστικά λειτουργίας συμπυκνωτή τριών βαθμίδων

Φυσικές ιδιότητες	Μονάδες	Βαθμίδα Α	Βαθμίδα Β	Βαθμίδα Γ
Θερμοκρασία βρασμού διαλύματος	T (°C)	100	70	50
Παροχή υγρού διαλύματος είσοδος	L (kg/s)	9,3	7,19	5,16
Παροχή υγρού διαλύματος έξοδος	L (kg/s)	7,19	5,16	3,2
Ρυθμός εξατμίσης	V (kg/s)	2,11	2,2	1,95
Παροχή ατμού	V_s (kg/s)	2,28	2,09	2
Θερμικό φορτίο	Q (kW)	4746	4717	4657
Συν. Συντελ. μεταφοράς θερμότητας	U (kW/m ² °C)	2	2	2
Επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας	A (m ²)	39,56	78,62	116,43
Πίεση λειτουργίας	P (kPa)	101,4	31,2	12,3
Ενθαλπία εξατμίσης διαλύτη	ΔH (kJ/kg)	2248	2326	2378
Ενθαλπία υγροποίησης ατμού	ΔH (kJ/kg)	2080	2248	2326
Ειδική Πυκνότητα διαλύματος	ρ (m ³ /kg)	1000	1000	1000
Ειδική Πυκνότητα ατμού	ρ (m ³ /kg)	0,307	1,67	5,04
Θερμοκρασία ατμού	T (°C)	160	100	70



Σχήμα 3.17. Απεικόνιση συμπυκνωτή καθώς και των ρευμάτων εισόδου αποβλήτου και ατμού λειτουργίας και εξόδου συμπυκνώματος, ατμού και υγρού λειτουργίας.

Προθερμαντήρας: L_{in1} παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{in1} θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{S1} θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_{S1} παροχή ατμού εισόδου, T_L θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου

Βαθμίδα Α: L_{inA} παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{inA} θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_S θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_S παροχή ατμού εισόδου, T_L θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου, V_L παροχή συμπυκνώματος εξόδου

Βαθμίδα Β: L_{inB} παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{inB} θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{SA} θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_{SA} παροχή ατμού εισόδου, T_{LA} θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου, V_{LA} παροχή συμπυκνώματος εξόδου

Βαθμίδα Γ: $L_{inΓ}$ παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, $T_{inΓ}$ θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{SB} θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_{SB} παροχή ατμού εισόδου, T_{LB} θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου, V_{LB} παροχή συμπυκνώματος εξόδου, $L_{outΓ}$ παροχή κύριου ρεύματος υγρού εξόδου, $T_{outΓ}$ θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εξόδου.

$$Q = \rho * F_s * \Delta H_T$$

Εξίσωση 3.1

Q = φορτίο εναλλαγής (kW)

ΔH_T = λανθάνουσα θερμότητα υγροποίησης (kJ/kg) ($\Delta H_T = 2508 - 2.596 * T$)

F_s = ογκομετρική παροχή ατμού (m³/h)

ρ = πυκνότητα ρευστού (kg/m³)

$$Q = AU \Delta T_{lm} \quad (\text{kW})$$

Εξίσωση 3.2

A = επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας (m²)

U = συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας (kW/m² °C)

ΔT_{lm} = μέση λογαριθμική διάφορα θερμοκρασίας (°C) βλ. Εξίσωση 3.4

$$Q = F_1 * \rho * c_p * \Delta T \quad (\text{kW})$$

Εξίσωση 3.3

F_1 = ογκομετρική παροχή (m³/h)

ρ = πυκνότητα ρευστού (kg/m³)

C_p = θερμοχωρητικότητα του ρευστού (kJ/kg °C)

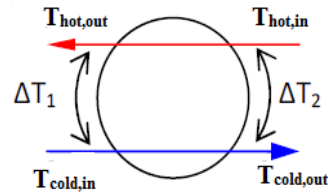
$$\Delta T_{lm} = \frac{\Delta T_1 - \Delta T_2}{\ln \frac{\Delta T_1}{\Delta T_2}}$$

Εξίσωση 3.4

ΔT_{lm} = μέση λογαριθμική διάφορα θερμοκρασίας

$$\Delta T_1 = T_{hot,out} - T_{cold,in}$$

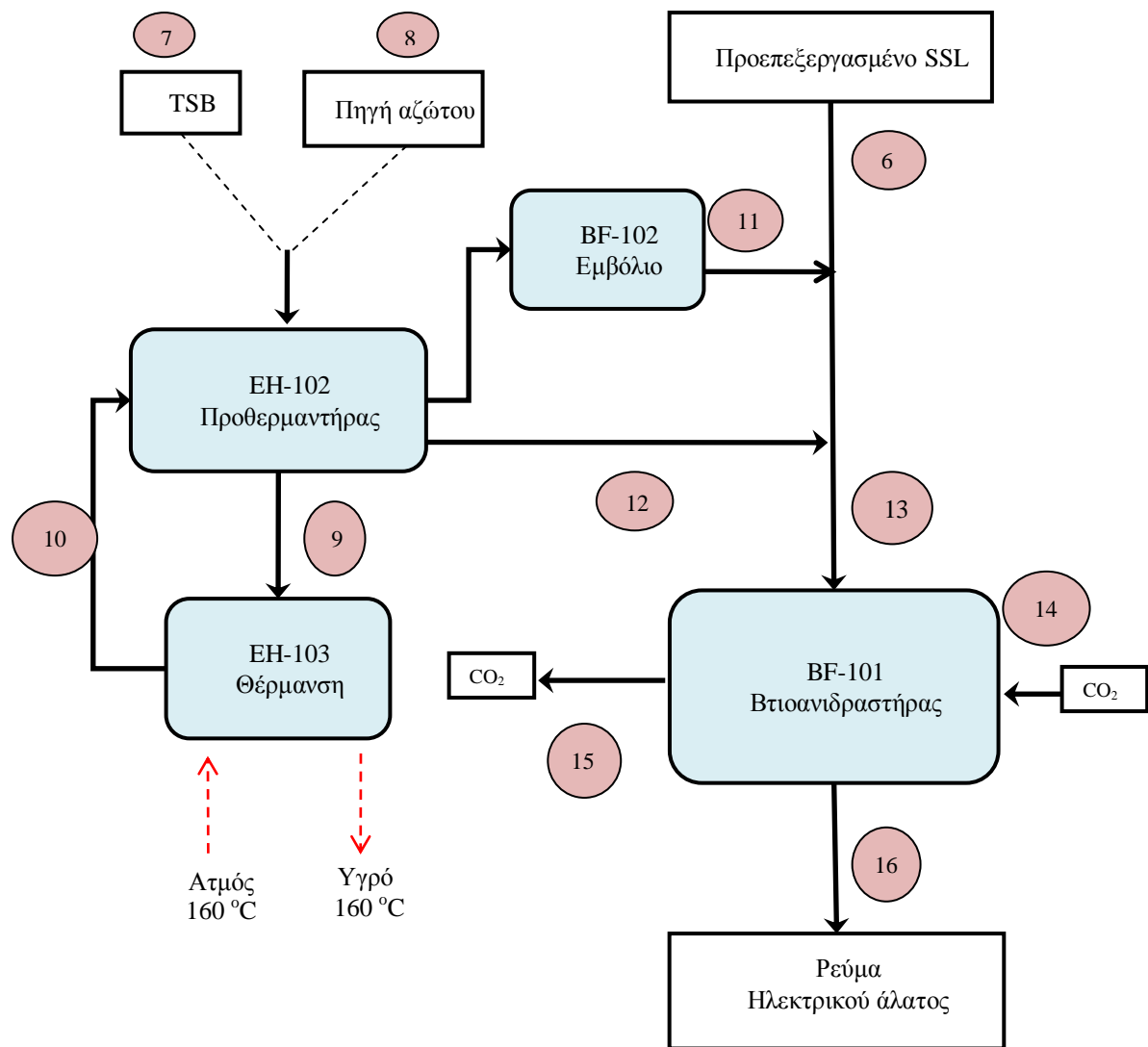
$$\Delta T_2 = T_{hot,in} - T_{cold,out}$$



Το σύστημα τριών εξατμιστήρων ακολουθεί εναλλάκτης θερμότητας (EH-101) με επιφάνεια εναλλαγής $A=17,9 \text{ m}^2$ για την μείωση της θερμοκρασίας στην θερμοκρασία ζύμωσης ($37 \text{ }^\circ\text{C}$). Αυτό επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας ψυκτικό νερό παροχής $L_{wc}=20,17 \text{ kg/s}$.

3.4.2 Στάδιο B-Ζύμωση

Το στάδιο B της ζύμωσης αποτελεί το στάδιο παραγωγής του ηλεκτρικού οξέος. Περιλαμβάνει την διεργασία παρασκευής εμβολίου, την διεργασία της ζύμωσης και την αποστείρωση του θρεπτικού μέσου που χρησιμοποιείται για την παρασκευή του εμβολίου καθώς και του πλούσιου σε πηγές αζώτου ρεύματος. Για τις αποστειρώσεις χρησιμοποιούνται 2 εναλλάκτες θερμότητας (EH-102 και EH-103) ενώ για την παρασκευή του εμβολίου καθώς και για τη διεργασία της ζύμωσης χρησιμοποιήθηκαν βιοαντιδραστήρες ασυνεχούς λειτουργίας (Σχήμα 3.18).



Σχήμα 3.18. Σχήμα ροής του σταδίου ζύμωσης.

Πίνακας 3.10. Χαρακτηριστικά των ρευμάτων που δημιουργούνται κατά το στάδιο της ζύμωσης προς παραγωγή ηλεκτρικού οξέος.

Ρεύμα	V (m ³ /h)	T (°C)
6	11,52	37
7	1,435	20
8	1,435	20
9	1,435	123
10	1,435	140
11	1,435	37
12	1,435	37
13	14,35	37
14	0,300	-50
15	0,150	37
16	14,35	37

3.4.2.1 Συνθήκες ζύμωσης και στοιχειομετρία αντίδρασης

Η διεργασία της ζύμωσης λαμβάνει χώρα σε βιομηχανικούς βιοαντιδραστήρες υπό αναερόβιες συνθήκες σε θερμοκρασία 37 °C. Ο χρόνος της διεργασίας είναι 60 h, διεξάγεται υπό αναερόβιες συνθήκες και απαιτεί παροχή διοξειδίου του άνθρακα. Στην συγκεκριμένη διεργασία η απόδοση της ζύμωσης ως προς την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος είναι 0,60 g/g σύμφωνα και με τα πειραματικά αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στην παράγραφο 3.

Από τα σάκχαρα που περιέχονται στο υπόστρωμα ο μικροοργανισμός δεν μπορεί να μεταβολίσει την γαλακτόζη που αντιστοιχεί στο 12,17 % της ποσότητας των συνολικών σακχάρων.

Πίνακας 3.11. Αναλογία των σακχάρων του υποστρώματος και αναλογία σακχάρων στο σύνολο των καταναλωθέντων σακχάρων.

	Αναλογία των σακχάρων στο σύνολο %	Αναλογία των σακχάρων που καταναλώνονται %
Συνολικά σάκχαρα	100	100
Ξυλόζη	72,60	82,66
Γαλακτόζη	12,17	0
Γλυκόζη	10,92	12,43
Μαννόζη	4,20	4,78
Αραβινόζη	0,1	0,11
Μη καταναλωθέν	0	0

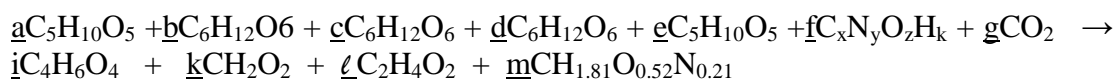
Το μεγαλύτερο ποσοστό των σακχάρων που καταναλώνονται μετατρέπεται σε ηλεκτρικό οξύ ενώ σε μικρότερες ποσότητες παράγονται τα παραπροϊόντα οξικό οξύ και μυρμηκικό οξύ. Επίσης ένα μέρος των σακχάρων καταναλώνεται προς παραγωγή βιομάζας καθώς και για την συντήρηση του μικροοργανισμού. Οι συγκεντρώσεις των προϊόντων φαίνονται στον Πίνακα 3.12.

Πίνακας 3.12. Συγκεντρώσεις καταναλωθέντων σακχάρων και συγκεντρώσεις μεταβολιτών που παράγονται από τη διεργασία της ζύμωσης.

Καταναλώνονται				Παράγονται			
	mol		g/L		mol		g/L
Ξυλόζη	a	C ₅ H ₁₀ O ₅	42,68	Ηλεκτρικό οξύ	h	C ₄ H ₆ O ₄	27,68
Γαλακτόζη	b	C ₆ H ₁₂ O ₆	0	Μυρμηκικό οξύ	i	CH ₂ O ₂	7,86
Γλυκόζη	c	C ₆ H ₁₂ O ₆	6,42	Οξικό οξύ	k	C ₂ H ₄ O ₂	10,75
Μανόζη	d	C ₆ H ₁₂ O ₆	2,49	Βιομάζα	l	CH _{1,81} O _{0,52} N _{0,21}	3
Αραβινόζη	e	C ₅ H ₁₀ O ₅	0,06				
Yeast extract	f	C _x N _y O _z H _i	2,5				
Διοξειδίο άνθρακα	g	CO ₂					

Η ακόλουθη στοιχειομετρική αντίδραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό των ισοζυγίων μάζας :

Στοιχειομετρική αντίδραση



Σύμφωνα με αυτή την αντίδραση προκύπτουν τα ισοζύγια μάζας των στοιχείων που την απαρτίζουν (Πίνακας 3.13).

Πίνακας 3.13. Ισοζύγια μάζας των στοιχείων που συμμετάσχουν στην στοιχειομετρική αντίδραση.

	Ισοζύγιο
Άνθρακα	5a+6b+6c+6d+5e+fx+g=4h+i+2k+l g=h
Υδρογόνου	10a+12b+12c+12d+10e+kf=6h+2i+4k+1,8l
Οξυγόνου	5a+6b+6c+6d+5e+zf+2g=4h+2i+2k+0,52l
Αζώτου	yf=0,21l
Ηλεκτρονίων	24a+24b+20c+24d+20e+f(4x+p.2z.3y)=14h+2i+8k+4,14l

Από τα δεδομένα του Πίνακα 3.14 υπολογίζονται οι στοιχειομετρικοί συντελεστές των σακχάρων και των προϊόντων (Πίνακας 3.14).

Πίνακας 3.14. Στοιχειομετρική γραμμομοριακή (mole) αναλογία των ουσιών που καταναλώνονται-παράγονται.

Καταναλώνονται				Παράγονται			
	MB (g/mol)	g/L	mol		MB (g/mol)	g/L	mol
C ₅ H ₁₀ O ₅	150	42,68	0,284	C ₄ H ₆ O ₄	118	27,68	0,236
C ₆ H ₁₂ O ₆	180	0	0				
C ₆ H ₁₂ O ₆	180	6,42	0,035	CH ₂ O ₂	46	7,86	0,171
C ₆ H ₁₂ O ₆	180	2,49	0,013				
C ₅ H ₁₀ O ₅	150	0,06	0,0004	C ₂ H ₄ O ₂	60	10,75	0,179
C _x N _y O _z H _k	12×x+14×y+16×z+k		f				
CO ₂	44		g	CH _{1,81} O _{0,52} N _{0,21}	25,07	3	0,119

Από τον Πίνακα 3.12 υπολογίζονται οι συντελεστές του yeast extract και διοξειδίου του άνθρακα. Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 1.2 και οι δύο μικροοργανισμοί καταναλώνουν 1 mol διοξειδίου του άνθρακα για 1 mol ηλεκτρικού οξέος που παράγουν, επομένως για τα 0,236 mol ηλεκτρικού οξέος της στοιχειομετρικής εξίσωσης χρειάζονται 0,236 mol CO₂. Επομένως σε ένα λίτρο ζύμωσης το διοξειδίου του άνθρακα που χρειάζεται ο μικροοργανισμός είναι 10,38 g (CO₂= 10,38 g/L).

3.4.2.2 Επιλογή Βιοαντιδραστήρα (BF-101)

Οι βιοαντιδραστήρες που χρησιμοποιήθηκαν στην διεργασία της ζύμωσης είναι ασυνεχούς λειτουργίας. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν το σχεδιασμό τους είναι ο χρόνος της διάρκειας ενός ολόκληρου κύκλου ζύμωσης, ο οποίος περιλαμβάνει την πλήρωση του βιοαντιδραστήρα, την ζύμωση, το άδειασμα του και τον καθαρισμό του. Για να επιτευχθεί συνεχής λειτουργία στην γραμμή παραγωγής θα χρειαστούν περισσότεροι από έναν βιοαντιδραστήρα. Από την Εξίσωση 3.5 υπολογίζεται ο αριθμός βιοαντιδραστήρων που χρειάζεται ώστε να επιτευχθεί διεργασία συνεχούς λειτουργίας. Ο ελάχιστος αριθμός των βιοαντιδραστήρων που χρειάζονται ώστε να υπάρχει συνεχής λειτουργία είναι οι τρεις και επιτυγχάνεται μόνο όταν και οι τρεις χρόνοι του κύκλου ζύμωσης είναι ίσοι (χρόνος πλήρωσης = χρόνος ζύμωσης = χρόνος αδειάσματος & καθαρισμού).

Εξίσωση 3.5

$$N * t_u = t_u + t_l + t_f$$

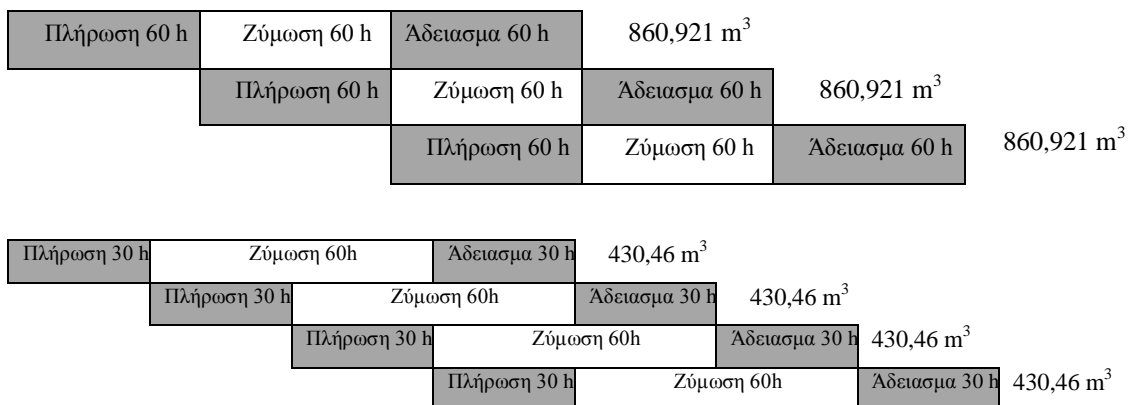
N =αριθμός βιοαντιδραστήρων

t_l = χρόνος πλήρωσης

t_f =χρόνος ζύμωση

t_u = χρόνος αδειάσματος και καθαρισμού

Στην συγκεκριμένη γραμμή παραγωγής, αν οι χρόνοι που απαρτίζουν τον κύκλο ζύμωσης είναι ίσοι (60h) τότε χρειάζονται βιοαντιδραστήρες με ενεργό όγκο $V = 860,92 \text{ m}^3$ και ολικό όγκο $V_{ολικός}=1076,15 \text{ m}^3$ (Σχήμα 3.19). Με τα σημερινά δεδομένα, οι βιοαντιδραστήρες που κατασκευάζονται έχουν μέγιστο ολικό όγκο $V_{ολικός}=750 \text{ m}^3$. Επομένως είναι αναγκαίο να χρησιμοποιηθούν περισσότεροι από τρεις βιοαντιδραστήρες. Για τέσσερις βιοαντιδραστήρες και για χρόνο πλήρωσης ίσο με τον συνολικό χρόνο αδειάσματος και καθαρισμού 30h (χρόνος αδειάσματος 29 h και χρόνος καθαρισμού 1 h) απαιτούνται βιοαντιδραστήρες με ενεργό όγκο $V_{ενεργός}=430,46 \text{ m}^3$ και ολικό $V_{ολικός}=540 \text{ m}^3$. Αυτού του μεγέθους βιοαντιδραστήρες είναι εφικτό να κατασκευαστούν, συνεπώς για την διεργασία της ζύμωσης χρειάζονται τέσσερις βιοαντιδραστήρες. Με αυτά τα δεδομένα ο συνολικός χρόνος που χρειάζεται για να γίνει ένας κύκλος ζύμωσης είναι 120 ώρες, δεδομένου ότι η μονάδα λειτουργεί 330 d επί 24 h/d δηλαδή 7920 h/y καταλήγουμε να έχουμε 66 κύκλους ζύμωσης τον χρόνο, όπου ο κάθε κύκλος επεξεργάζεται 1722 m^3 αποβλήτου (SSL).



Σχήμα 3.19. Απεικόνιση της διαχείρισης του αποβλήτου από τρεις και τέσσερις βιοαντιδραστήρες των $860,921 \text{ m}^3$ και $430,46 \text{ m}^3$ ενεργού όγκου αντίστοιχα.

3.4.2.3 *Ενέργεια κατανάλωσης βιοαντιδραστήρα*

Εκτιμάται ότι η ισχύς που χρειάζεται ο βιοαντιδραστήρας για την ανάδευση του ενεργού όγκου ζύμωσης κυμαίνεται από 1 έως 3 kW/m³ ανάλογα την ένταση της ανάδευσης. Η συγκεκριμένη ζύμωση θεωρείται χαμηλής ανάδευσης και επομένως χρησιμοποιείται η τιμή 1 kW/m³. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.19, σε κάθε κύκλο ζύμωσης αναδεύονται ταυτόχρονα δύο βιοαντιδραστήρες και συνεπώς χρειάζονται 860,8 kW. Σε αυτή την ισχύ πρέπει να συνυπολογιστεί και η επιπλέον ισχύς που χάνεται λόγω απωλειών, επομένως η τελική ισχύς που απαιτείται εκτιμάται σε 1147 kW εάν θεωρήσουμε μία απόδοση της τάξης του 75 %.

3.4.2.4 *Παροχή διοξειδίου του άνθρακα*

Η παροχή του διοξειδίου θα πρέπει να καλύπτει τις ανάγκες της ζύμωσης για παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Στην ζύμωση υπολογίστηκε ότι χρειάζονται συνολικά 10,38 g CO₂/L (Κεφάλαιο 3.4.2.1) τα οποία τροφοδοτούνται στην ζύμωση μέση σε 60 h επομένως προκύπτει ότι η παροχή του CO₂ θα είναι 0,173 g/h και δεδομένου ότι η διαλυτότητα του CO₂ στους 37 °C είναι 1,2 g/L θεωρείται ότι θα διαλυτοποιείται όλη η τροφοδοτούμενη ποσότητα του CO₂. Για ενεργό όγκο ζύμωσης 860,8 m³ που αντιστοιχεί σε ενεργό όγκο δύο βιοαντιδραστήρων η παροχή υπολογίζεται ως $V_{CO_2} = 150 \text{ kg/h}$, για να διασφαλιστεί ότι η ποσότητα του CO₂ θα καλύπτει τις ανάγκες του μικροοργανισμού σε κάθε φάση του κύκλου ζύμωσης θα χρησιμοποιηθεί η διπλάσια παροχή $V_{CO_2} = 300 \text{ kg/h}$.

3.4.2.5 *Επιλογή μικροοργανισμού*

Όπως έχει προαναφερθεί, υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών που μπορούν να μεταβολίσουν διάφορα σάκχαρα για παραγωγή ηλεκτρικού οξέος. Για τον σχεδιασμό μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος από ζυμώσεις αποβλήτων απαιτείται η επιλογή ενός μικροοργανισμού που να έχει την καλύτερη απόδοση όταν χρησιμοποιεί το εξεταζόμενο απόβλητο ως υπόστρωμα. Το απόβλητο (SSL) που καλείται να διαχειριστεί η μονάδα παραγωγής έχει συγκεκριμένη σύνθεση μονοσακχαριτών λόγω της υδρόλυσης της ημικυταρίνης κατά την διάρκεια της χώνευσης του ξύλου. Αποτελείται από πέντε διαφορετικά σάκχαρα, που έχουν είτε

πέντε (ξυλόζη, αραβινόζη) είτε έξι (γλυκόζη, γαλακτόζη, μανόζη) άτομα άνθρακα. Είναι φανερό ότι για το συγκεκριμένο απόβλητο πρέπει να γίνει επιλογή ενός μικροοργανισμού που να έχει την ικανότητα να καταναλώνει σάκχαρα με έξι αλλά και με πέντε άτομα άνθρακα και κυρίως ξυλόζη που βρίσκεται σε αρκετά μεγαλύτερα ποσοστά (>70%) σε σχέση με τους άλλους μονοσακχαρίτες. Από βιβλιογραφικές αναφορές, μικροοργανισμοί που έχουν την ικανότητα αυτή όπως επίσης και μεγάλη απόδοση στη παραγωγή ηλεκτρικού οξέος είναι οι *Basfia succiniciproducens* και *Actinobacillus succinogenes*.

Από τα πειράματα ζυμώσεων που πραγματοποιήθηκαν με τους δύο μικροοργανισμούς διαφορές ως προς την απόδοσή για την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος έγιναν αντιληπτές. Συγκεκριμένα, ο *B.succiniciproducens* φαίνεται να έχει κατά 15% μεγαλύτερη παραγωγή ηλεκτρικού οξέος σε σχέση με τον *A.succinogenes* σε πειράματα συνθετικών σακχάρων, ενώ σε πειράματα με υπόστρωμα από επεξεργασμένο απόβλητο οι αποδόσεις τους είναι σχεδόν ίδιες. Επίσης, ο *B.succiniciproducens* εκτός από τα παραπροϊόντα που παράγει και ο *A.succinogenes* (οξικό και μυρμηκικό οξύ) παράγει επιπλέον και γαλακτικό οξύ, μια ουσία η οποία έχει παρόμοιο σημείο ζέσεως με αυτό του ηλεκτρικού οξέος, και οπότε η παρουσία του θα έχει αρνητικό αντίκτυπο στο κόστος ανάκτησης του ηλεκτρικού. Συνεπώς επιλέγεται ο *A.succinogenes* ως ο μικροοργανισμός που θα χρησιμοποιηθεί στο στάδιο της ζύμωσης.

3.4.2.6 Επιλογή βιοαντιδραστήρα εμβολίου (BF-102)

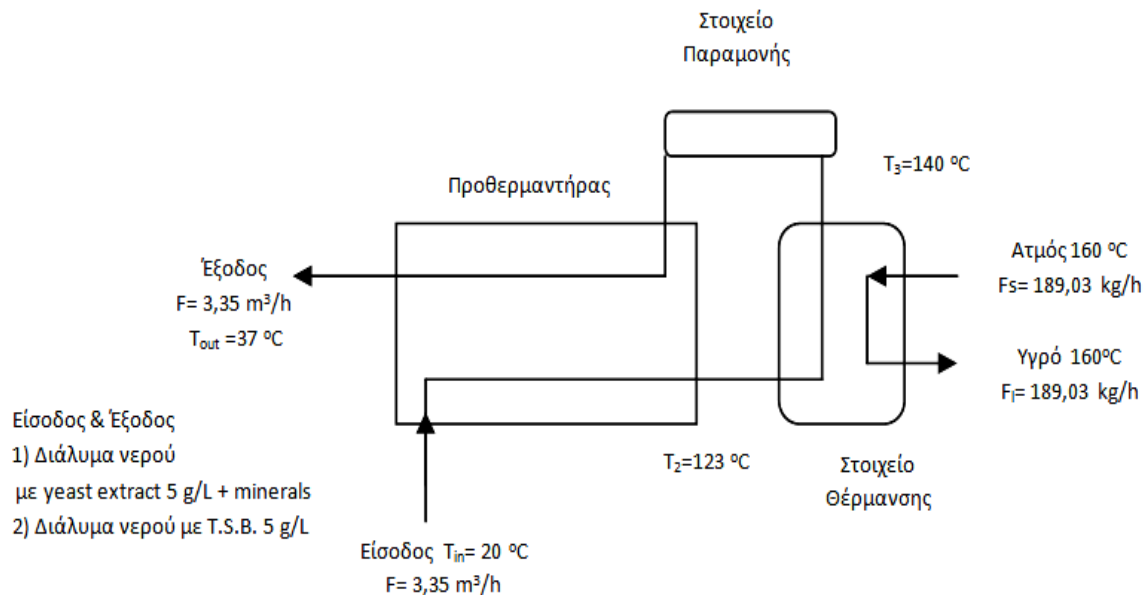
Ο όγκος του εμβολίου που χρειάζεται η ζύμωση αποτελεί το 10% του ενεργού όγκου ζύμωσης, δημιουργείται σε βιοαντιδραστήρες με συνθήκες λειτουργίας παρόμοιες με αυτές της ζύμωσης (χωρίς παροχή διοξειδίου) και ο χρόνος ανάπτυξης του εμβολίου είναι 14 ώρες. Στη συγκεκριμένη γραμμή παραγωγής το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ των ζυμώσεων είναι 30 h, επομένως το εμβόλιο δύναται να αναπτύσσεται μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα. Οι βιοαντιδραστήρες για την παρασκευή του εμβολίου θα έχουν ολικό όγκο $V_{ολικός}=54 \text{ m}^3$ (10% του ολικού όγκου των βιοαντιδραστήρων ζύμωσης). Αντίστοιχα, θα χρειαστεί να κατέβουμε και άλλο επίπεδο όγκου (scale down) ώστε να παράξουμε τα εμβόλια των παραπάνω αντιδραστήρων. Και αυτοί οι αντιδραστήρες παρασκευής εμβολίου, θα έχουν όγκο το 10% του όγκου του προηγούμενου επιπέδου και έτσι θα είναι ίσοι με $5,4 \text{ m}^3$. Για μία

πρώτη εκτίμηση του κόστους του εργοστασίου δεν θα χρειαστεί να κατέβουμε και άλλο σε όγκο και να πάμε σε πιλοτικές και εργαστηριακές κλίμακες το κόστος των οποίων θα είναι αμελητέο σε σχέση με τους αρχικούς ζυμωτήρες.

3.4.2.7 Αποστείρωση (HE-102)

Η διεργασία της αποστείρωσης χωρίζεται στα εξής στάδια :

- I. Προθέρμανση
- II. Θέρμανση
- III. Παραμονή
- IV. Ψύξη



Σχήμα 3.20. Απεικόνιση της διεργασία αποστείρωσης στην οποία ξεχωρίζουν τα στάδιά της.

Κατά την διεργασία αυτή αποστειρώνεται όγκος υγρού ίσος με το 20% του όγκου ζύμωσης. Το 50% του προαναφερθέντος όγκου περιέχει την πηγή αζώτου και μια ποσότητα ιχνοστοιχείων που χρειάζονται για την ζύμωση ενώ το υπόλοιπο 50% αποτελεί τον όγκο του εμβολίου.

Η ογκομετρική παροχή των υγρών στην αποστείρωση είναι $F = 2,87\text{ m}^3/\text{h}$. Το υγρό κατά την είσοδό του στο στάδιο της προθέρμανσης έχει θερμοκρασία $T_{in} = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$

και εναλλάσσει θερμότητα με το θερμό ρεύμα του αποβλήτου, το οποίο εξέρχεται από το στάδιο της θέρμανσης με θερμοκρασία $T_3=140\text{ }^\circ\text{C}$.

Με την εναλλαγή αυτή το ρεύμα εισόδου αυξάνει την θερμοκρασία του από $T_1=20\text{ }^\circ\text{C}$ σε $T_2=123\text{ }^\circ\text{C}$, ενώ στο θερμό ρεύμα η θερμοκρασία μειώνεται από $T_3=140\text{ }^\circ\text{C}$ σε $T_4=37\text{ }^\circ\text{C}$. Το ποσό θερμότητας που απορρόφησε το ρεύμα εισόδου από το θερμό ρεύμα ισούται με 342,4 kW και δίνεται από την Εξίσωση 3.1.

Η θερμότητα που χρειάζεται για την αύξηση της θερμοκρασία είναι ίση με την θερμότητα που εναλλάσσουν τα δύο ρεύματα και δίνεται από την Εξίσωση 3.2. Η μέση λογαριθμική διάφορα θερμοκρασίας που έχουν τα δύο αυτά ρεύμα είναι $\Delta T_{LM}=17\text{ }^\circ\text{C}$ και δίνεται από την Εξίσωση 3.4. Από την Εξίσωση 3.2 υπολογίζεται η επιφάνεια εναλλαγής $A=20,14\text{ m}^2$.

Στο δεύτερο στάδιο η θερμοκρασία του υγρού στην είσοδό του είναι $T_2=123\text{ }^\circ\text{C}$ και στην έξοδο είναι $T_3=140\text{ }^\circ\text{C}$. Αυτή η αύξηση της θερμοκρασίας συμβαίνει λόγω εναλλαγής θερμότητας με ρεύμα ατμού. Ο ατμός σε αυτό το στάδιο έχει θερμοκρασία $T_{\text{ατμού}}=160\text{ }^\circ\text{C}$. Το θερμικό φορτίο που εναλλάσσεται δίνεται από την Εξίσωση 3.3 και είναι 56,5 kW και η επιφάνεια εναλλαγής σύμφωνα με την Εξίσωση 3.2 είναι $A=2,04\text{ m}^2$. Η παροχή ατμού υπολογίζεται από την Εξίσωση 3.1 και είναι ίση με $F_s=97,2\text{ kg/h}$.

Το τρίτο στάδιο της αποστείρωσης είναι το στάδιο της παραμονής, κατά το οποίο το προς αποστείρωση υλικό παραμένει για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα σε θερμοκρασία αποστείρωσης. Στο στάδιο αυτό θα υπολογιστεί το μήκος των σωληνώσεων που το αποτελούν. Η αποστείρωση του υγρού λαμβάνει χώρα στην θερμοκρασία των $T_3=140\text{ }^\circ\text{C}$ για χρονικό διάστημα $t_{\text{παραμονής}}=20\text{ sec}$.

Με δεδομένα το κινηματικό ιξώδες $\mu=1,13\text{ Cp}$, την πυκνότητα $\rho=1000\text{ kg/m}^3$ και την ογκομετρική παροχή $F=2,87\text{ m}^3/\text{h}$ ($0,0008\text{ m}^3/\text{s}$), υπολογίζεται η ιδανική διάμετρος των σωληνώσεων μέσω του Σχήματος 3.21 για τυρβώδη ροή εσωτερικά των σωληνώσεων. Η διάμετρος αυτή είναι ίση με $D_{\text{ιδανικό}}=0,015\text{ m}$. Με δεδομένη την διάμετρο του σωλήνα και την παροχή από την Εξίσωση 3.6 υπολογίζεται η ταχύτητα του ρευστού στο εσωτερικό του ίση με $u=4,51\text{ m/s}$ και στην συνέχεια χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 3.7 υπολογίζεται το μήκος του σωλήνα $L_{\text{σωλήνα}}=90,2\text{ m}$.

$$u = \frac{F_s}{\left(\frac{\pi \times d_{tube}^2}{4}\right)} \quad (\text{m/s})$$

Εξίσωση 3.6

u = ταχύτητα ρευστού στο εσωτερικό σωληνώσεων (m/s)

d = διάμετρος σωλήνα (m)

F_s = ογκομετρική παροχή (m³/s)

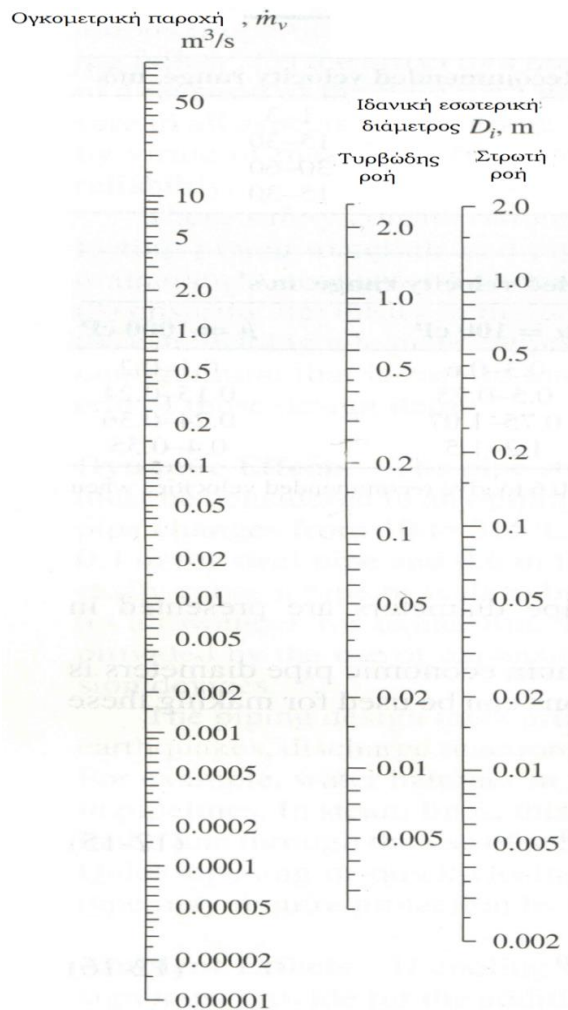
$$t_{residence} = \frac{L_{tube}}{u} \quad (\text{s})$$

Εξίσωση 3.7

$T_{residence}$ = χρόνος παραμονής (s)

$L_{σωλήνα}$ = μήκος σωλήνα (m)

Το τέταρτο στάδιο της αποστείρωσης περιλαμβάνει την ψύξη του υγρού μέχρι θερμοκρασίας ζύμωσης (37 °C). Στην συγκεκριμένη περίπτωση αυτό επιτυγχάνεται στον προθερμαντήρα, στον οποίο το προερχόμενο από την αποστείρωση υγρό ψύχεται χρησιμοποιώντας ως ψυκτικό μέσω φρέσκο υγρό προς αποστείρωση. Η ισχύς που χρειάζεται να δώσουμε για την ψύξη του υγρού είναι ίδια με την ισχύ που χρειάζεται για να θερμάνουμε φρέσκο αζωτούχο διάλυμα από τους 20 °C στους 123 °C το οποίο υπολογίστηκε προηγουμένως.

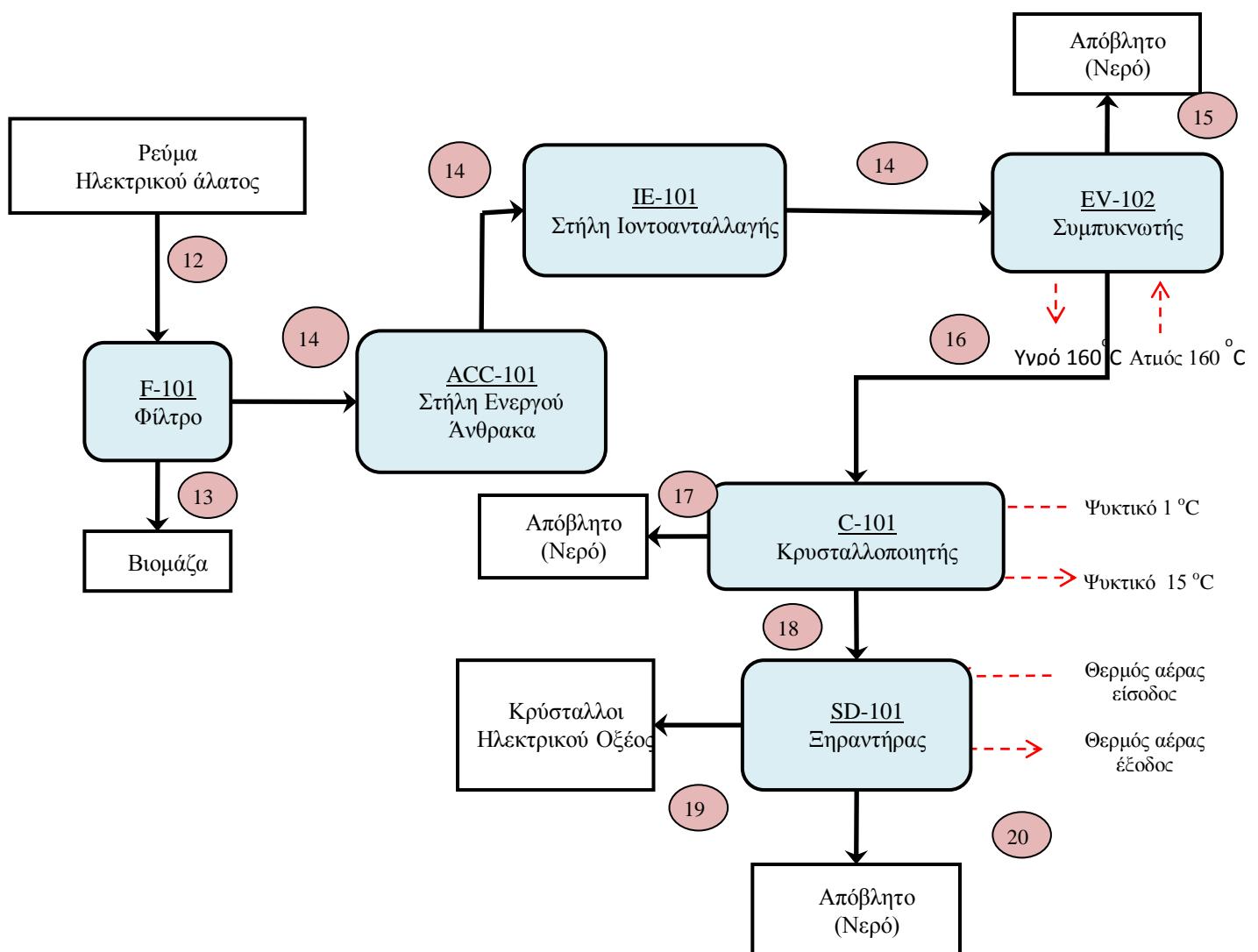


Σχήμα 3.21. Γράφημα για τον προσδιορισμό της κατάλληλης διαμέτρου σωλήνα ως συνάρτηση της ογκομετρική παροχής και του είδους της ροής (M.S. Peters, K.D. Timmerhaus, R.E. West, Plant Design and Economics for Chemical Engineers, 1993).

3.4.3 Στάδιο Γ- Ανάκτηση και καθαρισμός

Μετά τη διεργασία της ζύμωσης είναι απαραίτητη μία σειρά διεργασιών που έχουν ως σκοπό την ανάκτηση και τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος από το διάλυμα της ζύμωσης (Σχήμα 3.22). Με το πέρας της αντίδρασης και της παραγωγής βιο-ηλεκτρικού οξέος, το διάλυμα που εξέρχεται από τον αντιδραστήρα περιέχει εκτός από το κύριο προϊόν (ηλεκτρικό οξύ), στερεά υπολείμματα (κυρίως βακτηριακά κύτταρα), παραπροϊόντα ζύμωσης (κυρίως μυρμηκικό και οξικό οξύ), υπόστρωμα που δεν καταναλώθηκε και ουσίες που δεν έλαβαν μέρος στην βιο-αντίδραση (λιγνοσουλφονικές ουσίες). Τα στοιχεία που χρησιμοποιήθηκαν για τον καθαρισμό και την ανάκτηση του ηλεκτρικού οξέος είναι σε σειρά: ένα περιστροφικό φίλτρο

τυμπάνου κενού για την απομάκρυνση της βιομάζας, μία στήλη στην οποία γίνεται ο αποχρωματισμός του διαλύματος ζύμωσης με ενεργό άνθρακα, μία στήλη που περιέχει ρητίνη που απορροφάει τα αλκαλικά μέταλλα (Na και Mg), έναν εξατμιστήρα στον οποίο διαχωρίζονται τα πιο πτητικά οργανικά οξέα (μυρμηκικό και οξικό οξύ) από το ηλεκτρικό οξύ, έναν κρυσταλλοποιητή στον οποίο γίνεται η παραγωγή κρυστάλλων του ηλεκτρικού οξέος σε συνθήκες χαμηλής θερμοκρασίας και pH και τέλος έναν ξηραντήρα ψεκασμού στον οποίο γίνεται η ξήρανση των κρυστάλλων. Οι ροές του Σχήματος 3.22 αναφέρονται στον Πίνακα 3.15 μαζί με τις θερμοκρασίες τους.



Σχήμα 3.22. Σχήμα ροής για το στάδιο του καθαρισμού και ανάκτησης προϊόντος.

Πίνακας 3.15. Χαρακτηριστικά των ρευμάτων που δημιουργούνται κατά το στάδιο της ανάκτησης του προϊόντος.

Ρεύμα	V (m ³ /h)	T (°C)	Ηλεκτρικό οξύ (g/L)
12	14,35	37	32
13	0,05	37	0
14	14,3	37	32
15	11,4	50	0
16	2,9	50	160
17	1,9	4	30
18	1	4	407
19	0,24	100	1545
20	0,760	100	0

3.4.3.1 Φίλτρο καθαρισμού βιομάζας (F-101)

Σε αυτή την διεργασία επιτυγχάνεται η απομάκρυνση της βιομάζας από το υγρό μέσω της ζύμωσης μέσω συστήματος διήθησης με φίλτρο. Το χαρακτηριστικό μέγεθος που υπολογίζεται στα συστήματα αυτά είναι το εμβαδόν του φίλτρου που χρησιμοποιείται. Το εμβαδόν αυτό, καθορίζεται από την ογκομετρική παροχή του υγρού που διαπερνάει κάθε τετραγωνικό μέτρο του φίλτρου (flux number). Στην συγκεκριμένη περίπτωση, τα φίλτρα που χρησιμοποιούνται έχουν πόρους 0,2 μm και ρυθμό διαπερατότητας 1 m³/(m²×h) (Blanch and Clark, 1997). Με την ροή μετά το στάδιο της ζύμωσης να είναι στα 1,4348 m³/h, εκ των οποίων τα 0,048 m³/h να είναι βιομάζα, υπολογίζεται ότι διαπερνούν 1,43 m³/h το φίλτρο του οποίου η επιφάνεια ανέρχεται στα A=14,3 m².

3.4.3.2 Αποχρωματισμός με ενεργό άνθρακα (ACC-101)

Για την διεργασία του αποχρωματισμού χρησιμοποιείται ενεργός άνθρακας (12.5% w/v) (C.Lin et al., 2010) για την απομάκρυνση οργανικών προσμίξεων που συμβάλουν στον χρωματισμό του διαλύματος. Ο αποχρωματισμός αποτελεί μια συνεχούς λειτουργίας διεργασία που λαμβάνει χώρα σε κάθετης ροής στήλη ενεργού άνθρακα. Οι βασικές παράμετροι σχεδιασμού ενός τέτοιου συστήματος είναι ο χρόνος επαφής και η γραμμική ταχύτητα του ρευστού οι οποίες περιγράφονται από τις Εξισώσεις 3.8 έως 3.10.

$$\text{Χρόνος επαφής (minute)} = \frac{\text{Όγκος ενεργού άνθρακα}(m^3) * 60(\text{min} / h)}{\text{Ογκομετρική παροχή}(m^3 / h)} \quad \text{Εξίσωση 3.8}$$

$$\text{Γραμμική ταχύτητα (m / h)} = \frac{\text{Ογκομετρική παροχή}(m^3 / h)}{\text{Διατομή}(m^2)} \quad \text{Εξίσωση 3.9}$$

$$\text{Διατομή}(m^2) = \frac{\pi * D^2}{4} \quad \text{Εξίσωση 3.10}$$

Η γραμμική ταχύτητα του ρευστού υπολογίζεται ίση με 12,82 m/h , ο χρόνος επαφής που χρειάζεται η διεργασία είναι 1h, επομένως το ύψος της στήλης θα είναι H=12,82 m. Δεδομένου ότι ο λόγος ύψους και διαμέτρου πρέπει να είναι περίπου 10 (H/D=10) η διάμετρος της στήλης υπολογίζεται ως 1,2 m. Τελικά καταλήγουμε σε στήλη με ενεργό όγκο V=14,5 m³ και ολικού V_{total}=18,125 m³.

3.4.3.3 Στήλη ιοντοανταλλαγής (IE-101)

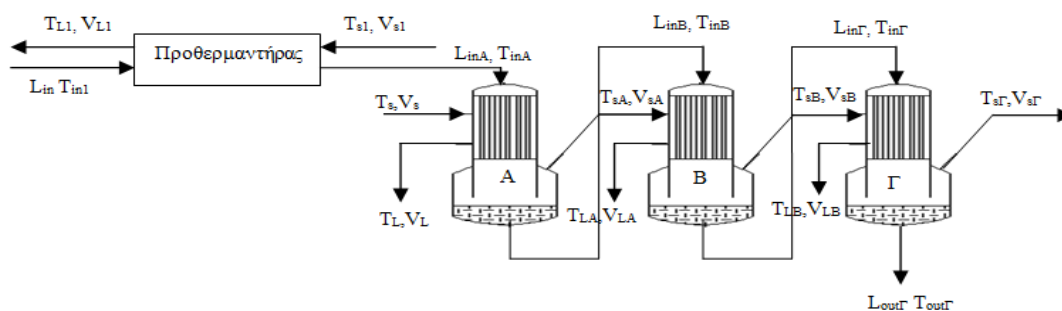
Στην διεργασία της ιοντοανταλλαγής, τα οργανικά άλατα που βρίσκονται διαλυμένα στο υγρό διάλυμα της ζύμωσης μετατρέπονται σε οργανικά οξέα (ηλεκτρικό, οξικό, μυρμηκικό οξύ), τα οποία είναι πτητικές ουσίες και μπορούν να διαχωριστούν, ευκολότερα πλέον, στο στάδιο της συμπύκνωσης. Η ιοντοανταλλαγή λαμβάνει χώρα σε στήλη πληρωμένη με κατιονική ρητίνη σουλφονικού τύπου, με βάση ένα συμπολυμερές πολυστυρολίου διβινυλοβενζολίου. Σύμφωνα με την μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε στο Κεφάλαιο 3.4.3.2, ο ενεργός όγκος της στήλης για παροχή F=14,3m³/h υπολογίζεται ως V= 2,1 m³ και ο ολικός V_{total}=2,62 m³.

3.4.3.4 Εξατμιστήρας (EV-102)

Το ηλεκτρικό οξύ μπορεί να διαχωριστεί από τα υπόλοιπα καρβοξυλικά οξέα (οξικό οξύ και μυρμηκικό οξύ) που βρίσκονται στο υγρό ρεύμα προερχόμενο από τους βιοαντιδραστήρες με την χρήση εξατμιστήρα. Το μυρμηκικό και οξικό οξύ εξατμίζονται ευκολότερα από το ηλεκτρικό οξύ λόγω του χαμηλότερου σημείου βρασμού τους: μυρμηκικό οξύ = 100,8 °C, οξικό οξύ = 118 °C και ηλεκτρικό οξύ = 235 °C). Κατά την διεργασία αυτή, εκτός από την απομάκρυνση των παραπροϊόντων συμβαίνει και συμπύκνωση του ρεύματος κατά πέντε φορές. Με την συμπύκνωση αυτή επιτυγχάνεται η αύξηση της συγκέντρωσης του ηλεκτρικού οξέος κάτι που ωφελεί την διεργασία κρυσταλλοποίησης που ακολουθεί.

Η διεργασία της συμπύκνωσης διεξάγεται σε τριβάθμιο εξάτμιστή με προθερμαντήρα. Ο προθερμαντήρας χρησιμοποιείται για την αύξηση της θερμοκρασίας του κυρίως ρεύματος ($F=14,3 \text{ m}^3/\text{h}$) από $T_1=37 \text{ }^\circ\text{C}$ σε $T_{in}=100 \text{ }^\circ\text{C}$. Η αύξηση της θερμοκρασίας γίνεται σε εναλλάκτη θερμότητας με επιφάνεια $A=7,73 \text{ m}^2$ και χρησιμοποιεί ως μέσο μεταφοράς θερμότητας κορεσμένο ατμό θερμοκρασίας $T_s=160 \text{ }^\circ\text{C}$ και παροχής $L_s= 1800 \text{ kg/h}$.

Η ροή του κυρίως ρεύματος μετά την συμπύκνωση μειώνεται από $L_{in}=14,3 \text{ m}^3/\text{h}$ σε $L_{out}=2,9 \text{ m}^3/\text{h}$. Αυτό αντιστοιχεί σε ρυθμό εξάτμισης $F_g=11,4 \text{ m}^3/\text{h}$. Η πρώτη βαθμίδα λειτουργεί σε πίεση $P_1=101,4 \text{ (kPa)}$ όπου η θερμοκρασία εξάτμισης του νερού είναι $T=100 \text{ }^\circ\text{C}$. Για την εξάτμιση χρησιμοποιείται ατμός θερμοκρασίας $T_s=160 \text{ }^\circ\text{C}$ και το θερμικό φορτίο είναι ίσο με $Q=2542 \text{ kW}$. Η βαθμίδα έχει επιφάνεια εναλλαγής ίση με $A_A= 21,19 \text{ m}^2$ ενώ η παροχή του ατμού που χρειάζεται αυτή η διεργασία είναι ίση με $F_s= 4401,05 \text{ kg/h}=4,4 \text{ t/h}$. Η δεύτερη βαθμίδα λειτουργεί σε θερμοκρασία $T_B=70 \text{ }^\circ\text{C}$ και πίεση $P_B= 31,2 \text{ (kPa)}$ και εξατμίζονται $F_{sB}=3,86 \text{ m}^3/\text{h}$, ενώ ως θερμικό μέσο χρησιμοποιείται ο ατμός που προκύπτει από την πρώτη βαθμίδα. Στην δεύτερη βαθμίδα το εμβαδόν εναλλαγής θερμότητας υπολογίζεται ως $A_B=41,54 \text{ m}^2$. Η τρίτη βαθμίδα λειτουργεί σε θερμοκρασία $T_\Gamma=50 \text{ }^\circ\text{C}$ και πίεση $P_\Gamma= 12,3 \text{ (kPa)}$. Για την εξάτμιση χρησιμοποιεί τον ατμό που προκύπτει από την δεύτερη βαθμίδα. Στην τρίτη βαθμίδα το εμβαδόν εναλλαγής θερμότητας υπολογίζεται στα $A_\Gamma= 55,68 \text{ m}^2$ και εξατμίζονται $F_{s\Gamma}=3,37 \text{ m}^3/\text{h}$. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του συμπυκνωτή φαίνονται στον Πίνακα 3.8.



Σχήμα 3.23. Απεικόνιση συμπυκνωτή καθώς και των ρευμάτων εισόδου αποβλήτου και ατμού λειτουργίας και εξόδου συμπυκνώματος, ατμού και υγρού λειτουργίας.

Προθερμαντήρας: L_{in1} παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{in1} θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{s1} θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_{s1} παροχή ατμού εισόδου, T_L θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου

Βαθμίδα Α: L_{inA} παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου T_{inA} θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_S θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_S παροχή ατμού εισόδου, T_L θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου, V_L παροχή συμπυκνώματος εξόδου **Βαθμίδα Β:** L_{inB} παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου T_{inB} θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{SA} θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_{SA} παροχή ατμού εισόδου, T_{LA} θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου, V_{LA} παροχή συμπυκνώματος εξόδου **Βαθμίδα Γ:** $L_{inΓ}$ παροχή κύριου ρεύματος υγρού εισόδου $T_{inΓ}$ θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εισόδου, T_{SB} θερμοκρασία ατμού εισόδου, V_{SB} παροχή ατμού εισόδου, T_{LB} θερμοκρασία συμπυκνώματος εξόδου, V_{LB} παροχή συμπυκνώματος εξόδου, $L_{outΓ}$ παροχή κύριου ρεύματος υγρού εξόδου, $T_{outΓ}$ θερμοκρασία κύριου ρεύματος υγρού εξόδου.

Πίνακας 3.8 : Χαρακτηριστικά λειτουργίας συμπυκνωτή τριών βαθμίδων

Φυσικές ιδιότητες	Μονάδες	Βαθμίδα Α	Βαθμίδα Β	Βαθμίδα Γ
Θερμοκρασία βρασμού διαλύματος	T (°C)	100	70	50
Παροχή υγρού διαλύματος εισόδου	L (kg/s)	3,97	2,84	1,76
Παροχή υγρού διαλύματος εξόδου	L (kg/s)	2,84	1,76	0,83
Ρυθμός εξάτμισης	V (kg/s)	1,13	1,07	0,93
Παροχή ατμού	V_s (kg/s)	1,2	1,1	0,95
Θερμικό φορτίο	Q (kW)	2542,80	2492,40	2326,28
Συν. Συντελ. μεταφοράς θερμότητας	U (kW/m ² °C)	2	2	2
Επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας	A (m ²)	21,19	41,54	55,68
Πίεση λειτουργίας	P (kPa)	101,4	31,2	12,3
Ενθαλπία εξάτμισης διαλύτη	ΔH (kJ/kg)	2248	2326	2378
Ενθαλπία υγροποίησης ατμού	ΔH (kJ/kg)	2080	2248	2326
Ειδική Πυκνότητα διαλύματος	ρ (m ³ /kg)	1000	1000	1000
Ειδική Πυκνότητα ατμού	ρ (m ³ /kg)	0,307	1,67	5,04
Θερμοκρασία ατμού	T (°C)	160	100	70

Το σύστημα τριών εξατμιστήρων ακολουθεί εναλλάκτης θερμότητας (EH-102) με επιφάνεια εναλλαγής $A=1,53 \text{ m}^2$ για την μείωση της θερμοκρασίας εξόδου $T=100 \text{ }^\circ\text{C}$ σε θερμοκρασία $T=50 \text{ }^\circ\text{C}$. Αυτό επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας ψυκτικό νερό παροχής $L_{wc}=4 \text{ kg/s}$.

3.4.3.5 Κρυσταλλοποιητής (C-101)

Η κρυσταλλοποίηση σε βιομηχανική κλίμακα αποτελεί μια διεργασία συνεχούς λειτουργίας η οποία χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό διαλυμάτων. Η αρχή της λειτουργίας της στηρίζεται στη μείωση της διαλυτότητας των ουσιών με αλλαγή της θερμοκρασίας.

Η διαλυτότητα του ηλεκτρικού οξέος στην θερμοκρασία των $T_{\text{crystal}}=4\text{ }^{\circ}\text{C}$ είναι 30 g/L. Μετά την συμπύκνωση η συγκέντρωση του ηλεκτρικού οξέος στο κυρίως ρεύμα είναι 140 g/L και η θερμοκρασία του $T_c=50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Επομένως με μείωση της θερμοκρασίας του στους $T_c=4\text{ }^{\circ}\text{C}$ θα ανακτηθούν 110 g/L. Ο κρυσταλλοποιητής χρησιμοποιεί ψυκτικό ως μέσο ψύξης με θερμοκρασία εισόδου $T_{1\text{cooling}}=1\text{ }^{\circ}\text{C}$ και θερμοκρασία εξόδου $T_{2\text{cooling}}=15\text{ }^{\circ}\text{C}$ η ροή του ψυκτικού μέσου είναι $F_{\text{cooling}}=9,53\text{ m}^3/\text{h}$ και η επιφάνεια συναλλαγής $A_{\text{crystallizer}}=12\text{ m}^2$.

Με την διεργασία αυτή δημιουργούνται δύο ρεύματα εξόδου, ένα πλούσιο με κρυστάλλους ηλεκτρικού οξέος παροχής $F=1\text{ m}^3/\text{h}$ και ένα υγρό με 30 g/L διαλυμένο ηλεκτρικό οξύ παροχής $F=1,9\text{ m}^3/\text{h}$ (Πίνακας 3.15). Το πλούσιο σε κρυστάλλους ρεύμα οδηγείται στο επόμενο στάδιο που αποτελεί την διεργασία της ξήρανσης.

3.4.3.6 Ξήρανση (SD-101)

Στην συγκεκριμένη διεργασία της ξήρανσης χρησιμοποιείται ξηραντήρας κατά τον οποίο το προς ξήρανση ρεύμα ψεκάζεται πάνω από θερμό αέρα. Το χαρακτηριστικό μεγέθους από το οποίο εξαρτάται το κόστος είναι ο ρυθμός με τον οποίο εξατμίζεται το υγρό. Στην συγκεκριμένη περίπτωση το ρεύμα που καταλήγει στον ξηραντήρα είναι μίγμα νερού με κρυστάλλους ηλεκτρικού οξέος και έχει παροχή $F=1131\text{ kg/h}$. Η ποσότητα που καταλαμβάνουν οι κρύσταλλοι ηλεκτρικού οξέος στην παροχή είναι 370 kg/h ενώ η ποσότητα του νερού αντιστοιχεί σε 757 kg/h. Συμπερασματικά στον ξηραντήρα για την παραλαβή του τελικού προϊόντος απαιτείται να εξατμίζεται $757\text{ kg/h}=0,21\text{ kg/s}$ νερού.

3.5 Τεχνοοικονομική Μελέτη

3.5.1 Κόστος αγοράς και εγκατάστασης

Στην προηγούμενη παράγραφο υπολογίστηκαν τα χαρακτηριστικά μεγέθη των στοιχείων της γραμμής παραγωγής στα οποία μπορεί να βασιστεί η εκτίμηση του κόστους αγοράς του εξοπλισμού (f.o.b).

Για τον υπολογισμό του κόστους αγοράς του εξοπλισμού συχνά χρησιμοποιούνται δεδομένα κόστους της βιβλιογραφίας. Μέσω της Εξίσωσης 3.11 γίνεται αναγωγή του στο ζητούμενο κόστος.

$$\frac{C_{fob,s_1}}{C_{fob,s_0}} = \left(\frac{S_1}{S_2} \right)^n \quad \text{Εξίσωση 3.11}$$

S_1 = χαρακτηριστικό μέγεθος του προ εκτίμηση εξοπλισμού

S_2 = χαρακτηριστικό μέγεθος του εξοπλισμού με γνωστό το f.o.b.

C_{fob,s_1} = το προς εκτίμηση κόστος αγοράς

C_{fob,s_2} = γνωστό κόστος αγοράς

n =συντελεστής αναλογίας μονάδας / δυναμικότητας

Η Εξίσωση 3.12 υπολογίζει το κόστος αγοράς του εξοπλισμού σε US\$ την χρονολογική περίοδο που αντλήθηκαν τα συγκεκριμένα δεδομένα. Επομένως, με σκοπό την εύρεση της σημερινής αξίας του εξοπλισμού καθώς και του κόστους εγκατεστημένου εξοπλισμού του χρησιμοποιείται η Εξίσωση 3.12.

$$C_{ins.eq.} = \left(\frac{C_{costIndex_t}}{C_{costIndex_{t_0}}} \right) F_{BM} C_{fob,t_0} \quad \text{Εξίσωση 3.12}$$

$C_{ins.eq.}$ = κόστος αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού την χρονική περίοδο t

$C_{costIndex_t}$ =δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού το συγκεκριμένο έτος t

$C_{costIndex_{t_0}}$ = δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού στο συγκεκριμένο έτος t_0

F_{BM} = συντελεστής εκτίμησης κόστους εγκατάστασης

C_{fob,t_0} = κόστος αγοράς εξοπλισμού την χρονική περίοδο t_0

3.5.1.1 Υπερδιήθηση

Συμφώνα με τους Blanch & Clark (1997) ο υπολογισμός του κόστους αγοράς του συστήματος υπερδιήθηση δίνεται από την Εξίσωση 3.13 στην οποία δεν συμπεριλαμβάνεται το κόστος των μεμβρανών. Το οποίο υπολογίζεται ως λειτουργικό έξοδο και ανέρχεται στα 200 \$/m².

$$C_{f.o.b} = 1468 * \left(\frac{CEPCI_{2013}}{CEPCI_{1988}} \right) * AREA^{0.89} \quad \text{Εξίσωση 3.13}$$

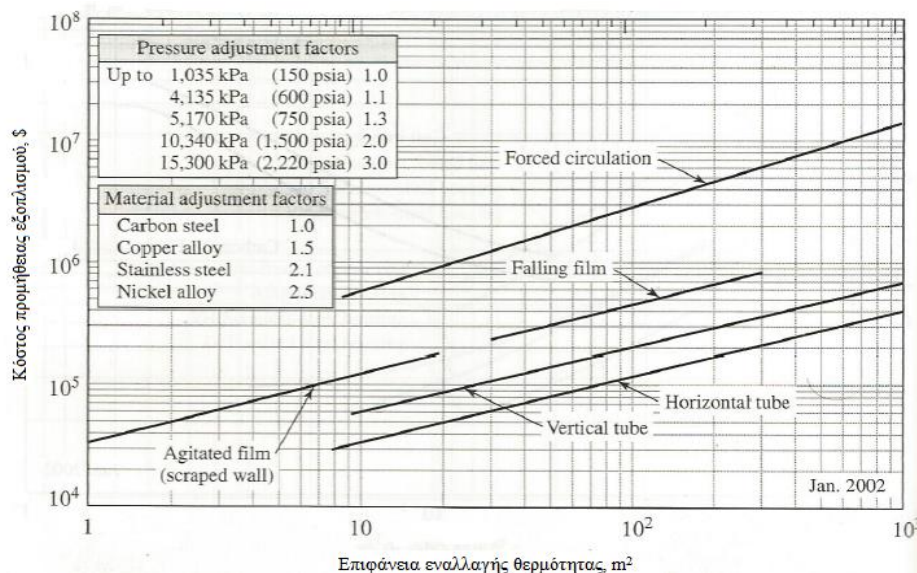
$CEPCI_{2013}$ = δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού το συγκεκριμένο έτος 2013 (567,6)

$CEPCI_{1988}$ = δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού το συγκεκριμένο έτος 1988 (343)

AREA = εμβαδόν μεμβράνης

3.5.1.2 Εξατμιστήρας

Ο υπολογισμός του κόστους προμήθειας των εξατμιστήρων έγινε με βάση το Σχήμα 3.24 (Peters, Timmerhaus και West, 2003) ενώ το κόστος εγκατάστασης υπολογίστηκε από τον πολλαπλασιασμό του κόστους προμήθειας με τον συντελεστή $F_{BM} = 2,5$.



Σχήμα 3.24. Απεικόνιση της εξάρτησης του κόστους προμήθειας διάφορων τύπων εξατμιστήρων από την επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας. (Peters, Timmerhaus και West, 2003).

3.5.1.3 Βιοαντιδραστήρας

Το κόστος προμήθειας και εγκατάστασης των βιοαντιδραστήρων υπολογίζεται με βάση τον όγκο τους, χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 3.14 (Akerber & Zacchi, 2000)

$$C_f = \left(\frac{CEPCI_{2013}}{391} \right) \cdot 10733 \cdot V_R^{0.65} \quad \text{Εξίσωση 3.14}$$

$$50m^3 \leq V_R \leq 1200m^3$$

$CEPCI_{2013}$ = δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού το έτος 2013 (567,6)

V_R = όγκος του βιοαντιδραστήρα

3.5.1.4 Αναδευτήρας

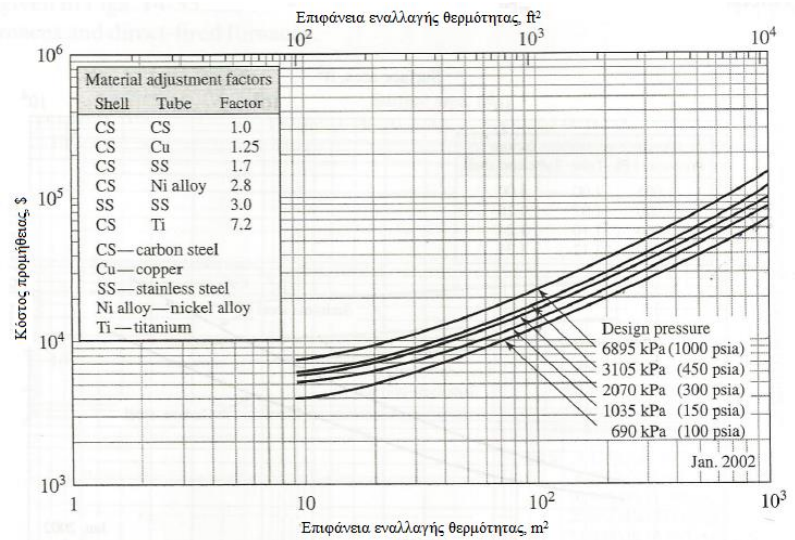
Η εκτίμηση του κόστους προμήθειας και εγκατάστασης των αναδευτήρων πραγματοποιείται με την Εξίσωση 3.15 η οποία βασίζεται στην ισχύ των αναδευτήρων (Zacchi, 2000).

$$C_{instUS\$@1999} = 49600 \times \left(\frac{P_{agitator|kW|}}{50} \right)^{0.65} \quad \text{Εξίσωση 3.15}$$

$P_{agitator|kW|}$ = ισχύς αναδευτήρα

3.5.1.5 Εναλλάκτες θερμότητας

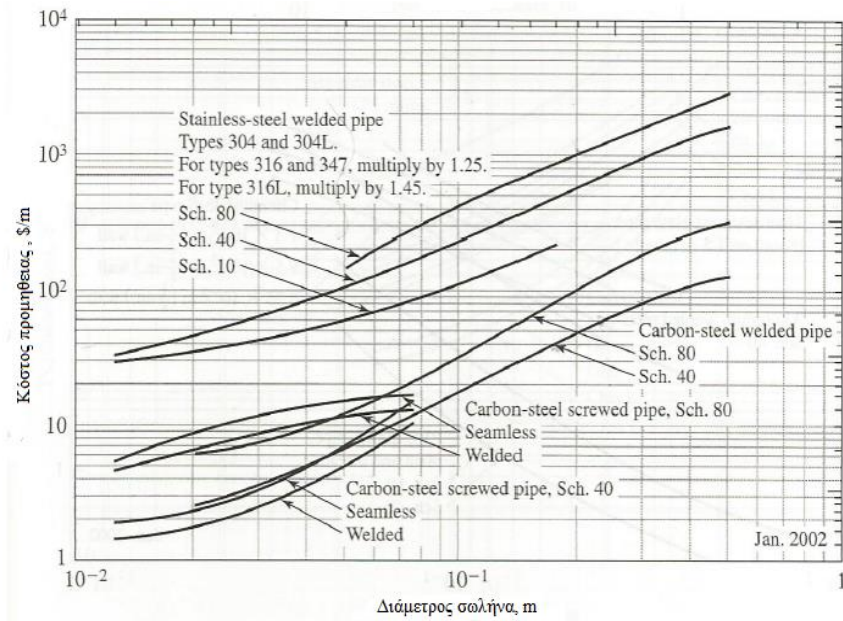
Η εκτίμηση του κόστους προμήθειας των εναλλακτών επιτυγχάνεται με το Σχήμα 3.25. Το κόστος εγκατάσταση υπολογίστηκε από τον πολλαπλασιασμό του κόστους προμήθειας με τον συντελεστή $F_{BM} = 2,1$.



Σχήμα 3.25. Απεικόνιση της συσχέτισης του κόστους προμήθειας διάφορων τύπων εναλλακτών θερμότητας και της επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας (Peters, Timmerhaus και West, 2003).

3.5.1.6 Σωλήνας παραμονής

Η εκτίμηση του κόστους προμήθειας για τον σωλήνα παραμονής με βάση το Σχήμα 3.26. Το κόστος εγκατάσταση υπολογίζεται από τον πολλαπλασιασμό του κόστους προμήθειας με τον συντελεστή $F_{BM} = 2,1$.



Σχήμα 3.26. Απεικόνιση της συσχέτισης του κόστους προμήθειας διάφορων τύπων σωλήνων και της διαμέτρου τους (Peters, Timmerhaus και West, 2003).

3.5.1.7 Στήλη ενεργού άνθρακα – Στήλη ιοντοανταλλαγής

Όσον αφορά στις στήλες ενεργού άνθρακα και στην στήλη ιοντοανταλλαγής, θεωρήθηκε ότι έχουν παρόμοιο κόστος προμήθειας με αυτό των κατακόρυφων ανοξείδωτων δοχείων το οποίο υπολογίζεται από την Εξίσωση 3.16. Το κόστος εγκατάστασης υπολογίστηκε από τον πολλαπλασιασμό του κόστους προμήθειας με τον συντελεστή $F_{BM}= 2$.

$$C_{f.o.b} = \left(\frac{CEPCI_{2013}}{CEPCI_{2009}} \right) * 236 * 10^3 * \left(\frac{V_{[m^3]}}{446.7} \right)^{0.7} \quad \text{Εξίσωση 3.16}$$

$CEPCI_{2013}$ =δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού το έτος 2013 (567,6)

$CEPCI_{2009}$ =δείκτης αναγωγής του κόστους εξοπλισμού το έτος 2009 (522)

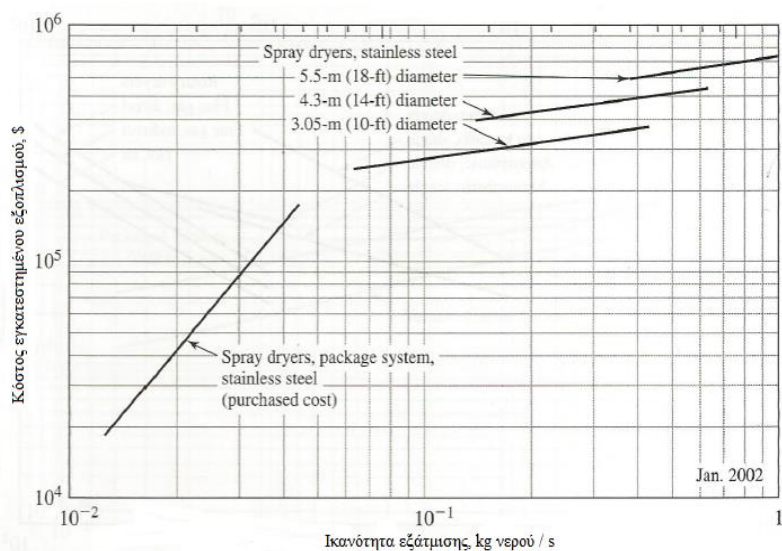
$V_{[m^3]}$ = όγκος του αντιδραστήρα

3.5.1.8 Κρυσταλλοποιητής

Ο κρυσταλλοποιητής είναι στοιχείο εξοπλισμού παρόμοιο με τους συμπυκνωτές επομένως το κόστος προμηθείας τους υπολογίζεται από το Σχήμα 3.24 και το κόστος εγκατάστασης υπολογίστηκε από τον πολλαπλασιασμό του κόστους προμήθειας με τον συντελεστή $F_{BM}= 2,5$.

3.5.1.9 Ξηραντήρας

Ο υπολογισμός του κόστους προμήθειας και εγκατάστασης του ξηραντήρα έγινε σύμφωνα με το Σχήμα 3.27.



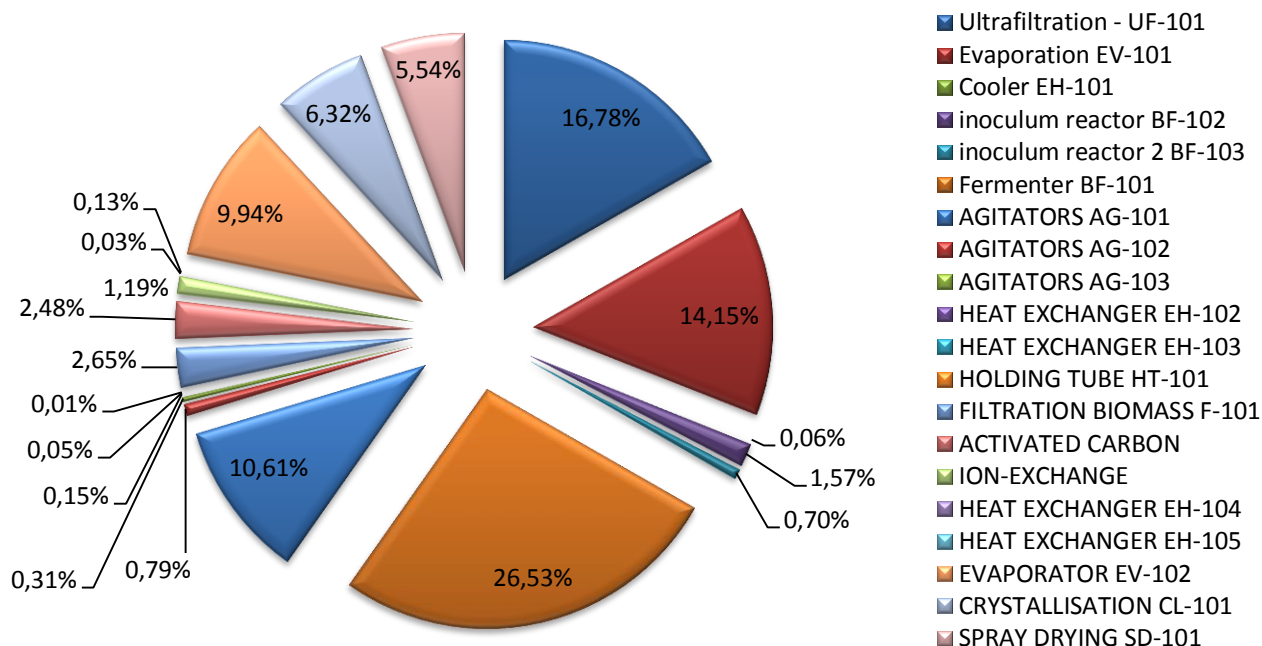
Σχήμα 3.27. Απεικόνιση της συσχέτισης του κόστους προμήθειας ξηραντήρων τύπου spray drier και της ικανότητας εξάτμισης (Peters, Timmerhaus και West, 2003).

Στο Πίνακα 3.16 παρατίθεται το κόστος προμήθειας και εγκατάστασης του εξοπλισμού της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος το οποίο ανέρχεται στο συνολικό ποσό των $C_{BM} = 13,322$ M\$.

Πίνακας 3.16. Κόστος προμήθειας και εγκατάστασης του εξοπλισμού της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος.

Στοιχείο εξοπλισμού		Χαρακτηριστικό μέγεθος	Κόστος Στοιχείου (M\$)	Αριθμός Στοιχείων	Συνολικό κόστος αγοράς (2013) (M\$)	Συνολικό κόστος αγοράς & εγκατάστασης (M\$)
<u>UF.101</u>	Υπερδιήθηση Ultrafiltration	700 m ²	0,795 (1985)	2	1,590	2,226
<u>EV.101</u>	Τριβάθμιος Συμπυκνωτής Evaporator	234,61 m ²	0,363 (2002)	1	0,909	1,877
<u>BF.101</u>	Βιοαντιδραστήρας Fermenter	540 m ³	0,439 (1999)	4	1,759	3,519
<u>AG.101</u>	Αναδευτήρας Agitator	573 KW	0,242 (1999)	4	1,082	1,407
<u>BF.102</u>	Βιοαντιδραστήρας Εμβολίου Inoculum Fermenter	54 m ³	0,71 (1999)	1	0,103	0,207
<u>AG.102</u>	Αναδευτήρας Agitator	57,3 KW	0,042 (1999)	1	0,081	0,105
<u>BF.103</u>	Βιοαντιδραστήρας Εμβολίου Inoculum Fermenters	5.4 m ³	0,016 (1999)	2	0,046	0,093

<u>AG.103</u>	Αναδευτήρας Agitator	5,73 KW	0,010 (1999)	2	0,031	0,040
<u>F.101</u>	Διήθηση Filtration	7,2 m ²	0,100 (2002)	2	0,201	0,351
<u>EH.101</u>	Εναλλάκτης θερμ. (Ψύξη) Cooler	7 m ²	0,002 (2002)	1	0,003	0,007
<u>EH.102</u>	Εναλλάκτης (προθερμ.) (pre).heater	23,5 m ²	0,006 (2002)	1	0,009	0,020
<u>EH.103</u>	Εναλλάκτης θερμ. heater	2,4 m ²	0,002 (2002)	1	0,003	0,07
<u>HT.101</u>	Σωλήνας παραμονής Holding.tube	105.3 m	0,0007 (2002)	1	0,001	0,002
<u>ACC.101</u>	Στήλη ενεργού άνθρακα Activated carbon column	14,5 m ³	0,127 (2002)	1	0,182	0,329
<u>IE.101</u>	Στήλη ιοντοανταλλαγής Ion exchanger	3,9 m ³	0,061 (2002)	1	0,087	0,158
<u>EH.104</u>	Εναλλάκτης (προθερμ.) (pre).heater	5,9 m ²	0,001 (2002)	1	0,001	0,003
<u>EH.105</u>	Εναλλάκτης(προθερμ.) (pre).heater	16,56 m ²	0,00 5 (2002)	1	0,008	0,017
<u>EV.102</u>	Τριβάθμιος Συμπυκνωτής Evaporator	120 m ²	0,368 (2002)	1	0,920	1,319
<u>SD.101</u>	Ξηραντήρας Spray drier	0,21 kg/s	0,320 (2002)	1	0,459	0,734
<u>CL.101</u>	Κρυσταλλοποιητής Crystallizer	12 m ²	0,234 (2002)	1	0,335	0,838
Συνολικό κόστος εγκατάστασης (C _{BM})					13,322 M\$	



Σχήμα 3.28. Απεικόνιση του ποσοστού συνεισφοράς του κάθε στοιχείου εξοπλισμού στο συνολικό κόστος προμήθειας και εγκατάστασης του εξοπλισμού.

Από το Σχήμα 3.28 φαίνεται ότι το μεγαλύτερο ποσοστό του συνολικού κόστους προμήθειας και εγκατάστασης του εξοπλισμού οφείλεται στο σύστημα της ζύμωσης (βιοαντιδραστήρες, αναδευτήρες) που αποτελούν το 37,14% του συνολικού κόστους ενώ ακολουθούν οι συμπυκνωτές και ο υπερδιηθητής με αντίστοιχα ποσοστά 24,08% και 14,15% .

3.5.2 Εκτίμηση του πάγιου κόστους κεφαλαίου

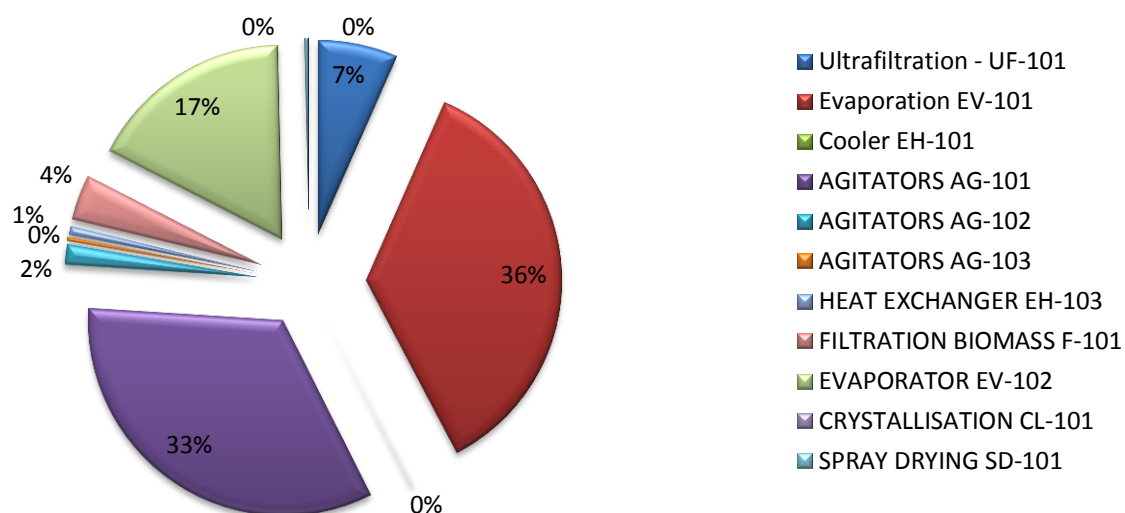
Το κόστος προμήθειας και εγκατάστασης (C_{BM}) εξοπλισμού αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του πάγιου κόστους κεφαλαίου (Fixed Capital Investment – FCI) και μέσω αυτού μπορούν να υπολογιστούν τα επιμέρους κόστη από τα οποία αποτελείται το FCI (Peters, Timmerhaus και West, 2003).

Η γραμμή παραγωγής της παρούσας μελέτης, αποτελεί επέκταση μιας ήδη υπάρχουσας εγκατάστασης. Επομένως, για τον υπολογισμό του FCI δεν λαμβάνεται υπόψη το κόστος οικοπέδου και κτιρίων και το FCI διαμορφώνεται ως $FCI = 1,6 \times C_{BM}$. Στην συγκεκριμένη περίπτωση που το C_{BM} ισούται με 13,322 M\$, το FCI υπολογίζεται ίσο με 21,315 M\$.

3.5.3 Κόστος Παραγωγής

3.5.3.1 Κόστος βοηθητικών παροχών

Στο συγκεκριμένο στάδιο υπολογίστηκαν οι βοηθητικές παροχές των στοιχείων εξοπλισμού. Το κόστος των βοηθητικών παροχών υπολογίστηκε ήδη στο Κεφάλαιο 3.4 κατά τον σχεδιασμό και την διαστασιολόγηση της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος. Το κόστος των βοηθητικών παροχών εκτιμήθηκε βάση βιβλιογραφικών αναφορών. Συγκεκριμένα, το νερό ψύξης και το ηλεκτρικό ρεύμα υπολογίστηκε σύμφωνα με τον I. Κούκος (2009) ενώ ο ατμός χαμηλής πίεσης υπολογίστηκε σύμφωνα με τους Peters, Timmerhaus και West (2003).



Σχήμα 3.29. Σχήμα στο οποίο απεικονίζεται το ποσοστό συνεισφοράς της κάθε παροχής στο συνολικό ετήσιο κόστος βοηθητικών παροχών.

Βάση του Σχήματος 3.29, φαίνεται ότι ο ατμός που χρησιμοποιείται στις διεργασίες συμπύκνωσης καταλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό (52%, όπου το 35% αποτελεί ο συμπυκνωτής του σταδίου επεξεργασίας και το 17% ο συμπυκνωτής του σταδίου καθαρισμού και ανάκτησης προϊόντος) του συνολικό κόστος ετήσιας κατανάλωσης βοηθητικών παροχών. Το γεγονός αυτό χαρακτηρίζει την διεργασία συμπύκνωσης ως την πιο κοστοβόρα. Επίσης μεγάλο ποσοστό του κόστους καταλαμβάνει και το ηλεκτρικό ρεύμα που καταναλώνεται για την ανάδευση των βιοαντιδραστήρων (34%).

Στον Πίνακα 3.17 παρουσιάζονται τα κόστη των βοηθητικών παροχών ανά έτος λειτουργίας του εργοστασίου για κάθε στοιχείο εξοπλισμού της γραμμής παραγωγής. Το συνολικό κόστος των βοηθητικών παροχών υπολογίζεται ίσο με $C_{UT}=1,67 \text{ M\$/year}$.

Πίνακας 3.17. Ετήσιο κόστος βοηθητικών παροχών.

Στοιχείο εξοπλισμού		Είδος Βοηθητικών Παροχών	Δυναμικότητα Στοιχείου	Κόστος Παροχής	Ετήσια κατανάλωση	Συνολικό ετήσιο κόστος (M\$)
<u>UF.101</u>	Υπερδιήθηση Ultrafiltration	Ηλεκτρικό ρεύμα (kW/h)	225 (kW/h)	0,06 \$/kWh	1.782.000 (kWh/year)	0,107
<u>EV.101</u>	Τριβάθμιος Συμπυκνωτής Evaporator	Ατμός χαμηλής πίεσης (ton/h)	9,2 (ton/h)	8 \$/ton	72.864 (ton/year)	0,583
<u>AG.101</u>	Αναδευτήρας Agitator	Ηλεκτρικό ρεύμα (kW/h)	1147 (kW/h)	0,06 \$/kWh	9.084.240 (kWh/year)	0,545
<u>AG.102</u>	Αναδευτήρας Agitator	Ηλεκτρικό ρεύμα (kW/h)	114,7 (kW/h)	0,06 \$/kWh	454.212 (kWh/year)	0,027
<u>AG.103</u>	Αναδευτήρας Agitator	Ηλεκτρικό ρεύμα (kW/h)	11,47 (kW/h)	0,06 \$/kWh	90.842,4 (kWh/year)	0,005
<u>F.101</u>	Διήθηση Filtration	Ηλεκτρικό ρεύμα (kW/h)	130 (kW/h)	0,06 \$/kWh	1.029.600 (kWh/year)	0,061
<u>EH.101</u>	Εναλλάκτης θερμ. (ψύξη) Cooler	Νερό ψύξης (t/h)	30 (t/h)	0,0148 \$/h	237.600 (t/year)	0,003
<u>EH.103</u>	Εναλλάκτης θερμ.(θέρμανση) heater	Ατμός χαμηλής πίεσης (t/h)	0,19 (t/h)	8 \$/t	1.504 (t/year)	0,012
<u>EV.102</u>	Τριβάθμιος Συμπυκνωτής Evaporator	Ατμός χαμηλής πίεσης (ton/h)	4.4 (t/h)	8 \$/t	34848 (t/year)	0,278
<u>SD.101</u>	Ξηραντήρας Spray drier	Ηλεκτρικό ρεύμα (kW/h)	10 (kW/h)	0,06 \$/kWh	79.200 (kWh/year)	0,045
<u>CL.101</u>	Κρυσταλλοποιητής Crystallizer	Νερό ψύξης (t/h)	9,53 (t/h)	0,0148 \$/h	75.477 (t/year)	0,001
Συνολικό κόστος βοηθητικών παροχών ανά έτος λειτουργίας του εργοστασίου C_{UT}					1,667 M\$	

3.5.3.2 Κόστος προμήθειας των πρώτων υλών

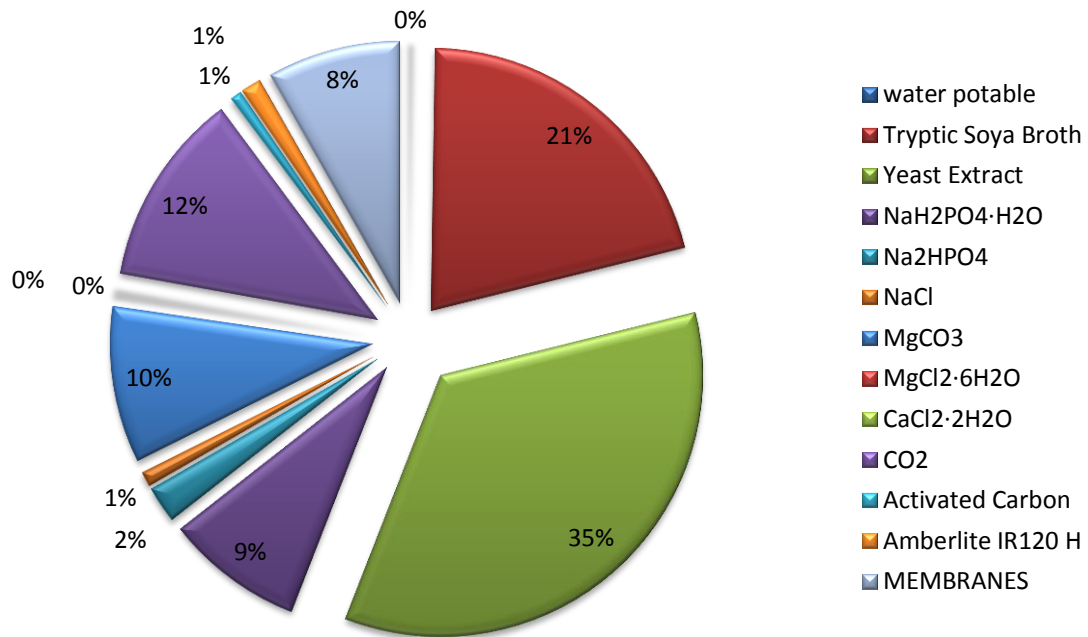
Ο μεγαλύτερος όγκος των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται στην γραμμή παραγωγής του ηλεκτρικού οξέος αποτελείται από τα θρεπτικά συστατικά της ζύμωσης. Επομένως οι πρώτες ύλες αποτελούν ένα σύνολο από οργανικές και

ανόργανες ουσίες. Επίσης, στο κόστος των πρώτων υλών συμπεριλαμβάνεται το κόστος μεμβρανών, ο ενεργός άνθρακας και οι ρητίνες που χρησιμοποιούνται στην στήλη ιοντοανταλλαγής. Στον Πίνακα 3.18 φαίνονται οι τιμές των πρώτων υλών καθώς και η ετήσια κατανάλωσή τους.

Πίνακας 3.18. Ετήσιο κόστος προμηθείας των πρώτων υλών για την λειτουργία της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος.

Πρώτες ύλες	Κόστος (\$/t)	Παροχή (t/h)	Ετήσια κατανάλωση (t/year)	Συνολικό ετήσιο κόστος (M\$)
Yeast Extract	2000	0,045	356,4	0,713
Tryptic Soya Broth	2000	0,075	594	1,188
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	2205	0,016646	131,83	0,290
Na ₂ HPO ₄	2205	0,0044485	35,23	0,077
NaCl	280	0,01435	113,65	0,032
MgCO ₃	290	0,1435	1136,52	0,330
MgCl ₂ ·6H ₂ O	371	0,00287	22,73	0,008
CaCl ₂ ·2H ₂ O	406	0,00287	22,73	0,009
CO ₂	150	0,3444	2727,64	0,041
Ενεργός άνθρακας	1000	.	26,4	0,025
Amberlite IR120 H	1500	.	28,92	0,043
Μεμβράνες	200 \$/m ²	.	1400 m ²	0,280
Πόσιμο νερό	0,36	3	23760	0,008
Συνολικό ετήσιο κόστος πρώτων υλών C _{RM}				3,044 M\$

Το ετήσιο συνολικό κόστος των πρώτων υλών εκτιμάται ίσο με C_{RM} = 3,044 M\$/year.



Σχήμα 3.30. Σχήμα στο οποίο απεικονίζεται το ποσοστό συνεισφοράς της κάθε πρώτης ύλης στο συνολικό ετήσιο κόστος πρώτων υλών.

Από το Σχήμα 3.30 φαίνεται ότι το Yeast Extract και το Tryptic Soya Broth με αντίστοιχα ποσοστά 35% και 21%, αποτελούν το μεγαλύτερο κομμάτι του συνολικού ετήσιου κόστους των πρώτων υλών. Το Yeast Extract είναι η πηγή αζώτου της διεργασία της ζύμωσης και μπορεί να αντικατασταθεί με κάποια άλλη πηγή αζώτου προερχόμενο από κάποιο ρεύμα αποβλήτων. Το Tryptic Soya Broth αποτελεί πηγή αζώτου και άνθρακα για την παρασκευή του ενοφθαλμιστικού υλικού της καλλιέργειας και θα μπορούσε να αντικατασταθεί από το συνδυαστικό υπόστρωμα καλλιέργειας αποτελούμενο από απόβλητο SSL ως πλούσια πηγή άνθρακα καθώς και από βιομάζα που παράγεται στο στάδιο της ζύμωσης και απορρίπτεται στο στάδιο καθαρισμού ως πηγή αζώτου. Με αυτές τις αλλαγές θα μπορούσε να επέλθει σημαντική μείωση στο κόστος των πρώτων υλών.

3.5.3.3 Απαιτούμενη άμεση εργασία

Ο υπολογισμός του κόστους άμεσης εργασίας στηρίχτηκε στην μεθοδολογία που προτείνεται από τον Ulrich (1984). Στον Πίνακα 3.19 εκτιμάται ο αριθμός των απαιτούμενων εργαζομένων ανά βάρδια.

Πίνακας 3.19. Απαιτούμενη άμεση εργασία ανά μονάδα εξοπλισμού (Ulrich 1984).

Στοιχείο εξοπλισμού		Εργαζόμενοι ανά Βάρδια	Αριθμός των Στοιχείων που Λειτουργούν Συγχρόνως	Σύνολο Εργαζομένων ανά Βάρδια
<u>UF.101</u>	Υπερδιήθηση Ultrafiltration	0,2	2	0,4
<u>EV.101</u>	Τριβάθμιος Συμπυκνωτής Evaporator	0,3	1	0,3
<u>BF.101</u>	Βιοαντιδραστήρας Fermenter	1	2	2
<u>BF.102</u>	Βιοαντιδραστήρας Εμβολίου Inoculum Fermenters	1	1	1
<u>BF.103</u>	Βιοαντιδραστήρας Εμβολίου Inoculum Fermenters	1	2	2
<u>F.101</u>	Διήθηση Filtration	0,2	2	0,4
<u>EH.101</u>	Εναλλάκτης θερμ. (Ψύξη) Cooler	0,1	1	0,1
<u>EH.102</u>	Εναλλάκτης θερμ (προθερμαντήρας) (pre).heater	0,1	1	0,1
<u>EH.103</u>	Εναλλάκτης θερμ.(θέρμανση) heater	0,1	1	0,1
<u>ACC.101</u>	Στήλη ενεργού άνθρακα Activated carbon column	0,2	1	0,2
<u>IE.101</u>	Στήλη ιοντοανταλλαγής Ion exchanger	0,2	1	0,2
<u>EH.104</u>	Εναλλάκτης θερμ (προθερμαντήρας) (pre).heater	0,1	1	0,1
<u>EH.105</u>	Εναλλάκτης θερμ (προθερμαντήρας) (pre).heater	0,1	1	0,1
<u>EV.102</u>	Τριβάθμιος Συμπυκνωτής Evaporator	0,3	1	0,3
<u>SD.101</u>	Ξηραντήρας Spray drier	0,74	1	0,74
<u>CL.101</u>	Κρυσταλλοποιητής Crystallizer	0,16	1	0,16
Σύνολο			8,2 = 9	

Από τον Πίνακα 3.16 προέκυψε ο συνολικός αριθμός των εργαζομένων της μονάδας για κάθε βάρδια που είναι ίσως με 9. Οι εργαζόμενοι δουλεύουν 5 βάρδιες την εβδομάδα και η μονάδα χρειάζεται 21 βάρδιες την εβδομάδα. Επομένως απαιτούνται 4,2 εργαζόμενοι ανά θέση εργασίας και εάν συμπεριληφθούν άδειες/απουσίες των εργαζομένων, ο αριθμός αυτός φτάνει το 4,5 ανά θέση εργασίας. Συνεπώς για την συγκεκριμένη μελέτη χρειάζονται 37 εργαζόμενοι που ο καθένας κοστίζει στην μονάδα 1095 \$ το μήνα δηλαδή το συνολικό κόστος εργασίας ανέρχεται στα 0,567 M\$ τον χρόνο ($C_{OL}=0,567$ M\$/year).

3.5.3.4 Κόστος επεξεργασίας αποβλήτων

Τα απόβλητα που παράγονται κατά την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος χρειάζονται επεξεργασία πριν την εναπόθεσης τους στο περιβάλλον. Το κόστος της επεξεργασίας αυτής παρατίθενται στον Πίνακα 3.20.

Πίνακας 3.20. Κόστος επεξεργασία αποβλήτων.

Είδος αποβλήτου	Κόστος(\$/t)	Παροχή (t/h)	Ετήσια παραγωγή (t/year)	Συνολικό ετήσιο κόστος (M\$)
Υγρά απόβλητα	0,5	46,05	364.716	0,182
Στερεά απόβλητα	380	0,006	53,57	0,020
Σύνολο C_{WT}			0,202 M\$/year	

3.5.4 Εκτίμηση του συνολικού κόστους παραγωγής

Το συνολικό κόστος παραγωγής αναλύεται στις ακόλουθες κατηγορίες :

- Άμεσα κόστη (DC)
- Πάγιες δαπάνες (FC)
- Γενικά έξοδα (GE)

Τα άμεσα κόστη (DC) υπολογίζονται από την Εξίσωση 3.17

$$DC = C_{RM} + C_{UT} + C_{WT} + 1.33C_{OL} + 0.1FCI \quad \text{Εξίσωση 3.17}$$

Οι πάγιες δαπάνες (FC) υπολογίζονται από την Εξίσωση 3.18

$$FC = 0.25 * FCI \quad \text{Εξίσωση 3.18}$$

Τα γενικά έξοδα (GE) υπολογίζονται ως το 25% του συνολικού κόστους παραγωγής (TPC) ($GE=0,25 \times TPC$)

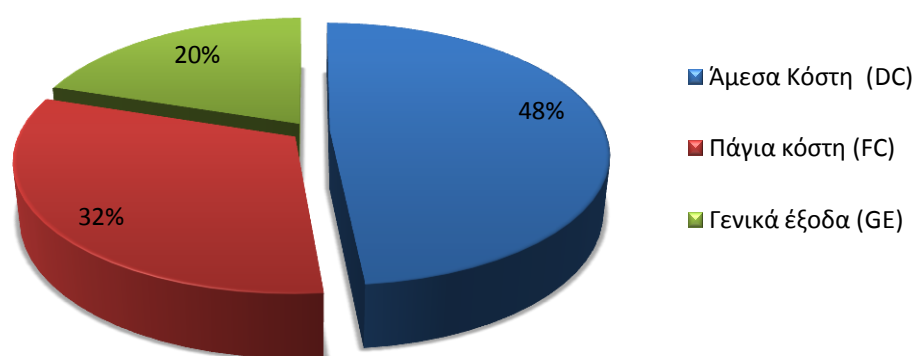
Συμφώνα με τα παραπάνω και την Εξίσωση 3.19 μπορεί να υπολογιστεί το συνολικό κόστος παραγωγής (TPC).

$$TPC = 1,25(C_{RM} + C_{UT} + C_{WT}) + 1,66C_{OL} + 0,44FCI \quad \text{Εξίσωση 3.19}$$

Πίνακας 3.21. Συνολικό κόστος παραγωγής.

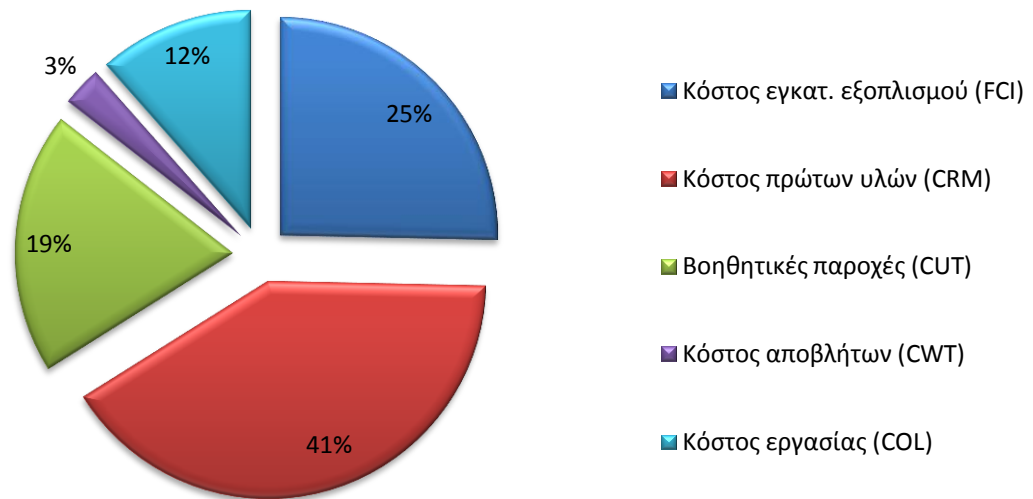
Είδος Κόστους	Κόστη (M\$/year)
Κόστος πρώτων υλών (C_{RM})	3,044
Βοηθητικές παροχές (C_{UT})	1,667
Κόστος αποβλήτων (C_{WT})	0,202
Κόστος εργασίας (C_{OL})	0,567
Άμεσα Κόστη (DC)	8,168
Πάγια κόστη (FC)	5,307
Γενικά έξοδα(GE)	3,369
Συνολικό κόστος παραγωγής (TPC)	16,461

Το συνολικό ετήσιο κόστος παραγωγής όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.21 ανέρχεται στα $TPC= 16,461$ M\$/year.



Σχήμα 3.31. Απεικόνιση του ποσοστού συνεισφοράς της κάθε κατηγορίας κόστους στο συνολικό ετήσιο κόστος παραγωγής.

Στο Σχήμα 3.31 φαίνεται ότι το άμεσο κόστος παραγωγής καταλαμβάνει με ποσοστό 48% , το μεγαλύτερο μέρος του συνολικού ετήσιου κόστους παραγωγής.



Σχήμα 3.32. Απεικόνιση του ποσοστού συνεισφοράς των επιμέρους κοστών στο άμεσο κόστος παραγωγής.

Στο Σχήμα 3.32 φαίνεται ότι το κόστος των πρώτων υλών (41%) αποτελεί το κύριο μέρος του άμεσου κόστους παραγωγής, ενώ το 25% του άμεσου κόστους οφείλεται στο κόστος εγκατάστασης εξοπλισμού ενώ το 19% οφείλεται στο κόστος των βοηθητικών παροχών.

3.5.5 Καθαρή παρούσα αξία

Με σκοπό την αξιολόγηση της βιωσιμότητας της γραμμής παραγωγής ηλεκτρικού οξέος, υπολογίστηκε η καθαρή παρούσα αξία η οποία αποτελεί το κριτήριο για το αν η επένδυση θα είναι κερδοφόρα ή ζημιογόνα μέσα στο χρονικό διάστημα λειτουργίας της (10 έτη). Η εκτίμησή της γίνεται μέσω της Εξίσωσης 3.20.

$$NPV = \sum_{k=0}^n \frac{CF_k}{(1+\rho)^k} = \sum_{k=0}^n CF_k PVIF(\rho, k)$$

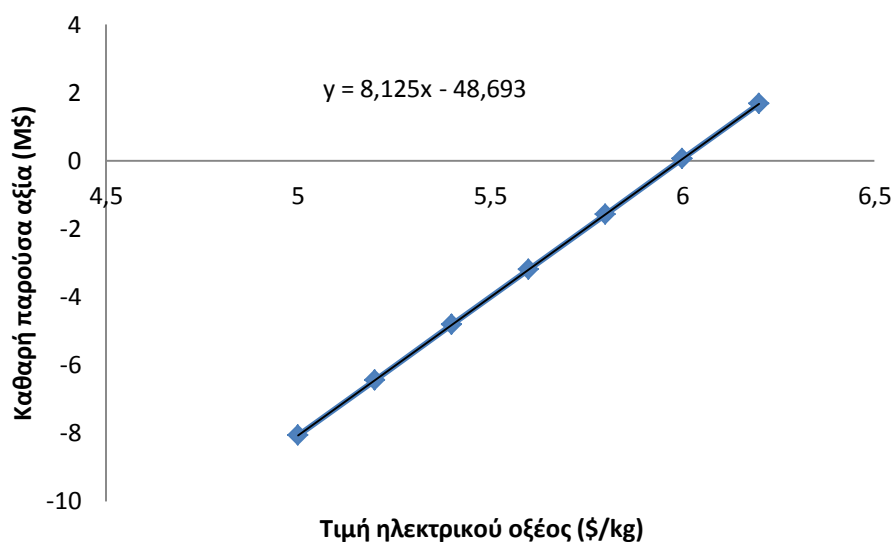
Εξίσωση 3.20

CF_k = χρηματική ροή που λαμβάνει χώρα την περίοδο k

ρ = απαιτούμενος ρυθμός επιστροφής

Στην συγκεκριμένη περίπτωση η μονάδα έχει σχεδιαστεί να λειτουργεί 10 χρόνια ενώ για την κατασκευή της απαιτούνται 3 χρόνια ενώ ο απαιτούμενος ρυθμός επιστροφής είναι στο 10%.

Η ετήσια παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος για απόδοση ζύμωσης 0,60 g/g, υπολογίζεται ως 2.909 t/year και η παραγωγή λιγνοσουλφονικών ουσιών ίση με 15.911 t/year. Η τιμή του ηλεκτρικού οξέος κυμαίνεται από 5,90 έως 8,80 \$/kg ανάλογα με την καθαρότητα του προϊόντος (Zeikus et al. 1999). Στη συγκεκριμένη εργασία η τιμή του ηλεκτρικού οξέος ορίστηκε στα 6 \$/kg, ενώ η γραμμή παραγωγής που μελετήθηκε πετυχαίνει ως και 99% καθαρότητας ηλεκτρικό οξύ (C.Lin et al, 2010). Επίσης επισημαίνεται ότι στο εργοστάσιο όπου πρόκειται να εγκατασταθεί η γραμμή παραγωγής ηλεκτρικού οξέος, υπάρχει είδη μια μονάδα επεξεργασίας του αποβλήτου προς παραγωγή λιγνοσουλφονικών ουσιών. Στην περίπτωση εγκατάστασης της γραμμής παραγωγής ηλεκτρικού οξέος η προϋπάρχουσα μονάδα παραγωγής λιγνοσουλφονικών ουσιών θα συνεχίσει να λειτουργεί εκμεταλλευόμενη το πλούσιο σε λιγνοσουλφονικές ουσίες ρεύμα που προκύπτει από την διεργασία της υπερδιήθησης. Το εργοστάσιο θα επιφέρει από την διεργασία αυτή έσοδα της τάξης των 6,046 M\$/year (Πινάκας 3.19). Με τα συγκεκριμένα δεδομένα η τιμή της Κ.Π.Α. βρέθηκε να είναι οριακά θετική (Σχήμα 3.33).

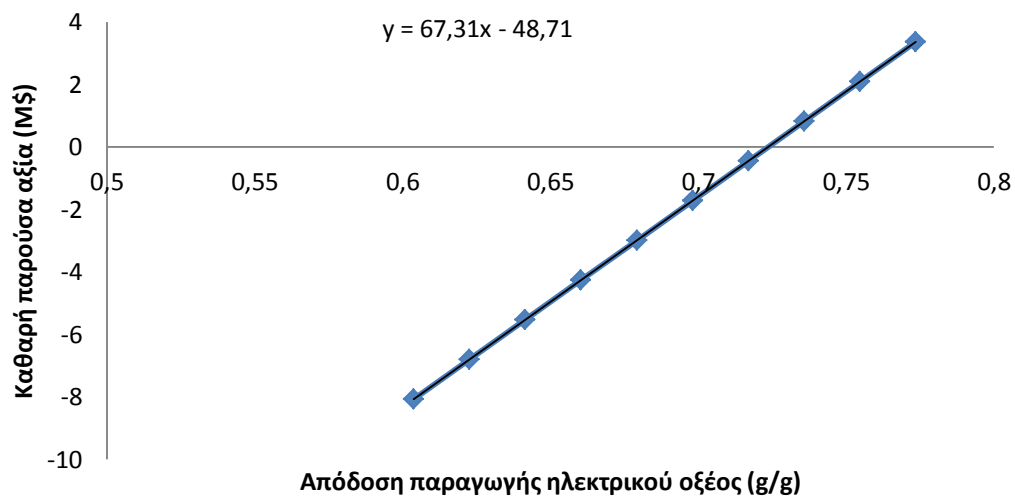


Σχήμα 3.33. Απεικόνιση της καθαρής παρούσας αξίας σε Εξίσωση με την απόδοση παραγωγής ηλεκτρικού οξέος.

Πίνακας 3.22. Συνολικά έσοδα εργοστασίου από την επεξεργασία του αποβλήτου.

Πρώτες ύλες	Τιμή (\$/t)	Παροχή (t/h)	Ετήσια παραγωγή (t/year)	Συνολικό ετήσιο μεικτό κέρδος (M\$/year)
Ηλεκτρικό οξύ	6000	0,36	2909	17,457
Λιγνοσουλφονικές ουσίες	380	2	15911	6,046
Σύνολο R			23,5 M\$/year	

Για να μειωθεί η τιμή του ηλεκτρικού οξέος στα 5 \$/kg δοκιμάστηκαν τιμές απόδοσης ως προς την παραγωγή του, υψηλότερες από 0,60 g/g και κατασκευάστηκε το Σχήμα 3.34 στο οποίο φαίνεται ότι η καθαρά παρούσα αξία παίρνει θετικές τιμές σε αποδόσεις μεγαλύτερες των 0,735 g/g.



Σχήμα 3.34. Απεικόνιση της καθαρής παρούσας αξίας σε σχέση με την απόδοση παραγωγής ηλεκτρικού οξέος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την μελέτη των πειραμάτων ζυμώνσεων που πραγματοποιήθηκαν, προέκυψε ότι το βακτηριακό στέλεχος *A.succinogenes* είναι πιο ανθεκτικό στις παρεμποδιστικές ουσίες που περιέχονται στο ρεύμα του αποβλήτου SSL σε σύγκριση με τον *B.succiniciproducens* ο οποίος είναι πιο αποδοτικός ως προς την παραγωγή ηλεκτρικού οξέος σε θρεπτικά υποστρώματα εμπορικών σακχάρων.

Η μέθοδος της υπερδιήδησης με μεμβράνες αποδείχτηκε αποτελεσματική ως προς την απομάκρυνση των λιγνοσουλφονικών ουσιών από το ρεύμα του αποβλήτου SSL. Η απομάκρυνση των λιγνοσουλφονικών ουσιών βελτιώνει την απόδοση του μικροοργανισμού ως προς την παραγωγή ηλεκτρικού οξέως. Επιπλέον, μέσω της συγκεκριμένης διεργασίας, δύναται η περαιτέρω συμπύκνωση του αποβλήτου για την χρήση του ως θρεπτικό υπόστρωμα ζύμωσης. Αυτό συμβάλει στην μείωση του όγκου του εξοπλισμού της μονάδας παραγωγής ηλεκτρικού οξέος.

Από την εκπόνηση του τεχνοοικονομικού σχεδιασμού διαπιστώθηκε ότι η βιωσιμότητα μιας γραμμής παραγωγής ηλεκτρικού οξέος μέσω μικροβιακών ζυμώνσεων σε θρεπτικό υπόστρωμα αποβλήτου SSL εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το υψηλό κόστος κτήσης και εγκατάστασης του εξοπλισμού, το κόστος των πρώτων υλών και των βοηθητικών παροχών που χρησιμοποιούνται κατά την διεργασία. Το μεγαλύτερο μέρος του κόστους εξοπλισμού καταλαμβάνουν οι βιοαντιδραστήρες, οι αναδευτήρες και οι εξατμιστήρες. Οι πιο κοστοβόρες από τις πρώτες ύλες δείχνουν να είναι οι οργανικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στο στάδιο της ζύμωσης, και από τις βοηθητικές παροχές, ο ατμός που χρησιμοποιείτε σε όλες τις θερμικές διεργασίες της γραμμής παραγωγής.

Το κόστος παραγωγής του προϊόντος είναι αρκετά υψηλό κάτι που καθιστά την γραμμή παραγωγής οριακά βιώσιμη. Για αυτό τον λόγο πρέπει να βελτιωθεί η αποδοτικότητα της ζύμωσης ως προς την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέως το οποίο θα έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του όγκου εξοπλισμού. Επίσης, κρίνεται σκόπιμο να χρησιμοποιηθούν οικονομικότερες οργανικές πρώτες ύλες όπως το Corn steep liquor ως πηγή αζώτου αντί για το yeast extract και του αποβλήτου SSL ως πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη του εμβολίου της καλλιέργειας αντί του θρεπτικού TSB.

Επιπλέον πρέπει να γίνει καλύτερη διαχείριση της ενέργειας που χρησιμοποιείται στην μονάδα με σκοπό την μείωση του κόστους των βοηθητικών παροχών.

Τέλος, εκτός από την παραγωγή του ηλεκτρικού οξέος, κρίνεται απαραίτητο και μείζονος σημασίας, να παραχθούν/διαχωριστούν και άλλα προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας από το απόβλητο SSL όπως αντιοξειδωτικές ενώσεις.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmed I, Morris D (1994) Replacing petrochemical with biochemicals. Institute for Local Self Reliance, Washington, DC
- Apostolis A, Koutinas, Anestis Vlysidis, Daniel Pleissner, Nikolaos Kopsahelis, Isabel Lopez Garcia, Ioannis K. Kookos, Seraphim Papanikolaou, Tsz Him Kwanb and Carol Sze Ki Lin (2014) Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers, *Chem. Soc. Rev.*43, 2587-2627
- Bergen WG, Bates DB (1984) Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *J Anim Sci* 58, 1465-1483
- Blanch Harvey W., Clark Douglas S., *Biochemical Engineering*,
- Carreira P, Mendes JAS, Trovatti E, Serafim LS, Freire CSR, Silvestre AJD, et al. (2011) Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. *BioresourTechnol*, 102 (15), 7354-60
- Couper, J.R., Penny, R.W, Fair, J.R. & Walas S.M. (2005) *Chemical Process Equipment*, 2nded. Gulf Publishing Company
- Davis CP, Cleven D, Brown J, Balish E (1976) Anaerobio spirillum, a new genus of spiral shaped bacteria. *Int J SystBacteriol* 26, 498-504
- Frazer FR, Mc Caskey TA (1989) Wood hydrolyzate treatments for improved fermentation of wood sugars to 2,3 butanediol, *Biomass*, 18 (31), 42
- Guettler Michael V., Denise Rumler and Mahendra K. Jain (1999) *Actinobacillus succinogenes* sp. nov., a novel succinic.acid producing strain from the bovin rumen *International Journal of Systematic Bacteriology* 49, 207-216
- JN (2001) Ethanol production from harwood spent sulfite liquor using and adapted strain of *Pichiastipitis*, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 26, 145-150
- Hodge David B., Christian Andersson, Kris A. Berglund, Ulrika Rova (2009) Detoxification requirements for bioconversion of softwood dilute acid hydrolyzates to succinic acid, 44 (5), 309–316

- Kuhnert P., Edzard Scholten, Stefan Haefner, De' sire'e Mayorand Joachim Frey (2010) *Basfia succiniciproducens* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Pasteurellaceae* isolated from bovine rumen, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60, 44–50
- Kurzrock T, Weuster-Botz D (2010). Recovery of succinic acid from fermentation broth. *Biotechnol Lett* 32, 331-339
- Lawford HG, Rousseau JD (1993) Effects of pH and acetic acid on glucose and xylose metabolism by a genetically engineered ethanologenic *Escherichia coli*. *Appl Biochem Biotechnol. Spring*, (39) 40,301-22
- O'Herrin SM, Kenealy WR (1993) Glucose and carbon dioxide metabolism by *Succinivibrio dextrinosolvens*. *Appl Environ Microbiol* 59, 748-755
- Peters Max S., Timmerhaus Klaus D & West Ronald E. (2003) *Plant Design & Economics for Chemical Engineers* 5th ed. Mc Graw Hill
- Ray Sinnott & Gavin Towler (2009) *Chemical Engineering Design*, 5th ed. I ChemE
- Roger G. Harrison, Paul Todd, Scott R. Rudge, Demetri P. Petrides, *Bioseparation Science and Engineering*
- Samuelov NS, Lamed R, Lowe S, Zeikus JG (1991) Influence of CO₂/HCO₃ levels and pH on growth, succinate production, and enzyme activities of *Anaerobium spirillum succiniciproducens*. *Appl Environ Microbiol* 57, 3013-3019
- Ulrich G. D., *A guide to chemical engineering process design and economics*, John Wiley & Son, 1984.
- Van der Werf MJ, Guettler MV, Jain MK, Zeikus JG (1997) Environmental and physiological factors affecting the succinate product ratio during carbohydrate fermentation by *Actinobacillus* sp. 130Z. *Arch Microbiol* 167, 332-342
- Varanasi Patanjali, Priyanka Singh, Manfred Auer, Paul D Adams, Blake Simmons and Seem Singh (2013) Survey of renewable chemicals produced from lignocellulosic biomass during ionic liquid pretreatment, *Biotechnology for Biofuels*, 6:14
- Zeikus J. G., M. K. Jain, P. Elankovan (1999) Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial products, *Appl Microbiol Biotechnol* 51, 545-552